

## Obtención y caracterización de mieles deshidratadas por liofilización para uso tecnológico

Vallejos Omar, Rivero Roy, Archaina Diego, Busch Verónica, Sanguinetti Agustín, Sosa Natalia, Baldi Coronel Bertha

Autores: Facultad de Bromatología. Universidad Nacional de Entre Ríos. Perón 1154. Gualeguaychú. Entre Ríos. R. Argentina. Laboratorio de Investigaciones y Servicios de Productos Apícolas (LISPA), Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina  
Contacto: [bertha.baldi@uner.edu.ar](mailto:bertha.baldi@uner.edu.ar)

ARK: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s22504559/tnj9j1okk>

### Resumen

La miel es un endulzante natural generalmente viscoso. El Código Alimentario Argentino la define en su artículo 782 como el producto dulce elaborado por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas, que dichas abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenándolo en panales, donde madura hasta completar su formación. El objetivo de este trabajo consistió en obtener un producto deshidratado de alta calidad, a partir de miel de abejas, "miel deshidratada", y luego caracterizar mediante un estudio integrador sus propiedades. Se eligieron para el estudio mieles de eucalipto, citrus y pradera. En el proceso de liofilización se emplearon: miel (70%) y soportes como proteína de suero concentrada (WPC, de su sigla en inglés Whey Protein Concentrate) y Goma Arábiga (GA). Para estabilizar el producto en polvo se usaron tiempos y temperaturas de congelación combinadas a partir de las siguientes condiciones operativas: I) congelación: (-24°C); 48 hs, y luego (-80°C); 48 hs. II) liofilización: (-50°C); 48 hs, a una presión de 0,040 mbar. El polvo obtenido se caracterizó mediante un estudio integrador de sus propiedades físicas, funcionales y sensoriales. Los mismos presentaron una composición fisicoquímica dentro de los parámetros establecidos por el Código Alimentario Argentino y no se observaron diferencias significativas de acuerdo a su origen floral. Respecto a las propiedades funcionales, la miel de pradera presentó un contenido de polifenoles y una capacidad antirradicalaria significativamente superior a las demás, mientras que la miel de citrus presentó un contenido de flavonoides significativamente inferior. En conclusión las formulaciones obtenidas presentaron buenas propiedades fisicoquímicas, funcionales y sensoriales y podrían ser potencialmente utilizadas en la elaboración de productos que requieran el agregado de miel en su formulación, como un postre tipo flan.

**Palabras clave:** Miel en polvo, liofilización, polifenoles, capacidad antioxidante

## Objetivos propuestos y cumplidos

Objetivo general	Cumplidos	No cumplidos
Obtener un producto deshidratado de alta calidad, a partir de miel de abejas, "miel deshidratada", y caracterizarlo mediante un estudio integrador de sus propiedades físicas, funcionales y sensoriales.	x	
Objetivos Específicos		
Conocer la composición de compuestos bioactivos con propiedades funcionales de las mieles de abejas.	x	
Optimizar el proceso de liofilización de las mieles.	x	
Conocer las propiedades reológicas, funcionales y sensoriales del producto deshidratado.	x	Propiedades reológicas*.
Establecer condiciones óptimas para su almacenamiento, considerando los cambios físicos, funcionales y sensoriales.	x	
Conocer los atributos sensoriales finales del producto deshidratado y la aceptación del mismo por los consumidores.	x	

\*Por pandemia COVID-19.

## Marco teórico y metodológico

La producción argentina de productos apícolas ocupa los primeros lugares en el mercado internacional exportando casi la totalidad de lo que se produce, tratándose de miel obtenida de las abejas *Apis mellifera*. Nuestro país ocupa una posición predominante en la producción (más de 60.000 toneladas/año, SENASA, 2016) y en el mercado mundial de miel. Además, nuestro país cuenta con condiciones naturales que le otorgan la posibilidad de producir y comercializar distintos tipos de productos apícolas. Estas mieles pueden ser diferenciadas por su origen botánico (como miel de eucalipto, caa-tay, citrus, entre otras). Sin embargo, el consumo interno de miel es muy bajo y la producción se destina prácticamente en su totalidad (95%) al sector externo (Blenzino, 2014). Los productos de la colmena, principalmente miel y propóleos, poseen una gran variedad de compuestos polifenólicos en su composición, que hacen que la relación flavonoides-efecto biológico, los agrupe dentro de los productos bio-activos.

Actualmente el desarrollo de alimentos de altos valores nutritivos y/o beneficiosos para el organismo, y el uso de componentes naturales de los productos de la colmena (miel), es una de las principales tendencias de la industria alimentaria, que busca ofrecer productos innovadores para satisfacer las crecientes necesidades del consumidor.

En los últimos años ha crecido la investigación sobre el potencial antioxidante de distintos alimentos capaces de proteger a las células humanas de los efectos dañinos de la oxidación. La miel ocupa un papel preponderante por ser un alimento natural y su uso se ha extendido a un importante número de alimentos elaborados. Además, por su sabor es habitual encontrar la miel en alimentos en reemplazo de otros hidratos de carbono como la sacarosa lo que ofrece una alternativa real a la industria alimentaria.

La liofilización es una técnica muy efectiva en la preservación de componentes valiosos de los alimentos (Uddin y col., 2002). Michalczyk et al. (2009), observaron una alta retención de propiedades antioxidantes en frutas como frutillas, frambuesas y arándanos.

nos liofilizados y almacenados durante 10 meses. La liofilización de jugos o extractos de frutas se realiza con fines tales como obtención de colorantes y flavors naturales o de ingredientes para la formulación de alimentos con fines nutracéuticos (Stoner et al., 2007). Aplicado a la miel, constituirá una forma de obtener un producto concentrado en compuestos biológicos como compuestos fenólicos y vitaminas.

Un desafío a resolver para la aplicación efectiva de miel en las formulaciones alimentarias como ingrediente deshidratado, es justamente que a raíz de las características de su composición, la temperatura de transición vítrea es de  $-56\text{ }^{\circ}\text{C}$  y esto genera una gran tendencia al colapso estructural (Recondo y col., 2001; Ollet y Parker, 1990).

El uso de “miel en polvo” en formulaciones deshidratadas con el agregado de polímeros naturales de alto peso molecular, puede mejorar la estabilidad y disminuir el deterioro físico de estos sistemas, logrando la obtención de productos amorfos por secado spray o liofilización, aumentando la estabilidad de bioactivos y evitando el colapso estructural. Además permite el diseño de un ingrediente en polvo de fácil dosificación y aplicación en la industria.

En la actualidad, la industria alimentaria Argentina no posee muchas alternativas de reemplazo de azúcares tradicionales por azúcares naturales en estado seco, se pretende obtener un producto en polvo que sea un concentrado de componentes bioactivos y que aporte características antioxidantes, pudiéndose utilizarse en la elaboración de productos alimenticios.

El desarrollo de estos alimentos de altos valores nutritivos y/o beneficiosos para el organismo, y el uso de componentes naturales de los productos de la colmena (miel), es una de las alternativas importantes consideradas en la industria de los alimentos, que busca ofrecer productos innovadores para satisfacer las crecientes necesidades planteadas por los consumidores.

## Resultados

Se seleccionaron para el presente estudio tres tipos de mieles distintas cosecha 2018:

- Miel de Eucalipto (*Eucalyptus spp.*), donada por la Cooperativa Apícola Gualeguaychú.
- Miel de Pradera, proporcionada por un productor de Larroque, Entre Ríos.
- Miel de Cítricos (*Citrus spp.*), donada por la Cooperativa Apícola Gualeguaychú.

## Caracterización fisicoquímica de las mieles

### Color

El color superficial fue medido en una muestra de un (1) cm de espesor, utilizando un fotocolorímetro portátil Hunter Lab MiniScan EZ (Estados Unidos) empleando el iluminante D65 y un ángulo de observador  $2^{\circ}$ . Se registraron los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  del espacio CIELAB. A partir de los resultados obtenidos se calcularon las coordenadas cromáticas ( $x$ ;  $y$ ) y a través del diagrama CIE (1931), se obtuvieron las longitudes de onda características del color de cada muestra y se determinaron los valores de croma y opacidad.

En la **Tabla 1** se presentan los parámetros de color para las tres mieles analizadas. Los resultados se informaron como el promedio de 3 mediciones  $\pm$  la desviación es-

táandar. Todas las muestras presentaron un tono naranja amarillento; sin embargo, se pueden observar diferencias significativas dentro de esta tonalidad, dado que la miel de eucalipto es más oscura presentó valores de  $L^*$  y  $b^*$  significativamente menores respecto a las otras mieles estudiadas, indicando que esta miel es menos amarilla y más oscura. Por otra parte, se observó que la miel de pradera es más naranja, debido a que presentó un valor significativamente mayor en el parámetro de  $a^*$ . Por último se observó que la miel cítrica es más clara y amarilla dado que los parámetros  $L^*$  y  $b^*$  son significativamente mayor a la de eucalipto. De acuerdo a lo establecido por otros autores, las diferencias observadas en los parámetros de color de distintas mieles se pueden relacionar con su origen botánico (Zapotoczny y col., 2010; Tahir y col., 2015).

**Tabla 1.** Parámetros de color de las mieles

Miel		Eucalipto	Pradera	Cítrico
CIE-lab	$L^*$	19,08 ± 0,46 <sup>a</sup>	21,86 ± 0,02 <sup>b</sup>	23,28 ± 0,07 <sup>c</sup>
	$a^*$	7,20 ± 0,48 <sup>a</sup>	9,02 ± 0,10 <sup>b</sup>	6,71 ± 0,18 <sup>a</sup>
	$b^*$	25,58 ± 2,05 <sup>a</sup>	32,07 ± 0,25 <sup>b</sup>	30,25 ± 1,70 <sup>b</sup>
Croma		26,57 ± 2,53 <sup>a</sup>	33,31 ± 0,22 <sup>b</sup>	30,98 ± 1,69 <sup>b</sup>
Opacidad		2,71 ± 0,286 <sup>a</sup>	5,02 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,52 ± 0,01 <sup>a</sup>

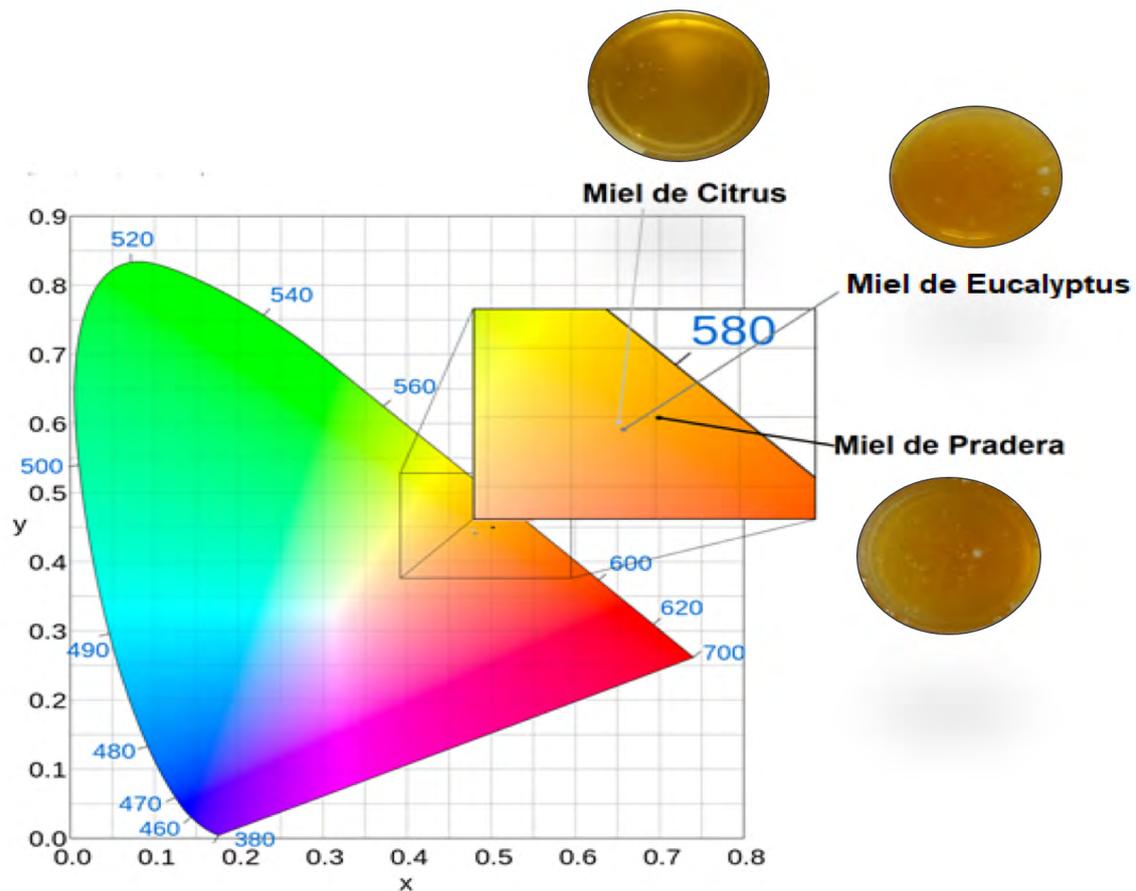
\*Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para condiciones de medición iguales.

A partir de los parámetros de color del diagrama  $L^* a^* y b^*$ , se determinaron las coordenadas cromáticas ( $x; y$ ) de cada miel que se presentan a continuación en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Coordenadas cromáticas obtenidas para las mieles

Miel	Coordenadas cromáticas		
	x	Y	$\lambda$ nm
Eucalipto	0,480	0,439	582
Pradera	0,501	0,448	583
Crítico	0,476	0,445	581

A continuación en la **Figura 1**, se efectuó la representación gráfica en el diagrama CIE donde podemos comprobar las diferencias de colores obtenidas en las muestras estudiadas, permitiendo conocer cómo afecta el color al producto final y seleccionar la materia prima más adecuada a los fines tecnológicos perseguidos.



