

Caracterización de la producción de hidromiel artesanal y análisis de sus propiedades antioxidantes

Characterization of artisanal mead production and analysis of its antioxidant properties

Almanza Gámez, R.¹. Jiménez Perea, M. G.¹. Mares Moncada, M.¹. Mejía Cárdenas, G. E.¹. Olvera Hernández, A. G.¹. Ríos Fuentes, B.¹. López González, M. D. L. L^{2*}

¹Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Lic. en Ingeniería en Biotecnología, Universidad de Guanajuato

²Departamento de Enfermería y Obstetricia, Lic. en Nutrición, Universidad de Guanajuato
mdll.lopezgonzalez@ugto.mx^{2*}

Resumen

En este proyecto se caracterizaron diferentes formulaciones de hidromiel artesanal, evaluando la producción de alcohol y la actividad antioxidante. Para ello, se prepararon tres variantes de hidromiel: natural, con infusión de jamaica-manzanilla y con infusión de jengibre-menta. El proceso de fermentación se llevó a cabo utilizando miel de mezquite y la cepa de levadura (*Saccharomyces bayanus*) durante tres semanas. Además, se compararon las formulaciones con una variante con infusión de jamaica-manzanilla madurada durante 18 meses. Se evaluaron propiedades como color, acidez y la capacidad antioxidante mediante la técnica de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Además, se emplearon técnicas cromatográficas para un análisis preliminar de la producción de alcohol y se realizó la modelación del consumo de biomasa, sustrato y generación de producto a partir de la medición del consumo de azúcar con los grados Brix, estimando estos parámetros mediante la solución de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (EDOs) en MATLAB. Los resultados mostraron variaciones significativas en las propiedades organolépticas y antioxidantes según la formulación y el proceso de maduración.

Palabras clave: hidromiel, antioxidantes, DPPH, cromatografía, producción de alcohol.

Introducción

La miel es un alimento compuesto especialmente de azúcares (fructosa, glucosa, maltosa) y en menor proporción de enzimas, aminoácidos, vitaminas, minerales, etc. Es elaborada por diferentes tipos de abejas mediante resudados de plantas que son agrupados, transformados y almacenados (da Silva, Gauche, Gonzaga, Oliveira & Fett, 2016). Estructuralmente la miel está asociada con la especie de abeja que la produce, su origen geográfico y floral, esto produce diferenciación de aromas, sabores, tonalidades, así como características terapéuticas y funcionales tales como antimicrobianas, antifúngicas y antivirales (Kujumgiev et al., 1999; Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernandez-López & Pérez-Álvarez, 2008; Silic, Sagdic & Ekici, 2010; Alzahrani et al., 2012; Anthimidou & Mossialos, 2013).

Anteriormente, la miel era empleada con propósitos medicinales, nutricionales y religiosos. Actualmente este alimento de importancia económica, nutricional y farmacológica es utilizado en recetas caseras con objetivo terapéutico (Álvarez-Suárez et al., 2010). Dentro de sus propósitos, se encuentra la elaboración de una bebida producto de la fermentación de los diversos azúcares presentes en la miel. Dicha bebida es conocida como hidromiel. La hidromiel es la bebida alcohólica más antigua de la que se tiene conocimiento. Su hallazgo ocurrió cuando el humano trató de almacenar la miel para su consumo, ya que no existía otra manera de endulzar los alimentos. También se ha propuesto que el humano descubrió esta bebida en un tronco hueco en donde el agua de la lluvia debería ocasionado la fermentación de la miel acumulada del enjambre (Martínez, W., Arias, E., & Baez, C. A., 2019).

El producto se fabrica de forma artesanal y en producciones condicionadas, lo que significa que el método de pasteurización ha sido el más utilizado, es fácil de aplicar, pero si trae consigo menos aromas de la miel. Convencionalmente este producto puede llegar a tener de 10 a 12° de alcohol (Martínez, W., Arias, E., & Baez, C. A., 2019), no obstante, en esta elaboración se busca obtener 14° de alcohol. El proceso de elaboración del hidromiel incluye la adición de diferentes ingredientes que permiten modificar las propiedades organolépticas como el sabor, color o aroma, aunque tradicional se compone de miel y agua. Así mismo el uso de aditivos para estandarizar la preparación, como es el caso de clarificantes, nutrientes para levadura y conservantes ha demostrado que los aditivos pueden alterar el curso de la fermentación del hidromiel y las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes (Kawa-Rygielska, 2019). En este proyecto se producirá hidromiel tradicional e hidromiel elaborado con infusiones de jamaica-manzanilla y jengibre-menta.

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es una fuente de antocianinas, la cual es responsable de su color rojo (Mohamad et al, 2022). Asimismo, la flor de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) contiene varios fitoquímicos como alcaloides, flavonoides, terpenoides entre otros, indicando una composición química variada con potenciales beneficios para la salud (Tantowi et al, 2023). Por su parte, el extracto de jengibre (*Zingiber officinale*) presenta fitoquímicos como taninos, terpenoides, alcaloides, entre otros que le conceden propiedades antioxidantes (Wahab et al, 2022). Finalmente, las hojas de la menta (*Mentha spicata*) presentan fuertes propiedades antioxidantes debido a la presencia de compuestos como ácidos fenólicos y flavonoides (Brown et al., 2019).

En cuanto a la miel utilizada como fuente de carbono para las levaduras responsables del proceso fermentativo, se utilizó de mezquite ambas provenientes de la empresa Sámano Apicultores de la ciudad de Cortázar, Guanajuato que fueron enriquecidas con fosfato de amonio dibásico, magnesio y zinc.

Para la fermentación de la miel se utilizaron dos cepas diferentes de levadura: *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus*. Este proceso de fermentación se da en tres semanas, después la maduración del hidromiel puede extenderse de tres meses a un año. El objetivo de esta investigación fue caracterizar física, química y organolépticamente las diferentes formulaciones de hidromiel, evaluando la producción de alcohol y la actividad antioxidante, con las técnicas de Cromatografía de gases (GC) con detección de ionización de flama y 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), respectivamente.

Metodología

2.1 Preparación del mosto e infusiones

La miel de abeja se diluyó en agua en una proporción de 1:3 en volumen y se maceró durante 60 minutos a 75°C. Durante este proceso, la mezcla se enriqueció con fosfato de amonio dibásico, magnesio y zinc, además de un floculante a base de algas rojas como clarificante. Este floculante, que contiene carragenina Kappa y Lambda con carga negativa, está diseñado para atraer las proteínas formadoras de turbidez con carga positiva durante la maceración del hidromiel y la fermentación primaria, permitiendo su sedimentación. Posteriormente, la temperatura se redujo a 37°C y se incorporó la levadura (*Saccharomyces bayanus*) previamente activada. La fermentación duró tres semanas, durante las cuales se midieron diariamente los grados Brix (°Bx) para estimar la producción de alcohol.

