

Efecto del tratamiento térmico con ultrasonido sobre la calidad físico-química y el proceso de cristalización de la miel

Effect of ultrasound heat treatment on the physicochemical quality and crystallization process of honey

María Cecilia Mouteira *

Cátedra de Producción Animal I, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Inés Marilina Basso

Sector Apicultura y Sistemas Agroalimentarios, Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica, Argentina

Marcial Paradela

Dirección Apícola Dirección Provincial de Ganadería, Ministerio de Desarrollo Agrario de la Provincia de Buenos Aires, Argentina

Cecilia Elena Lupano

Cátedra de Bromatología y Propiedades Físicas y Químicas de los Alimentos I, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Revista de la Facultad de Agronomía

Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ISSN: 1669-9513

Periodicidad: Semestral

Vol. 121, núm. 1, 2022

redaccion.revista@agro.unlp.edu.ar

Recepción: 05/04/2021

Aprobación: 09/06/2021

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/23/233043011/>

DOI: <https://doi.org/10.24215/16699513e086>

* Autor de correspondencia: mmouteira@agro.unlp.edu.ar



Resumen

La miel es un producto que tiene la capacidad de cristalizar; esta característica está relacionada con la composición de la miel y con la temperatura de almacenamiento y de procesado, las cuales pueden alterar la calidad físico-química del producto. La miel puede someterse a diversos tratamientos orientados a obtener un producto de consistencia líquida, de acuerdo con el gusto de los consumidores. Actualmente, las tecnologías de ultrasonido resultan vitales para reducir el tiempo del proceso de licuado de la miel. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del tratamiento térmico con ultrasonido sobre la calidad físico-química y sobre el proceso de cristalización de la miel. Una miel cristalizada se sometió a tratamiento con un baño María, provisto de ultrasonido de 40 kHz de frecuencia y 80 W de potencia, a 60°C, 50°C y 40°C, durante un rango de tiempo de 1 a 8 h. La calidad físico-química de las mieles tratadas se realizó siguiendo los protocolos de las normas IRAM. El tratamiento con ultrasonido en combinación con temperatura ha permitido retrasar la cristalización por un lapso de tiempo superior a los 300 días. Se observaron diferencias significativas en los contenidos de humedad, color y absorbancia, y no significativas en HMF y acidez. El sistema de ultrasonido se presenta como una alternativa de reemplazo de los sistemas tradicionales de licuado; a pesar de que se vieron alterados algunos de los parámetros de calidad, estas variaciones no superaron los valores dispuestos en las reglamentaciones vigentes.

Palabras clave: miel, ultrasonido, calidad, licuado, cristalización

Abstract

Honey is a product that has the ability to crystallize; this feature is related to the composition of honey, and to storage and processing temperature, which can alter the physical-chemical quality of the product. Honey can undergo various treatments aimed at obtaining a liquid consistency product, according to the taste of consumers. Currently, ultrasound technologies are vital to reduce the time of the honey liquefying process. The objective of this work was to determine the effect of ultrasound heat treatment on the physical-chemical quality and on the crystallization process of honey. A crystallized honey was treated with a water bath, equipped with ultrasound of 40 kHz frequency and 80 W of power, at 60°C, 50°C and 40°C, over a time range of 1 to 8 h. The physical-chemical quality of treated honeys was performed in accordance with the protocols of IRAM standards. Ultrasound treatment in combination with temperature has allowed to delay crystallization for a period of time greater than 300 days. Significant differences in moisture, color and absorbance content were observed, and not significant in HMF and acidity. The ultrasound system is presented as an alternative to replacing traditional liquefying systems; although some of the quality parameters were altered, these variations did not exceed the values provided for in the current regulations.

Keywords: honey, ultrasound, quality, liquefaction, crystallization

INTRODUCCIÓN

La miel es uno de los principales productos originados por la apicultura. Desde el año 2012, Argentina se ubica dentro de los cinco primeros puestos como productor mundial de miel (Alimentos Argentinos, 2019). El 98% de la comercialización se realiza a granel, mayormente en tambores de 300 kg, y de miel homogeneizada, otorgándole el carácter de commodity, de alto volumen y bajo precio (Rodas, 2020). En los últimos veinte años el sistema productivo apícola argentino se modificó de manera significativa. Los cambios tecnológicos, la demanda de alimentos con aseguramiento de calidad y el contexto macroeconómico globalizado han influido sobre la estructura del sector productivo apícola. En este marco la apicultura argentina, que se distingue por su fuerte inclusión en el mercado externo de alimentos, presenta una gran capacidad de respuesta a los cánones mundiales (Obschatko et al., 2007), adecuándose por medio de la adopción de tecnología en el procesado de la miel, acorde a las demandas mundiales de calidad alimentaria.

La miel es uno de los alimentos más primitivos que el hombre aprovechó por sus cualidades nutricionales. Como un producto a ser incorporado a una alimentación saludable, debemos considerar la composición química de la misma, y su efecto en la salud humana. Es una sustancia natural producida por la abeja *Apis mellifera* L. a partir del néctar de las flores y de otras secreciones extraflorales que las abejas liban, transportan, transforman, combinan con otras sustancias, deshidratan, concentran y almacenan en los panales (CAA, 2020). Al analizar las particularidades del consumo de la miel hay que tener en cuenta aquellas características que definen su calidad, ya que son las responsables del grado de aceptación y valoración del producto por parte de los consumidores o la demanda del mercado. Los factores que componen la calidad no sólo son nutricionales, higiénico-sanitarios, tecnológicos, organolépticos, sino también de tipo ético, relacionados estos últimos con el bienestar animal y la conservación del ambiente (Prieto et al., 2008). Estos aspectos están definidos por la apreciación de los consumidores, así como por los distintos actores públicos y privados que intervienen en la cadena productiva y comercial. Los productores, operadores de salas de extracción, acopiadores, exportadores e instituciones públicas nacionales, provinciales y locales intervienen por medio de sus prácticas, políticas y reglamentaciones sobre el sistema de procesado y producción, y por lo tanto sobre la calidad final de la miel.

La definición de la calidad higiénico-sanitaria y tecnológica de la miel se valida por medio de una serie de parámetros establecidos en el Código Alimentario Argentino (CAA), y a través de su evaluación es posible determinar la frescura, limpieza y manipulación apropiada del producto (CAA, 2020). Su evaluación también permite corregir los desvíos y errores que van en desmedro de la calidad final del producto. Los principales indicadores de calidad que se utilizan en el comercio de la miel son humedad, hidroximetilfurfural (HMF), índice de diastasas, cenizas, sólidos insolubles, acidez, pH, azúcares reductores, sacarosa aparente, entre otros (CAA, 2020), y además atributos sensoriales tales como el aroma, color y sabor.

La miel es un medio activo que evoluciona, se transforma y degrada según la cantidad de agua que contiene. La humedad, y por lo tanto el contenido de sólidos solubles en el producto final, dependen de los procesos de concentración que realizan las abejas en el interior de la colmena (Basilio et al., 2002). Es importante relacionar la humedad de la miel con la capacidad que tiene ésta de alcanzar un equilibrio con la humedad relativa ambiental, por medio de la absorción o pérdida de agua (higroscopicidad) (Acquarone, 2004; Díaz Moreno, 2009). Una miel cosechada demasiado pronto, o procesada o almacenada en locales de elevada humedad ambiental, puede contener un alto contenido de agua, lo que la hace más susceptible a procesos de fermentación (Díaz Moreno, 2009; Ciappini et al., 2009; INTI, 2009; Kadar et al., 2010).

Otros componentes presentes en la miel son los ácidos. La acidez le da estabilidad a la miel frente al ataque microbiano, otorgándole al producto un pH medio de 3.92 con un rango de 3.2 a 6.4 (Salgado & Maidana, 2014). Los ácidos de la miel provienen principalmente de la acción de enzimas derivadas de las secreciones de las glándulas salivales de las abejas, siendo responsables de la formación de ácidos orgánicos en equilibrio con sus lactonas y de algunos iones inorgánicos (Cavia et al., 2007; INTI, 2009). Los procesos de calentamiento o de envejecimiento de la miel, promueven la formación de ácidos levulínico y fórmico, a partir de la hidratación del HMF, aumentando así la acidez final del producto (Moungói & Flora, 2008). En la miel tenemos tres tipos de acidez: lactónica, libre y total. La acidez lactónica constituye una reserva de acidez y está constituida por glucolactonas que se encuentran en equilibrio con el ácido glucónico. Por su parte, la acidez libre representa los ácidos orgánicos derivados de la fuente nectarífera y de los procesos de maduración de la miel, además de aquéllos producidos durante la fermentación microbiana de los azúcares. Es así que la valoración de la acidez es de importancia para detectar posibles

problemas de fermentación generados por hongos y levaduras naturalmente presentes en la miel o resultantes de la manipulación incorrecta del producto, durante su procesado. Finalmente la acidez total surge de la adición de la acidez libre y de la acidez láctica.