**Figura 1:** Diagrama de cromaticidades. Gráfica de las coordenadas cromáticas de cada miel.

### Sólidos solubles, humedad y actividad de agua

El contenido de sólidos solubles se determinó utilizando un refractómetro Hanna HI96801 (Romania) y los resultados se expresaron en °Brix. La humedad se determinó de manera indirecta a partir del índice de refracción. La actividad del agua ( $a_w$ ) se determinó con un Rotronic HygroLab 2 (Rotronic AG, Bassersdorf, Suiza). En la **Tabla 3** se presentan los valores obtenidos de las mediciones fisicoquímicas para las mieles estudiadas.

**Tabla 3:** Parámetros fisicoquímicos de las diferentes mieles

Determinaciones	Eucalipto	Pradera	Cítrico
Sólidos solubles (°Brix)	81,8±0,1 <sup>a</sup>	82,6±0,4 <sup>b</sup>	80,5±0,3 <sup>c</sup>
Humedad (g agua/100 g muestra)	17,7±0,1 <sup>b</sup>	17,3±0,2 <sup>a</sup>	17,1±0,1 <sup>a</sup>
$a_w$ a 25°C	0,696±0,003 <sup>a</sup>	0,554±0,003 <sup>b</sup>	0,521±0,003 <sup>c</sup>

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El conocimiento de estos parámetros es importante porque permite establecer las condiciones operativas con que se van a realizar los procesos tecnológicos de deshidratación posteriores.

Algunos autores observaron que la humedad y la actividad de agua dependen del origen botánico e influyen sobre la viscosidad y la velocidad de cristalización que pueden relacionarse también con atributos sensoriales (Escudero y col., 2013; Da Silva y col., 2016).

Desde el punto de vista legal, todas las mieles cumplen con lo establecido por el Código Alimentario Argentino (CAA) (Artículo 783 - (Res 2256, 16.12.85) respecto a la humedad (< 18,0 %). Este parámetro es importante porque determina la buena conservación de la miel y está relacionado con la correcta madurez de la misma en la colmena (Baldi Coronel, 2010).

En cuanto a la  $a_w$ , el rango normal para la miel es entre 0,5- 0,6 (Baldi Coronel, 2010). Según los resultados obtenidos la miel de eucalipto presentó una actividad de agua algo mayor, sin embargo cumple con la humedad según el CAA. Una actividad de agua mayor podría estar relacionada con otros factores ajenos a la colmena, como el clima y/o la zona geográfica.

### Acidez

La misma se determinó según la metodología propuesta por la norma AOAC 962.19 y los resultados se expresaron como meq/kg miel. En la **Tabla 4** se presentan los resultados obtenidos, observándose que todas las mieles analizadas cumplen con el máximo estipulado por el CAA en cuanto a acidez (40 meq/kg miel). Esto también influye positivamente en la estabilidad y en las características sensoriales de los productos obtenidos tecnológicamente. La acidez láctica está relacionada con una defensa de la colmena (Baldi Coronel, 2010).

**Tabla 4:** Acidez en las mieles

Miel	Acidez en meq/kg miel		
	Libre	Láctica	Total
Eucalipto	32,8 ± 0,9 <sup>a</sup>	7,0 ± 2,6 <sup>b</sup>	39,8 ± 3,5 <sup>c</sup>
Pradera	39,2 ± 1,2 <sup>a</sup>	4,1 ± 1,4 <sup>b</sup>	52,2 ± 0,1 <sup>c</sup>
Cítrico	27,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	4,1 ± 1,4 <sup>b</sup>	31,1 ± 1,2 <sup>c</sup>

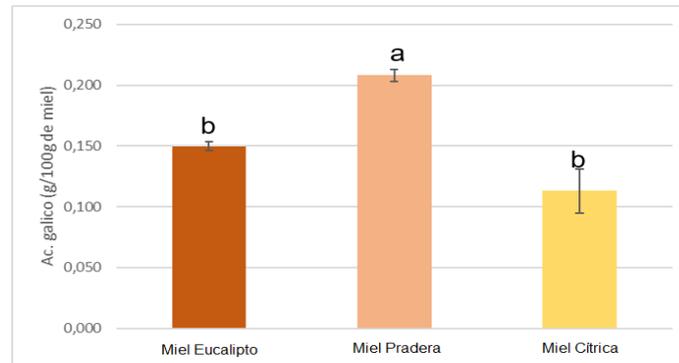
Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

### Caracterización funcional de las mieles

#### Contenido de polifenoles

Se determinó usando el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y col. (1999), con algunas modificaciones. Se tomó una alícuota de 0,100 ml de la solución preparada en el punto 1-2.1, se mezcló con 0,900 ml de agua, 0,100 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu y 0,600 ml de carbonato de sodio al 20 % en NaOH 0,1 N. Luego de incubarse durante 30 min a 40°C se midió la absorbancia a 765 nm. Para construir la curva de calibración se usaron soluciones de ácido gálico entre 0,705-0,3 mg/ml ( $r^2 = 0,990$ ). Los resultados se expresaron como g de ácido gálico por 100 g de miel.

En la **Figura 2** se muestran los contenidos de polifenoles de las mieles analizadas, observándose que las de pradera son las que presentan valores significativamente mayores. Estos contenidos son superiores a los reportados por Meda y col. (2005) para mieles de pradera provenientes de Burkina Faso (0,032-0,093 g de ácido gálico/100 g).



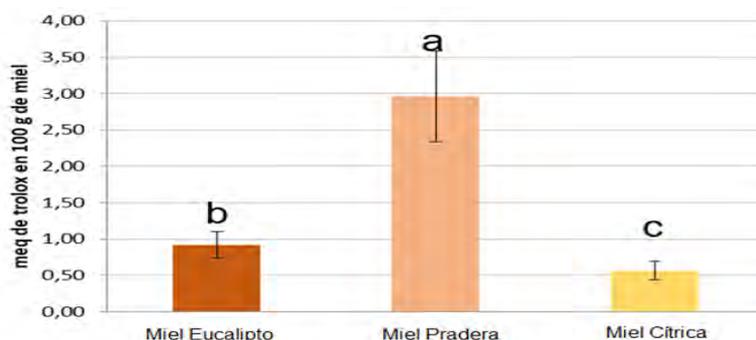
**Figura 2:** Contenido de polifenoles en mieles

Letras diferentes en las barras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

### Actividad antirradicalaria

Se empleó el Método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) descrito en Vit y col. (2009). A una alícuota (dilución 1/100) de 0,1 ml de cada miel se le agregó 1,9 ml de ABTS previamente preparado en buffer fosfato pH 7,4 de concentración 7 mM con persulfato de potasio 2,45 mM. A las soluciones obtenidas se les midió la absorbancia ( $t_0$ ) y luego se incubaron durante 30 minutos ( $t_{30}$ ) a 25°C y se leyó nuevamente la absorbancia a 734 nm. Se utilizó una solución de Trolox 4 mM (1mg/ml), para construir una curva de calibración de concentraciones entre 0,02-0,12 mg/ml ( $r^2$ : 0,988). Los resultados se expresaron como meq Trolox/100 g de miel. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se informaron como el promedio  $\pm$  la desviación estándar.

En la **Figura 3** se observan los resultados promedio obtenidos de la determinación para las mieles.



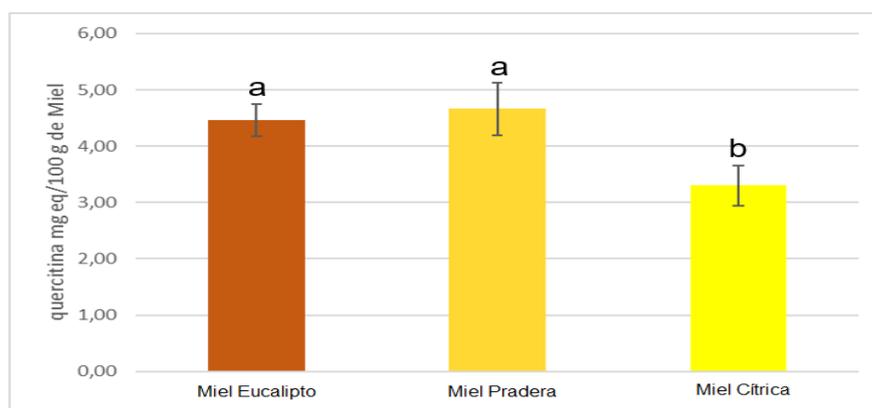
**Figura 3:** Actividad antirradicalaria en mieles

Letras diferentes en las barras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Se observó que todas mostraron capacidad antirradicalaria frente al ABTS. Nuevamente la miel de Pradera mostró la mayor bioactividad. Algunos autores observaron correlación positiva entre la capacidad antirradicalaria y el contenido de polifenoles totales (Meda y col., 2005).

### Contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides totales se determinó según el método de Woisky y Salatino (1998) utilizando una solución de cloruro de aluminio al 2% (p/v) en etanol al 95% (v/v). Los resultados se expresaron como mg de quercetina/100 g de miel (**Figura 4**).



**Figura 4:** Contenido de flavonoides en las tres mieles. Letras diferentes en las barras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Las mieles analizadas mostraron alto contenido de flavonoides en los tres casos comparables con los informados por Meda y col. (2005) en un rango entre 0,17-8,35 y un valor promedio de 2,6 mg de quercetina/100 g de miel. Es importante destacar que el contenido de flavonoides para la miel de Eucalipto es similar al de la miel de pradera. Para todos los parámetros estudiados relacionados a la capacidad antioxidante (polifenoles, flavonoides y capacidad antirradicalaria) la miel cítrica reportó valores menores. Estos resultados se corresponden bien con una miel de color claro (mayor L\*) según lo analizado anteriormente.

### Cálculo de correlaciones

En estadística, el coeficiente de correlación de Pearson es una medida lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas e independiente de la escala de medida de las variables. Se utiliza para medir el grado de relación de dos variables siempre y cuando ambas sean cuantitativas y continuas.

El coeficiente de correlación de Pearson viene definido por la siguiente expresión (**Ecuación 1**).

$$r_{xy} = \frac{\sum Z_x Z_y}{N} \quad \text{Ec. 1}$$

El coeficiente de correlación de Pearson hace referencia a la media de los productos cruzados de las puntuaciones estandarizadas de X y de Y. Esta fórmula reúne algunas propiedades que la hacen preferible a otras. Al operar con puntuaciones estandarizadas es un índice libre de escala de medida.

Por otro lado, su valor oscila en términos absolutos entre 0 y 1.

- Si  $r_{xy} = 1$ , existe una correlación positiva perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables denominada relación directa: cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en proporción constante.
- Si  $0 < r < 1$ , existe una correlación positiva.
- Si  $r = 0$ , no existe relación lineal.

En la **Tabla 5** se pueden observar los valores de correlación obtenidos entre la capacidad antirradicalaria (TEAC) y el contenido de polifenoles y flavonoides.

**Tabla 5:** Capacidad antioxidante

	TEAC
Polifenoles	0,967
Flavonoides	0,717

Se observó una buena correlación entre la capacidad antirradicalaria y el contenido de polifenoles (0,967) y de flavonoides (0,717). Otros autores también reportaron correlaciones positivas entre el contenido de polifenoles, la capacidad antirradicalaria, y el contenido de flavonoides (Paixao y col., 2007; Kim y col., 2007).

### Origen botánico de las mieles: análisis melisopalinológico

Esta determinación se realizó según el Método de Louveaux, Maurizio y Worwohl (1978). Esta metodología fue normalizada por la International Commission for Bee Botany ICBB y adoptada como oficial por nuestra legislación alimentaria y la Norma Mercosur. Se basa en el examen microscópico del sedimento de una solución de miel, obtenido por centrifugación.

Se trabajó en el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, con la colaboración de la Dra. Alicia M. Basilio.

Los parámetros evaluados para la identificación del grano de polen son: forma, tamaño, polaridad, simetría, elementos esculturales y estructurales de la esporodermis, aberturas, etc.

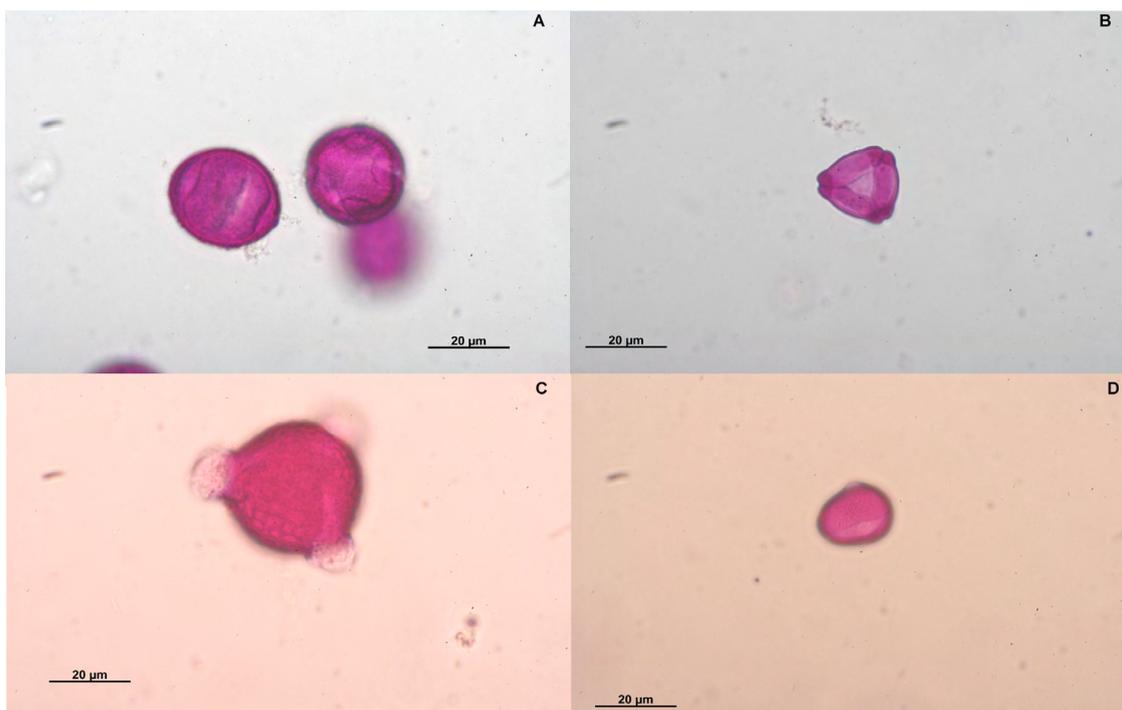
Los resultados se expresan en porcentaje, y se clasifican de acuerdo a lo establecido por la Comisión Internacional de Botánica (ICBB) en:

D: Polen dominante: más de 45 % de polen de una misma especie.