Se prepararon tres infusiones distintas, como se describe en la Tabla 1, y se incorporaron al final del proceso de maceración durante un período de 15 minutos antes de extraerlas. Las formulaciones fueron las siguientes: 1) Control: Miel de mezquite (*Prosopis laevigata*) sin infusión. 2) Miel de mezquite mezclada con Jamaica y manzanilla, 3) Miel de mezquite mezclada con menta y jengibre. La maceración inicial se llevó a cabo en un macerador semiautomático DM-N40L en condiciones específicas para garantizar la calidad del producto final.

Tabla 1. Formulación de infusiones del hidromiel artesanal

Formulación	Concentración
Miel de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) natural	Control
Miel de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) con Infusión de: Jamaica (<i>H. Sabdariffa</i>) / Manzanilla (<i>Chamaemelum nobile</i>)	Infusión: 21 mg/ml / 1.05 mg/ml
Miel de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) con Infusión de: Menta (<i>Mentha spicata</i>) / Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	Infusión: 1.05 mg/ml / 5.26 mg/ml

2.2 Color

El color en el hidromiel se midió utilizando un colorímetro CR-400 (Minolta, Konica Ramsey, NJ, EE. UU.) y análisis de imágenes en MATLAB® R2023b empleando una LAPTOP-HP con un procesador Intel(R) Core (TM) i7-9750H (RAM de 16 GB y Microsoft Windows 11 Home Single Language). Se capturaron imágenes con un iPhone 15 (sistema de cámara dual: principal de 48 Mpx con apertura de $f/1,6$ y ultra gran angular de 12 Mpx con apertura de $f/2,4$ y campo de visión de 120°) de tres muestras diferentes de hidromiel con infusiones de: Jamaica, Jengibre y Natural. Tanto con el colorímetro como con el análisis de imágenes, el color se midió en la escala LCh (componentes de Luminancia, Cromo y Matiz), y los datos de color se convirtieron a CIELAB. Se calcularon las medias y desviaciones estándar de

cada componente para cada imagen y se compararon los datos de color obtenidos tanto en el análisis de imagen como en el colorímetro.

2.3 Acidez titulable

La concentración de acidez total se determinó mediante titulación, como sustancia titulable se utilizó NaOH al 0.1 N y como indicador, fenolftaleína al 5% (p/v) (Zúñiga, 1991). Para visualizar el cambio de color en la titulación, se realizaron diluciones en proporción 1:1 de hidromiel con agua, tomando un volumen de 10 ml. La titulación se realizó por triplicado. Para hacer el cálculo de la fracción másica de ácido se utilizó la Ecuación 1.

$$\frac{g \text{ de ácido tartárico}}{L \text{ de disolución}} = \frac{(L \text{ gastados NaOH})(0.1N) \left(0.075 \frac{g}{meq}\right) \left(\frac{1000 meq}{1 eq}\right)}{10.03 g} \quad (1)$$

2.4 Antioxidantes

Se midió la capacidad antioxidante mediante la técnica 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) el principio de este método se basa la capacidad que tiene un posible antioxidante de neutralizar un radical libre. Se elaboró una curva estándar de Trolox de 1000 μ M como se muestra a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Curva estándar de Trolox

Concentración (μ M)	Stock (μ L)	MeOH 80% (μ L)
10	15	1500
30	45	1485
50	75	1455
100	150	1425
250	375	1350
500	750	1125
1000	1500	750

La actividad antioxidante se determinó con el método DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazyl) con una concentración 150 μ M a una longitud de onda de 517nm siguiendo la metodología de Rodríguez, Andrade, & Diaz, 2015).

El cálculo de la absorbancia normalizada ($Abs_{(normalizada)}$) se llevó a cabo basándose en la ecuación 2, tras lo cual se emplearon posteriormente las curvas estándar representadas por las ecuaciones 3 y 4 con el fin de determinar los μ M de DPPH y el porcentaje de inhibición (% *Inhibición de DPPH*) presente en las muestras de hidromiel.

$$Abs_{(normalizada)} = \frac{Abs_{(t=0)} - Abs_{(t=30min)}}{Abs_{(t=0)}} \quad (2)$$

$$Abs_{(normalizada)} = -0.0008(\mu M \text{ de DPPH}) + 1.0 \quad (3)$$

$$\% \text{ Inhibición de DPPH} = 0.0623(\mu M \text{ de DPPH}) + 10.931 \quad (4)$$

2.5 Destilación

La destilación de hidromiel a temperaturas entre 75°C y 85°C se realiza bajo condiciones controladas para la separación eficiente de los componentes volátiles, principalmente el etanol. En este rango de temperaturas, el etanol se evapora a aproximadamente 78.37°C, lo que permite su separación del agua y otros componentes del mosto. Durante la destilación, los vapores generados son condensados y recogidos. Las cabezas contienen compuestos volátiles indeseables, como metanol y acetaldehído. Los corazones son ricos en etanol y compuestos aromáticos, incluyendo ésteres y aldehídos, que aportan al perfil sensorial de la hidromiel destilada. Las colas, con compuestos más pesados y menos volátiles, también se incluyen en el análisis completo. Aunque tradicionalmente las fracciones de la destilación (cabezas, corazones y colas) se recolectan por separado, en este caso se mantienen juntas para su posterior análisis en un cromatógrafo de gases (CG) con FID. Este método permite un análisis detallado y completo de los compuestos presentes en todas las fracciones combinadas, con la finalidad de obtener el contenido de etanol, metanol y alcoholes superiores de acuerdo con la NOM-142-SSA1-1995. Este enfoque asegura que todos los componentes, desde los volátiles más ligeros hasta los más pesados,

sean considerados en el análisis cromatográfico, proporcionando una imagen completa del perfil químico de la hidromiel destilada.

2.6 Estimación de la producción de alcohol

La producción de alcohol en hidromiel es un proceso complejo, influenciado por diversos factores, incluyendo las formulaciones de los ingredientes y las condiciones de fermentación. Para evaluar y comparar la eficiencia de la fermentación en diferentes formulaciones de hidromiel, es esencial utilizar métodos precisos y confiables para la estimación del contenido de alcohol. Por ello, se emplearon dos herramientas para el monitoreo y estimación de la producción de alcohol a partir de los °Brix: primero, el modelo estándar para la producción de bebidas fermentadas, y posteriormente, las cinéticas de consumo de sustrato, generación de biomasa y generación de producto mediante la creación de modelos matemáticos gobernados por EDOs.

2.6.1 Grados Brix

El monitoreo de la producción de alcohol se realizó inicialmente utilizando la aplicación Refracto (Schmidt, 2024), empleando el modelo estándar que convierte los grados Brix a densidad específica. La fórmula utilizada para calcular el porcentaje de alcohol por volumen (%ABV) fue evaluada por la fórmula 5 donde OG representa la densidad específica inicial del mosto antes de la fermentación y FG la gravedad específica final del mosto después de la fermentación.

$$\%ABV = 131.25 \times (OG - FG) \quad (5)$$

La conversión de grados Brix a densidad específica se realizó mediante la siguiente fórmula 6.

$$SG = 1 + \left(\frac{^{\circ}Brix}{258.6 - \left(\frac{^{\circ}Brix}{258.2 \times 227.1} \right)} \right) \quad (6)$$

Esta metodología permitió obtener una estimación precisa del contenido alcohólico, facilitando la comparación y análisis de las diferentes formulaciones de hidromiel preparadas en el estudio. La aplicación de estas fórmulas es crucial para asegurar que las mediciones de alcohol sean exactas y consistentes con los estándares de la industria.

