



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

LICUACIÓN DE LA MIEL POR ULTRASONIDO Y  
SU EFECTO EN LOS COMPUESTOS  
BIOACTIVOS

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

PRESENTA

ADRIANA ÁNGELES SANTOS

**Director:**

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

**Asesores:**

Dr. Rafael Germán Campos Montiel

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes



Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Junio 2015



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos

### Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis titulada: **“Licuación de la miel por ultrasonido y su efecto en los compuestos bioactivos**, que desarrolla la estudiante I.I.A. Adriana Ángeles Santos.

### Asistentes:

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez  
Dra. Alma Delia Hernández Fuentes  
Dr. Rafael Germán Campos Montiel

### A. Revisión de Trabajo de Tesis

#### Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la I.I.A Adriana Ángeles Santos, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

### B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que el estudiante imprima su trabajo final de tesis y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 27 de Mayo del 2015.

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez  
Dra. Alma Delia Hernández Fuentes  
Dr. Rafael Germán Campos Montiel

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## *Agradecimientos*

### *A Dios*

*Gracias Dios por Guiar mis pasos y manejarme como tu pieza de ajedrez, colocándome en el tiempo y lugar indicado para lograr todos aquellos objetivos que me hacen crecer cada día. Gracias señor por permitirme vivir este momento.*

### *Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)*

*Por el apoyo de la beca que fue proporcionada para realizar los estudios de Maestría en Ciencia de los Alimentos en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, que se encuentra incluida en el Padrón Nacional de Posgrado del CONACYT.*

### *Al Doctor Campos*

*Por haberme dado la oportunidad de entrar al mundo de la investigación y aceptarme en el grupo de trabajo que representa. Gracias por el apoyo, dedicación y enseñanzas que me otorgo para la conclusión de la investigación planteada.*

### *Al Doctor Gabriel*

*Por tomarse el compromiso conmigo para concluir el trabajo. Gracias Doctor por la dedicación, por el apoyo incondicional y por la confianza que siempre me brindo. Sin duda todas y cada una de las aportaciones dadas para la tesis fueron de gran interés para su desarrollo.*

### *A la Dra. Alma Delia*

*Gracias doctora por su amistad y apoyo que siempre me ha ofrecido, agradezco infinitamente la oportunidad que me dio de trabajar con usted, porque alimento mi capacidad para realizar un buen trabajo de investigación. Agradezco la confianza que deposito en mí.*

### *A los doctores*

*Quienes se tomaron el tiempo para transmitirme nuevos conocimientos de los temas correspondientes a mi profesión. Gracias por los sabios conocimientos que me regalaron y por las exigencias que en su momento me dieron, las cuales me sirvieron de mucho para crecer personal y profesionalmente. Gracias Dra. Norma, Dra. Aurora, Dr. Piloni y Dra. Diana.*

### *A mis compañeros y amigos*

*Agradezco a cada uno de mis amigos y compañeros que formaron parte de esta etapa en mi vida (Lupita, Yesi, Evita, Liz, Quina, Alicia, Hilda, Zaira, Gris, Bere, Mariel, Melissa, Lizbeth, Zarai, Mahonri, Toño, Jesús Guadalupe y Salvador) gracias por el apoyo que me dieron cuando lo necesite, por sus palabras y por ayudarme a resolver algunas dudas que se me presentaban. Agradezco enormemente por formar parte de esta travesía junto a mí. Muchas gracias por ofrecerme su amistad y en su momento por los abrazos tan sinceros que me regalaron.*

### *A Mis padres*

*Les dedico este éxito más aquellos bellos seres que me dieron la vida mi mami (Reyna) y mi papi (Dario). Les quiero agradecer por los ejemplos de perseverancia y constancia que me han brindado, gracias por aquellos valores que me inculcaron para salir adelante y por todo su amor. Agradezco infinitamente la confianza que han depositado en mí y el apoyo incondicional que me han ofrecido. Ustedes han sido el motor que me hace seguir adelante, ustedes son las personas que más me inspiran a seguir corriendo en la carrera de la vida. Gracias por nunca cortarme las alas y por impulsarme a volar hasta donde yo quiero. Nunca me cansare de agradecer cada logro que obtengo, porque todo lo que soy se los debo a ustedes. Los amo.*

### *A Rosy y Carmen*

*Mis dos hermosas hermanas que Diosito me regalo para compartir toda mi vida con ellas, quienes han sido mis confidentes, mis amigas y quienes siempre están ahí para darme un sabio consejo, les dedico este logro porque ustedes han sido testigos de todo lo que representa este trabajo para mí. Gracias por su confianza y admiración. Muchas gracias por estar siempre en todo momento. Las quiero mucho.*

### *A Danita, Ali y Santi*

*Mis dos niñas quienes me han regalado muchos años de alegría y que llenan mi vida. Les dedico este éxito más en mi vida, por sé que son dos niñas muy inteligentes y que van a lograr todo lo que se planteen. No les pido que sigan mis pasos pero sí que sigan sus sueños y logren las metas que se propongan. ¡Saben! la vida está llena de muchos triunfos y también fracasos, pero nunca hay que darse por vencidas, aunque alguien les diga que no pueden, ustedes deben mostrar lo contrario y nunca dejarse vencer. Las quiero mucho mis niñas consentidas.*

*También le dedico este trabajo a mi Ángel Especial, mi pequeño Santiago. Quien me dio muchas lecciones de vida y me despertó un amor incondicional. Gracias mi vida por llenarme esos meses de alegría e ilusiones. Fuiste una de las personitas que me impulso a*

*seguir a delante, tú me enseñaste a que por muy fuerte que sea la tormenta nunca hay que dejarse vencer y luchar hasta el último día. Te amo mi príncipe azul.*

### ***A mis abuelitos***

*Carmen, Consuelo y Graciela les dedico este logro porque ustedes siempre están presentes en mi corazón y sé que al igual que yo están contentos de verme crecer profesionalmente. Estoy totalmente segura que festejan en el cielo cada uno de mis éxitos, gracias por haber formado parte de mi vida y por ser de las personas que me motivan a seguir cosechando éxitos.*

### ***Al amor***

*Este logro en mi vida se lo dedico a una personita muy especial que toma el papel de amigo, confidente, consejero, guía, ejemplo y novio ese es mi gran amor César. Gracias corazón por llegar a mi vida, por compartir tantos años de experiencias buenas y malas a mi lado, te agradezco por estar ahí en cada momento que te necesito, gracias por no dejarme caer y cuando lo hago por hacer hasta lo imposible por levantarme. Este logro te lo dedico porque fuiste quien me motivo a volver a intentar y con tus palabras hiciste que confiara más en mí. Agradezco esa insistencia para demostrarme a mí misma que cuando realmente se quiere algo, se tiene que hacer hasta lo imposible por obtenerlo. Por eso y muchas cosas más te amo bebé.*

### ***A la familia Roldán Cruz***

*Sr. Javi, Sra. Elena y Javier, agradezco por cada una de sus palabras de motivación que me dieron para seguir adelante, gracias por estar al pendiente de mi crecimiento profesional y por todo el apoyo que me han dado.*

