



**UNIVERSIDAD DE SANCTI SPÍRITUS
José Martí Pérez**

**UNIVERSIDAD DE SANCTI SPÍRITUS “JOSÉ MARTÍ PÉREZ”
CENTRO DE ESTUDIOS DE ENERGÍA Y PROCESOS INDUSTRIALES (CEEPI)**

**TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO ACADÉMICO DE MÁSTER
EN INGENIERÍA INDUSTRIAL**

**TÍTULO: REQUISITOS FÍSICO-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN MIEL DE ABEJA SIN AGUIJÓN: REFERENTES PARA SU
NORMA EN CUBA.**

Autor: Lic. Malú Pacheco González

Tutora: Dr. C. Lisbet Mailin López González

2022



Pensamiento

Tenemos que desarrollar las producciones de la inteligencia y ese es nuestro lugar en el mundo, no habrá otro.

Fidel Castro Ruz

Dedicatoria

Al Dr C Juan Emilio Hernández García por dedicar su tiempo, conocimientos y apoyo incondicional a la realización de esta investigación.

A mi familia por respaldarme y acompañarme durante todo el camino.

Agradecimientos

- A todos lo que estuvieron abriendo el camino (que no son pocos) para que este trabajo se materializara.
- A la dirección nacional de APICUBA, en especial al MSc Lázaro Bruno García Castro, el MVZ Dayron Álvarez y al Ing. Alberto Bravo Pérez, director de la UEB Planta de Beneficio Sancti Spíritus
- Al Dr C Juan Emilio Hernández García por su contribución al desarrollo de esta investigación
- A mi tutora la Dr.C Lisbet Mailin López González por su asesoría y por dedicar su tiempo personal en la realización de este trabajo
- A todos los profesores del curso de la maestría que siempre de una forma fraternal nos transmitieron sus experiencias y conocimientos
- A mis homólogos, veterinarios y directores de UEB apícolas de las provincias de Pinar del Río, Matanzas, Villa Clara, Cienfuegos, Sancti Spíritus, Ciego de Ávila y Camagüey quienes dispusieron de su tiempo y recursos personales para la obtención de las muestras.
- A todos los meliponicultores que accedieron a contribuir aportando muestras de miel de sus colmenas.
- Al Ph.D Marcelo Lisandro Signorini Porchieto profesor de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Litoral en Argentina e investigador del Consejo Nacional de investigaciones científicas y técnicas de la Estación experimental agropecuaria Rafaela del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria en Argentina por su colaboración en la realización del meta-análisis.
- A todas las personas que tan gentilmente aceptaron colaborar como expertos en esta investigación: Dr MVZ Walberto Lóriga, Dr.C Laudelina Felipe Fernández, PhD José Miguel Álvarez Suarez, MSc Leidys Fonte, MSc. Yuranys Guzmán Acosta, MSc José Antonio Rodríguez Díaz, MSc Ken Jact Fernández León, MSc MVZ Mario Octavio Ferran Hernández, Ing. Ángel Pérez Hernández, MVZ Yovanni Solenzal Díaz, Ing. Juan Carlos Pérez Morales, MVZ Dayron Álvarez, entre otros.

RESUMEN

La empresa APICUBA en su estrategia de incrementar las exportaciones pretende incluir a la miel de *Melipona beecheii* en su cartera de productos, lo cual se dificulta por no contar con suficiente argumento científico que sustente la propuesta de una norma. Se plantea como objetivo de la investigación: proponer requisitos físico-químicos y microbiológicos para la miel de *Melipona beecheii* que permita sustentar una propuesta de norma cubana para su comercialización. Se parte de un diagnóstico del estado actual de la empresa APICUBA (matriz DAFO) y la revisión de las especificaciones técnicas y de calidad para 11 indicadores físico-químicos de acuerdo a 27 reportes (meta-análisis) de diferentes contextos. La DAFO mostró como resultado que predomina el cuadrante adaptativo mientras que en el meta-análisis se observó niveles de heterogeneidad elevados que pueden estar influidos por el número limitado de muestras en las diferentes investigaciones. A continuación, se realizó una caracterización físico-química y microbiológica de la miel de la *Melipona beecheii* de las 3 zonas del país (Occidente, Centro y Oriente), donde se caracterizaron 11 variables físico-química y 8 microbiológicas. Las muestras fueron analizadas siguiendo los métodos de la Association of Official Analytical Chemist y la International Honey Comisión (IHC). A partir de los resultados obtenidos, y teniendo en cuenta las normativas, estándares internacionales, las herramientas aplicadas en este estudio, se validó, previa consulta con los expertos, una propuesta de 7 requisitos físico-químicos y 6 microbiológicos que incluye los siguientes indicadores: humedad (Máx. 26 g/100 g), acidez libre (Máx 54 meq/kg), suma de fructosa+ glucosa (Mín. 64 g/100g), HMF (Máx 30), actividad diastasa (AD) (Mín 3 unidades DN Schade), pH (Mín 3,78), conductividad eléctrica (Mín 0,5 mS/cm). En los análisis microbiológicos se observó ausencia de microorganismos sanitarios por lo que se propone adoptar requisitos similares a los que establece la NC 371:2020: Microorganismos a 30 °C (10^3 a 10^4 ufc/g), Coliformes totales ≤ 10 , Hongos y Levaduras (5×10 a 10^2 ufc/g) y ausencia de *E. coli* y *Salmonella sp*

ABSTRACT

APICUBA enterprise has created a strategy to increase its exportations, which mean to include the *Melipona beecheii* honey in its products portfolio; this goal has been braking for the lack of scientific information to strong a cuban standarization for this product. That's why the main objective of this research is to propose physicochemical and microbiological requirements for the *Melipona beecheii* honey for contributing to define technical and quality specifications to support a proposal for a *Melipona beecheii* honey Cuban standarization. The design of this work includes tools like a SWOT (strengths, weakness, opportunities and threats) analysis that allows a real diagnose of the enterprise and a meta-analysis with 27 authors of different context and 11 physicochemical indicators of *Melipona beecheii* honey. The SWOT showed as a result that in APICUBA prevails the adaptative area while the meta-analyses allows to summarize the tecnichal and quality specifications of the different indicators; as a result it was observed heterogenity high levels probably due to the low number of samples used in the different researches. This research studied honey *Melipona beecheii* samples from different provinces as a representation of the 3 regions of the country (west, center and east) where it was studied 11 physicochemical and 8 microbiological indicators. Honey samples were analyse according to Association of Oficial Analytical Chemist and the international Honey Comission (IHC) methods. After a deep analysis of the honey sample results and taking into account the international references, standarizations, the tools applied in this studied and the experts criteria, it was proposed 7 physicochemical and 6 microbiological indicators: moisture (Max. 26 g/100 g), free acidity (Max 54 meq/kg), sum fructose+glucose (Min 64g/100g), HMF (hydroxymethylfurfural) (Max 30), diastase activity (Min 3 DN Schade), ph (3, 78), electrical conductivity (Min 0,5 ms/cm). Otherwise the microbiology showed lack of sanitary microorganisms that's why it is proposed to adop similar requirements to the one established in the cuban standarization 371 (NC 371) for *Apis Mellifera* honey, aerobic mesophilic plate count 30° C (10^3 a 10^4 ufc/g), total coliforms ≤ 10 , moulds and yeasts (5×10^1 a 10^2 ufc/g), and negative to *Escherichia coli* and *Salmonella* sp

INDICE

INTRODUCCIÓN	9
CAPITULO I. MARCO TEÓRICO Y REFERENCIAL	16
1.1 Introducción	16
1.2 Abejas meliponas	17
1.2.1 Generalidades	17
1.2.2 La meliponicultura	18
1.2.3 Meliponicultura en Cuba	18
1.2.4 Importancia de la meliponicultura en Cuba	20
1.2.5 Usos de la miel de melipona y sus componentes	23
1.3 Características físico-químicas y microbiológicas de la miel de abejas	24
Melipona	
1.3.1 Requisitos físico-químicos	25
1.3.2 Composición química	26
1.3.3 Requisitos microbiológicos	26
1.4 Interpretación de los indicadores de calidad físico-químicos utilizados en la evaluación de la miel	27
1.4.1 La prolina	27
1.4.2 La invertasa	28
1.4.3 HMF	28
1.4.4 Fitoquímicos en la miel o compuesto fenólico	28
1.4.5 Conductividad eléctrica	29
1.4.6 pH y acidez libre	29
1.4.7 Actividad de agua (<i>aw</i>) y contenido de humedad	29
1.4.8 Contenido de cenizas	30
1.4.9 Contenido de azúcar	30
1.4.10 Actividad enzimática	31
1.4.11 Nitrógeno	31
1.4.12 Sólidos solubles	31
1.4.13 Minerales	31
1.4.14 Color	32
1.5 Normalización en Cuba y normativa de la miel de abejas	33
1.6 Criterio de expertos. Método Delphi	34
CAPÍTULO II DISEÑO METODOLÓGICO PARA LA PROPUESTA DE REQUISITOS DE CALIDAD DE LA MIEL DE <i>MELIPONA BEECHEII</i> EN CUBA	37
2.1 Introducción	37
2.2. Etapa I. Diagnóstico	39
2.3. Etapa II. Caracterización físico-química y microbiológica	41
2.3.1 Características físico-químicas	43
2.3.2 Análisis microbiológicos	45
2.3.3. Análisis estadístico	47
2.4 Etapa III. Requisitos físico-químico y microbiológico para la miel de abejas de <i>Melipona beecheii</i>	47
CAPITULO III. CARACTERIZACIÓN DE LA MIEL DE <i>MELIPONA BEECHEII</i> : REQUISITOS DE REFERENCIA PARA PROPUESTA DE NORMA	49
3.1 Introducción	49
3.2 Estado actual de la necesidad de una normativa de calidad para la miel de abeja <i>Melipona beecheii</i> en Cuba	49

INDICE

3.3 Resultados del Meta-análisis sobre los indicadores físico-químicos de la miel de <i>Melipona beecheii</i>	54
3.4 Caracterización físico-química y microbiológica de la miel de <i>Melipona beecheii</i> de las principales regiones productoras del país.	60
3.5 Propuestas de requisitos físico-químicos y microbiológicos para miel de abejas <i>Melipona beecheii</i> apta para consumo humano	70
3.6 Criterios de expertos	74
Conclusiones	80
Recomendaciones	81

INTRODUCCIÓN

La convulsa situación mundial y la enorme crisis económica internacional, unido a los cambios climáticos, afectan cada día más al país y conlleva a que la economía siga orientándose hacia una recuperación que tenga como sustento la gestión del conocimiento y el desarrollo local (Díaz-Canel Bermúdez y Fernández González, 2020), para que se favorezcan las estrategias de sustitución de importaciones y el incremento de los renglones exportables.

Cuba cuenta con una consolidada infraestructura objetiva y subjetiva para el acopio, beneficio y comercialización de la miel de abeja procedente de la especie *Apis melífera*, para la cual dispone de un encadenamiento productivo así como la existencia de personal a lo largo de la cadena con experticia que le propicia tener un lugar en el mercado internacional (Pérez-Piñeiro, 2017), a partir de lograr un producto con calidad y el cumplimiento de toda la base legislativa, reglamentaria y normalizativa que exigen sus clientes (NC-371, 2020).

No obstante, esta empresa productora de miel de *Apis melífera* en el país se proyecta para la diversificación de su cartera de productos a través de la creación y comercialización de nuevos renglones provenientes de la apicultura adecuándose al modelo económico actual, por lo que tiene la tarea de crear las condiciones necesarias para fomentar nuevas producciones; sobre todo las que cuenten con mayor potencial, como es el caso de la miel procedente de la especie *Melipona beecheii* o como se conoce comúnmente, miel de la tierra o abeja sin aguijón (Genaro y Lóriga, 2018), debido a sus conocidas propiedades medicinales y sus importantes características alimenticias (Alquisira-Ramírez, 2019).

De acuerdo con el Codex Stan (1981), el más alto organismo internacional en materia de miel y citado por (Caamal *et al*, 2020), define a la misma como una “sustancia dulce natural, producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje”.

La miel de la tierra se produce por el grupo de las “abejas sin aguijón” y su explotación se conoce como Meliponicultura. Las especies del insecto, son

altamente sociales y se distribuyen únicamente en las regiones tropicales del planeta (Bueno *et al.*, 2021; Ormeño Luna,*et al.*, 2021) y a pesar de ser muy diversas, más de 500 descritas en el Mundo (Contreras Cortés *et al.*, 2020; Taye, 2020); *Melipona beecheii* Bennett o “abeja de la tierra”, es la única especie conocida en Cuba y constituye, junto a *Apis mellifera Linnaeus*, las dos únicas especies de abejas sociales que viven en la isla, donde son criadas y manejadas por el hombre para usar sus productos o servicios en la polinización de cultivos agrícolas (Genaro y Lóriga, 2018).

A diferencia de la miel que se obtiene de la *Apis mellifera*, la miel de la *Melipona beecheii* tiene una mayor tendencia a ser usada con fines medicinales en vez de alimenticios y el rendimiento por colmena es muy inferior al de la *Apis* (Brown *et al.*, 2020).

APICUBA (Empresa Apícola Cubana) se encuentra dando los primeros pasos para lograr incorporar a sus exportaciones este nuevo renglón, a través de un enfoque de —industrialización – tecnificación. Los procesos de globalización, los nuevos patrones de consumo, las crecientes regulaciones de sanidad e inocuidad de los alimentos y medioambiente, lo complejo de los procesos productivos y de agregación de valor obligan a la apicultura cubana hacia nuevos desafíos tecnológicos, ambientales y de calidad del producto.

Dentro de todo esto se trabaja en la investigación de caracterización físico química y microbiológica de la miel de meliponas para la creación de las bases científicas que sustenten la elaboración de una norma que permita comercializar este producto en el mercado nacional e internacional, pues la Norma Cubana (NC-371, 2020) que rige las especificaciones técnicas con los que debe cumplir el producto para la comercialización delimita su alcance sólo para la miel de abejas producida por la especie *Apis mellifera*.

Se reconoce a nivel internacional que la miel de abeja sin aguijón no cumple con los estándares de calidad establecidos para la miel de melífera (Anusha *et al.*, 2020). En respuesta, investigadores de varios países proponen estándares de calidad únicos para esta especie y en estudio de revisión sobre la temática (Nordin *et al.*, 2018), se constató que dada la gran variedad de especies de abejas y el origen geográfico de la recolección de la miel, existió una enorme variabilidad en

términos de contenido de humedad de la miel, acidez libre, pH, contenido de hidroximetilfurfural, contenido de cenizas, conductividad eléctrica, contenido de azúcar, actividad enzimática y contenido de nitrógeno entre otros; justificándose la necesidad de un estándar más armonizado de este producto alimenticio, que incluirá miel de abeja sin aguijón de todo el mundo.

En estudio encargado por la Red de Seguridad Alimentaria, del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas a un grupo Ad Hoc para la miel de Yatei con el objetivo de definir estándares de calidad microbiológico y físico-químico en miel de abejas nativas sin aguijón (ANSA) en el Caribe y Latino América concluyen con la definición de diferentes indicadores a partir del meta análisis que utilizaron pero conscientes de la diversidad y variación de los estudios originales (Seguridad Alimentaria, 2018).

Los estudios sobre caracterización físico química y microbiológica de la miel de melipona en Cuba son escasos y aislados, resaltan los estudios de (Fonte *et al.*, 2013), (Alvarez-Suarez *et al.*, 2018 y García *et al.*, 2018), que en ninguno de los casos abordan muestras de diversas áreas del país, lo que constituye todo un reto no sólo porque no se dispone de suficiente bibliografía sino también porque en el sector agroindustrial el concepto de calidad es muy difícil de definir, pues depende de las preferencias del cliente final que es para el que se trabaja y que con el pasar de los años se diversifica (Sánchez, 2020).

El cliente actual no sólo busca un producto agradable al paladar, sino que se produzca bajo una serie de requisitos higiénicos-sanitarios y que cuente además de una seguridad alimentaria, de una serie de preocupaciones por parte del consumidor final como son la sostenibilidad, el medio ambiente, valor nutricional y bienestar animal, principios que se declararon en el Decreto ley sobre inocuidad alimentaria (GOC-DL9, 2020).

La ISO 9000:2015 (ISO-9000, 2015), refiere que la calidad de los productos y servicios de una organización está determinada por la capacidad para satisfacer a los clientes, y por el impacto previsto y no previsto sobre las partes interesadas pertinentes. En Cuba se trabaja con 3 tipos diferentes de normas; las normas ramales, conocidas por sus siglas como NR a la cual se le adiciona el organismo,

la norma de empresa y las que más se conocen y necesaria para la exportación, las normas cubanas comúnmente llamadas por sus siglas NC (NC-371, 2020).

La Norma Cubana de Reglas para la estructura, redacción y edición de las normas cubanas y otros documentos relacionados (NC-1, 2020) define el concepto de norma como documento establecido por consenso y aprobado por un organismo reconocido, que proporciona, para un uso común y repetido, reglas, lineamientos o características para actividades o sus resultados, dirigidas a la obtención del grado óptimo de orden en un contexto dado.

La implementación de una norma, ofrece ventajas tales como: i) Estandarización de las características del producto, ii) Inserción en el mercado que se aspire a conquistar y iii) Capacidad de la empresa en demostrar la conformidad del producto contra requisitos técnicos establecidos en las normas (Apaza *et al.*, 2021).

Por lo que se infiere que toda empresa que desee insertarse en el mercado internacional necesita una norma que defina las especificaciones técnicas que debe cumplir su producto y ello solo se concreta a partir de una fundamentación científica.

Como es sabido, la oferta y demanda son el mecanismo que regula los precios de compra y venta de los bienes. En el caso de la miel de *Melipona beecheii*, la escasez y atributos medicinales desempeñan un papel determinante en la fijación de su precio local y regional (Pat Fernández *et al.*, 2018); este mismo autor plantea que la miel de la abeja sin aguijón todavía no cuenta con un mercado bien estructurado a nivel internacional, aunque presenta una mejor organización por regiones (Oliveira Alves, 2013). Se conoce por la bibliografía consultada que países como México han experimentado un crecimiento en la meliponicultura debido a la demanda que presentan y que se han incrementado significativamente los precios. Por su parte países como Australia, México y Costa Rica también cuentan con un mercado regional con características similares. En Australia, el precio de la miel de abejas sin aguijón es superior al precio de la miel de *Apis Mellifera* (Halcroft *et al.*, 2013). En Brasil el precio de la miel de abejas sin aguijón depende de la especie y la zona productora (Silva *et al.*, 2013).

En la reserva de Los Petenes, la miel de las abejas sin agujón tiene un precio superior al de la miel de *Apis mellifera* debido a que la población que la demanda la prefiere por sus propiedades nutritivas y medicinales, por su rareza y por ser un producto orgánico (Vit *et al.*, 2004 y Halcroft *et al.*, 2013).

Cuba debe trabajar en la inclusión de la miel de *Melipona beecheii* en su Código Alimentario y para ello se requiere, además, el análisis de riesgo de dicho alimento azucarado, que incluya las bacterias que pueden ser transmitidas y ser causantes de enfermedad. Se requiere ampliar el muestreo a otras zonas del país, de manera que puedan definirse los requisitos físico- químicos a los fines de estandarizar los mismos. Así como también, establecer los límites tolerables en los análisis microbiológicos de la miel de la tierra.

Situación problemática

-Demanda de la miel de *Melipona beecheii* en el mercado tanto nacional como internacional

-Insuficiente información científica sobre las características físico-química y microbiológicas de la miel de *Melipona beecheii* de diferentes zonas del país.

-Limitación de la empresa APICUBA para comercializar la miel de *Melipona beecheii* por no tener una norma para el producto

-Poca diversificación de la cartera de productos.

-Ingresos limitados al no poder incorporar un nuevo producto

Sobre la base de lo anteriormente expuesto se deriva el **problema científico** siguiente

Insuficiente caracterización físico-química y microbiológica de la miel de *Melipona beecheii* que contribuya a la realización de una norma cubana.

El **objetivo general** de esta tesis es proponer requisitos físico-químicos y microbiológicos para la miel de *Melipona beecheii* que permita sustentar una propuesta de norma cubana para su comercialización.

Los **objetivos específicos** que se proponen alcanzar son:

- 1- Diagnosticar el estado actual de la normativa de calidad para la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba.

- 2- Determinar las características físico-químicas y microbiológicas de la miel de *Melipona beecheii* de las principales regiones productoras del país para proponer estándares de calidad de consumo humano.
- 3- Proponer los requisitos físico-químicos y microbiológicos que sustenten una propuesta de norma para la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba.

Se plantea como **hipótesis de esta investigación** que: Si se proponen los requisitos físico-químicos y microbiológicos que sustenten una propuesta de norma para la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba se contribuirá a la comercialización de este producto.

Para lo que se definen las siguientes variables

Variable independiente:

Caracterización físico-química y microbiológica de la miel de *Melipona beecheii* de las principales regiones productoras del país

Variable dependiente:

Definición de especificaciones técnica y de calidad para sustentar una propuesta de norma cubana para esta miel

Objeto de estudio: Miel de *Melipona beecheii*

Campo de acción: Requisitos físico-químicos y microbiológicos de la principales regiones productoras de Miel de *Melipona beecheii*

Contribución Teórica: Radica en que se logra un cuerpo teórico que como resultado de la sistematización realizada agrupa la base teórico-conceptual más actualizada sobre la miel de abejas *Melipona* sp, su caracterización fisicoquímica y microbiológica y su relación con la necesidad de normalización en Cuba con un basamento científico.

Actualidad científica: La investigación tiene un carácter novedoso, pues se realiza por primera vez este tipo de análisis, donde se abarca más de una zona del país en el estudio de la miel de *M. beecheii*. Se hace además un profundo análisis con relación a normativas de miel de abejas *Melipona* sp y de los requisitos físico químico de la miel de *M. beecheii*. Esta propuesta tributa, a la primera Línea Estratégica del territorio, es decir a la Producción de alimentos y constituye la miel de melipona un rubro de posible exportación.

Desde el punto de vista de su **aporte práctico**, podemos decir que: Se dotará a la empresa APICUBA de un meta-análisis sobre requisitos de calidad de la miel de *M. beecheii* realizados a nivel internacional por diferentes autores y una caracterización de la miel producida por esa especie en el país; herramientas importantes *para* sustentar científicamente una norma para el producto. Los actores indirectos que se beneficiarán serán las entidades reguladoras y comercializadoras que dispondrán de un producto con requisitos de calidad sustentados en métodos científicos.

El valor social está referido al incremento de la cultura sobre la miel de abeja melipona, con repercusión en el consumo del producto por la sociedad, que de acuerdo al caso como principio no dañe su salud; si cumple los requisitos de calidad.

El valor económico se manifiesta que al aumentar el conocimiento sobre los requisitos de calidad, repercute sobre la seguridad del cliente y mejora la aceptación, trayendo consigo el aumento de las ventas, favoreciendo la rentabilidad del productor y comercializadores.

Para dar cumplimiento a los objetivos específicos planteados se utilizaron diferentes métodos científicos:

Métodos Teóricos:

El método analítico-sintético y el inductivo-deductivo, fueron empleados para la interpretación de conceptos, hechos y fenómenos relacionados con el problema, así como, para establecer las relaciones y generalizaciones pertinentes. Estos métodos también fueron útiles para el procesamiento de los datos y resultados obtenidos en diferentes momentos de la investigación.

El análisis histórico-lógico se aplicó en el establecimiento del desarrollo y evolución del tema, evidenciando la lógica interna de su trayectoria y el establecimiento de la contextualización del problema.

Métodos Empíricos: Las entrevistas, la observación, el análisis de documentos sobre la producción de miel de abejas *Melipona* sp permitieron: diagnosticar las necesidades relacionadas con las características físico químicas y microbiológicas de la miel de abejas de la tierra, las normativas sobre esta y los **Métodos estadísticos matemáticos:** se aplicaron en el Meta-análisis y en el comportamiento de los requisitos de calidad realizados a las muestras de miel de las principales regiones productoras del país.

CAPITULO I. MARCO TEÓRICO Y REFERENCIAL.

1.1 Introducción

Estrategia para la construcción del marco teórico y referencial

Las bases teórico-prácticas del proceso de investigación, permiten trazar una estrategia para la construcción del marco teórico y referencial (figura 1.1).

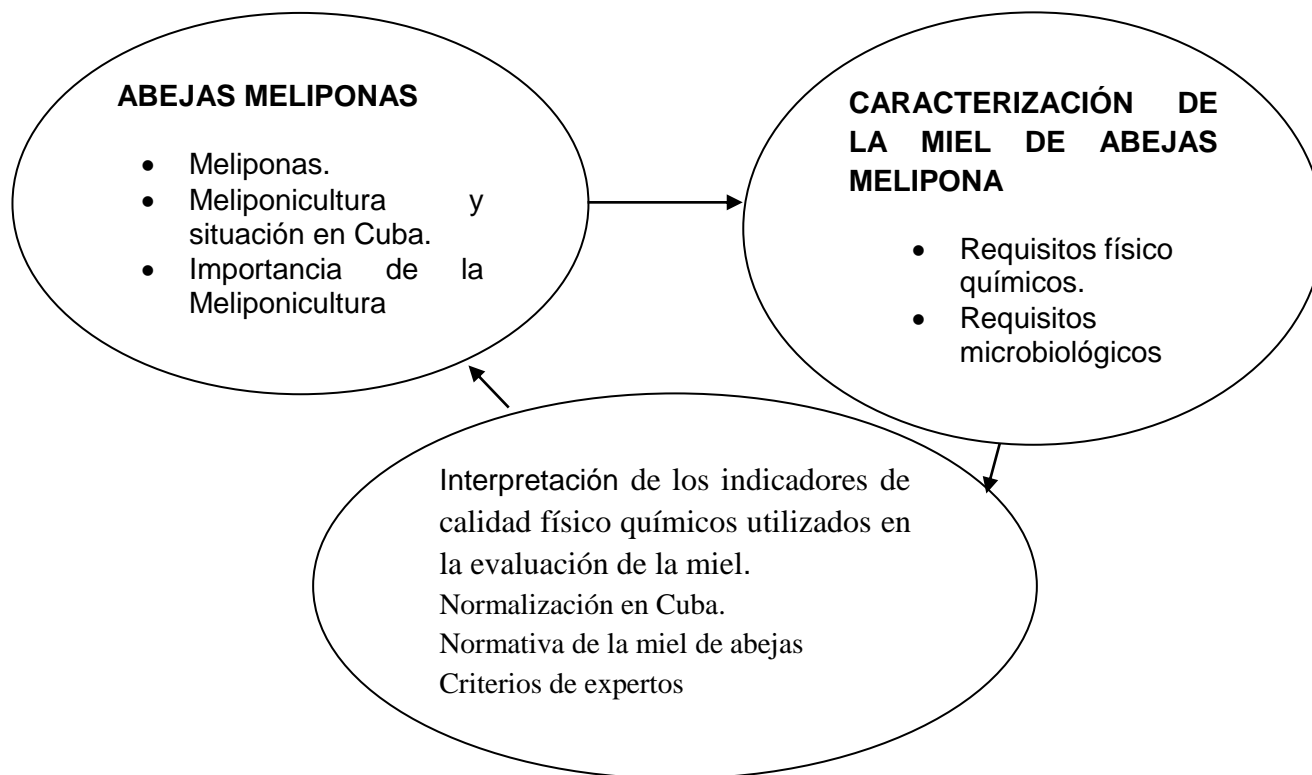


Figura 1.1. Hilo conductor para la elaboración del marco teórico y referencial de la esta investigación.

Fuente: “Elaboración Propia”.

El hilo conductor para la elaboración del marco teórico y referencial va transitando por temas indispensables para dar respuesta al problema científico que da origen a esta investigación, siendo esto los que se refieren en la mencionada figura. El estudio y análisis de la literatura es lo que permite valorar las vías y los métodos que son necesarios aplicar para obtener los resultados esperados en el trabajo de investigación sobre una base científica y novedosa con aportes prácticos y metodológicos.

En esta etapa del trabajo, **construcción del marco teórico y referencial** se precisarán los principales aspectos conceptuales involucrados en la investigación; con énfasis, en las

características de las abejas *Melipona* y los requisitos de calidad físico químico y microbiológico de la miel de esta especie con vistas a su normalización y comercialización.