2.6.2 Modelación de producción de alcohol

En la modelación de la producción de alcohol en el hidromiel, se utilizó la metodología descrita por Burgos-Rubio (2000), que considera nueve modelos de cinéticas de crecimiento basados en ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs) descritos en las ecuaciones 7, 8 y 9. Se analizaron los grados Brix del azúcar en tres formulaciones de hidromiel: natural, con infusión de jamaica-manzanilla y con infusión de jengibre-menta. Los modelos matemáticos implementados incluyen: 1) Modelo de Monod, 2) Modelo con Inhibición por Sustrato, 3) Modelo con Inhibición por Producto, 4) Modelo con Inhibición por Producto (exponencial), 5) Modelo con Inhibición por Sustrato y Producto, 6) Modelo con Inhibición por Producto (lineal), 7) Modelo de Monod con Inhibición por Producto, 8) Modelo Híbrido y 9) Modelo Generalizado. Las EDOs se resolvieron utilizando el método de Levenberg-Marquardt para ajustar los parámetros a los datos experimentales, minimizando la suma de los residuos entre los datos experimentales y los valores predichos por el modelo.

Cada modelo se evaluó con las tres formulaciones de hidromiel, comparando los resultados basados en la suma de residuos obtenida para cada ajuste. El mejor modelo para cada formulación fue aquel con la menor suma de residuos, indicando el mejor ajuste a los datos experimentales. La Ecuación 10 describe el modelo con inhibición de sustrato y producto, identificado como el mejor para modelar la producción de hidromiel de jengibre-menta. Por otro lado, la Ecuación 11 describe el modelo con inhibición por producto lineal, que fue la mejor aproximación para el hidromiel natural y con infusión de jamaica-manzanilla.

$$\frac{dx}{dt} = \mu X \quad (7)$$

$$\frac{ds}{dt} = -\left(\frac{1}{Y_{XS}}\right)\mu X - \left(\frac{1}{Y_{PS}}\right)(\alpha\mu + \beta)X \quad (8)$$

$$\frac{dP}{dt} = (\alpha\mu + \beta)X \quad (9)$$

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \left(\frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_{SI}}} \right) \left(1 - \frac{P}{K_{PI}} \right) \quad (10)$$

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \left(1 - \frac{P}{K_{PI}} \right) \quad (11)$$

A continuaci3n, se describen en detalle los parámetros considerados durante el análisis de producci3n de alcohol (*Tabla 3*). Cada uno de estos factores juega un papel crucial en la eficiencia y el rendimiento del proceso de fermentaci3n, y su comprensi3n profunda es esencial para la optimizaci3n de la producci3n industrial de alcohol.

Tabla 3. Definici3n de cada parámetro considerado para la interpretaci3n de resultados.

Símbolo del Parámetro	Nombre del Parámetro	Funci3n
$\mu_{m\acute{a}x}$	Tasa máxima de crecimiento específico	Representa la velocidad máxima a la que la levadura puede crecer en condiciones ideales
K_s	Constante de saturaci3n del sustrato	Indica la concentraci3n de sustrato a la cual la tasa de crecimiento es la mitad de la tasa máxima
α	Coficiente de producci3n de producto primario	Representa la cantidad de producto generado por unidad de sustrato consumido
β	Coficiente de producci3n de producto secundario	Indica la cantidad de producto secundario generado por unidad de biomasa producida
Y_{XS}	Rendimiento de biomasa por sustrato	Describe la cantidad de biomasa producida por unidad de sustrato consumido
Y_{PS}	Rendimiento de producto por sustrato	Indica la cantidad de producto generado por unidad de sustrato consumido
K_{PI}	Constante de inhibici3n por producto	Refleja la sensibilidad del crecimiento de la levadura a la presencia de producto inhibidor
K_{SI}	Constante de inhibici3n por sustrato	Indica la concentraci3n de sustrato a la cual el crecimiento de la levadura comienza a inhibirse

2.7 Cromatografía de gases con detector de ionizaci3n de flama

La cromatografía de gases con detector de ionizaci3n de flama (GC-FID) se utiliz3 para evaluar la presencia de etanol, metanol y alcoholes superiores en el hidromiel. Se tom3 una muestra de 0.1 microlitros del destilado de hidromiel, obtenido mediante destilaci3n a temperaturas entre 75° C a 85° C, de la variante jamaica-manzanilla con 18 meses de maduraci3n. La muestra se inyect3 en una columna capilar con helio como gas portador, manteniendo la temperatura del inyector a 250° C y la del detector a 300° C. El horno del cromatógrafo se program3 para iniciar a 40° C, aumentando a una tasa de 10° C por minuto hasta 150° C, donde se mantuvo por 5 minutos. Los componentes se separaron en la columna y se detectaron mediante el FID, identificándose a partir de sus tiempos de retenci3n: metanol a 3.5 minutos, etanol a 4.5 minutos y alcoholes superiores entre 8 y 15 minutos. Este m3todo permite cuantificar cada compuesto, asegurando el cumplimiento de los límites establecidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-142-SSA1/SCFI-2014) (SSA, 2015).

Resultados y discusi3n

3.1 Preparaci3n del mosto e infusiones

La miel de abeja se diluy3 en agua en una proporci3n de 1:3 en volumen y se macer3 durante 60 minutos a 75° C. Durante este proceso, la mezcla se enriqueci3 con fosfato de amonio dibásico, magnesio y zinc, además de un floculante como clarificante. Posteriormente, la temperatura se redujo a 37° C y se incorpor3 la levadura (*Saccharomyces bayanus*) previamente activada. La fermentaci3n dur3 tres semanas, midiendo diariamente los grados Brix (°Bx) para estimar la producci3n de alcohol. Se prepararon tres formulaciones distintas: (1) control con miel de mezquite sin adulterar, (2) miel

de mezquite con infusión de Jamaica y manzanilla, y (3) miel de mezquite con infusión de menta y jengibre. Cada formulación se añadió durante los últimos 15 minutos de maceración. Los resultados mostraron que las infusiones enriquecieron el perfil sensorial y la concentración de compuestos fenólicos en comparación con el control. Estos hallazgos coinciden con estudios previos, como los de Tapiero (2017) y Briones (2006), quienes también observaron variaciones significativas en las propiedades organolépticas y químicas de hidromieles elaboradas con diferentes tipos de miel y aditivos durante la fermentación. En la Figura 1 se describe un diagrama de flujo de la producción de hidromiel artesanal.