## Resumen

La miel es un alimento natural compuesto principalmente por azúcares y compuestos bioactivos. En el presente trabajo se realizó la licuación de la miel con ultrasonido y se determinó tamaño de cristal, color, hidroximetilfurfural (HMF), fenoles, flavonoides y sus propiedades antioxidantes (ABTS y DPPH). Se evaluaron mieles cristalizadas de cinco municipios del Estado de Hidalgo como el Arenal (multifloral), Acaxochitlán (multifloral), Huehuetla (multifloral), Orizatlán (monofloral) y Tasquillo (mielada). Para la licuación de las mieles se utilizó un baño ultrasónico Branson 3510 con una frecuencia de 42KHz y periodos de tiempo de 5, 10 y 15 minutos a una temperatura de 20°C. Los resultados mostraron que las mieles presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el tamaño de cristal al aplicarle ultrasonido, reduciendo su tamaño hasta  $153 \mu\text{m}^2$  en el caso de la miel del Arenal. Con respecto al color presentaron cambio de coloración el cual fue indicado por el ángulo Hue, tornando una coloración más oscura. El contenido de Hidroximetilfurfural en la miel del Arenal, Huehuetla, Tasquillo y Orizatlán no presentó efecto significativo ( $p > 0.05$ ), pero Acaxochitlán incrementó un 28.73% a los 15 minutos de tratamiento. En fenoles totales las mieles de Huehuetla, Acaxochitlán, Tasquillo y Orizatlán sí presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) incrementando su contenido de fenoles hasta un 214.47% en el caso de la miel de Orizatlán. Los flavonoides de las mieles de Arenal, Tasquillo, Orizatlán y Acaxochitlán se vieron favorecidos al incrementar un 14.15, 10.59, 22.15 y 19.92% respectivamente. Las mieles de Acaxochitlán, Tasquillo, Orizatlán y Huehuetla presentaron un incremento en su actividad antioxidante determinada por el radical ABTS incrementando hasta un 116.49% en el caso de la miel de Orizatlán. En la actividad antioxidante determinada por el radical DPPH las mieles de los municipios del Arenal, Tasquillo, Orizatlán y Acaxochitlán tuvieron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) al ser tratadas con ultrasonido aumentando su actividad antioxidante 13.56, 5.81, 7.02 y 2.25%. El ultrasonido es una tecnología emergente que puede ser utilizada para la licuación de la miel sin la necesidad de aplicar tratamiento térmico con el beneficio de incrementar las propiedades antioxidantes y mantener HMF dentro de los límites de una miel de buena calidad.

**Abstract**

Honey is a natural food composed mainly of sugars and bioactive compounds. In this paper the liquefaction of honey ultrasound was performed and crystal size, color, hydroxymethylfurfural (HMF), phenols, flavonoids and their antioxidant properties (ABTS and DPPH) were determined. Crystallized honey five municipalities in the state of Hidalgo and the Arenal (multifloral), Acaxochitlán (multifloral), Huehuetla (multifloral), Orizatlán (monofloral) and Tasquillo (honeydew) were evaluated. Branson 3510 ultrasonic bath was used with a frequency of 42 kHz and periods of 5, 10 and 15 minutes at a temperature of 20°C for liquefaction of honey. The results showed that honey differ significantly ( $p < 0.05$ ) in the crystal size by applying ultrasound, reducing its size to 153  $\mu\text{m}$  in the case of honey Arenal. Regarding the presented color discoloration which was indicated by the Hue angle, making a darker color. Hydroxymethylfurfural content in honey Arenal Huehuetla, Tasquillo and Orizatlan not show significant ( $p > 0.05$ ) in the content of this furan, but honey Acaxochitlan 28.73% increase to one 15-minute treatment. In total phenols honey Arenal had no effect when subjected to ultrasound, but Huehuetla honeys, Acaxochitlan Tasquillo and Orizatlan if significant differences ( $p < 0.05$ ) by increasing its content of phenols up 214.47% for the Orizatlan honey. Flavonoids Honeys Arenal, Tasquillo, Acaxochitlán Orizatlan and were favored to increment a 14.15, 10.59, 22.15 and 19.92% respectively. Honeys Acaxochitlan, Tasquillo, Orizatlan and Huehuetla showed an increase in their antioxidant activity determined by ABTS radical increase up to 116.49% for honey Orizatlan. In certain antioxidant activity by the DPPH radical honeys municipalities Arenal, Tasquillo, Orizatlan and Acaxochitlán they had a significant effect ( $p < 0.05$ ) when treated with ultrasound increasing their antioxidant activity 13.56, 5.81, 7.02 and 2.25%. Ultrasound is an emerging technology that may be used for the liquefaction of honey no need for heat treatment to increasing the antioxidant properties and maintain HMF within the limits of good quality honey.

## Índice General

1	INTRODUCCIÓN .....	1
2	MARCO TEÓRICO .....	3
2.1	Abejas .....	3
2.1.1	Tipos.....	3
2.1.2	Morfología interna.....	4
2.2	Miel.....	6
2.2.1	Composición.....	6
2.2.2	Proceso de producción de la miel.....	11
2.2.3	Tratamiento convencional de la miel .....	14
2.2.4	Clasificación.....	14
2.2.5	Producción de miel .....	15
2.2.6	Clima y flora de Municipios del Estado de Hidalgo productores de miel .....	18
2.2.7	Miel y la salud.....	19
2.2.8	Cristalización .....	20
2.2.9	Aplicación de tratamiento térmico para la manipulación de la miel....	22
2.2.10	Color en la miel.....	23
2.3	Tecnologías emergentes.....	24
2.3.1	Ultrasonido .....	24
2.3.2	Clasificación de ultrasonido .....	27
2.4	Compuestos bioactivos .....	31
2.4.1	Compuestos fenólicos .....	32
2.5	Mecanismo de la acción antioxidante.....	34
2.5.1	Métodos para determinar actividad antioxidante .....	35
3	ANTECEDENTES .....	36
4	JUSTIFICACIÓN .....	38
5	OBJETIVOS .....	39
5.1	Objetivo general.....	39

5.2	Objetivos Específicos .....	39
6	HIPÓTESIS .....	40
7	MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
7.1	Materiales.....	41
7.2	Diseño Experimental .....	41
7.3	Tamaño de cristal.....	42
7.4	Determinación de color .....	42
7.5	Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF) .....	43
7.6	Determinación de fenoles totales .....	44
7.7	Contenido de flavonoides totales .....	45
7.8	Determinación de actividad antioxidante del radical ABTS .....	45
7.9	Determinación de la actividad antioxidante por DPPH .....	46
7.10	Análisis estadístico .....	47
8	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	48
8.1	Tamaño de Cristal.....	48
8.2	Color.....	49
8.3	Contenido de Hidroximetilfurfural (HMF) .....	51
8.4	Fenoles totales .....	52
8.5	Flavonoides totales .....	53
8.6	Actividad antioxidante por radical ABTS .....	55
8.7	Actividad antioxidante por radical DPPH.....	56
8.8	Correlación de parámetros determinados de mieles del Estado de Hidalgo .....	57
9	CONCLUSIONES .....	59
10	RECOMENDACIONES .....	60
11	BIBLIOGRAFÍA .....	61

## Índice de figuras

Figura 1. Tipos de abejas .....	3
Figura 2. Tareas correspondientes de cada tipo de abeja .....	4
Figura 3. Morfología interna de la abeja.....	6
Figura 4. Depósito de néctar en las celdillas .....	11
Figura 5. Esquema de extracción y procesamiento de la miel .....	13
Figura 6. Yucatán mayor productor de miel a nivel nacional.....	17
Figura 7. Estado de hidalgo.....	17
Figura 8. Reacción para la cristalización de la glucosa a partir de soluciones acuosas, incluidas todas las formas tautómeras de glucosa en solución, y formas cristalinas estables. ....	21
Figura 9. Esquema de reacción simplificada para la cristalización de monohidrato $\alpha$ -glucosa. ....	22
Figura 10. Formación de hidroximetilfurfural .....	23
Figura 11. Representación esquemática (a) cavitación trascendente y (b) cavitación estable.....	26
Figura 12. Diversas aplicaciones del ultrasonido .....	29
Figura 13. Formación de la cavitación en el baño ultrasónico.....	31
Figura 14. Compuestos bioactivos y tipos .....	31
Figura 15. Estructura de los fenoles.....	32
Figura 16. Estructura de los flavonoides .....	33
Figura 17. Acción antioxidante .....	35
Figura 18. Ubicación de los municipios del estado de hidalgo productores de miel y tipos de clima .....	41
Figura 19. espacio de color cielab.....	42
Figura 20. Espacio de color para determinar el ángulo de tono ( $^{\circ}$ hue). ....	43
Figura 21. Curva patrón para fenoles totales .....	44
Figura 22. Curva patrón para flavonoides totales.....	45
Figura 23. Curva patrón para determinar actividad antioxidante por dpph.....	46
Figura 24. Curva patrón para determinar actividad antioxidante por abts .....	47