1.2 Abejas meliponas

1.2.1 Generalidades

Las abejas sin aguijón (*Hymenoptera, Apidae, Meliponini*) son el grupo más grande de abejas eusociales de la Tierra (Lavinás *et al.*, 2019). Estas abejas se pueden clasificar en muchos géneros, pero las más comunes y numerosas son *Melipona* y *Trigona*, las mismas se pueden encontrar en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, como en Australia, América del Sur, América Central, África, Sudeste Asiático y el Norte de Oceanía (Hrncir *et al.*, 2016).

Solo dos géneros, *Melipona* y *Trigona*, son comúnmente domesticados en todo el mundo y se caracterizan por tener un aguijón atrofiado (Shamsudin *et al.*, 2019). Hasta 2018, se describen más de 600 especies de abejas sin aguijón de al menos de 60 géneros en todo el mundo (Lavinás *et al.*, 2019; Sujanto *et al.*, 2021).

Las abejas sin aguijón son un grupo pantropical, que está más diversificado entre los países del trópico americano, con más de 400 especies en estas áreas (Vit *et al.*, 2018), distribuidas desde Argentina hasta el norte de México (Contreras Cortés *et al.*, 2020). Aunque varían según ecosistemas, registrándose diferentes números de especies (Arnold *et al.*, 2018).

Las diferentes especies construyen nidos combinando cera, gomas, resina y otros materiales orgánicos (Vit *et al.*, 2018). La miel o “miel de maceta” se almacena en estructuras similares a macetas hechas de esos componentes orgánicos, generalmente en huecos de árboles o cavidades donde las meliponinas mantienen colonias numerosos y perennes de 100 a 100.000 trabajadores que se reproducen por medio de enjambres y que cuentan con diferenciación de castas (reina, obreras y zánganos) y una comunicación altamente desarrollada entre los miembros de la colonia (Taye, 2020). A partir de los ingredientes florales y orgánicos recolectados y los elementos glandulares, fúngicos y microbianos presentes en el nido y las abejas, la miel adquiere su color, acidez, sabor, composición química y propiedades biológicas característicos (Fletcher *et al.*, 2020).

1.2.2 La meliponicultura.

La meliponicultura, consiste en cultivar insectos de la familia *Apiade* (abejas) de la tribu meliponini, para la extracción de miel, sus derivados y enzimáticos; es una actividad que se remonta a la civilización Maya, en donde las abejas sin aguijón eran aprovechadas por los productos de las colmena (Negrín y Santos, 2016). Actualmente, esta práctica realizada en el interior de América forma parte de la cultura de estas regiones. La meliponicultura es considerada un proceso complejo y especializado, debido a la naturaleza de las abejas (Reyes-González *et al.* 2020); actualmente, a pesar de existir la meliponicultura en diversas regiones, su propagación es paulatina debido a la introducción de la abeja europea (*Apis mellifera*) cuya producción de miel es mayor que la de los meliponinos (Arnold *et al.*, 2018). Aunque la meliponicultura es una práctica realizada desde hace muchos años por pueblos originarios, la pérdida del conocimiento sobre su manejo se debe a cambios socioculturales expresados por la falta de interés, sobre todo en la población joven, la deforestación provocada por la expansión de actividades extensivas más rentables, como la ganadería, y el empleo de pesticidas (Pat Fernández *et al.*, 2018). A pesar de ello, en diversos países son variadas las iniciativas que involucran a diferentes actores empeñados en difundir la meliponicultura como una actividad productiva y de conservación ambiental.

1.2.3 Meliponicultura en Cuba.

En Cuba se reporta solamente una especie de abeja sin aguijón manejadas por el hombre, *Melipona beecheii* Bennett (Genaro y Lóriga, 2018), este mismo autor reporta que es una abeja común, nativa de México y otras áreas centroamericanas. Sobre su presencia en Cuba y Jamaica existen diversos criterios, no obstante, los pueblos aborígenes que poblaron las Antillas (grupos étnicos pertenecientes a los Arahucos) antes de la llegada de Colón, no practicaban la cría de abejas, por lo que no las introdujeron en las tierras que iban ocupando. La introducción de *M. beecheii* en las Antillas debió ocurrir en algún momento entre los años 1500 y 1800, etapa de gran intercambio comercial de España con las culturas de Centroamérica.

Los resultados mostrados por (de Jesús May-Itzá *et al.*,2019), indican una mayor similitud morfológica y genética entre las poblaciones de Cuba y la península de Yucatán con respecto a las de Costa Rica. Con base a sus hallazgos, llegaron a la conclusión de que el origen de *M. beecheii* de Cuba es más probable en la península de Yucatán (México);

evidencia de que el aislamiento no fue lo suficientemente grande como para dar como resultado un nuevo linaje genético.

La especie *M. beecheii* ampliamente dispersa coexiste con *Melipona variegatipes* Gribodo, 1893 en el archipiélago de las Antillas pero mostrando una distribución diferente: mientras que *M. beecheii* se reporta actualmente en dos de las Antillas Mayores; Cuba y Jamaica (Genaro y Lóriga, 2018).

A partir de la segunda mitad del siglo XIX, en Cuba se incrementa el interés por la cría de meliponas, favorecido por la publicación de Poey, 1851, citado por Genaro y Loriga (Genaro y Lóriga, 2018), quien da a conocer datos de su historia natural y propiedades de la miel, aunque al final del artículo recomienda, desafortunadamente, la introducción en Cuba de otras especies suramericanas de “abejas sin aguijón”, aunque esto nunca se llevó a cabo. El mismo autor destaca en su trabajo que como prueba de su popularidad, aparecen algunas notas que contribuyen a la divulgación de estas abejas y en 1864, Sagra envió algunas muestras de cera y propóleos a la Academia de Ciencias de Francia para que sus propiedades fueran analizadas. André Poey (hijo de Felipe Poey) divulga, también en Francia, las ventajas de los productos obtenidos de la crianza de meliponas.

Actualmente la meliponicultura presenta un nivel de desarrollo incipiente, aunque es una actividad en incremento (Genaro, 2006; Lóriga Peña *et al.*, 2015). A diferencia de la actividad apícola, que tuvo mayor apoyo y divulgación por la Empresa Cubana de Apicultura (APICUBA), la meliponicultura nunca se consideró como una actividad generadora de ingresos.

La meliponicultura comienza a tener mejor organización y seguidores en la última década, creándose una Agricultura Urbana que se orienta hacia la multiplicación de la especie *Melipona beecheii*, con la finalidad de aprovechar sus servicios en la polinización en huertos y organopónicos, así como en obtener mayor producción de miel. Se hacen esfuerzos conjuntos entre la Universidad Agraria de La Habana, APICUBA y la Asociación Cubana de Producción Animal (ACPA) para organizarla. Aunque, aún falta un vínculo más estrecho con el sistema de la Agricultura Urbana, Suburbana y Familiar, y todavía no existe un sistema de comercialización de esta miel (Genaro y Lóriga, 2018).

A pesar de las limitaciones económicas en Cuba, existe un interés en desarrollar la meliponicultura. En los últimos años se han incrementado las publicaciones sobre el tema y la voluntad por lograr una mejor organización, capacitación del personal, producción de

miel y uso de las abejas como polinizadores de cultivos agrícolas. A partir de 2017 la Sociedad Cubana de Apicultores cambió su nombre a Sociedad Cubana de Apicultores y Meliponicultores para ir insertando progresivamente a los meliponicultores y como parte de la estrategia de desarrollo incluir aspectos de la meliponicultura.

La tendencia histórica ha sido la captura independiente de colonias de *M. beecheii*, en estado salvaje, por campesinos sin entrenamiento. Estas colonias son mantenidas en el interior de los propios troncos o ramas de los árboles que alojaba la colonia, o son transferidas a cajas rústicas, llevadas cerca de la casa para su consumo particular. El mantenimiento de las colonias es variable, observándose el uso de troncos huecos, cajas rústicas de maderas y cajas racionales. El uso de cajas racionales también es variable, explotándose los modelos: Fernando de Oliveira, Nogueira Neto (PNN), Utrech-Tobago (UTOB) y Tecnología Intermedia con Bisagras de González-Acereto (TIBGA).

En este sentido, se sugiere que también en Cuba los apicultores de abejas sin aguijón pueden aplicar técnicas de división para incrementar el número de colonias y así detener la remoción de nidos en los bosques con el fin de conservar los nidos silvestres (Genaro y Lóriga, 2018); estos mismos autores plantean que además de utilizar *M. beecheii* para la producción de miel, se debe aprovechar su potencial como polinizador de cultivos agrícolas en la isla, área donde la meliponicultura está ganando más interés.

(Fonte *et al.*, 2013), estudiaron la selectividad de plantas para el forrajeo en áreas agrícolas de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey, Matanzas, predominando el uso de las flores de guayaba (*Psidium guajava* L.) y almácigo [*Bursera simaruba* (L.) Sarg.], seguidos por las de dormidera (*Mimosa pudica* L.), sensitiva (*Mimosa pigra* L.), y naranjo y limonero (*Citrus spp.*).

1.2.4 Importancia de la meliponicultura

Las abejas sin aguijón son importantes de varias formas (Yaacob *et al.*, 2018; Taye, 2020; Pimentel *et al.*, 2021), estos incluyen:

1. Polinización: las abejas sin aguijón visitan las flores de las plantas, incluidos los cultivos y los árboles forestales, así como los arbustos y las hierbas para recolectar néctar, polen, cera, resinas, aceites y otras sustancias vegetales. Las abejas en general realizan la mayoría de los servicios de polinización. Sin embargo, como resultado de su pequeño tamaño y gran diversidad, las abejas sin aguijón son uno de los polinizadores más efectivos y eficientes. Las abejas sin aguijón son pantropicales y en todas sus regiones su función principal es

polinizar el bosque tropical. Debido a que son polinizadores naturales y varían mucho en tamaño y comportamiento de forrajeo, estas abejas han recibido recientemente mucha atención como posibles polinizadores de cultivos agrícolas, particularmente en cultivos cultivados en invernaderos.

2. Productos de la colmena: las abejas sin aguijón también son importantes para el hombre en la producción de miel, propóleos, cera y polen o pan de abeja.

a) Miel: la miel de abeja sin aguijón es popular por sus propiedades antioxidantes y antibióticas, de ahí su eficacia para curar heridas y combatir infecciones tanto internas como externas.

b) Polen: el polen es rico en proteínas, vitaminas y minerales y aporta estos nutrientes a las abejas. El polen se puede envasar y utilizar como complementos alimenticios y también se puede añadir a la comida infantil. También se utiliza en muchas preparaciones cosméticas. El polen de las abejas sin aguijón también tiene propiedades medicinales benéficas, solo que no se puede usar solo por ser muy ácido, pero sí mezclándolo con la misma miel.

c) Propóleos: el propóleos ha sido científicamente probado y se ha demostrado que es eficaz contra muchos trastornos de la salud. Es un antibiótico natural que es eficaz para curar heridas e infecciones en el cuerpo. Se sabe que las úlceras (internas y externas), las infecciones de la piel y las erupciones se tratan con propóleos. Además la ingesta regular de propóleos regula la presión arterial y también estimula el sistema inmunológico del cuerpo. El propóleos es el antibiótico natural más importante ya que está formado por una sustancia resinosa, café-verdosa, constituida por bálsamos, cera, aceites volátiles y polen. Las abejas lo recolectan de la corteza de los árboles y lo elaboran ellas mismas, usándolo más tarde como sellador desinfectante en la colmena.

d) Cera de abejas: la cera de abejas sin aguijón se puede utilizar en productos cosméticos para mejorar la salud de la piel y el cuerpo. Se pueden preparar cremas corporales y faciales, así como bálsamos labiales, a partir de cera de abejas. Además de estos productos para la salud, se pueden producir artículos industriales como textiles, abrillantadores (madera, piso, cuero) y velas a partir de cera de abejas. En la industria farmacéutica, la cera de abejas industrial se usa para recubrir tabletas y cápsulas.

Un resumen de muchos de los usos de estos productos en la medicina tradicional se observan en la Tabla 1.1

3. Colonias de núcleos: se ha descubierto que muchas especies de abejas sin aguijón producen continuamente muchas reinas. El apicultor puede aprovechar este comportamiento de colonia y criar colonias jóvenes a partir de las celdas de la reina. Cuando se colocan varias células obreras y reinas en una pequeña colmena, se puede desarrollar una colonia joven (colonia núcleo). Esta colonia núcleo se puede utilizar para la multiplicación de las existencias de un apicultor o se puede vender a otros apicultores.

Es importante analizar además la meliponicultura, no sólo como una actividad económica que puede proporcionar recursos a poblaciones locales, sino como un patrimonio biocultural de relevancia para el mantenimiento del ecosistema (Alquisira-Ramírez, 2019).

Tabla 1.1 Beneficios de los productos de la meliponicultura en la medicina natural.

Fuente: Alquisira-Ramírez, 2019

Miel	Polen	Propóleos
Catarata ocular, conjuntivitis infecciosa o traumática, heridas y úlceras oculares.	Anemia: estimula la producción de glóbulos rojos.	Úlceras varicosas, abscesos, supuraciones, infecciones causadas por hongos, verrugas y ayuda en las callosidades y en algunos casos en el herpes simple.
Úlceras y llagas en la piel de difícil cicatrización.	Próstatas: ayuda a la desinflamación.	Problemas gripales, catarros, sinusitis, faringitis, asma, así como afecciones pulmonares.
Inflamación de hemorroides.	Debilidad física y mental: provoca una sensación de bienestar y de rejuvenecimiento, sobre todo personas de la tercera edad.	Infecciones genitales, urinarias, vaginales, inflamación de las encías, mal aliento, infecciones y dolores dentales. Muy útil para hacer gárgaras en infecciones y dolores de garganta.
Dientes flojos.	Disfunciones hepáticas e intestinales: normaliza el funcionamiento del hígado e intestino.	
Manchas en el cutis	Visión débil: agudiza la vista.	
Problemas de vías respiratorias como laringitis, sinusitis.	Regulador del funcionamiento intestinal, combatiendo la diarrea y mejorando la digestión.	
Anemia.	Ayuda a eliminar los estados de	
Úlceras gástricas y gastritis.		
Prostatitis.		
Debilidad física y		

<p>mental.</p> <p>Normaliza las disfunciones hepáticas o intestinales ayudando a un mejor funcionamiento del hígado y del intestino.</p>	<p>fatiga, cansancio y debilitamiento muscular y cerebral.</p> <p>Actúa como antibiótico sobre microorganismos como la tifoidea y la salmonella.</p> <p>Acción reguladora de la presión arterial, mejorando la resistencia de los vasos sanguíneos y en general del aparato del sistema cardiovascular.</p> <p>Impotencia: ayuda a restablecer la capacidad sexual.</p> <p>Además el polen estimula la producción de leche materna, iniciando su consumo 90 días antes del parto y representa un eficaz complemento alimenticio, proteico y energético para el desarrollo infantil.</p>	<p>El propóleo también sirve para infecciones del cutis, acné y puede aplicarse directamente al rostro en las partes afectadas. Sirve para todo tipo de infecciones y es un excelente antibiótico natural.</p>
--	---	--

1.2.5 Usos de la miel de melipona y sus componentes

Además de ser un excelente alimento para niños y ancianos como se vio en el acápite anterior, desde épocas remotas las diferentes etnias indígenas utilizaron la miel cosechada de las colmenas de melipóninos como un poderoso medicamento por sus propiedades antibióticas y cicatrizantes. Es por ello, y por su peculiaridades, que esta miel tiene un precio superior al de *A. mellifera* (Pat Fernández *et al.*, 2018; Fernandes *et al.*, 2020)

Entre las propiedades medicinales de la miel de melipónimos destaca su contenido de inhibinas, que impiden el desarrollo de hongos y bacterias, por lo que su uso cura o previene una infinidad de enfermedades. Se usa ampliamente para tratar tos, gripa, asma, dolor de estómago, cataratas y carnosidades de los ojos, así como golpes en la cabeza, infecciones y quemaduras de la piel; también es útil para estimular la producción de leche en mujeres lactantes (Pat Fernández *et al.*, 2018; Popova *et al.*, 2021).

A las propiedades físico-químicas, microbiológicas y organolépticas específicas de los productos de la meliponicultura se suma la creciente demanda de miel orgánica y la preocupación por el cuidado del ambiente por parte de los consumidores; todo ello redundando en la expansión de las oportunidades que ofrece esta actividad (Pat Fernández *et al.*, 2018). La miel es ampliamente utilizada en medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades oculares y cutáneas además sirven para el tratamiento de enfermedades respiratorias y digestivas. La alta humedad también favorece la formación de cierta cantidad de peróxido de hidrógeno y de ácido glucónico, compuesto con alto poder antibiótico y estudios recientes con productos de abejas sin aguijón, han demostrado que estos promueven mayor tasa de epitelización en heridas y efecto antiinflamatorio y antimicrobiano que la abeja europea o melífera (Rao *et al.*, 2016).

1.3 Características físico-químicas y microbiológicas de la miel de abejas melipona.

La miel es una sustancia dulce natural producida por diferentes abejas y otros insectos; a partir de la colecta de productos de plantas que emplean para su crecimiento y desarrollo, siendo los más importantes el néctar, polen, resinas y, en algunos casos, aromas de flores requeridos en cortejo y apareamiento (Villanueva-Gutiérrez *et al.* 2015); así como las secreciones de sus partes vivas o de las excreciones de insectos chupadores de las plantas. Los insectos lo recolectan, transforman y combinan con sus propias sustancias específicas, luego lo depositan, deshidratan y almacenan en el panal para madurar (Geisa y Hilgert, 2019).

La miel de abeja sin aguijón es un producto biológico muy complejo que se presenta como un líquido dorado o ligeramente marrón, translúcido, agrio y dulce, que consta de carbohidratos, proteínas, aminoácidos, lípidos, minerales, vitaminas, compuestos aromáticos, flavonoides, ácidos orgánicos, pigmentos, enzimas y fitoquímicos (Anusha *et al.*, 2020), la cual puede variar de acuerdo a variables de origen botánica, condiciones edafoclimáticas, especie de abejas y condiciones de almacenamiento (da Silva *et al.*, 2013; Nweze *et al.*, 2017; da Silva Cruz *et al.*, 2020;).

La proporción de los diferentes constituyentes de la miel, le confiere multitud de propiedades, tanto nutricionales como terapéuticas, pero las mismas estarán en función de la interacción planta-abeja; así pueden generarse productos de la colmena con diferentes características físicoquímicas, sensoriales, bioactivos y actividad antimicrobiana;

encontrándose en muestras de miel de abejas sin aguijón una composición química muy diversa independientemente de la especie de abeja (Albores-Flores *et al.*, 2021).

De igual forma, el color de la miel de abeja sin aguijón varía de una colonia a otra y el sabor depende de las plantas de las que recolectan el néctar (Kulkarni *et al.*, 2017). Las propiedades fisicoquímicas de la miel de abeja sin aguijón no están tan ampliamente estudiadas. La diversidad en las propiedades depende de la especie vegetal, condición nutricional, origen geográfico, factores climáticos y ambientales y de los grupos taxonómicos de especies de abejas (Shamsudin *et al.*, 2019; Witter *et al.*, 2021). De igual forma el hábito que conduce a la producción de esta llamada miel de tarro es diferente de *Apis mellifera*. En este caso, la miel no se almacena y madura en panales sellados, sino en tarros de miel especiales producidos por los géneros de las abejas sin aguijón. Como resultado, la composición fisicoquímica de esas mieles también es considerablemente diferente de la miel producida por *A. mellifera* (Dübecke y Schwarzingler, 2020), que puede detectarse más fácilmente utilizando tecnologías analíticas

1.3.1 Requisitos físico-químicos

Se incluyen dentro de las valoraciones de los indicadores sensoriales y físicos de las abejas sin aguijón los siguientes: sensoriales i) aspecto, ii) olor, iii) color, iv) sabor; físicos: i) la viscosidad, ii) pH, iii) acidez, iv) la humedad y v) la conductividad eléctrica (Fonte *et al.*, 2013; Chuttong *et al.*, 2016;).

El perfil sensorial y aceptación sensorial, así como la viscosidad de la miel depende de muchos factores, como la temperatura, la composición del producto y el contenido de agua. (Fernandes *et al.*, 2020); además la calidad sensorial de un alimento está relacionada con sus características y las condiciones etno-sociales e idiosincrásicas del consumidor (Geisa, Ciappini, y Hilgert, 2021). Por su parte, la conductividad eléctrica (CE) es un buen criterio para la clasificación de mieles monoflorales (Azonwade *et al.*, 2018).

Estos requisitos son muy similares a los que se establecen para la miel de la *Apis mellifera* en la (NC-371, 2020). Esta norma dentro de los organolépticos incluye: olor (característico de emanaciones florales, libre de olores extraños), sabor (dulce, característico, agradable. Recuerda a las plantas de que procede. Libre de sabores extraños,) aspecto (traslúcido, viscoso y uniforme. Sin efervescencia.) y color (Desde casi incoloro, pasando por varias tonalidades del amarillo y del ámbar) y entre los físicos se encuentran conductividad

eléctrica (no mayor de 0,8 mS / cm) acidez (no mayor de 50 meq / 1000 g) y humedad (no mayor de 20 %)

1.3.2 Composición química:

Dentro de la composición química se incluyen los siguiente indicadores: tiene las proteínas, azúcares totales (fundamentalmente fructosa, glucosa, maltosa, sacarosa), minerales, hidroximetilfurfural (HMF), fenoles y actividad de la diastasa (Dardón y Enríquez, 2008; Chuttong *et al.*, 2016; Brown *et al.*, 2020).

Para mieles de meliponas recién cosechadas sin tratamiento con destino a su normalización (de Seguridad Alimentaria, 2018), se reportaron los siguiente valores:

- Azúcares reductores (g/100 g): mín. 50
- Humedad (g/100 g): máx. 28
- Sacarosa aparente (g/100 g): máx. 4
- Cenizas (g/100 g): máx. 0,3
- Acidez libre (meq/kg): máx. 55
- Actividad diastásica (escala Göthe): mín. 2
- HMF (mg/kg): máx. 40

1.3.3 Requisitos microbiológicos

Los microorganismos como componentes de los criterios microbiológicos para los alimentos pueden ser agrupados en dos categorías (microorganismos indicadores y patógenos). Los organismos indicadores de la calidad higiénica, son microorganismos (o grupos) que advierten de un manejo inadecuado o contaminación y que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos, permitiendo un enfoque de prevención de riesgos. Los patógenos son aquellos que es probable encontrar en un alimento o ingrediente y de ese modo lo convierten en un vehículo potencial para su transmisión a los consumidores. Por lo tanto, serían indicadores de la seguridad sanitaria (Marin Mendez *et al.*, 2020; Odo *et al.*, 2020).

Teniendo en cuenta que las mieles de abejas nativas sin aguijón (ANSA) presentan un contenido de humedad superior al observado en mieles de *A. mellifera*, y que se trata de un alimento que será mantenido a temperatura ambiente por períodos relativamente prolongados de tiempo, se sugiere incluir en los requisitos microbiológicos la investigación de microorganismos esporulados, de manera que se garantice la seguridad de este alimento. Además, se deberá considerar en el rótulo la inclusión de la leyenda

“menores de 1 año no consumir”. A partir de lo expuesto, se detallan a continuación los requisitos microbiológicos y límites sugeridos para mieles de ANSA (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Requisitos microbiológicos de abejas nativas sin aguijón.

	Microorganismos	Tolerancia representativa
Indicadores de calidad higiénica (UFC/g)		
	Coliformes totales	n=5; c=2; m=10; M=10 ²
	Hongos y levaduras	n=5; c=2; m=10 ² M=10 ³
	<i>Clostridium</i> sulfito reductores	n=5; c=2; m=10; M=10 ²
Indicadores de la seguridad sanitaria (en 25 g de muestra)		
	<i>Salmonella spp.</i> – <i>Shigella spp</i>	n=10; c=0; m=0
	<i>Escherichia coli</i>	n=5; c=0; m=0
n: número de muestras analizadas; c: número máximo de muestras con valores entre m y M; m: límite que separa los alimentos aceptables de los marginalmente aceptables; M: límite que separa los alimentos marginalmente aceptables de los inaceptables.		

Los indicadores microbiológicos no difieren de los incluidos en caracterización de mieles melífera (Azonwade *et al.*, 2018), estos autores incluyeron el recuento total viable, coliformes totales, bacterias anaerobias reductoras de sulfito, *Salmonella spp.*, levadura y moho.

1.4 Interpretación de los indicadores de calidad físico químicos utilizados en la evaluación de la miel.

1.4.1 La prolina es uno de los principales aminoácidos libres que se encuentran en abundancia en miel, y se ensaya como un indicador de la madurez de la miel y para verificar adulteración (de Sousa *et al.*, 2016). Dado que la prolina también está relacionada con la fuente floral y la cantidad de polen presente en la miel podría ser útil para la caracterización de las fuentes botánicas de la miel, según la Comisión del *Codex Alimentarius* (2001), el límite de prolina para AMH debe ser ≥ 180 mg/kg, y todas las muestras de miel de abejas sin aguijón estudiadas cumplió con este límite.

El contenido de prolina de miel un criterio para su maduración y en algunos casos de adulteración. El valor normal debe ser superior a 200 mg/kg, porque por debajo de 180

mg/kg, significa que la miel es probablemente adulterados con azúcares añadidos (Bogdanov, 2010). En cuanto a la miel de los melipónidos, existen pocas investigaciones que determinen su contenido (de Sousa *et al.*, 2016) reportaron un rango entre 4,6 y 20,5 mg/kg para y mieles, que es un rango mucho más bajo en comparación con lo descrito por (Moo-Huchin *et al.*, 2015) con valores de 264,50 a 1193,70 para *M. beecheii* mieles, así como con el estándar miel de melíferas.

1.4.2 La invertasa se utiliza como indicador de la frescura de la miel o del almacenamiento prolongado de la misma, debido a su alta sensibilidad al calor y tendencia a deteriorarse con el tiempo. La baja actividad enzimática detectada para algunas de las muestras estudiadas, recién obtenidos de los tarros de miel, pueden ser considerados como un característica natural para abejas sin aguijón, en lugar de un índice de escasez de frescura o almacenamiento prolongado. Por lo tanto, el uso de la actividad enzimática como indicador de frescura, como se usa comúnmente para miel de abejas melíferas, puede no ser aplicable para la obtenida de abejas sin aguijón (Nordin *et al.*, 2018).

1.4.3 HMF es un indicador importante de calidad de la miel, ampliamente utilizado como indicador de *Food Chemistry* 366 (2022) 130597 de la frescura y adulteración de la miel de fuentes externas, según (Mokaya *et al.*, 2022). El HMF generalmente está ausente en la miel recién cosechada, pero tiende a aumentar con el tiempo. Este es formado por la descomposición de azúcares simples, especialmente fructosa. Normalmente, bajo condiciones de almacenamiento adecuadas y bajas temperaturas, se forma lentamente, pero cuando la miel se expone a altas temperaturas, malas condiciones de almacenamiento o la adición de sacarosa hervida, el HMF aumenta (Pacias *et al.*, 2017; Shapla *et al.*, 2018).

El contenido de HMF se ha fijado en no más de 40 mg/kg en una miel de *Apis mellifera* de buena calidad, este indicador es variable entre las especies de abejas sin aguijón (Chutlong *et al.*, 2016; Lemos *et al.*, 2018), no obstante en el Estándar de Malasia, el umbral se redujo a menos de 30 mg/kg. (Malaysian-Standards, 2017).

1.4.4 Fitoquímicos en la miel o compuesto fenólico, la presencia de fenoles vegetales es un indicador de una miel de buena calidad (Ranneh *et al.*, 2018), ya que se han asociado con la mayoría de las propiedades biofuncionales de la miel, como inmunoestimulación, antimicrobiana, anticancerígena, antiinflamatoria y antioxidante (Cianciosi *et al.*, 2018). El ácido benzoico, el ácido fenilpropanoico, el ácido 4-hidroxibenzoico, el ácido 4-hidroxifenilacético, el ácido vanílico, el ácido protocatequico y el ácido p-cumárico se

encuentran entre los indicadores sugeridos de una miel de buena calidad (Malaysian-Standards, 2017). Dos estudios informaron la presencia de compuestos fenólicos individuales en su muestra de miel de abeja sin aguijón (da Silva *et al.*, 2013; Alvarez-Suarez *et al.*, 2018). Ambos estudios detectaron la presencia de 14 compuestos fenólicos diferentes en sus muestras de miel de *Melipona seminigra* y *Melipona beecheii*. Sin embargo, solo dos compuestos fenólicos, ácido cumárico y luteolina, fueron compartidos por ambas muestras (Nordin *et al.*, 2018).