S: Polen secundario: entre el 16-45 %.

s: Polen minoritario importante: entre 3-16 %.

r: Polen minoritario: menos de 3 %.



**Figura 5:** Resultados fotográficos del análisis melisopalínológico. **(A)** Polen de *Citrus spp.*; **(B)** Polen de *Eucalyptus spp.*; **(C)** Polen de *Trifolium spp.*; **(D)** Polen de *Echium Spp.*

A través del análisis botánico, se comprobó el origen floral de las mieles estudiadas (**Tablas 6, 7, y 8**). Los tres tipos de mieles son de cosecha habitual en la Provincia de Entre Ríos, y existe disponibilidad en la zona para su uso tecnológico, por ejemplo, liofilizada, como se pretende en el presente proyecto.

**Tabla 6: Miel de Citrus**

Fam. Rutaceae, Citrus sp.	56,4%
Fam. Myrtaceae (incluye Eucalyptus)	14,0%
Fam. Boraginaceae, Echium sp.	10,6%
Fam. Fabaceae, Lotus sp.	4,4%
Fam. Fabaceae, Trifolium sp.	4,2%
Fam. Asteraceae (2 gen. indet.)	3,9%
Otras	6,4%

**Tabla 7: Miel de Eucalyptus**

Fam. Myrtaceae (incluye Eucalyptus)	68,7%
Fam. Fabaceae, Lotus sp.	15,5%
Fam. Boraginaceae, Echium sp.	3,6%
Fam. Asteraceae (2 gen. indet.)	3,8%
Otras (6 tipos)	8,4%

**Tabla 8: Miel de pradera**

Fam. Fabaceae, Lotus sp.	73,0%
Fam. Fabaceae, Trifolium sp.	15,1%

Fam. Boraginaceae, Echiium sp.	8,0%
Fam. Apiaceae, (género indet.)	1,7%
Fam. Myrtaceae, (género indet.)	1,2%
Otras (2 tipos)	0,9%

### Perfil de flavonoides por Cromatografía Líquida de Alta Resolución

Se utilizó un cromatógrafo HPLC Waters Binario Modelo 1525 con detector de arreglo de diodos Waters Modelo 2996, columna de fase reversa 5  $\mu\text{m}$  C18 250 x 4,6 mm. Las condiciones cromatográficas de trabajo fueron: Flujo: 1,0 ml/min. Volumen de inyección: de 20  $\mu\text{l}$ . Temperatura del horno: 30°C  $\pm$  0,5°C. Longitud de onda: 270 nm. Tiempo de corrida: 86 minutos. El gradiente empleado se presenta en la **Tabla 9**.

**Tabla 9:** Gradiente utilizado para la determinación de flavonoides

Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	Bomba A Acetonitrilo (%)	Bomba B Ac. Fosfórico (1%) (%)
0	1,00	5	95
5	1,00	5	95
15	1,00	25	75
60	1,00	25	75
70	1,00	5	95
72	1,00	5	95

### Identificación de los patrones de los diferentes flavonoides estudiados

Se realizó una identificación individual de cada uno de los flavonoides empleados como patrones teniendo en cuenta su tiempo de retención y su espectro de absorción. En la **Tabla 10** se muestran los tiempos de retención obtenidos para cada uno de ellos.

**Tabla 10:** Tiempo de retención de los patrones empleados

Flavonoides	Pureza STD (%)	Tiempo Retención (min)
Ác. Protocatéquico	90	16,12
Ác. Clorogénico	99	14,62
Ác. Caféico	90	20,41
Ác. Vainillínico	100	19,64
Ác. Cumárico	98	22,99
Ác. Ferúlico	90	24,60
Ác. Sinápico	100	36,12
Ác. Benzoico	100	26,46
Ác. Hidroxibenzoico	-	17,84
Ac. Elágico	90	24,24
Ác. Cinámico	99	41,35
Quercetina	99	55,21

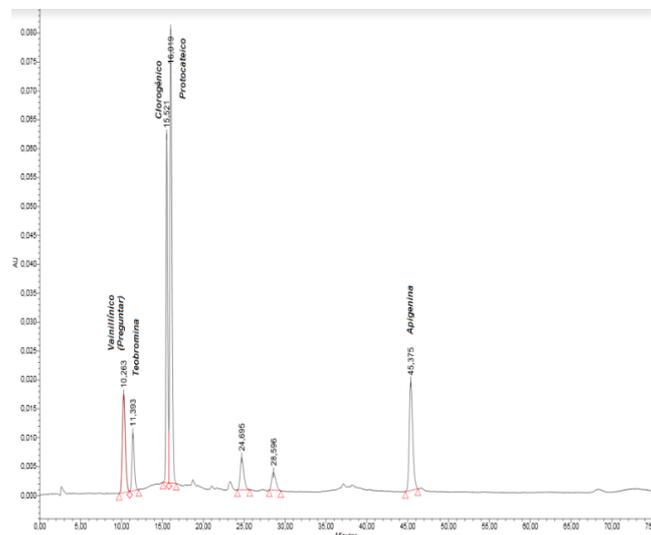
Kaempferol	99	49,93
Apigenina	99	46,61
Pinocembrina	95	68,55
Galangina	99	22,33
Teobromina	-	12,00

Debido a que varios de los patrones presentan tiempos de retención similares, se realizaron dos pools constituidos por diferentes patrones para observar la interacción entre ellos.

Pool 1: ac. vainillínico; ac. clorogénico; ac. protocatéquico y apigenina

Pool 2: ac. hidroxibenzoico; ac. caféico; ac. cumárico; ac. sinápico; ac. elágico; ac. cinámico; quercetina y kaempferol.

Las **Figuras 6 y 7** muestran los cromatogramas obtenidos para el pool 1 y 2 respectivamente. Se pudo observar que si bien se logró identificar correctamente la mayoría de los patrones estudiados, la interacción entre los mismos produjo un corrimiento de los tiempos de retención respecto de los obtenidos para cada patrón individual. Para aplicar el proceso de liofilización se trabajó con la miel de pradera. Se muestra en la **Figura 8** los compuestos fenólicos identificados: teobromina y los ácidos clorogénico, cumárico y cafeico, los que se encuentran en las siguientes concentraciones: Teobromina: 8,1 mg/kg, ac. Clorogénico: 25,0 mg/kg, ac. Cafeico: 10,8 mg/kg y ac. Cumárico: 6,9 mg/kg. La presencia de ácido cumárico ha sido reportada por Vivar Quintana y col. (1999), en mieles de argentina con alto contenido de polen de *Lotus sp.* como el caso de la miel de pradera.



**Figura 6:** Cromatograma obtenido para el pool 1

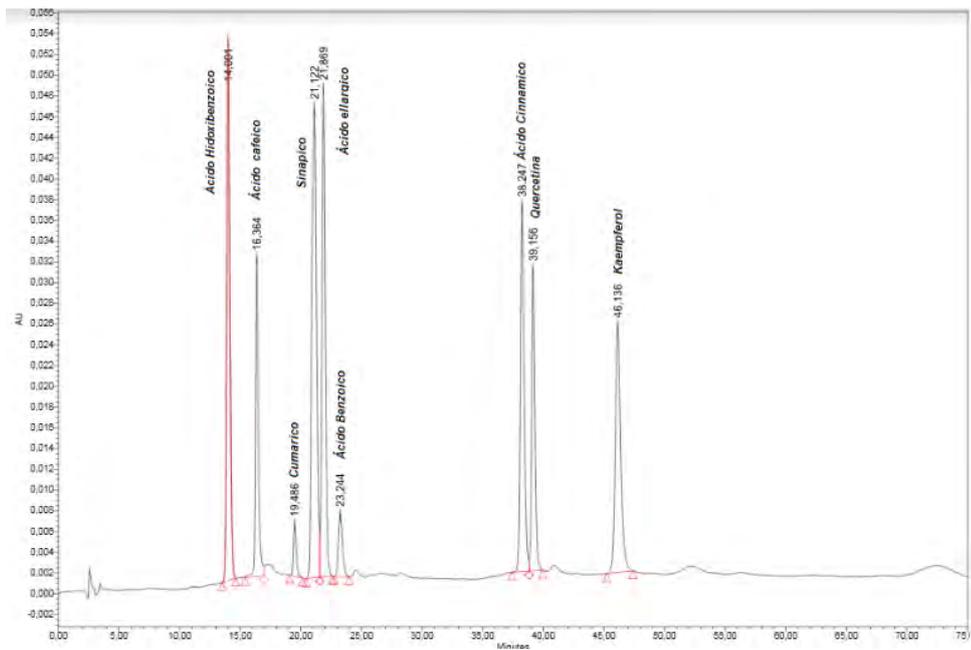


Figura 7: Cromatograma obtenido para el pool 2

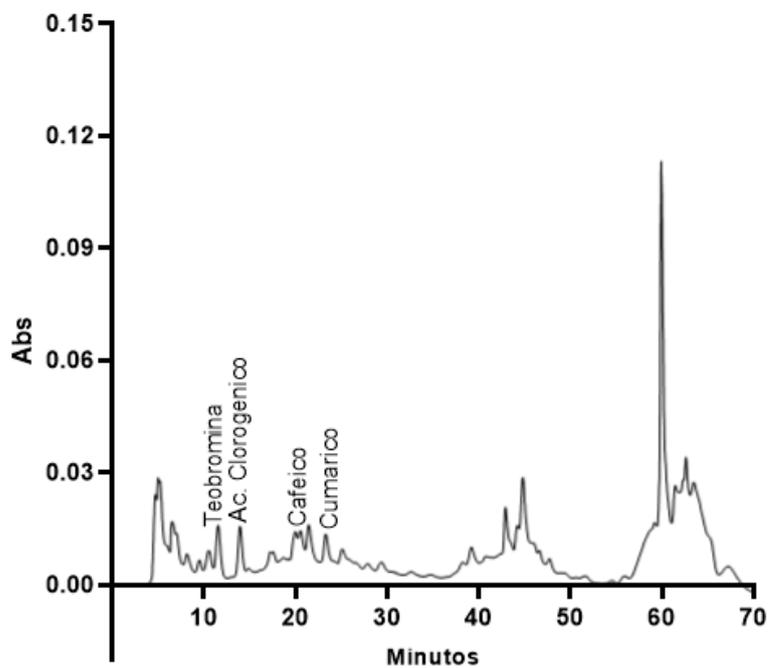


Figura 8: Composición de compuestos fenólicos en la muestra analizada.

### Obtención de miel deshidratada por liofilización

En esta etapa se procedió a la optimización del proceso de obtención de miel de pradera deshidratada por liofilización. En el proceso de liofilización se emplearon:

miel (70%) y soportes como proteína de suero concentrada (WPC, de su sigla en inglés Whey Protein Concentrate), maltodextrina y Goma Arábiga (GA).

### Selección de las matrices y determinación de las variables para la liofilización

La miel es un producto que presenta alta concentración de azúcar y de carácter muy higroscópico, por esta razón no se puede liofilizar sin ningún tipo de matriz soporte que logre estabilizar el polvo obtenido. Por este motivo se estudió la influencia de tres posibles matrices y sus combinaciones, sobre la efectividad de liofilización de los productos en polvo. La goma arábiga (GA) maltodextrina (MD) y proteína de suero concentrada (WPC) fueron las matrices elegidas a partir de la búsqueda bibliográfica, estas se mezclaron en diferentes proporciones con la miel, obteniendo formulaciones de prueba para el estudio del proceso de liofilización. Estas mezclas se aprecian en la **Tabla 11**.

**Tabla 11:** Composición de las formulaciones de prueba

Formulación	Agua (g)	Miel (g)	WPC (g)	MD (g)	GA (g)
F-1	6	14	6	0	0
F-2	6	14	0,2	5,8	0
F-3	6	14	0	6	0
F-4	6	14	0,2	0	5,8
F-5	6	14	0	0	6
F-6	6	14	0	3	3

Además, conocer los tiempos y temperaturas adecuados para lograr un producto completamente congelado sin zonas eutécticas es algo primordial para el proceso de liofilización. Esto es algo difícil de conseguir en productos con un alto contenido de azúcares como lo es la miel, por este motivo se variaron los tiempos y temperaturas de congelación para lograr un proceso de liofilización satisfactorio.

Se probaron tres procesos:

Proceso 1: Se mantuvo a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 48 hs y se liofilizó.

Proceso 2: Se mantuvo a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante 48 hs y se liofilizó.

Proceso 3: Se mantuvo a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 48 hs, posteriormente a las muestras congeladas se les aplicó el proceso 2.

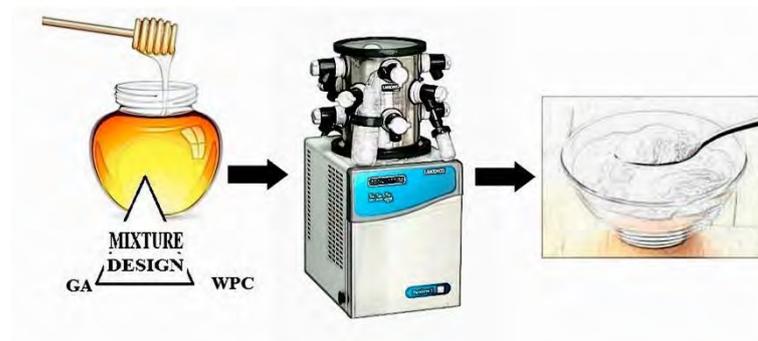
Para la obtención de los polvos se utilizó un liofilizador Labconco, en principio se habían planteado dos tiempos de liofilización, pero se observó que en todos los casos con 24 hs no alcanzaba para la completa sublimación del agua.

Por esta razón se unificó el tiempo de liofilización en 48hs y se realizó a  $-50^{\circ}\text{C}$  y a 0,032 atm. En la **Figura 9** se aprecia la liofilización mediante el proceso 3 de la F5.



