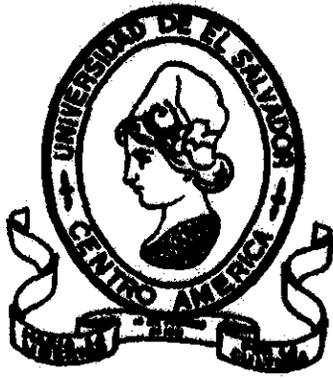


99-43790


© 2001, DERECHOS RESERVADOS
 Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
 sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador
SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Handwritten signature

**“DETERMINACION CUALITATIVA DE
 AMINOACIDOS EN MIEL, UTILIZANDO RESINA
 DE INTERCAMBIO IONICO Y CROMATOGRAFIA
 DE CAPA FINA”**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

MARIA MAGDALENA PALACIOS H.
ALIDA DELFINA RODRIGUEZ MURCIA

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
 LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA**

DICIEMBRE DE 1999



SAN SALVADOR

EL SALVADOR

CENTRO AMERICA

T-MES
1601
P353d

Ej-2

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

DR. BENJAMÍN LÓPEZ GUILLEN

SECRETARIO GENERAL

LIC. ENNIO ARTURO LUNA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANO

DRA. KENNY LUZ DE MARÍA SOSA

SECRETARIO

LIC. MARÍA ISABEL RAMOS DE RODAS

ASESORAS

LIC. MARTHA ALICIA TORRES DE PORTILLO

LIC. MARÍA CONCEPCIÓN ODETTE RAUDA ACEVEDO

JURADO CALIFICADOR

LIC SONIA MARICELA LEMUS MARTÍNEZ

LIC. MARTA ILDA LUNA DE FLAMENCO

LIC. NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

AGRADECIMIENTOS

A la Lic. MARTHA ALICIA TORRES DE PORTILLO y Lic. MARÍA CONCEPCIÓN ODETTE RAUDA ACEVEDO, por su amable dedicación y valiosa orientación durante el período de preparación de este trabajo.

Al personal de la FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, que de una u otra manera nos brindaron su constante apoyo.

A la ESCUELA NACIONAL DE AGRICULTURA (ENA) por la amable colaboración brindada.

A INDUSTRIAS QUÍMICAS DE EL SALVADOR (IQSA) por su fina colaboración.

Al DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador por su valiosa información y colaboración.

Al DEPARTAMENTO DE APICULTURA del Ministerio de Agricultura y Ganadería, por la información proporcionada

A todas las personas e instituciones que en una u otra forma nos brindaron su valiosa colaboración.

DEDICO ESTE TRIUNFO

A DIOS TODOPODEROSO por sus bendiciones y por haberme iluminado y concedido la fortaleza para la elaboración de este trabajo y alcanzar esta anhelada meta de mi vida.

A mi madre LEONOR MAGDALENA por su abnegación y amor, su constante apoyo y consejos que me guían en la vida y me han conducido a obtener este triunfo, que hoy se lo dedico con mucho amor.

A mis FAMILIARES con mucho cariño.

A los CATEDRÁTICOS que a lo largo de mis estudios en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, me brindaron los valiosos conocimientos que han hecho posible este triunfo.

A mis AMIGOS que en todo momento me han demostrado su sincera amistad

A mis HERMANOS de Círculo Solidario y Acción Solidaria por su amor y solidaridad

A mis compañeras de laboratorio EVA MARGARITA ROSALES y ENA DANELY MEJÍA por su cariño y valiosa colaboración

A mi compañera de trabajo de graduación por su colaboración en la realización de este trabajo.

MARÍA MAGDALENA PALACIOS HERNÁNDEZ.

DEDICO ESTE TRIUNFO

A DIOS TODOPODEROSO, a la Santísima Virgen María, por su amor y protección que en todo momento puedo percibir, siendo este logro uno de los tantos testimonios que puedo mencionar.

A mis PADRES por su apoyo incondicional que me han dado en todos los momentos de mi vida, mi madre que sigue a mi lado y mi padre que desde su lugar de descanso sé que me sigue diciendo “No se dé por vencida y siga adelante, primero Dios lo va a lograr”.

A mis hermanos, en especial a MAMA TITI, ROBERTO y BESSY que me ayudaron siempre de muchas maneras.

Con mucho amor a mi esposo ALFREDO y a mis hijos CARLOS, GONZALO, ALEJANDRA, FÁTIMA y MÓNICA por su apoyo, amor y comprensión.

A mi compañera de trabajo de graduación por su valiosa dedicación en la realización de este trabajo.

ALIDA DELFINA RODRÍGUEZ MURCIA.

I N D I C E

INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
CAPITULO I	
MARCO TEORICO	
1.1 GENERALIDADES DE LA MIEL	5
1.1.1 La miel y el medio ambiente	
1.1.2 Condiciones que debe reunir una miel de calidad.	
1.2 COMPOSICION DE LA MIEL	14
1.2.1 Contenido de agua	
1.2.2 Glucosidos	
1.2.3 Acidos	
1.2.4 Protidos	
1.2.5 Sales minerales	
1.2.6 Componentes diversos	
1.3 CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN LA MIEL DE ABEJA	17
1.4 AMINOACIDOS	19
1.4.1 Estructura y clasificación	
1.4.1.1 Aminoácidos neutros	
1.4.1.2 Aminoácidos básicos	
1.4.1.3 Aminoácidos ácidos	
1.4.2 Clasificación bioquímica de los aminoácidos	
1.4.2.1 Aminoácidos esenciales	
1.4.2.2 Aminoácidos no esenciales	
1.4.3 Funciones	

CAPITULO II	
DISEÑO METODOLOGICO	
2.1 UNIVERSO	24
2.2 DETERMINACION DE LUGARES DE MUESTREO	24
2.3 SELECCIÓN DE LA MUESTRA DE MIEL	25
CAPITULO III	
METODO DE ANALISIS	
3.1 MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS	27
3.2 EXTRACCIÓN DE AMINOÁCIDOS POR CROMATOGRAFÍA DE COLUMNA	29
3.2.1 Llenado de columna	
3.2.2 Preparación de la muestra	
3.2.3 Extracción de aminoácidos	
3.3 SEPARACION DE AMINOACIDOS UTILIZANDO LA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA BIDIMENSIONAL	30
3.3.1 Preparación y activación de las placas	
3.3.2 Preparación de las soluciones estándares	
3.3.3 Preparación del sistema de solvente "A"	
3.3.4 Preparación del sistema de solvente "B"	
3.3.5 Método Cromatográfico bidimensional ascendente	
3.4 IDENTIFICACION	25

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DE LOS ANALISIS DE MUESTRAS DE MIELES EMPLEANDO CROMATOGRAFIA DE COLUMNA Y CAPA FINA BIDIMENSIONAL	35
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CAPITULO V

CONCLUSIONES	48
---------------------	----

CAPITULO VI

RECOMENDACIONES	52
------------------------	----

BIBLIOGRAFIA	55
---------------------	----

ANEXOS	60
---------------	----

INDICE DE CUADROS

		Páginas
Cuadro 1	Resultados del ensayo preliminar con ninhidrina de las mieles con marcas.	38
Cuadro 2	Resultados del ensayo preliminar con ninhidrina de las mieles sin marcas	39
Cuadro 3	Resultado de análisis de miel marca Colmenar.	40
Cuadro 4	Resultados de análisis de muestra de miel sin marca del Apario de Oriente	44

INDICE DE TABLA

Tabla 1	Valores de hRf de estándares de aminoácidos disponibles.	40
----------------	-----------------------------------------------------------------	-----------

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Mapa cromatográfico de la miel marca Colmenar y estándar de tirosina	42
Figura 2	Mapa cromatográfico de la miel zona de oriente de San Miguel.	45

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN ESTA TESIS

Ac.	Ácido
AOAC	Asociación Oficial de química analítica
cm.	Centímetro
CO ₂	Dióxido de Carbono
-COO ⁻	Radical Carboxilo
CN	Capa modificada de ciano
Col	Colonia de bacterias
DVB	Divinil Benceno
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación
g	Gramo
HCl	Acido Clorhídrico
H ⁺	Ión hidrógeno
H ₂ O	Agua
H ₂ SO ₄	Ac. Sulfúrico
HPLC	High Pressure Liquid Cromatography (Cromatografía líquida de alta presión)
Kg	Kilogramo
Max.	Máximo
min.	Mínuto

mval.	Milival
mm.	Milímetro
mL	Mililitro
mg.	Miligramo
NH ₂	Grupo amino
NH ₃	Amoníaco
nm	Nanómetro
NaCl	Cloruro de sodio
Na ⁺	Ión sodio
OMS	Organización Mundial para la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
p/p	Peso sobre peso
p/v	Peso sobre volúmen
RP	Reversed phase (fase invertida)
R-	Grupo R
SO ₃ ⁻	Ión sulfato
SO	Ión mono azufre
uL	Microlitro
v/v	Volumen sobre volumen
Zn	Zinc

INTRODUCCION

La miel es un producto biológico, producido por la abeja (Apis mellífera) y explotado por el hombre tanto por su poder edulcorante como por sus virtudes dietéticas y terapéuticas, es una sustancia muy compleja que varía notablemente su composición a consecuencia de la flora, del área de origen y de las condiciones climáticas.

Se afirma que al industrializar la miel, se podrían vender algunos subproductos como la jalea real, propóleo (resinas naturales que se utilizan para apiterapia en algunas enfermedades). (11)

Actualmente, la miel que se produce se comercializa cruda. Solo se purifica y se consume como tal, el 20% en el país, y el resto se exporta a países europeos como Alemania (principal comprador), Inglaterra, Dinamarca y Suiza. (11).

Es por eso la importancia de comprobar su pureza y cuidar que cumpla con los requisitos de calidad para que las mieles no sean rechazadas en los mercados internacionales.

En el presente trabajo, se llevo a cabo un estudio que permitió evaluar la calidad de la miel a partir de la presencia o no de aminoácidos característicos de la misma. El análisis se realizó empleando *cromatografía de columna con resina de intercambio iónico AMBERLITE IR-120* la cual extrajo los aminoácidos presente en las muestras analizadas, se separaron e identificaron por medio de *cromatografía de capa fina bidimensional*, usando como revelador una solución de ninhidrina con dicitclohexilamina, para relacionar la distancia recorrida por los aminoácidos y la distancia recorrida por el frente del solvente (R_f) para cada una de las manchas presentes y comparar el color que presentaron las manchas con los colores presentados por los estándares de referencia.(1)

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de aminoácidos en diferentes muestras de mieles comercializadas en el país, por medio de los métodos de cromatografía de columna y de capa fina.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Desarrollar los métodos cromatográficos de columna y capa fina para la determinación de aminoácidos en miel.