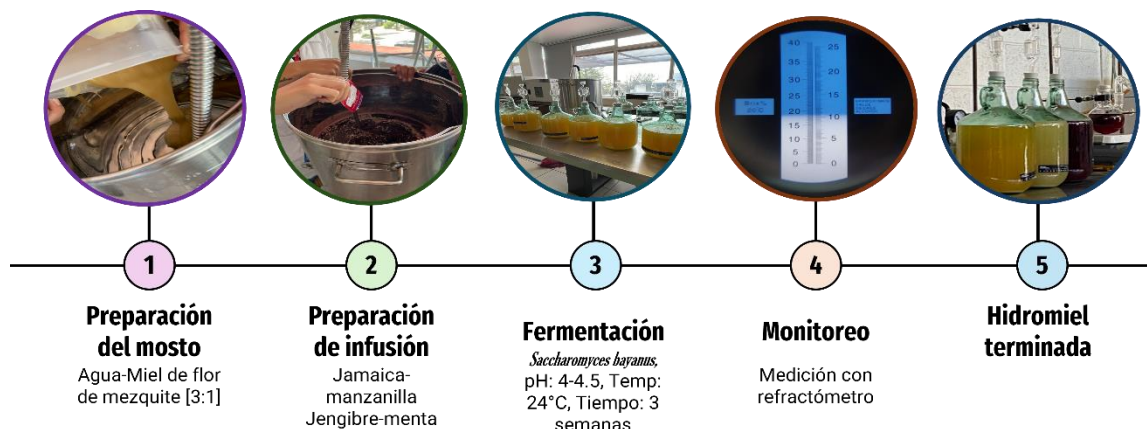


Figura 1. Diagrama de flujo de la producción de hidromiel.

3.2 Color

En cuanto al análisis de color, se midieron las muestras en el colorímetro por triplicado, obteniendo valores numéricos dentro del sistema LCh (Luminancia, Cromo y Matiz), lo que proporcionó tonos específicos. Según esta escala, en la variante de jamaica-manzanilla se observó un tono rojo intenso, en la variante de jengibre-menta se observó un tono pálido cercano al beige, y en la variante natural del fermentado se observó un color amarillo pálido. Los valores obtenidos se presentan en la siguiente Tabla 4 con las diferentes escalas de color.

Tabla 4. Mediciones de color identificado en el hidromiel artesanal por variante

Tipo de hidromiel	LCh	CIELAB	SRGB
Natural	80.64%,19.32%,85.39 %	80.64%,1.863%,23.109%	DBC69
Jamaica y manzanilla	47.72%,53.97%,27.84%	47.72%,57.268%,30.245%	DC1138
Jengibre y menta	85.04%, 4.91%, 41.53%	85.04%, 4.411%, 3.906%	E2D1C

De igual manera que con el colorímetro, se evaluó el color en las muestras de diferentes variantes de hidromiel utilizando un algoritmo de análisis de imagen desarrollado en MATLAB. Se cargaron imágenes tomadas con un iPhone 15, que luego fueron procesadas mediante vectores que contienen datos de luminancia (L), croma (C) y matiz (h). Las imágenes se descompusieron en una matriz de la escala de color RGB, la cual se convirtió a CIELAB utilizando las funciones "makerform" y "applycform" para extraer los valores L, a y b. Posteriormente, los valores se convirtieron al sistema LCh para compararlos con las mediciones obtenidas en el colorímetro. Se calcularon las desviaciones estándar y se promediaron los valores de LCh obtenidos mediante el análisis de imagen en MATLAB. Finalmente, se generó un parche de color promedio. El análisis ANOVA indica que el color de las variantes de hidromiel difiere significativamente tanto en la medición con el colorímetro como en el algoritmo de análisis de imagen en MATLAB.

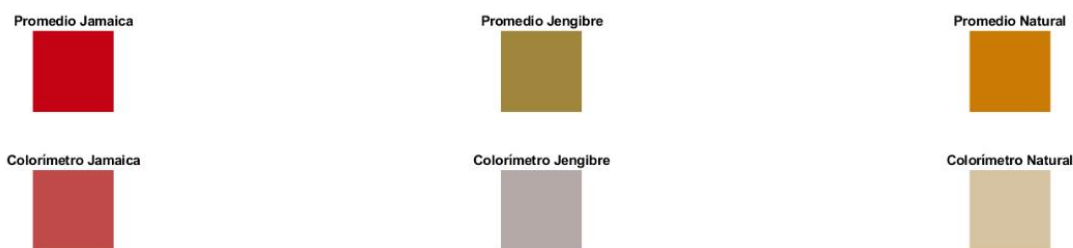


Figura 2. Resultados de medición de color. En la primera fila se muestran los resultados del análisis de imagen con Matlab. En la fila superior se presentan los resultados de análisis de MATLAB y en la fila inferior se presentan los resultados del medición del color con el colorímetro.

El análisis de color en hidromiel mediante fotografías procesadas con MATLAB ofrece varias ventajas significativas. Este método permite una gran flexibilidad y personalización, ya que los algoritmos pueden ajustarse según las necesidades específicas del estudio. Además, facilita el procesamiento y análisis simultáneo de múltiples muestras, lo que ahorra tiempo y esfuerzo. La automatización del proceso mediante scripts reduce el trabajo manual y las herramientas avanzadas de visualización de MATLAB ayudan a interpretar los resultados de manera más efectiva. Sin embargo, este enfoque puede ser complejo y requiere conocimientos en programación y procesamiento de imágenes. Además, la precisión del análisis depende de la calidad de la cámara utilizada y del correcto procesamiento de las imágenes.

Por otro lado, el uso de un colorímetro ofrece precisión y exactitud específicas para la medición del color, proporcionando resultados confiables y consistentes con facilidad. Los colorímetros son dispositivos portátiles y fáciles de usar, ideales para mediciones rápidas y precisas sin necesidad de conocimientos técnicos avanzados. Además, estos dispositivos pueden ser calibrados fácilmente con estándares conocidos, asegurando la consistencia en las mediciones. Sin embargo, los colorímetros tienen una capacidad limitada de personalización y automatización en comparación con MATLAB, y generalmente solo pueden procesar muestras de una en una, lo que puede ser menos eficiente para estudios con grandes volúmenes de datos.

3.3 Acidez titulable

La concentración de ácido encontrada se describe en la Tabla 5 en función del ácido tartárico, para ello se tomó el valor de 1005 g/L como densidad del hidromiel.

Tabla 5. Acidez total de la hidromiel

Tipo de hidromiel	g/L Ácido tartárico
Natural	2.254
Jamaica	3.857
Jengibre y menta	2.805

Tapiero (2017) reporta una concentración total de ácido en hidromiel monofloral elaborada a partir de miel de *Acacia mangium* de 46.3 ± 0.10 meq/Kg, lo que equivale a 3.47 g/L. Este valor se encuentra dentro del rango de concentraciones encontradas en este estudio. Por otro lado, Briones (2006) obtiene un valor de acidez total entre 5.0 y 5.3 g/L de ácido tartárico. Estos valores, aunque están fuera del rango de este estudio, son cercanos a los obtenidos en la presente investigación. A partir de los datos de concentración de ácido tartárico en diferentes bebidas fermentadas, se propone que esta propiedad varía dependiendo del proceso de elaboración del hidromiel, principalmente el tipo de miel y las infusiones utilizadas.