Figura 25. Efecto de ultrasonido en el tamaño de cristal de la miel cristalizada de diferentes municipios del estado de Hidalgo a tiempos de 5, 10 y 15 minutos. .....	48
Figura 26. Efecto de ultrasonido en el contenido de hidroximetilfurfural de la miel. .....	51
Figura 27. Efecto del ultrasonido en el contenido de fenoles totales de la miel ....	53
Figura 28. Efecto de ultrasonido en el contenido de flavonoides totales de la miel .....	54
Figura 29. Efecto del ultrasonido en la actividad antioxidante de la miel y su inhibición .....	56
Figura 30. Efecto del ultrasonido en la actividad antioxidante de la miel y su inhibición del radical DPPH.....	57

## **Índice de tablas**

Tabla 1. Composición química de la miel.....	10
Tabla 2. Determinación de los parámetros de color l, a+, b+, cromaticidad (cr) y tono o ángulo hue de las cinco mieles del estado de hidalgo tratadas con tiempos de ultrasonido de 5,10 y 15 minutos.....	50
Tabla 3. Coeficiente de correlación de mieles del estado de hidalgo referente a fenoles, flavonoides, abts, dpvh e hidroximetilfurfural.....	58

# 1 INTRODUCCIÓN

La miel es un alimento natural producido por las abejas (*Apis mellífera L.*) a partir del néctar de las flores y de secreciones de la planta, que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan en panales, de los cuales se extrae el producto sin ninguna adición. Es una solución de azúcar sobresaturada, su composición depende de las especies de plantas polinizadas por las abejas y las condiciones climáticas, de procesamiento y almacenamiento (Ajlouni & Sujirapinyokul, 2010).

De acuerdo a su composición se clasifica en florales, monoflorales, multiflorales y mieladas. La miel es conocida por ser rica en antioxidantes, incluyendo los flavonoides, ácidos fenólicos, derivados de carotenoides, ácidos orgánicos, aminoácidos y proteínas (Gheldof & Engeseth, 2002). Los antioxidantes identificados en diferentes mieles han demostrado ser eficaz en la reducción del riesgo de enfermedades del corazón, cáncer, declinación del sistema inmune, cataratas, y diferentes procesos inflamatorios (Lachman, Orsák, Hejtmánková, & Kovářová, 2010).

El producto de degradación más importante de la miel climatizada se considera que es el hidroximetilfurfural (HMF), formado por la deshidratación de hexosa como la fructosa especialmente a un pH de 5 o inferior, o por la reacción de Maillard (Fenema, 1996). El contenido HMF es un excelente indicador de la frescura de la miel, debe estar por debajo de 40mg Kg<sup>-1</sup>de acuerdo con el comercio internacional (Singh & Bath, 1997). La composición de la miel, así como las condiciones de almacenamiento afecta tanto cristalización y la formación de Hidroximetilfurfural (HMF) (E. Tosi, Ciappini, Ré, & Lucero, 2002).

La miel es altamente viscosa, a menudo sobresaturada y susceptible a la cristalización. La granulación espontánea puede dar lugar a cristales secundarios no deseados y puede causar pérdida de calidad debido a la separación de fases, sedimentación y aumento de la actividad del agua (Venir, Spaziani, & Maltini, 2010). La menor solubilidad de la glucosa permite ser la cristalización del

azúcar. La glucosa puede cristalizar como monohidrato  $\alpha$ -D-glucosa con la forma cristalina estable por debajo de 50°C, como anhidro  $\alpha$ -D-glucosa entre 50 y 80°C (Gleiter, Horn, & Isengard, 2006). La cristalización de la miel por lo general resulta en un aumento de la humedad de la fase líquida, lo que hace que la miel sea vulnerable a crecimiento de la levadura lo que puede causar fermentación del producto que con el tiempo produce modificaciones organolépticas posteriores y degrada la calidad, también causa problemas durante la manipulación y el procesamiento (E. Tosi et al., 2002; E. Tosi, Martinet, Ortega, Lucero, & Ré, 2008; Turhan, Tetik, Karhan, Gurel, & Reyhan Tavukcuoglu, 2008). Aunque la miel cruda es lo mejor, en las industrias se lleva a cabo el calentamiento de esta ya que es el único método práctico para facilitar el llenado debido a su viscosidad, este proceso igualmente se utiliza para la licuación de la miel cuando se encuentra cristalizada (Bath & Singh, 1999) (Bath, 1999). Sin embargo la aplicación de un tratamiento térmico puede destruir algunos compuestos como bionutrientes y vitaminas (E. Tosi et al., 2002).

Tecnologías alternativas tales como el ultrasonido se han estudiado en el pasado (d'Arcy, 2007; Kalogereas, 1955; Thrasyvoulou, Manikis, & Tselios, 1994), reportando que las ondas sonoras de baja frecuencia (9, 18, 23 y 24 kHz, respectivamente) eliminan los cristales existentes y retardan la cristalización posterior. También revelaron que el sonido de alta frecuencia destruye la levadura, mejora la apariencia, e inhibe la granulación del producto.

Por tal motivo la presente investigación tuvo como objetivo licuar la miel cristalizada con ultrasonido a una temperatura ambiente (20°C) y evaluar efecto que presentaba en los compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes, ya que es importante conservarlos porque son una fuente significativa para el buen funcionamiento del cuerpo humano.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Abejas

Las abejas son insectos sociales de la especie *Apis mellifera* perteneciente al orden Hymenoptera. Viven en familias o colonias de unos 20,000 a 50,000 individuos, comprendiendo una reina, varios miles de zánganos (en primavera) y obreras.

#### 2.1.1 Tipos

Existen tres tipos de abejas, las obreras, zánganos y la abeja reina (Figura 1), las cuales se definen por su tamaño, forma y por la actividad que realiza.



**Figura 1. Tipos de abejas**  
Fuente: Bermúdez, 2006.

La abeja reina es la madre de los individuos de la colonia. Es la única hembra perfecta. Su especialización la lleva a ser una verdadera máquina de poner huevos. Las obreras, hembras imperfectas realizan las tareas domésticas, desde la más noble a nuestros ojos, tal como la alimentación de las larvas, hasta la más vulgar, como la limpieza de la colonia, el carácter más fascinante es como se dividen las tareas dentro de la colonia. Los zánganos, machos de la especie, nacen en primavera y mueren antes de invierno, estos se encargan de fecundar a la reina (Figura 2). La reina, obreras y los zánganos no pueden vivir largo tiempo separados. Su independencia es un concepto clave en apicultura (Pirre & LeConti, 2007).



**Figura 2. Tareas correspondientes de cada tipo de abeja**  
Fuente: Ferreira, 2009.

## 2.1.2 Morfología interna

### 2.1.2.1 Órganos mecanorreceptores:

Las abejas responden a estímulos mecánicos que resultan del tacto, presión y vibración. Estos estímulos son captados por los “sensilla” que pueden derivarse de sedas simples o pelos unidos a una célula nerviosa; una terminación nerviosa o unos órganos más complejos con células sensoriales unidas a la parte del cuerpo. Las “sensilla” se encuentran en las antenas, patas y cuerpo.

*Receptores auditivos:* Son sedas muy sensibles, “sensilla” o tímpanos que detectan vibraciones de aire y sonidos. Cuando están localizados en las patas detectan vibraciones en el sustrato.

*Quimiorreceptores:* Se localizan casi siempre en las zonas constituyentes de la boca, y en las antenas en el caso de las abejas, Detectan olores y sabores.

*Receptores visuales:* Los insectos poseen dos tipos de ojos, unos simples (Ocelos) y otros compuestos.

### 2.1.2.2 Sistema reproductor

El sistema reproductor femenino es compuesto por los ovarios, de los que salen oviductos laterales que se unen en un único oviducto, vagina, glándulas colaterales y espermateca. El sistema reproductor masculino está compuesto por

los testículos, espermato ductos, vesícula seminal, glándulas colaterales, ducto eyaculatorio y pene.