Determinar cualitativamente los aminoácidos presentes en diferentes muestras de miel comercializada en el país.

Diferenciar por medio de la presencia de aminoácidos, las mieles genuinas de aquellos productos artificiales similares.

Recomendar a las instituciones correspondientes la importancia de realizar control de calidad a la miel.

CAPITULO I
MARCO TEORICO

1. MARCO TEORICO

1.1 Generalidades de la Miel

Origen de la miel.

La miel procede de las plantas por intermedio de las abejas. La savia elaborada en las plantas, es materia prima de la miel, la cual es extraída de los vasos del líber que la contiene de dos maneras:

- Por los nectários elaboradores de néctar.
- Por los insectos chupadores y picadores, pulgones principalmente, los cuales exudan mielato.

La savia elaborada es absorbida por los pulgones, ya en el intestino de éstos insectos son absorbidos los elementos necesarios para ellos, lo que representa en azúcares el 10% de la cantidad total aportada por la savia. El excedente es expulsado bajo forma de gotitas de melaza, que las abejas toman sobre el mismo cuerpo del pulgón o de las hojas donde este mielato haya caído.

Las pecoriadoras, añaden saliva al néctar o al mielato que recogen y los fluidifican y sobre todo, los enriquece con enzimas, catalizadores bioquímicos que participan en el origen de la transformación de los azúcares en miel. En este proceso llenan su buche de mielato o néctar, transportan su carga hasta la colmena. En ella, distribuyen su botín entre las obreras del interior y los zánganos.

Los azúcares contenidos en el mielato y el néctar se transforman, poco a poco, bajo la acción de los sucesivos aportes de la saliva que tienen lugar en cada uno de los múltiples pasos de abeja a abeja.

Luego de ser depositada en las celdas, la miel será concentrada, protegida y completará su transformación bioquímica.

Concentración.

Tiene lugar en dos tiempos:

- a) Una abeja deposita el contenido de su buche en una celda; la gota de líquido azucarado se extiende y se pierde agua por evaporación; es resuccionada y vuelta a depositar, este proceso

se repite varias veces durante 15 a 20 minutos, y concentran la gota hasta un contenido de agua de un 40 al 50%.

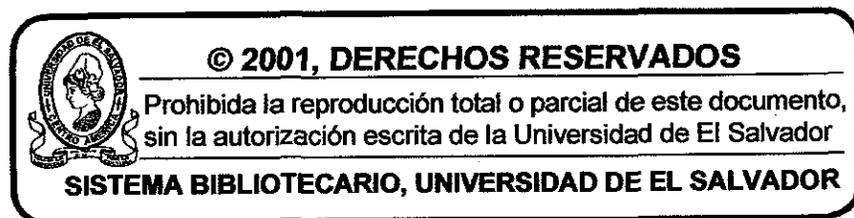
- b) Después de permanecer varios días en los panales, el líquido azucarado reduce pasivamente su contenido de agua en un rango de 14 a 25% y el de azúcares aumenta en un 70-80%.

Protección

Las abejas recubren la miel suficientemente concentrada con un opérculo de cera. A pesar de esta protección las mieles que contienen el 21% de agua o más pueden fermentar en los panales. Sólo se conservan bien las mieles con menos del 18% de agua.

Transformación.

Los azúcares se transforman. Su constitución química evoluciona entre la del néctar o el mielato y la de la miel. En particular, la sacarosa da una mezcla de glucosa y levulosa bajo la acción de una diastasa (enzima) la invertasa o sacarasa, son incorporadas al néctar por la saliva de las abejas(17).



Propiedades químicas de la miel.

Las propiedades químicas de la miel dependen de cada uno de sus constituyentes. Una de ellas es la acidez. La cual se debe a la presencia de ácidos en la miel, especialmente el ácido glucónico.

El pH de la miel va de 3.2 a 5.5. Generalmente es inferior a 4 en las mieles de néctar, superior a 5.0 en las de mielato. Las mieles de pH bajo se degradan con mayor facilidad, por lo que habrá que tener un cuidado especial para su conservación a temperatura ambiente, y cuando sea indispensable, calentamiento moderado y perfectamente controlado. (17)

Valor terapéutico de la miel.

En razón de su alto contenido de azúcares, la miel es un alimento energético por excelencia.

Los constituyentes minerales de la miel le confieren propiedades medicinales y dietéticas.

a) Administrada por vía bucal, la miel cura o mitiga los trastornos intestinales, las úlceras de estómago, el insomnio, afecciones de garganta, cardíacas, etc. Aumenta el contenido en

hemoglobina de la sangre y el vigor muscular. Los niños alimentados con miel están claramente más desarrollados que los alimentados con azúcar. La miel facilita la retención del calcio; activa la osificación y la salida de los dientes; es ligeramente laxante.

Un adulto puede ingerir sin peligro 500 g. de miel al día. En el caso de algunas personas sensibles, la miel puede producir procesos alérgicos.

- b) En uso externo, se usa para quemaduras, heridas y afecciones rinofaríngeas (por instilación), gracias a una inhibina que le confiere propiedades bactericidas. El elemento esencial de esta acción antibiótica de la miel, es una enzima, la glucosa oxidasa, que provoca un desprendimiento de agua oxigenada (17).

1.1.1 La miel y el medio ambiente.

Las cualidades de una miel dependen grandemente del ambiente que rodea al colmenar y muy especialmente la flora y el clima de la región donde esta ubicado (18). En la época lluviosa la vegetación es muy exuberante pero su floración es escasa, a excepción de algunas especies como la "flor amarilla" (Baltimora recta L.), planta muy apreciada porque aporta polen y algo de

mielato. Lo mismo ocurre con el "maíz" (Zea mays) que ofrece abundante floración en los meses de julio y agosto; otras especies que aportan polen y mielato en el período lluvioso (aunque en menor grado) Son la "flor amarilla de sabanetas" (Tecoma stans), el "chichiguaste" (Hyptis mutabilis), y la "dormilona" (Mimosa pudica) entre otras, En las zonas montañosas existen árboles que también ayudan a la sobrevivencia de las abejas (12). En esta época la cosecha aumenta pero la miel pierde calidad (18).

La flora que se encuentra en el área del colmenar tiene gran importancia en las características que presentará la miel, el néctar que consumen las abejas proporcionan un sabor y color específico a la miel, en el país el néctar del "pepeto" (Inga leptoloba) es uno de los mejores para proporcionar materia prima en la fabricación de la miel. Al inicio de la estación seca se produce abundantemente la "campanilla" (Ipomoea aff. microsticta), especie que proporciona la mayor cantidad y mejor calidad de miel en nuestro país, esta floración termina con el fin de año, pero es seguida por la de la "ceiba" (Ceiba pentandra), abundante durante los meses de diciembre-enero y la del "madre cacao" (Gliricidia sepium) en los meses de enero-febrero. Estas son las principales

especies que suministran la materia prima para la elaboración de la miel, sin embargo, hay otras de alguna importancia, dependiendo de su abundancia en las diferentes "zonas apícolas" de El Salvador (ver anexo 7) por ejemplo: "Pie de venado" (Bauhinia purpurea), "membre" (Poeppigia procera presi), "chaparro" (Curatella americana) , "morro" (Crescentia alata), "siete pellejos" (Ipomoea arborecens) y otras, que aportan cantidades importantes de mielato que hacen que la apicultura sea un negocio rentable (12). La producción de néctar no solo depende de la especie vegetal, sino también de la época del año, la temperatura, la luz solar, la atmósfera, características físicas y químicas del suelo, de la humedad de éste, etc. (18). Todo esto proporciona cualidades importantes a la calidad de la miel, favoreciendo así su industrialización, comercialización y exportación.

1.1.2 Condiciones que debe reunir una miel de calidad.

No solo es de mencionar las propiedades de la miel en relación con el medio ambiente, otro factor que ejerce influencia en la calidad

del producto, son las técnicas empleadas por el apicultor en cuanto a la higiene y los métodos de extracción.

Es así como se obtiene una miel de calidad, translúcida, sin sabores extraños, de gran valor nutritivo con buenas propiedades de conservación.

Para obtener una buena miel es necesario:

1. Que se retiren de las alzas solamente los panales con sus celdas operculadas.
2. Efectuar la extracción con suma limpieza.
3. Filtrar la miel al salir del extractor y colocarla en los tanques.
4. Madurar la miel en los tanques en área seca y ventilada por lo menos quince días.
5. Tanto los depósitos como los envases a utilizar se deben lavar con agua a punto de ebullición (18).

El contenido de humedad es importante ya que ésta facilita la fermentación de la miel. En Estados Unidos el estándar para cualquier miel establece que debe tener de humedad hasta un 18.6%, una densidad máxima de 1.413 a 25 Celsius. En el país, el porcentaje de humedad de la miel puede ser del 18%, cuando la

miel se extrae de la colmena prematuramente puede contener hasta 25% de humedad bastando tan solo del 20 al 21% para que fermente con facilidad. Por ello, el apicultor, debe recoger tan sólo la miel de los panales debidamente operculados por las abejas; "La abeja entiende de miel más que cualquier apicultor y no opércula sino hasta cuando considera que su cosecha ha perdido la cantidad de agua necesaria" (18).

Para la conservación de la miel, se destruyen las levaduras por pasteurización a 63 Celsius por 7.5 minutos, lográndose también a 69 Celsius por 1 minuto y a 71 Celsius instantáneamente. La pasteurización no procede si la miel contiene un 17% de humedad, ya que esta práctica se lleva a cabo cuando el apicultor retira la miel prematuramente. Pero además se ha descubierto que la pasteurización disminuye la calidad de la miel por quitarle una parte de sus propiedades naturales (destruye vitaminas, aminoácidos y su sabor característico).

Por lo antes mencionado y para no alterar la composición de la miel se recomienda no subir la temperatura a más de 50 Celsius.

1.2 Composición de la miel.

Las propiedades físicas de la miel como son su alta viscosidad, su consistencia pegajosa, sabor dulce, tendencia a absorber humedad del aire y resistencia a cierto tipo de deterioro, radica en el hecho que naturalmente es una solución muy concentrada de varios azúcares, debido a su carácter singular y de considerable diferencia con otros productos edulcorantes, los químicos y técnicos en nutrición han estado desde hace tiempo interesados en su composición para poderla incluir en fórmulas y en productos alimenticios (16).

El sabor característico de la miel es dado por los azúcares, el ácido glucónico y la prolina, pero el aroma y el gusto particular de cada miel son atributos sobre todo de los productos volátiles que contiene.

1.2.1 Contenido de agua

Es una de las características más importantes porque influye en el peso específico, viscosidad, sabor, solubilidad, su conservación y en definitiva su valor comercial.