**Figura 9:** Formulación de prueba F5 durante el proceso de liofilización.

Los mejores resultados en cuanto al proceso de liofilización se vieron con el proceso 3, que fue el que permitió la completa liofilización de la mayoría de las formulaciones de prueba. En cuanto a estas formulaciones las F3 y F6 fueron descartadas por su alta inestabilidad ya que se hidrataron casi de inmediato, al resto de las formulaciones se las evaluó en ciertas características fisicoquímicas para determinar qué matriz o combinación de ellas eran las adecuadas para utilizar en el diseño de mezclas para la obtención de los polvos finales.



**Figura 10:** proceso de liofilización. (Rivero R. y col. 2021)

### Formulaciones de prueba: evaluación fisicoquímica

Para la comparación entre las formulaciones se determinaron tres variables fisicoquímicas:

1. Actividad de agua ( $a_w$ ): se determinó con un Rotronic HygroLab 2 (Rotronic AG, Bassersdorf, Suiza).
2. Humedad: se empleó el método indirecto por secado en estufa a 110 °C, los resultados se expresaron como g de agua cada 100 g muestra.
3. Higroscopicidad: se determinó como la ganancia de peso relativo de las muestras expuestas a una atmósfera de 75%HR a 20°C, los resultados se expresaron como g de agua cada 100 g muestra.

En la **Tabla 12** se presentan los valores obtenidos de las cuatro formulaciones de pruebas estudiadas.

**Tabla 12:** Valores de  $a_w$ , humedad e higroscopicidad que se emplearon en la comparación entre las formulaciones.

Formulación	$a_w$	Humedad	Higroscopicidad
F-1	0,260±0,002 <sup>a</sup>	5,91±0,81 <sup>a</sup>	1,26±0,08 <sup>a</sup>
F-2	0,297±0,001 <sup>b</sup>	8,49±0,15 <sup>b</sup>	1,30±0,11 <sup>a</sup>
F-4	0,268±0,002 <sup>c</sup>	5,40±0,45 <sup>a</sup>	1,12±0,09 <sup>a</sup>
F-5	0,265±0,003 <sup>ac</sup>	5,80±0,41 <sup>a</sup>	1,19±0,12 <sup>a</sup>

Para las cuatro formulaciones se obtuvieron valores esperados para productos en polvo liofilizados. No presentaron diferencias significativas en la higroscopicidad de las muestras, pero en los valores de  $a_w$  y humedad las diferencias sí fueron significativas, en particular se debe destacar que la F2 presentó valores mayores al resto de las formulaciones.

Considerando estos resultados y teniendo en cuenta que las formulaciones descartadas por su baja estabilidad fueron aquellas que en su formulación se usó maltodextrina, se decidió usar la GA y la WPC como matrices en la obtención de los polvos por medio del diseño de mezclas.

### Optimización de la mezcla por la Metodología de Superficie de Respuesta

Se realizó un diseño experimental de mezclas D-optimal, utilizando Design Expert 7.0, con 3 ingredientes: miel de pradera (60-80%), WPC (0-40%) y GA (0-40%).

Para la obtención de los polvos se utilizó un liofilizador Labconco, se mezclaron las cantidades de miel, WPC y GA con el agua y luego se congeló siguiendo el proceso 3.

La liofilización se realizó a  $-50^{\circ}\text{C}$  y a 0,032 atm, por 48 hs.

Los parámetros de respuesta utilizados fueron fisicoquímicos (higroscopicidad, solubilidad, cohesividad), sensorialmente se evaluó la (aceptabilidad global).

La higroscopicidad se determinó mediante el método propuesto por Swaminathan y col. (2015) con algunas modificaciones. Se pesó 1,00 g de polvo de miel en un recipiente apropiado para asegurar una alta superficie de contacto entre el aire humidificado y el polvo. Se colocó la placa de Petri en un desecador con una solución saturada de NaCl (75 % HR) a  $25^{\circ}\text{C}$ . Las muestras fueron pesadas durante 2 días, y la higroscopicidad se expresa como gramos de agua absorbida por 100 gramos de muestra.

La solubilidad se determinó mediante el método propuesto por (Cano-Chauca y col., 2005) con algunas modificaciones. Se hidrata 0,5 g del polvo correspondiente en 50 ml de agua destilada agitando velozmente durante 5 min. El jugo reconstituido se centrifugó a 3000 rpm. Luego, 25 ml del sobrenadante fueron transferidos a una cápsula de vidrio y se secó en una estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  hasta peso constante. La solubilidad (%) se calculó por diferencia de peso.

La densidad aparente ( $\rho_A$ ) y la densidad compactada ( $\rho_C$ ) se determinaron utilizando el método propuesto por Swaminathan y col. (2015). La  $\rho_A$  se determinó midiendo el volumen ocupado por 1,00 g de muestra, utilizando una probeta graduada de 10 ml. Posteriormente, la probeta se agitó en un vórtex y se midió nuevamente el volumen para determinar la  $\rho_C$ . En ambos casos, se calculó la relación masa/volumen y los resultados se expresaron en g/ml.

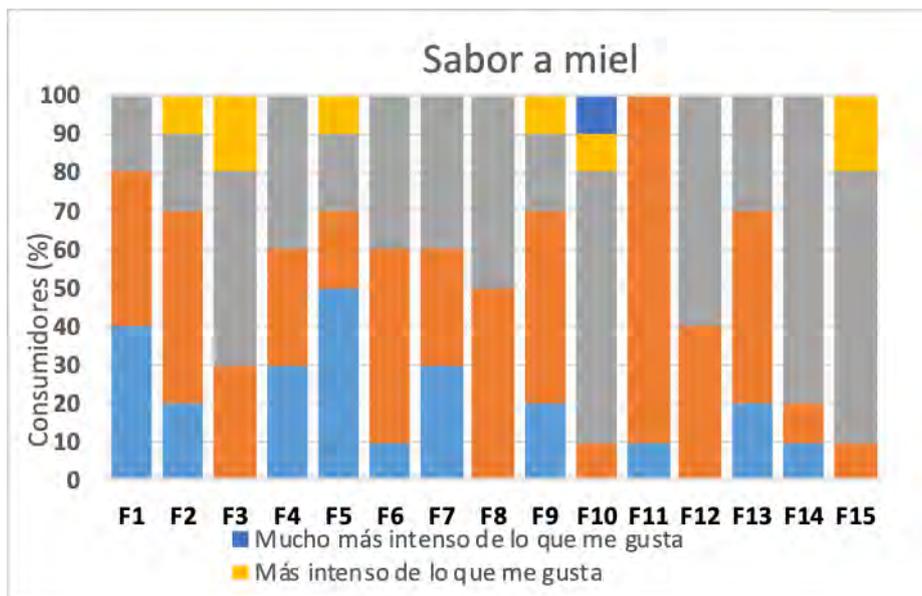
La cohesividad se puede expresar con la ecuación 1, a través de la relación de Hausner (RH) considerando la escala propuesta por Jinapong y col. (2008):

$R_H < 1,2$ , bajo;       $R_H$  entre 1,2 – 1,5, intermedio;       $R_H > 1,5$  alto.

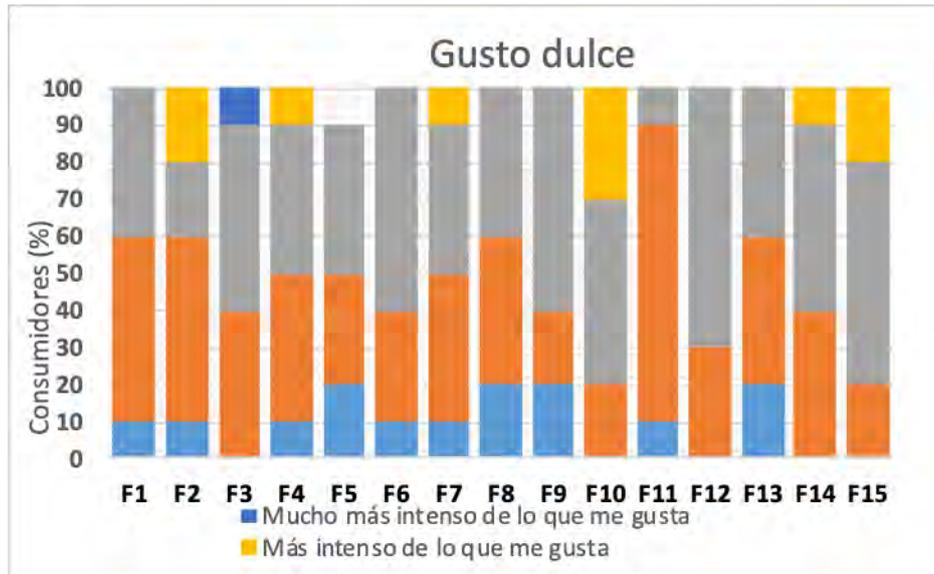
Ecuación 1: 
$$R_H = \frac{\rho C}{\rho A}$$

Donde  $R_H$  es relación de Hausner,  $\rho C$  es densidad compactada y  $\rho A$  es la densidad aparente.

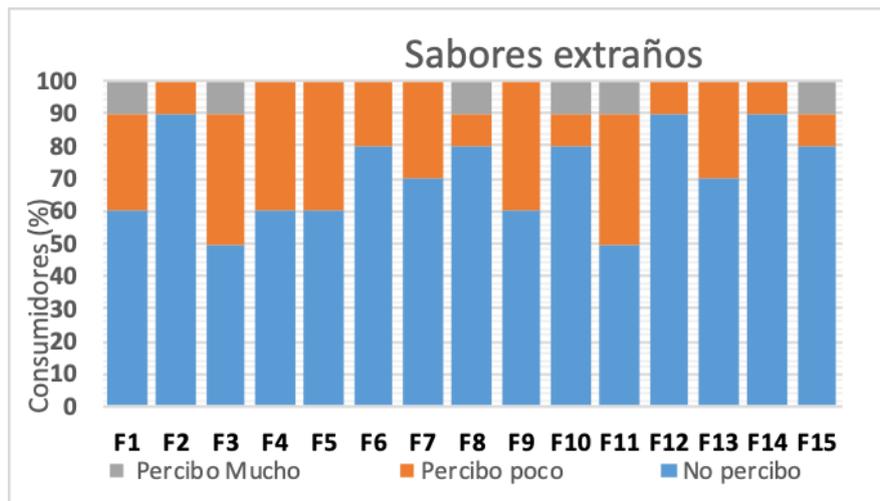
**Aceptabilidad global:** para ello se realizó una prueba sensorial con un panel interno constituido por diez personas, cada evaluador recibió 5 muestras en tres etapas diferentes. Se evaluaron atributos sensoriales en particular como: "sabor a miel", "gusto dulce" y "sabores extraños" usando una escala estructurada hedónica de 7 niveles: "Me disgusta mucho", "Me disgusta", "Me disgusta levemente", "No me gusta ni me disgusta", "Me gusta levemente", "Me gusta", "Me gusta mucho". Los resultados se presentan en las **Figuras 11 A, B, C**, y la aceptabilidad global en la **Figura 12**. Por último los resultados de la aceptabilidad global se calcularon considerando las respuestas de todos los evaluadores para cada atributo particular, asignando valores positivos a las categorías de agrado, negativo a las categorías de desagrado y cero a "No me gusta ni me disgusta". (**Tabla 13**).



**Figura 11 A:** Evaluación sensorial del sabor.



**Figura 11 B:** Evaluación sensorial del gusto



**Figura 11 C:** Evaluación sensorial de la presencia de sabores extraños.

La Figura 12 muestra los resultados de satisfacción global. Se puede observar que las formulaciones con mayor contenido de miel presentan mayores valores de aceptabilidad global. Además, al comparar los materiales de soporte, se observó que altos contenidos de WPC impactan negativamente en la aceptabilidad del producto, probablemente debido al sabor característico (suero lácteo) que le aporta a las formulaciones.

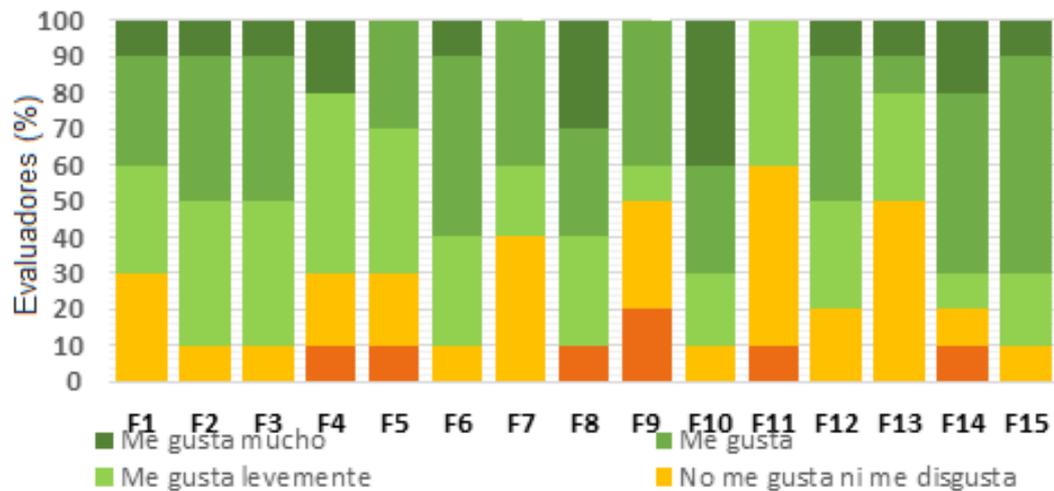


Figura 12: Evaluación sensorial del grado de satisfacción global por parte de los evaluadores del panel interno

En la **Tabla 13** se presentan cada una de las formulaciones propuestas por el diseño de mezclas y las variables respuesta medidas.

Tabla 13: Formulaciones propuestas por el diseño de mezclas y variables respuestas medidas.

