

## PRÁCTICA

### HIGIENE, INSPECCIÓN Y CONTROL DE LA MIEL

- Determinación del contenido de humedad
- Determinación gravimétrica del contenido de sólidos insolubles en agua
- Conductividad eléctrica
- Determinación del contenido de Hidroximetilfurfural (HMF)
- Análisis Polínico
- Determinación de la acidez
- Determinación de las cenizas



## DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

### 1.1 Principio del método

Se basa en el método refractométrico de Chataway (1932) revisado por Wedmore (1955).

### 1.2 Aparatos

#### 1.3

- Refractómetro.

### 1.4 Toma de muestras

Si la muestra está libre de gránulos, mezclar perfectamente removiendo o agitando; si se tienen gránulos, meter el envase cerrado al baño María, sin sumergirlo y calentar durante treinta minutos a 50°C hasta que la miel se licúe. Es esencial agitar de vez en cuando.

Cuando lo que se desea determinar es el hidroximetilfurfural o la diastasa, no se debe calentar la miel. Si hay alguna sustancia extraña, calentar la muestra al baño María hasta 40°C y filtrarla

#### 1.4. Procedimiento:

Determinar el índice de refracción de la muestra de ensayo utilizando un refractómetro a temperatura constante, próxima a los 20°C. Convertir la lectura en contenido de humedad (por ciento m/m) utilizando la tabla que se indica a continuación. Si la determinación se hace a una temperatura que no sea 20°C, convertir la lectura en temperatura patrón de 20°C, utilizando las correcciones que se indican más abajo en la tabla siguiente.

TABLA

Índice de Refracción a 20 °C	% de Humedad	Índice de Refracción a 20 °C	% de Humedad	Índice de Refracción a 20 °C	% de Humedad
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4830	21.4
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4825	21.6
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4820	21.8
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4815	22.0
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4810	22.2
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4805	22.4
1.5012	14.2	1.4905	18.4	1.4800	22.6
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4795	22.8
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1.4790	23.0
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4785	23.2
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4780	23.4
1.4987	15.2	1.4880	19.4	1.4775	23.6
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4770	23.8
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4765	24.0
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4760	24.2
<b>1.4966</b>	<b>16.0</b>	1.4860	20.2	1.4755	24.4
<b>1.4961</b>	<b>16.2</b>	1.4855	20.4	1.4750	24.6
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4745	24.8
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4740	25.0
1.4946	16.8	1.4840	21.0	-	-
1.4940	17.0	1.4835	21.2	-	-

## **2. DETERMINACIÓN GRAVIMÉTRICA DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS INSOLUBLES EN AGUA**

### **2.1. Principio**

Esta determinación se basa en el aumento de peso que experimenta un crisol poroso después de filtrar por él una cantidad conocida de miel disuelta en agua ligeramente alcalinizada.

### **2.2. Material y aparatos**

- Crisoles filtrantes de vidrio de porosidad 15-40 micras.
- Equipo de filtración a vacío.
- Estufa de desecación.
- Solución acuosa de hidróxido sódico 0.1 N.

### **2.3. Procedimiento**

Pesar la miel (20g) con precisión al centigramo más próximo (10mg) y redissolverla en 50 ml de agua destilada. Mezclar bien e introducir en la disolución los electrodos de un pH metro y añadir NaOH 0.1N agitando constantemente hasta que el pH esté comprendido entre 8 y 9.

Filtrar la muestra de ensayo a través de un crisol fino de vidrio sintetizado (tamaño de los poros 15-40 micras) previamente secado y pesado y lavarlo a fondo con agua destilada caliente (80°C) hasta eliminar los azúcares. Dejar secar el crisol durante una hora a 135°C, enfriar y pesar con una aproximación de 0.1 mg. Los resultados han de expresarse como g de sólidos insolubles en agua/100g de miel.

## **3. CONDUCTIVIDAD ELECTRICA**

### **3.1 Principio.**

Medida de la conductividad eléctrica de una solución de miel al 20 por 100 de materia seca a 20°C.

### **3.2. Material y aparatos.**

- Conductímetro.
- Baño termostático.

### **3.3 Procedimiento.**

Disolver la miel en unos mililitros de agua destilada previamente hervida y completar en un matraz aforado hasta 25 ml. Verter esta solución en un vaso de 50 mililitros y ponerlo en un baño termostático a 20° C. Introducir la celda de medida en la

solución de miel hasta que la temperatura sea de 20 con una variación de 0,5 °C. Hacer la lectura.

### 3.3. Calibración.

La calibración del apartado se realiza a la misma temperatura utilizando una solución acuosa de cloruro de potasio, cuya conductividad no difiera más de 500 micro s/cm de la esperada para la muestra problema.