El HMF es una sustancia que se encuentra en cantidades muy bajas en las mieles recién cosechadas (Tosi et al., 2002; Kadar et al., 2010). Es un aldehído cíclico que surge como producto de la deshidratación de azúcares en medio ácido, especialmente de la fructosa y glucosa (Mejía & Serrano, 2011; Khalil et al., 2012; Mouhoubi Tafinine et al., 2018), y en menor medida por reacciones de Maillard. Ambos mecanismos promueven el pardeamiento no enzimático de las mieles, siendo responsables del oscurecimiento del producto (INTI, 2009; Semkiw et al., 2010; Muangthai & Wiwatchankit, 2014). La acidez, la humedad y los contenidos de potasio, calcio, magnesio y aminoácidos de la miel, así como el tiempo y temperatura de almacenamiento y de tratamiento térmico, son factores que aumentan los contenidos de HMF (Ramírez Cervantes et al., 2000; INTI, 2009; Kadar et al., 2010). La vinculación con el oscurecimiento de la miel es producto de la interacción del HMF con compuestos aminorados y azúcares (polimerización), tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (Jeuring & Koppers, 1980). También es responsable del desarrollo de sabores y olores extraños, y es considerado como un índice de deterioro y envejecimiento del producto (Ghoshdastidar & Chakrabarti, 1992; Piro et al., 1996; Ramírez Cervantes et al., 2000). Como indicador de frescura, el CAA establece un contenido máximo permitido de 40 mg/kg, si bien a nivel internacional se permite hasta 80 mg/kg, debido a la existencia de países con altas temperaturas ambiente (Codex Alimentarius, 1999).

Dentro de las particularidades organolépticas de la miel se encuentra el color, aspecto de importancia al momento de su comercialización (Acquarone, 2004; Delmoro et al., 2010). La coloración de la miel puede determinar el rechazo o aceptación del producto por parte de los consumidores, por lo tanto es un aspecto considerado al fijar el precio de compra, siendo las mieles claras las mejor cotizadas. La naturaleza del color, conjuntamente con el aroma y sabor, sirven para diferenciar las mieles por origen botánico o geográfico (Delmoro et al., 2010).

El contenido mineral representa a uno de los componentes minoritarios de la miel; oscila entre 0,04% en mieles claras y 0,2% en mieles oscuras (Alqarni et al., 2014). Su contenido dependerá del origen floral, clima, condiciones del suelo y ambiente, y de la manipulación del producto durante la cosecha y posterior extracción (Acquarone, 2004; Escuredo et al., 2013). El potasio es el elemento más abundante, correspondiendo generalmente a un tercio del contenido mineral total encontrado en la miel (Yücel & Sultanoglu, 2013; Alqarni et al., 2014; Basso et al., 2015). En cantidades más pequeñas, la miel también contiene sodio, hierro, cobre, silicio, manganeso, calcio y magnesio.

Dentro de los componentes mayoritarios se encuentran los azúcares, que constituyen el 90 a 95% de la materia seca (Acquarone, 2004; Díaz Moreno, 2009). La glucosa y fructosa representan del 80 al 90% de los azúcares totales, con valores de alrededor de 34% de glucosa y 38% de fructosa, con una relación glucosa/agua de 1.95 (Acquarone, 2004; Díaz Moreno, 2009). Algunos de los azúcares presentes en la miel no se encuentran en el néctar, sino que se forman durante la maduración y el almacenamiento. De esta manera, con el pasar del tiempo, la composición de azúcares varía, aumentando el contenido de glucosa y fructosa y disminuyendo el de sacarosa (Díaz Moreno, 2009; Hasan, 2013).

La miel, como solución sobresaturada de azúcares, tiene la capacidad de cristalizar; dicho evento consiste en un proceso de formación de cristales de azúcar, principalmente de glucosa, tras una liberación de agua. Dentro de los factores que influyen sobre la velocidad de cristalización encontramos la proporción entre los azúcares, y entre éstos y el agua (Belay et al., 2015), la temperatura de almacenamiento (Bhandari et al., 1999; Conforti et al., 2007), la presencia de núcleos de cristalización, la aplicación de tratamientos térmicos y mecánicos (homogenización, pasteurización, licuado, batido, siembra) y el material de envasado (Martínez Martí, 2018). La cristalización genera dificultades para la manipulación del producto durante su fraccionamiento, y desde el punto de vista del consumidor, no cumple con los estándares demandados, como son fluidez y apariencia; de ahí la importancia de lograr un producto líquido que pueda perdurar en góndola un largo período de tiempo (Kabbani et al., 2011; Escriche et al., 2014). Bhandari et al. (1999) han sido unos de los primeros en describir estrategias para evitar dicha cristalización. Martínez Martí (2018) observó que calentar la miel durante 5 o 10 min a 70-75°C, resulta en la fusión de los cristales de glucosa, logrando de esta forma que el producto permanezca en estado líquido durante meses; en cambio calentarla por debajo de 55°C, no fue efectivo para fundir algunos núcleos de cristalización microscópicos, por lo que en un corto período de tiempo cristalizaron. Adicionalmente, los tratamientos térmicos de la miel son empleados para destruir levaduras que podrían causar problemas de fermentación durante su almacenamiento, sobre todo en mieles con elevado contenido de humedad. Independientemente del

objetivo del tratamiento térmico de la miel, aplicado durante o posteriormente al proceso de extracción, es de gran importancia definir cuáles son las condiciones de tiempo y temperatura involucrados, ya que pueden modificar la calidad físico-química y organoléptica del producto final (Tosi et al, 2002; Subramanian et al., 2007).

En Argentina es frecuente la utilización de serpentinas y circulares calientes para realizar el tratamiento térmico de la miel. Dichos dispositivos son aplicados sobre la superficie de la miel cristalizada envasada en tambores, y son sistemas que requieren de 8 a 12 h para licuar la totalidad del producto, dependiendo del grado de cristalización y de la temperatura de funcionamiento (Visquert Fas, 2015). En menor medida se emplean mantas térmicas dispuestas sobre los tambores, y licuadores, constituidos por recipientes con doble camisa, en donde el tratamiento se realiza a partir del calentamiento del agua dispuesto en el espacio existente en la doble pared.

En la actualidad, la complejización del procesamiento de alimentos destinado a obtener productos que den respuesta a los retos y necesidades que la sociedad plantea, ha alcanzado también a la industrialización de la miel; es así que existen tecnologías más innovadoras, tales como el ultrasonido, que son experimentadas sobre este producto. El ultrasonido consiste en ondas acústicas generalmente superiores a los 20 kHz, que exceden el límite auditivo del oído humano. Las ondas de ultrasonido al atravesar un medio líquido promueven un fenómeno de cavitación acústica, que es responsable de la generación y evolución de microburbujas en el medio líquido, las cuales al alcanzar un tamaño crítico, colapsan violentamente liberando la energía acumulada. El choque mecánico de las microburbujas por efecto de la implosión abrupta y la energía liberada son los responsables de los cambios de estructura del alimento situados en el microentorno (Ulloa et al., 2013). Las ondas de ultrasonido son clasificadas en función del rango de energía: baja energía (baja intensidad, baja potencia) y alta energía (alta intensidad, alta potencia) (Awad et al., 2012; Solís-Silva et al., 2018). El ultrasonido de baja energía tiene frecuencias superiores a 100 kHz e intensidades por debajo de 1 W/cm², y se emplean para el análisis y control de calidad de los alimentos (Ulloa et al., 2013). El ultrasonido de alta energía, que utiliza intensidades superiores a 1 W/cm² a frecuencias de 20 a 500 kHz, es aplicado para inducir efectos en las propiedades físicas, mecánicas o químicas de los alimentos. En la miel el ultrasonido de alta energía es adoptado como reemplazo de metodologías convencionales de licuado, con el objeto de modificar la textura del alimento.