Form.	Miel (%)	GA (%)	WPC (%)	Higroscopicidad (g agua/100 g polvo)	Solubilidad (%)	Cohesividad	Aceptabilidad global
1	70	11	19	8,1	88,2	1,1	325
2	69	16	16	7,6	85,0	1,2	400
3	60	40	0	6,2	96,6	1,2	400
4	63	26	11	6,8	87,9	1,1	200
5	60	15	25	5,1	77,8	1,2	225
6	69	16	16	5,8	94,7	1,1	400
7	60	0	40	4,6	79,9	1,2	250
8	69	16	16	4,6	84,0	1,2	450
9	70	0	30	4,7	96,0	1,0	175
10	80	20	0	5,0	81,9	1,1	600
11	60	40	0	5,2	85,5	1,1	75
12	80	0	20	4,3	85,5	1,1	375
13	60	0	40	4,2	79,0	1,1	225
14	80	9	11	4,7	71,3	1,1	450
15	80	20	0	6,6	89,9	1,1	450

A partir de las variables respuestas, se determinó obtener 3 formulaciones óptimas, una donde se priorice las características fisicoquímicas esperadas para un polvo estable (POFQ), otra donde se dé más importancia a las características sensoriales del pro-

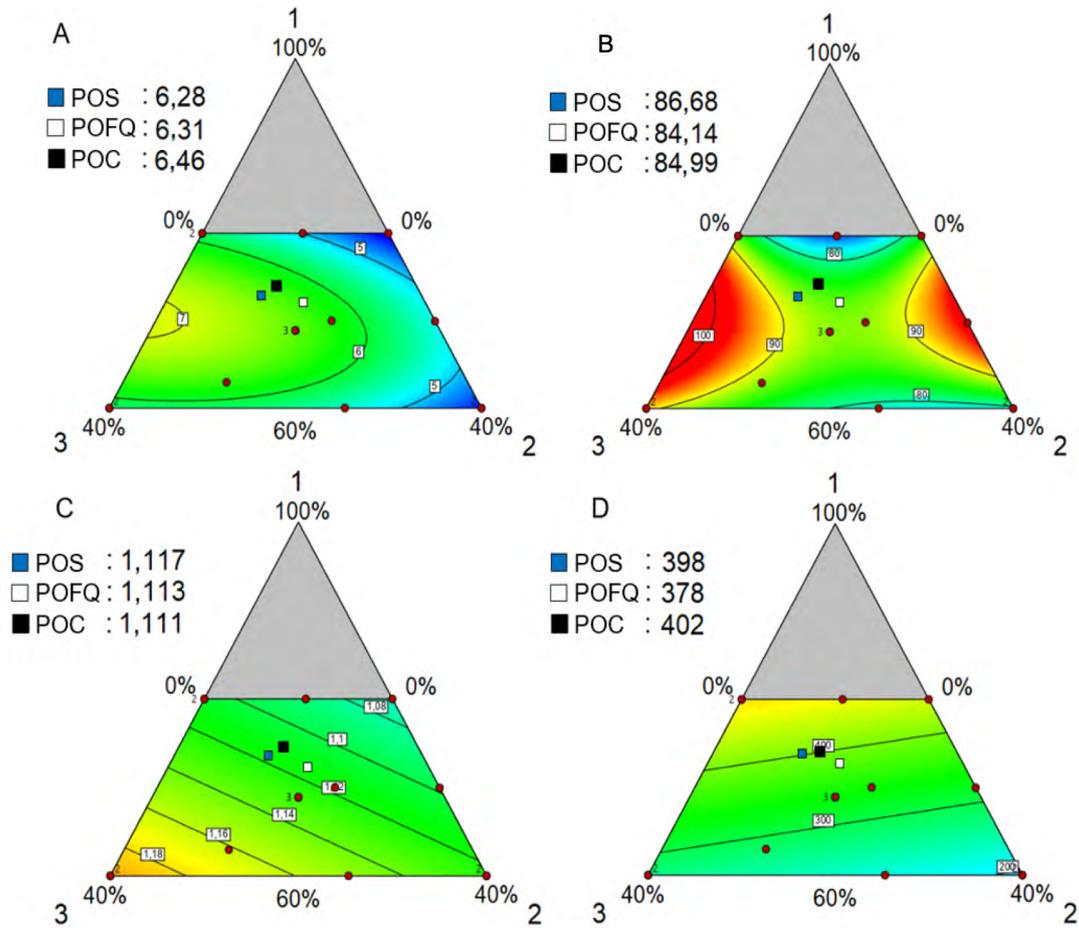
ducto (POS) y una en que ambas estén en igual condición de importancia (POC). A su vez se plantearon determinados criterios para la obtención de los óptimos, los cuales se muestran en la y en **Tabla 14** la **Figura 13** se presentan las representaciones gráficas de las optimizaciones.

En la **figura 15** se aprecia como resulta el polvo a base de miel luego del proceso de liofilización y molturación.

**Tabla 14:** Criterios para la obtención de polvos óptimos

Parámetro	Optimización fisicoquímica (POFQ)		Optimización sensorial (POS)		Optimización mezcla (MOP)	
	Objetivo	Importancia	Objetivo	Importancia	Objetivo	Importancia
Miel	Maximizar	+++++	Maximizar	+++++	Maximizar	+++++
Goma arábica	Maximizar	++++	Maximizar	++++	Maximizar	++++
WPC	Maximizar	++++	Maximizar	++++	Maximizar	++++
Higroscopicidad	Minimizar	+++	En rango	-----	Minimizar	++
Solubilidad	Maximizar	+++	Maximizar	+++	Maximizar	+++
Cohesividad	Minimizar	+++	En rango	-----	Minimizar	+++
<b>Aceptabilidad global</b>	En rango	-----	Maximizar	+++++	Maximizar	++++

\*Los signos (+) muestran cuánta consideración se les dio a los distintos parámetros para la obtención de los polvos óptimos.



**Figura 13:** Variables respuesta del modelado: higroscopicidad (A), Solubilidad (B), Cohesividad (C) y Aceptabilidad Global (D). (1) Miel % de sólidos; (2) WPC % de sólido; (3) GA % de sólidos. Puntos Rojos: puntos designados. Valores predichos para cada formulación. (Rivero R. y col. 2021)



**Figura 14:** Polvo a base de miel liofilizado. POS Citrus

En la **Figura 13** se pueden observar las variables respuestas con el modelado realizado para cada una de ellas. Además, se muestran en los diagramas los puntos asignados por el modelo para los polvos óptimos: POFQ, POS, y POC.

En cuanto a los resultados de higroscopicidad que se muestran en la **Figura 13A**, podemos observar que los valores máximos aparecen en los sistemas con el mayor contenido de miel. Este resultado se corresponde bien con el alto contenido de azúcares presentes en la miel y su alta higroscopicidad. Con respecto a los dos materiales de soporte podemos decir que el GA minimiza la higroscopicidad más que la WPC, favoreciendo las características y estabilidad del producto a obtener.

Por otra parte, en la **Figura 13B**, se puede observar que la mayor solubilidad del polvo se obtiene cuando se combina aproximadamente un 70% de miel con uno solo de los materiales de soporte. Probablemente esto sea debido a que las interacciones entre GA y WPC son fuertes, y hacen que se dificulte su ruptura y la solubilización del material. No obstante se puede apreciar que dentro de los óptimos obtenidos, el valor de solubilidad predicho es mayor en las POS, por lo que un aumento de la cantidad de GA favorece la solubilidad del polvo.

La **Figura 13C** muestra los resultados obtenidos para la cohesividad. Este parámetro está relacionado con el grado de deformación que experimenta un alimento antes de su ruptura (Civille y Szczesniak, 1973). Si bien los valores de todos los puntos del diseño se categorizaron como de baja cohesividad ( $RH < 1,2$ ), se puede observar que a medida que aumenta la goma arábica la cohesividad aumenta. Es importante mencionar que se desea una baja cohesividad para un ingrediente en polvo, que se obtendría en todas las formulaciones del diseño.

Finalmente, la **Figura 13D**, muestra los resultados obtenidos en la prueba sensorial de satisfacción global. Como era de esperar, a mayor contenido de miel se obtuvieron mayores valores de aceptabilidad del producto. Además, al comparar los materiales de soporte, se observó que altos contenidos de WPC impactan negativamente en la aceptabilidad del producto.

### Confirmación de los puntos designados por el diseño

Una vez determinadas las formulaciones óptimas se procedió a confirmar los valores predichos por el diseño de experimento. En este caso se obtuvieron los polvos optimizados con las tres mieles caracterizadas en la primera parte de este proyecto (Mieles de: Pradera, Eucalipto y Cítrico) para corroborar si se cumplían las predicciones y observar si el cambio de tipo de miel influye en las características de los polvos optimizados.

En la **Tabla 15** se contrasta los valores predictivos de los óptimos y valores experimentales promedio admitidos por el modelo que evidencia la validación del proceso de acuerdo con el análisis estadístico en los parámetros de cohesividad, higroscopicidad y aceptación global, sin encontrar diferencias estadísticas ( $p \geq 0,05$ ) entre los valores experimentales y los predictivos. Sin embargo, la solubilidad de los mismos presentó algunas diferencias significativas entre la predicción, pudiendo adjudicar a esto al tipo de miel utilizada en la formulación, puesto que las predicciones están realizadas en base a la miel de Eucalipto.

El alto contenido de azúcar de la miel en polvo es responsable de su naturaleza higroscópica, a pesar de esto los valores obtenidos fueron más bajos a los esperados.

La razón podría atribuirse al aumento de la temperatura de transición vítrea debido al alto peso molecular de la GA, que adsorbe el agua más rápidamente y puede afectar el equilibrio de los sitios hidrofílicos / hidrófobos de las partículas de polvo. (Bae y Lee 2008). Además, el aumento de la Tg también podría atribuirse a la actividad superficial y la propiedad de formación de película de las proteínas de la WPC. (Suhag y Nanda; 2016). Los valores de higroscopicidad obtenidos fueron inferiores a los presentados por Lakshmi et al., (2018) entre 10.9-23.7 o a los mencionados por Yogita Suhag y Vikas Nanda (2015) entre 20.1 a 27.3. Ambos grupos de investigadores por medio de secado por aspersión obtuvieron polvos con más del 50% de miel utilizando como matriz la maltodextrina y la goma arábica respectivamente.

**Tabla 15:** Confirmación de los valores predichos por el diseño de mezclas.

		<b>Solubilidad</b>	<b>Cohesividad</b>	<b>Higroscopicidad</b>
<b>POFQ</b>	Predicción	86,2±5,7 <sup>a</sup>	1,11±0,26 <sup>a</sup>	6,31±1,12 <sup>a</sup>
	Pradera	94.17±0.07 <sup>b</sup>	1.12±0.02 <sup>a</sup>	5.90±0.11 <sup>a</sup>
	Eucalipto	87.06±4.78 <sup>a</sup>	1.15±0.03 <sup>a</sup>	5.04±0.11 <sup>b</sup>
	Cítrica	94.60±1.19 <sup>b</sup>	1.05±<0.00 <sup>a</sup>	6.37±0.17 <sup>a</sup>
<b>POS</b>	Predicción	85,0±7,7 <sup>a</sup>	1,12±0,39 <sup>a</sup>	6,28±1,41 <sup>a</sup>
	Pradera	87.87±0.07 <sup>a</sup>	1.06±0.02 <sup>a</sup>	5.51±0.05 <sup>a</sup>
	Eucalipto	93.18±1.01 <sup>a</sup>	1.12±0.03 <sup>a</sup>	6.12±0.16 <sup>a</sup>
	Cítrica	93.46±1.36 <sup>a</sup>	1.24±0.10 <sup>a</sup>	5.47±0.68 <sup>a</sup>
<b>POC</b>	Predicción	86,7±5,7 <sup>a</sup>	1,12±0,03 <sup>a</sup>	6,47±1,68 <sup>a</sup>
	Pradera	94.55±1.15 <sup>b</sup>	1.09±0.04 <sup>a</sup>	4.98±0.06 <sup>a</sup>
	Eucalipto	93.04±0.90 <sup>ab</sup>	1.10±0.04 <sup>a</sup>	6.85±0.13 <sup>a</sup>
	Cítrica	93.68±1.86 <sup>ab</sup>	1.14±0.11 <sup>a</sup>	6.78±0.50 <sup>a</sup>

En la **Tabla 16** se presentan los valores obtenidos de la medición de la densidad aparente, compacta y contenido de agua, presentando diferencias significativas entre ellos, pero sin poder marcar una tendencia por el tipo de miel o por la formulación para la densidad. No obstante, en el contenido de agua se puede inferir que el tipo de miel podría influir en este aspecto ya que los valores más bajos fueron presentados por los polvos de miel de *Citrus spp*, en cambio los otros no mostraron una propensión en su diferenciación. Estos parámetros son semejantes a los obtenidos por Qilong, Zhongxiang y Bhesh (2013), quienes estudiaron miel en polvo con WPC y maltodextrina. Suhag y col (2016) observaron que a medida que se aumenta el contenido de GA en las formulaciones de miel en polvo, se producía una disminución del contenido de agua y densidad aparente, no obstante, esto no se apreció en este estudio. Los valores de humedad obtenidos fueron similares a los reportados por Suhag and Nanda (2016)

quienes obtuvieron polvos de miel con WPC, GA y maltodextrina (3,6-5,7 g de agua /100 g de polvo). En cuanto a la densidad aparente y compactada los valores obtenidos se encontraron en el rango de los valores obtenidos para otros productos en polvo con más del 50% de miel, desarrollados por Samborska y col. (2015) y por Suhag and Nanda (2015), ambos obtenidos por el método de secado por aspersion.