### **2.1.2.3 Sistema digestivo**

Las abejas tienen piezas bucales adaptadas para succionar el néctar de las flores. Cuando se alimentan y el néctar está en la boca, ésta es cerrada por músculos y el alimento baja para la faringe, esófago y papada. La papada es una cámara de almacenamiento donde la comida se mezcla con las enzimas digestivas procedentes de la saliva, comenzando así la digestión. Después de pasar por este tubo digestivo anterior va para el intestino pasando por el proventrículo, el cual es una válvula reguladora que permite el pasaje de líquidos pero no de sólidos. Esto es importante en las abejas porque permite la separación del polen del néctar. El intestino medio, o estómago, es el local de producción de enzimas y de la digestión y absorción. El intestino terminal está compuesto por el intestino recto, el cual abre hacia el exterior al final del abdomen.

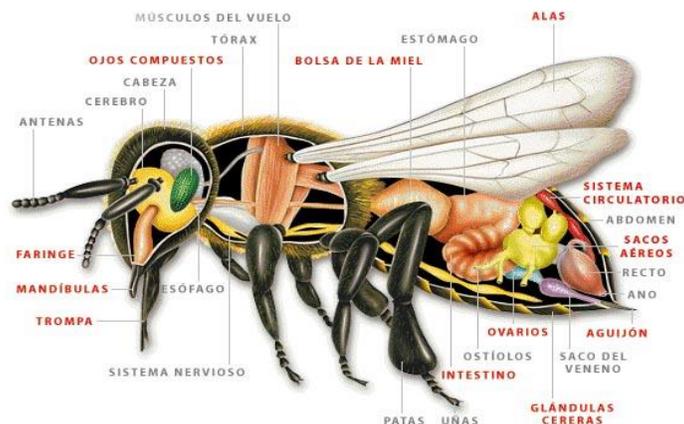
El néctar es un fluido algo dulce producido por las flores de las plantas. Las abejas obreras lo succionan y almacenan en la papada, regurgitándolo una vez que regresan a la colmena.

### **2.1.2.4 Sistema circulatorio**

Las abejas poseen un corazón tubular en la cavidad pericardial, que mueve la sangre a través de las venas y de la aorta. Las pulsaciones cardíacas se hacen por movimientos peristálticos (Figura 3). Poseen todavía corazones secundarios que ayudan a bombear la sangre para las alas y patas. Los movimientos corporales contribuyen también para la circulación.

### **2.1.2.5 Sistema respiratorio**

Para que se den rápidamente los intercambios de oxígeno y dióxido de carbono, sin que haya grandes pérdidas de agua, los insectos poseen un sistema de traqueas que recorre todo el cuerpo. Los tubos traqueales se abren para el exterior a través de un par de espiráculos, usualmente los dos en el tórax y siete u ocho en el abdomen (Morales, 2011).



**Figura 3. Morfología interna de la abeja**  
Fuente: Morales, 2011

## 2.2 Miel

La miel es un alimento natural producido por las abejas (*Apis mellífera L.*) a partir del néctar de las flores, de secreciones o de partes vivas de la planta, que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan en panales; de los cuales se extrae el producto sin ninguna adición (NOM-145-SCFI-2001).

### 2.2.1 Composición

La miel es una solución sobresaturada de azúcar natural que está compuesta principalmente de una mezcla compleja de carbohidratos fructosa y glucosa (Alvarez-Suarez, S.Tulipani, Romandini, & Vidal, 2009), también está formada por otros componentes menores, tales como proteínas, enzimas, aminoácidos orgánicos, lípidos, vitaminas, productos químicos volátiles, ácidos fenólicos, flavonoides y minerales. La composición de la miel depende de las especies de plantas polinizadas por las abejas, del clima y de las condiciones de almacenamiento y procesamiento (Ajrouni & Sujirapinyokul, 2010; Saxena, Gautam, & Sharma, 2010; White Jr, 1978). La composición específica de la miel es:

**Azúcares:** Son los componentes mayoritarios de la miel. Representan aproximadamente el 80% de los componentes totales y el 95 % al 99% de los

sólidos totales. En consecuencia son responsables de las propiedades fisicoquímicas de la misma tales como viscosidad, higroscopicidad, poder rotario, propiedades térmicas, etc. Además las propiedades antibacterianas dependen de su concentración (Huidobro, 1984). Los azúcares mayoritarios son fructosa y glucosa resultantes de la hidrólisis de la sacarosa del néctar por acción de la invertasa de las abejas. La sacarosa es el principal disacárido no reductor. Entre los disacáridos reductores se encuentran además de la maltosa la isomaltosa, la maltulosa, la turanosa, la nigerosa, la kojibiosa, la melibiosa, b- gentibiosa, la trehalosa, etc., Entre los trisacáridos se pueden mencionar: rafinosa, erlosa, melesitosa, maltotriosa, etc. Se cree que la tendencia a la granulación puede depender de la relación fructosa/glucosa.

**Agua:** La miel es higroscópica, debido a su baja actividad de agua ( $a_w$ ) con respecto al medio ambiente ( $a_w = 0.55$ ), tiene gran tendencia a captar agua. El contenido de agua es uno de los parámetros más importantes porque influye en el peso específico, viscosidad, sabor, y condiciona por ello la conservación, palatabilidad, solubilidad y en definitiva el valor comercial. Cuando el contenido en agua es superior al 20%, la miel puede fermentar, cambiar el olor, sabor y aumentar la tendencia a cristalizar. Cuando la humedad es inferior al 15 %, la miel tiene una viscosidad demasiado elevada lo cual dificulta su manejo durante la comercialización y puede ocasionar la cristalización de la misma en una masa excesivamente dura.

**Ácidos:** La elevada acidez de la miel contribuye en gran medida a su sabor característico y puede ser responsable de sus propiedades antisépticas y estabilidad contra el desarrollo microbiano. El pH medio de la miel es 3.92 con un rango de 3.42 a 6.2. El principal ácido es el glucónico (Stinson, Subers, Petty, & White Jr, 1960), que se forma por acción de la glucosa oxídasa (de la abeja) sobre la glucosa. Se supone que este ácido se genera a partir del néctar por acción de las abejas, durante el proceso de transformación del néctar a miel. Otros ácidos orgánicos (algunos volátiles), que contribuyen a la acidez de la miel y que han sido

identificados son el málico, butírico, cítrico, tartárico, málico y succínico, fórmico y oxálico. La acidez se expresa en miliequivalentes de ácido glucónico/L.

**Sustancias Minerales:** Se encuentran aproximadamente 12 elementos inorgánicos, aunque las proporciones varían según el origen floral y geográfico. Existe una cierta correlación entre el contenido de sustancias minerales y el color: en general cuanto más oscura es una miel, mayor es su contenido en sales minerales. Esta posee la mayoría de los elementos minerales esenciales para el organismo humano. Entre los cuales podemos destacar: potasio, calcio, azufre, cloro, hierro, magnesio, yodo, sodio, fósforo, manganeso, silicio, boro, cromo, aluminio, níquel, plomo, estaño, zinc, cadmio. El elemento principal es el potasio, que representa 1/3 de las cenizas totales.

**Proteínas y Aminoácidos:** En general las mieles son pobres en proteínas. Por precipitación y electroforesis se ha logrado separar de 4 a 7 proteínas diferentes. La cantidad de aminoácidos presentes en la miel fresca es bajo, variando según el tipo de miel de 1580 a 1688 mM/100g, habiéndose identificado, utilizando técnicas cromatográficas, 17 aminoácidos diferentes. La prolina fue el aminoácido mayoritario representando el 80% del total, seguido de la fenilalanina. Sin embargo pese a la pequeña cantidad de aminoácidos, se cree que los mismos desempeñan un rol fundamental en el desarrollo del color, sabor y aroma de las mieles durante su procesamiento y almacenamiento. Esto es debido a la reacción de los grupos amino con los carbonilos para formar compuestos coloreados y numerosos productos volátiles, como consecuencia de la reacción de Maillard (Gonzales, Burin, & Buera, 1999).