3.4 Antioxidantes

La actividad antioxidante de diferentes tipos de hidromiel se evaluó utilizando un espectrofotómetro UV-Visible para medir la inhibición del radical libre DPPH a 517 nm. Los resultados (Tabla 6) indicaron que la hidromiel Natural tiene la mayor capacidad antioxidante, con un 87.22% de inhibición de DPPH, superando a la hidromiel de Jengibre y Menta (86.00%) y a la de Jamaica y Manzanilla sin maduración (85.00%). La hidromiel de Jamaica y Manzanilla con 18 meses de maduración presentó la menor capacidad antioxidante, con un 83.03% de inhibición de DPPH, lo que sugiere que el proceso de maduración prolongada podría reducir la actividad antioxidante de la bebida.

Tabla 6. Porcentajes de inhibición de DPPH para los distintos tipos de hidromiel

Tipo de hidromiel	% de inhibición de DPPH	Tiempo de fermentación	Tiempo de maduración
Natural	87.22 %		Sin maduración
Jengibre y menta	86.00 %	3 semanas	Sin maduración
Jamaica y manzanilla	85.00%		Sin maduración
Jamaica y manzanilla	83.03%		18 meses

La capacidad antioxidante de la hidromiel se ve afectada por diversos factores, incluyendo el tipo de infusión, los procesos de fermentación y maduración. La hidromiel Natural, con su mayor contenido de compuestos antioxidantes, se presenta como la mejor opción ante esta perspectiva. Además, la reducción de la actividad antioxidante en la hidromiel de Jamaica y Manzanilla después de un periodo prolongado de maduración es crucial para mantener las propiedades antioxidantes de la hidromiel. Este fenómeno podría deberse a la degradación de los compuestos fenólicos durante el almacenamiento prolongado, como se ha observado en otros estudios sobre la actividad antioxidante de la miel y sus derivados (Pérez & González, 2021; Rivera & Hernández, 2020).

La hidromiel Natural mostró una capacidad antioxidante superior en comparación con las otras variantes evaluadas. Los compuestos fenólicos presentes en la miel, como los flavonoides, son conocidos por sus propiedades antioxidantes. La hidromiel de Jengibre y Menta también presentó una alta capacidad antioxidante, lo cual puede atribuirse a la presencia de gingerol y mentol, compuestos con reconocidas propiedades antioxidantes (Instituto Politécnico Nacional, 2022). Por otro lado, la menor capacidad antioxidante observada en la hidromiel de Jamaica y Manzanilla después de un periodo de maduración prolongada puede deberse a la posible degradación de los compuestos fenólicos durante este tiempo. Es conocido que ciertos antioxidantes pueden degradarse o reaccionar con otros componentes durante el almacenamiento prolongado, lo cual reduce su efecto antioxidante. Además, el tiempo y las condiciones de fermentación pueden afectar significativamente el perfil de compuestos bioactivos en la hidromiel (Arroyo, 2023).

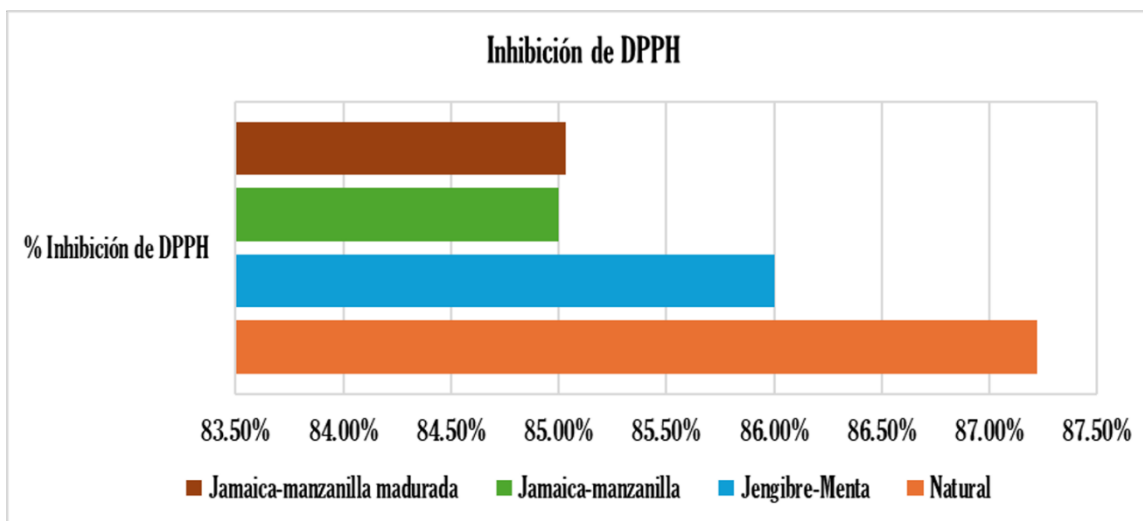


Figura 3. Resultados del % de inhibición de DPPH en las diferentes variantes de hidromiel.

Los resultados de este proyecto muestran mayores valores de inhibición de DPPH. Se ha encontrado que los porcentajes de inhibición en hidromieles pueden variar considerablemente. Por ejemplo, Ciappini y Stoppani (2009) reportaron valores entre 9.52% y 43.57% en mieles de diferentes orígenes florales en la región de Junín, Perú (Gutiérrez et al., 2008). Frankel et al. (1998) estudiaron 19 mieles uniflorales y obtuvieron valores de actividad antioxidante total (AAT) comprendidos entre 21.3 y 432.0 μeq . los porcentajes de inhibición de DPPH en vinos también pueden variar ampliamente. Por ejemplo, Ghiselli et al. (1998) encontraron que los vinos tintos presentan un porcentaje de inhibición de DPPH que oscila entre el 50% y el 100%, dependiendo de la variedad y el método de vinificación. Estos valores destacan la influencia del origen botánico y las condiciones climáticas en la capacidad antioxidante de la miel, así como en el vino. Además, se considera el efecto de las infusiones en la producción de hidromiel, lo que puede contribuir a las variaciones en la actividad antioxidante observadas.

3.5 Destilación

La destilación de hidromiel de jamaica-manzanilla madurada durante 18 meses se llevó a cabo a temperaturas entre 75°C y 85°C. Este proceso permitió la separación eficiente de los componentes volátiles, especialmente el etanol, que se evapora a aproximadamente 78.37°C. De un volumen inicial de 700 mL de hidromiel, se obtuvo 1/5 parte como destilado, resultando en 140 mL de producto final. Durante la destilación, se recogieron tres fracciones en una misma muestra (un cálculo aproximado de: cabezas (14 mL), corazones (112 mL) y colas (14 mL)). Las cabezas contienen compuestos indeseables como metanol y acetaldehído, los corazones eran ricos en etanol y compuestos aromáticos, y las colas incluían compuestos más pesados y menos volátiles. Para un análisis exhaustivo, el destilado se evaluó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama (GC-FID), con el fin de proporcionar un perfil adecuado de su composición.