1.4.5 Conductividad eléctrica, la conductividad de la miel se debe a la presencia de minerales, sales, proteínas, ácidos orgánicos y otros compuestos orgánicos. Se utiliza junto con otros requisitos como el ensayo palinológico para determinar el origen floral de la miel. Se registran fuertes correlaciones positivas entre la conductividad eléctrica y los fitoquímicos presentes en la miel, que son compuestos orgánicos. En las abejas sin aguijón, la conductividad eléctrica varía de 0,102 mS/cm a 8,770 mS/cm (Solayman *et al.*, 2016; Nordin *et al.*, 2018).

1.4.6 pH y acidez libre, la miel es de naturaleza ácida, con un pH que oscila entre 3,2 y 4,5 (Solayman *et al.*, 2016). El pH de la miel ha sido útil en la determinación de su origen geográfico. En general, el pH de la miel de abeja sin aguijón oscila entre 3,15 y 6,64. El bajo pH de la miel es importante ya que inhibe el crecimiento de microbios y, por lo tanto, mantiene la estabilidad y la vida útil de la miel (Lage *et al.*, 2012). No existe un estándar internacional en términos de pH, sin embargo, el Estándar de Malasia ha establecido un rango de pH aceptable de 2,5 a 3,8 para la miel de abejas sin aguijón. La acidez de la miel se deriva de los ácidos orgánicos, particularmente el ácido glucónico, que varía entre las muestras en función de la composición floral, la especie de abeja y la tasa de fermentación de azúcares a alcohol y posterior oxidación a ácidos carboxílicos (Lage *et al.*, 2012). Se registró una fuerte correlación negativa ($r^2 = -0.605$) entre el pH y la acidez libre, lo que implica que a menor pH, mayor acidez libre y viceversa. Al igual que el pH bajo, la alta acidez libre de la miel es crucial, ya que frena el desarrollo microbiano (Lage *et al.*, 2012). El valor de acidez libre tiene un amplio rango de variación entre especies de *Melipona* (Chuttong *et al.*, 2016).

1.4.7 Actividad de agua (a_w) y contenido de humedad. La actividad del agua representa el agua disponible para el crecimiento microbiano en los alimentos, y 0,6 es la a_w mínima para que la levadura osmófila prospere y provoque una fermentación no deseada. A pesar

de su alto contenido de a_w , la miel de abejas sin aguijón es relativamente resistente a la fermentación debido a su bajo pH y alta acidez libre, lo que impide el crecimiento de microbios. La humedad alta podría favorecer la fermentación no deseada de la miel durante el almacenamiento causada por la levadura osmófila, por lo que es un criterio de control de calidad útil (Nordin *et al.*, 2018). Las muestras de las diferentes especies de abejas melíponas tienen valores de humedad superiores, al límite recomendado ($\leq 20\%$), para miel de melíferas (CODEX, 2001).

Los factores ambientales durante la cosecha se encuentran entre los determinantes del contenido de humedad de la miel. Por lo tanto, el alto contenido de humedad en SBH puede deberse a la naturaleza de su hábitat, es decir, las regiones tropicales y subtropicales húmedas (Moniruzzaman *et al.*, 2014).

1.4.8 Contenido de cenizas. El contenido de cenizas de la miel se correlaciona con su contenido mineral y está influenciado por la composición del néctar de la planta de origen. La planta productora de néctar original absorbe los minerales del suelo, que eventualmente terminan en el néctar (Felsner *et al.*, 2004). Esto da una idea de la calidad de la miel en términos de contaminantes inorgánicos, como pesticidas (Moniruzzaman *et al.*, 2014). El contenido de cenizas de la miel de abejas sin aguijón varía desde 0,01 g/100 g hasta 3,1 g/100 g de miel (Nordin *et al.*, 2018).

1.4.9 Contenido de azúcar. Los carbohidratos en forma de azúcares son los principales constituyentes de la miel (Sato y Miyata 2000). Se informa con frecuencia que los azúcares reductores fructosa y glucosa, constituyen la porción mayoritaria del azúcar en la miel (Solayman *et al.*, 2016). En la miel de abejas sin aguijón, la suma de azúcares reductores va de 12,5 g/100 g a 75,7 g/100 g, con media de 57,79 g/100 g y desviación estándar de 16,23 g/100 g (Nordin *et al.*, 2018).

Según los estándares establecidos por la IHC (*International Honey Commission*, por sus siglas en Inglés), una miel de buena calidad debe tener una suma de fructosa y glucosa no inferior a 60 g/100 g. Se ha informado que las abejas sin aguijón contienen un contenido de azúcar más bajo en comparación con la miel de *Apis mellifera*. En respuesta, (Vit *et al.* 1994) ha bajado el umbral para las abejas sin aguijón a 50 g/100 g. Para las Normas de Malasia, se estableció un umbral máximo para regular la adulteración de la miel. En Malasia, una miel comercializada no debe tener una suma de fructosa y glucosa superior a 85 g/100 g.

1.4.10 Actividad enzimática. Se han seleccionado dos enzimas clave para la validación de la calidad de la miel: diastasa e invertasa. Diastasa es el nombre común de la enzima alfa-amilasa. Está naturalmente presente en la miel y la actividad tiende a reducirse con el tiempo. Por lo tanto, la actividad de la diastasa suele utilizarse como indicador de la frescura de la miel (Pacias *et al.*, 2017).

La enzima invertasa no está incluida en todos los estándares de calidad de la miel, probablemente porque la misma es más susceptible al daño por calor que la diastasa. Esto conduce a una vida media más corta, lo que dificulta su utilización como requisito de calidad

1.4.11 Nitrógeno. La medida de nitrógeno representa el contenido de proteína bruta en la miel. Esta proteína puede incluir las enzimas que son cruciales en la formación de la miel (Anklam 1998). El contenido de nitrógeno suele estar reducido o ausente en la miel adulterada, sobrecalentada o excesivamente almacenada (Almeida-Muradian *et al.*, 2007). En las abejas sin aguijón, el contenido de nitrógeno informado oscila entre 107 mg/100 g y 816 mg/100 g con una media de 323 mg/100 g y una desviación estándar de 184 mg/100 g (Nordin *et al.*, 2018).

1.4.12 Sólidos Solubles. Los sólidos solubles en la miel incluyen azúcares, ácidos orgánicos y minerales. El valor de este parámetro revela la relación entre el contenido de agua y azúcar (Biluca *et al.*, 2016). En general, el valor de sólidos solubles en la miel de abejas sin aguijón es menor que en la miel de *Apis mellifera* debido al mayor contenido de agua y al menor contenido de azúcar. Esto es evidente porque el valor varía de 64,5 Brix a 75,8 Brix en la abeja sin aguijón en comparación con la miel de *Apis mellifera* que varía de 78,77 Brix a 316,92 Brix. En abeja sin aguijón, los valores de sólidos solubles tienen una media de 70,39 Brix y una desviación estándar de 3,83 Brix.

1.4.13 Minerales. En la miel de *Apis mellifera*, se informa con frecuencia que el contenido mineral de la miel se relaciona con el beneficio nutricional de la misma (Solayman *et al.*, 2016). En miel de abeja sin aguijón se evaluó el contenido mineral en 65 muestras. Un total de 14 minerales han sido estudiados por 6 grupos de investigación, donde se incluye el potasio (K), sodio (Na), calcio (Ca), magnesio (Mg), manganeso (Mn), fósforo (P), hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn), bario (Ba), cadmio (Cd), plomo (Pb), arsénico (As) y mercurio (Hg) (Fuenmayo *et al.*, 2013; Abu *et al.*, 2017; Kek *et al.*, 2017). Se detectaron cuatro minerales principales en la miel de abeja sin aguijón, que son K, Na, Ca y Mg. Se encontró

que los minerales más abundantes en la miel de abejas sin aguijón eran K, con un rango de 45,9 mg/100 g a 1357,76 mg/100 g. Le sigue el Na, que va de 0,78 mg/100 g a 589,7 mg/100 g. Le sigue el Ca, que va de 3,85 mg/100 g a 199,6 mg/100 g, y finalmente el Mg, que va de 1,15 mg/100 g a 73,76 mg/100 g. No se han establecido estándares específicos en términos del contenido mineral de las mieles de abejas sin aguijón.

En mieles florales, los minerales proceden directamente del suelo y representan un bajo porcentaje de su composición (- 0,2 %) (Silva *et al.*, 2017a). El metal más representativo es el potasio (K) y lo preceden sodio (Na), calcio (Ca) y magnesio (Mg). Algunos microelementos como hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn) también están presentes en niveles intermedios o traza. En función del manejo agroecológico del suelo, además, es posible identificar la presencia de metales tóxicos, tales como plomo (Pb), cadmio (Cd), arsénico (As), mercurio (Hg) y cromo (Cr) (Silva *et al.*, 2017b; Laaroussi *et al.*, 2020; Mračević *et al.*, 2020;).

1.4.14 Color. El color de la miel puede variar de amarillo pajizo a casi negro. Esta propiedad depende del contenido de minerales, polen y fenoles de la miel (Solayman *et al.*, 2016). El color de la miel varía mucho según su origen geográfico. El método de producción y las prácticas agrícolas también pueden influir en el color de la miel. En las abejas sin aguijón, el color de la miel varía de 26 Pfund a 150 Pfund cuando se mide con un fotómetro. Los datos tienen una media de 92,9 Pfund y una desviación estándar de 38,92 Pfund (Nordin *et al.*, 2018).

El color de la miel de abeja depende de los pigmentos naturales, principalmente flavonoides y carotenos, provenientes de las plantas de las cuales se originó el néctar. Además del color, los flavonoides y carotenos de las plantas le confieren a la miel de abeja una elevada capacidad antioxidante. No obstante, el color de la miel de abeja depende de varios factores y su importancia radica desde el punto de vista comercial (el precio se fija de acuerdo con el color). Para el caso de la miel de abeja destinada al mercado europeo, el color se determina de acuerdo con la escala Pfund (mm). Esta escala tiene las siguientes categorías: blanca agua (0-8 mm), extra clara/blanca (9-17 mm), clara/blanca (18-34 mm), ámbar extra claro (35-50 mm), ligeramente ámbar/claro (51-85 mm), ámbar (86-114), y oscura (\geq 155 mm) (CODEX, 2019b; Castillo Martínez, 2021).

1.5 Normalización en Cuba y normativa de la miel de abejas.

La Normalización es la actividad a través de la cual se generan las normas técnicas y otros documentos normativos relacionados; en el caso de Cuba se desarrolla en correspondencia con el Plan Nacional de Desarrollo Económico y Social. Por su parte, la Sociedad Estadounidense Para las Pruebas y los Materiales (del inglés *American Society for Testing and Materials*, y abreviada como ASTM) define la normalización como el proceso de formular y aplicar reglas para una aproximación ordenada a una actividad específica para el beneficio y con la cooperación de todos los involucrados.

La Oficina Nacional de Normalización (ONN), conocida también como NC, rige su trabajo por el Decreto Ley No 8 "De normalización, metrología, calidad y acreditación" (GOC-DL8, 2020), el cual declara en su artículo 3 que tiene en cuenta las tendencias actuales y las regulaciones de la Organización Mundial del Comercio; y persigue entre otros propósitos generales, facilitar el comercio nacional e internacional. Esta oficina es la encargada de rectorar la normalización en Cuba y de representar al país en materias de normalización, metrología y control de la calidad. Tiene dentro de sus funciones, según lo establece su directiva (ONN, 2020a), contar con un Programa Nacional de Normalización que le permite la elaboración de documentos de forma planificada, aunque en caso necesario por necesidad urgente del mercado puede dar un tratamiento diferenciado. Para esto se puede apoyar en los Comités Técnicos de Normalización (CTN) o en caso justificado puede delegar a otra entidad la responsabilidad de elaborar el documento (ONN, 2021). La aprobación de las Normas Cubanas es competencia de la ONN y se basa en las evidencias del consenso de las partes interesadas

Sin embargo, en Directivas NC. Disposiciones para el trabajo técnico. Parte 2: Normas ramales, empresariales y otros documentos relacionados (ONN, 2020b), aclara que el registro de las normas y otros documentos relacionados ramales y empresariales, así como de sus modificaciones y derogaciones, son responsabilidad de las entidades que las aprueban, en sus respectivos niveles, y que por su carácter legal, recomiendan que se lleve a cabo por la representación jurídica de dichas entidades.

En Cuba existen actualmente 113 CTN, y 26 de ellos están dedicados al tema de Alimentos, el CTN-120 es el que corresponde para miel de abejas (Montenegro *et al.*, 2017). El código de identificación del CTN se asigna por la ISO, ante propuesta de la Oficina Nacional de Normalización, a los fines de la trazabilidad documental.

Los miembros de los CTN deben ejecutar sus acciones mediante un trabajo colectivo y consensuado, y ser a su vez portadores de los criterios técnicos de sus respectivos organismos y entidades, y estar dotados de un profundo conocimiento de la actualidad científico-tecnológica-comercial del tema que se trate en la actividad normativa (Montenegro *et al.*, 2017).

La norma se define como el documento, establecido por consenso y aprobado por un organismo reconocido, que proporciona, para uso común y repetido, reglas, directrices o características para las actividades o sus resultados, destinado al logro de un grado óptimo de orden en un contexto dado (ONN, 2020c); dentro de ella, se definen los tipos de normas que se utilizan en el país (ONN, 2020a).

Norma Cubana: Norma basada en las evidencias del consenso, aprobada por la Oficina Nacional de Normalización (ONN) y puesta a la disposición del público, que ofrece para uso común y repetido reglas, lineamientos o características de las actividades o sus resultados, destinada al logro de un grado óptimo de orden en un contexto dado.

Norma ramal: Norma aprobada por el nivel jerárquico máximo de la rama correspondiente o en quien este delegue.

Norma empresarial: Norma aprobada por el nivel jerárquico máximo de una OSDE, una empresa u otra entidad estatal correspondiente o en quien este delegue.

Para el trabajo con la miel de la abeja *Apis mellifera* APICUBA cuenta con 2 normas; la Norma Ramal (NRAG-18, 2021) para la miel materia prima proveniente del campo y la Norma Cubana (NC-371, 2020) para la miel beneficiada; aunque todavía no se cuenta con una norma para la miel de abeja *Melipona beecheii*; sí se ha comenzado la realización de estudios de muestras con ese fin así como la publicación de un Manual de Meliponicultura en Cuba (Lóriga *et al.*, 2020).

1.6 Criterio de expertos – Método Delphi

El método Delphi es una técnica estructurada, desarrollada originalmente como un método de pronóstico interactivo y sistemático que se basa en un panel de expertos (Dalkey y Helmer, 1963; Delbecq *et al.*, 1975). Según la antigua regla de que "dos cabezas piensan mejor que una" (Dalkey y Helmer, 1963), el Delphi es un proceso de comunicación grupal estructurado (Linstone y Turoff, 1975).

De este modo, cuando ninguna de las herramientas disponibles se adapta a los objetivos particulares de una pregunta de investigación, surge la opción de elaborar una herramienta

propia. Una de las opciones es utilizar el método Delphi, mediante el cual el cuestionario es elaborado a través de la consulta a expertos en el tema de interés.

El método Delphi, cuyos inicios se remontan a mediados del siglo pasado, es una técnica de obtención de información que se basa en la consulta estructurada reiterada a expertos de un área. Cada una está basada en los resultados de la consulta previa, con el fin de obtener una opinión de consenso con las contribuciones repetidas de todo el grupo. Se trata de un proceso iterativo con anonimato de las respuestas para otros miembros del grupo, en el que se lleva a cabo una retroalimentación estructurada y un análisis estadístico de las respuestas del grupo. De este modo, permite la participación de sujetos dispersos geográficamente y evita la confrontación directa de los expertos entre sí, así como la influencia de miembros dominantes dentro del grupo (Andrés García *et al.*, 2020).

Este método permite unificar un conocimiento incrementado por la participación de los distintos especialistas, a la vez que facilita llegar a un nivel de acuerdo de forma estructurada mediante la consolidación del pensamiento del grupo. Ha sido ampliamente utilizado en diferentes áreas, entre las que destacan la salud, la educación y la administración, generalmente para identificar problemas, indicadores o recursos de un área de interés, y es una técnica muy adecuada para la exploración de elementos que supongan una mezcla de evidencia científica y de valores sociales (Vio *et al.*, 2016). Además, se ha analizado su uso como estudio de la validez de contenido y ha sido la técnica utilizada en numerosas ocasiones para el diseño y validación de cuestionarios (Rodríguez Perón *et al.*, 2010).

Lo esencial de la técnica es la búsqueda de consenso entre los expertos de una rama de la ciencia, a partir de la organización de un diálogo individual y secreto con respecto a una propuesta hecha por uno o más investigadores. La técnica posee múltiples ventajas dentro de los métodos subjetivos de pronóstico. Su confiabilidad radica en que fomenta la creatividad, garantiza la libertad de opiniones sobre la base del anonimato y la confidencialidad, y permite valorar alternativas de decisiones sin incentivar conflictos entre los expertos a través la respuesta estadística de grupo (Álvarez y Torrado-Fonseca, 2016; Mathias, 2021).

Para la técnica se describen dentro de otras, las etapas siguientes: (García Valdés y Suárez Marín, 2013; Goodarzi *et al.*, 2018); i) Definición del objetivo de la consulta de expertos; ii) Elaborar el listado de candidatos; iii) Determinar el número de expertos; iv)

Determinación del Coeficiente de Competencia, selección de los expertos y aplicación de los instrumentos; v) Valoración de la pertinencia del objeto de estudio mediante el criterio de expertos; vi) Fiabilidad y consistencia del instrumento y vii) Nivel de Consenso de los Expertos (García Valdés y Suárez Marín, 2013; León *et al.*, 2016; Collet *et al.*, 2019). A partir de los criterios de los expertos se pueden obtener diferentes salidas en función del alcance y objetivo del estudio i) frecuencias absolutas, ii) frecuencias acumuladas, iii) matriz de las frecuencias relativas acumuladas, iv) los puntos de corte, v) opiniones más reiteradas; y vi) el nivel de consenso de los expertos acerca del objeto de estudio (C) la cual se determina por la expresión: $C = (1 - Vd / Vt) \times 100$; donde C: Coeficiente de concordancia. Si $C = 75 \%$, se considera que hay consenso. Vd: Votos negativos; Vt: Votos totales.

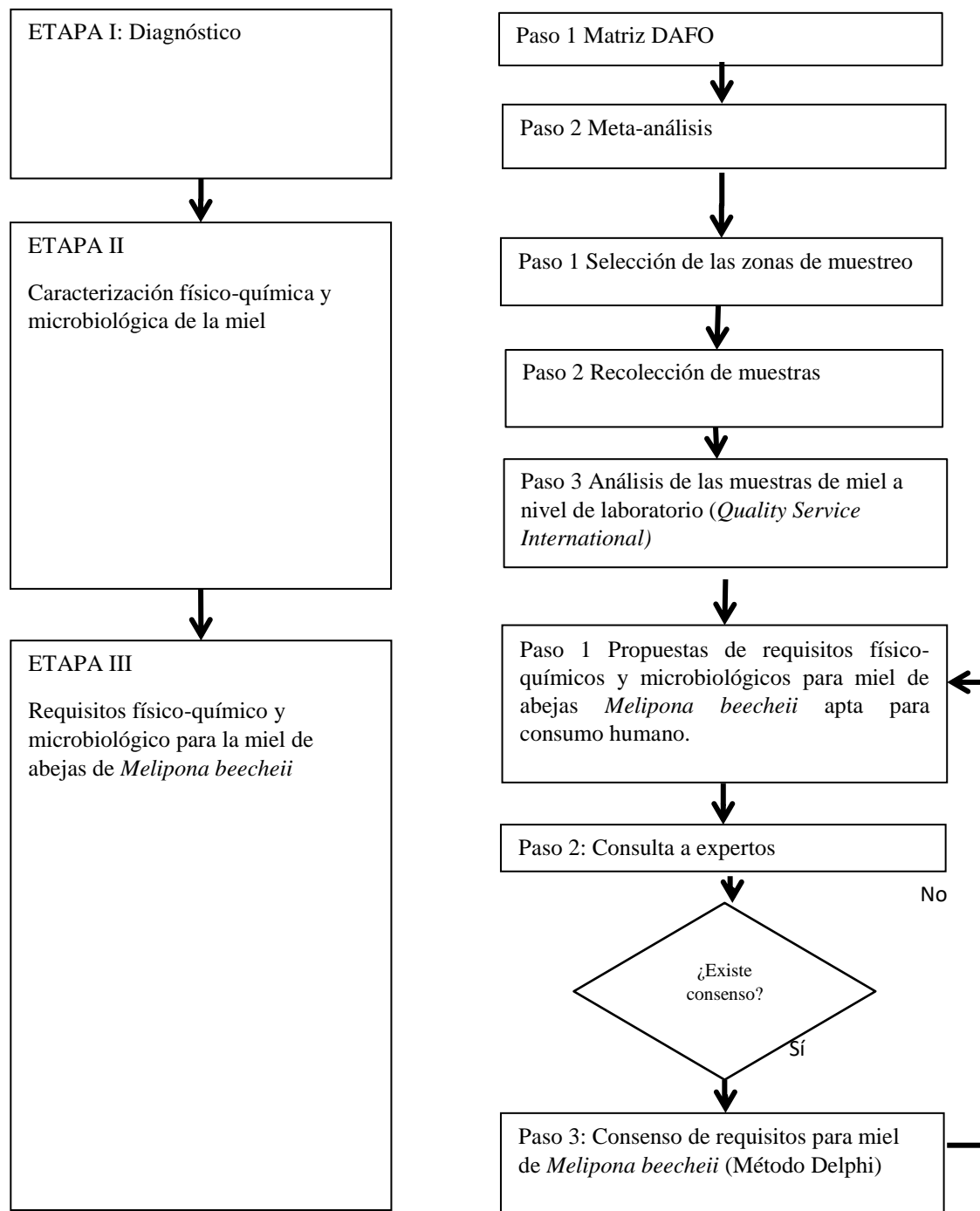
CAPÍTULO NO. 2. DISEÑO METODOLÓGICO PARA LA PROPUESTA DE REQUISITOS DE CALIDAD DE LA MIEL DE *MELIPONA BEECHEII* EN CUBA.

2.1 Introducción.

Cuba cuenta con una sólida cadena de la miel de abeja procedente de la especie *Apis mellifera* (Pérez-Piñeiro, 2017), a partir de lograr un producto con calidad y el cumplimiento de toda la base legislativa, reglamentaria y normativa que exigen sus clientes. No obstante, la empresa se proyecta para la diversificación de su cartera de productos; sobre todo los que cuenten con mayores potenciales, como es el caso de la miel procedente de la especie *Melipona beecheii*, única especie reportada en el país, o como se conoce comúnmente, miel de la tierra o abeja sin aguijón (Genaro y Lóriga, 2018). Para el diseño metodológico sobre la caracterización físico-química y microbiológica de la miel de *Melipona beecheii* de las principales regiones productoras del país que contribuyan junto con otros estudios previos a definir especificaciones técnicas y de calidad para una propuesta que sirva como referente en el diseño de una norma sobre esta miel; se elaboró un procedimiento que cuenta con 3 etapas y 8 pasos en total (Figura 2.1); las cuales se describen seguidamente.

Figura 2.1 Procedimiento para la elaboración de una propuesta que sirva como referente para el diseño de una norma de miel de *Melipona beecheii* en Cuba.

.Fuente: “Elaboración Propia”.



2.2. Etapa I. Diagnóstico

Paso 1. Matriz DAFO

Este método se utiliza para explorar las debilidades, amenazas, fortalezas y oportunidades relacionadas con las agrocadenas y para ello se siguió el procedimiento descrito por (Trejo *et al.*, 2016 ; Rafeeian y Taji, 2017); en el presente estudio se aplicó dentro de la cadena apícola a los aspectos de calidad y normativa de la miel de abejas Melipona.

Para el desarrollo del estudio, se utilizaron diferentes métodos, técnicas y herramientas donde se incluyeron, el análisis documental, entrevistas y trabajo en grupo. En las entrevistas participaron seis especialistas que laboran en diversas ramas vinculadas a la apicultura. Se tuvo en cuenta además la opinión de expertos en el tema relacionada con los factores externos a la empresa; todo esto con el objetivo de determinar las principales fortalezas, debilidades, amenazas y oportunidades que representa para APICUBA tener una norma para la comercialización de la miel de Melipona.

Paso 2. Meta-análisis

El meta-análisis es una herramienta estadística de gran valor cuyo objetivo es sistematizar, sintetizar, integrar y contrastar los resultados de un gran número de estudios primarios que investigan las mismas preguntas. Como resultado, el meta-análisis genera una estimación más precisa del tamaño del efecto de un particular evento con mayor poder estadístico del que es posible lograr usando un solo estudio (Herrera–Dueñas y Pineda–Pampliega, 2020).

Partiendo de esa consideración el país debe trabajar en la inclusión de la miel de *Melipona beecheii* en su Código Alimentario y para ello se requiere enfocar los estudios hacia requisitos físico químicos y microbiológicos que a nivel internacional se manejan en la caracterización y estandarización de la miel de abejas sin aguijón; por lo que se planteó como objetivo en esta tarea un meta-análisis para resumir cuantitativamente los requisitos físico-químicos de la miel de abejas sin aguijón, proveniente de Sudamérica, América Central y el Caribe y otras partes del mundo, que pueda usarse como base para establecer los requisitos de calidad en Cuba. Este meta-análisis se realizó de acuerdo a las guías del *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Moher *et al.*, 2015).

Estrategia de búsqueda

Para el desarrollo del meta-análisis se revisaron artículos y documentos científicos disponibles en bases de datos en línea (*PubMed, ScienceDirect, Scopus, Web of Science* y

Google académico), vinculados con la caracterización físico-química y microbiológica de la miel de abejas nativas sin aguijón, específicamente *Melipona beecheii*. Se buscó con las palabras clave “estándares físico químicos y microbiológicos” "caracterización/requisitos físico químicos y microbiológicas", “normativas” y luego la combinamos con "abejas nativa sin aguijón, abeja de la tierra, abeja melipona, y en particular *Melipona beecheii*". Todas las búsquedas se realizaron entre 2019 y 2021.

Criterios de inclusión

La abeja sin aguijón también se conoce como abeja de la tierra, Kelulut, *Trigona* spp, *Melipona* spp., *Meliponine* spp en otra literatura. No hubo exclusión de ningún período durante la búsqueda y no se aplicaron restricciones de idioma. Los resúmenes de todos los artículos recuperados se leyeron cuidadosamente y se incluyeron estudios que evaluaron las características físico-químicas y microbiológicas de las abejas sin aguijón y las referencias de normas establecidas. Centrando el análisis en la *Melipona beecheii*, única especie identificada en Cuba.

Criterios de exclusión

Se excluyeron del estudio los informes de literatura sobre resultados y análisis de otras especies diferentes a la del interés de estudio propóleos y el estudio *Melipona beecheii*.

Selección de estudios

Los "artículos científicos" incluidos en el meta-análisis fueron seleccionados con base en los siguientes criterios: estudios observacionales y publicados en revistas referenciadas o contenidas en repositorios institucionales. Las muestras analizadas debían provenir fundamentalmente de países pertenecientes a Sudamérica, América Central y el Caribe. Cuando en un mismo artículo se informaban características de diferentes especies de abejas meliponas, solo se tomó la de *M. beecheii*. De manera similar, cuando un artículo científico informaba los resultados derivados de diferentes condiciones (es decir, país y localidad de origen, momento del muestreo, origen floral de la miel, metodología para determinar las características físico-químicas, o estimación de las mismas en diferentes años), cada condición fue considerada como un estudio individual. Entonces, un artículo científico podría haber incluido varios estudios. Los estudios debían informar al menos alguna de las características físico-químicas de interés para ser incorporados en el meta-análisis.

Variables de respuesta

Las variables de respuesta empleadas en el meta-análisis fueron: azúcares reductores (g/100 g), fructosa (g/100 g), glucosa (g/100 g), sacarosa (g/100 g), humedad, pH, acidez libre, HMF, cenizas/minerales, azúcares reductores, actividad diastásica, azúcares totales, sacarosa aparente, color y conductividad eléctrica (mS/cm).