1.2.2 Glucosidos

Proceden del néctar o del mielato y otros se forman como consecuencia de los procesos enzimáticos.

1.2.2 Acidos

Todas las mieles tienen reacción ácida, presentan un pH promedio de 3.9, debido a los ácidos que contienen entre los que se encuentran ácidos orgánicos, el más importante es el ácido glucónico que se forma de la glucosa por acción enzimática (16). Algunos ácidos son volátiles, se han separado hasta 125 compuestos volátiles de los que la mitad han sido identificados químicamente, como carbonilos (15). Se encuentran también algunos ácidos inorgánicos (clorhídrico, fosfórico). Se presume que el origen de algunos ácidos es dado por: el néctar, el mielato o se forman por procesos enzimáticos y fermentativos.

Los ácidos contribuyen a otorgar aroma, si bien, en el sabor la acidez no llega a ser percibida por estar enmascarada por la presencia de los azúcares (16).

1.2.4 Protidos

Son componentes escasamente representados y su presencia esta ligada, en parte, a los granos de polen que se encuentran en la miel.

1.2.5 Sales Minerales

Su contenido es mínimo y varía con relación al origen botánico, a las condiciones edáfico-climáticas y a las técnicas de extracción.

El elemento que predomina es el potasio seguido del cloro, azufre, sodio, calcio, fósforo, magnesio, silicio, hierro y cobre (16).

1.2.6 Componentes diversos

Como todas las sustancias naturales, la miel contiene una amplia variedad de componentes orgánicos, algunos de los cuales no se conoce su naturaleza. Las sustancias responsables del aroma, vitaminas (hidrosolubles), enzimas tanto de origen vegetal como animal de las cuales las más importantes son la diastasa o amilasa (hidrolizan el almidón en glucosa) y la invertasa o sacarasa

(hidrolizan la sacarosa en glucosa); ambas son inestables al calor sobretodo la invertasa y se deterioran con el tiempo; también existe una glucosidasa (transforma glucosa en ácido glucónico), catalasa y una fosfatasa (16).

El contenido de nitrógeno reflejado en aminoácidos y proteínas es mayor en mieles de fuentes no florales, los aminoácidos son compuestos simples obtenidos cuando las proteínas son degradadas por procesos químicos o digestivos.

La cantidad de aminoácidos en la miel es pequeña. Se sabe que los aminoácidos reaccionan lenta o rápidamente por medio del calor con los azúcares, para formar sustancias amarillas o pardas, parte del oscurecimiento de la miel puede deberse a esta reacción.

1.3 Contenido de aminoácidos en la miel de abeja.

La cantidad de aminoácidos libres en la miel es pequeña, avances referentes a la separación por métodos cromatográficos de cantidades mínimas de aminoácidos han revelado que varias mieles contienen de 11 a 17 aminoácidos libres diferentes. Entre 1960 y 1961 se analizaron 30 mieles de las cuales se encontraron los

siguientes aminoácidos libres: Ac. Glutámico, Ac. Aspartico, Arginina, Alanina, Cistina, Fenilalanina, Glicina, Histidina, Leusina, Isoleusina, Prolina, Metionina, Lisina, Triptófano, tirosina, Serina, Treonina.

Porcentaje de aminoácidos libres en las mieles (mg/100g) (17)

Aminoácido	Cantidades
Ac. Aspartico	0.06-17.0
Ac. Glutámico	0.50-19.0
Alanina	0.32-10.5
Arginina	0.00-5.0
Cistina	0.00-6.1
Fenilalanina	0.28-16.6
Glicina	0.20-5.9
Histidina	0.56-10.7
Isoleusina	0.12-4.6
Leusina	0.15-5.3
Lisina	0.40-38.2
Serina	0.38-23.6
tirosina	0.18-6.9
Treonina	0.20-4.5
Triptófano	0.00-0.1
Metionina	0.00-2.7
Prolina	6.20-249.0

1.4 Aminoácidos

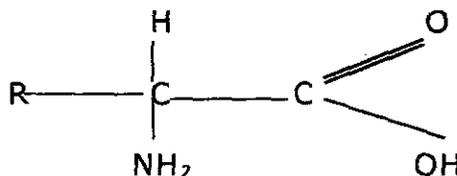
Definición.

Son esencialmente compuestos orgánicos bifuncionales por contener en su estructura un grupo amino básico y un grupo carboxilo ácido, que se forman por la hidrólisis completa de las proteínas.

1.4.1 Estructura y clasificación.

La mayoría de los aminoácidos son alfa-aminoácidos, pues tienen un grupo amino (NH_2) y un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) unidos al mismo átomo de carbono alfa al carboxilo (2).

Estructura general.



El grupo R da las características propias de cada aminoácido.

Clasificación.

Se clasifican en base a la composición química del grupo R, dividiéndolos en alifáticos, hidroxilados, azufrados, aromáticos, ácido-amídicos, alcalinos e imídicos y dependiendo del carácter que este grupo les infiera pueden ser: neutros ,básicos y ácidos

1.4.1.1. Aminoácidos neutros

Cuando el grupo R no puede ionizarse y no presenten carga, encontrándose entre ellos la glicina, alanina, leusina, isoleusina, serina, treonina, metionina, prolina, cistina, triptófano, aspargina, fenilalanina.

1.4.1.2. Aminoácido Básicos

Cuando el grupo R puede ionizarse y funciona como una base de Bronsted para formar un grupo con carga positiva, en este grupo tenemos la lisina, arginina, e histidina.

grupo con carga negativa, entre estos tenemos el ácido glutámico, ácido aspártico y tirosina (2).

1.4.2. Clasificación Bioquímica de los aminoácidos

Desde el punto de vista bioquímico los aminoácidos se clasifican en esenciales y no esenciales.

1.4.2.1. Aminoácidos esenciales

Son los aminoácidos que no pueden sintetizarse a velocidad suficiente para satisfacer las necesidades normales de la biosíntesis de proteínas, por lo tanto deben ser adquiridos en la dieta del hombre.

1.4.2.2. Aminoácidos no esenciales.

Son los que pueden sintetizarse a velocidad suficiente, suponiendo que los aportes de nitrógeno amínico y precursores carbonados sean adecuados.

1.4.2 Funciones

Muchos aminoácidos tienen funciones específicas en el metabolismo, debido a ello su rol general es ser constituyentes de la estructura de las proteínas. Las proteínas son requeridas para incorporar los aminoácidos a la sangre y tejidos. Muchos aminoácidos son específicamente utilizados en la formación de hormonas, enzimas y otros constituyentes necesarios para el metabolismo.

Los aminoácidos pueden obtenerse por hidrólisis de proteínas, estas como fuentes de aminoácidos son absolutamente necesarias en la nutrición humana, las enfermedades nutricionales aparecen cuando la ingesta de compuestos nitrogenados es menor que la eliminación de nitrógeno durante largos períodos de tiempo, sin embargo todas las proteínas no tienen igual valor nutritivo esto es reflejado por su diferente contenido de aminoácidos (22).

CAPITULO II
DISEÑO METODOLOGICO

2. Diseño Metodológico.

2.1 Universo

Está constituido por doce supermercados del área metropolitana de San Salvador que comercializan mieles (Anexo 1).

2.2 Determinación de Lugares de Muestreo.

La muestra se determina empleando la fórmula siguiente: (7)

$$n = \sqrt{N}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra

N = Universo

$$n = \sqrt{N}$$

$$n = \sqrt{12} = 3.463$$

Los tres supermercados del área metropolitana de San Salvador fueron seleccionados por muestreo aleatorio simple y estos son:(Ver anexo No. 1)

- a) Supermercado Super Selectos (Zona Norte).
- b) Super tienda La Tapachulteca (Zona Norte).
- c) Supermercado La Despensa de Don Juan (Zona Sur).

2.3 Selección de las muestras de miel.

La selección de las muestras de miel de diferentes marcas, de venta, en los supermercados; fueron elegidos al azar, pero, con la fórmula estadística el número de muestras a analizar era muy pequeña y se pretendía abarcar la mayor cantidad de marcas existentes en los establecimientos mencionados, por lo que se optó por analizar 6 marcas de mieles comercializadas y 4 mieles sin marca de diferentes zonas del país y un subproducto que es la jalea real.

Las marcas seleccionadas fueron las siguientes:

- a) Panal.
- b) Silvestre.
- c) Colmenar.
- d) Golden bee.
- e) Néctar.
- f) Miel de abeja royal.

Las cuatro muestras de miel sin marca eran, la primera de un apiario de occidente, la segunda de un apiario de oriente y la tercera de un mercado de la zona metropolitana. Adicionales a éstas se analizó una muestra más, proveniente de la Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería y el subproducto jalea real.

CAPITULO III
METODO DE ANALISIS

3.1 Material, Equipo y Reactivos.

MATERIAL

Balones volumétricos de 500 mL. con tapón.

Balones de fondo redondo de 250 mL.

Vaso de precipitado de 100 mL.

Vaso de precipitado de 500 mL.

Erlenmeyer de 250 mL. con tapón esmerilado.

Probeta de 500 mL.

Probeta de 100 mL.

Termómetro de 150 Celsius.

Agitador de vidrio.

Placas cromatográficas de 20x20 cm.

Cámara cromatográfica.

Columnas cromatográficas de 2.5 cm. X 29 cm.

Pipeta volumétrica de 10 y 5 mL.

Tubos de ensayo.

Microespátulas.

Baño de maría.

Micropipeta de 200 uL.

Frasco lavador.

Portaplacas.

Espátula

Papel glacín.

EQUIPO

Estufa	Precision Scientific	Modelo 25EG
Balanza analítica	Mettler	Modelo H78-AB
Evaporador rotatorio	Labconco	Modelo 425-1408
Balanza Granataria	Mettler	Modelo PN1210
Hot plate	Thermolyne	HPA 1915B

REACTIVOS

Acetona.

Acido clorhídrico 6N.

Acido acético glacial.

Agua desionizada.

n-butanol.

Reactivo de Molish.

Solución amoniaca al 10%.

Solución amoniaca al 0.3%.

Diciclohexilamina al 1%.

Ninhidrina al 0.25%.

Estándares de aminoácidos.

Fenol.

Silicagel GF₂₅₄.

Resina AMBERLITE IR-120.

3.2 Extracción de aminoácidos por cromatografía de columna

3.2.1 Llenado de la columna.

A una columna de vidrio de 2.5 cm. X 29 cm. colocar 0.1g. de fibra de vidrio seguido de una torunda de algodón, llenar con agua desionizada sus tres cuartas partes, luego introducir la resina AMBERLITE IR-120 en forma lenta, continua y uniforme, dejar reposar por una hora hasta completa hidratación y activarla con HCl 6N y posteriormente lavarla con agua desionizada hasta completa eliminación de cloruros(14).