Kalogereas (1955), Liebl (1978), Thrasyvoulou et al. (1994) y Rajapakse (2007) informaron que las ondas sonoras de 24 kHz eliminaban los cristales existentes en la miel, retrasando la cristalización. Por su parte Kai (2000) estudió la licuefacción por ultrasonidos de mieles australianas. Este autor demostró que a una frecuencia de 20 kHz, se disolvían completamente los cristales en la miel en forma completa, observando que las muestras tratadas permanecían en estado líquido durante 350 días, advirtiendo un 20% de retardo de cristalización respecto a los tratamientos térmicos tradicionales. Ángeles Santos et al. (2016) probaron la licuefacción de la miel por ultrasonido encontrando que en las mieles tratadas se veía disminuido el tamaño de los cristales. Dariusz et al. (2007) percibieron que en tratamientos sobre mieles líquidas se producía una modificación significativa de la cristalización, con un aumento constante de su dureza y un mayor número de cristales finos, en contraposición a las muestras no tratadas, de cristalización heterogénea con cristales grandes. Por su parte Rajapakse (2007) observó cristales de forma de pentágono grande, mientras que en el tratamiento térmico tradicional los cristales eran en forma de espirales largos y delgados. Kabbani et al. (2011) licuaron muestras de miel de romero cristalizadas mediante tratamientos térmicos, con y sin ultrasonido, observando que el proceso de licuado era más rápido en los tratamientos que incluían el ultrasonido.

En relación a la calidad físico-química de la miel, Quintero-Lira et al. (2017), comprobaron que los tratamientos de ultrasonido no exhibían aumentos en el contenido de HMF. Estos resultados difieren de los observados por Nunta & Intipunya (2013) y Thrasyvoulou et al. (1994), quienes encontraron aumentos en el contenido de HMF después de los tratamientos con ultrasonido.

Otros aspectos de la calidad de la miel que se pueden modificar por estos tratamientos Chaikham & Prangthip (2015), Ángeles Santos et al. (2015), Chaikham et al. (2016) y Quintero-Lira et al. (2017), observaron incrementos de los fenoles totales, explicándose este resultado como producto de la desintegración del polen debido a la estimulación ultrasónica. Por otra parte Quintero-Lira et al. (2017) también señalaron que estos tratamientos producían un oscurecimiento de la miel, directamente proporcional al tiempo de duración de los tratamientos, si bien observaron una disminución en el tamaño del cristal, respecto de las mieles no tratadas.

La metodología de ultrasonido se presenta como una tecnología interesante para la industria del fraccionado de miel, ya que no sólo permitiría obtener una miel líquida por un largo período de tiempo, sino

que también, en el momento de la cristalización, no se formarían estructuras cristalinas defectuosas que desvalorizarían el producto, con la ventaja adicional que la exposición mínima al calor empleado en estos sistemas, permitiría una mayor retención del aroma y sabor. Además existe el beneficio adicional de la disminución de las necesidades de energía de los procesos de licuado, así como la reducción de los costos ambientales y financieros, permitiendo de esta manera ahorrar costos de procesamiento, en comparación con los sistemas empleados tradicionalmente. Es en este sentido que el objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia del tratamiento térmico con ultrasonido sobre la calidad de la miel y su posterior cristalización durante el almacenamiento.

METODOLOGÍA

El diseño experimental abarcó las temperaturas que normalmente son empleadas por los productores para lograr su licuado. Por su parte la temperatura seleccionada para el almacenamiento fue de 15°C, ya que es la que promueve la mayor velocidad de cristalización. La toma de muestra de la miel, que se constituyó como matriz, se realizó siguiendo el protocolo de muestreo de la norma IRAM N° 15929 (IRAM, 1994). Con el objeto de tomar una muestra representativa, la unidad de muestreo fue un único tambor de 330 kg de miel recién cosechada y en estado líquido, al cual mediante una pipeta-calador se le extrajeron tres muestras elementales (tercio superior, medio e inferior), a partir de las cuales se formó una única muestra global que fue empleada como base para los ensayos, y a la que se le realizó el análisis de origen melisopalínológico y calidad físico química (B_m).

La muestra global fue dividida en dos porciones, una de ellas, para realizar el seguimiento de la cristalización natural durante su almacenamiento a 15°C (B_{Liq}) (muestra sin ningún tratamiento), y otra para los distintos tratamientos de ultrasonido y realizar el seguimiento de la cristalización pos tratamiento (Mc). La B_{Liq} fue almacenada a 20°C hasta el momento de ejecución del ensayo de cristalización, con el objeto de mantenerla en estado líquido original. Por su parte Mc, con una absorbancia inicial de 0,127 ($DS \pm 0,58E^{-03}$) a 660 nm, fue almacenada a 15°C ± 1 para lograr su total cristalización (absorbancia de 2.5 a 660 nm) a los 95 días, para posteriormente proceder a su fraccionamiento en tubos. La miel Mc cristalizada fue fraccionada en 52 tubos plásticos de 45 ml de capacidad y de 26 mm de diámetro, siendo éstos llenados dejando un espacio libre menor al 10% de su altura y cerrados con tapa a rosca y Parafilm®; 24 tubos fueron destinados para el análisis físico-químico pos-tratamiento con ultrasonido ($T_{f-q} T1$), 24 tubos para estudiar el proceso de cristalización pos-tratamiento ($T_c T2$), 3 tubos para control de temperatura durante los tratamientos de ultrasonido ($Ctrol_{60-50-40}$) y 1 tubo se constituyó como muestra de control o blanco de contraste ($B_c TO$), el cual fue conservado a 4°C hasta su análisis. El ensayo consistió en someter a las muestras T_{f-q} y T_c a tratamientos de ultrasonido a 60°C ± 1 , 50°C ± 1 y 40°C ± 1 , mediante el empleo de un baño maría provisto de ultrasonido, de una frecuencia de 40 kHz y de una potencia ultrasónica de 80 W, marca Testlab® (Argentina). La duración de los tratamientos fue de 1h a 8 h, extrayendo una muestra T_{f-q} y T_c , a cada hora. El tiempo de tratamiento comenzó a contabilizarse a partir de que la temperatura de la miel $Ctrol$ alcanzó la temperatura del ensayo. Luego de su tratamiento las muestras fueron enfriadas en baño con hielo hasta los 20°C. Las T_{f-q} fueron almacenadas en heladera a 4°C para su posterior análisis físico-químico, y T_c y B_{Liq} fueron trasvasadas a 4 cubetas por muestra, las cuales, previa medición del grado de absorbancia (nivel de licuado), fueron almacenadas en cuarto de 15°C, con el objetivo de medir el proceso de cristalización semanalmente. En el ensayo se registraron la temperatura del agua y de la miel mediante el empleo de termómetros de mercurio, y la temperatura y humedad del cuarto de almacenamiento de 15°C, mediante un equipo termo-higrómetro Hangbo® (China).

Como variables de respuesta se utilizaron los parámetros fisicoquímicos de humedad (%), acidez libre (meq/kg), color (mm Pfund) y HMF (mg/kg) para T_{f-q} y B_c , y la absorbancia para T_c y B_{Liq} . Se emplearon los protocolos de las normas IRAM para la determinación de humedad (IRAM N°15931, 1994), color (IRAM N°15941-2, 1995), acidez (IRAM N°15933, 1994) y HMF (IRAM N°15937-2, 1995), y la lectura de la absorbancia a 660 nm semanalmente, para la medida de la cristalización pos tratamiento de ultrasonido durante el almacenamiento (Lupano, 1997). Adicionalmente, con el objeto de definir con un mayor detalle la calidad de la miel seleccionada como matriz (B_m), se determinó el contenido de glucosa (%) y fructosa (%), mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Bogdanov & Baumann, 1988); ceniza (%), mediante la técnica analítica de la norma IRAM N°15932 (1994); diastasa (ID), de acuerdo a norma IRAM N°15939 (1995); origen melisopalínológico cuantitativo (%), por el método de microscopía de Louveaux

(1978) y la composición mineral (mg/kg), mediante la técnica analítica multielemental de fluorescencia de rayos X por reflexión total (TXRF) (Enrich et al., 2007).

Se empleó el análisis de estadística descriptiva, media (X) y desvío estándar (DS), para cada uno de los parámetros físico-químicos a cada tiempo y temperatura, B_c y B_m. Se utilizó la prueba F para estimar diferencias significativas (p<0,05) entre tratamientos, y posteriormente un test de comparaciones múltiples, la Prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) a un nivel de significancia del 5%, para la obtención de una secuencia jerárquica de formación de conglomerados con diferencias significativas de medias de tratamientos con el programa INFOSTAT 2020 (Di Rienzo et al., 2020).