**Enzimas:** Las enzimas presentes en la miel, de mayor interés por sus aplicaciones en la industria alimentaria y su efecto en las características organolépticas y fisicoquímicas de la misma son: amilasa, invertasa y glucosa oxidasa. Otras enzimas presentes son la catalasa y fosfátasa ácida.

**Invertasa:** Esta enzima es incorporada al néctar por la abeja y es la responsable de la transformación de la sacarosa (presente en el néctar) a fructosa y glucosa

durante el proceso de elaboración y maduración de la miel dentro de los panales. La cantidad presente después de la recolección y procesamiento de la miel es pequeña, ya que se inactiva casi totalmente por calentamiento durante 10 minutos.

**Amilasa:** La importancia de esta enzima reside en que su presencia en la miel es considerada como un índice de calidad. En efecto, debido a que esta enzima es muy estable al calor, la cantidad presente en la miel indica el tratamiento térmico al que ha sido sometida la miel. Así el Codex Alimentarius incluye su determinación como un estándar de calidad. El origen de la misma no está claro, algunos dicen que proviene del néctar, otros de la abeja y otros del polen.

**Glucosa oxidasa:** La glucosa oxidasa presente en las glándulas de las abejas es la responsable en gran medida de la acidez de la miel. En efecto, por acción de la misma sobre la glucosa presente en el néctar se produce ácido glucónico y pequeñas cantidades de  $H_2O_2$  que contribuyen junto con la baja actividad de agua ( $A_w$ ) a la preservación de la miel. La actividad de la misma cesa cuando la miel alcanza su máxima viscosidad durante el proceso de transformación del néctar en miel. La presencia del  $H_2O_2$  explica las propiedades bactericidas de la miel que en un momento fueron atribuidas a un factor antibiótico denominado «Inhibina» (White Jr, Subers, & Schepartz, 1963).

**Catalasa:** Se encuentra en muy pequeñas cantidades y proviene de la glándula de la abeja. Produce la descomposición del  $H_2O_2$  (producida por la glucosa oxidasa) en  $H_2O$  y  $O_2$ . Esto explicaría las cantidades variables de  $H_2O_2$  encontradas entre diferentes mieles y su correspondiente actividad bacteriostática (White Jr et al., 1963).

**Fosfatasa ácida:** La principal fuente de la fosfatasa en la miel es el polen y podría ser la responsable de la presencia de fósforo inorgánico en la miel.

**Vitaminas:** Proviene del néctar y polen. Se encuentran presentes en muy pequeña proporción, dependiendo, la cantidad y calidad del origen floral de la miel. La B y la C son las que se encuentran en mayor proporción, aunque también se han detectado pequeñas cantidades de vitamina A, E, D, y K.

**Polen:** Parte de contenido celular de los granos de polen (aminoácidos, enzimas y pigmentos) puede atravesar la pared celular enriqueciendo la composición de la miel (White Jr, 1978).

### 2.2.1.1 Composición química de la miel

La miel es una solución sobresaturada de fructosa y glucosa que contiene otros carbohidratos en menor proporción como sacarosa, disacáridos reductores, oligosacáridos, dextrinas y otros componentes tales como, proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, sustancias minerales y varias enzimas. En la Tabla 1 se muestra el promedio de los componentes químicos de la miel.

Tabla 1. Composición química de la miel

Componentes	Promedio
Fructosa	38.20%
Glucosa	32.00%
Sacarosa	1.38%
Maltosa	6.80%
Otros azúcares	3.10%
Humedad	17.20%
pH 3.91	3.91
Acidez Libre	22.03 meq/Kg
Lactona	7.11 meq/Kg
Acidez Total	29.12 meq/Kg
Cenizas	0.17%
Nitrógeno Total	0.04%
Índice de Diastasa	20.8

Fuente: (White Jr, 1978)

### 2.2.2 Proceso de producción de la miel

Las abejas absorben con su lengua el néctar de las flores que visitan, lo introducen en su buche y vuelven a la colmena, donde se lo entregan a las obreras jóvenes que encuentran más cercanas a la piquera; volviendo a salir en busca de más néctar, tan pronto han pasado la carga a sus hermanas.

Las abejas del interior rápidamente se ponen a trabajar para transformar el néctar en miel, ya que hay que rebajar el porcentaje de humedad, desde un 60% con el que entra el néctar en la colmena hasta un 16 ó 18%, que tiene la miel cuando las obreras lo ponen y lo tapan en las celdillas (Figura 4). El proceso puede durar varios días, dependiendo en gran medida de dos factores: la humedad y temperatura exterior.



Figura 4. Depósito de néctar en las celdillas

Fuente: Arlanza, 2011.

Miles de abejas jóvenes, que todavía no han salido de la colmena, se pasan el néctar enriqueciéndolo al mismo tiempo con enzimas, que ellas mismas segregan. Cuando los aportes de néctar son muy elevados, las gotitas de néctar son depositadas sobre los panales, ya que las abejas no disponen de tiempo para procesarlo. Por la noche, cuando todas las abejas se han recogido dentro de la colmena, abejas jóvenes, nodrizas y pecoreadoras acaban de procesar los excedentes de néctar que entraron durante el día. El primer procesado del preciado líquido está terminando, consiguieron bajar la humedad hasta el 25%, y aportar principios activos.

El néctar es depositado en las celdas de los panales, donde todavía seguirá perdiendo humedad, hasta alcanzar el grado de maduración perfecto, en torno al 18%. Cuando las abejas comprueban que la miel esta lista para ser guardada, sellan la celda con una fina capa de cera; este proceso se llama el operculado de las celdas y es la señal, que nos indica a los apicultores, cuando la miel está lista para ser recogida de las colmenas. Durante todo el proceso de deshidratación del néctar, la pérdida de humedad es aprovechada por las abejas para refrigerar la colmena, creando corrientes de aire entre los panales por cientos de abejas ventiladoras, consiguen bajar la temperatura interior de la colmena a 15°C. Consiguiendo de esta forma mantener constante la temperatura del nido de cría, que siempre ronda los 36°C. Una vez operculadas las celdas repletas de miel, pueden mantenerse en perfectas condiciones de consumo durante muchos años.

La miel extraída de peines y apiarios contiene polen, cera de abejas y otros materiales indeseables, además de la levadura, que se van a quitar para una mejor calidad del producto y vida útil. Por lo tanto, la miel es procesada antes de su envasado en botellas u otros recipientes. El calor o el procesamiento térmico aplicado a la miel eliminan los microorganismos responsables de la descomposición y reduce el contenido de humedad a un nivel que retarda el proceso de fermentación. La separación de polen, cera de abejas, y otros materiales normalmente se realiza a través de esfuerzo y filtración a presión. Existen dos etapas muy importantes en el procesamiento de la miel, las cuales son:

**Esfuerzo:** La operación esfuerzo para eliminar los sólidos en suspensión (incluyendo grandes partículas de cera) se lleva a cabo ya sea manualmente o por medios mecánicos. El método y el equipo utilizado para colar dependen del tamaño de la operación. En las operaciones de pequeña escala, el esfuerzo se realiza con tela o bolsas de nylon, que se limpian con frecuencia para eliminar las partículas en suspensión. En operaciones a gran escala y la operación de esfuerzo se combina con el precalentamiento (hasta 40°C) la operación es en un tanque encamisado equipado con un agitador (Wakhle & Padhke, 1995).

Filtración: La miel se procesa con el uso de filtros de presión. Normalmente, es utilizado un filtro de polipropileno de 80 micras. La temperatura de la miel se mantiene entre 50-55°C, lo que impide la fusión de la cera de abejas procesadores a gran escala. La miel es sujeta a filtración, clarificación, centrifugación, filtración y mezcla, antes del llenado (Wakhle & Padhke, 1995). En la Figura 5 se presenta el diagrama de flujo del proceso de elaboración y extracción de la miel.