3.2.2 Preparación de la muestra.

Pesar 5g. de miel de abeja y disolverla en 500 mL. de agua desionizada, de las cuales se toman 100 mL. para pasarlos a través de la columna, posteriormente lavarla con agua desionizada a 50 Celsius en porciones hasta eliminación completa de azúcares, que se comprueba tomando alícuotas de eluato y agregando reactivo de Molish hasta obtener un resultado negativo(14).

3.2.3 Extracción de Aminoácidos.

Hacer pasar en la columna 500 ml. de solución amoniaca al 10%. El eluato obtenido se concentra a presión reducida en evaporador rotatorio, cuidando que la temperatura no sea mayor a 50 Celsius hasta obtener un volumen equivalente a la cuarta parte del agregado. Hacer prueba genérica de aminoácidos con ninhidrina a pequeñas porciones del eluato de las muestras para comprobar su presencia(14).

3.3 Separación de aminoácidos utilizando cromatografía en capa fina bidimensional

3.3.1 Preparación y activación de placas

En placas de vidrio de 20 x 20 cm. Preparadas con silicagel GF₂₅₄ activadas dejándolas secar toda la noche(14).

3.3.2. Preparación de soluciones patrones o estándares

Las soluciones patrones o estándares se preparan de manera que contengan 1 mg/mL de cada aminoácido en amoniaco (14).

3.3.3. Preparación del sistema de solvente "A"

Preparar una mezcla de n-butanol: ácido acético: agua (80:20:20)v/v para la primera dirección (14).

3.3.4. Preparación del sistema de solvente "B"

Preparar una mezcla de fenol: agua (75:25) p/p (14). A este se le agregó dos gotas de solución amoniaca al 0.3% (3) para evitar la oxidación del fenol.

3.3.5 Método cromatográfico de capa fina bidimensional ascendente(14).

Aplicar en una placa de vidrio ya activada, 7 uL de la solución estándar de aminoácidos.



En otra placa de vidrio activada inyectar una cantidad igual del eluato concentrado.



Colocar las placas inyectadas con solución del estándar y eluato dentro de una cámara cromatográfica previamente saturada por dos horas con el sistema de solvente "A".



Observar que el frente del solvente llegue a las tres cuartas partes de las placas y marcar su posición (Ver figura No.1, anexo No.3).



Sacar las placas, dejar evaporar el sistema de solvente "A".



Saturar la cámara por dos horas con el sistema de solvente "B".



Colocar de nuevo las placas dentro de la cámara, dándole un giro de 90 grados.



Dejar correr el frente del solvente las tres cuartas partes de la placa.



Sacar las placas, dejar evaporar el sistema de solvente "B".

3.4 Identificación de aminoácidos.

Proceder a la visualización de las manchas con el reactivo de ninhidrina al 0.25% mezclar con diciclohexilamina al 1%, posteriormente se calcula el R_f (14).

CAPITULO IV
ANALISIS DE RESULTADOS

4. Resultados de análisis de muestras de mieles empleando cromatografía de capa fina bidimensional.

MUESTRAS ANALIZADAS: Mielles de diferentes marcas y mieles obtenidas de diferentes fuentes.

Mielles con marca: El Panal, Colmenar, Silvestre, Néctar, Golden Bee, Royal.

Mielles sin marca obtenidas de diferentes fuentes: apiario de oriente (San Miguel), de occidente (Sonsonate), de la Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería y de un mercado municipal.

Subproducto jalea real (s/marca).

Los resultados se presentan en cuadros, estos incluyen la cantidad de manchas que se obtuvieron en las placas cromatográficas, sus hR_f (este se calcula, multiplicando el valor R_f por cien) (6) en los dos sistemas de solventes "A" y "B" antes mencionados y también se incluyen las coloraciones que presentan los distintos aminoácidos con la solución reveladora.

En el análisis hubo muestras que no revelaron coloración ni mancha alguna, por lo que no pudo calcularse su hRf, por ende tampoco se pudo comparar con la coloración de los estándares disponibles. Entre las muestras que no revelaron resultado están:

Mieles con marca.

El Panal.

Golden Bee.

Néctar.

Silvestre.

Royal.

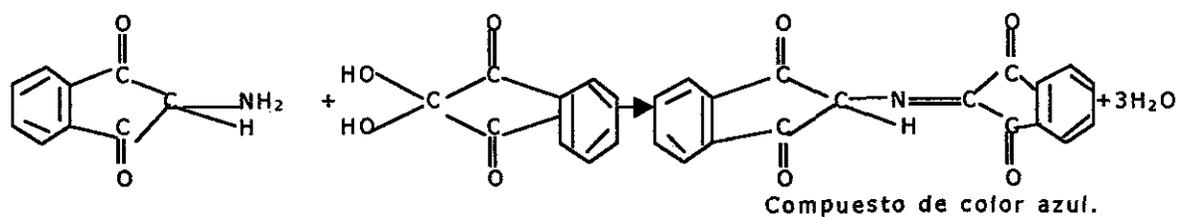
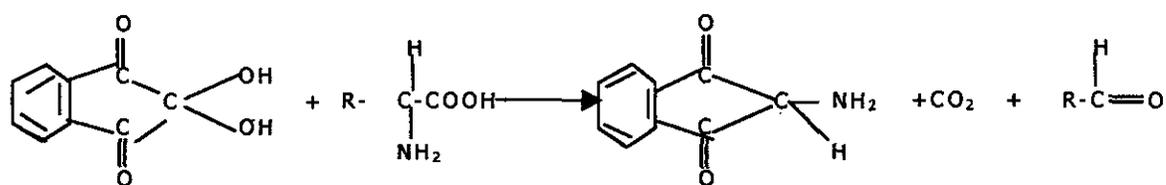
Mieles obtenidas de diferentes fuentes:

Apiario de occidente.

Mercado Central.

Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería.

Los aminoácidos reaccionan con la ninhidrina (hidrato de tricetohidrindeno) para formar CO_2 y un aldehído. El NH_3 formado en la reacción se combina con una molécula de ninhidrina reducida y una molécula de ninhidrina oxidada, formando un compuesto de color azul. (3).



**CUADRO 1: RESULTADOS DEL ENSAYO PRELIMINAR
CON NINHIDRINA DE LAS MIELES CON MARCAS**

MARCA	COLORACION	REACCION CON NINHIDRINA
PANAL	De café intenso a morado	Positivo
NECTAR	Café intenso	Negativo
ROYAL	Café intenso	Negativo
SILVESTRE	Morado rojizo	Positivo
COLMENAR	Morado azulado intenso	Positivo
GOLDEN BEE	Café oscuro	Negativo

**CUADRO 2: RESULTADOS DEL ENSAYO PRELIMINAR
CON NINHIDRINA DE LAS MIELES SIN MARCA**

SIN MARCA	COLORACION	REACCION CON NINHIDRINA
APIARIO DE ORIENTE	Morado intenso	Positivo
APIARIO DE OCCIDENTE	Café	Negativo
MERCADO CENTRAL	Café	Negativo
ESCUELA NACIONAL DE AGRICULTURA Y GANADERIA	Café	Negativo
JALEA REAL	Café	Negativo

Al efectuarle la prueba genérica de ninhidrina solo las mieles Panal, Silvestre, Colmenar y la de la zona de oriente presentaron coloración morada.

Esta prueba nos indica la presencia de aminoácidos en las muestras y que han sido extraídos por la columna cromatográfica.

TABLA No. 1
VALORES DE hRf DE ESTANDARES DE AMINOACIDOS
DISPONIBLES.

AMINOACIDOS	SISTEMA "A" $hRf = Rf \times 100$	SISTEMA "B" $hRf = Rf \times 100$	COLOR PRESENTADO CON EL REVELADOR
Acido glutámico	46	28	Violeta pálido – rosado
Arginina	39	50	Amarillo-anaranjado
Alanina	53	55	Púrpura
Tirosina	71	53	Rojo – fuerte
Glicina	32	81	Anaranjado

CUADRO 3: RESULTADO DE ANALISIS DE MIEL MARCA
COLMENAR.

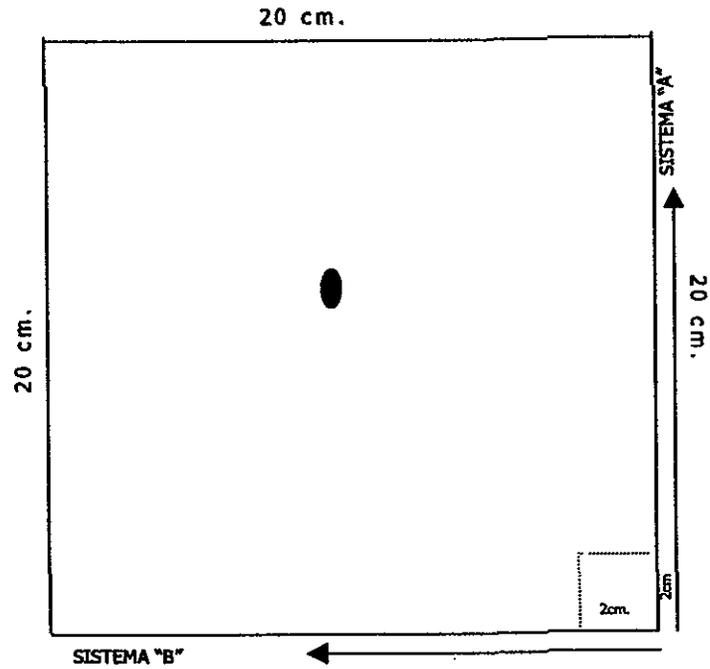
MANCHA	SISTEMA "A" $hRf = Rf \times 100$	SISTEMA "B" $hRf = Rf \times 100$	COLOR PRESENTADO CON EL REVELADOR
1	72	60	Rojo Fuerte

La miel el Colmenar contenía en su etiqueta que fue extraída del néctar de las flores de la "campanilla" (Ipomoea aff. microsticta), razón por la cual su coloración era amarillo claro, que solamente las mieles que provienen de esta flor la poseen. La coloración de la miel, puede ser desde amarillo claro hasta pardo rojizo, esta coloración depende si es de flor de "campanilla" (Ipomoea aff. microsticta), de "caña de azúcar" (Saccharum officinarum), del árbol de "pepeto" (Inga, leptoloba schlecht), etc. Y de que cosecha es, por eso cuando más amarillo claro fuera la coloración de la miel se puede decir si es de la primera, segunda, tercera cosecha.

La placa cromatográfica donde se aplicó la miel marca Colmenar, presentó solamente una mancha, situada en el cuadrante superior derecho de la placa, de forma ovalada y de color rojo fuerte al cual se le comparó el R_f , coloración y mapa cromatográfico con los R_f , coloración y mapa cromatográficos de los aminoácidos estándares (ver figura No. 1).