A su vez el comportamiento de las variables de respuesta en relación al tiempo de tratamiento fueron analizadas mediante modelos de cinética química, con el objeto de estimar el tipo de cinética presente: orden cero, uno o dos (Salinas-Hernández et al., 2007; Piergiovanni & Limbo, 2010). Para poder definir el orden de la reacción se realizaron regresiones lineales entre los valores de los parámetros de calidad en relación al tiempo de tratamiento. Para seleccionar el tipo de cinética que más se ajusta a los resultados se optó por emplear los valores de coeficiente de correlación (R). Para el seguimiento de la cristalización se emplearon parámetros de estadística descriptiva y gráficos de Excel.

RESULTADOS

La muestra matriz (B_m) que se empleó para los ensayos de ultrasonido corresponde a una miel multifloral con una preponderancia de “acacia negra” *Gleditsia triacanthos* L. (32%), “eucaliptus” *Eucalyptus* sp (20%) y *Lotus* sp. (19%). En la Tabla 1 se señala la composición melisopalínológica, indicando los porcentajes de representación de los pólenes mayoritarios y minoritarios.

Tabla 1
Análisis de origen botánico de la miel empleada para el ensayo B_m.

Espece	%
<i>Gleditsia triacanthos</i>	31,6
<i>Eucalyptus</i> sp.	19,8
<i>Lotus</i> sp.	19,0
Otras leguminosas	8,9
<i>Ligustrum</i> sp.	4,9
<i>Umbelliferae</i>	4,9
<i>Echium</i> sp.	1,9
<i>Trifolium pratense</i>	1,3
<i>Laminaceae</i>	1,3
<i>Trifolium</i> sp.	1,1
<i>Vicia</i> sp. L.	1,1
<i>Vervenaceae</i>	0,4
<i>Mellilotus</i> sp.	0,2
<i>Carduus</i> sp.	0,2
<i>Heliotropium</i> sp.	0,2
<i>Quenopodeaceae/Amaranthaceae</i>	0,2

En relación a la calidad físico-química se observaron elevados niveles de diastasa ($X=26,2$ ID, $DS\pm 1,34$) y bajos contenidos de HMF ($X=2,05$ mg/kg, $DS\pm 0,32$), aspectos que se corresponden con una miel fresca. Su estado líquido inicial queda indicado a partir de los valores bajos de absorbancia de $0,127$ ($DS\pm 0,58E^{-03}$) a 660 nm. Por otro lado el color, que se relaciona con su origen botánico, resultó ser ámbar extra claro ($X=40$ mm, $DS\pm 0,38$). Los resultados del análisis de la calidad físico-química se muestran en la Tabla 2.

En la composición mineral, obtenida mediante la técnica TXRF se observaron elevados contenidos de potasio (774 mg/kg), fósforo (53 mg/kg), calcio (39 mg/kg) y azufre (24 mg/kg) (Tabla 3).

La calidad físico-química de la miel resultante de los tratamientos térmicos por ultrasonido a 60°C , 50°C y 40°C se representa en la Tabla 4, Tabla 5 y Tabla 6 respectivamente, correspondiendo al tiempo 0 los valores de los resultados de las variables de respuesta de la miel Bc, con un valor de absorbancia de $2,5$ ($DS\pm 0$) a 660 nm a los 95 días de almacenamiento a 15°C de temperatura.

Tabla 2

Valor promedio y desvío estándar de la calidad físico-química de la miel empleada para el ensayo (B_m).

Parámetro	Valor
Diastasa (ID)	$26,2\pm 1,34$
HMF (mg/kg)	$2,05\pm 0,32$
Cenizas (%)	$0,229\pm 0,009$
Acidez libre (meq/kg)	$21\pm 0,74$
Humedad (%)	$16,2\pm 0,05$
Color (mm Pfund)	$40\pm 0,38$
Glucosa (%)	32,91
Fructosa (%)	35,31
Absorbancia 660 nm	$0,127\pm 0,58E^{-03}$

Tabla 3

Espectro mineral de la miel empleada para el ensayo (B_m).

Elemento	Valor (mg/kg)
Potasio	774,33
Fósforo	53,04
Calcio	38,96
Azufre	24,11
Hierro	1,45
Rubidio	0,37
Estroncio	0,11

El tratamiento durante 8 hs a 60°C produjo una disminución de humedad del 0,75% respecto a Bc, además de un aumento del HMF de 2,34 mg/kg y del color de 3,5 mm. No se registraron variaciones de la acidez libre. En relación al fundido de los cristales, este el tratamiento logró el licuado de la miel con una absorbancia de 0,172 (DS±0,005) a 660 nm, respecto de los 2,5 de absorbancia a 660 nm de la miel cristalizada (Tabla 4).

El tratamiento de 8 h a 50°C manifestó una disminución de humedad del 0,60%, un aumento del HMF de 1,74 mg/kg, y del color de 2,5 mm, con respecto a Bc. Al igual que en el tratamiento a 60°C, no se observaron variaciones en el contenido de acidez. El tratamiento presentó un licuado semejante al de los tratamientos a 60°C y 40°C, con un nivel de licuado levemente menor (X= 0,180, DS±0,002) (Tabla 5).

Finalmente en el tratamiento de 8 h a 40°C, se presentó una disminución de humedad de 0,85%, y un aumento de HMF y del color de 2,34 mg/kg y 0,5 mm, respectivamente. No hubo diferencias en los contenidos de acidez y se logró un licuado adecuado representado con una absorbancia de 0,185 (DS±0,003) (Tabla 6).

Tabla 4
Características fisicoquímicas de miel con tratamiento de ultrasonido a 60°C durante 1 a 8 h de tratamiento.

Parámetro	Tiempo (horas)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Humedad (%)	16,40±0,00d	16,30±0,00c	16,15±0,07c	16,20±0,00c	16,10±0,00c	15,85±0,07b	15,80±0,00b	15,65±0,07a	15,65±0,07a	
Acidez (meq/kg)	21±0,3 a	19,9±0,3a	20,6±0 a	21,1±0,7a	21,5±0 a	21,1±0,7a	21,3±0,3a	21,3±0,3a	21,1±0,7a	
HMF (mg/kg)	2,45±0,62a	1,95±1,9a	2,70±2,5a	2,43±0,8a	2,99±0,4a	2,99±0,8a	3,44±0,6 a	4,79±1,7a	4,79±0,4a	
Color (mm)	43,5±0,58a	44,75±0,5b	44,75±0,5b	45 ± 0 b	45 ± 0 b	45 ± 0 b	46,5±0,58d	47 ± 0 d	47 ± 0 d	
Abs. 660 nm	2,5±0,0f	0,373±0,08c	0,187±0,001a	0,188±0,002a	0,187±0,004a	0,178±0,001a	0,177±0,002a	0,174±0,004a	0,172±0,005a	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P<0,05).

Tabla 5
Características fisicoquímicas de miel con tratamiento de ultrasonido a 50°C durante 1 a 8 h de tratamiento.

Parámetro	Tiempo (horas)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Humedad (%)	16,40±0,0d	16,25±0,04c	16,0±0,07b	16,15±0,04c	16,15±0,07c	15,8±0,07b	15,95±0,04b	15,8±0,07b	15,8±0,07b	
Acidez (meq/kg)	21±0,3 a	21,1±0,7a	21,3±0,3a	20,3±0,6a	20,6±0,3a	21±0,6 a	19,9±0,3a	19,9±1,3a	21±0,3 a	
HMF (mg/kg)	2,45±0,62a	2,40±0,8a	3,89±0,4a	3,89±0,8a	2,84±0,6a	3,14±0,6a	3,15±0,2a	3,59±0,4a	4,19±0,8a	
Color (mm)	43,5±0,58a	45,25±0,5b	45,25±0,5b	45 ± 0 b	45,5±0,58b	46 ± 0 c	46 ± 0 c	46 ± 0 c	46 ± 0 c	
Abs. 660 nm	2,5±0,0f	0,382±0,04c	0,235±0,04b	0,187±0,006a	0,186±0,002a	0,186±0,002a	0,185±0,002a	0,186±0,001a	0,180±0,002a	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p>0,05).

Tabla 6
Características fisicoquímicas de miel con tratamiento de ultrasonido a 40°C durante 1 a 8 h de tratamiento.