3.6 Estimación de la producción de alcohol

3.6.1 Grados Brix

La metodología descrita permitió obtener datos precisos sobre la producción de alcohol en las distintas formulaciones de hidromiel. La hidromiel natural alcanzó un porcentaje de alcohol por volumen (%ABV) de 13.2%, mientras que las variantes con infusión de jamaica-manzanilla y jengibre-menta lograron 10.6% y 9.7% ABV, respectivamente. Además, la maduración prolongada de la hidromiel con infusión de jamaica-manzanilla no afecta el contenido de alcohol (Aprox. 14.2% ABV) después de la fermentación primaria. En la Tabla 7 se muestran los resultados de la conversión de °Brix a %ABV, estos demuestran la efectividad del modelo y la app Refracto para monitorear y evaluar con precisión la producción de alcohol en hidromiel artesanal.

Tabla 7. Resultados de la producción de alcohol en el hidromiel utilizando el modelo estándar para producción de cerveza

Formulación	Densidad		Densidad		%ABV
	especifica (OG)	inicial	especifica (FG)	final	
Miel de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) natural	1.099		1.003		13.2
Miel de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) con Infusión de: Jamaica (<i>H. Sabdariffa</i>) / Manzanilla (<i>Chamaemelum nobile</i>)	1.103		1.027		10.6
Miel de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) con Infusión de: Menta (<i>Menta spicata</i>) / Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	1.112		1.402		6.7
Miel de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) con Infusión de: Menta (<i>Menta spicata</i>) / Jengibre (<i>Zingiber officinale</i>) con 18 meses de maduración	1.108		1.006		14.2

3.6.2 Modelación de producción de alcohol

Se desarrolló un algoritmo computacional en MATLAB para resolver el sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs) y estimar los parámetros específicos de cada fermentación. El algoritmo empleó el método de Levenberg-Marquardt para ajustar los parámetros durante los primeros 10 días de fermentación. Este método permitió modelar con precisión las cinéticas de consumo de sustrato, producción de biomasa y generación de producto para cada formulación de hidromiel. Se evaluaron los grados Brix del hidromiel y su relación con el consumo de sustrato mediante diferentes modelos de crecimiento. El modelo con mejor aproximación al consumo real de sustrato contiene parámetros que indican la existencia de inhibición por sustrato, atribuida al tipo de infusiones utilizadas en la preparación de la hidromiel, lo cual presenta una dificultad para el desarrollo de la levadura. Se observó que la formulación con jengibre-menta presentó una fermentación más lenta en comparación con las formulaciones de jamaica-manzanilla y natural. Esto indica una influencia significativa del tipo de infusiones utilizadas en la producción de hidromiel.

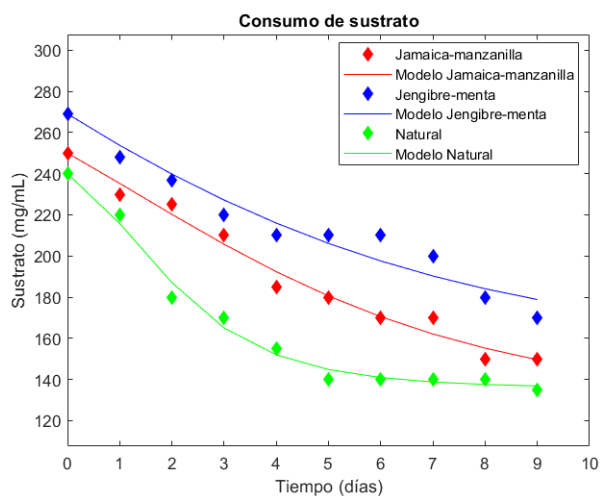


Figura 4. Modelación del consumo de sustrato durante los primeros 10 días de fermentación de las variantes de hidromiel utilizando los mejores modelos de aproximación. Para la hidromiel de jamaica-manzanilla y la hidromiel natural se empleó el modelo con inhibición por producto lineal. En el caso de la hidromiel con infusión de jengibre-menta, se utilizó el modelo con inhibición de sustrato y producto.

El análisis de la hidromiel natural utilizando el modelo que describe la inhibición por producto lineal reveló parámetros específicos que explican su comportamiento fermentativo. Los valores estimados fueron: $\mu_{m\acute{a}x} = 0.903223327$, $K_s = 27.88696283$, $\alpha = 1.676721159$, $\beta = 1.315640995$, $Y_{XS} = 8.851248576$, $Y_{PS} = 0.037670254$, $K_{SI} = 1$ y $K_{PI} = 2.284199528$. La tasa máxima de crecimiento específico relativamente alta sugiere que, en condiciones ideales, la levadura puede tener un crecimiento significativo. Sin embargo, la elevada constante de saturación del sustrato implica que se necesita una alta concentración de sustrato para alcanzar la mitad de la tasa de crecimiento máxima. Esta alta variabilidad y complejidad en la relación entre la concentración de sustrato y la tasa de producción de biomasa podría explicar la dificultad para lograr una fermentación eficiente y consistente sin infusiones estabilizadoras.

El mejor modelo para la hidromiel con infusión de jamaica-manzanilla también fue el que describe la inhibición por producto lineal. Los parámetros obtenidos fueron: $\mu_{m\acute{a}x} = 0.179879751$, $K_s = 4.190839008$, $\alpha = 2.951997269$, $\beta = 0.666281534$, $Y_{XS} = 2.814893706$, $Y_{PS} = 0.021878075$, $K_{PI} = 1$ y $K_{SI} = 1.395755263$. A diferencia de la hidromiel natural, la tasa máxima de crecimiento específico es menor, pero la constante de saturación del sustrato es considerablemente más baja, sugiriendo que la levadura puede crecer eficientemente a menores concentraciones de sustrato. Estos resultados indican que la infusión de jamaica-manzanilla proporciona un entorno más estable y favorable para la fermentación, lo que se traduce en una cinética de fermentación más predecible y eficiente.

En el caso de la hidromiel con infusión de jengibre-menta, el mejor modelo identificado fue el que describe la inhibición de sustrato y producto. Los parámetros estimados fueron: $\mu_{m\acute{a}x} = 0.538750859$, $K_s = 1.000229306$, $\alpha = 3.341815381$, $\beta = 0.133177904$, $Y_{XS} = 0.948114206$, $Y_{PS} = 0.002270959$, $K_{PI} = 0.013105549$ y $K_{SI} = 0.592027$. La tasa máxima de crecimiento específico es intermedia en comparación con las otras formulaciones, indicando una capacidad de crecimiento moderada. Sin embargo, la baja constante de inhibición por sustrato sugiere una alta susceptibilidad a la inhibición por sustrato, lo que puede explicar la fermentación más lenta y menos eficiente observada en esta hidromiel. Además, los bajos valores de rendimiento de producto por sustrato reflejan una menor eficiencia en la producción de alcohol, posiblemente influenciada por las propiedades antimicrobianas del jengibre.