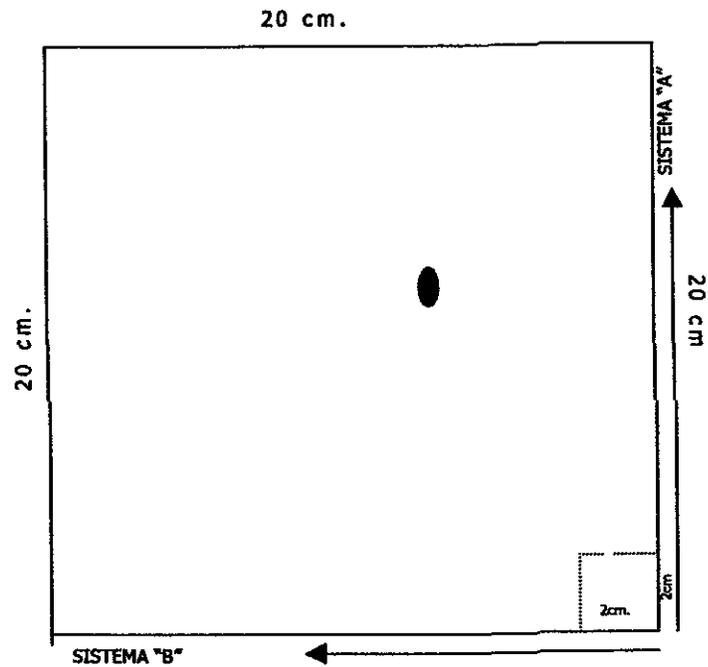
FIGURA No. 1

A) MAPA CROMATOGRAFICO DE LA MIEL MARCA COLMENAR



a

B) MAPA CROMATOGRAFICO DEL ESTANDAR DE TIROSINA



b

Observando que, el valor de hR_f de la muestra fue 72 en el sistema "A" y el hR_f del estándar cuyo valor coincidió con el revelado por la muestra que fue de 71. En el sistema "B" el valor de hR_f en la muestra fue 60, y el hR_f del estándar fue 53. Comparando los mapas, la ubicación de las manchas en las placas cromatográficas de muestra y estándar presentaban características similares. Comprobando que a la muestra de miel El Colmenar se le detectó el aminoácido Tirosina.

Es de aclarar que los valores de R_f varían por muchos factores difíciles de controlar, como la temperatura, la humedad, etc.

CUADRO 4: RESULTADOS DE ANALISIS DE MUESTRA DE MIEL SIN MARCA DEL APIARIO DE ORIENTE.

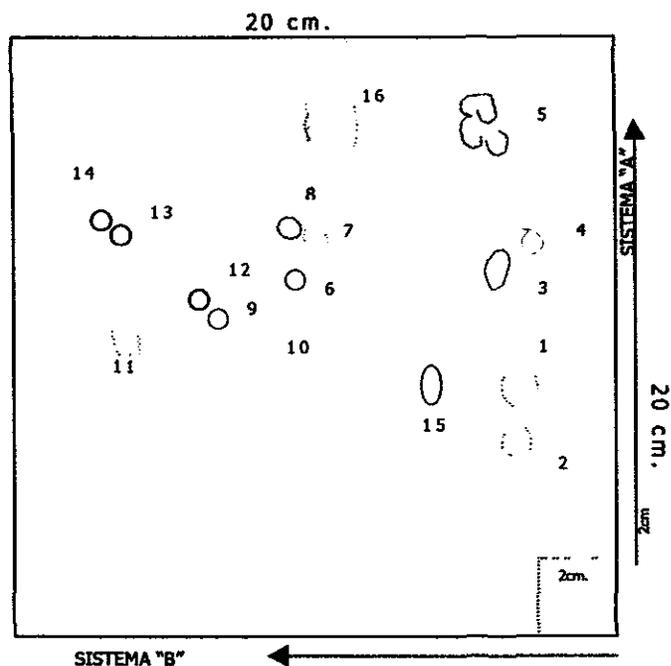
MANCHA	SISTEMA "A" hRf= Rf x 100	SISTEMA "B" hRf= Rf x 100	COLOR PRESENTADO CON EL REVELADOR
1	27	09	ANARANJADO
2	05	10	ANARANJADO
3	84	13	MORADO CLARO
4	84	04	MORADO CLARO
5	99	13	MORADO
6	53	45	ANARANJADO
7	78	46	ANARANJADO
8	83	47	VIOLETA
9	37	66	ANARANJADO
10	39	63	AMARILLO-ANARANJADO
11	46	70	ANARANJADO
12	50	67	ANARANJADO
13	55	86	PURPURA-AZULADO
14	66	89	PURPURA-AZULADO
15	73	93	ANARANJADO
16	24	30	ANARANJADO

La miel de la zona de Oriente tenía una coloración amarillo claro, su fuente de origen era el néctar de la flor de campanilla.

En la placa cromatográfica donde se inyectó la muestra del apiario de oriente se obtuvieron 16 manchas de las cuales presentaban tres formas: difusas, ovaladas y otras mostrando solamente su contorno (ver figura No. 2).

FIGURA No. 2

MAPA CROMATOGRAFICO DE LA MIEL ZONA DE ORIENTE
SAN MIGUEL



Estas manchas se encontraban dispersas en la placa; las coloraciones que presentaban fueron: morado, violeta, amarillo anaranjado y púrpura azulado.

Se determinaron sus R_f en los dos sistemas de solventes, y estos fueron comparados con los R_f de la tabla de aminoácidos estándares elaborada (ver tabla No. 1).

Observando, que de las 16 manchas que presentó la placa donde se inyectó la muestra, solamente los valores de 39 en sistema "A" y 63 en el sistema "B" de la mancha diez presentó características similares con valores de 39 en sistema "A" y 50 en el sistema "B" del estándar de ARGININA que también tenía una coloración igual a la que presentó la mancha diez. Las demás manchas no pudieron ser identificadas, aunque si presentaban coloración similar a algún estándar, los R_f no coincidían.

CAPITULO V
CONCLUSIONES

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

5. Conclusiones

De los resultados obtenidos en esta investigación se concluye lo siguiente:

1. En relación al contenido de aminoácidos en las 11 muestras analizadas, sólo a dos se les detectó aminoácidos, y a las 9 restantes no, entre las que se encontraban el subproducto Jalea Real, que a pesar de ser descrito como rico en aminoácidos no se le detectaron; las dos que si se les detectó aminoácidos fueron, la obtenida del apiario de oriente y la miel de marca El Colmenar, cuyo contenido de aminoácidos en ambas muestras varió notablemente. Las que no presentaron aminoácidos, esto pudo deberse, a que los recolectores de miel en algún momento hicieron una manipulación no adecuada, un calentamiento a temperatura superior a 50 Celsius o almacenamiento bajo condiciones no adecuadas.

2. En las dos muestras que presentaron aminoácidos no se encontró ácido Aspártico, pero si, estaba presente la Tirosina en una de las placas. Con el revelador empleado en este método, el ácido Aspártico da una coloración verde que lo identifica (14), coloración que no se obtuvo en ninguna de las placas, y también la Tirosina con este revelador da una coloración roja fuerte(14).

En los análisis realizados en el país de origen del método empleado en el presente trabajo no se encontró Tirosina, indicando que no estaba presente en la floración que sirvió como materia prima en las mieles por lo que se concluye que dependiendo de la floración de cada país así será la clase de aminoácidos presentes en la miel de abeja.

3. El ácido aspártico y la arginina son de los primeros aminoácidos en degradarse con el tiempo, por lo que sirve como indicador de que la miel no ha sido obtenida recientemente.

4. El método de cromatografía de capa fina bidimensional ascendente es el más indicado para la separación completa de aminoácidos presentes en una muestra.
5. Según la definición de miel de abeja que presenta la legislación Española, algunos de los productos comercializados como mieles en el país, se pueden considerar como sintéticos. (Ver anexo No. 4).
6. En la miel obtenida del apiario de Oriente se determinó un porcentaje mayor de aminoácidos que en la miel de marca El Colmenar.
7. Para que los resultados de hRf obtenidos de las muestras analizadas sean reproducibles y concuerden con los reportados bibliográficamente se necesitan condiciones especiales de laboratorio.

CAPITULO VI
RECOMENDACIONES

6. Recomendaciones

1. En el país se debe establecer una legislación para la comercialización de la miel, como la ya existente en otros países como España, para asegurar que el producto sea de buena calidad y competir en los mercados extranjeros. (ver anexo No. 4).
2. Que este método de análisis previamente validado, se incluya en las pruebas realizadas en control de calidad de la miel, para comprobar su pureza.
3. Capacitar a los apicultores en el manejo y tratamiento de la miel para obtener un producto de mejor calidad destinada al consumo humano.
4. Informar a la Asociación de Apicultores que deben evitar el calentamiento de la miel para no alterar sus componentes naturales termolábiles y termosensibles.

5. Para validar en el país el método empleado es importante contar con todos los estándares de aminoácidos presentes en la miel, para poder establecer un parámetro efectivo, en futuros análisis de miel empleando este método.
6. Para obtener una mayor concentración de cada uno de los aminoácidos presentes en las muestras analizadas, es posible aumentar la cantidad de miel ya que el método lo permite(14).
7. Es necesario ensayar otros sistemas de solventes para separar todos los aminoácidos presentes en las mieles, empleando este método.
8. Específicamente se debe determinar la Prolina, que es el aminoácido presente en mayor cantidad en la miel y es aportado por la abeja (determinación que no se realizó por no contar con el estándar de Prolina) y luego los otros aminoácidos contenidos en ella que no son menos importantes ya que también son indicadores de la calidad de la miel. (Ver anexo No. 5 y 6).

9. Se recomienda que el área de investigación para la realización de los análisis que se efectúen, utilizando este método, deben ser adecuados y trabajar bajo condiciones tales como: humedad y temperatura controlada.

10. Se recomienda utilizar la resina AMBERLITE IR-120 ya que demostró ser efectiva, pues permite extraer los aminoácidos presentes en la miel, a partir de una muestra pequeña.

BIBLIOGRAFIA

- 1.ABBOTT, David. "Introducción a la Cromatografía".Madrid: Editorial Alhambra S.A., (1970).

- 2.BONHINSKI, Robert. C. "Bioquímica". 5ª. Edición. Argentina: Editado por Eddisón – Wesley, Iberoamericana, (1991).

- 3.BURTON, Donald J. y ROUTH, Joseph I. "Química Orgánica y Bioquímica". 1ª. Edición. México: Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. Cedro 512 México 4, D.F., (1977).

- 4.BUTTERFIELD, G. "Chromatography". México: Editorial Michael Lederer, Vol. 4. (1970).