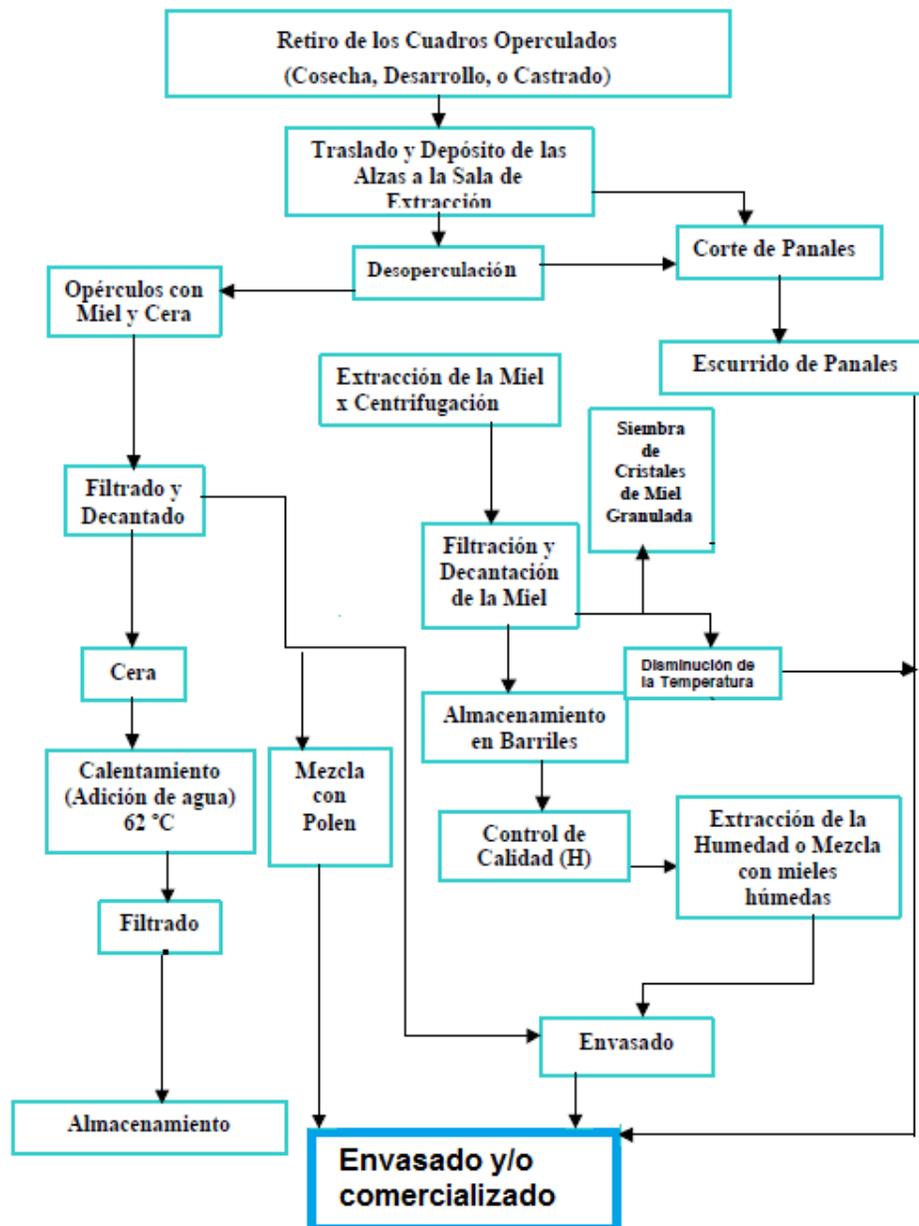


Figura 5. Esquema de extracción y procesamiento de la miel  
Fuente: Acquarone, 2004.

### 2.2.3 Tratamiento convencional de la miel

El proceso convencional consiste en el precalentamiento a 40°C, el esfuerzo, el filtrado, aclaración y el calentamiento indirecto de la miel filtrada a 60-65°C durante 25-30 minutos en un tubo intercambiador de calor seguido de enfriamiento rápido, es utilizado con el fin de proteger a su color natural, sabor, contenido de enzimas y otras sustancias biológicas (Wakhle & Padhke, 1995). Los estudios han demostrado que el calentamiento de la miel a 63, 65, y 68°C durante 35, 25, y 7.5 minutos, respectivamente, puede destruir las células de levadura por completo (Wakhel, 1996). Hay una falta de literatura sobre la aplicación de alta temperatura en tiempo corto para el calentamiento en la miel. (E. A. Tosi, Ré, Lucero, & Bulacio, 2004) informaron que una condición de tratamiento térmico leve, por lo general calentamiento a 80°C durante 60 segundos en la etapa transitoria y 30 segundos en la etapa isotérmica, destruye todos los microorganismos responsables de los daños sin afectar la calidad de la miel.

### 2.2.4 Clasificación

#### 2.2.4.1 De acuerdo a su origen botánico

1.) *Miel de néctar de flores*: Procede directamente de los néctares de las flores y presentan cualidades específicas que van a determinar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas del producto final, se dividen en:

- *Miel unifloral o monofloral*: Son aquellas en cuya composición predomina el néctar de una especie vegetal determinada, entre las varias que la componen de la que toma el nombre (Ej: miel de romero, azahar, lavanda, eucalipto, etc.). Debe tener las características típicas propias y además el polen de dicha especie debe ser superior al 45%. Sin embargo, las últimas investigaciones sobre el tema, señalan que la asignación del 45% del total de polen como criterio para definir a una miel como monofloral, debería modificarse en el caso en que las mieles provengan de plantas cuyas flores son pobres en polen (como sucede con diversas variedades de cítricos), o que poseen una particular biología floral (como es el caso de la alfalfa), y

también para aquellas plantas cuyas flores son ricas en polen como sucede con el eucalipto o el castaño

- *Miel multifloral o polifloral*: En su composición entra el néctar de varias especies vegetales, sin que ninguna de ellas pueda considerarse predominante, es decir que ningún tipo de polen representa el 45% total en esta miel existe una gran variedad de polen.
- 2.) *Miel mielada*: Estas mieles no proceden del néctar de flores, sino de secreciones o exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes sobre ellas por la acción de ciertos insectos. Se denominan como miel de bosque o con el calificativo de la especie de origen. En este tipo de mieles abundan polen de plantas anemófilas (Coníferas, nogales, olmos, etc.) al igual se encuentran restos de hongos, esporas en el sedimento (Tellería, 2001).

#### **2.2.4.2 De acuerdo a su presentación según la Norma Mexicana de miel**

*Miel en panal*: Miel que no ha sido extraída de su almacén natural de cera y que puede consumirse como tal.

*Miel líquida*: Procede principalmente de las secreciones de las partes vivas de las plantas. Es la miel que ha sido extraída de los panales, se encuentra en estado líquido, sin presentar cristales visibles.

*Miel cristalizada*: Se encuentra en estado sólido o semisólido granulado, es el resultado del fenómeno natural de cristalización de azúcares que la constituyen.

### **2.2.5 Producción de miel**

#### **2.2.5.1 Producción de miel en el Estado de Hidalgo**

El Estado de Hidalgo en el año 2012 ocupó el primer lugar con 121 Unidades de producción apícolas reconocidas. La producción de miel de abeja en el estado de Hidalgo se encuentra a la alza, a pesar de fenómenos climatológicos que han afectado la floración de cultivos frutícolas, principalmente. En el año 2013, en todas las zonas apícolas de la entidad se obtuvo una producción de miel de abeja del orden de las mil 157 toneladas, se puede asegurar que se encuentra a la alza en esta actividad productiva. La mayor producción de miel se encuentra en los

municipios de San Felipe Orizatlán, Huejutla, Jaltocán y otros de la Huasteca Hidalguense (INEGI, 2015; SAGARPA, 2015) .

### **2.2.5.2 Producción nacional de miel**

La cantidad de la miel que fabrican las abejas es tres veces superior de lo que necesitan para sobrevivir, eso ha hecho posible que en un principio el ser humano recogiera los excesos para su consumo y más tarde realizara la domesticación de las abejas para el fin específico de obtener su miel, técnica conocida como apicultura.