Extracción de datos

Los datos se extrajeron del texto completo de los estudios primarios seleccionados, mediante el uso de Hoja de cálculo de Excel. La información sobre el diseño del estudio, país, año de publicación, año del muestreo, especie de la melipona muestreada, origen de las muestras, metodología para determinar los requisitos físico-químicos de interés y las variables de respuesta, fueron extraídos de cada artículo. En este meta-análisis se consideró el año de publicación en lugar del año de realización del muestreo. Normalmente, el año de publicación de un artículo no dista demasiado del año de recolección de las muestras.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó empleando el programa Comprehensive Meta-analysis versión 2.2 (2011). Dado que las variables de respuesta eran de escala, los resultados se presentaron como estimación media de cada parámetro a evaluar (punto estimado), error estándar y su correspondiente intervalo de confianza (95%).

La heterogeneidad entre los estudios se evaluó utilizando los test *Der Simonian* y *Laird* (estadística Q). El grado de heterogeneidad se cuantificó mediante el índice de inconsistencia (I² - Estadística). Se realizó un análisis de sensibilidad para evaluar la solidez de los resultados del meta-análisis y para examinar los efectos de los estudios, identificándose como aberrante o altamente influyente en el resultado del análisis. Esto consiste en completar el mismo análisis, pero incorporando un estudio nuevo en cada iteración.

2.3. Etapa II. Caracterización físico-química y microbiológica

Paso 1. Selección de las zonas de muestreo

Este estudio se llevó a cabo en 5 provincias representativas de las tres zonas del país, (occidente, centro y oriente). El estudio se centró en áreas donde existe un alto potencial de explotación de la abeja sin aguijón, experiencia en su manejo y diversa composición floral; la distribución de las muestras recolectadas se refleja en la tabla 2.1

Las condiciones ambientales registradas en el período del muestreo (noviembre 2021 – marzo 2022) tuvo como promedio: temperatura $23,7 \pm 1,19$ °C; humedad relativa $77 \% \pm 4,0$ y precipitación $47,78 \text{ mm} \pm 944,61$.

Paso 2 Recolección de muestras

Se recolectaron 9 muestras de miel provenientes de 5 provincias del país (Cuba), correspondientes en todos los casos, a apiarios de la especie de abejas nativas sin aguijón, *Melipona beecheii* Bennett. Los apiarios utilizaban para su cría colmenas tradicionales en troncos y colmenas en cajas tecnificadas que los meliponicultores mantienen en sus casas. La toma de muestra se realizó durante los meses de noviembre 2021 a marzo de 2022.

Tabla 2.1. Distribución de las muestras de *Melipona beecheii* por municipio y provincias de Cuba.

No.	Municipio	Provincia	Zona
1.	Fomento	Sancti Spíritus	Centro
2.	Yaguajay		
3.	Trinidad		
4.	Majagüa,	Ciego de Ávila	
5.	Majagüa		
6.	Camajuaní	Villa Clara	
7.	Cifuentes		
8.	Bolondrón,	Matanzas	Occidente
9.	Camagüey	Camagüey	Oriente

Las muestras se recolectaron siguiendo los protocolos de higiene (materiales descontaminados, recipientes limpios y secos, equipo de protección, etc.), para asegurar su integridad. La miel de las colmenas de cajas se obtuvo con una jeringa desechable (20 ml) a la cual se adaptó una pequeña manguera fina que permitía tomar la miel directamente de los potes sellados, mientras que la miel de las colmenas en troncos fue obtenida rompiendo los potes y decantándola. Posteriormente, la miel fue filtrada a través de un tamiz de malla con material estéril para eliminar los contaminantes físicos y se colocó en recipientes plásticos igualmente estériles con un tamaño adecuado al volumen extraído (50 ml). Las abejas sin aguijón producen miel en cantidades reducidas, para la mayoría de las muestras fue

necesario agruparlas dentro de la zona para obtener una cantidad suficiente de miel para su análisis. Como resultado, se obtuvo 9 muestras de miel representando 5 provincias (tabla 2.1), y se almacenaron en el refrigerador (4 ° C), evitando la exposición lumínica hasta su envío y análisis de laboratorio.

Paso 3 Análisis de las muestras de miel a nivel de laboratorio

2.3.1 Características físico-químicas.

Las muestras se enviaron al Laboratorio de referencia alemán (*Quality Service International, QSI*) y las mismas fueron trabajadas según los métodos de la *Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2018)*, *International Honey Commission (IHC) (IHC, 2009)*, y los protocolos estándar para cada requisito respectivo. Cada característica físico-química se analizó con tres repeticiones bajo cada procedimiento respectivo.

Reactivos y soluciones

Todos los reactivos y productos químicos fueron de grado analítico, los solventes eran de pureza cromatográfica y el agua se purificó por desionización. Los reactivos utilizados fueron estándar (fructosa, glucosa, sacarosa), acetonitrilo, etanol, bisulfato de sodio, tampón de acetato e hidróxido de sodio (NaOH), adquiridos de Sigma-Aldrich (EE. UU.). Las soluciones de Carrez I y II se adquirieron de Merck (Alemania). El cloruro de sodio y el yodo se obtuvieron de R&M (Malasia). El agar de recuento en placa (PCA), el agar de glucosa de bilis rojo violeta (VRGB), el agar de dextrosa Sabouroud (SDA) y el agar Mueller Hinton se adquirieron de Oxoid, Reino Unido. Finalmente, el cloranfenicol se obtuvo de Nacalai Tesque (Japón) (Julika *et al.*, 2019).

Métodos analíticos para determinar requisitos físico-químicos en miel

Los requisitos examinados incluyeron humedad (g/100 g), conductividad eléctrica (mS/cm), pH, acidez total (meq/kg), actividad diastasa (U Schade), azúcares reductores (g/100 g) e hidroximetilfurfural-HMF (mg/kg), color (mm Pfund) e Invertasa (U/kg). Todos los análisis se realizaron por duplicado (Chuttong *et al.*, 2016).

La humedad de la miel se determinó por refractometría (Abbe Tropfenmodell I (Carl Zeiss Jena, Alemania), según el método 932.12 (AOAC 2006). El contenido de humedad se obtuvo mediante la ecuación de Wedmore, con el rango expresado en porcentaje (%). Todas las mediciones se realizaron a 20 °C, según protocolo descrito por (Albu *et al.*, 2021).

La **conductividad eléctrica** de la miel se determinó de acuerdo con la Comisión Internacional de la Miel medida en una solución de miel al 20 % (p/v); 2 g de miel de abeja sin aguijón disueltos en 10 ml de agua destilada, usando el multiparámetro MULTI 3320 (fabricante: WTW GMBH, Weilheim, Alemania).. La lectura se determinó sumergiendo el sensor en la solución.

La acidez libre y el pH se midieron según el método AOAC 962.19 (AOAC, 2006). La acidez libre se determinó por el método volumétrico, en el cual se disolvieron $10 \pm 0,5$ g de miel en 75 mL de agua desionizada, y esta solución se tituló con solución de NaOH 0,1 mol L-1 hasta que el pH llegó a 8,5. El pH se determinó utilizando un medidor de pH con microprocesador disolviendo 1,0 g de muestra de miel en 7,5 ml de agua destilada.

La medida de la **actividad diastasa** siguió el método 920.180 (AOAC, 2012), colocando 5 g de miel en un vaso de precipitados de 20 ml y diluyendo con 10 ml de agua destilada y 2,5 ml de tampón de acetato (1,59 M, pH 5,3); donde una solución tamponada de almidón y miel se mantuvieron en baño maría (40 °C) por el tiempo requerido para obtener una absorbancia menor a 0,235 nm. La diastasa es la enzima responsable de convertir el almidón en dextrinas y azúcares. Las abejas lo añaden a la miel madura. El número de diastasa expresa la actividad diastasa como el número de ml de una solución de almidón al 1% hidrolizada por la enzima en 1 g de miel en 1 hora a 40 °C. Los resultados se expresan en grados de Gothe. Se ha cuestionado el uso de la diastasa como indicador de la calidad de la miel. La actividad diastasa de la miel se determinó según el método AOAC 958.09, (Chuttong *et al.*, 2016).

Los **contenidos de azúcar** de la miel (fructosa, glucosa, maltosa y sacarosa) se determinaron según el método AOAC 977.20, (AOAC, 2006), mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a detector de índice de refracción (RID). Una solución de miel al 5 % (p/v) en agua destilada y filtrada a través de papel de filtro de 0,45 μ m e inyectada en un sistema de HPLC, que estaba equipado con una bomba LC-10AD, un controlador de sistema CBM-10A, un detector de índice de refracción RID-10A acoplado a una computadora con software controlador clase LC10. Para la determinación de azúcares se utilizó una columna Inersil NH2 (5 μ m, 250 - 4,6 mm) (GL Science Inc., Japón), fase móvil con HPLC acetonitrilo/agua (72:25) a un caudal de 1 ml/min, con una temperatura de horno de 40 °C.

El **contenido de HMF** en la miel se determinó según el método AOAC 980.23, (AOAC, 2006), mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a espectrometría UV. Una solución al 5% (p/v) de miel en agua destilada y filtrada a través de papel de filtro de 0,45 mm es inyectada en un sistema HPLC ,que estaba equipado con una bomba LC-10AD VP, un inyector 7125 Rheodyne, Controlador de sistema SCL 10 AVP, un detector de matriz de diodos SPD-M10A y software de controlador de clase VP. La elución isocrática se realizó en una columna C18 ultra acuosa de fase reversa (5 mm, 250 o 4,6 mm) (Restex, Bellefonte, Pensilvania, EE. UU.), utilizando como fase móvil metanol-agua (10:90, v/v) a una caudal de 1,2 ml/min. El volumen de inyección fue de 20 µl, la temperatura de la columna de 25 °C y la detección a 280 nm.

Para la determinación del Color (mm Pfund) se siguió el procedimiento descrito por (Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) y la Invertasa (U/kg) en correspondencia con la IHC (IHC, 2009).

La composición química de los **extractos etanólicos** (etanol y glicerol) de los productos de las abejas se determinó mediante método enzimático (Bakchiche *et al.*, 2020).

2.3.2 Análisis microbiológicos

Con el fin de examinar la contaminación microbiana en muestras de miel se siguieron los protocolos de los métodos oficiales y reportes en otros estudios (Julika *et al.*, 2019; Laaroussi *et al.*, 2020); investigaron los siguientes microorganismos para conocer la inocuidad alimentaria y calidad sanitaria de la miel de abeja *M. beecheii*: bacterias aerobias mesófilas a 30°, levaduras y mohos, *Enterobacteriaceae* sp, coliformes totales, *Salmonella* sp., y *Staphylococcus* sp.. Las muestras de miel se prepararon para la prueba de la siguiente manera: se disolvieron 10 g de cada muestra en 90 ml de agua destilada estéril y luego se llevó a cabo una serie de diluciones con agua destilada estéril. Los aislamientos se identificaron con base en técnicas microbiológicas estándar y se subcultivaron en pendientes de agar nutritivo a 37 °C durante 24 h.

a) *Bacterias aerobias mesófilas a 30°C*

Las bacterias aerobias mesófilas se contaron utilizando el protocolo de *Lightfoot* y *Maier* (2002), descrito por (Laaroussi *et al.*, 2020). Se utilizó agar de método estándar para la cuantificación de *bacterias mesófilas aerobias* con un período de incubación de 48 h a 35 °C. Brevemente, se incorporó 1 ml de cada dilución de miel en 10 a 15ml de agar de recuento en placa estándar (PCA). Después de la solidificación completa, las placas se

voltearon y se incubaron a 30°C durante 48-72 horas. Las colonias de TMAF tienen apariencia lenticular.

b) *Recuento de levaduras y mohos*

Se siguió el protocolo de la *norma ISO 215-2:2008* para el conteo de *levaduras y mohos* en mieles, y las diluciones decimales de cada muestra de miel se esparcieron en cajas Petri que contenían Glucosa Cloranfenicol Agar-Biolife como medio selectivo. Los mohos y las levaduras se contaron cinco días después de la incubación de la placa a 22–24 °C (ISO-21527-2., 2008).

c) *Coliformes*

La búsqueda de coliformes totales se llevó a cabo de acuerdo con la norma ISO 4831: 2006. Se vertió asépticamente 1 ml de cada dilución decimal (10^{-1} y 10^{-2}) en placas estériles. Se añadió al inóculo agar rojo neutro de bilis-lactosa (VRBL) de cristal púrpura, fundido y enfriado en un baño de agua a 45°C, a una velocidad de 15 ml por placa. A continuación, la mezcla se homogeneizó mediante movimientos rotativos. Después de la solidificación de la primera capa, se añadió una segunda capa de 5 ml de VBRL. El control de la esterilidad del medio se llevó a cabo en una placa Petri con aproximadamente 15 ml de VBRL. El recuento total de coliformes se realizó directamente después de la incubación a 30 ° C durante 24 a 48 horas. Los coliformes fecales se caracterizan por una pequeña masa de colonias fluorescentes con un diámetro de 0,5 mm (ISO-4831, 2006).

d) *Salmonella* spp. y *Staphylococcus* sp..

La *Salmonella* spp se analizó siguiendo el protocolo de *ISO 6579:2002(E)* (ISO-6579, 2002E) y *Staphylococcus sp*, la dilución decimal de cada muestra de miel se sembró en placas de Petri que contenían un medio de cultivo selectivo sólido (Agar Sangre, Agar Baird Parker), (Enan *et al.*, 2020). El conteo se realizó luego de la incubación de las placas en aerobiosis a 30°C por 18 a 48 h, mientras que para la detección *Salmonella* spp., se pesaron 25 g de la muestra de miel y se mezclaron con 225 mL de agua tamponada con peptona (Biokar) y se incubaron a 35 °C durante 24 h. Posteriormente, se añadió 1 mL de la mezcla incubada a un tubo que contenía 10 mL de caldo de tetracionato. Se añadió un volumen de 0,1mL de preenriquecimiento al caldo rappaport (Biokar), y los tubos se incubaron a 37°C y 41,5°C durante 24 h. Después de este período, se sembró una asa de cada caldo selectivo en placas Petri que contenían agar xilosa lisina desoxicolato. Después

de una incubación de 24 h a 37 °C, las colonias presentes se analizaron bioquímicamente en agar TSI (Biokar) y API-20E (Biomérieux).

Los recuentos microbianos se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de miel ($\text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$).

2.3.3 Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva y análisis de componentes principales (ACP) para explicar la variación observada en los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos de la miel producida en las diferentes provincias. Previamente, se valoró la distribución normal de los datos mediante el test de *Kolmogorov-Smirnov* para la bondad de ajuste y se aplicó la prueba de *Levene* para evaluar la Homocedasticidad. Se utilizaron el software estadístico SPSS 15.0.1 para Windows.

2.4 Etapa III. Requisitos físico-químicos y microbiológicos para la miel de abejas de *Melipona beecheii*

Paso 1 Propuestas de requisitos físico-químicos y microbiológicos para miel de abejas Melipona beecheii apta para consumo humano.

Para la propuestas de requisitos físico-químicos y microbiológicos se tuvo en cuenta: i) el vacío que se tiene para la estandarización de este tipo de miel a nivel internacional que permita regular su producción y comercialización (Koser *et al.*, 2020; Braghini *et al.*, 2021) al diferir de las mieles de *A. mellifera* (Biluca *et al.*, 2016); ii) los resultados de la caracterización de la miel de *M. beecheii* realizados en el país y el meta-análisis de este trabajo; iii) los requisitos fisicoquímicos sobre la miel de abejas sin aguijón que actualmente se manejan en la estandarización de normas nacionales sobre este tipo de miel y su comparación con los estándares de *A. mellifera* (NC-371, 2020) y iv) los resultados obtenidos en esta investigación.

Paso 2 Consulta a expertos

Como parte de la investigación cualitativa se realizó un estudio descriptivo mediante la clásica técnica Delphi de tres pasos. Se utilizó la técnica Delphi debido a la falta de antecedentes de investigación adecuados con respecto a la definición de propuestas de requisitos y valores para la estandarización de la miel de *M. beecheii* en Cuba. La técnica Delphi es un método de investigación cualitativa que utiliza el juicio de expertos calificados para proporcionar una opinión grupal válida. El método clásico tiene cinco características i) anonimato, ii) iteración, iii) retroalimentación controlada, iv) respuesta

grupales estadísticas y v) estabilidad en la respuesta entre quienes se especializan en un tema en particular (Goodarzi *et al.*, 2018). En el presente estudio, 15 expertos en apicultura cubanos fueron seleccionados inicialmente como muestra mediante un muestreo intencional. Según Warner y con base en la investigación un tamaño de panel ideal en la técnica Delphi es un mínimo alrededor de 10; no obstante el coeficiente de fiabilidad de los estudios Delphi cuyo número de grupos de expertos es superior a 13 individuos es del 90% (Warner, 2014).

Para el empleo de la técnica se procedió según describen otros autores (Rahimi *et al.*, 2020), inicialmente fueron seleccionados los más capaces para valorar la pertinencia de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba, así como los valores de referencia para una posible norma, teniendo en cuenta su grado de competencia y sus criterios de experto con respecto a cada una de las fuentes de argumentación expuestas (Instrumento 1). En la etapa siguiente, los 10 expertos seleccionados finalmente procedieron a determinar la pertinencia de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba y sus valores de referencia para una posible norma (Instrumento 2). Finalmente, los requisitos identificados fueron categorizados con base en la afinidad conceptual de los ítems.

Paso 3: Consenso de requisitos para miel de Melipona beecheii (Método Delphi)

A partir de los criterios de los expertos se pueden obtener diferentes salidas como es el nivel de consenso de los expertos acerca del objeto de estudio (C) la cual se determina por la expresión: $C = (1 - Vd / Vt) \times 100$; donde C: Coeficiente de concordancia. Si $C = 75\%$, se considera que hay consenso. Vd: Votos negativos; Vt: Votos totales. Para el estudio se consideró negativo los votos que resultaron ser poco adecuado (PA) e inadecuado (I) y positivo adecuado (A), bastante adecuado (BA) y muy adecuado (MA).

CAPITULO III. CARACTERIZACIÓN DE LA MIEL DE *MELIPONA BEECHEII*: REQUISITOS DE REFERENCIA PARA PROPUESTA DE NORMA.

3.1 Introducción

Se reconoce a nivel internacional que la miel de abeja sin aguijón no cumple con los estándares de calidad establecidos para la miel de melífera (Anusha *et al.*, 2020). En respuesta, investigadores de varios países proponen estándares de calidad únicos para esta especie y en estudio de revisión sobre la temática (Nordin *et al.*, 2018), se constató que dada la gran variedad de especies de abejas y el origen geográfico de la recolección de la miel, existió una enorme variabilidad en diferentes requisitos.

Los estudios sobre caracterización físico química y microbiológica de la miel de melipona en Cuba son escasos y aislados, resaltan los estudios de (Fonte *et al.*, 2013; y Alvarez-Suarez *et al.*, 2018 y García *et al.*, 2018), que en ninguno de los casos abordan muestras de diversas áreas del país y los requisitos incluidos son insuficientes, lo que constituye todo un reto no sólo porque no se dispone de suficiente bibliografía sino también porque en el sector agroindustrial el concepto de calidad es muy difícil de definir, pues depende de las preferencias del cliente final que es para el que se trabaja y que con el pasar de los años se diversifica (Sánchez, 2020).

Cuba debe trabajar en la Inclusión de la miel de *Melipona beecheii* en su Código Alimentario y para ello se requiere enfocar el estudio hacia requisitos físico químicos y microbiológicos que a nivel internacional se manejan en la caracterización y estandarización de la miel de abejas sin aguijón; por lo que se planteó como objetivo en el trabajo hacer una revisión de cuáles son los principales requisitos incluidos en estudios de caracterización y normativas que sirvan de referentes para ese empeño en Cuba.

3.2 Estado actual de la necesidad de una normativa de calidad para la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba.

El análisis DAFO es una herramienta importante para analizar y pensar estratégicamente sobre el desarrollo de las cadenas agrícolas (Baudino *et al.*, 2017 y Rafeeian y Taji, 2017). Un análisis DAFO ayudará a la agrocadena a identificar sus factores estratégicos críticos. Una vez identificadas, son puntos de partida para apoyar el cambio organizacional: consolidando las fortalezas y minimizando las debilidades, aprovechando las oportunidades y eliminando o reduciendo las amenazas, y en particular esta visión puede ser aplicada a la cadena apícola y con especificidad en los requisitos de calidad de la miel de abejas sin

aguijón. El análisis DAFO se basa en dos pilares: el análisis interno y el análisis externo de la cadena (Moghaddaszadeh *et al.*, 2015).

En el presente estudio se realizaron entrevistas a diferentes especialistas con más de diez años de experiencia laboral vinculados a la apicultura y la meliponicultura (n=6), con el objetivo de determinar las principales fortalezas, debilidades, amenazas y oportunidades para tener una norma que permita la comercialización de la miel de Melipona. Del total, tres eran masters y de estas una investigadora en la estación experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey en Matanzas, otro genetista en la UEB Apícola de Camagüey y el director de la UEB apícola de Villa Clara; uno doctor en ciencias veterinarias, profesor de la Universidad Agraria de la Habana; un veterinario que se desempeña como jefe de producción nacional de APICUBA y un ingeniero químico, jefe de producción de la Planta de Beneficio de Sancti Spíritus.

Fortalezas

- ✓ Se cuenta con un producto 100% natural sin adulteraciones que proviene de una variedad de plantas con propiedades curativas (ej romerillo).
- ✓ El producto tiene ausencia de antibióticos, pesticidas e insecticidas.
- ✓ Existe un Manual cubano sobre Meliponicultura.
- ✓ APICUBA cuenta con colmenas de fácil manejo y resistentes a enfermedades propensas en la abeja *Apis mellifera*.
- ✓ Están identificados y debidamente registrados en APICUBA los principales meliponicultores por regiones.

Debilidades

- ✓ Ausencia de una norma con los requisitos técnicos establecidos para poder comercializar dentro y fuera del país
- ✓ Inexistencia de una infraestructura con todas las condiciones o al menos las más necesarias.
- ✓ Insuficiente información científica para elaborar una propuesta de norma por parte de APICUBA
- ✓ Insuficiente explotación de los productos derivados de la colmena de la Melipona *beecheii*.
- ✓ Existe poca capacitación sobre el tema.

Oportunidades

- ✓ Existencia de un mercado debido a las propiedades nutraceuticas de esta miel.
- ✓ Interés por parte de APICUBA en la producción y comercialización de la miel de melipona.
- ✓ Posibilidad de crear Asociaciones Económicas Internacionales o de Empresas Mixtas que puedan aportar su capital financiero. Ley de Inversión Extranjera.
- ✓ Fuente de ingresos económica estable para los meliponicultores
- ✓ Insumos necesarios y equipos adecuados (cumplan requisitos higiénicos-sanitario) y necesarios para el trabajo con estas colmenas no son costosos.

Amenazas

- ✓ Existencia de otros países que han dado los primeros pasos en la realización de una norma para el producto con intenciones de conquistar el mercado
- ✓ Existencia de un bloqueo económico que impide a varios países comerciar con Cuba
- ✓ La comercialización del producto se encuentra frenada debido a la ausencia de una norma que estandarice las características del mismo
- ✓ La vida útil del producto es corta comparada con la de la miel convencional.
- ✓ Influencia negativa del hombre sobre el medioambiente así como la inestabilidad climatológica de Cuba

El puntaje de las variables de la DAFO se muestra en la tabla 3.1, de la cual se infiere que: Si no se supera la ausencia de una norma con los requisitos técnicos establecidos para poder comercializar dentro y fuera del país y sigue acechando que la comercialización del producto se encuentra frenada debido a la ausencia de una norma que estandarice las características del mismo y la existencia de otros países que han dado los primeros pasos en la realización de este instrumento para el producto con intenciones de conquistar el mercado; entonces ni siquiera potenciando que se cuenta con un producto 100% natural, sin adulteraciones que proviene de una variedad de plantas con propiedades curativas (ej. romerillo) y además tiene ausencia de antibióticos, pesticidas e insecticidas será posible aprovechar el interés por parte de APICUBA en la producción y comercialización de la miel de melipona y una fuente de ingresos económica estable para los meliponicultores.

Tabla 3.1 Puntaje dado a las fortalezas, debilidades, oportunidades y amenazas.

	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	Σ
F ₁	5	5	5	5	1	3	2	2	4	4	36
F ₂	5	5	4	3	1	3	2	4	3	3	33
F ₃	2	4	2	1	1	3	2	3	4	1	23
F ₄	5	5	3	4	2	2	2	3	3	3	32
F ₅	3	4	2	4	4	2	1	2	1	4	27
D ₁	5	5	5	5	2	5	2	5	3	3	40
D ₂	3	4	3	5	5	2	1	3	2	2	30
D ₃	5	5	5	5	4	5	1	5	3	2	40
D ₄	5	3	4	5	2	4	1	3	3	4	34
D ₅	1	3	2	3	1	1	1	4	3	3	22
Σ	39	43	35	40	23	30	15	34	29	29	

Problema Estratégico General. Si APICUBA no supera la ausencia de una norma de la miel de *Melipona beecheii* con los requisitos técnicos establecidos para poder comercializar dentro y fuera del país y la insuficiente información científica para elaborar una propuesta de esta y sigue acechando una comercialización del producto frenada debido a la ausencia de una norma que estandarice las características de la misma y la existencia de países que dan los primeros pasos en la realización de una estandarización para el producto con intenciones de conquistar el mercado, entonces ni siquiera potenciando un producto 100% natural sin adulteraciones que proviene de una variedad de plantas con propiedades curativas (ej romerillo) y que tiene ausencia de antibióticos, pesticidas e insecticidas será posible aprovechar el interés por parte de APICUBA en la producción y comercialización de la miel de melipona y la fuente de ingresos económica estable para los meliponicultores que esta puede ofrecer

Solución Estratégica General. Si se potencia que se cuenta con un producto 100% natural sin adulteraciones que proviene de una variedad de plantas con propiedades curativas (ej romerillo) y que el producto tiene ausencia de antibióticos, pesticidas e insecticidas y se supera la ausencia de una norma con los requisitos técnicos establecidos para poder comercializar dentro y fuera del país y la insuficiente información científica para elaborar una propuesta de norma entonces será posible aprovechar el interés por parte de APICUBA en la producción y comercialización de la miel de melipona y la fuente de ingresos económica estable para los meliponicultores para atenuar los efectos de la existencia de la estandarización en otros países con las intenciones de conquistar el mercado y que la comercialización del producto se encuentre frenada debido a la ausencia de una norma en el país.

Posicionamiento estratégico. Al realizar la sumatoria para determinar el posicionamiento estratégico (Tabla 3.2), se obtuvo que el cuadrante que predomina es el adaptativo por lo que la organización debe *enfocarse en superar* la ausencia de una norma con los requisitos técnicos establecidos para poder comercializar dentro y fuera del país y la insuficiente información científica para elaborar una propuesta de la misma, *solo así será posible aprovechar* el interés por parte de APICUBA en la producción y comercialización de la miel de melipona y la fuente de ingresos económica estable que esta representa para los meliponicultores.

Tabla 3.2. Sumatoria para el posicionamiento estratégico.

	O ₁	O ₂	O ₃	O ₄	O ₅	∑	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	∑
F ₁	5	5	5	5	1	21	3	2	2	4	4	15
F ₂	5	5	4	3	1	18	3	2	4	3	3	15
F ₃	2	4	2	1	1	10	3	2	3	4	1	13
F ₄	5	5	3	4	2	19	2	2	3	3	3	13
F ₅	3	4	2	4	4	17	2	1	2	1	4	10
∑	20	23	16	17	9	170	13	9	14	15	15	132
D ₁	5	5	5	5	2	22	5	2	5	3	3	18
D ₂	3	4	3	5	5	20	2	1	3	2	2	10
D ₃	5	5	5	5	4	24	5	1	5	3	2	16
D ₄	5	3	4	5	2	19	4	1	3	3	4	15
D ₅	1	3	2	3	1	10	1	1	4	3	3	12
∑	19	21	19	23	14	191	17	6	20	14	14	142

3.3 Resultados del Meta-análisis sobre los indicadores físico-químicos de la miel de *Melipona beecheii*

En la figura 3.1 se hace un análisis de los indicadores incluidos en investigaciones sobre propiedades físico químicas de la miel de abejas sin agujón (Nordin *et al.*, 2018) y el número de autores que lo refieren, destacándose por orden de prioridad la Humedad (27 autores), pH (23 autores), Acidez libre (20 autores) y azúcares reductores (18 autores).