- 5.CAMPOS, Orsy. "Una dulce Cosecha". "El Diario de Hoy", San Salvador, El Salvador. (1977).

- 6.FLORES, José Salvador. "Tipos de vegetación de El Salvador y sus estado actual". 1ª. Edición. El Salvador: Editorial Universitaria (1977).

7. BONILLA, Gildaberto. "Estadística, Elementos de estadística descriptiva y probabilidades". 1ª. Edición. El Salvador: UCA Editores, (1988).

8. DOMINGUEZ, Xorge Alejandro. "Cromatografía en papel y capa delgada". Washington, D.C.: Editada por la Organización de Estados Americanos, (1975).

9. LEIVA DE PAZ, Gustavo. "Las abejas y su explotación racional". 1ª. Edición. El Salvador: editado por la Escuela Nacional de Agricultura, San Andrés, La Libertad, (1983).

10. MCGREGOR, S.E. "La apicultura en los Estados Unidos". México: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Editorial Limusa, (1992).

11. MCNAIR, Harold M. y ESQUIVEL, Benjamín. "Cromatografía Líquida de Alta Presición". Washington: Editada por Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, (1973).

12.MENJIVAR, Amilcar. "Apicultura para pequeños productores". 1ª. Edición. El Salvador: Editada por Ministerio de Agricultura y Ganadería, (1997).

13.MORAN, Gregorio . "País exporta 2 mil toneladas de mi miel". La Prensa Gráfica, San Salvador, El Salvador. (1997).

14.PALMA de MALDONADO, S. "Revista de la facultad de Ingeniería Química". Argentina: Editado por la Facultad de Ingeniería Química febrero 1982, Vol. 45.

15.PERRY, Robert H. y CHILTON, Cecil H. "Manual del Ingeniero Químico". 5ª. Edición. México: Mc Graw-Hill de México S.A. de C.V., vol. II. (1987).

16.PHILIPPE, Jean Marie. "Guía del Apicultor". 1ª. Edición. Madrid, España: Mundí-Prensa, (1990).

17.PIANA G. y RICCIARDELL'I G. "La miel", 1ª. Edición Mundí-Prensa, Madrid, España. (1990).

18. PROST, Pierre Jean. "Apicultura". 3ª. Edición. Madrid, España: Editado Mundi-Prensa. (1995).

19. SCHOPFLOCHER, Roberto y DEL POZO, Eduardo. "Métodos prácticos para instalar y atender colmenares". 10ª. Edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Albatros. (1996).

20. SOLOMONS, TW Graham. "Química Orgánica". 2ª. Edición. México: Editorial Limusa, Noriega Editores, (1988).

21. STAHAL, Egon. "Thin Layer Chromatography and laboratory handbook". 2ª. Edition. New York: By Egon Stahal, Sprenger Verlag (1969).

22. STEPHEN, Miall. "Diccionario de Química". 2ª. Edición. México: Editorial Atlante, S.A., (1942).

23. TOPOREK, Milton. "Bioquímica". 2ª. Edición. México: Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., Cedro 512 México, 4 D.F., (1977).

ANEXOS

ANEXO No. 1***GRUPO A MUESTREAR DE LA ZONA
METROPOLITANA DE SAN SALVADOR******ZONA SUR***

1. Supermercado Super Selectos (Sucursal San Jacinto).
2. Supermercado Super Selectos (Sucursal Autopista Sur).
3. Supermercado La Despensa de Don Juan (Sucursal San Jacinto):
4. Supertienda La Tapachulteca (Sucursal La Sultana).

ZONA NORTE

1. Supermercado Super Selectos (Sucursal San Miguelito).
2. Supermercado Super Selectos (Sucursal Metrópolis).
3. Supermercado Super Selectos (Sucursal Miralvalle).
4. Supermercado Super Selectos (Sucursal Metrosur).
5. Supermercado Super Selectos (Sucursal Metrocentro).
6. Supermercado Super Selectos (Sucursal San Luis).
7. Supertienda La Tapachulteca (Sucursal Miralvalle).
8. Supermercado Europa (Sucursal Bernal).

ANEXO No. 2

RESINAS DE INTERCAMBIO IÓNICO.

Generalidades.

Es común encontrar que las resinas de intercambio iónico son utilizadas para la desmineralización de agua, pero últimamente se les ha encontrado otros usos y han demostrado ser de utilidad y rendimiento, tal es así que han sido empleadas para la extracción de aminoácidos. Dado que existen diversos tipos de resinas llamadas también intercambiadores, es necesario especificar las características, propiedades y funcionamiento de la resina o intercambiador que fue utilizado para la extracción de aminoácidos, la resina que se empleó fue de intercambio iónico AMBERLITE IR-120 que es catiónica de ácido fuerte, tipo gel, es necesario también mencionar los diferentes procesos que se llevan a cabo en la columna con la resina por lo que se mencionará los proceso de absorción, intercambio iónico y las especificaciones dada en el folleto del distribuidor de dicha resina.

GELES DE INTERCAMBIO IONICO

Comúnmente las más usadas hoy en día son las resinas de poliestireno tipo enlace cruzado con divinilbenceno (DVB) debido a que ellos tienen una gran estructura molecular tridimensional y son principalmente de forma esférica, es en ella que se lleva a cabo el intercambio iónico que se da entre una fase sólida que contiene grupos enlazados o unidos que portan una carga iónica ya sea positiva o negativa, en combinación con iones libres de carga opuesta que se pueden desplazar, las resinas de intercambio catiónico contienen generalmente grupos enlazados de ácido sulfónico.

Un intercambiador puede ser cualquier sustancia natural o sintética que sea capaz de intercambiar iones hacia la superficie por una cantidad equivalente de iones provenientes de una solución que lo rodea. El intercambio sólo puede tener lugar entre iones de la misma carga, los aniones se intercambian por aniones y los cationes por cationes.

En la fase sólida se lleva a cabo la absorción que implica el contacto que se establece entre una fase fluída y sus macropartículas rígidas y permanentes, que tienen la propiedad de tomar y almacenar en forma selectiva una o más especies de soluto contenida originalmente en el fluído. En general, es necesario recuperar el soluto y luego purificar y reutilizar el absorbente, por lo que deben existir condiciones favorables para la desorción.

La sulfonación de resina de poliestireno de enlace cruzado produce un catión de intercambio ácido fuerte.

Las geles intercambiadoras de iones no son verdaderamente porosas, los iones intercambiables debe esparcirse a través de la estructura de la gel en orden de llegada de los grupos activos según el propósito del ion intercambiador. La aparente porosidad está a menudo basada sobre la distancia intermolecular comprendida entre los límites del tamaño de los iones que se mueven libremente a través de la gel. Hasta con un bajo nivel de enlace cruzado, la porosidad aparente de geles semejantes no son mayores de 30 Angstrom.

Los enlaces cruzados hacen a estas geles insolubles en ácidos concentrados, bases, sales, agentes oxidantes y reductores. En adición, ellas son resistentes a radiaciones radioactiva.

Ellas son térmicamente estables y poseen un alto potencial del ion intercambiador.

COMPOSICION DE LA RESINA.

Comprende una estructura básica (matriz) y grupos activos (ion fijo).

La estructura básica del ion intercambiador está constituido por enlace cruzado principalmente, hay otras resinas de poliacrílico, sin embargo juegan papeles secundarios.

Los grupos activos consistentes en iones fijos y iones opuestos. El ion fijo es covalente dirigido a estructura básica, también el ion opuesto es de carga contraria, es intercambiable, el intercambiador catiónico posee un grupo ionico activo; ejemplo: $-\text{SO}_3^-$ en caso de ácido fuerte y $-\text{COO}^-$ en el caso de ácidos débiles, por lo tanto en la forma H^+ y en la forma Na^+ una sal básica.

En caso de intercambiadores anionicos existen tres tipos: fuertemente básicos, medianamente básicos, débilmente básicos dependiendo del ion fijo.

Las cualidades más importantes de un ion intercambiador es la de indicar su capacidad de cuantificar los iones que puede adsorber. No obstante tiene una diferencia entre capacidad total y capacidad útil: la capacidad total indica la capacidad total de iones opuestos capaces de ser adsorbidos; la capacidad útil indica el número de iones que pueden ser adsorbidos bajo condiciones selectivas. Dependiendo si la capacidad está relacionada con el peso o el volumen, de la sequedad o hinchamiento de la resina, el peso y el volumen-capacidad es obtenido y como el peso o el volumen de un intercambiador en particular puede ser muy diferente en el estado seco o húmedo por esto es la importancia de indicar las unidades usadas en relación a las condiciones empleadas.

La resina intercambiadora de iones toma cierta cantidad de solvente de la solución activadora, la cantidad depende de las propiedades del intercambiador usado, al igual que el tipo de la solución. El hinchamiento causado por este proceso está limitado

por los enlaces cruzados, pero promovidos por los grupos hidrofílicos involucrados. El hinchamiento es grande en agua, aún utilizando solventes orgánicos polares, pero muy lento en solventes no polares. La causa de hinchamiento es la tendencia de los iones fijos y opuestos dentro de los poros, de diluirse entre ellos mismos por un proceso de osmosis.

Los diferentes iones son pegados al ion intercambiador con diferente grado de fuerza electrostática, esto causa en el intercambiador que muestre diferente grado de selectividad en relación a los diferentes iones relacionados. Generalmente en soluciones acuosas de baja concentración y equivalente todos los iones intercambiadores absorben iones de valencia superior, el ion intercambiador puede retornar a su forma original por un proceso conocido como regeneración. Varios agentes regeneradores pueden ser usados dependiendo si el intercambiador es ácido fuerte o débil o si es base fuerte o débil.

Los cuidados que deben ser tomados en la selección del regenerador es porque existe el riesgo de que precipiten los iones intercambiados en la resina.

CATION INTERCAMBIADOR ACIDO FUERTE

En el caso de iones equivalentes, la fuerza sujetadora decrece con la disminución del diámetro del ion hidrogenado.

Esta resina tiene alto grado de resistencia a ácidos, bases, solventes orgánicos, tanto como agentes oxidantes y reductores, además posee alta estabilidad. La capacidad intercambiadora es independiente del pH de la solución intercambiadora, la resina puede ser usada en tanto un medio ácido como en un medio neutro o alcalino.

APLICACIÓN DE LA RESINA

Su mayor uso actualmente es en la desmineralización de aguas y muy poco en control de calidad de medicamentos y alimentos.

DESCRIPCION DE LA RESINA INTERCAMBIADORA DE IONES.