Parámetro	Tiempo (horas)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Humedad (%)	16,4±0,00 ^d	16,25±0,07 ^c	16,2±0,07 ^c	15,9±0,00 ^{bb}	15,85±0,04 ^b	15,8±0,0 ^b	15,85±0,04 ^b	15,55±0,04 ^{ba}	15,55±0,04 ^{ba}
Acidez (meq/kg)	2 1 ± 0 , 3 ^a	2 0 , 8 ± 0 ^a	2 0 , 1 ± 0 , 3 ^a	2 0 , 1 ± 1 ^a	2 1 , 0 2 ± 0 , 3 ^a	2 0 , 8 ± 0 ^a	1 9 , 9 ± 0 , 6 ^a	2 0 , 1 ± 1 ^a	2 1 , 2 ± 0 ^a
HMF (mg/kg)	2,45±0,62 ^a	2,45±0,8 ^a	2,44±0,5 ^a	2,50±0,8 ^a	2,32±0,6 ^a	2,67±0,8 ^a	3,14±1,1 ^a	3,55±0,6 ^a	4,79±1,1 ^a
Color (mm)	43,5±0,58 ^a	43,75±0,5 ^a	43,5±0,58 ^a	4 4 ± 0 ^a	4 4 ± 0 ^a	43,25±0,5 ^a	4 4 ± 0 ^a	43,5±0,58 ^a	4 4 ± 0 ^a
Abs. 660 nm	2,500±0 ^f	2,500±0 ^f	1,425±0,1 ^e	0,468±0,04 ^d	0,376±0,02 ^c	0,191±0,004 ^a	0,188±0,001 ^a	0,186±0,002 ^a	0,185±0,003 ^a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p>0,05$).

Como resultado del análisis estadístico se observaron diferencias significativas en los contenidos de humedad, color y absorbancia, y no significativas en HMF y acidez. Las humedades correspondientes a los distintos tiempos y temperaturas presentaron una disminución significativa respecto de Bc a partir de la 1° h a 60°C, 50°C y 40°C.

En el color los aumentos se produjeron a partir de la 1° h en los tratamientos a 60°C y 50°C, no habiendo diferencias en el tratamiento a 40°C. los conglomerados de medias reflejan la asociación de los valores comprendidos entre 1° y 5° h (letra "b"), y entre 6° y 8° h (letra "d") en el tratamiento a 60°C; en el tratamiento a 50°C, dicha asociación se dio entre 1° y 4° h (letra "b"), y entre 5° y 8° h (letra "c").

En el nivel de licuado se observó una disminución significativa de la absorbancia a partir de la 1° h de los tratamientos a 60°C y 50°C, y de la 2° h del tratamiento a 40°C. Además, se advirtió una disminución semejante en varios de los tratamientos; esto se visualiza en la pertenencia al mismo conglomerado "a" de medias de las 3 temperaturas: desde 2° a 8° h a 60°C, desde 3° a 8° h a 50°C y desde 5° a 8° h a 40°C.

Respecto del HMF, si bien se observó un aumento en relación a Bc a las 8 h del tratamiento a las tres temperaturas probadas, éstas no fueron significativas. Tampoco lo fueron las diferencias en la acidez libre de ninguno de los tratamientos.

Tanto el HMF como la acidez libre no presentaron diferencias significativas entre los valores correspondientes a los distintos tiempos.

En la Tabla 7 se representan los resultados de coeficiente de determinación (R^2), coeficiente de correlación (R), el tipo de cinética, la fuerza y el sentido de la regresión de aquéllas variables de respuesta que mostraron diferencias significativas en los tratamientos de ultrasonido.

El coeficiente de correlación (R^2) refleja la bondad del ajuste de un modelo a la variable que se pretende explicar, siendo que cuanto más cerca de uno se sitúe su valor, mayor será el ajuste o fiabilidad del modelo, es decir menor será el desvío de la variable de respuesta respecto a su media. Los valores de mayor fiabilidad de ajuste observados se presentaron en la humedad durante el tratamiento a 60°C (R^2 0,95), absorbancia 660nm a 40°C (R^2 0,9) y color a 60°C (R^2 0,87).

Para poder definir la velocidad u orden de la reacción se realizaron regresiones lineales entre los valores de los parámetros de calidad en relación al tiempo de tratamiento. Para las reacciones de orden cero se consideró el valor de la variable (Q) contra el tiempo de tratamiento (t), para las de orden uno el logaritmo natural de Q vs t y para el segundo orden $1/Q$ vs t. Para elegir el tipo de cinética que más se ajuste al comportamiento de la variable respecto a los tiempos de tratamiento, se optó por aquéllas que presentaron los mayores valores de R. El coeficiente de correlación (R) es un índice que permite medir el grado de relación entre las variables (Q y t), y que cuanto más cerca de 1 se sitúe su valor, mayor será la correlación, las cuales, según su valor, se pueden clasificar en perfecta (R 0,96-1), fuerte ($R=0,85-0,95$), significativa ($R=0,70-0,84$), moderada ($R=0,50-0,69$) y débil ($R=0,49-0,20$). Con respecto a la regresión, los valores positivos de R indican un sentido ascendente, es decir que se produjo un aumento de la variable respuesta (color) por cada aumento de la variable independiente (tiempo de tratamiento), por lo contrario, un valor negativo indicó una disminución en el valor de la variable de respuesta (humedad y absorbancia a 660 nm), respecto al aumento en el tiempo de tratamiento.

Tabla 7
Resultados del análisis de cinética química de los tratamientos de ultrasonido a 60°C 50°C y 40°C durante 1 a 8 h.

Variable	T°C	R Orden cero	R Orden 1	R Orden 2	Orden Resultante	Fuerza	R ²
Humedad	60°C	-0,9768	-0,9765	0,9763	0	Perfecta	0,95
	50°C	-0,879	-0,878	0,878	0	Fuerte	0,77
	40°C	-0,962	-0,960	0,961	0	Perfecta	0,93
Color	60°C	0,933	0,931	-0,932	0	Fuerte	0,87
	50°C	0,830	0,826	-0,823	0	Significativa	0,69
	40°C	0,235	0,234	-0,233	0	Débil	0,05
Absorbancia 660 nm	60°C	-0,591	0,778	-0,683	1	Significativa	0,61
	50°C	-0,596	0,802	-0,697	1	Significativa	0,64
	40°C	-0,871	0,948	-0,936	1	Fuerte	0,90

Para estimar la cinética del comportamiento de las variables de respuesta, se seleccionaron aquellas que presentaron un coeficiente de correlación (R), igual o superior a la significancia (± 0.70). Como resultado se observó que la humedad presentó un comportamiento correspondiente a una cinética de orden cero descendente, entre fuerte y perfecta, a los 60°C, 50°C y 40°C; el color mostró una cinética de orden cero ascendente, entre fuerte y significativa, a 60°C y 50°C, respectivamente, y la absorbancia a 660 nm representó una cinética de orden uno significativa descendente, a 60°C y 50°C y fuerte descendente a 40°C. El comportamiento cinético de la humedad y color, presentaron cinéticas de orden cero, lo que indica que ninguna de estas variables es dependiente de valor inicial. Por su parte la cinética del licuado, a partir de sus valores de absorbancia, de orden uno, señala que la velocidad de licuado es proporcional al nivel de cristalización de la miel (Tabla 7).

En la Figura 1 fueron representados los valores de las variables de respuesta en relación a las horas de duración de los tratamientos, para las tres temperaturas experimentadas.

En concordancia a las líneas de tendencia del gráfico de humedad, y considerando la pendiente de la fórmula de regresión derivada, se observa una disminución de 0,10%, 0,07% y 0,10% de los contenidos de agua de la miel, a 60°C, 50°C y 40°C respectivamente, por cada hora adicional de duración del tratamiento. En relación al aumento del color resultante de los tratamientos a 60°C, 50°C y 40°C la tendencia fue de 0,40 mm, 0,30 mm y 0,06 mm respectivamente, por cada unidad de tiempo añadida. Los parámetros humedad, color, HMF y acidez presentaron un comportamiento lineal, siendo el parámetro humedad el que presentó la mayor linealidad o fiabilidad del modelo (R²).