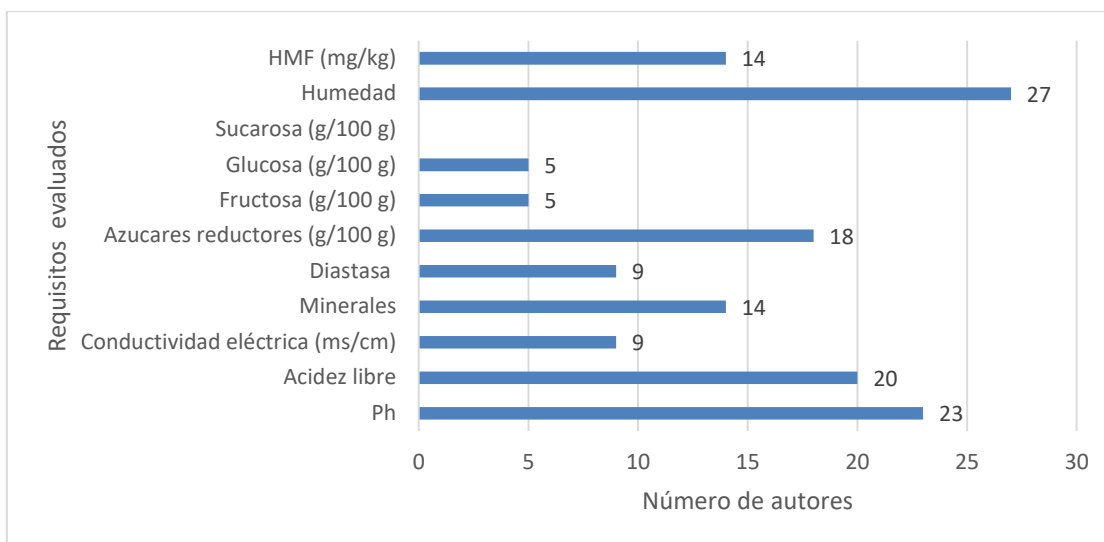


Figura No. 3.1. Requisitos evaluados en estudios sobre miel de abejas sin aguijón y número de autores que los incluyen. Elaboración propia.

Cuando se valoraron los diversos trabajos que refieren estudios sobre miel de abejas *Melipona* sp, se observó que existe variedad de indicadores físico-químicos, organolépticos y microbiológicos, todos en función de los intereses de los autores (Souza *et al.*, 2006; Moo-Huchin *et al.*, 2015; Nordin *et al.*, 2018; Ranneh *et al.*, 2018; Ramírez-Miranda *et al.*, 2021; Sharin *et al.*, 2021); la tabla 3.3 refleja esos requisitos y valora cuáles de ellos se incluyeron en los estudios realizados en Cuba (Fonte *et al.*, 2013; Alvarez-Suarez *et al.*, 2018; García *et al.*, 2018). Se concluye que a pesar de la larga tradición de consumo de este producto, existe escasa información con respecto a la composición y propiedades físico-químicas de mieles producidas en nuestro país; notándose que en los mismos no hay un estudio completo y solo se reportan algunos indicadores. Se destaca la profundidad de los trabajos de (Fonte *et al.*, 2013; Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) aunque ambos autores solo coinciden en el análisis de las variables de humedad, acidez libre y pH y sus estudios se centran en determinadas zonas del país; Fontes realiza sus estudios en Matanzas y Pinar del Río y Álvarez en Sancti Spíritus. Investigaciones realizadas en otros contextos han reportado la influencia que tienen los factores ambientales y geográficos en las características de las mieles de meliponas (de Almeida-Muradian *et al.*, 2013; Sohaimy *et al.*, 2015; Delgado *et al.* 2020; Fernandes *et al.*, 2020).

Tabla 3.3. Indicadores más incluidos en investigaciones sobre caracterización físico-química y microbiológica de la miel de abejas *Melipona* sp. Valores reportados en Cuba (media \pm Desviación típica).

		Fontes, 2013 n=6	Álvarez 2018 n=9	García, 2018 n= 5	Fontes 2008 n=6
Especificaciones organolépticas					
1.	Aspecto	Ligero turbio	-	-	-
2.	Olor	Característico	-	-	-
3.	Sabor	Ácido	-	-	-
4.	Textura	Viscosidad moderada	-	-	-
5.	Color**	Extraclaro ámbar (ELA)	41,65 \pm 7.68	-	-
Especificaciones físico-químicas					
1.	Contenido de agua (g/100 g = %). Humedad*	24,0 \pm nr	28,62 \pm 5,61		25,6 \pm 1,88
2.	Contenido de azúcares				
3.	Sacarosa (g/L)	0,76 \pm nr	-	-	
4.	Glucosa (g/L)	3,21 \pm nr	-	-	
5.	Fructosa (g/L)	3,74 \pm nr	-	-	
6.	Fructosa +Glucosa	-	-	-	
7.	Contenido de sólidos insolubles en agua	-	-	-	
8.	Acidez libre* (meq/100 g)	35,0 \pm nr	41,52 \pm 8,18	-	46,2 \pm 50,84
9.	Conductividad*	-	0,58 \pm 0.14		
10.	Diastasa**		1,3 \pm 0.12		

11.	HMF*		9,23 ±1.32		
12.	pH*	3,6 ±nr	3,2 ±0.21		3,5 ±0.1
13.	Sólidos solubles** (g/100 g = %)	74,6 ±nr			72,92 ±3,83
14.	Sacarosa (g/100 g)	6,54 ±nr			
15.	Minerales*		0,46 ±0.03		
16.	Fenoles totales mg GAE/100g de miel		94.34 ± 14.55		
17.	Flavonoides mg CE/100g de miel		4,19±0.37		
	Total de ensayos FQ	8	9	0	6
Criterios Microbiológicos					
1.	Microorganismos a 30 °C	-	-	< 10	
2.	Hongos filamentosos	-	-	< 10	
3.	Levaduras	-	-	< 10	
4.	Coliformes totales	-	-	< 10	
5.	<i>E. coli</i>	-	-		
6.	Anaerobios sulfito reductores	-	-	-	
7.	Total de ensayo microbiológico			2	

Leyenda: n: Número de muestras, nr: No reportado, *Indicadores fisicoquímicos más estudiados; **menos estudiados Fuente: Elaboración propia a partir de estudios de referentes dado por (Nordi *et al.*; 2018, Ramírez Miranda *et al.*, 2021.)

Descriptivo de los estudios seleccionados

Teniendo en consideración los pocos estudios realizados en Cuba sobre la caracterización de la miel de *M. beecheii* y la necesidad de adelantar en la normativa, se enfocó el procedimiento para la selección de estudios para el meta-análisis, encontrándose

inicialmente un total de 100 artículos al buscar en cuatro bases de datos diferentes; se segregaron 80 de ellos después de eliminar los duplicados. Posteriormente, 35 artículos fueron rechazados por no cumplir con los criterios de inclusión y 42 artículos fueron reevaluados nuevamente para la calificación. Finalmente, se eliminaron 15 artículos que no incluían en ninguno de los requisitos la *Melipona beecheii* y solo 27 de los informes fueron elegidos para este meta análisis.

La distribución por países de las investigaciones se refleja en la figura 3.2, notándose que a pesar de reportar amplia distribución de *M. beecheii* en Centro América y las Antillas (Genaro y Lóriga, 2018; Yurrita *et al.*,2017), no se reflejan en las fuentes bibliográficas consultadas, la caracterización de la miel de esta especie en esos países. Destaca dentro de las investigaciones las realizadas en México, seguidas de Guatemala y Honduras. En los años de estudios predominan los trabajos desarrollados en la primera década del 2000, y solo en los últimos 6 años (2015-2022), se reportan nueve trabajos.

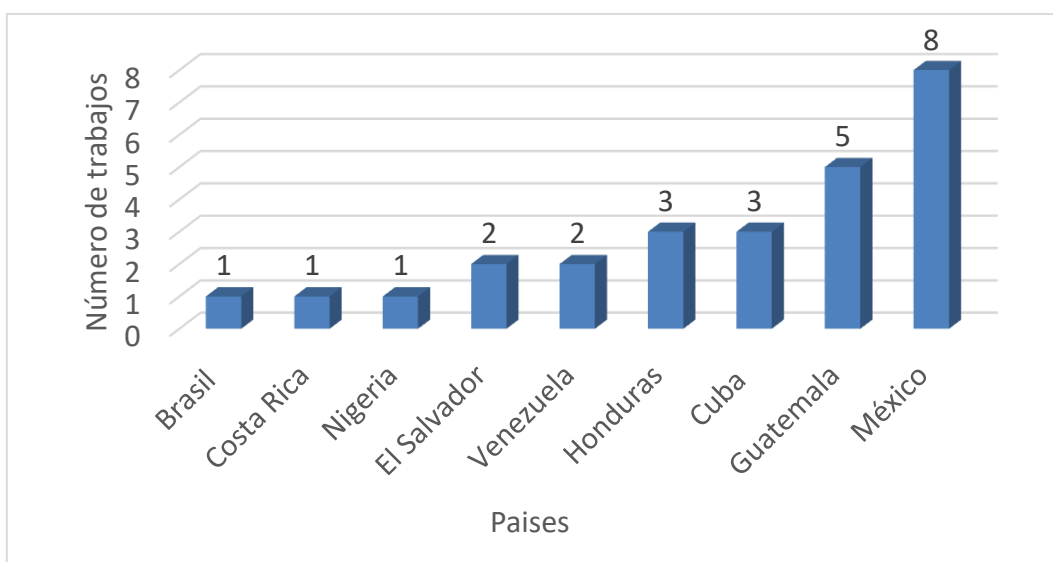


Figura 3.2 Comportamiento de los trabajos de caracterización físico química de la miel de *M. beecheii* por países.

El meta-análisis incluyó en la evaluación once requisitos físico-químicos (Tabla 3.4.) Los niveles de heterogeneidad se mantuvieron elevados, lo que se corresponde con meta-análisis basados en estudios biológicos, que naturalmente presentan una gran variabilidad, sumado a la diversidad de la raza de *Melipona beecheii* y países en donde se realizaron estos estudios; factores que gravitan sobre los requisitos de calidad de la miel de melipona

(Braghini *et al.*, 2021). A partir de los resultados del meta-análisis fueron establecidos los valores promedios para miel de *M. beecheii*, los cuales se contrastan y se mantienen de referentes para la caracterización que se hace en este mismo estudio de las mieles cubanas. Se denotó en el estudio del meta análisis que el número de muestras incluidas en los diferentes estudios fue limitado (Figura 3.3), lo que también influye en la heterogeneidad de los resultados.

Tabla 3.4 Requisitos físico-químicos para miel de *Melipona beecheii* estimados mediante meta-análisis.

Requisitos analizados	Tamaño de efecto e intervalo de confianza 95%					Heterogeneidad		
	Número de estudios	Punto de estimación (media)	Error estándar	Límite inferior	Límite superior	Valor Q	Valor p	I ²
Acidez	20	36,085	3,366	29,488	42,683	2630,147	<0,001	99,28
Azúcares reductores	18	68,699	0,575	67,573	69,826	22827,624	<0,001	99,93
Conductividad Eléctrica	9	0,737	0,153	0,436	1,037	620,532	<0,001	98,71
Diastasa	9	15,393	24,202	-32,041	62,827	155182289,000	<0,001	100,00
Fructosa	4	33,868	2,137	29,680	38,056	59,043	<0,001	94,92
Glucosa	5	28,499	0,624	27,276	29,722	31,849	<0,001	87,44
HMF	13	27,752	4,112	19,693	35,811	606394,631	<0,001	100,00
Humedad	27	26,208	0,625	24,982	27,434	2589,245	<0,001	99,00
Minerales	14	0,247	0,084	0,082	0,411	11370,950	<0,001	99,89
pH	23	3,501	0,049	3,406	3,596	5562,074	<0,001	99,60
Sacarosa	7	3,753	0,939	1,913	5,593	536,615	<0,001	98,88

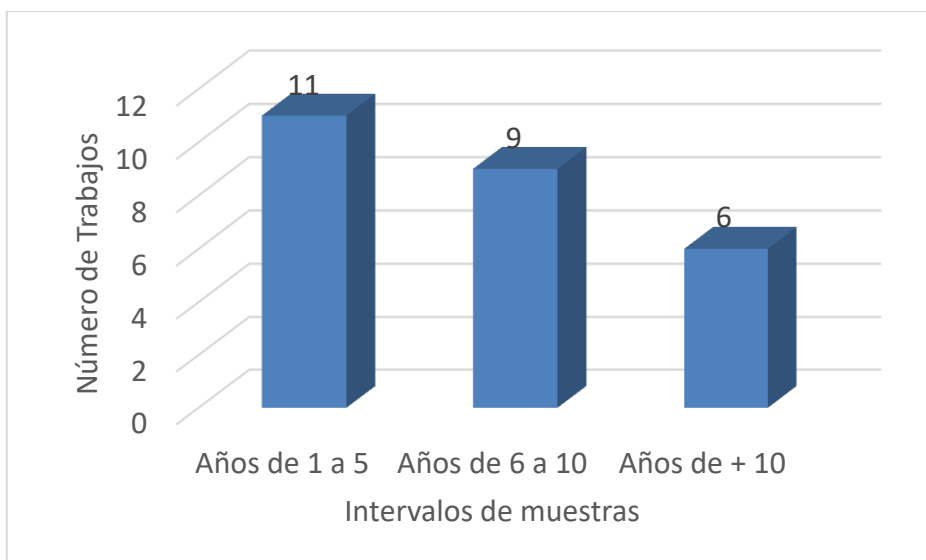


Figura 3.3. Distribución de los estudios por el número de muestras trabajadas (n).

3.4 Caracterización físico-química y microbiológica de la miel de *Melipona beecheii* de las principales regiones productoras del país.

El control de la calidad de la miel permite proponer soluciones correctivas a problemas recurrentes en la aplicación inadecuada de las buenas prácticas apícolas que pueden impactar en la salud humana (Lóriga *et al.*, 2020; Ríos, 2020); dicha información tiene además uso metodológico al permitir realizar valoraciones (Braghini *et al.*, 2021) comparativas y de dinámicas en el tiempo. Desde el punto de vista económico permite discernir entre niveles de calidad e inocuidad, indicadores que impactan en la cadena de valor del producto.

La caracterización físico-química puede aportar información fundamental para establecer estándares de calidad que impulsen la normalización, utilización y valorización de la miel de abejas sin aguijón en nuestro país. Los análisis físico-químicos para la miel de abejas sin aguijón involucró la verificación de la madurez, relacionada con azúcares reductores, humedad y sacarosa aparente y su deterioro, donde se evalúa la acidez libre, actividad diastasa y 5 - hidroximetilfurfural, y análisis de pureza, donde se comprueban los contenidos de polen, cenizas, minerales y sólidos insolubles en agua (Ávila *et al.*, 2018). Al compararlas con la miel de la abeja *Apis mellifera*, se caracterizan por tener mayor contenido de humedad, acidez, cenizas y 5-hidrometilfurfural y menores niveles de azúcares totales (Biluca *et al.*, 2016; Chutong *et al.*, 2016; Braghini *et al.*, 2021).

En la Tabla 3.5 (a y b) se presentan los requisitos de calidad fisicoquímicas (Humedad, Fructosa + Glucosa (g/L), Maltosa, Sacarosa (Invertasa U/kg), Acidez, pH, HMF, Diastasa, Conductividad Eléctrica mS/cm, Color, Glicerol, Etanol) de todas las muestras de miel de *M. beecheii* analizadas en las diferentes provincias del país.

Tabla 3.5 a Caracterización físico-química de la miel de abejas *Melipona beecheii* de las principales provincias productoras en Cuba.

Municipio	Humedad (%)	Azúcares Reductores (g/100g)	Invertasa U/kg	Maltosa (g/100g)	Glicerol (mg/kg)	Etanol (mg/kg)
Fomento(SS)	25,3	66,6	58,4	0	583	442
Yaguajay(SS)	24,7	63,8	41,9	0	718	64
Trinidad (SS)	25,9	64,9	125	0	764	100
Camajuaní(VC)	25,8	64,9	128	0	632	77
Cifuentes(VC)	27,5	57,3	81	0	1770	1739
Majagüa(CA)	24,8	67,1	148	0	422	123
Majagüa(CA)	24,8	65,8	137	0	406	97
Bolondrón(MTZ)	25,4	63,1	1,2	1,3	790	212
Camagüey(CAM)	25,3	65,2	26,1	1,4	969	445
Media	25,50	64,3	82,96	0,44	787,78	366,56
± DS	0,863	2,91	53,8	0,130	410,54	535,93
CV	3,38	4,52	64,85	29,54	52,11	146,2

Leyenda: SS- Sancti Spíritus, CA- Ciego de Ávila, VC- Villa Clara, MTZ- Matanzas, CAM-Camagüey.

Tabla 3.5 b Caracterización físico-química de la miel de abejas *Melipona beecheii* de las principales provincias productoras en Cuba. Continuación

Municipios	Acidez meq/kg	pH	HMF (mg/kg)	Diastasa (DN Schade)	Conductividad Eléctrica (mS/cm)	Color (mm Pfund)
Fomento(SS)	33,1	4,1	3,5	3,2	0,5	67
Yaguajay(SS)	71	3,5	9,8	<1	0,39	49
Trinidad (SS)	82	3,8	3,4	1,5	0,58	119
Camajuaní(VC)	75	3,8	3,6	1,8	0,58	>144
Cifuentes(VC)	95	3,4	41,9	<1	0,56	69
Majagüa(CA)	34	3,9	1,7	6,5	0,45	69
Majagüa(CA)	36,6	3,9	1,7	6,3	0,39	69
Bolondrón(MTZ)	46	3,6	1,5	1	0,33	51
Camagüey(CAM)	11,5	4	2,4	<1	0,16	27
Media	53,80	3,78	7,72	2,37	0,44	73,78
± DS	27,84	0,220	13,06	2,52	0,138	36,06
CV %	51,74	5,82	169,17	106,32	31,56	48,87

Leyenda: SS- Sancti Spíritus, CA- Ciego de Ávila, VC- Villa Clara, MTZ- Matanzas, CAM-Camagüey.

En las 9 muestras analizadas, se observa que los valores de humedad estuvieron entre 24,7 - 27,5%, p/p, con un valor medio de $25,5 \pm 0,863\%$. Se observa una baja variabilidad de este parámetro para las muestras analizadas. Estudios anteriores en Cuba reportan valores ligeramente superiores (Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) e inferiores (Fonte *et al.*, 2013), también un estudio realizado en Costa Rica (Umaña *et al.*, 2021), encontró valores promedio de esta especie de 23,5 % ; valores superiores al 37% fueron reportados en México (Espinoza-Toledo *et al.*, 2018; Espinoza Toledo, 2019). Estudios de otras especies de *Melipona* en Brasil (Biluca *et al.*, 2016), obtuvieron valores entre 23,1 a 43,5% (p/p) y en Tailandia (Chuttong *et al.*, 2016) tuvo valores promedio de 31,0%. Comúnmente se identifica una mayor humedad en la miel de abejas sin aguijón en comparación con la miel de *Apis mellifera* (Ávila *et al.*, 2018), lo cual es una de las principales características de este tipo de mieles.

La miel es una solución concentrada de azúcares reductores, con fructosa y glucosa que representan la mayor proporción de su composición. En la miel de abejas sin aguijón, la suma de azúcares reductores va de 12,5 g/100 g a 75,7 g/100 g, con media de 57,79 g/100 g y desviación estándar de 16,23 g/100 g (Nordin *et al.*, 2018). La media de las muestras trabajadas en esta caracterización fue de 64,3 ± 2,91 g/100 g, este valor estuvo por debajo del reportado en otros trabajos para esta especie por (Fonte *et al.*, 2013) en Cuba, Castillo (Castillo Martínez, 2021) en México y (Onyenso y Akachuku, 2011) en Nigeria. No obstante, este parámetro se puede ver afectado por la especie de abejas melipona y la alimentación de las mismas (Sohaimy *et al.*, 2015) a pesar de la variabilidad de un 3 % entre provincias, no hubo diferencia significativa entre estas.

Sin embargo, el perfil de carbohidratos en once especies de miel de abejas sin aguijón de Asia mostró 51,0 ± 21,0 g/100 g de azúcar total; 17,0 ± 9,7 g/100 g de fructosa; 14,0 ± 8,6 g/100 g de glucosa; 41,0 ± 15,0 g/100 g de maltosa; y 1,2 ± 2,7 g/100 g de sacarosa (Chuttong *et al.*, 2016), la suma de los azúcares fructosa y glucosa encontrado por este autor (31 g/100g), está por debajo del que se halló en el presente trabajo. En el caso de la maltosa solo se detectó en el 22 % de las muestras analizadas, resultados que se corresponde con algunas de las especies investigadas en otros contextos (Biluca *et al.*, 2016). Estos hallazgos contradictorios sugieren que el perfil de azúcar de la miel de abejas sin aguijón puede variar de una región a otra, dependiendo de la flora y vegetación que predomine en esa región (Se *et al.*, 2018).

La acidez se utiliza como uno de los requisitos de frescura y calidad de la miel. En el presente estudio el valor osciló desde 33,1 a 95 mEq kg⁻¹; sin embargo en los estudios específicos de *M. beecheii*, el valor más alto que se reporta es de 71,3 mEq kg⁻¹ (Moo-Huchin *et al.*, 2015) y 70 mEq kg⁻¹ (Vit *et al.*, 2004). Otros valores encontrados son más bajos (Umaña *et al.*, 2021); no obstante el valor medio encontrado en el presente estudio (53,80 ± 27,84 mEq kg⁻¹) está por debajo de los reportados por autores cubanos (Fonte *et al.*, 2013; Alvarez-Suarez *et al.*, 2018); lo que puede corroborar la variación entre provincias encontrada en este trabajo ya que no se observa relación con sus valores de pH. Si bien este indicador se relaciona con la fuente floral y la especie de abeja, los altos niveles de acidez pueden ser un indicador del proceso de fermentación, afectándose así la calidad y las propiedades sensoriales de la miel (Ávila *et al.*, 2018). Por ello, la Comisión del Codex Alimentarius (CODEX, 2019a), establece que el valor máximo de acidez libre

debe ser de 50 mEq kg⁻¹ para la miel de *Apis mellifera*. Sin embargo, la miel de abeja sin aguijón tiene características distintas en comparación con *Apis mellifera*, y es común que la acidez sea más alta, oscilando entre 16,2 a 139,0 mEq kg⁻¹. (Shamsudin *et al.*, 2019). Por ello este indicador de la miel de abejas sin aguijón tiene características propias que han sido exploradas, estudiadas y reportadas en los últimos años (Faleiros-Quevedo y Francoy, 2022)

En relación a la evaluación del pH, todas las muestras de miel presentaron un carácter ácido que osciló entre 3,4 – 4,0 el cual se encuentra cercano al límite inferior del rango de 3,16 a 6,56 reportado. El pH puede variar por el origen del néctar de las flores recolectadas para la elaboración de la miel, también pueden influir por las sustancias mandibulares de la abeja, la concentración de diferentes ácidos y el porcentaje de calcio, sodio, potasio y otros constituyentes de las cenizas (Silvia *et al.*, 2015). El valor promedio de pH para todas las muestras analizadas en este estudio fue de 3,78 ± 0,23, inferior al reportado por (Onyenso y Akachuku, 2011; Umaña *et al.*, 2021) quienes dan valores de 4,26 y 4,13 respectivamente. En Cuba (Fonte *et al.*, 2013; Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) publicaron valores ligeramente inferiores (pH 3,2 y pH 3,6 respectivamente). En mieles de otras especies de abejas sin aguijón se encontraron valores de pH 3,6 (Chuttong *et al.*, 2016) ;pH 3,8 (Biluca *et al.*, 2016) y pH 3,87 (Braghini *et al.*, 2021) .

En todas las muestras de miel de abejas sin aguijón analizadas, el 5-HMF estuvo por debajo del límite de cuantificación (40 mg L⁻¹), excepto en una muestra en la que se encontró el valor máximo de 41,9 mg L⁻¹, siendo el valor medio 7,72 ± 13,06 mg L⁻¹. El máximo CV encontrado para este parámetro entre los utilizados en el estudio, con un valor de 169% se debe al valor fuera de rango obtenido en la muestra de Cifuentes, Villa Clara. Según (Montenegro *et al.*; 2003) esto se puede asociar a su estado de conservación, a posibles adulteraciones o malos manejos durante su almacenaje y/o envasado.

Los valores obtenidos son consistentes con otros estudios ya publicados para la miel de *M. beecheii* en México (Cuevas Glory, 2017), en Cuba (Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) y Costa Rica (Umaña *et al.*, 2021), donde se obtuvieron valores ≤ 40 mg L⁻¹. Los valores más altos de este parámetro para *M. beecheii* fueron reportados por (Alarcón y Ibáñez, 2008) en El Salvador 77,5 mg L⁻¹ y Grajales (Grajales Conesa, 2018) en México con un 64,79 mg L⁻¹. (Chuttong *et al.*, 2016) encontraron un valor promedio de 8.7 ± 12 mg kg⁻¹ en la miel de varias especies de abejas sin aguijón nativas de Tailandia. Estos resultados también

corroboran el papel que puede tener la especie de abeja sin aguijón, la época de cosecha de la miel y localización geográfica.

Según (Biluca *et al.*, 2014), la miel de abeja sin aguijón es resistente a la formación de 5-HMF, incluso cuando se expone a altas temperaturas. Por lo tanto, esto puede estar relacionado con niveles más altos de humedad, acidez y fructosa, en comparación con la miel de *Apis mellifera*. (Ribeiro *et al.*, 2018; Braghini *et al.*, 2019) tampoco detectaron la formación de 5-HMF después del procesamiento térmico de la miel de abeja sin aguijón, lo que confirma esta hipótesis.

Diastasa es el nombre común de la enzima alfa-amilasa, que está naturalmente presente en la miel y su actividad tiende a disminuir con el tiempo o la temperatura. De esta forma, la actividad diastasa se utiliza como indicador de frescura. En el presente trabajo de caracterización de miel de abeja *M. beecheii* se encontró un valor máximo de 6,5 unidades Göthe en una de las muestras y valor medio de $2,37 \pm 2,53$. La alta variabilidad de este parámetro (CV=106%) se corresponde con la reportada por (Nordin *et al.*, 2018) en su meta análisis sobre las propiedades físico-químicas de la miel de abejas de *Melipona* sp. (CV-113%). En un estudio anterior realizado por (Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) reportó un valor medio inferior de 1,3. Sin embargo, otras investigaciones en miel de abejas sin aguijón demuestran que este tipo de miel tiene valores promedio de 7 unidades Göthe, incluso menores en miel fresca (Ávila *et al.*, 2018 y Nordin *et al.*, 2018).

Los valores de conductividad eléctrica encontrados en las muestras variaron de 0,33 mS cm^{-1} a 0,58 mS cm^{-1} , siendo un rango bastante estrecho (CV=40%) con un valor medio de $0,44 \pm 0,14$. (Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) encontró un valor promedio de $0,58 \pm 0,14$ mS cm^{-1} en mieles de abejas sin aguijón de Cuba y (Cuevas Glory, 2017) en Guatemala reporta 0,75 mS cm^{-1} para *M. beecheii*. Los resultados del presente estudio corroboran lo planteado por (Nordin *et al.*, 2018), quien sostiene que los valores de conductividad eléctrica también deberían ser similares, independientemente de la especie de abeja y las condiciones climáticas bajo la misma fuente floral. Sin embargo (Braghini *et al.*, 2021) en su estudio en Brasil encontraron variaciones en la conductividad eléctrica para la miel de abejas sin aguijón.

Los resultados de los análisis de color de cada miel se clasificaron en función de la medición de la absorbancia y todos los valores de las muestras de miel estaban de acuerdo con la escala de mm Pfund. La mayor absorbancia fue de 144 mm Pfund con valor medio

de 73,78 ±36,07 mm Pfund. Con este mismo método de ensayo (Alvarez-Suarez *et al.*, 2018) encontró en su estudio una media de color de 41,65 mm Pfund; mientras que (Fonte *et al.*, 2013) reportó valores que clasificaron a esta miel como ámbar extra claro. No obstante, en las abejas sin aguijón, el color de la miel varía de 26 Pfund a 150 Pfund; con media de 92,9 ±38,92 Pfund (Fatima *et al.*,2018; Nordin *et al.*, 2018).

En la comparación de los resultados de la caracterización de las muestras por zonas sólo muestran diferencias en las variables de diástasa, conductividad eléctrica, y sacarosa; lo que corrobora los criterios de otros autores que plantean la necesidad de considerar las diferentes ubicaciones geográficas y las características de la vegetación como factores determinantes en las características fisicoquímicas de las mieles (Maringgal *et al.*, 2019; Shamsudin *et al.*, 2019; Wong *et al.*, 2019).