AMBERLITE IR-120

Tipo de intercambiador

Gel

Ion fijo

-SO₃⁻

Ion opuesto/forma liberada	H ⁺
Capacidad intercambiadora (mval/ml)	>1.7
Hinchamiento con ion intercambiador (%)	7
Temperatura máxima de trabajo (Celsius)	120
Rango de pH	0-14
Tamaño de partícula (mm)	0.3-1.2
Mailla (ASTM)	15-50
Contenido de humedad (%)	45-55
Densidad (g/l)	800
Agente regenerador:	HCl ó H ₂ SO ₄ ó NaCl
Concentración % en agua	5-10 2-4 8-10

ANEXO No. 3

CROMATOGRAFIA

La cromatografía es una técnica que permite separar, aislar e identificar los componentes de una mezcla de compuestos químicos.

La muestra es distribuida entre dos fases, una estacionaria y otra móvil, de tal forma que cada una de los componentes de la mezcla es selectivamente retenido por la fase estacionaria. (10).

La separación se lleva a efecto ya sea en una columna tubular rellena de un sólido poroso, el cual actúa como fase estacionaria propiamente dicha. También puede utilizarse como fase estacionaria un sólido fino colocado en forma de capa fina sobre placas de vidrio. Estos dos tipos de cromatografía se basan en los mismos principios fundamentales y se conocen respectivamente como cromatografía de columna y de capa fina.

Para la extracción, separación e identificación de los aminoácidos presente en las muestras analizadas se empleó la cromatografía de columna y la de capa fina.

CROMATOGRAFIA DE COLUMNA

Entre los métodos de separación de sustancias cuyos componentes son parecidos en cuanto a propiedades físicas y químicas tenemos la cromatografía en columna, que puede definirse como, la técnica de separación de una mezcla de solutos basándose en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de los solutos a través de un medio poroso, arrastrado por un disolvente en movimiento.

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

La cromatografía sobre capa fina constituye un método muy sencillo, económico y al mismo tiempo susceptible de asegurar una máxima eficiencia para identificar cualitativa y cuantitativamente los distintos componentes de una mezcla de sustancias, su campo de aplicación abarca prácticamente todos los tipos de sustancias con excepción de las gaseosas o muy volátiles. La identificación de las sustancias procede una vez evaporado el eluyente. La cromatografía sobre capa fina puede realizarse también de modo

muy sencillo y sin medios especiales, en forma bidimensional o pluridimensional por medio de dos eluyentes diferentes en dos direcciones distintas o mediante desarrollo múltiple con distintos eluyentes en una dirección.

Las capas para cromatografía de capa fina sobre las cuales se efectúa el cromatograma pueden ser preparadas por el propio usuario a partir de los absorbentes en polvo, disponibles como material suelto, o adquirirse ya preparadas sobre soportes de vidrio o de una lámina de aluminio o plástico.

Existen los siguientes tipos de adsorbentes como material suelto y/o en forma de capa preparada:

Oxido de aluminio 60,90,150.

Celulosa PEL.

Celulosa.

CN.(Capa con modificación de ciano)

Florisil.

Silicagel 40, 60, 100, 200, 500, 1000.

Silicagel 60 Silinizada (RP-2).

Tierra silíceas.

Silicagel 60/tierra silíceas.

NH₂.(Capa con modificación de amino)

Poliamida II.

RP-2, RP-8, RP-18.

Si 50000

Los adsorbentes en polvo están totalmente exentos de aglutinantes orgánicos y están denominados por letras y cifras por ejemplo Silicagel GF₂₅₄.

DONDE.

G= que contiene yeso como aglutinantes.

F= hace referencia a la inclusión de indicadores fluorescentes.

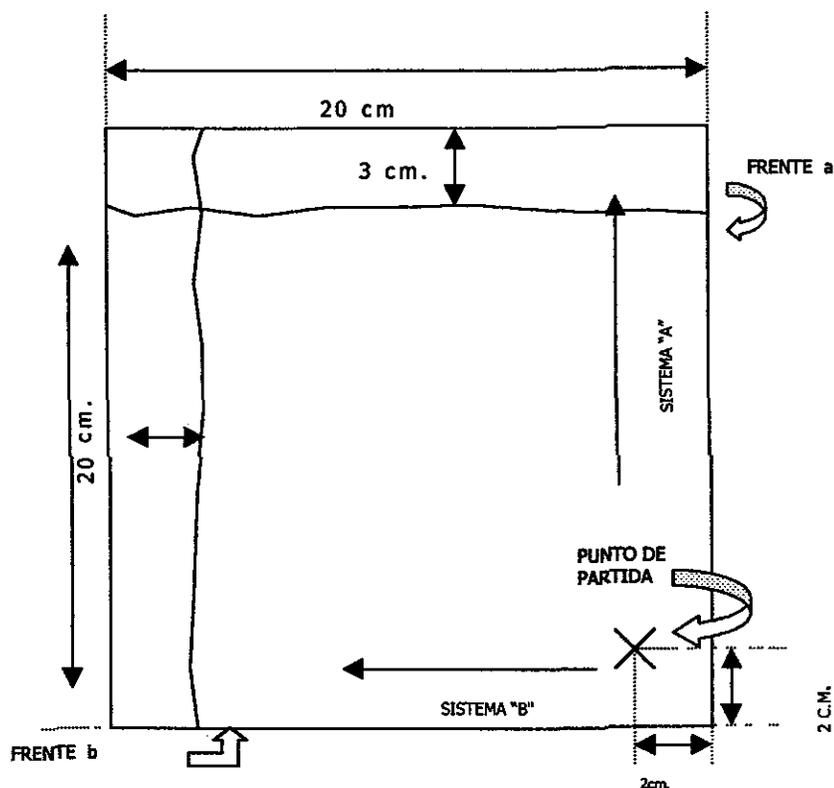
254= indica la longitud de onda de excitación.

La mayoría de separaciones por cromatografía en capa fina se realizan hoy en día en capas de Silicagel 60, cuyo empleo se ha impuesto de este modo con carácter universal siendo ésta la capa por excelencia para prácticamente todas las separaciones.

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA BIDIMENCIONAL.

Consiste en la aplicación de silicagel sobre placas de vidrio de 20 x 20 cm., dejarla secar luego colocar la muestra de la mezcla en una esquina y se coloca en una cámara cromatográfica para dejarla desarrollar en forma sucesiva con dos disolventes distintos en direcciones perpendiculares (ver figura No. 1). Después de correr la cromatografía en la primera dirección se seca el cromatograma hasta desaparecer todo el primer sistema de solventes, el segundo sistema de solventes debe correr en dirección perpendicular al primero; para ello se gira la placa 90° y con ella el punto de origen. Concluida la segunda corrida se vuelve a secar y se aplica el revelador(1).

FIGURA No 1



ANEXO No. 4

NORMA DE CALIDAD PARA LA MIEL DESTINADA AL MERCADO INTERIOR

(Tomada de la Legislación Española)

1. Nombre de la norma.

Norma de calidad para la miel destinada al mercado interior.

2. Objetivo.

La presente norma tiene por objeto definir aquellas condiciones y características que debe reunir la miel para la comercialización y el consumo en el mercado interior.

3. Ambito de aplicación.

La presente norma de calidad se aplicará a la miel destinada a la comercialización en el mercado interior.

4. Definición y Descripción del producto.

Se entiende por miel el producto alimenticio producido por las abejas melíferas a partir del néctar de las flores, a partir de las

secreciones procedentes de partes vivas de las plantas o que se encuentran sobre ellas, las cuales las abejas liban, transforman, *combinan con sustancias específicas propias*. Almacenan y dejan madurar en los panales de la colmena. Este producto alimenticio puede ser fluido, espeso o cristalino.

Las mieles pueden ser:

Por su origen botánico miel de flores, es la obtenida principalmente de los néctares de las flores y miel de mielada que es la obtenida a partir de secreciones de las partes vivas de las plantas o que se encuentran sobre ellas, su color varía del pardo claro o pardo verdoso a casi negro.

Por la presentación y procedimiento de obtención: miel en panales, es la vendida en panal entero o partido. Miel en trozo de panal, miel decantada, miel centrifugada, miel prensada, miel cremosa.

Según su destino, miel de consumo directo o para la industria; considerándose como miel de industria o de pastelería a aquella que no corresponda a las exigencias citadas en cuanto a

contenido en enzimas, hidroximetilfurfural, humedad y actividad diastásica.

Factores esenciales de composición y de calidad.

Madurez.

Azúcares reductores: 65% o más.

Humedad: 20%.

Sacarosa aparente: no más del 5%.

Limpieza: Sólidos insolubles en agua 0.1%, en miel prensada se tolera hasta 0.5%.

Minerales (cenizas): 6% como máximo en la miel de mielada y en mezclas de mieles de flores se tolera hasta el 1%.

Cuerpos extraños: la miel a granel, no debe dejar residuos al pasar por un tamiz con malla de 0.5mm de luz.

Las mieles envasadas no debe dejar residuos al pasar por un tamiz con malla de 0.2 mm de luz.

Deterioro: la miel no habrá fermentado ni será efervescente.

Acidez libre: No más de 40 mg/Kg.

Características organolépticas: la miel no tendrá colores, sabores ni olores distintos a los genuinos de su clase botánica.

Grado de frescura: determinado después del tratamiento y mezcla.

Actividad diastásica: Como el mínimo 8 en la escala de GOTHE. Las mieles con bajo contenido enzimático, como mínimo 3 en escala de GOTHE, siempre que el contenido en hidroximetilfurfural no exceda de 15 mg/Kg.

Hidroximetilfurfural: no más de 40 mg/kg.

Contenido de polen: la miel tendrá su contenido normal de polen el cual no debe ser eliminado en el proceso de filtración.

Prohibiciones y tolerancias: para la miel de consumo directo se prohíbe expresamente la utilización de cualquier tipo de aditivo, la adición de sustancias destinadas al aumento de peso, la venta como miel de productos análogos.

Para la miel de industria o pastelería se prohíbe el cambio artificial de la acidez.

La tolerancia en el contenido de los envases se fija de acuerdo al cuadro siguiente:

CUADRO DE PORCENTAJE DE TOLERANCIA

EN GRAMOS	EN PORCENTAJE %	EN CANTIDADES ABSOLUTAS EN GRAMOS
5 a 50	9	-
50 a 100	-	4.5
100 a 200	4.5	-
200 a 300	-	9
300 a 500	3	-
500 a 1000	-	15

En la aplicación del cuadro, los valores calculados en unidades de peso que se indican en tanto por ciento, se redondearán por exceso a la décima de gramo.

Aditivos: No se admite ninguno.

Microbiología y contaminantes: los siguientes niveles de contaminación, relativo a la higiene alimentaria de este

producto han sido aprobados por la subsecretaría de sanidad y de consumo del Ministerio de Sanidad y de Consumo.

En virtud del artículo 14 del Real Decreto 3302/1978, del 22 de diciembre, dicha subsecretaría podrá, atendiendo a razones de salud pública, modificar en cualquier momento la presente relación de contaminantes por la resolución correspondientes.