### 3.4. Interpretación

La expresión de resultados se realiza en siemens por  $\text{cm}^{-1}$ . La conductividad eléctrica es una característica muy acertada para determinar el origen botánico de la miel de abejas; actualmente sustituye la determinación de cenizas en análisis de rutina. Esta medición es directamente proporcional al contenido de cenizas y la acidez de la miel. Existe una relación lineal entre el contenido de cenizas y la conductividad eléctrica.

$$C = 0.14 + 1.74 A,$$

Donde C es la conductividad eléctrica en Siemens  $\text{cm}^{-1}$  y A es el contenido de cenizas en g/100 g miel.

Las mieles florales y las mezclas de mieles florales tienen valores de conductividad eléctrica menores de 0.8 mS/cm y que la mieles de mielada y de castaña posean valores mayores de 0.8 mS/cm. Las excepciones son las mieles de *Arbutus*, *Banksia*, *Erica*, *Leptospermum*, *Melaleuca*, *Eucalyptus* y *Tilia* así como sus mezclas, las cuales tienen una elevada variación en su conductividad eléctrica. Los estándares específicos para mieles con diferentes orígenes botánicos y geográficos podrían ser elucidados cuando se requiera una futura caracterización de las mieles. La medición de conductividad eléctrica es fácil, rápida y requiere instrumentación sencilla. Es una determinación ampliamente utilizada para discriminar entre mieles de mielada y mieles florales, también para identificar mieles monoflorales.

## 4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HIDROXIMETILFURFURAL (HMF)

### 4.1 Reactivos

- Solución de Carrez I: 15g de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en 100 ml de agua.
- Solución de Carrez II: 30g de  $\text{Zn}(\text{AcO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en 100 ml de agua.
- Bisulfito de sodio al 0.2%: disolver 0.5 mL de  $\text{NaHSO}_3$  (40%) en 100 ml de agua. Diluir 1:1 si fuera necesario.

### 4.2. Procedimiento

- Pesar 5 g de miel en un vaso de precipitado y disolver con 25 ml aprox. de agua destilada en un agitador magnético sin aplicar calor.
- Adicionar posteriormente 0.5 ml de solución de Carrez I y 0.5 ml de solución de Carrez II.
- Llevar la solución a un matraz aforado de 50 ml y enrasar con agua destilada.

- Mezclar y filtrar utilizando papel de filtro y un embudo.
- Pipetear una alícuota de 3ml del filtrado en dos tubos de ensayo.
- Añadir 3ml de agua destilada a uno de los tubos (muestra) y 3ml de bisulfito de sodio al otro (referencia) y mezclar suavemente.
- Determinar la absorbancia de la muestra y de la referencia a 284nm y a 336nm en cubetas de cuarzo (cubetas de UV). Hacer autocero en el espectrofotómetro con agua destilada para cada longitud de onda, por lo que se hará al inicio de la medida y en el cambio de longitud de onda.

#### 4.3. Resultados

<b>mg HMF/Kg miel = <math>(\Delta_{284-336} \text{ Muestra-Referencia}) \times 14.97 \times 5/P \times 10</math></b>
--

Siendo P el peso en gramos de la muestra de miel.

$\lambda$	Abs. Muestra (M)	Abs. Referencia (R)	
<b>284nm</b>			
<b>336nm</b>			$(\Delta_{284-336} \text{ M-R})$
$\Delta_{284-336}$			

## 5. ANÁLISIS POLÍNICO

### 5.1. Principio:

Dilución de la muestra, previamente homogenizada, separación del sedimento y posterior examen microscópico del mismo. Este método no es aplicable a mieles finamente filtradas.

### 5.2. Material y reactivos.

- Centrífuga capaz de alcanzar 2000-2500 rpm provista de tubos de 10 ml graduados.
- Microscopio.
- Agitador magnético.
- Pipetas.
- Alcohol etílico de 70°.
- Ácido sulfúrico 0.2 N.
- Solución de colorante de fucsina básica: Tomar 0.1g de fucsina, añadir 1ml de alcohol de 70° y completar hasta 250 ml con agua destilada.

### 5.3. Preparación y montaje del polen de la miel.

- Se pesan 10g de miel en un vaso de precipitado de 50 ml.
- Se añaden 20 ml de agua acidulada (5 ml de ácido sulfúrico concentrado por 1000 ml de agua destilada) y se homogeniza en un agitador magnético sin aplicar calor.