**Tabla 16:** Características físicas medidas además de las analizadas en el diseño.

		Densidad aparente	Densidad compacta	Contenido de agua (%)
POFQ	Pradera	0,44±0.04 <sup>cd</sup>	0,50±0.04 <sup>bc</sup>	3,7±0.05 <sup>c</sup>
	Eucalipto	0,50±0.01 <sup>a</sup>	0,57±0.03 <sup>a</sup>	4,1±0.01 <sup>b</sup>
	Cítrica	0,46±0.00 <sup>bc</sup>	0,48±0.00 <sup>cd</sup>	3,2±0.02 <sup>d</sup>
POS	Pradera	0,42±0.01 <sup>d</sup>	0,45±0.01 <sup>d</sup>	5,5±0.18 <sup>a</sup>
	Eucalipto	0,49±0.02 <sup>ab</sup>	0,53±0.01 <sup>b</sup>	3,8±0.13 <sup>c</sup>
	Cítrica	0,42±0.02 <sup>abc</sup>	0,53±0.05 <sup>bc</sup>	2,7±0.29 <sup>e</sup>
POC	Pradera	0,49±0.03 <sup>ab</sup>	0,52±0.03 <sup>bc</sup>	5,6±0.20 <sup>a</sup>
	Eucalipto	0,48±0.00 <sup>abc</sup>	0,54±0.01 <sup>ab</sup>	4,0±0.03 <sup>bc</sup>
	Cítrica	0,42±0.02 <sup>d</sup>	0,53±0.05 <sup>b</sup>	2,7±0.29 <sup>e</sup>

Para determinar la variación de color ( $\Delta E$ ) entre los óptimos se tomó el polvo de miel de Eucalipto como patrón (ya que se utilizó en el diseño), se obtuvieron diferencias marcadas (max: 3,37±0,73) variando según sus ingredientes. Valores de  $\Delta E$  mayores a 2 se presentan en productos que son diferenciables por el ojo humano (Keraite y col.,2017), lo que indica que los óptimos son diferenciables a simple vista.

En lo referente a las isotermas en la **Figura 14** se aprecian los modelados de GAB y en la **Tabla 17** se observan los valores de los parámetros obtenidos del modelado. Los datos presentaron un buen ajuste al modelo como lo demuestran sus  $R^2$ . Los valores de  $m_0$  obtenidos para los diferentes polvos son similares a los de productos tales como discos de frutas liofilizados (entre 8,3 y 9,4%) y frutos de açaí liofilizados (2,5%), reportados por Agudelo-Laverde (2012) y Pavan y col. (2012) respectivamente. En cuanto a los valores de  $C$  fueron superiores a 2 para todos los polvos, lo cual, de acuerdo a lo establecido por Klewicki (2008) indican que las isotermas mostradas en la **figura 14** son de tipo II y presentan forma sigmoidea (típicas en alimentos).

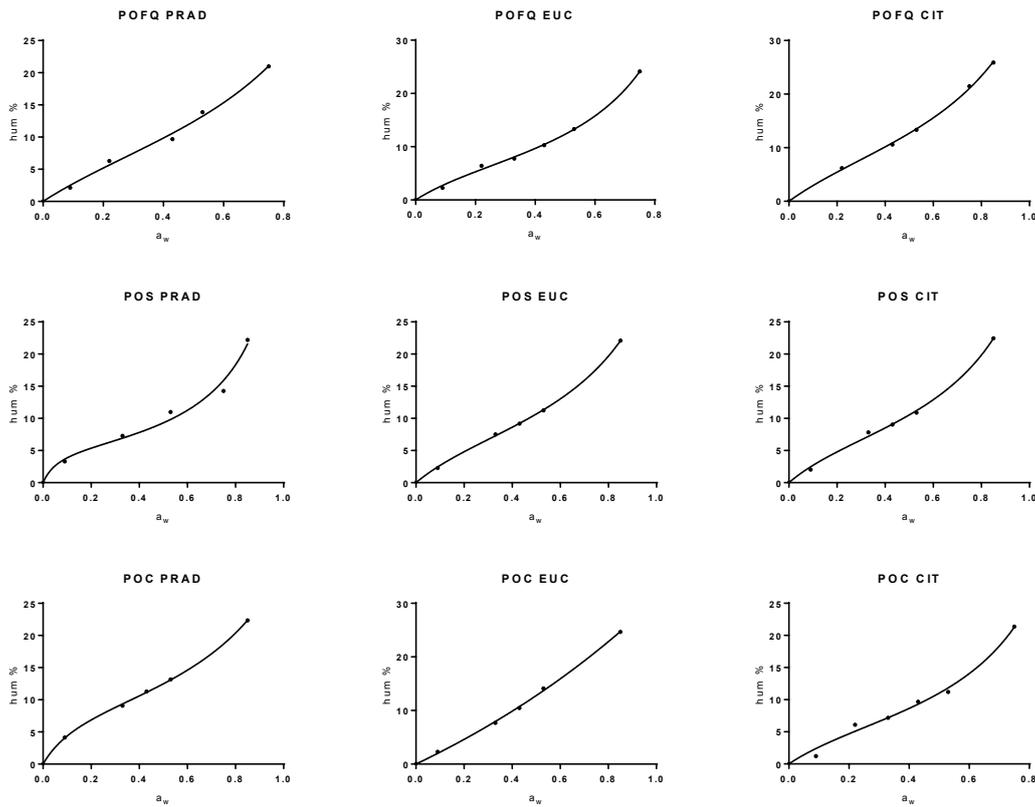


Figura 14: Isotermas de sorción de las diferentes formulaciones. (Rivero R. y col. 2021)

Tabla 17: Parámetros del ajuste de la ecuación de GAB para las isotermas de sorción de agua a 25°CAB

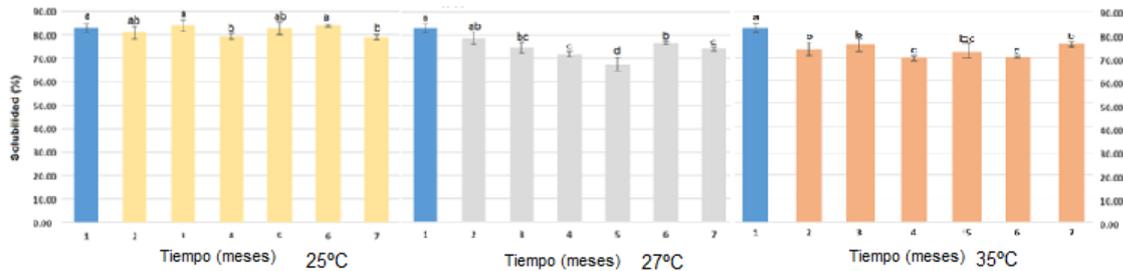
Formulación		$K_{GAB}$	$m_0$ g H <sub>2</sub> O/100g de sólido	C	Ajuste (R <sup>2</sup> )
POFQ	Pradera	0,4417	2,758	22,611	0,994
	Eucalipto	0,9470	7,144	7,406	0,998
	Cítrico	0,8062	4,204	9,824	0,999
POS	Pradera	0,8765	5,607	17,537	0,985
	Eucalipto	0,6934	3,917	11,025	0,999
	Cítrico	0,7981	7,870	8,541	0,998
POC	Pradera	0,7590	8,309	33,982	0,999
	Eucalipto	0,8623	4,010	9,604	0,999
	Cítrico	0,5721	2,371	17,188	0,990

### Evaluación de la estabilidad del polvo de miel a lo largo del almacenamiento

Los polvos de miel (pradera) se almacenaron durante 6 meses a diferentes temperaturas (20, 27 y 35°C) y se analizaron solubilidad, variación de color y apelmazamiento.

## Solubilidad

La figura 15 muestra los resultados obtenidos para la solubilidad. Se puede apreciar que a 20°C no hubo diferencias significativas en entre el tiempo inicial y la finalización del almacenamiento. En cambio en las otras temperaturas de almacenamiento se observaron variaciones significativas, tendiendo a disminuir la solubilidad al aumentar el tiempo de almacenamiento. Sin embargo en todos los casos, esta variación fue menor al 10% y luego de 6 meses de almacenamiento los polvos aun poseían solubilidades mayores al 70%.

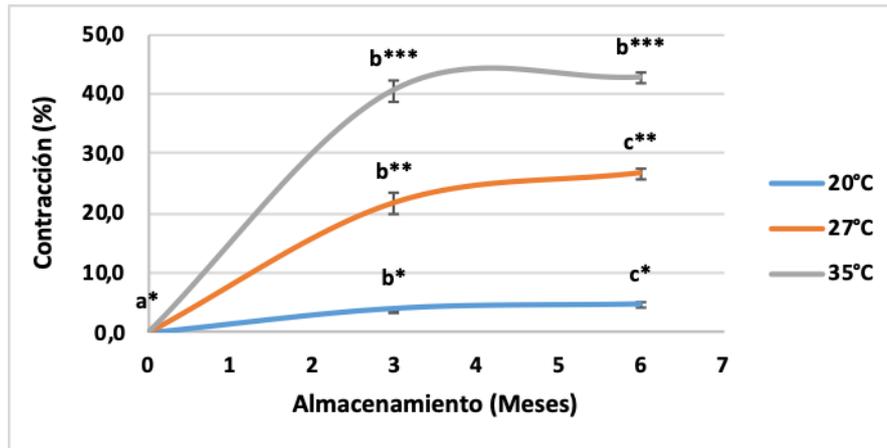


**Figura 15:** Variación de la solubilidad durante el almacenamiento a 25, 27 y 35°C. Letras diferentes sobre las barras representan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las muestras

## Contracción del Volumen del Polvo de Miel

Para determinar la contracción (%) se tomaron fotos de las muestras al tiempo inicial y al final del almacenamiento. Posteriormente se midieron las áreas que ocupaban los polvos en cada periodo de tiempo y la diferencia de área se expresó como porcentaje de contracción del polvo dentro del envase. Para la medición de las áreas se analizaron las imágenes mediante el programa ImageJ\_1.53K.

En la **Figura 16** se puede observar que existe una diferencia significativa a lo largo del almacenamiento en cuanto al volumen del polvo y la contracción (%), efecto que se ve potenciado por el aumento de la temperatura. Además, se puede decir, evaluando las formas de las curvas obtenidas, que la velocidad de contracción es mayor en los primeros meses de almacenamiento y a medida que se produce el apelmazamiento de los polvos, esta velocidad va disminuyendo.



**Figura16:** Curvas de contracción de los polvos de miel durante el almacenamiento a tres temperaturas diferentes. Letras diferentes representan diferencias significativas ( $p < 0,5$ ) entre las nuestras almacenadas a una misma temperatura. Cantidades diferentes de (\*) representa diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las temperaturas para un mismo tiempo de almacenamiento.

### Estudio de la variación de color

Además para evaluar la estabilidad de la miel en polvo se calcularon los valores de Cromo ( $C^*$ ) y el ángulo de Hue ( $^{\circ}h$ ) correspondientes ( González-Miret, Terrab, Hernanz, & Fernández-Recamales, 2005 ).

$C^*$ = representa croma o saturación. Este valor representa la distancia desde el eje de luminosidad ( $L^*$ ) y comienza a 0 en el centro

$h^{\circ}$ = El ángulo de matiz comienza en el eje  $+a^*$  y es expresado en grados (ej.  $0^{\circ}$  es  $+a^*$ , o rojo, y  $90^{\circ}$  es  $+b$ , o amarillo).

En la tabla 18 se presentan los valores de color medidos durante la estabilidad de los polvos de miel. Todas las muestras se diferenciaron significativamente. Las mayores variaciones se observan a  $35^{\circ}C$  y coinciden con un proceso de pardeamiento no enzimático de la muestra. Además, se aprecia que con el aumento de la temperatura el oscurecimiento es más marcado, por esto se podría decir que este efecto posiblemente estaría relacionado con la producción de HMF durante el almacenamiento.

**Tabla 18:** Valores de color de los polvos a diferentes temperaturas.

		L	a	b	Croma	$^{\circ}h$
	T0	70,5±0,2 <sup>a</sup>	0,3<0,1 <sup>a</sup>	20,3<0,1 <sup>a</sup>	20,3<0,1 <sup>a</sup>	0,8<0,1 <sup>a</sup>
35°C	T1	69,0±0,2 <sup>b</sup>	0,6<0,1 <sup>b</sup>	20,3±0,4 <sup>a</sup>	20,3±0,4 <sup>a</sup>	1,6<0,1 <sup>b</sup>
	T2	66,9±0,4 <sup>c</sup>	1,0±0,1 <sup>c</sup>	21,5±0,3 <sup>b</sup>	21,6±0,3 <sup>b</sup>	2,6±0,2 <sup>c</sup>
	T3	64,9±0,1 <sup>d</sup>	0,9<0,1 <sup>d</sup>	21,8±0,2 <sup>b</sup>	21,8±0,2 <sup>b</sup>	2,2±0,1 <sup>d</sup>
	T4	62,9±0,1 <sup>e</sup>	1,9<0,1 <sup>e</sup>	21,8±0,2 <sup>b</sup>	21,9±0,2 <sup>b</sup>	4,9±0,1 <sup>e</sup>
	T5	60,1±0,2 <sup>f</sup>	2,4<0,1 <sup>f</sup>	28,9±0,2 <sup>c</sup>	29,0±0,2 <sup>c</sup>	4,8<0,1 <sup>e</sup>
	T6	60,9±0,5 <sup>g</sup>	4,3±0,1 <sup>g</sup>	33,2±0,2 <sup>d</sup>	33,5±0,2 <sup>d</sup>	7,3<0,1 <sup>f</sup>