Tabla 3.6 a Comparación de los requisitos fisicoquímico de la miel de abejas *Melipona beecheii*.

Provincia	Humedad (%)	Azúcares Reductores (g/100g)	Invertasa U/kg	Glicerol (mg/kg)	Etanol (mg/kg)
SS	25,3 ^a ±0,49	65,1 ^a ±1,15	75,1 ^{ab} ±35,92	688,3 ^a ±76,81	202 ^a ±170,34
CA	26,65 ^a ±0,85	61,1 ^a ±3,8	104,5 ^{ab} ±23,5	1201 ^a ±569	908 ^a ±8,31
VC	24,8 ^a ±0.0	66,45 ^a ±0,65	142,5 ^b ±5,5	414 ^a ±8	110 ^a ±13
MTZ-CAM	25,35 ^a ±0.05	64,15 ^a ±1,05	13,65 ^a ±12,45	879,5 ^a ±89,5	328,5 ^a ±116,5

Leyenda: SS - Provincia Sancti Spíritus, CA -Provincia Ciego de Ávila, VC -Provincia de Villa Clara, MTZ-CAM -Provincia Matanzas y Camagüey.

Tabla 3.6b Comparación de los requisitos fisicoquímico de la miel de abejas *Melipona beecheii*. Continuación

Provincia	Acidez libre (meq/kg)	pH	HMF (mg/kg)	Diastasa (DN Schade)	Conductividad Eléctrica (mS/cm)	Color (mm Pfund)
SS	62,03 ^a ±20,95	3,8 ^a ±0,24	5,57 ^a ±2,99	1,9 ^a ±0,0	0,49 ^{ab} ±0,08	78,33 ^a ±29,68
CA	85 ^a ±10	3,6 ^a ±0,2	22,75 ^a ±19,15	1,4 ^a ±7,04	0,57 ^{ab} ±0,01	106,5 ^a ±38
VC	35,3 ^a ± 1,3	3,9 ^a ±0,0	1,7 ^a ±0	6,4 ^b ±0,1	0,42 ^b ±0,06	69 ^a ±0
MTZ-CAM	28,78 ^a ±17,25	3,8 ^a ±0,2	1,95 ^a ±0,45	0 ^a ±0	0,245 ^a ±0,085	39 ^a ±12

Leyenda: SS - Provincia Sancti Spiritus, CA -Provincia Ciego de Ávila, VC -Provincia de Villa Clara, MTZ-CAM -Provincia Matanzas y Camagüey.

Las características fisicoquímicas de la miel están directamente influenciadas por la posición geográfica, el alimento de las abejas y las especies de abejas involucradas (Nordin *et al.*, 2018), de igual forma el procesamiento y almacenamiento incorrectos de la miel son posibles condicionantes para cambiar sus propiedades (Silvia *et al.*, 2015), aunque se plantea que la variación en las características de la miel no dependa de la época del año (Cardona *et al.*, 2019), por ello los esfuerzos continuos para producir datos confiables y abarcadores dirigidos a estos temas servirán como base para la elaboración de informes más completos y una legislación adecuada.

A pesar de la alta concentración de compuestos bioactivos en la miel, algunos microorganismos pueden resistir la acidez, la alta concentración de azúcares y las moléculas antimicrobianas y pueden sobrevivir y crecer en la miel, lo que representa una amenaza real para los consumidores, especialmente para las personas inmunodeprimidas, los niños y los ancianos.

En el presente estudio la caracterización microbiológica incluyó microorganismos indicadores de calidad higiénica (Recuento total de bacterias mesófilas a 30°C, *Enterobacteriaceae*, Coliformes, Hongos y Levaduras) e indicadores de seguridad sanitaria (*E. coli*, *Salmonella* sp. y *Staphylococcus aureus*). Los resultados de las diferentes muestras de miel para detectar microorganismos indicadores de calidad higiénica en las principales regiones productoras en Cuba, se reflejan en la Tabla 3.7a. La contaminación con flora aeróbica mesófila total a 30°C varió entre 1,47 - 3 Log₁₀ ufc/ml (0,28x10² ufc/g y 20x10² ufc/g), con valor medio de 2,19 ± 0,60 Log₁₀ ufc/ml (1,54 10² ufc/g). Estos resultados están por debajo del máximo estándar cubano para miel de abejas *A. mellifera*, que sugiere niveles de 1x10⁴ ufc/g = 4 Log₁₀ ufc/ml (NC-371, 2020) y el estándar de Malasia (10³ ufc/ml) para miel de Melipona (Malaysian-Standards, 2017); sin embargo (García *et al.*, 2018) encontró niveles por debajo de 1x10¹ ufc/g = 1 Log₁₀ ufc/ml. No obstante (Julika *et al.*, 2019) cuando analizaron seis muestras de miel de abejas sin aguijón encontraron recuentos estándar en placa (REP) que oscilaron entre 1x10² ufc/g a 9,7x10² ufc/g (2 – 2,99 Log₁₀ ufc/ml y Lani *et al.*; (Lani *et al.*,2017) en su caracterización mostraron que el recuento de aerobios en placa osciló entre 10² y 10⁵ CFU/g (2 – 5 Log₁₀ ufc/ml). Los bajos valores de bacterias aerobias mesófilas en el 91% de las muestras analizadas brindan información sobre buenas prácticas de meliponicultura, de almacenamiento y acondicionamiento de miel.

Los valores medios en el caso de los hongos (1,87 ± 0,37 Log₁₀ ufc/ml) y levaduras (2,9 ± 0,31 Log₁₀ ufc/ml), se encuentran por debajo del sugerido como valor máximo para este tipo de miel por la propuesta de norma Argentina que es de 3 Log₁₀ ufc/ml = 10³ ufc/ml (Seguridad Alimentaria, 2018). De igual forma Ávila *et al.*; (Ávila *et al.*, 2019) en estudio sobre microbiología de miel de abeja melipona encontró levaduras y mohos en recuentos elevados, con un valor medio de 3,4 ± 0,61 log₁₀ CFU/g. Sin embargo, en el caso de la norma cubana para hongos y levaduras plantea como valor máximo 2 Log₁₀ ufc/ml = 10² ufc/ml (NC-371, 2020), valor que en el caso de las levaduras está por debajo del valor medio encontrado en este trabajo.

Los restantes indicadores de calidad higiénica de las muestras analizadas resultaron por debajo de <1x10¹ ufc/g para *Enterobacteriaceae* y Coliformes Totales, coincidiendo con el único reporte encontrado en Cuba sobre caracterización microbiológica (García *et al.*, 2018 y Saidan *et al.*,2020) en su investigación también reporta resultados negativos para

coliformes, lo que sugiere el respeto de las buenas prácticas en el trabajo con las abejas sin aguijón y manipulación de la miel, lo que concuerda con los datos encontrados por (Laaroussi *et al.*, 2020). No obstante, se encontraron por (Miquez Souza *et al.*, 2022) coliformes a 35 °C en muestras de *Melipona*; *S. xanthotricha* (1.8×10^2 UFC g⁻¹) y *T. angustula* (2.5×10^1 UFC g⁻¹).

Tabla 3. 7a Niveles de indicadores microbiológicos de calidad higiénica de la miel de abejas *Melipona beecheii* de las principales regiones productoras en Cuba.

Provincias	Aerobios mesófilos (Log ₁₀ UFC/ml)	Hongos (Log ₁₀ UFC/ml)	Levaduras (Log ₁₀ UFC/ml)	Enterobacteriaceae	Coliformes Totales
SS	2,27 ± 0,35	2,08 ± 0,31	1,93 ± 0,06	<10	<10
CA	1,47 ± 0,042	1,9 ± 0,00	1,90 ± 0,00	<10	<10
VC	3 ± 0,42	1,95 ± 0,07	2,3 ± 0,00	<10	<10
MTZ-CAM	2 ± 0,00	1,45 ± 0,64	2,34 ± 0,62	<10	<10
Total	2,19 ± 0,60	1,87 ± 0,37	2,9 ± 0,31	<10	<10

Leyenda: SS - Provincia Sancti Spíritus, CA -Provincia Ciego de Ávila, VC -Provincia de Villa Clara, MTZ-CAM -Provincia Matanzas y Camagüey.

En cuanto a los indicadores microbiológicos de seguridad sanitaria (Tabla 3.7b), ninguna de las muestras de miel de abejas sin aguijón trabajadas mostró evidencia de estos patógenos; resultados que se corresponde con los hallazgos de mieles de *Apis mellifera* en Marruecos (Laaroussi *et al.*, 2020). Debido a su bajo pH, actividad de agua, alta acidez y propiedades antibacterianas, la miel de abejas sin aguijón crea un ambiente inhóspito para los microorganismos, especialmente los patógenos, por lo que se considera un alimento de bajo riesgo para los consumidores (Dardón Peralta, 2005; Chan-Rodríguez *et al.*, 2012; Brown *et al.*, 2020; Biluca *et al.*, 2021); no obstante, necesita de la vigilancia de estos gérmenes y no perder la percepción del riesgo porque se reportan de treinta y cinco muestras de *M.*

subnitida en Brasil, una positividad de 85,7% para *S. aureus* y en 34,3% para *Bacillus* spp (Pinheiro *et al.*, 2018).

Tabla 3. 7b Niveles de indicadores microbiológicos de seguridad sanitaria de la miel de abejas *Melipona beecheii* de las principales regiones productoras en Cuba.

	Indicadores de seguridad sanitaria		
Provincias	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Staphyococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>
SS	NE	NE	<10
CA	NE	NE	<10
VC	NE	NE	<10
MTZ-CAM	NE	NE	<10
Total	NE	NE	<10

Leyenda: SS - Provincia Sancti Spíritus, CA -Provincia Ciego de Ávila, VC -Provincia de Villa Clara, MTZ-CAM -Provincia Matanzas y Camagüey.

En general, podemos concluir que las muestras de miel de abejas sin aguijón de las diferentes provincias de Cuba analizadas, mostraron propiedades fisicoquímicas y microbiológica con valores medios que están en correspondencia con los estándares de las normas nacionales que hasta el momento se documentan (Malaysian-Standards, 2017 y de Seguridad Alimentaria, 2018), así como con la mayoría de los requisitos de la NC de *Apis mellifera* (NC-371, 2020), lo que indica las buenas prácticas apícolas utilizadas por los apicultores durante la recolección de dicha miel. El presente hallazgo proporciona nueva información constructiva para aplicar en el proceso de estandarización de la miel de abeja *Melipona* en Cuba.

3.5 Propuestas de requisitos físico-químicos y microbiológicos para miel de abejas *Melipona beecheii* apta para consumo humano.

Para muchos países, la meliponicultura sigue siendo una actividad subvalorada (Jaffé *et al.*, 2015) y ello contribuye a la ausencia de una legislación más integral que regule la producción y la comercialización que favorezca la expansión de este producto (Koser *et al.*, 2020 y Braghini *et al.*, 2021).

En la actualidad se adolece de armonización para la estandarización de una norma internacional sobre la miel de abejas sin aguijón y la misma tiene características diferenciales respecto a la miel producida por *Apis mellifera*, ya que es más fluida debido a

su mayor porcentaje de humedad; en la mayoría de los casos, superior al 20% y así lo reflejan las normativas vigentes de esta especie (CODEX, 2001; Vit *et al.*, 2004; Malaysian-Standards, 2017; Seguridad Alimentaria, 2018; NC-371, 2020:). Por lo tanto, estas mieles presentan valores de pH ligeramente más bajos y de acidez libre más elevados que los establecidos para mieles de *A. mellifera* (Biluca *et al.*, 2016). Asimismo, los valores de conductividad eléctrica son más elevados y los valores de color son variables dependiendo de la flora de origen.

Cuando se hace una comparación de los resultados de la caracterización de la miel de *M. beecheii* realizados en el país y el meta-análisis (Tabla 3.8), se observa que en los requisitos de humedad, HMF y pH existen valores cercanos, no así en la acidez, diastasa y color; resalta que en la caracterización el valor de la acidez está por encima del encontrado en el meta-análisis.

Tabla 3.8 Comparación de los requisitos de calidad de la caracterización físico-química de la miel de *M. beecheii* realizados en Cuba con el meta análisis y revisión de *Mellipona* sp.

REQUISITOS	AUTORES					
	Fonte 2008	Fonte 2013	Alvarez 2018	Nordin 2018	Meta-análisis	Este Trabajo
Humedad (%)	25,6 ±1,88	24 ±	28,62 ±5,61	27,68 ±5,8	26,208 ±0,625	25,30 ±0,81
HMF (mg/kg)			9,23 ±1,32	12,12 ±16,26	27,752 ±4,112	7,72 ±12,31
Acidez (meq/100g)	46,2 ±50,84	35 ±5,4	41,52±8,19	73,59±101,53	36,085 ±3,366	53,80 ±26,25
Diastasa (DN Schade)			1,3 ±0,12	7,08 ±8,01	15,393 ±24,202	2,76 ±3,28
pH	3,5 ±0,1	3,6 ±0,32	3,2±0,21	3,85 ±0,53	3,501±0,049	3,78±0,22

Conductividad Eléctrica (mS/cm)			0,58 ±0,14	1,160 ±1,6	0,737±0,153	0,44±0,13
Azúcares Reductores (g/100g)				55,79 ±16,23	68,699 ±0,575	64,30 ±2,74
Color (mm Pfund)			41,65 ±7,68	92,9 ±38,92		65 ±16,54

Los requisitos fisicoquímicos sobre la miel de abejas sin aguijón que actualmente se manejan en la estandarización de normas se muestran en la Tabla 3.5. Una comparación con los estándares relacionados con la miel de *A. mellifera* (NC-371, 2020) muestra que la miel de abejas sin aguijón del presente estudio mostró mayor contenido de humedad (25,5 g/100 g) y mayor acidez (53,8 meq/kg). Cuando se valoran las normas vinculadas con la miel de Melipona, la norma de Malasia, Argentina y Venezuela proponen valores de humedad superior al encontrado en el presente trabajo, el parámetro de los azúcares totales y la acidez se encuentra en el rango sugerido en tres normas, HMF se encuentra por debajo de la propuesta de las tres normas, mientras que la diastasa está por encima de la propuesta de Venezuela (Vit *et al.*, 2004) y de Argentina (Seguridad Alimentaria, 2018) y en el caso del pH se ajusta al propuesto en la norma de Malasia (Biluca *et al.*, 2016). La conductividad eléctrica (mS/cm) que es otro indicador incluido en la NC (NC-371, 2020), el valor encontrado es inferior al de esta norma (0,5 vs 0,8 respectivamente), aunque no se incluye en las propuestas de estandarización de Melipona.

Cuando se hace un análisis integral de requisitos fisicoquímicos recomendados por la legislación en cuanto al control de calidad de la miel de *M. beecheii* tomando como referencia la de *Apis mellifera*; los indicadores de madurez (azúcares reductores, humedad, sacarosa aparente) y deterioro (acidez libre, actividad diastasa e HMF), se observa que los requisitos medios del presente trabajo, se pueden ajustar a esos estándares y constituir referentes junto con los resultados de otros trabajos realizados en Cuba.

Tabla 3.9. Estándares de calidad físico químicos incluidos en las Normas de *Apis mellifera* vs propuestas de la miel de *Melipona* sp.

A-Requisitos físico químico	Referentes para los tipos de miel					
	Miel de <i>Apis mellifera</i>		Propuesta para miel de <i>Melipona</i>			<i>Melipona beecheii</i>
	IHC Standards (2009) ¹	NC-371 / (2020) ²	Vit et al. (2004) ³	Malaysian Standards (2017) ⁴	Argentina (2018) ⁵	Propuesta de indicadores a partir de Este trabajo 2022
Humedad (%)	Máx. 20	Máx. 20	Máx. 30	Máx. 35	Máx. 28	Max 26
Suma de fructosa+glucosa (g/100g)	Mín. 60	Mín. 60	Mín. 50	Máx. 85	Mín. 50	Min 64
Sacarosa (g/100g)	Máx. 5	Máx. 5	Máx. 6	Máx. 7.5	Máx. 4	No aplicable
Maltosa (g/100g)	No aplicable	No aplicable	No aplicable	Máx. 9.5	No aplicable	No aplicable
Acidez libre (meq/100g)	Máx. 50	Max. 50	Máx. 85	No aplicable	Máx. 55	Máx. 54
Contenido de minerales (g/100g)	Máx. 0.5	No aplicable	Máx. 0.5	Máx. 1.0	Máx. 0,3	No aplicable
Contenido de HMF (mg/kg)	Máx. 40	Máx. 40	Máx. 40	Máx.30	Máx. 40	Máx. 30
Actividad Diastasa (AD)	Mín. 8	Mín. 8	Mín. 3	No aplicable	Mín. 2	Mín. 3
pH	No aplicable	No aplicable	No aplicable	2.5 – 3.8	No aplicable	Máx. 3,78
Presencia de fitofenoles	No aplicable	No aplicable	No aplicable	Presente	No aplicable	No aplicable
Conductividad eléctrica (mS/cm)	No aplicable	Mín. 0,8	No aplicable	No aplicable	No aplicable	Mín. 0,5
Contenido de sólidos insolubles en agua (g/100g)	Máx. 0,1g	No aplicable	No aplicable	No aplicable	No aplicable	No aplicable

Investigadores de países como Brasil, resaltan además de la importancia del insecto como polinizadores, la necesidad de una legislación más integral e interdisciplinaria (Hipólito *et al.*,2021), que abarque requisitos adecuados para la producción y comercialización de miel de abejas sin aguijón. Desde esa visión; Brasil y Malasia son los países que más

investigaciones han publicado sobre caracterización de miel de abejas sin aguijón, especialmente a partir del año 2018, siendo los países más avanzados en términos de regulación. Si bien aún no es una regulación integral e incluyente, ya se dieron los primeros pasos para madurar y ajustar la elaboración de normas más coherentes.

Es necesario crear una visión más sustentable de la meliponicultura, incluyendo la concientización de diversos actores, como sociedad, meliponicultores, agricultores, legisladores, sobre la necesidad de crear leyes coherentes a la realidad, impulsando así la producción de miel junto con la conservación de las áreas naturales que sostengan la producción (Koser *et al.*, 2020; Lóriga *et al.*, 2020).

Los estudios con miel de abejas sin aguijón muestran que aún no existe un consenso entre los investigadores sobre cómo referenciar los estándares y su rango de variación (Braghini *et al.*, 2021), y precisamente la falta de datos más completos impide o hace más difícil el reconocimiento de posibles fraudes y adulteraciones (Omar *et al.*, 2016). También se plantea en este tema dicotomías entre investigadores y legisladores (Hipólito *et al.*, 2021); no obstante, debido a las numerosas variables involucradas, la estandarización de la miel a escala global es inviable, pero sí es posible la determinación de estándares locales para cada país o región geográfica y este estudio se enfocó en esa dirección.

Entre las acciones para mitigar el cuello de botella legislativo, se destaca la importancia de evaluar qué es factible o no. Para un productor y los órganos reguladores; el material (muestra) ya presenta un cierto grado de resistencia, debido a que remite la falta de lugares accesibles y acreditados para análisis de rutina, y en Cuba, eso no es una excepción, así como el valor del análisis y los volúmenes a utilizar. La legislación debe ser lo más viable y práctica posible y abarcar a la vez una investigación de calidad como la desarrollada en el presente estudio.

3.6 Criterios de expertos.

Con la intención de valorar la factibilidad y calidad de la propuesta se empleó el método de criterios de expertos, asumiéndose el procedimiento de (Crespo, 2007), quien pondera el valor de los expertos como fuente de pronóstico y define como expertos a profesionales capaces de ofrecer, con un máximo de competencias, valoraciones conclusivas sobre la propuesta, el pronóstico de los efectos de su aplicación, su viabilidad en la práctica y brindar recomendaciones para perfeccionarlo.

Para la selección de los expertos se realizó una preselección de los posibles expertos sobre la base del conocimiento que el autor posee de ellos, en cuanto a: ser universitario, poseer el grado de Doctor, Master, especialista o de otras ramas de la ciencia, con experiencia y dominio de la temática, avalados por su experticia investigativa y publicaciones realizadas y que reúna cualidades como: ética profesional, imparcialidad, intuición, flexibilidad e independencia de juicios y capacidad de análisis.

Se determinó la competencia de los expertos a partir de las respuestas dadas en el cuestionario de autoevaluación aplicado (Instrumento 1) y se procedió a la determinación del coeficiente K, a partir de la opinión del candidato a experto, en correspondencia con su nivel de conocimiento acerca del problema que se está resolviendo y con las fuentes que le permiten argumentar sus criterios (Figura 1), donde se evidenció el dominio teórico de los expertos (70% alto) y la experiencia del trabajo en el tema (60%).

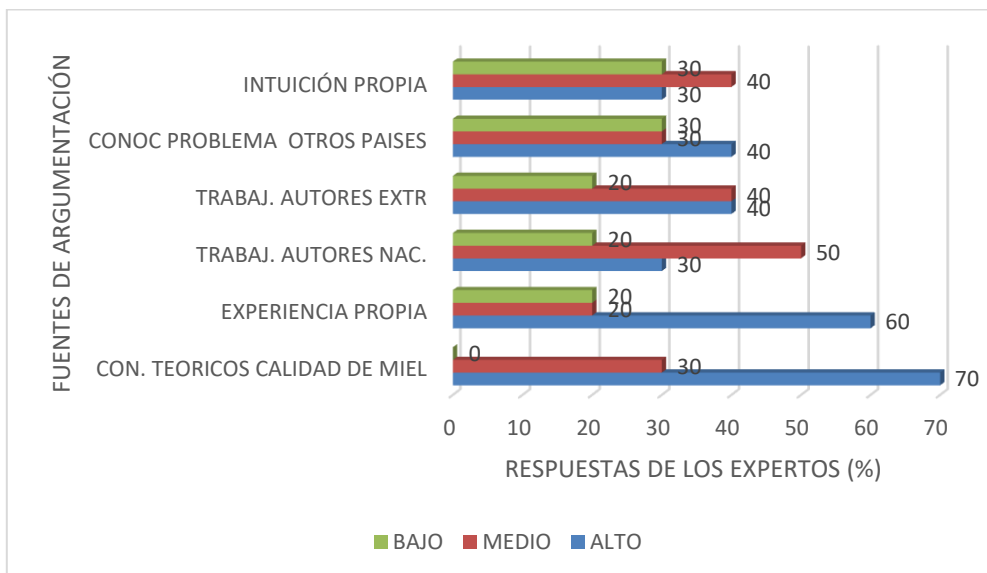


Figura 3.4. Porcentaje de argumentación de los expertos incluidos en la consulta en cada una de las variables.

A partir de un número inicial de 15 expertos, se realizó la selección de los mismos para las siguientes fases del proceso de evaluación y se obtuvo un total de 10 expertos para la evaluación de la propuesta. (Instrumento 2). La efectividad de la actividad profesional muestra los siguientes resultados como elementos de competencia: de los 10 expertos, tres son doctores en ciencias veterinarias, tres son másteres en medicina veterinaria y uno en ingeniería industrial, mención calidad; los cuatro restantes son profesionales; todos con más de diez años de experiencia en alguno de los eslabones de la cadena apícola, lo cual se

corroborar en las respuestas dadas en la argumentación para la selección. Según Warner y con base en la investigación un tamaño de panel ideal en la técnica Delphi es un mínimo de 10-15 individuos (Warner, 2014). No obstante es de significar, que no existe consenso acerca del número de expertos a emplear; hay autores que señalan que el número óptimo debe ser entre 15 y 30 (León *et al.*, 2016); otros sugieren tomar de 2 a 20 expertos (García Valdés y Suárez Marín, 2013) e incluso algunos señalan que con 10 expertos es suficiente para brindar una estimación confiable de la validez de contenido de un instrumento (Collet *et al.*, 2019); este último criterio se tomó en cuenta en el presente trabajo.

El grupo de expertos seleccionado es sometido al otro cuestionario (Instrumento 2) a partir de los indicadores establecidos para valorar la propuesta. Los aspectos se valoraron atendiendo a la siguiente escala: 5 (Muy adecuado), 4 (Bastante adecuado), 3 (Adecuado), 2 (Poco adecuado) y 1 (Inadecuado).

Los resultados del proceso de validación de la pertinencia de la propuesta de indicadores de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba, así como los valores de referencia para que junto a otros estudios contribuyan a una posible norma mediante la técnica de consulta de expertos mostró que en el análisis físico químico (Tabla 3.10), de todos los indicadores, solo la maltosa fue considerada en un 11,1 % de los casos como poco adecuado e inadecuado; el resto se valoraron entre muy adecuado, bastante adecuado y adecuada. Cuando se integran las respuestas de los expertos MA+BA (Figura 3.5), los indicadores físico-químicos mejor valorados por los expertos fueron la humedad (80%), Azúcares reductores (80%), actividad diastasa (80%) y contenido de HMF (77,7%); todos estos requisitos se incluyen en las normas sugeridas para miel de abeja sin aguijón (Seguridad Alimentaria, 2018; Malaysian-Standards, 2017).

Tabla 3.10 Pertinencia de la propuesta de indicadores físico químicos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba, expresada por la consulta de expertos.

	Valoraciones expresadas en %									
	Humeda d (%)	A.R (g/100g)	Sacarosa (g/100g)	Maltosa	Acidez Libre	HMF	Diastasa	PH	C.E	Sólidos Solubles
MA	50	20	20		40	33,3	10	10	10	14,3
BA	30	60	40	33,3	20	44,4	70	40	50	14,3
A	10	10	30	44,4	30	11,1	20	40	30	71,4
PA				11,1						
I	10	10	10	11,1	10	11,1		10	10	

Leyenda: MA: muy adecuado; BA: bastante adecuado, A: adecuado, PA: poco adecuado y I: inadecuado. A.R. Azúcares reductores

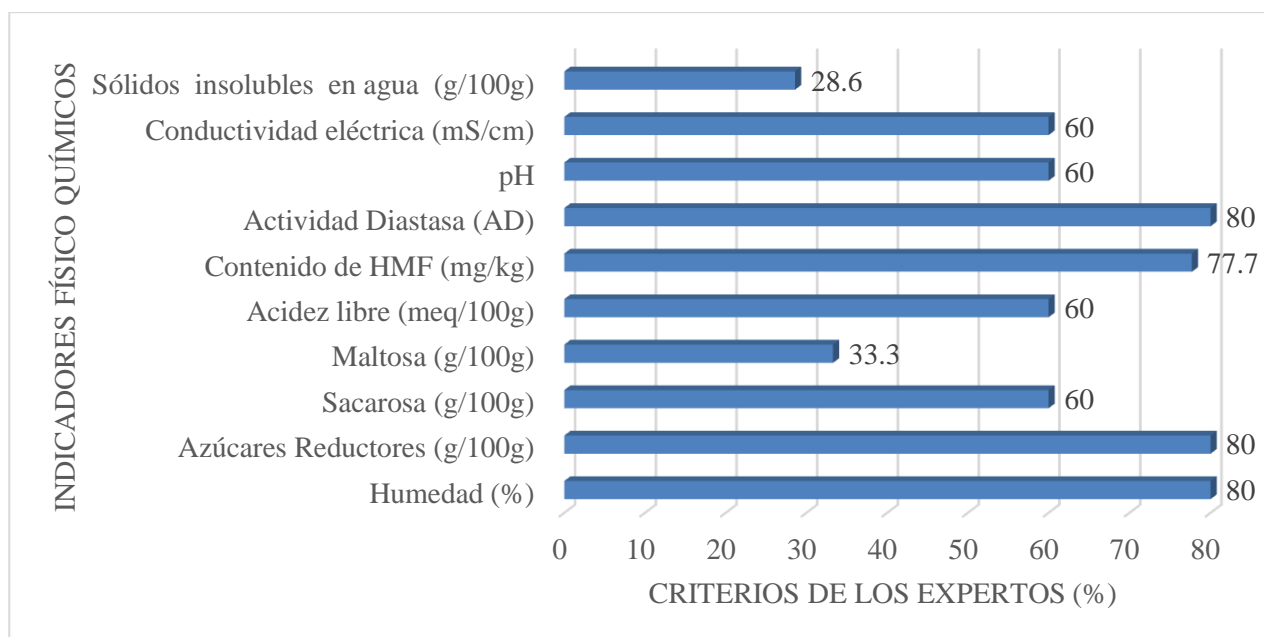


Figura 3.5. Pertinencia de la propuesta de indicadores físico químicos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* expresada por la consulta de expertos en MA: muy adecuado; BA: bastante adecuado.