3.7 Cromatografía de gases

La cromatografía de gases con detector de ionización de flama (GC-FID) es una técnica analítica utilizada para la separación y análisis de compuestos volátiles en muestras complejas. Este método es particularmente útil para evaluar la presencia de etanol, metanol y alcoholes superiores en bebidas alcohólicas. La técnica funciona mediante la inyección de una muestra líquida en una columna capilar, donde los componentes se separan basándose en sus diferentes puntos de ebullición y afinidades por la fase estacionaria de la columna. Los compuestos separados se dirigen a un detector de ionización de flama, donde son ionizados y generan una señal eléctrica proporcional a su cantidad. Esta señal se traduce en un cromatograma, permitiendo la identificación y cuantificación de cada componente en la muestra.

Según la Norma Oficial Mexicana (NOM-142-SSA1/SCFI-2014) para bebidas alcohólicas, se establecen límites máximos permitidos para estos compuestos. El nivel permitido de metanol es de 300 mg/L, debido a su toxicidad. Para el etanol, que es el componente principal, se permite hasta un 55% en volumen para ciertas bebidas. Los alcoholes superiores, que incluyen propanol, butanol, e isoamílico, tienen un límite máximo combinado de 400 mg/100 mL de alcohol anhidro (SSA, 2015). Estos alcoholes superiores se forman durante la fermentación y, aunque en pequeñas cantidades pueden contribuir al aroma y sabor de la bebida, en concentraciones elevadas pueden ser tóxicos y afectar negativamente la calidad del producto. La GC-FID es fundamental para garantizar que estos niveles se mantengan dentro de los límites seguros y reglamentarios, asegurando la calidad y seguridad del producto final.

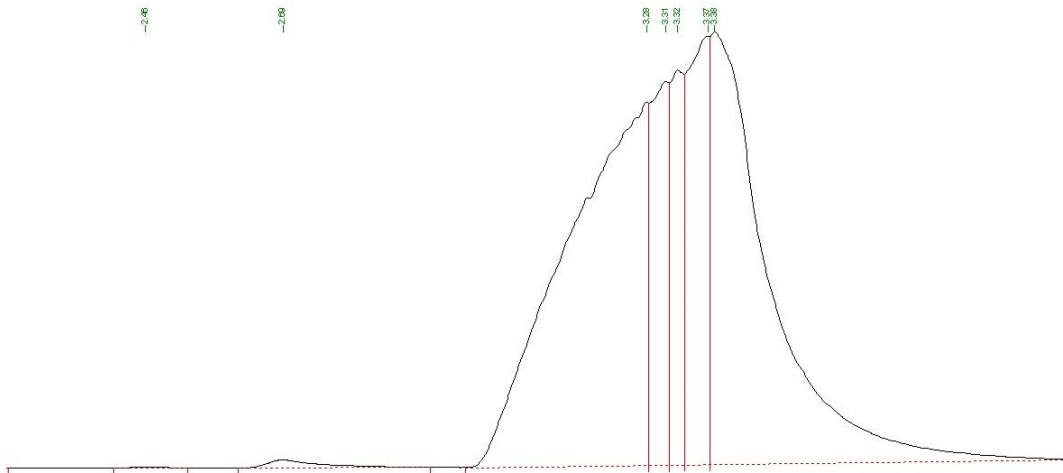


Figura 5. Resultados preliminares del análisis cromatográfico.

En la figura 6 se presentan los resultados preliminares del análisis cromatográfico del destilado obtenido del hidromiel madurado. Este estudio podría mejorarse mediante la generación de estándares específicos para las tres fracciones de destilación, ya que en este caso se realizó el análisis con una muestra que combinaba todas las fracciones. Se observa la presencia de metanol, etanol y alcoholes superiores; sin embargo, la muestra presenta ruido debido a la superposición de picos, lo que sugiere la presencia de múltiples sustancias que interfieren en la medición. Para corregir este problema, se propone realizar el análisis cromatográfico de cada fracción (cabezas, corazones y colas) por separado. Esto permitirá una identificación y cuantificación más precisa de los compuestos volátiles presentes en cada fracción, reduciendo la interferencia y mejorando la resolución del análisis.

Conclusiones

El proyecto tuvo como objetivo caracterizar diferentes formulaciones de hidromiel artesanal, evaluando la producción de alcohol y la actividad antioxidante. A continuación, se presentan las conclusiones más relevantes derivadas del estudio:

- 1) Se prepararon tres variantes de hidromiel: natural, con infusión de jamaica-manzanilla y con infusión de jengibre-menta. Además, se incluyó una variante de hidromiel con infusión de jamaica-manzanilla madurada durante 18 meses. Las infusiones añadidas en las diferentes formulaciones enriquecieron el perfil sensorial.
- 2) Las formulaciones de hidromiel mostraron variaciones significativas en la producción de alcohol. La hidromiel natural alcanzó un 13.2% de ABV, mientras que las variantes con infusión de jamaica-manzanilla y jengibre-menta lograron 10.6% y 9.7% de ABV, respectivamente. Durante la maduración de la variante de jamaica-manzanilla el contenido de alcohol no se alteró por la producción de ácido acético, manteniendo un 14.2% ABV después de la fermentación primaria.
- 3) La capacidad antioxidante se midió mediante la técnica de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). La hidromiel natural presentó la mayor capacidad antioxidante con un 87.22% de inhibición de DPPH. La hidromiel de jengibre y menta mostró una alta capacidad antioxidante (86.00%), atribuida a la presencia de gingerol y mentol, compuestos reconocidos por sus propiedades antioxidantes. La hidromiel de jamaica-manzanilla sin

maduración tuvo una capacidad antioxidante de 85.00%, la cual disminuyó a 83.03% después de 18 meses de maduración. Esto sugiere que el proceso de maduración prolongada puede reducir la actividad antioxidante debido a la posible degradación de los compuestos fenólicos, lo que deja como perspectiva la posibilidad de estudiar el efecto de la maduración en las propiedades antioxidantes de la hidromiel.

- 4) El análisis del color mostró que las infusiones influyeron significativamente en las tonalidades del hidromiel.
- 5) La concentración de acidez titulable variaba entre las formulaciones, siendo la hidromiel de jamaica-manzanilla la que presentó una mayor acidez (3.857 g/L de ácido tartárico) comparada con la natural y la de jengibrementa, pero mantuvo las características de acidez total en fermentados similares como son hidromieles y vinos, en función del contenido del ácido tartárico.
- 6) La modelación de la fermentación indicó que la infusión de jengibre genera un efecto inhibitorio sobre la levadura, resultando en una fermentación más lenta y menor producción de alcohol, debido al menor consumo de sustrato que presentó durante los primeros 10 días de fermentación comparado con otras variantes de hidromiel. Debido a la alta susceptibilidad a la inhibición por sustrato y las propiedades antimicrobianas del jengibre.
- 7) Tanto en la destilación como en el análisis cromatográfico, se recomienda mantener las tres fracciones separadas durante la destilación para lograr un análisis cromatográfico más preciso y detallado, lo que permitirá una mejor identificación y cuantificación de los compuestos volátiles presentes en cada fracción.