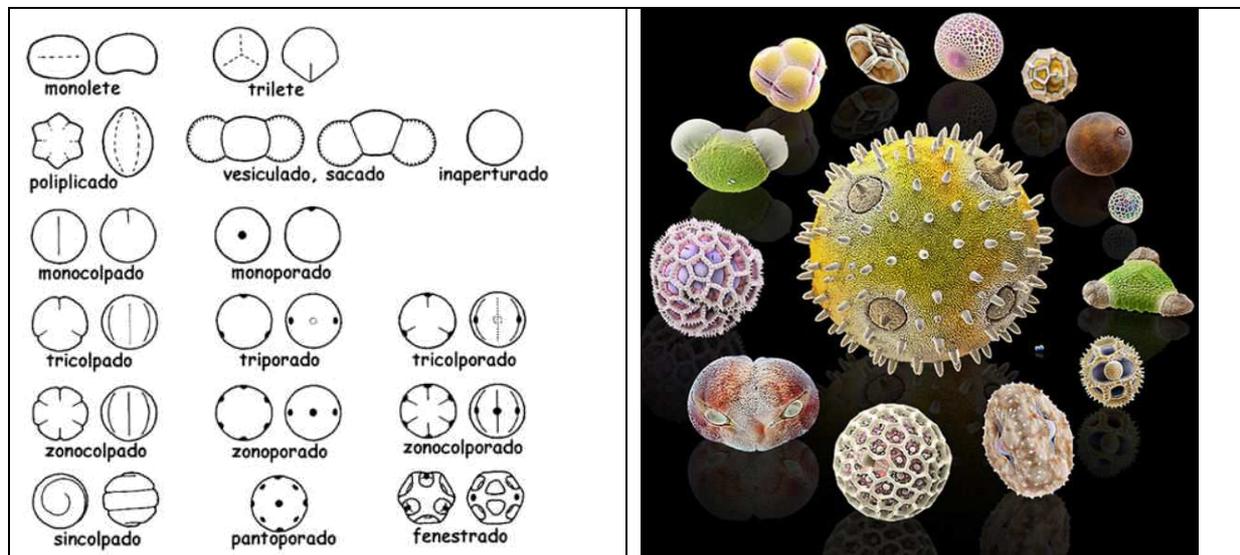
- Se reparte el líquido obtenido en dos tubos de centrifuga graduados de 10 ml y se centrifuga durante 5 min. a 2000 rpm (para evitar que se rompan los granos de polen).
- Se decanta el líquido sobrenadante, el sedimento se disuelve en 10 ml de agua destilada y se centrifuga de nuevo durante 5 min. a 2000 rpm.
- Se elimina el sobrenadante con una pipeta Pasteur hasta que quede un sedimento de 0.5 ml aprox.
- Se agita un poco el tubo para homogenizar el sedimento polínico, se toma 0.02 ml de ambos tubos con una micropipeta y se deposita sobre un portaobjetos limpio y desengrasado en una superficie aproximada de 2x2 cm.
- Agregar con pipeta Pasteur una gota de la solución de fucsina básica y cubrir con un cubreobjetos.
- Preparar el microscopio introduciendo la preparación anterior para su examen.

Se puede anotar la proporción de cada especie de polen que aparece, comparando con pólenes de referencia de acuerdo a los patrones presentados en las prácticas.

Tipos de grano de polen tomado de:

<http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema22/images22/wpe2.gif>

[http://lenoid.net/uploads/2010/05/awesome\\_microscope\\_01.jpg](http://lenoid.net/uploads/2010/05/awesome_microscope_01.jpg)



## 6 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ

### 6.1 Reactivos

- Hidróxido de sodio 0.1 N (libre de carbonatos).
- Indicador de fenolftaleína al 1% en etanol.
- Agua destilada.

### 6.2. Procedimiento

- Pesar la miel (10,0g) y disolverla en 75 ml de agua destilada.
- Titular la muestra de ensayo con solución de hidróxido de sodio 0.1N libre de carbonatos, utilizando como indicador 4 ó 5 gotas de fenolftaleína. El color del punto final deberá persistir durante diez segundos. Para las muestras de color oscuro se tomará menor cantidad. Otro modo de proceder consistirá en utilizar un pH-metro y titular la muestra hasta pH 8.3.

### 6.3 Cálculo y Expresión de los Resultados

Los resultados se expresan en miliequivalentes de ácido/ kg de miel, y se calculan en la forma siguiente:

$$\text{Acidez} = 10 \times V$$

Siendo V el número de ml de NaOH 0,1N utilizados en la neutralización de 10 g de miel.

## 7. DETERMINACIÓN DE LAS CENIZAS

### 7.1 Principio

Calcinación de la muestra a 550°C y pesada hasta peso constante

### 7.2 Material y aparatos

- Cristales de porcelana.
- Horno mufla.

### 7.3 Procedimiento

Pesar con precisión de 0.1 mg, unos 5 g de miel. Anotar también el peso del crisol vacío. Calentar suavemente hasta que la muestra se ennegrezca y no haya peligro de pérdidas por formación de espuma. Puede utilizarse una estufa o una lámpara de rayos infrarrojos. En caso necesario puede añadirse una gota de aceite de oliva para impedir la formación de espuma. Introducir posteriormente la muestra en la mufla a 550°C y mantenerla hasta que el peso sea constante.

Expresar los resultados como % con respecto al peso total de muestra.

**INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA PARA TODAS LAS DETERMINACIONES**

**RD 1409/2003 POR EL QUE SE APRUEBA LA NORMA DE CALIDAD DE LA MIEL  
(BOE 5 DE AGOSTO DE 2003)**

**ORDEN DE 12 DE JUNIO DE 1986, POR LA QUE SE APRUEBAN LOS MÉTODOS  
DE ANÁLISIS PARA LA MIEL**