Para los criterios microbiológico existió mayor consenso entre los expertos y solo en el caso de la *Salmonella* sp. y *Escherichia coli* un 10 % de los expertos consultados planteó que eran poco adecuada (Tabla 3.11). Cuando se valoró los criterios de los expertos MA+BA (Figura 3.6), evidenció que todos los indicadores microbiológicos de calidad higiénica (Aerobios mesófilos, Hongos, Levaduras y Coliformes totales), tienen valores de

80 %, y los indicadores microbiológicos de seguridad sanitaria (*Salmonella* sp. y *E. coli*), de 70 %, apoyando la posible inclusión de los mismos dentro de los indicadores a tener en cuenta en una propuesta de norma. Estos seis grupos de microorganismos generalmente están formando parte de los indicadores microbiológicos de todos los alimentos, y en especial en el caso de la miel son válidos para la miel de abejas melíferas como de meliponas.

Tabla 3.11 Pertinencia de la propuesta de indicadores microbiológicos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba, expresada por la consulta de expertos.

	Microorganismos a 30°	Coliformes Totales	Hongos y levaduras	<i>Clostridium</i> Sulfito reductores	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Escherichia Coli</i>
MA	30	30	30	10	40	40
BA	50	50	50	70	30	30
A	20	20	20	20	20	20
PA	-	-	-	-	10	10
I	-	-	-	-	-	-

Leyenda: MA: muy adecuado; BA: bastante adecuado, A: adecuado, PA: poco adecuado y I: inadecuado

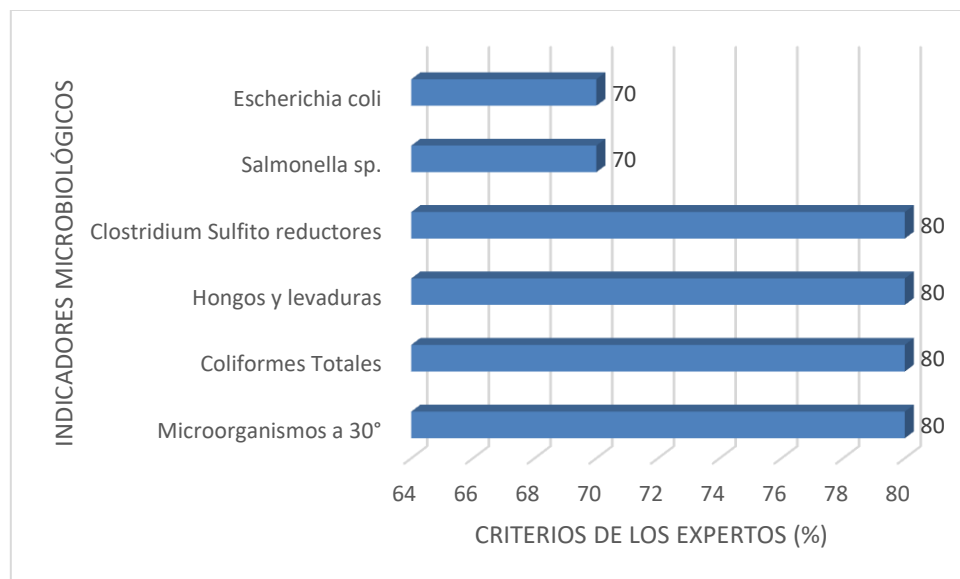


Figura 3.6 Pertinencia de la propuesta de indicadores microbiológico de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* expresada por la consulta de expertos en MA: muy adecuado; BA: bastante adecuado.

Las características física-química y microbiológica de la miel de abejas sin aguijón debe ser analizada con un enfoque multidimensional (intersectorial e interdisciplinaria) ya que comprende cualidades que pueden estar afectadas en cualquiera de los eslabones de la cadena, incluyendo en el hogar y en todos ellos interviene una compleja combinación de condiciones sociales, económicas, políticas y culturales según contexto (Crespo *et al.*, 2018) Existe una amplia gama de indicadores para evaluar los indicadores físico-químico y microbiológico de la miel de abejas sin aguijón. Sin embargo, se hacen necesario aquellos que permitan medir su calidad e inocuidad a favor del consumidor para que no constituya un riesgo su consumo, teniendo en cuenta que son los organismos reguladores y los aparatos de calidad de las empresas los responsables de promover políticas, programas y proyectos con el objetivo de articular todos los componentes que intervienen en este proceso, para satisfacer las exigencias y necesidades de la población.

La validación del conjunto de indicadores físico-químico y microbiológico de la miel de abejas sin aguijón, mediante la aplicación del método Delphi, demostró que de los 10 requisitos físico-químicos evaluados por los expertos, teniendo en cuenta el coeficiente de concordancia (C); 5 obtuvieron un C del 90% (humedad, azúcares reductores, acidez, pH y conductividad), 2 un C de 89% (HMF y maltosa) y 3 alcanzaron un consenso del 100%. En el caso de los 6 requisitos microbiológicos propuestos, todos obtuvieron un coeficiente de concordancia del 100%. Se puede inferir que existe un nivel de pertinencia y calidad de los indicadores de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* propuesto, lo que revela que con su incorporación a resultados previos favorecerá la fundamentación de la norma que necesita este tipo de miel para su comercialización. Las principales sugerencias realizadas giraron alrededor de la necesidad de manejar un mayor número de muestra, representatividad de esas muestras de diferentes regiones del país y épocas del año. Estas recomendaciones fueron consideradas en su totalidad para el perfeccionamiento de la propuesta antes de realizar una valoración definitiva, no obstante el estudio permite llegar a un nivel de consenso para una norma empresarial.

Con la consulta a expertos se demostró la factibilidad de su aplicación para el enriquecimiento y fundamentación de la gestión de una norma basada en evidencias científicas, la cual puede transitar según los expertos por diferentes escalas hasta convertirse con la integración de varios estudios en una norma de alcance nacional (NC).

CONCLUSIONES

1. El diagnóstico de la Matriz DAFO demostró la necesidad que tiene APICUBA de una norma para la comercialización de la miel de abejas *Melipona beecheii* por lo que le es imprescindible disponer de suficiente información científica que le sirva de referencia para la propuesta.
2. La utilización del meta análisis permitió organizar, sistematizar y valorar estadísticamente toda la información científica disponible en la actualidad sobre las características físico-químicas de la miel de *Melipona beecheii* y considerar su heterogeneidad.
3. La investigación de los indicadores físico-químicos y microbiológicos de la miel de *Melipona beecheii* de las principales regiones productoras del país permitió caracterizar los valores medios de 10 variables físico químicas y 6 microbiológicas, con alta variabilidad para la Invertasa, Glicerol, Etanol, Diastasa, y Color
4. La información estadística propiciada por el meta análisis y los datos obtenidos de la caracterización en el presente trabajo permitió la elaboración de una propuesta basada en 10 requisitos físico-químico y 6 microbiológicos para la estandarización de la miel de *Melipona beecheii* en Cuba.
5. En la evaluación de la propuesta por los expertos, realizada mediante la técnica Delphi se obtuvo como consenso la ubicación de todos los requisitos valorados con categorías de Muy Adecuado, Bastante Adecuado y Adecuado, con una puntuación de 90 y 100 % para requisitos físico químicos y microbiológicos, respectivamente.

RECOMENDACIONES

- 1- Realizar un estudio que abarque otras provincias que no pudieron participar y en un período diferente al que se trabaja en esta investigación.
- 2- Mostrar los resultados de este trabajo en eventos científicos, publicaciones y en el Consejo Técnico Asesor (CTA) de la entidad y la empresa para que sirva de referente a un proyecto de norma para la miel de la abeja *Melipona beecheii* y a otras investigaciones sobre el tema.

REFERENCIAS

- Abu, B., Sanusi, S., Abu, B., Cong, O., & Mian, Z. (2017). Physicochemical and antioxidant potential of raw unprocessed honey from Malaysian stingless bee. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16(11), 888-894.
- Alarcón, R., & Ibáñez, L. (2008). Determinación de las Características Físicoquímicas de la Miel Producida por las Especies de Abejas sin Aguijón: *Melipona beecheii* (Jicota) y *Tetragonisca angustula* (Chumelo) de Meliponicultores de la Zona Norte del Departamento de Chalatenango. *Trabajo de graduación de Licenciatura. El Salvador (SS): Universidad de El Salvador*.
- Albores-Flores, V., Saavedra-Camacho, E., López-García, J. A., Grajales-Conesa, J., & Córdova-Albores, L. C. (2021). Caracterización físicoquímica, actividad antioxidante y antifúngica de agregado de polen de tres especies de abejas (Apidae: Meliponini) provenientes del Soconusco, Chiapas. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(1), 41-60.
- Albu, A., Radu-Rusu, C., Pop, I., Frunza, G., & Nacu, G. (2021). Quality Assessment of Raw Honey Issued from Eastern Romania. *Agriculture* 2021, 11, 247: s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published
- Almeida-Muradian, L. B. d., Matsuda, A. H., & Bastos, D. H. M. (2007). Physicochemical parameters of Amazon *Melipona* honey. *Química nova*, 30, 707-708.
- Alquisira-Ramírez, E. V. (2019). La importancia de la meliponicultura en México. *Prácticas agropecuarias como estrategias de seguridad alimentaria*, 103 <http://investigacion.uaem.mx/archivos/epub/practicas-agropecuarias-seguridad/practicas-agropecuarias-seguridad.pdf#page=104>.
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Brenciani, A., Mazzoni, L., Gasparrini, M., González-Paramás, A. M., . . . Forbes-Hernández, T. Y. (2018). *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. *LWT*, 87, 272-279.
- Álvarez, M. R., & Torrado-Fonseca, M. (2016). El mètode Delphi. *REIRE Revista d'Innovació i Recerca en Educació*, 9(1), 87–102-187–102.
- Andrés García, I., Muñoz Moreno, M., Ruíz López del Prado, G., Gil Sáez, B., Andrés Puertas, M., & Almaraz Gómez, A. (2020). Validación de un cuestionario sobre actitudes y práctica de actividad física y otros hábitos saludables mediante el método Delphi. *Revista Española de Salud Pública*, 93, e201909081.
- Anusha, V., Saravanan, P., Kumar, B. V., Rajendran, L., & Raja, P. (2020). Physicochemical properties of stingless bee honey in comparison with *Apis* honey. *Annals of Plant Protection Sciences*, 28(2), 112-114.
- AOAC. (2012). Association of Oficial Analytical Chemists. Official methods of analysis. In Official methods of analysis of AOAC international (19th ed.). Gaithersberg, MD: Assn. of Official Analytical Chemists. Google ScholarGaithersberg, MD: Assn. of Official Analytical Chemists.
- AOAC. (2006). Association of Official Analytical Chemist. In W. Horwitz (Ed.), Official methods of analysis of the AOAC, 18th ed. Washington D.C., USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Apaza, M. H., Menéndez, Y. T. C., & Coral, B. V. (2021). Uso de normas de calidad: estudio comparado de empresas atuneras en la ciudad de Manta-Ecuador (2018-2019). *ECA Sinergia*, 12(2), 60-68.
- Arnold, N., Ayala, R., Mérida, J., Sagot, P., Aldasoro, M., & Vandame, R. (2018). Registros nuevos de abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) para los estados de Chiapas y Oaxaca, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 89(3), 651-665.

- Ávila, S., Beux, M. R., Ribani, R. H., & Zambiasi, R. C. (2018). Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. *Trends in Food Science & Technology*, *81*, 37-50.
- Ávila, S., Lazzarotto, M., Hornung, P. S., Teixeira, G. L., Ito, V. C., Bellettini, M. B., . . . Ribani, R. H. (2019). Influence of stingless bee genus (*Scaptotrigona* and *Melipona*) on the mineral content, physicochemical and microbiological properties of honey. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(10), 4742-4748.
- Azonwade, F. E., Paraíso, A., Agbangnan Dossa, C. P., Dougnon, V. T., N'tcha, C., Mousse, W., & Baba-Moussa, L. (2018). Physicochemical characteristics and microbiological quality of honey produced in Benin. *Journal of Food Quality*, 2018.
- Bakchiche, B., Temizer, İ. K., Güder, A., Çelemlı, Ö. G., Yegin, S. Ç., Bardaweel, S. K., & Ghareeb, M. A. (2020). Chemical composition and biological activities of honeybee products from Algeria. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, *7*(2), 93-103.
- Baudino, C., Giuggioli, N., Briano, R., Massaglia, S., & Peano, C. (2017). Integrated Methodologies (SWOT, TOWS, LCA) for Improving Production Chains and Environmental Sustainability of Kiwifruit and Baby Kiwi in Italy. *Sustainability*, *9*(1621). doi:doi: 10.3390/su9091621
- Biluca, F. C., Braghini, F., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (*Meliponinae*). *Journal of Food Composition and Analysis*, *50*, 61-69.
- Biluca, F. C., Della Betta, F., de Oliveira, G. P., Pereira, L. M., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2014). 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. *Food Chemistry*, *159*, 244-249.
- Braghini, F., Biluca, F. C., Gonzaga, L. V., Kracik, A. S., Vieira, C. R., Vitali, L., . . . Fett, R. (2019). Impact of short-term thermal treatment on stingless bee honey (*Meliponinae*): Quality, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Journal of Food Processing and Preservation*, *43*(7), e13954.
- Braghini, F., Biluca, F. C., Schulz, M., Gonzaga, L. V., Costa, A. C., & Fett, R. (2021). Stingless bee honey: a precious but unregulated product-reality and expectations. *Food Reviews International*, 1-30.
- Brown, E., O'Brien, M., Georges, K., & Suepaul, S. (2020). Physical characteristics and antimicrobial properties of *Apis mellifera*, *Frieseomelitta nigra* and *Melipona favosa* bee honeys from apiaries in Trinidad and Tobago. *BMC complementary medicine and therapies*, *20*(1), 1-9.
- Bueno, F. G. B., Kendall, L., de Araujo Alves, D., Tamara, M. L., Heard, T. A., Latty, T., & Gloag, R. (2021). Stingless bee floral visitation in the global tropics and subtropics. *bioRxiv*.
- CAAMAL, C. A. C., CANTO, A., & Mérida, Y. (2020). Miel y abejas:¿ Qué le sucedería al mundo si desaparecieran? https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2020/2020-10-29-Castaneda-&-A-Canto-Miel-y-abejas.pdf.
- Cardona, Y., Torres, A., & Hoffmann, W. (2019). Colombian stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie*, *50*(6), 881-892.
- Carina Biluca, F., Braghini, F., de Campos Ferreira, G., Costa dos Santos, A., Helena Baggio Ribeiro, D., Valdemiro Gonzaga, L., . . . Fett, R. (2021). Physicochemical parameters, bioactive compounds, and antibacterial potential of stingless bee honey. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(2), e15127.
- Castillo Martínez, T. (2021). Calidad de miel de abeja y perfil socioeconómico de la apicultura en Campeche y Quintana Roo, México.
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodríguez, P., Manna, P. P., . . . Agudo Toyos, P. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, *23*(9), 2322.

- CODEX. (2001). Codex Alimentarius Commission. Codex standard for honey, CODEX STAN 12-1981. Codex Alimentarius Commission FAO/OMS.
- CODEX. (2019a). Codex Alimentarius. Norma del CODEX para la Miel CODEX STAN 12-1981. 2019. Normas Internacionales de los Alimentos.
- CODEX. (2019b). Codex Alimentarius. Norma del CODEX para la Miel CODEX STAN 12-1981. Normas Internacionales de los Alimentos. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B12-1981%252FCXS_012s.pdf.
- Collet, C., do Nascimento, J. V., Folle, A., & Ibáñez, S. J. (2019 Delphi). Construcción y validación de un instrumento para el análisis de la formación deportiva en voleibol. *Cuadernos de psicología del deporte*, 19(1), 178-191.
- Contreras Cortés, L. E. U., Vázquez García, A., Aldasoro Maya, E. M., & Mérida Rivas, J. (2020). Conocimiento de las abejas nativas sin aguijón y cambio generacional entre los mayas lacandones de Nahá, Chiapas. *Estudios de cultura maya*, 56, 205-225.
- Crespo, M. E. R., Pérez, M. M. G., Rivero, I. M. T., & López, R. F. (2018). Validación de indicadores para la gestión pública de la Seguridad Alimentaria y Nutricional. *Cooperativismo y Desarrollo*, 6(2), 169-178.
- Crespo, T. (2007). Respuestas a 16 preguntas sobre el empleo de expertos en la investigación pedagógica. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. .
- Cuevas Glory, L. F. (2017). Optimización de un proceso de secado por aspersion para la obtención de un producto en polvo de miel melipona becheil.
- Chan-Rodríguez, D., Ramón-Sierra, J., Lope-Ayora, J., Sauri-Duch, E., Cuevas-Glory, L., & Ortiz-Vázquez, E. (2012). Antibacterial properties of honey produced by *Melipona becheil* and *Apis mellifera* against foodborn microorganisms. *Food Science and Biotechnology*, 21(3), 905-909.
- Chuttong, B., Chanbang, Y., Sringarm, K., & Burgett, M. (2016). Physicochemical profiles of stingless bee (*Apidae: Meliponini*) honey from South east Asia (Thailand). *Food Chemistry*, 192, 149-155.
- da Silva Cruz, L. F., de Souza Santos, T., de Souza, C. O., dos Santos, L. S. M., Druzian, J. I., Tavares, P. P. L. G., . . . Almeida, L. M. R. (2020). Determination of physicochemical characteristics and bioactive compounds in samples of pollen, geopropolis and honey from *Melipona Scutellaris* bee species. *Brazilian Journal of Development*, 6(4), 21484-21496.
- da Silva, I. A. A., da Silva, T. M. S., Camara, C. A., Queiroz, N., Magnani, M., de Novais, J. S., . . . de Souza, A. G. (2013). Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. *Food Chemistry*, 141(4), 3552-3558.
- Dalkey, N., & Helmer, O. (1963). An experimental application of the Delphi method to the use of experts. *Management science*, 9(3), 458-467.
- Dardón, M. J., & Enríquez, E. (2008). Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (*Meliponini*) de Guatemala. *Interciencia*, 33(12), 916-922.
- Dardón Peralta, M. J. (2005). *Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antibacteriana de la miel blanca producida por Melipona becheil en Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/290/>.
- de Almeida-Muradian, L. B., Stramm, K. M., Horita, A., Barth, O. M., da Silva de Freitas, A., & Estevinho, L. M. (2013). Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(8), 1698-1706.

- de Jesús May-Itzá, W., Peña, W. L., De la Rúa, P., & Quezada-Eúan, J. J. G. (2019). A genetic and morphological survey to trace the origin of *Melipona beecheii* (Apidae: Meliponini) from Cuba. *Apidologie*, 50(6), 859-870.
- de Seguridad Alimentaria, R. (2018). Estándares de calidad microbiológico y físico-químico en miel de abejas nativas sin aguijón (ANSA). *Grupo Ad Hod. Informe Final. 12 de Junio 2018, Argentina*.
- de Sousa, J. M. B., de Souza, E. L., Marques, G., de Toledo Benassi, M., Gullón, B., Pintado, M. M., & Magnani, M. (2016). Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 645-651.
- Delbecq, A. L., Van de Ven, A. H., & Gustafson, D. H. (1975). *Group techniques for program planning: A guide to nominal group and Delphi processes*: Scott, Foresman.
- Delgado, C., Mejía, K., & Rasmussen, C. (2020). Management practices and honey characteristics of *Melipona eburnea* in the Peruvian Amazon. *Ciência Rural*, 50.
- Díaz-Canel Bermúdez, M., & Fernández González, A. (2020). Gestión de gobierno, educación superior, ciencia, innovación y desarrollo local. *Retos de la Dirección*, 14(2), 5-32.
- Dübecke, A., & Schwarzinger, S. (2020). Honey Regulations: Where Is the (Reasonable) Limit? *Bee World*, 98(1), 9-11.
- El Sohaimy, S. A., Masry, S., & Shehata, M. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 279-287.
- Enan, G., Al-Mohammadi, A.-R., Mahgoub, S., Abdel-Shafi, S., Askar, E., Ghaly, M. F., . . . El-Gazzar, N. (2020). Inhibition of *Staphylococcus aureus* LC 554891 by *Moringa oleifera* seed extract either singly or in combination with antibiotics. *Molecules*, 25(19), 4583.
- Espinoza-Toledo, C., Vázquez-Ovando, A., Santos, R. T. d. I., López-García, A., Albores-Flores, V., & Grajales-Conesa, J. (2018). Stingless bee honeys from Soconusco, Chiapas: a complementary approach. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1536-1546.
- Espinoza Toledo, C. (2019). Evaluación de la capacidad antioxidante, actividad antimicrobiana y parámetros físicoquímicos en mieles de *Melipona costaricensis*. https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=2005&sciodt=0%2C5&cites=11603477230702421250&scipsc=&q=Evaluaci%C3%B3n+de+la+capacidad+antioxidante%2C+actividad+antimicrobiana+y++par%C3%A1metros+físicoqu%C3%ADmicos+en+mieles+de+Melipona+costaricensis.&btnG=#d=gs_cit&t=1653581205952&u=%2Fscholar%3Fq%3Dinfo%3AGb_Dd_VI3cIIJ%3Ascholar.google.com%2F%26output%3Dcite%26scirp%3D0%26hl%3Des.
- Faleiros-Quevedo, M., & Francoy, T. M. (2022). Stingless bees honeys': physical-chemical characterization, difficulties and challenges. *Research, Society and Development*, 11(6), e25411628996-e25411628996.
- Fatima, I., AB, M. H., Salwani, I., & Lavaniya, M. (2018). Physicochemical characteristics of Malaysian stingless bee honey from trigona species. *IJUM Medical Journal Malaysia*, 17(1).
- Felsner, M., Cano, C., Bruns, R., Watanabe, H., Almeida-Muradian, L., & Matos, J. (2004). Characterization of monofloral honeys by ash contents through a hierarchical design. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(6), 737-747.
- Fernandes, R. T., Rosa, I. G., & Conti-Silva, A. C. (2020). Honey from Tiúba stingless bees (*Melipona fasciculata*) produced in different ecosystems: Physical and sensory studies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9), 3748-3754.
- Fletcher, M. T., Hungerford, N. L., Webber, D., de Jesus, M. C., Zhang, J., Stone, I. S., . . . Zawawi, N. (2020). Stingless bee honey, a novel source of trehalulose: a biologically active disaccharide with health benefits. *Scientific reports*, 10(1), 1-8.

- Fonte, L., Díaz, M., Machado, R., Blanco, D., Demedio, J., & García, A. (2013). Caracterización físico-química y organoléptica de miel de *Melipona beecheii* obtenida en sistemas agroforestales. *Pastos y Forrajes*, 36(3), 345-349.
- Fuenmayor, C. A., Díaz-Moreno, A. C., Zuluaga-Domínguez, C. M., & Quicazán, M. C. (2013). Honey of Colombian stingless bees: Nutritional characteristics and physicochemical quality indicators *Pot-Honey* (pp. 383-394): Springer.
- García, N. F., Varela, C. J. M. N., Machado, C. J. A. M., & Sánchez, A. Á. (2018). Caracterización de la miel de Meliponas en ecosistemas periurbanos y agrícolas del Consejo Popular Horquita. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 28-33.
- García Valdés, M., & Suárez Marín, M. (2013 Delphi). El método Delphi para la consulta a expertos en la investigación científica. *Revista Cubana de Salud Pública*, 39(2), 253-267.
- Geisa, M. G., Ciappini, M. C., & Hilgert, N. I. (2021). Sensory attributes of native stingless bee honey (*Plebeia molesta*): first approaches to the characterization and preference of local consumers. *Ethnobiology and Conservation*, 10.
- Geisa, M. G., & Hilgert, N. I. (2019). The honey of *Plebeia molesta* and other melliferous insects in the peasant culture of the Northwest of Córdoba, Argentina. *Ethnobiology and Conservation*, 8.
- Genaro, J. A. (2006). A history of systematic studies of the bees of Cuba (Insecta: Hymenoptera, Anthophila). *Zootaxa*, 1195(1), 39-60.
- Genaro, J. A., & Lóriga, W. (2018). *Melipona beecheii* Bennett (Hymenoptera: Apidae): origen, estudios y meliponicultura en Cuba. *Insecta Mundi.*, 0643, 1-18.
- GOC-DL8. (2020). Decreto- Ley 8/2020 (GOC-2020-613-O66). De Normalización, Metrología, Calidad y Acreditación. Gaceta Oficial No. 66 Ordinaria de 1 de octubre de 2020.
- GOC-DL9. (2020). Decreto Ley 9/2020. Inocuidad Alimentaria. (GOC-2020-675-O76). Gaceta Oficial No. 76 Ordinaria de 30 de octubre de 2020.
- Goodarzi, Z., Abbasi, E., & Farhadian, H. (2018 Delphi). Achieving consensus Deal with Methodological Issues in the Delphi technique. *International Journal of Agricultural Management and Development*, 8(2), 219-230.
- Grajales Conesa, J. (2018). *Características físicas, químicas y antibacterianas de mieles de meliponinos y apis mellifera de la región Soconusco, Chiapas; México. No. CH/638.16 G7*. Retrieved from
- Halcroft, M. T., Spooner-Hart, R., Haigh, A. M., Heard, T. A., & Dollin, A. (2013). The Australian stingless bee industry: a follow-up survey, one decade on. *Journal of Apicultural Research*, 52(2), 1-7.
- Herrera-Dueñas, A., & Pineda-Pampliega, J. (2020). El metaanálisis: una herramienta estadística conciliadora.
- Hipólito, J., Coutinho, J., Mahlmann, T., Santana, T. B. R., & Magnusson, W. E. (2021). Legislation and pollination: Recommendations for policymakers and scientists. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 19(1), 1-9.
- Hrncir, M., Jarau, S., & Barth, F. G. (2016). *Stingless bees (Meliponini): senses and behavior*: Springer.
- IHC. (2009). *Harmonised methods of the International Honey Commission*. FAM, Liebefeld, CH-3003 Bern, Switzerland: Swiss Bee Research Centre. .
- ISO-4831. (2006). *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Coliforms—Most Probable Number Technique*, International Standards Organization, Geneva, Switzerland, 2006.

- ISO-6579. (2002E). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Detection of Salmonella Spp, International Standards Organization, Geneva, Switzerland, 2002.
- ISO-9000. (2015). NORMA INTERNACIONAL. Sistemas de gestión de la calidad — Fundamentos y vocabulario. Cuarta edición. 2015-09-15.
- ISO-21527-2. (2008). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds—Part 2: Colony Count Technique in Products with Water Activity Less Than or Equal to 0.95, International Standards Organization, Geneva, Switzerland, 2008.
- Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A. T., Maia, U. M., Blochtein, B., de Carvalho, C. A. L., . . . de Fátima Ribeiro, M. (2015). Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *PLoS one*, *10*(3), e0121157.
- Julika, W. N., Ajit, A., Sulaiman, A. Z., & Naila, A. (2019). Physicochemical and Microbiological Analysis of Stingless Bees Honey Collected from Local Market in Malaysia. *Indonesian Journal of Chemistry*, *19*(2), 522-530.
- Kek, S. P., Chin, N. L., Yusof, Y. A., Tan, S. W., & Chua, L. S. (2017). Classification of entomological origin of honey based on its physicochemical and antioxidant properties. *International Journal of Food Properties*, *20*(sup3), S2723-S2738.
- Koser, J. R., Barbiéri, C., & Franco, T. M. (2020). Legislation on meliponiculture in Brazil: social and environmental demand. *Sustainability in Debate*, *11*(1), 164-194.
- Kulkarni, S., Gurve, S. S., & Chormule, A. (2017). Effect of different indigenous bee attractants in Onion (*Allium cepa* L.) crop. *Annals of Plant Protection Sciences*, *25*(1), 78-82.
- Laaroussi, H., Bouddine, T., Bakour, M., Ousaid, D., & Lyoussi, B. (2020). Physicochemical properties, mineral content, antioxidant activities, and microbiological quality of *Bupleurum spinosum* Gouan honey from the middle atlas in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2020.
- Lage, L. G., Coelho, L. L., Resende, H. C., Tavares, M. G., Campos, L. A., & Fernandes-Salomão, T. M. (2012). Honey physicochemical properties of three species of the Brazilian *Melipona*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, *84*, 605-608.
- Lani, M. N., Zainudin, A. H., Razak, S. B. A., Mansor, A., & Hassan, Z. (2017). Microbiological quality and pH changes of honey produced by stingless bees, *Heterotrigona itama* and *Geniotrigona thoracica* stored at ambient temperature. *Malaysian Applied Biology*, *46*(3), 89-96.
- Lavinhas, F. C., Macedo, E. H. B., Sá, G. B., Amaral, A. C. F., Silva, J. R., Azevedo, M., . . . Carneiro, C. S. (2019). Brazilian stingless bee propolis and geopropolis: promising sources of biologically active compounds. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *29*, 389-399.
- Lemos, M. S., Venturieri, G. C., Dantas Filho, H. A., & Dantas, K. G. (2018). Evaluation of the physicochemical parameters and inorganic constituents of honeys from the Amazon region. *Journal of Apicultural Research*, *57*(1), 135-144.
- León, Y. O. L., Pravia, M. C. P., & Delgado, F. M. (2016 Delphi). Procedimiento para la selección de la Comunidad de Expertos con técnicas multicriterio. *Ciencias Holguín*, *22*(1), 34-49.
- Linstone, H. A., & Turoff, M. (1975). *The delphi method*: Addison-Wesley Reading, MA.
- Lóriga Peña, W., ÁlvarezLópez, D., Fonte Carballo, L., & Demedio Lorenzo, J. (2015). Población inmadura y reservas de alimentos en colonias naturales de *Melipona beecheii* Bennett (Apidae: Meliponini) como factores básicos para su salud. *Revista de Salud Animal*, *37*(1), 47-51.
- Lóriga, W., Demedio, J., & Álvarez, D. L. (2020). Manual de Meliponicultura en Cuba. Editorial AMA, La Habana, Cuba.