Letras diferentes señalan diferencias significativas dentro de la misma columna						
		L	a	b	Croma	°h
	T0	70,5±0,2 <sup>a</sup>	0,3<0,1 <sup>a</sup>	20,3<0,1 <sup>a</sup>	20,3<0,1 <sup>a</sup>	0,8<0,1 <sup>a</sup>
27°C	T1	69,5±0,3 <sup>b</sup>	1,2±0,2 <sup>b</sup>	22,4±0,1 <sup>b</sup>	22,4±0,1 <sup>b</sup>	3,0±0,4 <sup>b</sup>
	T2	69,3±0,3 <sup>b</sup>	1,4±0,1 <sup>c</sup>	22,6±0,2 <sup>b</sup>	22,7±0,2 <sup>b</sup>	3,6±0,2 <sup>c</sup>
	T3	68,2±0,2 <sup>c</sup>	1,0±0,1 <sup>d</sup>	23,2±0,2 <sup>c</sup>	23,2±0,2 <sup>c</sup>	2,4±0,1 <sup>d</sup>
	T4	69,5±0,3 <sup>b</sup>	0,8<0,1 <sup>d</sup>	21,7±0,1 <sup>d</sup>	21,7±0,1 <sup>d</sup>	2,2±0,1 <sup>d</sup>
	T5	68,2±0,5 <sup>c</sup>	1,0<0,1 <sup>d</sup>	21,9±0,2 <sup>d</sup>	22,0±0,2 <sup>d</sup>	2,5±0,1 <sup>d</sup>
	T6	66,8±0,2 <sup>d</sup>	0,6<0,1 <sup>e</sup>	21,0±0,1 <sup>e</sup>	21,0±0,1 <sup>e</sup>	1,7±0,1 <sup>e</sup>
Letras diferentes señalan diferencias significativas dentro de la misma columna						
		L	a	b	Croma	°h
	T0	70,5±0,2 <sup>a</sup>	0,3<0,1 <sup>a</sup>	20,3<0,1 <sup>a</sup>	20,3<0,1 <sup>a</sup>	0,8<0,1 <sup>a</sup>
20°C	T1	70,3±0,2 <sup>a</sup>	0,7<0,1 <sup>b</sup>	20,4±0,1 <sup>a</sup>	20,5±0,1 <sup>a</sup>	2,0<0,1 <sup>b</sup>
	T2	69,5±0,6 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	0,4<0,1 <sup>c</sup>	19,2±0,7 <sup>b</sup>	19,2±0,7 <sup>b</sup>	1,1<0,1 <sup>c</sup>
	T3	68,1±0,7 <sup>c</sup>	0,4<0,1 <sup>c</sup>	20,0±0,2 <sup>a</sup> <sup>c</sup>	20,0±0,2 <sup>a</sup> <sup>c</sup>	1,1<0,1 <sup>c</sup>
	T4	68,3±0,6 <sup>c</sup>	-0,1<0,1 <sup>d</sup>	16,5±0,2 <sup>d</sup>	16,5±0,2 <sup>d</sup>	-0,5<0,1 <sup>d</sup>
	T5	69,0±0,3 <sup>c</sup> <sup>b</sup>	-0,2<0,1 <sup>e</sup>	19,0±0,1 <sup>b</sup>	19,0±0,1 <sup>b</sup>	-0,7<0,1 <sup>e</sup>
	T6	68,1±0,7 <sup>c</sup>	-0,7<0,1 <sup>f</sup>	19,4<0,1 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	19,4<0,1 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	-2,0<0,1 <sup>f</sup>
Letras diferentes señalan diferencias significativas dentro de la misma columna						

### Diferencia de color

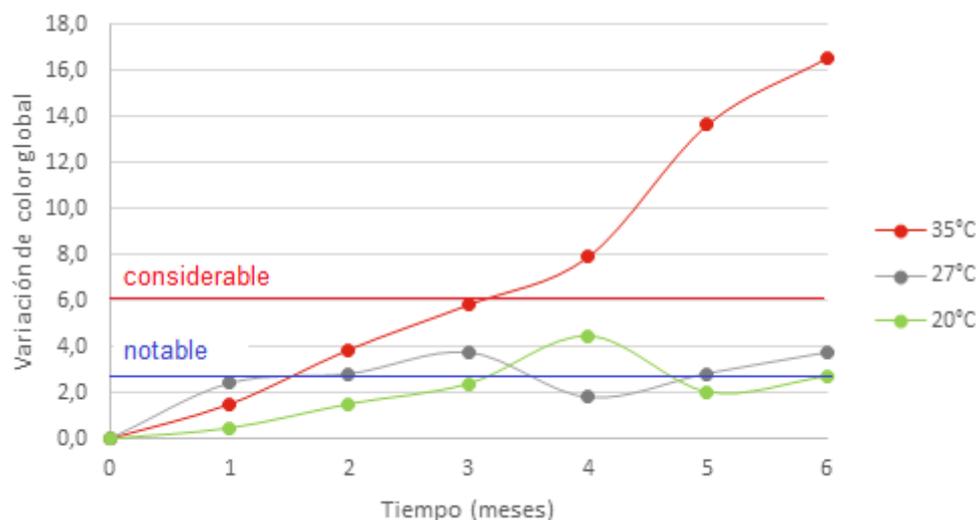
$$\Delta E^* = [\Delta L^*2 + \Delta a^*2 + \Delta b^*2]^{1/2}$$

El Delta E indica la magnitud de la diferencia total de color. La llamada “Diferencia de color CIE-LAB” ( $\Delta E^*$ ), cuantifica numéricamente la diferencia de percepción de color, para el ojo humano, entre dos muestras del alimento. El término E de  $\Delta E^*$  deriva del vocablo alemán Empfindung, que significa sensación, por lo que  $\Delta E^*$  significa literalmente diferencia de sensación; el asterisco se usa para denotar que estas diferencias han sido calculadas a partir del Sistema CIE-Lab\*. De acuerdo con la representación tridimensional de este sistema, si dos puntos en éste espacio (representados por dos estímulos de color, “r” y “s”), son coincidentes, entonces la diferencia cromática entre ambos estímulos es igual a cero. Según se incrementa la distancia entre esos dos puntos ( $L^*r, a^*r, b^*r$  y  $L^*s, a^*s, b^*s$ ), es razonable suponer que aumentará la percepción de diferencia cromática entre los estímulos que ambos puntos representan. Una forma de medir la diferencia cromática entre dos estímulos es, por tanto, medir la distancia euclidiana o pitagórica  $\Delta E^*$ , existente entre dos puntos en un espacio tridimensional, donde el valor  $\Delta E^*$  representa la hipotenusa de un triángulo, siendo  $\Delta L^*$  y  $\Delta C^*$  los catetos.

Para evaluar las diferencias de color entre las muestras se utilizó el  $\Delta E^*$  a partir del sistema CIE-Lab\*. Los valores de  $\Delta E^*$  obtenidos para una muestra en referencia al estándar permiten evidenciar si el observador podrá o no percibir la diferencia de color. En la tabla 19 se presenta la relación entre el juicio del observador y el  $\Delta E^*$  (Ramírez-Navas; 2010).

<b>Tabla 19. Relación entre el juicio del observador y la diferencia de color <math>\Delta E^*</math></b>	
<b>Diferencia percibida sensorialmente</b>	<b>Valor de <math>\Delta E^*</math> (instrumentalmente)</b>
Ninguna	0 - 0.7
Ligera	0.7 - 2.5
Notable	2.5 - 3.0
Apreciable	3.0 - 6.0
Considerable	6.0 - 12.0
Extraordinaria	12.0

Se pueden observar en la Figura 17 las diferencias de color global que se manifiestan a lo largo del tiempo y a las diferentes temperaturas de almacenamiento. Se observa que las muestras almacenadas a 20°C presentaron un  $\Delta E^*$  que denota una diferencia “notable”; a 27°C esta diferencia fue “Apreciable” y a 35°C fue “Extraordinaria”. Las diferencias de variación de color respecto de la temperatura de 20°C es 1.3 veces mayor a los 27°C y 6 veces a 35°C en un tiempo de 6 meses de almacenamiento. Según la ecuación de Arrhenius, se ha determinado la variación de color como parámetro límite, y se ha establecido un tiempo de almacenamiento crítico de 9 meses a temperatura ambiente para evitar una diferencia de color apreciable. En resumen, se determinó que la generación de los productos pardos por la reacción de Maillard fueron los limitantes en la determinación del tiempo de almacenamiento crítico, por lo que se deben evitar las altas temperaturas para alargar la vida y así poder aplicar estos polvos de miel en formulaciones de alimentos sin modificar sus características.



**Figura 17:** Variación del color de los polvos de miel en función del tiempo.

## Evaluación de la percepción del consumidor frente a los productos obtenidos:

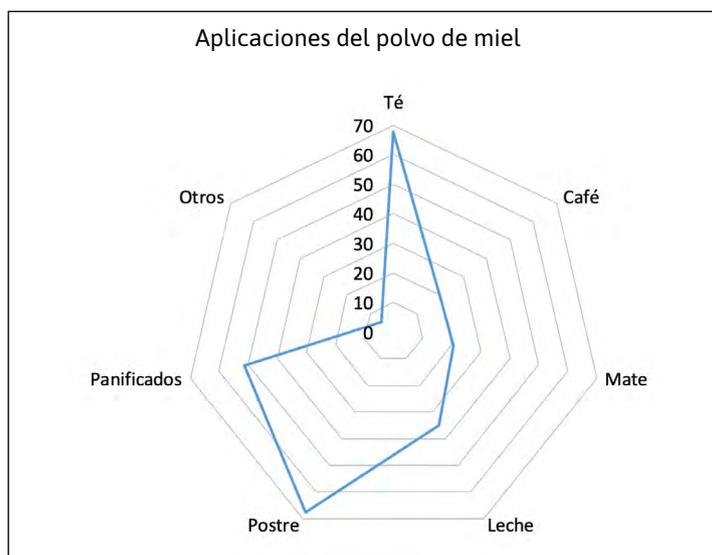
### A- Evaluación de la intención de compra y aplicación

Una evaluación con una encuesta de consumidores (n=200) permitió conocer su intención de compra, como potencial producto con aplicación en la industria de los alimentos. Se seleccionó una muestra aleatoria de personas no especializadas.

Los resultados se muestran en las **Figuras 18 y 19**.



**Figura 18:** Distribución de la intención de compra del producto.



**Figura 19:** Representación gráfica de los principales alimentos a los cuales se agregaría el polvo de miel.

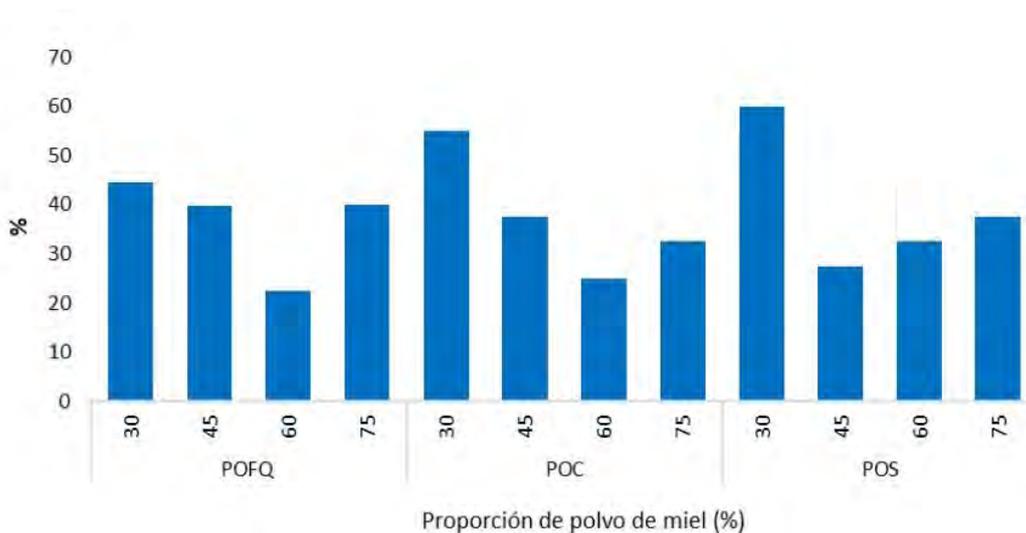
Los resultados indican que la miel en polvo es bien aceptada por la mayoría de los posibles consumidores (43,8% Tal vez y 42% Sí), y tan solo el 14,2% no compraría este tipo de productos. En cuanto a que tipos de alimentos se agregaría el polvo de miel, se observa una tendencia predominante para té y postres, seguido de panificados, leche, mate y café. En cuanto a los alimentos agregados en la lista se pueden nombrar: yogurt con o sin cereales, compotas, comidas agrídulces, banana, entre otros. A partir de estos resultados se probó un postre tipo flan.

### B- Evaluación de un panel interno de un producto elaborado con miel en polvo

Se elaboraron flanes (**Figura 20**) con diferentes cantidades de producto a base de miel y se llevó a cabo un análisis sensorial con un panel interno. Para ello se elaboraron cuatro formulaciones de flanes, cuyos ingredientes fueron: leche (57,89%), huevo (28,94%), azúcar:polvo de miel de pradera (12,74%), y esencia de vainilla (0,43%). Cada uno de ellas se diferenció en la proporción de azúcar:polvo de miel siendo éstas de: 70:30, 55:45, 40:60, 25:75. Las formulaciones se elaboraron utilizando los tres puntos óptimos: POFQ, POC y POS, es decir, se llevaron a cabo tres elaboraciones de flanes con cuatro diferentes contenidos de polvo de miel.



**Figura 20:** producto elaborado (flan)



**Figura 21:** Resultados del análisis sensorial con panel interno. Satisfacción global de las muestras.

La **Figura 21**, muestra los promedios de las aceptaciones de las propiedades analizadas (color, olor, aspecto, gusto dulce, sabor a miel y textura) y de la satisfacción global de cada formulación propuesta para cada punto óptimo. Se observa que los flanes que con-

tenían un 30% y 45% de polvo de miel, tuvieron la mayor aceptación de las propiedades analizadas por parte de los consumidores. En cuanto a la satisfacción global, los flanes que resultaron con mayor éxito fueron los elaborados con un 30% de polvo de miel.

## Conclusiones

1. Se realizó una caracterización físico química y melisopolinológica de las diferentes mieles estudiadas que permitió establecer su origen botánico (pradera, eucalipto y cítrica) y su buena calidad fisicoquímica al cumplir con todos los parámetros establecidos por el Código Alimentario Argentino.
2. Respecto a las propiedades funcionales, la miel de pradera presentó un contenido de polifenoles y una capacidad antirradicalaria significativamente superior, mientras que la miel de citrus presentó un contenido de flavonoides significativamente inferior respecto a las demás mieles.
3. Las tres variedades de mieles evaluadas se encuentran en buena disponibilidad en la zona como para ser utilizadas en la industria alimentaria.
4. Utilizando un diseño de mezcla D-Optimo y la metodología de superficie de respuesta se pudo obtener un polvo de miel con alto contenido de miel (72-74 % p/p b.s.) y buenas propiedades de hidratación.
5. Las propiedades de hidratación fueron buenas y aptas para este tipo de ingredientes, mientras que en estudio sensorial la aceptabilidad fue positiva para todos los consumidores evaluados.
6. El WPC y la GA fueron buenos soportes para estabilizar el producto en polvo evitando la inmediata absorción de agua. Sin embargo, es importante considerar para un envasado correcto es necesario un cierre hermético que pueda asegurar que el producto en polvo no absorba agua del medio y evitar el aglomeramiento.
7. El tipo de miel utilizada produce leves variaciones entre los polvos optimizados siendo el color el más afectado. Por esta razón sería necesario estandarizar el color de la miel original para evitar variaciones en el producto final que puedan resultar peculiares para el consumidor.
8. Durante un almacenamiento de 6 meses los polvos mantuvieron buena solubilidad y sin cambios de color a 25°C. A mayores temperaturas aparecieron mayores variaciones de color coincidiendo con un proceso de pardeamiento no enzimático de la muestra.
9. Se pudo realizar la aplicación del polvo de miel en un producto alimenticio tipo postre flan y tuvo buena aceptación sensorial siendo agregado en un 30%.
10. La miel como ingrediente alimentario es muy apreciada por los consumidores y los polvos de miel bioactivos obtenidos mantendrían los beneficios saludables de la miel original mientras que mejorarían su uso en los procesos industriales al reducir la pegajosidad y las desventajas de su higroscopicidad.
11. Estos polvos de miel o miel en polvo podrían usarse directamente como un edulcorante para reemplazar la sacarosa, así como también como ingrediente en alimentos destinados a poblaciones especiales (alimento para deportistas por ejemplo) y en el desarrollo de nuevos alimentos, nutracéuticos, y/o productos farmacéuticos.