Los procesos de cristalización de las mieles licuadas por el sistema de ultrasonido durante 2 h, 4 h, 6 h y 8 h, a las tres temperaturas de tratamiento y almacenadas a 15°C \pm 1 se representan en la Figura 2, considerando al valor de 2,5 de absorbancia a 660nm, como punto final de la cristalización. El tratamiento a 1 h a 60°C no fue suficiente para asegurar una miel líquida por un lapso de tiempo mínimo de 6 meses, ya que el máximo de cristalización se alcanzó a los 63 días pos tratamiento. Por su parte los tratamientos a la misma temperatura durante 2 y 3 h lograron la máxima cristalización después de los 6 meses (192 días). Para tiempos superiores a 60°C de tratamiento la cristalización se encontró en el rango de 238 a 332 días. En el tratamiento a 50°C las mieles tratadas durante 1 y 2 h cristalizaron entre los 77 a 85 días, en los de 2 y 3 h entre los 157 y 176 días, en el de 4 y 5 h entre los 206 a 246 días y en el de 8 h logró un tiempo de cristalización igual al tratamiento en el mismo tiempo a 60°C, de 332 días. En el tratamiento a 40°C durante una hora de duración no llegó a fundir la miel, por su parte, en el de 2 h, si bien se logró un

fundido parcial (1,5 de absorbancia), a los 12 días la miel se encontraba totalmente cristalizada. En los tratamientos de 3 y 4 horas, con una miel parcialmente licuada, con un nivel de 0,300 de absorbancia aproximadamente, se alcanzó el máximo de cristalización, a los 63 y 70 días, respectivamente, y con 5 y 6 h de tratamiento a los 185 días. Finalmente los tratamientos durante 7 y 8 h a 40°C terminaron de cristalizar a los 206 días. La muestra de control (B_{Liq}), almacenada a 15°C, logró su máxima cristalización a los 77 días, valor inferior al de los tratamientos experimentados, a excepción de aquellos tratamientos en donde el nivel de licuado al tiempo 0 se encontró por arriba de los 0,250 de absorbancia: 1 h a 60° y 50°C, y 1 a 4 h a 40°C.

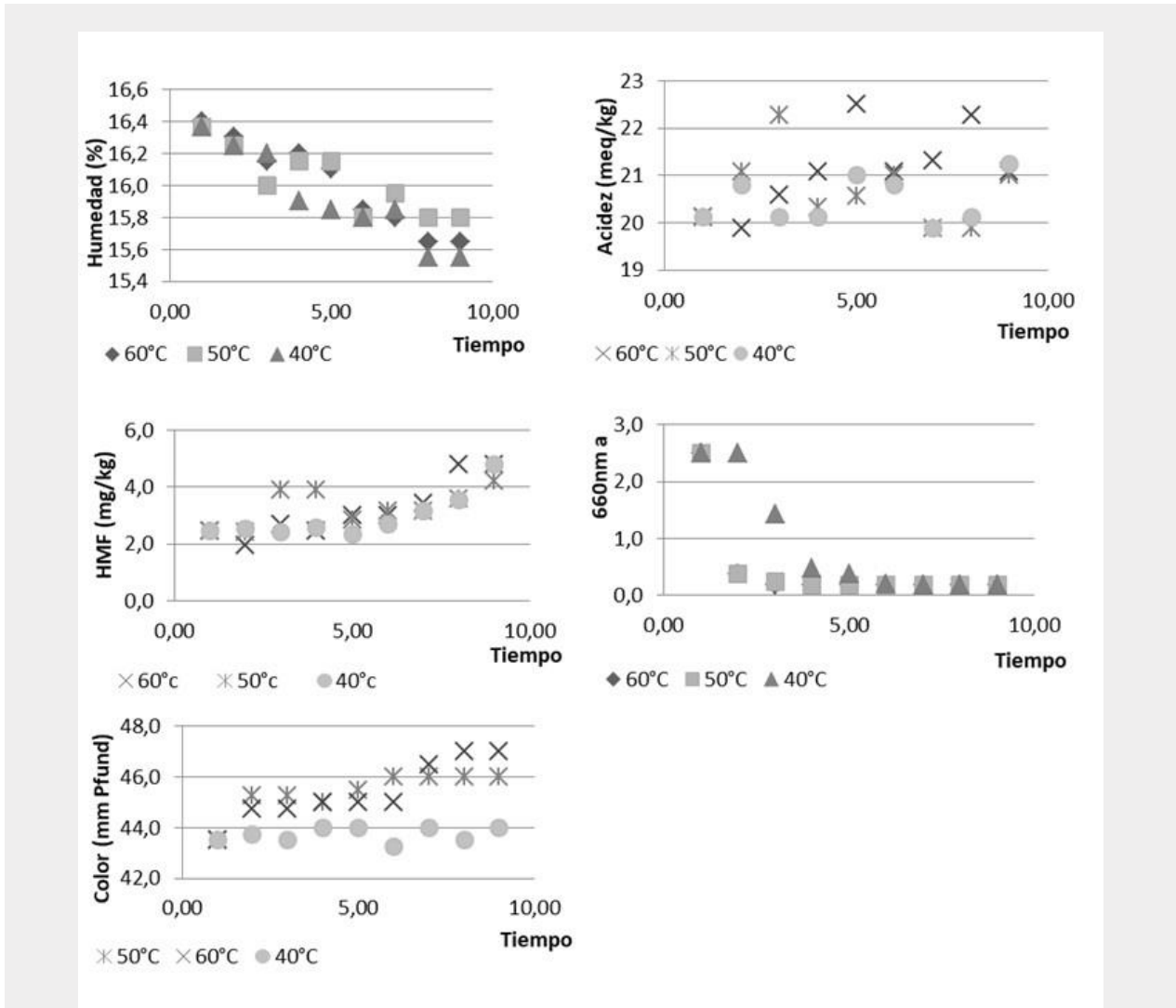


Figura 1

Comportamiento de la humedad (%), acidez (meq/kg), HMF (mg/kg), absorbancia a 660 nm y color (mm) de la miel durante los tratamientos de ultrasonido a 60°C, 50°C y 40°C en un rango de tiempo de 1-8 h.

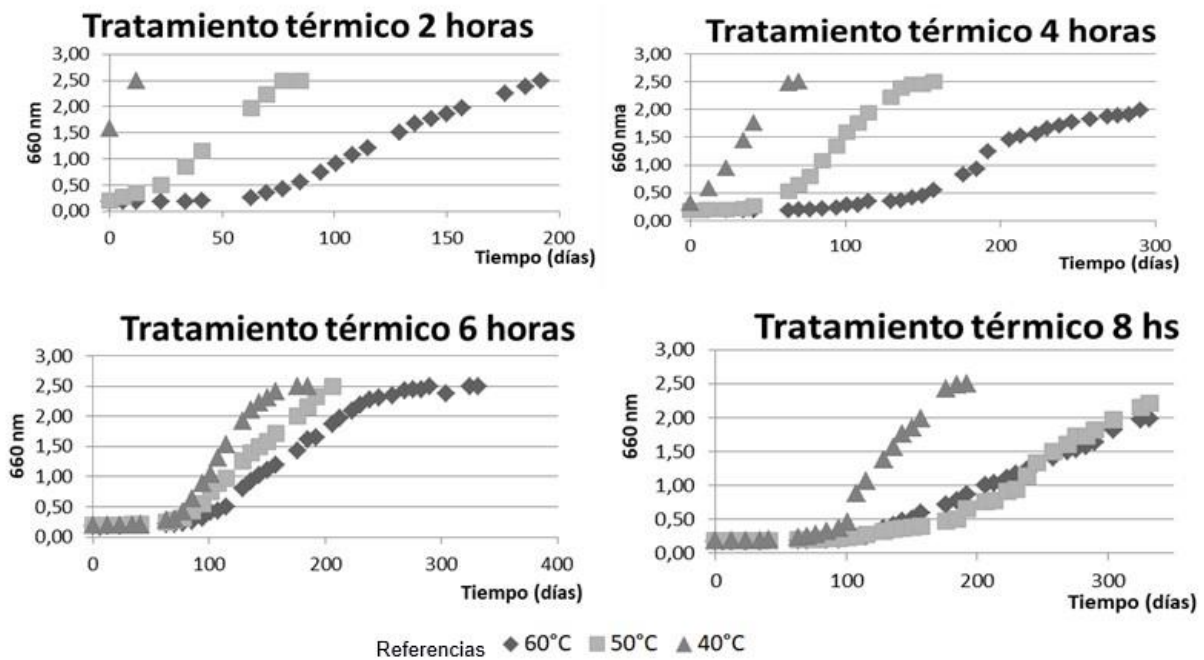


Figura 2
Comportamiento de la cristalización de la miel tratada a 60°C, 50°C y 40°C durante 2, 4, 6 y 8 h de tratamiento.

DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo se ha podido observar que los tratamientos con ultrasonido de 40 kHz y de una potencia ultrasónica de 80 W, en combinación con temperaturas de 60°C y 50°C durante 4° h y 8° h respectivamente, han logrado retrasar la cristalización por un lapso de tiempo superior a los 300 días. Estos valores son similares a los obtenidos por Kai (2000), quien en tratamientos de frecuencias de 20 kHz sobre mieles australianas observó que permanecían en estado líquido durante 350 días, advirtiendo un 20% de retardo de cristalización respecto a los tratamientos térmicos tradicionales. También hay coincidencia con Ángeles Santos et al. (2016) y Dariusz et al. (2007), quienes con tratamientos de 42 kHz y 40 kHz a 20°C observaron un aplazamiento significativo de la solidificación de las muestras almacenadas, con una mejora del estado de la masa cristalina fina. El proceso de cristalización en las muestras sometidas a los tratamientos experimentados en comparación con la muestra B_{Liq}, muestra que el tratamiento de ultrasonido a 40°C durante 8 h es eficiente para lograr el retardo en la cristalización del producto. Por su parte los tratamientos a 60°C y 50°C durante 8 h mantuvieron la miel en estado líquido a los 6 meses de su almacenamiento a 15°C.

En relación a la alteración de los parámetros de calidad resultantes de los tratamientos experimentados, el aumento en el color es coincidente con los resultados obtenidos por Quintero-Lira et al. (2017), que advirtieron un oscurecimiento del color directamente proporcional a los tiempos de duración de los tratamientos a 42 kHz. Adicionalmente la variación no significativa del HMF obtenido en el presente trabajo es coincidente con los observados por Quintero-Lira et al. (2017) y opuestos a los informados por Nunta & Intipunya (2013) y por Thrasyvoulou et al. (1994) quienes encontraron aumentos en el contenido de HMF después de un tratamiento de 45,5 kHz y 23 kHz en el rango de temperaturas de 25°C a 82°C de 25 min a

1,5 h. Cabe indicar que en caso de utilizar el método en mieles con mayor HMF de base, se considere que éste parámetro se elevará. Con respecto a la pérdida de humedad, no se encontraron referencias que permitan discutir los resultados, sin embargo es importante resaltar que es un aspecto positivo en mieles cuyos contenidos de agua son elevados, ya que permite una mejor conservación del producto frente al ataque microbiano.

CONCLUSIONES

La Argentina se caracteriza por la venta de miel a granel, siendo el fraccionamiento del producto un agregado de valor que permite ampliar el margen de ganancia de los productores apícolas, y por lo tanto su sustentabilidad productiva. Para el fraccionamiento se requiere asegurar un producto que desde el punto de vista del consumidor cumpla con los estándares demandados, como son la fluidez y apariencia, además de conservar su calidad. A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo se observa que el sistema de ultrasonido se presenta como una alternativa de reemplazo de los sistemas tradicionales empleados sobre la miel para lograr su licuado, ya que si bien se vieron alterados algunos de los parámetros de calidad, a favor de lograr un estado líquido del producto prolongado, estas variaciones no superaron los valores dispuestos en las reglamentaciones ni ocasionaron importantes cambios en la calidad comercial del producto. Es importante resaltar que esta situación puede variar cuando los valores iniciales de los parámetros fisicoquímicos, y particularmente el del HMF, fueran diferentes a los valores encontrados en el presente trabajo, de ahí la importancia de conocer la calidad de la miel previamente a la aplicación de un tratamiento térmico para evitar dañar el producto, que ocasionaría circunscribir la comercialización hacia los mercados menos exigentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Acquarone, C.A.** (2004). Parámetros físico-químicos de mieles, relación entre los mismos y aplicación potencial para la determinación del origen botánico y/o geográfico de mieles argentinas. Lic. Tesis. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Licenciatura en Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Belgrano, Buenos Aires, Argentina. 56 pp.
- Alimentos argentinos.** (2019). Síntesis Apícola N°187, Diciembre 2019. Pag N°2. ISSN 2618-4168. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Apicultura/documentos/MIELn187ANEXO.pdf>. Último acceso: noviembre de 2020.
- Alqarni, A.A.; A.A. Owayss; A.A. Mahmoud & M.A. Hannan.** (2014). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society* 18(5): 618-625.
- Ángeles Santos, A.; G. Aguirre-Álvarez; A.D. Hernández-Fuentes; A.C. Figueira & R.G. Campos-Montiel.** (2015). Efecto del ultrasonido en los compuestos fenólicos y actividad antioxidante por ABTS aplicado en diferentes mieles. *Boletín De Ciencias Agropecuarias Del ICAP* 1(1).
- Ángeles Santos, A; D.J. Pimentel González; E.A. González Vargas; R. Solís Silva & R.G. Campos Montiel.** (2016). Efecto de ultrasonido en la descristalización de la miel. *Investigación y desarrollo en ciencias y tecnologías de alimentos* 1(1): 818-823.
- Awad, T.S.; H.A. Moharram; O.E. Shaltout; D. Asker & M.M. Youssef.** (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food research international* 48(2): 410-427.
- Basilio, A.M.; C.A. Fernández; M. Passalia & E.J. Romero.** (2002). Caracterización del contenido polínico de las mieles de la localidad de Junín, (provincia de Buenos Aires) a lo largo de la temporada de producción, y durante la maduración. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 31(3): 119-136.
- Basso, M.I; A.C. Dedomenici; G. Giglio; L. Cerchietti & M.C. Mouteira.** (2015). Evaluación preliminar de la relación entre origen botánico, parámetros fisicoquímicos y contenido mineral en mieles de La Plata. *Simposio Argentino de Paleobotánica y Palinología*. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. 60 pp.

- Belay, A.; W.K. Solomon; G. Bultossa; N. Adgaba & Samuel Melaku.** (2015). Botanical origin, colour, granulation, and sensory properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry* 167: 213-219.
- Bhandari, B.; B. D'Arcy & C. Kelly.** (1999). Rheology and crystallization kinetics of honey: present status. *International Journal of Food Properties* 2(3): 217-226.
- Bogdanov, S. & E. Baumann.** (1988). Bestimmung von Honigzuckern mit HPLC. *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* 79: 198-206.
- Cavia, M.M.; M.A. Fernández-Muiño; S.R. Alonso-Torre; J.F. Huidobro & M.T. Sancho.** (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry* 100: 1728-1733.
- Chaikham, P. & P. Prangthipb.** (2015). Alteration of antioxidative properties of longan flower-honey after high pressure, ultrasonic and thermal processing. *Food Biocience* 10: 1-7.
- Chaikham, P.; V. Kemsawasd & A. Apichartsrangkoon.** (2016). Effects of conventional and ultrasound treatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern Thailand. *Food Bioscience* 15: 19-26.
- Ciappini, M.C.; M.B. Gatti; M.V. Di Vito; J. Baer; M. Bellabarba; N. Erviti; A. Rivero & J.M. Sklate Boja.** (2009). Mieles de la provincia de Santa Fe (Argentina). Determinación palinológica, sensorial y fisicoquímica, según provincias fitogeográficas. *Invenio* 12(23): 143-150.
- Codex Alimentarius.** (1999). Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Proyecto de norma revisado del Codex para la miel. Disponible en http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCS/ccs7/S00_03s.pdf. Último acceso: noviembre 2020.
- Código Alimentario Argentino (CAA).** (2020). Capítulo X. Alimentos Azucarados. Actualizado a 09/2020. 75 pp. Disponible en http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/marco/CAA/capitulospdf/Capitulo_X.pdf. Último acceso: octubre 2020.
- Conforti, P.A.; C.E. Lupano; N.H. Malacalza; V. Arias & B.C. Castells.** (2007). Crystallization of Honey at -20°C . *International Journal of Food Properties* 9: 99-107.
- Dariusz, M. Stasiak, Zbigniew J. & Dolatowski.** (2007). Effect of sonication on the crystallization of honeys. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57(3): 133-136.
- Delmoro, J.; D. Muñoz; V. Nadal; A. Clementz & V. Pranzetti.** (2010). El color en los alimentos: determinación de color en mieles. *Invenio* 3(25): 145-152.
- Díaz Moreno, A.C.** (2009). Influencia de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad físico-química y biológica de la miel. Doc. Tesis. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España. 226 pp.
- Di Rienzo J.A.; F. Casanoves; M.G. Balzarini; L. Gonzalez; M. Tablada & C.W. Robledo.** (2020). InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>. Último acceso: octubre 2020.
- Enrich, C.; S. Boeykens; N. Caracciolo; G. Custo & C. Vazquez.** (2007). Honey characterization by total reflection x-ray fluorescence: evaluation of environmental quality and risk for the human health. *X-Ray Spectrometry* 36(4): 215-220.
- Escrive I.; M. Kadar; M. Juan-Borrás & E. Domenech.** (2014). Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. *Food Chem* 142: 135-143.
- Escuredo, O.; M. Míguez; M. Fernández-González & M.C. Seijo.** (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry* 138(2-3): 851-856.
- Ghoshdastidar, N. & J. Chakrabarti.** (1992). Studies on hydroxymethylfurfural formation during storage of honey. *Journal of Food Science and Technology* 29(6): 399-400.
- Hasan, S.H.** (2013). Effect of storage and processing temperatures on honey quality. *Journal of Babyton University/Pure and Applied Sciences* 21(6): 2244-2253.
- Instituto Nacional de Tecnología Industrial. (INTI).** (2009). Programa pruebas de desempeño de productos. Informe de análisis de miel. 48 pp. Disponible en: http://www.inti.gob.ar/productos/pdf/informe_tecnico_final_miel.pdf. Último acceso: septiembre de 2020.
- IRAM 15929.** (1994). Miel. Muestreo.