- Malaysian-Standards. (2017). Kelulut (Stingless Bee) Honey–Specification (MS 2683: 2017): Department of Standard Malaysia Selangor, Malaysia.
- Marin Mendez, M., Rodríguez Julian, A. R., Minier Pouyou, L., Zayas Tamayo, E., & Soler Santana, R. (2020). Caracterización de agentes bacterianos aislados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. *Medisan*, 24(2), 235-251.
- Maringgal, B., Hashim, N., Tawakkal, I., Mohamed, M., & Shukor, N. I. A. (2019). Phytochemical compositions and antioxidant activities of malaysian stingless bee honey. *Pertanika J. Sci. Technol.*, 27(S1), 15-28.
- Mathias, V. (2021 Delphi). Development and validation of healthcare standards and criteria that contribute to the care of residents in homes for the elderly in Tanzania. .
- Miquez Souza, C., Cavalcante da Silva, S. M. P., Nascimento, A. S. d., Silva, F. d. L., Bagaldo, A. R., & Carvalho, C. A. L. d. (2022). Chemical and microbiological characterization of “samburá” from two stingless bee species. *Journal of Apicultural Research*, 61(1), 70-78.
- Moghaddaszadeh, M., Sarfaraz, A., & Komijan, A. (2015). An integration of SWOT and factor analysis to determining and prioritizing strategies: case study of a Persian food industry. *International Journal of System Assurance Engineering and Management*, 6,(3), 297–303. doi:10.1007/s13198-015-0370-6
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., . . . Whitlock, E. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst. Rev.* 4:1.
- Mokaya, H. O., Nkoba, K., Ndunda, R. M., & Vereecken, N. J. (2022). Characterization of honeys produced by sympatric species of Afrotropical stingless bees (Hymenoptera, Meliponini). *Food Chemistry*, 366, 130597.
- Moniruzzaman, M., Chowdhury, M. A. Z., Rahman, M. A., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2014). Determination of mineral, trace element, and pesticide levels in honey samples originating from different regions of Malaysia compared to Manuka honey. *BioMed research international*, 2014.
- Montenegro, G., Pizarro, R., Ávila, G., Castro, R., Ríos, R., Muñoz, O., . . . Gómez, M. (2003). Origen botánico y propiedades químicas de las mieles de la región mediterránea árida de Chile. *Cien. Inv. Agr.*, 30(3), 161-174.
- Montenegro, L. T. C., Martínez, M. V. L., Ayllon, Y. D., Castillo, V. L., Calzadilla, C. G., Alfonso, A. C., & Álvarez, M. d. C. H. (2017). Sobre la actuación de los Comités Técnicos de Normalización en la elaboración de las normas sanitarias concernientes a los alimentos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 27(2), 17.
- Moo-Huchin, V., Sauri-Duch, E., Moo-Huchin, M., & Lopéz-Ponce, M. (2015). CALIDAD DE LA MIEL DE ABEJAS SIN AGUIJÓN. UNA REVISIÓN. Paper presented at the Congreso Internacional “CUCCAL” “Sobre Inocuidad, Calidad y Funcionalidad de Alimentos en la Industria y Servicios de Alimentación”.
- Moo-Huchin, V. M., González-Aguilar, G. A., Lira-Maas, J. D., Pérez-Pacheco, E., Estrada-León, R., Moo-Huchin, M. I., & Sauri-Duch, E. (2015). Physicochemical properties of Melipona beecheii honey of the Yucatan Peninsula. *Journal of Food Research*, 4(5), 25.
- Mračević, S. Đ., Krstić, M., Lolić, A., & Ražić, S. (2020). Comparative study of the chemical composition and biological potential of honey from different regions of Serbia. *Microchemical Journal*, 152, 104420.
- NC-1. (2020). Norma Cubana. Reglas para la estructura, redacción y edición de las normas cubanas y otros documentos relacionados. 45.
- NC-371. (2020). Norma Cubana. Miel de Abejas-Especificaciones

- Negrín, E., & Santos, L. E. S. (2016). Abejas nativas, señoras de la miel. Patrimonio cultural en el estado de Campeche. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Sociales y Humanísticas: RICSH*, 5(9), 162-185.
- Nordin, A., Sainik, N. Q. A. V., Chowdhury, S. R., Saim, A. B., & Idrus, R. B. H. (2018). Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 73, 91-102.
- NRAG-18. (2021). Norma Ramal. Apicultura—Miel de abejas. Materia prima—Especificación.
- Nweze, J. A., Okafor, J., Nweze, E. I., & Nweze, J. E. (2017). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of two stingless bee honeys: a comparison with *Apis mellifera* honey from Nsukka, Nigeria. *BMC research notes*, 10(1), 1-6.
- Odo, S. E., Uchechukwu, C. F., & Ezemadu, U. R. (2020). Foodborne Diseases and Intoxication in Nigeria: Prevalence of *Escherichia coli* 0157: H7, *Salmonella*, *Shigella* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Advances in Microbiology*, 84-94.
- Oliveira Alves, R. M. d. (2013). Production and marketing of pot-honey *Pot-Honey* (pp. 541-556): Springer.
- Omar, A. F., Yahaya, O. K. M., Tan, K. C., Mail, M. H., & Seeni, A. (2016). *The influence of additional water content towards the spectroscopy and physicochemical properties of genus Apis and stingless bee honey*. Paper presented at the Optical Sensing and Detection IV.
- ONN. (2020a). Oficina Nacional de Normalización. Directivas NC Disposiciones para el Trabajo Técnico Parte 1: Normas cubanas y otros documentos relacionados 1-23.
- ONN. (2020b). Oficina Nacional de Normalización. Directivas NC Disposiciones para el trabajo técnico Parte 2: Normas ramales, empresariales y otros documentos relacionados. 5.
- ONN. (2020c). Oficina Nacional de Normalización. Normalización y actividades relacionadas — Vocabulario general (ISO/IEC Guía 2: 2004, IDT). 22.
- ONN. (2021). Oficina Nacional de Normalización. Reglamento de los Comités Técnicos de Normalización. 1-16.
- Onyenso, A., & Akachuku, C. (2011). Physico-chemical properties of honeys produced by two stingless bee species-Trigona carbonaria and Melipona Beecheii in South-Eastern Nigeria. *Journal of Agriculture, Forestry and the Social Sciences*, 9(1), 158-167.
- Ormeño Luna, J., Castillo Diaz, T., Garay Montes, R., & Vallejos Torres, G. (2021). Calidad de miel por" abejas nativas"(Meliponini) en la Región San Martín, Perú. *Arnaldoa*, 28(1), 139-148.
- Pasias, I. N., Kiriakou, I. K., & Proestos, C. (2017). HMF and diastase activity in honeys: A fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry*, 229, 425-431.
- Pat Fernández, L. A., Anguebes Franceschi, F., Pat Fernández, J. M., Hernández Bahena, P., & Ramos Reyes, R. (2018). Condición y perspectivas de la meliponicultura en comunidades mayas de la reserva de la biósfera Los Petenes, Campeche, México. *Estudios de cultura maya*, 52, 227-254.
- Pérez-Piñero, A. (2017). La apicultura en Cuba y su situación actual. *Agroecología*, 12(1), 67-73.
- Pimentel, T. C., Rosset, M., de Sousa, J. M. B., de Oliveira, L. I. G., Mafaldo, I. M., Pintado, M. M. E., . . . Magnani, M. (2021). Stingless bee honey: An overview of health benefits and main market challenges. *Journal of Food Biochemistry*, e13883.
- Pinheiro, C. d. G. M. d. E., Abrantes, M. R., Silva, R. O. S., Oliveira Junior, C. A., Lobato, F. C. F., & Silva, J. B. A. d. (2018). Microbiological quality of honey from stingless bee, jandaíra (*Melipona subnitida*), from the semiarid region of Brazil. *Ciência Rural*, 48.
- Popova, M., Gerginova, D., Trusheva, B., Simova, S., Tamfu, A. N., Ceylan, O., . . . Bankova, V. (2021). A preliminary study of chemical profiles of honey, cerumen, and propolis of the African stingless bee *Meliponula ferruginea*. *Foods*, 10(5), 997.

- Rafeeian, N., & Taji, M. (2017). Strategy Planning For the Mining Industry in Semnan Province (Iran) Using A Combined SWOT-AHP Approach. *International Journal of Advanced Research in Engineering*, 3(2). doi:10.24178/ijare.2017.3.2.09
- Rahimi, M. K., Abbasi, E., Bijani, M., Tahmasbi, G., & Azimi Dezfouli, A. A. (2020 Delphi). Sustainability criteria of apicultural industry: evidence from Iran. *Ecosystem Health and Sustainability*, 6(1), 1818630.
- Ramírez-Miranda, I., Betancur-Ancona, D., & Moguel-Ordóñez, Y. (2021). Physicochemical and Microbiological Standards of Honey Produced by Genus. *Journal of Apicultural Science, J. APIC. SCI.*
- Ranneh, Y., Ali, F., Zarei, M., Akim, A. M., Abd Hamid, H., & Khazaai, H. (2018). Malaysian stingless bee and Tualang honeys: A comparative characterization of total antioxidant capacity and phenolic profile using liquid chromatography-mass spectrometry. *LWT*, 89, 1-9.
- Rao, P. V., Krishnan, K. T., Salleh, N., & Gan, S. H. (2016). Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 657-664.
- Reyes-González, A., Camou-Guerrero, A., Del-Val, E., Ramírez, M. I., & Porter-Bolland, L. (2020). Biocultural diversity loss: The decline of native stingless bees (Apidae: Meliponini) and local ecological knowledge in Michoacán, Western México. *Human Ecology*, 48(4), 411-422.
- Ribeiro, G. P., Villas-Boas, J. K., Spinosa, W. A., & Prudencio, S. H. (2018). Influence of freezing, pasteurization and maturation on Tiúba honey quality. *LWT*, 90, 607-612.
- Ríos, G. N. (2020). Manual de buenas prácticas de manufactura para cosecha y procesamiento de miel de abeja (*Melipona beecheii*) por productores del Merendón, Cortés, Honduras.
- Rodríguez Perón, J. M., Aldana Vilas, L., & Villalobos Hevia, N. (2010 Delphi). Método Delphi para la identificación de prioridades de ciencia e innovación tecnológica. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 39(3-4), 214-226.
- Saidan, N. H., Roslan, N., Baharuddin, N., Hamil, M. S. R., & Krishnan, K. T. (2020). Compliance of selected stingless bee honey in Kelantan according to Malaysian Standard (MS) 2683: 2017. *Malaysian Applied Biology*.
- Sánchez, L. P. (2020). Aproximación teórica al concepto de calidad y los sistemas de gestión. *SUMMA. Revista disciplinaria en ciencias económicas y sociales*, 2(1), 41-62.
- Se, K. W., Ibrahim, R. K. R., Wahab, R. A., & Ghoshal, S. K. (2018). Accurate evaluation of sugar contents in stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey using a swift scheme. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 46-54.
- Shamsudin, S., Selamat, J., Sanny, M., Abd. Razak, S.-B., Jambari, N. N., Mian, Z., & Khatib, A. (2019). Influence of origins and bee species on physicochemical, antioxidant properties and botanical discrimination of stingless bee honey. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 239-264.
- Shapla, U. M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M., & Gan, S. H. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1-18.
- Sharin, S. N., Sani, M. S. A., Jaafar, M. A., Yuswan, M. H., Kassim, N. K., Manaf, Y. N., . . . Hashim, A. M. (2021). Discrimination of Malaysian stingless bee honey from different entomological origins based on physicochemical properties and volatile compound profiles using chemometrics and machine learning. *Food Chemistry*, 346, 128654.
- Silva, A. d. S., Alves, C. N., Fernandes, K. d. G., & Müller, R. (2013). Classification of honeys from Pará State (Amazon region, Brazil) produced by three different species of bees. *Journal of the Brazilian chemical society*, 24, 1135-1145.

- Silva, L. R., Sousa, A., & Taveira, M. (2017). Characterization of Portuguese honey from Castelo Branco region according to their pollen spectrum, physicochemical characteristics and mineral contents. *Journal of Food Science and Technology*, 54(8), 2551-2561.
- Silvia, P., Gauche, C., Gonzaga, L., Costa, A., & Fett, R. (2015). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. Brazil. *Food Chemistry*, 196(2016), 309-323.
- Solayman, M., Islam, M. A., Paul, S., Ali, Y., Khalil, M. I., Alam, N., & Gan, S. H. (2016). Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 219-233.
- Souza, B. A., Roubik, D. W., Barth, O. M., Heard, T. A., Enríquez, E., Carvalho, C., . . . Persano-Oddo, L. (2006). Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia*, 31(12), 867-875.
- Sujanto, I. S. R., Ramly, N. S., Abd Ghani, A., Huat, J. T. Y., Alias, N., & Ngah, N. (2021 Revisión). The Composition and Functional Properties of Stingless Bee Honey: A Review. *Malaysian Journal of Applied Sciences*, 6(1), 111-127.
- Taye, R. R. (2020). An overview on the diversity, nesting behaviour and importance of stingless bees (Hymenoptera; Apidae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(1), 529-532.
- Trejo, N., Trejo, E., & Zúñiga, J. (2016). Análisis FODA del sector lácteo: un estudio de caso. *Revista de Planeación y Control Microfinanciero*, 2(4), 8-22.
- Umaña, E., Zamora, G., Aguilar, I., Arias, M. L., Pérez, R., Sánchez, L. A., . . . Herrera, E. (2021). Physicochemical differentiation of stingless bee honeys from Costa Rica. *Journal of Apicultural Research*, 1-10.
- Villanueva-Gutiérrez, R., Roubik, D. W., & Porter-Bolland, L. (2015). Bee–plant interactions: competition and phenology of flowers visited by bees *Biodiversity and conservation of the Yucatán Peninsula* (pp. 131-152): Springer.
- Vio, F., Lera, L., Fuentes-García, A., & Salinas, J. (2016). Método Delphi para buscar consenso sobre metodologías educativas en alimentación saludable para alumnos de tercero a quinto año básico, sus familias y profesores. *Nutrición Hospitalaria*, 33(4), 801-807.
- Vit, P., Medina, M., & Eunice Enríquez, M. (2004). Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World*, 85(1), 2-5.
- Vit, P., Pedro, S. R., Maza, F., Ramírez, V. M., & Frisone, V. (2018). Diversity of stingless bees in Ecuador, pot-pollen standards, and meliponiculture fostering a living museum Meliponini of the world *Pot-pollen in stingless bee melittology* (pp. 207-227): Springer.
- Warner, L. A. (2014 Delphi). Using the Delphi Technique to Achieve Consensus: A Tool for Guiding Extension Programs. EDIS: UF/IFAS Extension. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/WC/WC18300.pdf>.
- Witter, S., Lopes, L. A., Silva, C. I., Lisboa, B. B., Imperatriz-Fonseca, V. L., Blochtein, B., & Mondin, C. A. (2021). Geographical origin of white honey produced by stingless bees in the Araucaria Forest in Southern Brazil. *Biota Neotropica*, 21.
- Wong, P., Hii, S., Koh, C., Moh, T., & Gindi, S. R. A. (2019). Chemical Analysis on the Honey of Heterotrigona itama and Trigona binghami from Sarawak, Malaysia. *Sains Malaysiana*, 48(8), 1635-1642.
- Yaacob, M., Rajab, N., Shahar, S., & Sharif, R. (2018). Stingless bee honey and its potential value: a systematic review. *Food Research*.
- Yurrita, C. L., Ortega-Huerta, M. A., & Ayala, R. (2017). Distributional analysis of Melipona stingless bees (Apidae: Meliponini) in Central America and Mexico: setting baseline information for their conservation. *Apidologie*, 48(2), 247-258.

ANEXO 1

Instrumento 1.

Compañero (a):

1. Usted ha sido seleccionado como posible experto para ser consultado con respecto al procedimiento seguido para proponer los requisitos de calidad y los valores de referencia de la miel de abeja *Melipona beecheii*, para de este modo contribuir a elevar su comercialización en el ámbito nacional e internacional.

Le solicitamos nos exprese su conformidad o no, para ofrecer sus criterios en calidad de experto en el referido tema. Si su respuesta es afirmativa, por favor, continúe con el resto de la encuesta:

Marque con una X si está dispuesto a ofrecer sus criterios en calidad de experto en el referido tema: SI _____ NO _____

DATOS DEL EXPERTO

Institución a la que pertenece: __Laboratorio de Referencia para Investigaciones y Salud Apícola (LARISA)

Formación: Universitaria: _____ Técnico Medio: _____ Años vinculado a la Apicultura y/o meliponicultura: _____

Grado Científico o categoría académica: 1__Doctor/a 2 __Máster 3__ Ninguno

Categoría Docente: 1__Instructor 2__Asistente 3__Profesor Auxiliar 4__Profesor Titular

Labor que desempeña: _____

Años de experiencia: _____

Compañero (a):

- 1-Con el objetivo de seleccionar a los más capaces para valorar la pertinencia de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba, así como los valores de referencia para una posible norma, le solicitamos marque en la siguiente escala el punto que a su criterio se corresponde con su grado de competencia. La escala es de 0 a 10, en la cual el 0 representa el experto con insuficientes conocimientos, y el 10 al que posee amplios conocimientos sobre el tema. Le solicitamos sea lo más justo posible en su autovaloración. Muchas gracias por su atención.

ESCALA										
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

2. Con el objetivo de seleccionar a los más capaces para valorar la efectividad de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba, así como los valores de referencia para una posible norma, le solicitamos marque en el siguiente cuadro el grado de influencia (alto, medio, bajo) que usted tiene en sus criterios respecto a cada una de las fuentes de argumentación expuestas. Le solicitamos sea lo más justo posible en su autovaloración. Muchas gracias por su atención.

Fuentes de argumentación sobre propiedades físico químicas de la miel de abejas y sus normativas	Grado de influencia respecto a cada una de las fuentes de argumentación		
	Alto (A)	Medio (M)	Bajo (B)
Conocimientos teóricos sobre la calidad de la miel de abejas			
Su propia experiencia			
Trabajos de autores nacionales			
Trabajos de autores extranjeros.			

Conocimiento del estado del problema en Otros países.			
Su propia intuición			

ANEXO 2

Instrumento 2.

Guía para orientar la valoración de los expertos.

Objetivo: Determinar la pertinencia de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba y sus valores de referencia para una posible norma.

Estimado experto: Considerando su preparación y coeficiente de competencia en el tema, usted ha sido seleccionado para realizar una valoración de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba y sus valores de referencia para una posible norma. A tales efectos se le facilita la información que se ha considerado necesaria para que realice la valoración.

Asumiendo que se trata de una tarea compleja, se da la posibilidad de solicitar cualquier otro aspecto que considere necesario y que se recoge en el informe de la investigación.

Necesitamos asuma la tarea con la responsabilidad que requiere y agradecemos su valiosa colaboración.

En la tabla le proponemos los indicadores sobre los cuales nos interesaría conocer sus valoraciones; se anotan los requisitos incluidos en la propuesta y los referentes normativos para los tipos de miel (*Apis mellifera* y *Melipona sp*). Le sugerimos previamente que pueda consultar el resumen de los resultados obtenidos en el trabajo para la sustentación de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba y sus valores de referencia para una posible norma que aparecen al final del documento.

Para orientar su valoración le precisamos las categorías que proponemos, en correspondencia con la escala que ofrece la técnica Delphi.

Muy Adecuado (MA): Se considera aquel aspecto que es óptimo, en el cual se expresan todas y cada una de las propiedades, consideradas como componentes esenciales para determinar la calidad del objeto que se evalúa.

Bastante Adecuado (BA): Se considera aquel aspecto que expresa en casi toda su generalidad las cualidades esenciales del objeto que se evalúa, siendo capaz de representar con un grado bastante elevado, los rasgos fundamentales que tipifican su calidad.

Adecuado (A): Se considera aquel aspecto que tiene en cuenta una parte importante de las cualidades del objeto a evaluar, las cuales expresan elementos de valor con determinado nivel de suficiencia, aunque puede ser susceptible de perfeccionamiento.

Poco Adecuado (PA): Se considera aquel aspecto que expresa un bajo nivel de adecuación en relación con el estado deseado del objeto que se evalúa al expresarse carencias en determinados componentes, considerados esenciales para determinar su calidad.

Inadecuado (I): Se considera aquel aspecto en el que se expresan marcadas limitaciones y contradicciones que no le permiten adecuarse a las cualidades esenciales que determinan la calidad del objeto que se evalúa por lo que no resulta procedente.

Aspectos a valorar por los expertos

A-Requisitos físico químico	Referentes para los tipos de miel						Valoración según escala de la propuesta por el experto
	Miel de <i>Apis mellifera</i>		Propuesta para miel de Mellipona			<i>Melipona beecheii</i>	
	IHC Standards (2009) ¹	NC-371 / (2020) ²	Vit et al. (2004) ³	Malaysian Standards (2017) ⁴	Argentina (2018) ⁵	Propuesta de indicadores a partir de Este trabajo 2022	
Humedad (%)	Máx. 20	Máx. 20	Máx. 30	Máx. 35	Máx. 28	Max 26	
Azúcares Reductores (g/100g)	Mín. 60	Mín. 60	Mín. 50	Máx. 85	Mín. 50	Min 64	
Sacarosa (g/100g)	Máx. 5	Máx. 5	Máx. 6	Máx. 7.5	Máx. 4		
Maltosa (g/100g)	No aplicable	No aplicable	No aplicable	Máx. 9.5	No aplicable	Negativa	
Acidez libre (meq/100g)	Máx. 50	Max. 50	Máx. 85	No aplicable	Máx. 55	Máx. 54	
Contenido de minerales (g/100g)	Máx. 0.5	No aplicable	Máx. 0.5	Máx. 1.0	Máx. 0,3	No aplicable	
Contenido de HMF (mg/kg)	Máx. 40	Máx. 40	Máx. 40	Máx.30	Máx. 40	Máx. 30	
Actividad Diastasa (AD)	Mín. 8	Mín. 8	Mín. 3	No aplicable	Mín. 2	Mín. 3	
pH	No aplicable	No aplicable	No aplicable	2.5 – 3.8	No aplicable	Máx. 3,78	
Presencia de fitofenoles	No aplicable	No aplicable	No aplicable	Presente	No aplicable	No aplicable	
Conductividad eléctrica (mS/cm)	No aplicable	Mín. 0,8	No aplicable	No aplicable	No aplicable	Mín. 0,5	
Contenido de sólidos insolubles en agua (g/100g)	Máx. 0,1g	No aplicable	No aplicable	No aplicable	No aplicable	No aplicable	

Leyenda: Leyenda: MA: muy adecuado; BA: bastante adecuado; A: adecuado; PA: poco adecuado; I: inadecuado

B-Requisitos microbiológicos	Tolerancia Normas <i>Apis mellifera</i> NC-371 / (2020) ²	Tolerancia normas <i>Melipona sp</i> Malaysian Standards (2017) ⁴ , Argentina (2018) ⁵	<i>Melipona beecheii</i> Propuesta de indicadores a partir de Este trabajo 2022	Valoración según escala de la propuesta
Organismos a 30°	Máx.10 ⁴	No aplica	Máx.10 ⁴	
Coliformes totales	Máx. 10	Máx. 10 ²	Máx. 10 ²	
Hongos y levaduras	Máx. 10 ²	Máx. 10 ³	Máx. 10 ³	
<i>Clostridium</i> sulfito reductores*	Máx. 10 ³	Máx. 10 ²	Máx. 10 ²	
<i>Salmonella</i> sp. (25 g)	0	0	0	
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	

Leyenda: Idem.

Documentos de consulta para los expertos.

Resumen de resultados obtenidos en el trabajo para la sustentación de la propuesta de los requisitos de calidad de la miel de abeja *Melipona beecheii* en Cuba y sus valores de referencia para una posible norma.

Requisitos físico-químicos para miel de *Melipona beecheii* estimados mediante meta-análisis.

Requisitos analizados	Tamaño de efecto e intervalo de confianza 95%					Heterogeneidad		
	Número de estudios	Punto de estimación (media)	Error estándar	Límite inferior	Límite superior	Valor Q	Valor p	I ²
Acidez	20	36,085	3,366	29,488	42,683	2630,147	<0,001	99,28
Azúcares reductores	18	68,699	0,575	67,573	69,826	22827,624	<0,001	99,93
Conductividad Eléctrica	9	0,737	0,153	0,436	1,037	620,532	<0,001	98,71
Diastasa	9	15,393	24,202	-32,041	62,827	155182289,000	<0,001	100,00
Fructosa	4	33,868	2,137	29,680	38,056	59,043	<0,001	94,92
Glucosa	5	28,499	0,624	27,276	29,722	31,849	<0,001	87,44
HMF	13	27,752	4,112	19,693	35,811	606394,631	<0,001	100,00
Humedad	27	26,208	0,625	24,982	27,434	2589,245	<0,001	99,00
Minerales	14	0,247	0,084	0,082	0,411	11370,950	<0,001	99,89
pH	23	3,501	0,049	3,406	3,596	5562,074	<0,001	99,60
Sacarosa	7	3,753	0,939	1,913	5,593	536,615	<0,001	98,88

Comparación de los requisitos de calidad de la caracterización físico química de la miel de *M. beecheii* realizados en Cuba con el meta análisis, revisión de *Melipona* sp y este trabajo.

	Humedad (%)	HMF (mgU/kg)	Acidez (meq/100g)	Diastasa (U Göthe)	pH	Conductividad Eléctrica mS/cm
Fonte, 2008	25,6 ±1,88		46,2 ±50,84		3,5 ±0,1	
Fonte 2013	24 ±		35 ±5,4		3,6 ±0,32	
Álvarez 2018	28,62 ±5,61	9,23 ±1,32	41,52 ±8,19	1,3 ±0,12	3,2 ±0,21	0,58 ±0,14
Nordin 2018	27,68 ±5,8	12,12 ±16,26	73,59 ±101,53	7,08 ±8,01	3,85 ±0,53	1,160 ±1,6
Meta Análisis sobre miel de <i>M. beecheii</i>	26,208 ±0,625	27,752 ±4,112	36,085 ±3,366	15,393 ±24,202	3,501 ±0,049	0,737 ±0,153
Este trabajo 2022*	25, 3 ±0,81	7,72 ±12,31	53,80 ±26,25	2,76 ±3,28	3,78 ±0,22	0,44 ±0,13

Comparación de los requisitos de calidad de la caracterización físico química de la miel de *M. beecheii* realizados en Cuba con el meta análisis y revisión de *Melipona* sp.

	Glicerol	Etanol	Azúcares Reductores (g/100g)	Color (mm Pfund)
Fonte, 2008	-	-		-
Fonte 2013	-	-		-
Álvarez 2018	-	-		41,65 ±7,68
Nordin 2018			55,79 ±16,23	92,9 ±38,92
Meta Análisis	-	-	68,699 ±0,575	-
Este trabajo 2022*	783,78 ±387,1	366,56 ±505,27	64,30 ±2,74	65 ±16,54

Leyenda: * El trabajo investigativo incluyó muestras de las 5 provincias más productoras de miel de abejas sin aguijón en el país (*M. beecheii*).