Este proyecto proporciona fundamentos y consideración para la producción de hidromiel artesanal con diferentes infusiones, destacando la influencia de estas en las propiedades organolépticas, químicas y antioxidantes del producto final. La investigación resalta la importancia de controlar los procesos de fermentación y maduración para optimizar la calidad del hidromiel y mantener sus propiedades antioxidantes. Por lo tanto, la incorporación de infusiones en la producción de hidromiel artesanal no solo mejora su perfil sensorial, sino que también afecta significativamente la producción de alcohol y la capacidad antioxidante. La comprensión de estos factores es crucial para la producción de hidromiel de alta calidad con beneficios potenciales para la salud.

Referencias

- Alza Briones, V. (2006). Optimización de los parámetros de fermentación de miel monofloral con *S. cerevisiae* para la obtención de hidromiel. Disponible en <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105601>
- Arroyo, C. (2023). Evaluación de la actividad antioxidante en hidromieles con diferentes aditivos vegetales. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(1), 30-45.
- Ayoade, WG, Amoo, IA, Lajide, L. y Ajayi, MG (2022). Fitoquímicos y potencial antioxidante de extractos de jengibre (*Zingiber officinale*) y ajo (*Allium sativum*). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 19 (1), 226-234.
- Ayoade, WG, Amoo, IA, Lajide, L. y Ajayi, MG (2022). Fitoquímicos y potencial antioxidante de extractos de jengibre (*Zingiber officinale*) y ajo (*Allium sativum*). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 19 (1), 226-234.
- Bardales, Á. D. N., Portal, R. M. R., & Garay, S. G. M. (2016). Determinación de las propiedades funcionales y sensoriales del hidromiel elaborado con Camu camu (*Myrciaria dubia*) y Aguaymanto (*Physalis peruviana*). *Investigación Valdizana*, 10(4), 161-170.
- Brown, N., John, JA y Shahidi, F. (2019). Composición de polifenoles y potencial antioxidante de las hojas de menta. *Producción, procesamiento y nutrición de alimentos*, 1 (1), 1-14.
- Burgos-Rubio, C. N., Okos, M. R., & Wankat, P. C. (2000). Kinetic study of the conversion of different substrates to lactic acid using *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnology progress*, 16(3), 305-314.
- Ciappini, M., & Stoppani, F. (2009). Cinética de la reacción de captura de radicales libres DPPH en mieles de tréboles y eucalipto. *Revista de Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 20(2), 110-115.
- El Mihyaoui, A., Esteves da Silva, JC, Charfi, S., Candela Castillo, ME, Lamarti, A., & Arnao, MB (2022). Manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.): una revisión del uso etnomedicinal, fitoquímica y usos farmacológicos. *Life*, 12 (4), 479.
- Frankel, S., Robinson, G., & Parnell, W. (1998). Antioxidant capacity of 19 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research*, 37(1), 27-31.
- Gutiérrez Bouzán, M. C., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Gutiérrez, MC; Droguet, M. "La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor". *Boletín Intexter*, julio 2002, núm. 122, p. 35-41. Disponible en <http://hdl.handle.net/2099/2733>
- Gutiérrez, M., Eunice, E., Lorenzo, L., Rodríguez-Malaver, A., Livia, P., & Vit, P. (2008). Caracterización de mieles de *Melipona beecheii* y *Melipona solani* de Guatemala. *Food Chemistry*, 117(1), 248-255.
- Herrera, J., León, L., Torres, Y., Cano, N., Herrera, A., & Cuenca, M. (2019). Evaluación y selección de levadura comercial para el proceso de fermentación alcohólica de hidromiel. *Publicaciones E Investigación*, 13(2), 23-30. <https://doi.org/10.22490/25394088.3651>
- Instituto Politécnico Nacional. (2022). *Estudio de los efectos de los polifenoles en la hidromiel* (Vol. 27, No. 3).
- Kawa-Rygielska, J., Adamenko, K., Kucharska, AZ y Szatkowska, K. (2019). Hidromiel de frutas y hierbas: composición química y propiedades antioxidantes. *Química de los Alimentos*, 283, 19-27.
- MathWorks Inc. (2024). MATLAB version: 23.2.0.2515942 (R2023b), Natick, Massachusetts: The MathWorks Inc. <https://www.mathworks.com>

- Milijaš, M., Cvetković, D., Savić, A., Velemir, A., Topalić-Trivunović, L. y Papuga, S. (2023). Efectos de la adición de diferentes cantidades de levadura y jugo de aronia en la fermentación del hidromiel. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 29 (2), 149-160.
- Mohamad, NR, Abdul Gani, SS, Abdul Wahab, R. y Darham, W. (2022). Antioxidante natural del extracto de hibisco sabdariffa: evaluaciones del rendimiento de extracción, la capacidad antioxidante y el contenido total de polifenoles de diferentes polaridades de extractos de solventes. *Journal of Smart Science and Technology*, 2 (2), 52-60.
- Molyneux, P. (2003). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
- OpenAI. (2024). ChatGPT (Versión Hidromiel) [Modelo de lenguaje de inteligencia artificial]. Recuperado de [<https://chatgpt.com/g/g-AXJq6ZPDd-hidromiel>]
- Pérez, J., & González, M. (2021). Análisis de la capacidad antioxidante en hidromieles de sabores. *Food Chemistry*, 340, 128093.
- Pino Pajuelo, J. E., & Chávez Ambrocio, L. C. (2014). Determinación de la capacidad antioxidante y vitamina c en el hidromiel elaborado con camu camu (*myrciaria dubia*) y aguaymanto (*physalis peruviana*).
- Rivera, L., & Hernández, S. (2020). Influencia del proceso de maduración en la actividad antioxidante de la hidromiel. *Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 4130-4140.
- Rodríguez O. E, Andrade, W. A & Diaz, F. E (2015) Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (*Papaveraceae*) Antioxidant activity of extracts from leaves of *Bocconia*. *Journal of Technology*, 14 (2), 21–36.
- Schmidt, M. (2024). *Refracto - Images*. GitHub repository. Retrieved from <https://github.com/m-schmidt/Refracto/tree/master/Images>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2018). La Miel en México. Atlas Nacional de las Abejas. https://atlasnacionaldelasabejasmx.github.io/abejas_apicultura.html
- Zúñiga Villalpando, B. A. (1991). Producción de ácido acético por *Acetobacter aceti*. Tesis de Maestría, Universidad de Guadalajara.