- IRAM 15931.** (1994). Miel. Determinación de la humedad. Método refractométrico.
- IRAM 15933.** (1994). Miel. Determinación de la acidez libre.
- IRAM 15937-2.** (1995). Miel. Determinación del contenido de HMF. Método de White.
- IRAM 15932.** (1994). Miel. Determinación de cenizas.
- IRAM 15939.** (1995). Miel. Determinación de la actividad diastásica. Método DIN 10750:1992.
- IRAM 15941.** (1995). Miel. Determinación del color Pfund.
- Jeuring, H.J. & F.J. Kupperts.** (1980). High performance liquid chromatography of furfural and hydroxymethylfurfural in spirits and honey. *Journal-Association of Official Analytical Chemists* 63(6): 1215-1218.
- Kabbani, D.; F. Sepulcre & J. Wedekind.** (2011). Ultrasound-assisted liquefaction of rosemary honey: Influence on rheology and crystal content. *Journal of Food Engineering* 107(2): 173-178.
- Kadar, M.; M. Juan Borrás; M. Hellebrandova; E. Domnech & I. Escriche.** (2010). Differentiation of acacia, sunflower and tilia honeys from different countries based on sugar composition, physicochemical and color parameters. *Bulletin USAMV Agriculture* 67(2): 252-258.
- Kai, S.** (2000). Investigación sobre ultrasonido licuefacción de mieles de Australia, la Universidad de Queensland (Australia), Departamento de Ingeniería Química. Disponible en: https://www.hielscher.com/es/honey_01.htm. Último acceso: septiembre 2020.
- Kalogereas, T.** (1955). Informe preliminar sobre el efecto de las ondas ultrasónicas en la cristalización de la miel. *Journal Science* 121(3140): 339-340.
- Khalil, I.; M. Moniruzzaman; L. Boukraâ; M. Benhanifia; A. Islam; N. Islam; S.A. Sulaiman & S.H. Gan.** (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules* 17(9): 11199-11215.
- Liebl, D.E.** (1978). Ultrasound and granulation in honey. *American Bee Journal* 118(2): 107.
- Louveaux, J.A.** (1978). L'analyou, polimique de mieles. In: *Traite de Biologie de L'abeille*. Tomo 3. Paris, Massonod. pp. 325-362.
- Lupano, C.E.** (1997). DSC study of honey granulation stored at various temperatures. *Food Research International* 30(9): 683-688.
- Martínez Martí, J.** (2018). Parámetros de calidad en la miel. Influencia de las condiciones del procesado. Grado. Tesis. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 41 pp.
- Mejía, W. & J. Serrano.** (2011). Obtención del 5-hidroximetilfurfural a partir de fructosa. Grado. Tesis. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 194 pp.
- Mouhoubi-Tafinine, Z.; S. Ouchemoukh; M. Bachir Bey; H. Louaileche & A. Tamendjari.** (2018). Effect of storage on hydroxymethylfurfural (HMF) and color of some Algerian honey. *International Food Research Journal* 25(3): 1044-1050.
- Moungói, Z. & E.M. Flora.** (2008). Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique. Doc. Tesis. Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España. 290 pp.
- Muangthai, P. & Y. Wiwatchankit.** (2014). Analysis of 5-Hydroxymethyl-2-Furfuraldehyde in electrolytic products and energy drink products. *Journal of Applied Chemistry* 7(7): 62-67.
- Nunta R. & P. Intipunya.** (2013). Melting of crystallized sunflower honey by high power ultrasonic method. *Food and Applied Bioscience Journal* 1(1): 24-33.
- Obschatko, E.; M. Foti & M. Román.** (2007). Los pequeños productores en la República Argentina. Importancia en la producción agropecuaria y en el empleo en base al censo Nacional Agropecuario 2002. Serie Estudios e Investigaciones. Argentina. IICA. N° 10. 155 pp. Disponible en <http://www.iica.int/Esp/regiones/sur/argentina/Paginas/Documentos.aspx>. Último acceso: octubre de 2020.
- Piergiovanni L. & S. Limbo.** (2010). Shelf life prodotto-dipendente. *Food packaging*. Food. Springer, Milano. 452 pp.
- Piro, R.; F. Capolongo; A. Baggio; G. Guidetti & F. Mutinelli.** (1996). Conservazione del miele: cinética di formazione dell'idrossimetilfurfurale e di degradazione degli enzimi (diastasi e invertasi). *Apicoltura Moderna* 87(3): 105-114.
- Prieto, M.; J.M. Mouwen; S. López Puente & A. Cerdeño Sánchez.** (2008). Concepto de calidad en la industria agroalimentaria. *Interciencia* 33(4): 258-264.
- Quintero-Lira, A.; A.Á. Santos; G. Aguirre-Álvarez; A. Reyes-Munguía; I. Almaraz-Buendía & R.G. Campos-Montiel.** (2017). Effects of liquefying crystallized honey by ultrasound on crystal size,

- 5-hydroxymethylfurfural, colour, phenolic compounds and antioxidant activity. *European Food Research and Technology* 243(4): 619-626.
- Rajapakse, T.B.J.** (2007). High-Power Ultrasound For Control Of Honey Crystallisation. PhD Thesis, School of Land, Crop and Food Sciences, University of Queensland, Australia. 205 pp.
- Ramírez Cervantes, M.A.; S.A. González Novelo & E. Sauri Duch.** (2000). Efecto del tratamiento térmico temporal de la miel sobre la variación de su calidad durante el almacenamiento. *Apiacta* 35(4): 162-170.
- Rodas, M.** (2020). Análisis de oportunidades para el desarrollo de valor agregado en el mercado de exportación de la industria de la miel argentina. M. Sc. Tesis. Facultad Regional Bahía Blanca, Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, Argentina. 89 pp.
- Salgado, C. & J. Maidana.** (2014). Physicochemical characterisation of honey produced in the Chaco province (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo* 46(2): 191-201.
- Salinas-Hernández, R.M.; G.A. González-Aguilar; M.E. Pirovani & F. Ulín-Montejo.** (2007). Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia* 23(2): 183-196.
- Semkiw, P.; W. Skowronek; P. Akubida; H. Rybak-Chmielewska & T. Szczesna.** (2010). Changes occurring in honey during ripening under controlled conditions based on α amylase activity, acidity and 5-hydroxymethylfurfural content. *Journal of Apicultural Science* 54(1): 55-64.
- Solís-Silva, A., A. Reyes-Munguía, G. Madariaga-Navarrete, R.G. Medina- Pérez, A.J. Campos-Montiel & J. Cenobio-Galindo.** (2018). Evaluación de la actividad antifúngica y antioxidante de una nanoemulsión W/O de *Opuntia oligacantha* y aceite esencial de *Citrus X sinensis*. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* (3):182-187.
- Subramanian, R.; H. Umesh Hebbar & N.K. Rastogi.** (2007). Processing of honey: a review. *International Journal of Food Properties* 10(1): 127-143.
- Thrasylvoulou, A.; J. Manikis & D. Tselios.** (1994). Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves. *Apidologie, Springer Verlag* 25(3): 297-302.
- Tosi, E.; M. Ciappini; E. Ré & H. Lucero.** (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry* 77(1): 71-74.
- Ulloa, J.A.; P.R. Ulloa; J.C. Ramírez Ramírez & B.E. Ulloa Rangel.** (2013). Ultrasonido: aplicaciones en el campo de los alimentos. *Revista Fuente Nueva Época* 4(14): 1-13.
- Visquert Fas, M.** (2015). Influencia de las condiciones térmicas en la calidad de la miel. Doc Tesis. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. 194 pp.
- Yucel, Y. & P. Sultanoglu.** (2013). Characterization of honeys from Hatay región by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience* 1: 16-25.