## ARTÍCULOS y LIBROS PUBLICADOS

Capítulo de libro: "Efecto de la temperatura y cristalinidad en las propiedades texturales de mieles monoflorales de la provincia entre ríos" (2020). Busch, V.M.; R. Rivero, R.; Fleitas S. M.; Busquet, C. M.; Baldi Coronel, B. M.; Buera, M.P. Libro de trabajos completos CyTAL-ALACCTA 2019:2° parte: parte II/ compilado por Stella Maris Alzamora. 1a ed. CABA, Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios-AATA, 2020. ISBN 978-987-47615-1-4. <https://alimentos.org.ar/xvii-congreso-cytal-alaccta-2019/>

Development of a honey-based powder ingredient using a mixture design: Botanical origin effect and hydration properties. LWT - Food Science and Technology 147 (2021) Roy Cristian Rivero, Diego Alberto Archaina, Cynthia Melisa Busquet, Bertha Mabel Baldi Coronel, Verónica María Busch <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111446>

Manual de buenas prácticas de apicultura, Más abejas y toda la vida. ISBN 978-987-88-5072-6. Baldi Coronel B, Brelis L, Busch V, Esposito N, Genevois C, Irigoytia K, Isaac G, Lopez N, Primost D, Rivero R, Sanguinetti A, Seling G, Sosa N, Vallejos O. Argentina, 2022. [https://www.researchgate.net/publication/371005046\\_Manual\\_de\\_buenas\\_practicas\\_de\\_apicultura](https://www.researchgate.net/publication/371005046_Manual_de_buenas_practicas_de_apicultura)

## CURSOS DICTADOS COMO CONSECUENCIA DE LA INVESTIGACIÓN REALIZADA

-Diplomatura: Miel: Aspectos bromatológicos y calidad. Facultad de Bromatología. Año 2022-23

## ACTIVIDADES DE EXTENSIÓN REALIZADAS

-Jornada de capacitación y actualización. INTA Diferenciación y agregado de valor de Miel del

Bajo Río Uruguay, Gualaguaychú, 19 de Septiembre de 2022.

-"Extensión con apicultores de Entre Ríos: divergencias y aprendizajes en territorio". Verónica

Busch, Lucia Brelis, José Dorati, Nancy Esposito, Karen Irigoytia, Daniel Primost, Giuliana Seling.

INEXA, Escenarios, producciones universitarias y desafíos de intervención. Paraná, Entre Ríos, 2-3 de Noviembre del 2022. Poster

## Bibliografía

Ahmed, J., Prabhu, S.T., Raghavan, G. S. V. & NGADI, M. (2007). Physico-chemical, rheological, calorimetric and dielectric behavior of selected Indian honey. Journal of Food Engineering 79, 1207-1213.

Ahn, M. R., Kumazawa, S., Hamasaka, T., Bang, K. S., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 7286-7292.

Al-Khalifa, A. S., & Al-Arif, I. A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. Food Chemistry, 67, 21-25.

Alvarez-Suarez, J. M. (2017) Bee Products - Chemical and Biological Properties. Edited by J. M. Alvarez-Suarez. Cham: Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-319-59689-1.

- Anupama, D., Bhat, K. K., & Sapna, V. K. (2003). Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Research International*, 36, 183–191.
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (18th ed.) Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemist.
- Archaina, D., Rivero, R., Sosa, N. & Baldi Coronel, B. (2016). Influence of the harvesting procedure and extracting process on the antioxidant capacity of ethanolic propolis extracts. *Journal of Apicultural Research*, doi: 10.1080/00218839.2016.1181838.
- Archaina, D., Vasile, F., Jiménez-Guzmán, J., Alamilla-Beltrán, L., & Schebor, C. (2019). Physical and functional properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract spray dried with maltodextrin-gum arabic mixtures. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(9), e14065.
- Baldi Coronel, B. (2010). In EDUNER (ed.), *Componentes biológicos (Biological Compounds). La miel una mirada científica (Honey a Scientific Look)*. Paraná, Entre Ríos, Argentina, 78-80.
- Castro Cruz, E. M. (2015) evaluación de indicadores para la diferenciación de mieles provenientes de la zona cafetera de la sierra nevada de santa marta. Available at: [http://bdigital.unal.edu.co/49407/1/Capitulos tesis Edith %281%29.pdf](http://bdigital.unal.edu.co/49407/1/Capitulos%20tesis%20Edith%20%29.pdf)
- Cayú G., Agüero G. A., Balbarrey G. P., Cabrera M. M., Carrera C., Britos P. and Vivas H. L. (2016). Building Honey-based Territorial Identity for the Formosa Monte through Information Exploitation using Intelligent Systems. *IEEE CACIDI 2016 - IEEE Conference on Computer Sciences*. Doi: 10.1109/CACIDI.2016.7785980
- Chaillou, L., & Nazareno, M. (2009). Chemical variability in propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to the arboreal environment as the sources of resins. *Journal of Science Food Agriculture*, 89, 978-983.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo X " Productos Azucarados. <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>
- Da Silva, Gauche, Gonzaga, Oliveira Costa, Fett (2016). *Food Chemistry* 196 309–323.
- Doner, L. W. (1977). The sugars of honey--a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 443–456.
- Doner, L. W., & Hicks, K. B. (1982). Lactose and the sugars of honey and maple: reactions, properties, and analysis. In D. R. Lineback & G. E. Inglett (Eds.), *Food Carbohydrates* (pp. 74–112). West Port, CT: AVI Publishing Company.
- Escudero, O., Seijoa, M. C., Salvador, J., & Gonzáles Martin, M. I. (2013). Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. *Food Chemistry*, 141, 3409-3414.
- Fagundez, G. (2015). Botanical and geographical characterisation of honeys in Diamante, Entre Ríos, Argentina. *Palynology*, <http://dx.doi.org/10.1080/01916122.2015.1045994>.
- Fennema, O. R. (2000). *Química de los alimentos*. (2da. ed.). Zaragoza, España.
- Frazier, W.C; Westhoss, D.C (1993) *Microbiología de los alimentos*. Acribia.
- Gomez Barez, J. A., Garcia-Villanova, R. J., Elvira Garcia, S., Rivas Pala, T., Gonzalez Paramas, A. M., & Sanchez Sanchez, J. (2000). Geographical discrimination of honeys through the employment of sugar patterns and common chemical quality parameters. *European Food Research and Technology*, 210, 437–444.
- González-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernández-Recamales, M. Á., & Heredia, F. J. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2574-2580.

- Grasso, D, Baldi Coronel, B., Fernández, G., & Chaves Pereira, S. (2004). Caracterización bromatológica del polen apícola argentino. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, XV (noviembre). ISSN 0327-5566
- Grosso, G. S., Osorio Tangarife, M. P. and Reyes Méndez, L. M. (2017) "Propiedades físico-químicas de mieles monoflorales de encenillo de la zona altoandina en Boyacá, Colombia", *Quim. Nova*, 40(8), pp. 854–864. doi: 10.21577/0100-4042.20170084.
- Kenjerić, D. et al. (2008) 'Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey', *Food Chemistry*, 110(1), pp. 187–192. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.01.031.
- Kim, M., Hyun, J., Kim, J, Park, J., Kim, M., Kim, J., Lee, S., Chun, S., & Chung, I. (2007). Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4802 – 4809.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, 571-577. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- Mouteira, M. C. et al. (2001) analysis of honey produced in the province of buenos Aires, argentine, from 1997 to 2000, *Apic. Congr.* Available at: <https://www.apimondia.com/congresses/2001/Papers/184.pdf>.
- Muñoz Jáuregui, A. M. et al. (2014) Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales, *Rev Soc Quím Perú*. Available at: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v80n4/a08v80n4.pdf>.
- Muñoz, O. et al. (2007) contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante, *Quim. Nova*. Available at: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n4/a17v30n4>
- Lakshmi, H. R., Nidoni, U., Ganachari, A., Ramachandra, C. T., & Prabhuraj, A. (2018). Preparation and Evaluation of Spray Dried Honey Powder. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 8(2), 171-174.
- Ospina González, A. F. (2014) "Evaluación de las características de la miel de abejas proveniente del suroeste antioqueño y de las condiciones necesarias para su liofilización", instname: Universidad Pontificia Bolivariana. Available at: <https://repository.upb.edu.co/handle/20.500.11912/1905>
- Paixao, N., Perestrelo, R., Marques, J. C., & Camara, J. S. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose' and white wines. *Food Chemistry*, 105: 204 - 214.
- Popek, S. (2002). A procedure to identify a honey type. *Food Chemistry*, 79, 401–406.
- Popek, S. (2003). Identification of honey types. *Nahrung/Food*, 47, 39–40.
- Ramírez-Navas, J. S. (2010). Propiedades funcionales de los quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 64(1), 40-47.
- RE, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* v. 26, p. 1231-1237, 1999.
- Rivero, Roy Cristian; Archaina, Diego Alberto; Busquet, Cynthia Melisa; Baldi Coronel, Bertha Mabel; Busch, Verónica María; Development of a honey-based powder ingredient using a mixture design: Botanical origin effect and hydration properties; Elsevier Science; *LWT - Food Science and Technology*; 147; 7-2021; 1-9.

- Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Colombo, R., Carpana, E., & Serra, G. (2001). The analytical determination of sugars in honey. *Industrie Alimentari*, 40(404), 623–627.
- Singh, N., & Bath, P. K. (1997). Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58, 129–133.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Stefova, M., Stafilov, T. and Kulevanova, S. (2003) HPLC analysis of flavonoids. Available at: [https://www.researchgate.net/publication/233990443\\_HPLC\\_analysis\\_of\\_flavonoids](https://www.researchgate.net/publication/233990443_HPLC_analysis_of_flavonoids).
- Suhag, Y, Nayik, GA. 2015. Oprimisation of process parameters to develop nutritionally rich spray-dried honer powder with vitamin C content and antioxidan properties. *Food Science + Technology*. Volume 50, Issue 8. Pages: 1705-1943
- Suhag, Y, Nayik, GA., & Nanda, V., 2016. Effect of gum arabic concentration and inlet temperatura during spray drying on physical and antioxidant properties of honey powder. *Journal of Food Measurement and Characterization*. Volume 10, pages 350-356.
- Tahir, H. E., Xiaobo, Z., Xiaowei, H., Jiyong, s., & Mariod, A. A. (2016). Discrimination of honeys using colorimetric sensor arrays, sensory analysis and gas chromatography techniques. *Food Chemistry*, 206, 37–43.
- Terrab, A., Diez, M. J., & Heredia, F. J. (2002). Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79, 373–379.
- Vit P, Gutierrez M, Rodriguez- Malaver J, Aguilera G, Fernández-Díaz C, Tricios A. Comparación de mieles producidas por la abeja yateí( *Tetragonisca fiebrigi*) en Argentina y Paraguay. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2009; 43 (2): 219-26.
- Vivar Quintana, A.M; Baldi Coronel B.M.; Sánchez Sánchez, J.J.; Santos Buelg, C. "Composición fenólica en mieles monoflorales de distinto origen". *ALIMENTARIA*, 1 num.306 (1999): 93 - 99.
- White, J. W., Jr. (1978). Honey. *Advances in Food Research*, 24, 288–354.
- Woisky R, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for. chemical quality control. *J Apic Res* 1998; 37: 99-105.
- Zapotoczny, P., Kawalko, T., & Bakier, S. (2010). Determination of the physical characteristics of food raw materials by spectrophotometry – the example of honey. *Technical Sciences*, 13.

**PID 9094 Denominación del Proyecto**

Obtención y Caracterización de Mieles Deshidratadas por Liofilización para uso Tecnológico

**Directora**

Baldi Coronel, Bertha

**Codirector:**

Vallejos, Omar

**Unidad de Ejecución**

Universidad Nacional de Entre Ríos

**Dependencia**

Facultad de Bromatología

**Contacto**

[bertha.baldi@uner.edu.ar](mailto:bertha.baldi@uner.edu.ar)

[omar.vallejos@uner.edu.ar](mailto:omar.vallejos@uner.edu.ar)

**Cátedra/s, área o disciplina científica**

Departamento de Bromatología y Materias Aplicadas. Cátedra de Bromatología III y Cátedra de Conservación de Alimentos. Laboratorio de Investigaciones y Servicios de Productos Apícolas.

**Instituciones intervinientes**

Cooperativa Apícola Gualeguaychú Limitada. Convenio marco de colaboración

**Integrantes del proyecto**

Docentes: Sanguinetti, Agustín; Sosa, Natalia; Pancrazio, Gastón I. Becarios de doctorado: Rivero, Roy Cristian; Archaina, Diego Alberto. Becarios de investigación: Roche, Marcela Fabiana. Fleitas, Estefanía Marlene. Mauro Melchiori. Becaria CIN: Busquet, Melisa.

**Fechas de iniciación y de finalización efectivas**

01/02/2018 y 24/12/2022.

Aprobación del Informe Final por Resolución C.S. N° 384/23 (19-10-2023)