La producción de miel en México durante los últimos cuatro años supera las 56 mil 300 toneladas en promedio, lo que le otorga un tercer lugar a escala mundial en producción de miel. En el año 2014 china se encontró entre los primeros lugares con una producción de 288, 602 toneladas. La producción nacional se concentra en las entidades del sureste como Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán, esta última con el liderazgo nacional (Figura 6). También destacan estados como Jalisco, Guerrero, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Colima, Guanajuato, Hidalgo Michoacán, Morelos, San Luís Potosí, Sinaloa y Zacatecas. Estas 18 entidades reunidas representan alrededor del 90% de la producción nacional. Los estados de Morelos y Veracruz son ricos en árboles frutales (manzano, durazno naranjo) y la flor de cazaguante, esta última muy parecida por dar a la miel un toque especial en su aroma y color.

En cuanto a exportaciones se refiere, México ocupa el tercer lugar; durante los últimos cuatro años ha alcanzado un promedio de 26 mil 600 toneladas, esto significa entre un 40% y 50% de la producción total que va dirigida a países como Alemania, Inglaterra y Estados Unidos. Esto genera ingresos anuales en promedio de 32.4 millones de dólares (SAGARPA, 2015).



**Figura 6. Yucatán mayor productor de miel a nivel Nacional**  
 Fuente: [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)

### 2.2.5.3 Ubicación del Estado de Hidalgo en territorio nacional

El estado de Hidalgo se ubica en la región centro-oriental de México (Figura 7). Con las coordenadas: al norte,  $21^{\circ} 24'$ ; al sur,  $19^{\circ} 36'$  de la latitud norte; al este,  $97^{\circ} 58'$ ; al oeste,  $99^{\circ} 53'$  de la longitud oeste. Ocupa por su tamaño el lugar 26 dentro de la república teniendo el 1,1 % del territorio nacional. Colinda al norte con los estados de San Luis Potosí y Veracruz, al este con el estado de Puebla, al sur con los estados de Tlaxcala y México y al oeste con el estado de Querétaro (INEGI, 2010).



**Figura 7. Estado de Hidalgo**  
 Fuente: [www.hidalguia.com.mx](http://www.hidalguia.com.mx)

El 39% del estado presenta clima seco y semiseco, el 33% templado subhúmedo el 16% cálido húmedo, 6 % cálido subhúmedo y el restante 6% templado húmedo, estos últimos se presentan en la zona de la huasteca. El clima seco y semiseco favorece el crecimiento de plantas cactáceas como el maguey pulquero, tuna y nopal (INEGI, 2013).

## **2.2.6 Clima y flora de Municipios del Estado de Hidalgo productores de miel**

### **2.2.6.1 Acaxochitlán**

En cuanto al clima, presenta una gran diversidad. Sin embargo, el que prevalece es el templado húmedo con abundantes lluvias en verano. Su temperatura media anual se encuentra en los 15°C. Contempla una vegetación compuesta principalmente por; eucalipto, pino, encino, ocote manzanilla, encino negro, uña de gato, oyamel y cedro rojo. Además de especies no maderables como hongos, palma camedor y musgo, también se puede encontrar árboles exóticos de manzana, durazno, capulín, pera y una gran variedad de plantas medicinales usadas en remedios caseros.

### **2.2.6.2 Arenal**

Se presenta un clima templado-frío, con una temperatura climatológica media anual de 16°C con una precipitación total anual de 650 milímetros y un periodo de lluvias de junio a septiembre. La flora está formada principalmente de matorrales, maguey, nopal, huizache, cactus, maíz, cebada, órgano, garambullo, biznaga, pitaya, mezquite y arboles exóticos como durazno, higo, granada, nuez y aguacate.

### **2.2.6.3 Huehuetla**

En este municipio podemos encontrar un clima el cual se registra en un rango de subcálido a cálido, presentando una temperatura media anual de 21°C y una precipitación pluvial de 2,422 milímetros cúbicos por año. La flora está formada por eucalipto, pino, encino, ocote, manzanilla, encino negro, uña de gato, oyamel, cedro rojo, además de especies no maderables como: Hongos, palma camedor, musgo, también podemos encontrar, árboles de manzana, durazno, capulin y

pera. La Vegetación que predomina en los lugares altos es propia del clima húmedo y en las partes bajas es tropical, también se producen algunas plantas medicinales como la hierbabuena, ruda, laurel, orégano, albaca, perejil y epazote.

#### **2.2.6.4 Orizatlan**

Tiene un clima húmedo, con una temperatura media anual de 23°C, y una precipitación pluvial de 1,705 milímetros por año y el período de lluvias es durante el verano. La flora del Municipio de San Felipe Orizatlán está compuesta principalmente por selva, bosque y pastizales.

#### **2.2.6.5 Tasquillo**

El clima es templado y registra una temperatura media anual de 18°C y tiene una precipitación pluvial anual de 400 a 500 mm, con un periodo de lluvias de mayo a septiembre, es húmedo y frío en invierno, y húmedo y caluroso en verano y primavera. Está compuesta de arbustos y selva baja, encontrando en algunas partes del municipio abundante vegetación en la mayor parte del municipio predomina el mezquital. Se caracteriza por contar con poca variedad de vegetación debido a que está ubicado en una zona semidesértica lo cual corresponde a un clima seco y semiseco, encontrando extensiones de nopaleras, arbustos bajos, maguey, cactus, cardones, biznagas, garambullos, huizaches, mezquites, pirul y árboles de nogal (Gutiérrez et al., 1998., Rivas, 1992).

#### **2.2.7 Miel y la salud**

Los beneficios de la miel van más allá de su gran sabor, ya que es una fuente natural de hidratos de carbono, entre otras propiedades saludables. La miel es apreciada en todas partes como un alimento dulce y apetitoso. En períodos de escasez es una fuente útil de carbohidratos que contiene oligoelementos y agrega una diversidad nutritiva en un régimen alimenticio demasiado pobre. La miel ocupa un lugar importante en la preparación de alimentos tradicionales. En muchas partes del mundo es utilizada como medicina o jarabe y como tratamiento especial para niños. La medicina moderna está aumentando el uso de la miel en una gran variedad de tratamientos ya que posee propiedades antibióticas: es una solución

estéril con altas concentraciones de azúcar que previene el desarrollo de microorganismos, es altamente ácida y contiene enzimas que producen peróxido de hidrógeno que elimina las bacterias. La miel es un producto utilizado en la cura de heridas y en tratamientos de la piel: sus propiedades higroscópicas ayudan a secar las heridas, y su permeabilidad permite que el oxígeno la atraviese (FAO, 2014).

### **2.2.8 Cristalización**

La miel es una solución sobresaturada de glucosa y que tiene una tendencia a cristalizar espontáneamente a temperatura ambiente en la forma de monohidrato de glucosa. La cristalización de la miel, también llamado de granulación, es un proceso indeseable en miel líquida porque afecta a las propiedades de textura, por lo que es menos atractivo para el consumidor, que la prefiere líquida y/o transparente (E. A. Tosi et al., 2004; E. Tosi et al., 2002; E. Tosi et al., 2008; Turhan et al., 2008).

Por otra parte, la cristalización de la miel por lo general hace que la miel sea vulnerable al crecimiento de levaduras que pueden causar la fermentación del producto y con el tiempo produce modificaciones organolépticas posteriores y degrada la calidad. La cristalización también causa problemas durante la manipulación y procesamiento. Las máquinas no pueden trabajar correctamente debido a la alta viscosidad y la complejidad del fluido. Por tal motivo la miel es calentada para contrarrestar este problema. Al ser calentada, esta se convierte en líquido, pero un tratamiento térmico puede degradar la calidad de la miel (E. A. Tosi et al., 2004; E. Tosi et al., 2002; E. Tosi et al., 2008; Turhan et al., 2008).