Normas microbiológicas aplicables a la miel: la miel deberá satisfacer las siguientes normas microbiológicas, gérmenes patógenos o toxinas patógenas ausentes. Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 ± 1 Celcius) máximo: $1 \cdot 10^4$ col/g.

Entrobacteriaceaes: Ausentes /g.

Escherichia coli.: Ausente/g.

Salmonella-Shiguella ausencia/25 g.

Mohos: máximo $1 \cdot 10^2$ col/g.

Criterios aplicables a contaminantes y sustancias tóxicas.

Las tolerancias de productos contaminantes y sustancias tóxicas no deberá sobrepasar las contenidas en la legislación vigente y en su defecto en las normas internacionales aceptadas por el estado Español.

Higiene: el producto regulado por las disposiciones en esta norma se preparará y manipulará cumpliendo los requisitos aplicables a este producto recogidos en el artículo 1.03.05. del Código Alimentario Español.

La miel cuando se ponga a la venta al por menor o se utilice en cualquier producto destinado al consumo humano deberá estar exenta de sustancias inorgánicas u orgánicas extrañas a su composición tales como insectos, larvas, granos de arena, contaminaciones microbiológicas o de residuos tóxicos especialmente toxina butulínica.²

² CODEX ALIMENTARIO FAO, Stan 1-1985 (Rev 1-1991).

ANEXO No. 5

44-4-07

AOAC METODO OFICIAL 979.20

Prolina en Miel

Primera Edición 1979

Final Edición 1983.

A. Prolina, es el aminoácido libre que predomina en la miel, reacciona con el aminoácido, la solución de ninhidrina para formar compuesto coloreado. Interferencia de otros aminoácidos es despreciable $\leq 5\%$.

B. Reactivos y Aparatos.

- a) Solución de ninhidrina 3% p/v. Disolver 3.0 g. de ninhidrina en 100 ml. de peróxido-etilenglicol monometil eter libre. El almacenamiento de la solución, debe ser en frascos ambar y no debe reaccionar con otros metales como Zn.
- b) L-(-)-Prolina-Eastman No. 2488 secar en horno al vacío y almacenarlo en un desecador. Prepare solución estándar como sigue: 1) Solución stock 0.5 mg/mL de H₂O, diluir 25 mg de

prolina para 50 mL con H₂O, enfriar. 2) Trabaje la solución 50 mg/mL. diluya 10 mL solución stock para 100 mL. con H₂O. La preparación debe ser reciente.

c) Reacciones en los tubos. En tubos de 18 x 130 mm. de borosilicato con tapón de rosca con liners de teflón.

C. Determinación.

Pesar 2.5 g de miel, transferir un frasco volumétrico de 50 mL. y diluir a volumen con H₂O. Pipetear 0.5 mL, ponga dentro de cada uno de los 3 tubos de reacción. Añadir 0.25 mL ácido acético y 1.00 mL solución ninhidrina y tapar bien, agitar y poner en un baño de agua hirviendo por 15 min. Enfriar en baño de H₂O a 22 Celcius, remover la tapa y pipetear 5mL. de isopropanol acuoso (1+1), poner en cada uno, mezclar y determinar a 520 nm en contraste con el blanco que es agua transportarlo a través del método. Leer todos los tubos dentro de los 35 min. de enfriamiento.

Hacer correcciones a la miel para determinar una solución que contiene 0.5 mL de solución de miel preparada, 1.25 mL de H₂O, y

5.00 mL isopropanol (1+1). Sustraer el valor para que la muestra reaccione antes de determinar curva de calibración.

Preparar la curva de calibración como en la determinación, usando la solución estándar de prolina en su lugar de miel. 0.5 mL de solución de 50 mg prolina/mL es 0.35 cm en 10 mm de celda.

Calcular mg de prolina/100 g de miel.

Referencia: JAOAC 62, 515(1979). J Alimento Sci 34, 228(1969). J. Apic. Referencia. 17, 89 (1978).

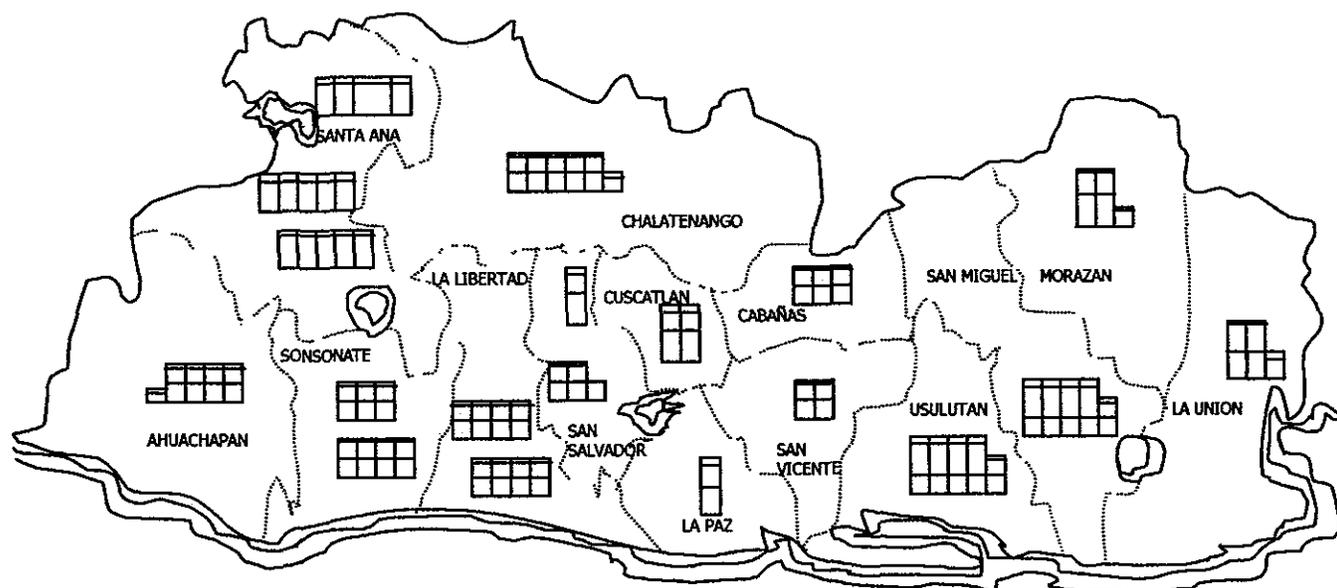
CAS-147-85-3 (L-proline).

ANEXO No. 6**ANALISIS REQUERIDOS PARA MIEL DE ABEJAS POR LA UNION EUROPEA**

ANALISIS	MINIMOS/MAXIMOS PERMISIBLES	METODO ANALISIS
Acidez	40 mval/K.	FAO/OMS del Codex Alimentario Principio: Titulometría Tipo I
Almidón por cont. Polen	16% máx.	4.5
Antibiótico	20 ppb max.	HPLC
Azúcares reductores	65% min.	FAO/OMS del Codex Alimentario Principio: Titulometría (Lane Eynon). Tipo I.
CDF	10 ppb max.	HPLC
Cenizas	0.6% max.	FAO/OMS del Codex Alimentario Principio: Ignición a 600° C Tipo I
Pesticidas Clorados		HPLC
Clordimeform	0.01 mg/K max	
Color	Extra claro ambar, Ambar claro, ambar Oscura	Método Pfund
Coumaphos	0.01 mg/K max	
Diastasa	8.3 índice min	Escala Schade
Diferencia de proteína	-1.0 o más	White
Estreptomicina	0.01 mg/K max	
Fructosa		
Glucosa Comercial		
HMF	20 mg/K max	Método Winkler. HPLC
Humedad	18% max	FAO/OMS del Codex Alimentarios Principio: Refractometría Tipo I
Miel Prensada	0.5% max	
Para-Diclorobenzol		
Pb, Cd, Hg, Zr, Fe		
Fenol	500 ppb max	HPLC
Pesticidas fosforados		HPLC
Prolina	200 mg/K min	Wallrauch
Proteína	-1.0 o más	
Sacarosa	5% máx	HPLC

ANEXO No. 7

MAPA DE EL SALVADOR CON UBICACIÓN DE NUMERO DE COLONIAS DE ABEJAS GENERALIDADES DE LA MIEL (18)



SIMBOLOGIA:

	2 MIL colmenas
	1 mil colmenas
	500 colmenas

ANEXO No. 8

GLOSARIO.

Aplicación: Colocar en el punto de origen la mezcla cuya sustancia se desea separar sobre el papel o capa cromatográfica.

Adsorción: Concentración en la superficie de un sólido de las partículas de una sustancia en disolución.

Adsorbente: Sólido finamente pulverizado, que por energía de superficie, deposita en su superficie a las moléculas que lo rodean.

Alzas: Caja sin fondo, provista de barras en la parte inferior para sostener las secciones, cuyo número varía según el tamaño de la cámara de cría.

Disolvente: Sustancias o mezclas de sustancias fluidas que constituyen la fase móvil (portadora) en una cromatografía. Generalmente se emplean líquidos con alta presión de vapor.

Desorción: Fenómeno contrario de la absorción.

Separación de un gas o un líquido de una mezcla.

Eluente: Disolvente usado en cromatografía en papel o en capa delgada para extraer las sustancias separadas.

Edafico-climático: Guarda relación con la naturaleza del suelo y el clima.

Frente del disolvente: Línea frontal de la fase móvil, visible durante el desarrollo.

$$hRf = Rf \times 100$$

Libar: Chupar, probar un líquido.

Mielada: Período de tiempo que dura una floración determinada en la cual las abejas recolectan gran cantidad de néctar.

Mielato: Sustancia azucarada expulsada por los pulgones.

Nectario: Es cualquier órgano capaz de segregar néctar.

Néctar: Sustancia líquida, azucarada y aromática que se excreta en los nectarios.

Propóleos: Sustancia resinosa que recogen las abejas de las yemas de los árboles, con esta cierran las rendijas, pegan cuadros y cubren paredes y matan animales e insectos mayores.

Pecoriadoras: Son las abejas que se encargan de recolectar el néctar, mielato y savia en las flores.

Revelador (sinónimo, agente crómogeno): Agente físico o químico que hace visible las sustancias separadas por cromatografía en papel o capa delgada.

Rf: (relación de flujo) Razón o cociente de las distancias recorridas simultáneamente desde el origen hasta el centro de la mancha de una sustancia y el frente de la fase móvil (disolvente)

$$hRf = Rf \times 100$$

Resuccionada: Nombre que se le da al proceso de chupar la miel y vuelta a expulsar por la abeja.

Sistema cromatográfico: Condiciones de temperatura, humedad relativa, disolventes, etc. empleados en cromatografía.