Algunas mieles monoflorales (por ejemplo, cítricos) son naturalmente cristalizadas, para la mayoría de las mieles comerciales la cristalización es un defecto. En tales casos, la granulación espontánea puede dar lugar a cristales secundarios no deseados y puede causar pérdida de calidad debido a la separación de fases, sedimentación y aumento de la actividad del agua (Doner, 1976; White Jr, 1978). La glucosa y la fructosa en la miel están presentes en concentraciones aproximadamente iguales, pero la menor solubilidad de la glucosa permite ser la

cristalización del azúcar. La glucosa puede cristalizar como monohidrato  $\alpha$ -D-glucosa con la forma cristalina estable por debajo de  $50^{\circ}\text{C}$ , como anhido  $\alpha$ -D-glucosa entre  $50^{\circ}\text{C}$  y  $80^{\circ}\text{C}$  y forma estable  $\beta$  anhida por encima de  $80^{\circ}\text{C}$  (Figura 8 y 9) (Joven, 1957). En soluciones saturadas con fructosa, la temperatura de transición de monohidrato de glucosa o glucosa anhida se ha encontrado que está por debajo de  $30^{\circ}\text{C}$  (Doner, 1976). Sin embargo, la miel cristaliza por debajo de  $30^{\circ}\text{C}$  y sólo la forma hidratada tiene que esperar. La cristalización de la glucosa en la miel conduce al resto de sólidos solubles resultando en la dilución de la solución amorfa y a su vez la actividad de agua ( $A_w$ ) aumenta. De hecho, cuando se solubilizan, todos los cinco grupos hidroxilo de la glucosa interactúan con las moléculas de agua, mientras que, en la forma de monohidrato cristalizado, cada molécula de glucosa fija sólo una molécula de agua (Gleiter et al., 2006).

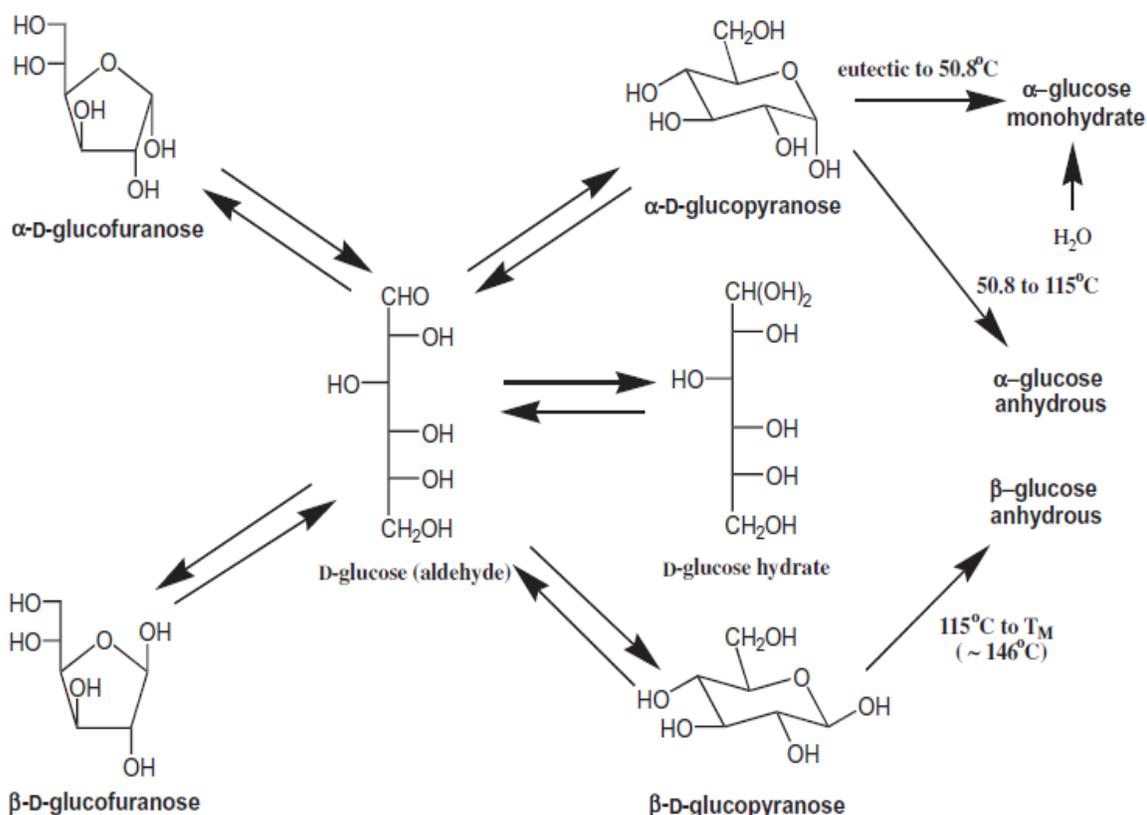


Figura 8. Reacción para la cristalización de la glucosa a partir de soluciones acuosas, incluidas todas las formas tautómeras de glucosa en solución, y formas cristalinas estables.

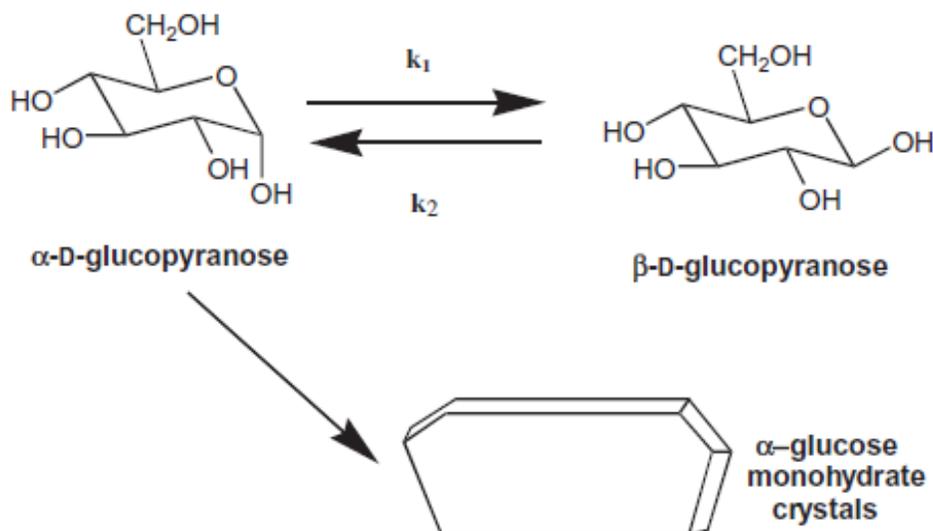


Figura 9. Esquema de reacción simplificada para la cristalización de monohidrato  $\alpha$ -glucosa.

### 2.2.9 Aplicación de tratamiento térmico para la manipulación de la miel

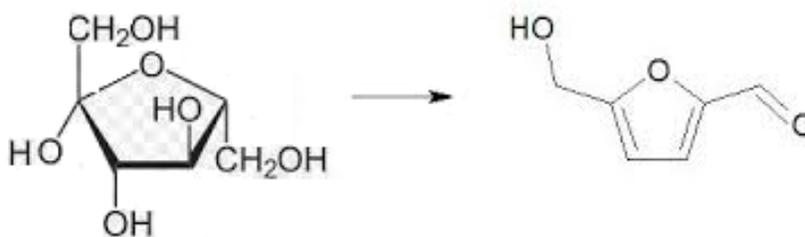
Aunque la miel cruda es lo mejor, el calentamiento de la miel es el único método práctico para facilitar el llenado debido a la viscosidad de esta. Los apicultores y los consumidores prefieren una miel líquida que conserve la calidad del producto original, pero un tratamiento térmico puede reducir la calidad y las propiedades sensoriales (sabor, color, etc.) (Bath & Singh, 1999).

#### 2.2.9.1 Formación de Hidroximetilfurfural (HMF) durante el tratamiento térmico de la miel

El hidroximetilfurfural (5-(hidroximetil)-2-furaldehído) es un aldehído y un furano formado durante la descomposición térmica de los glúcidos (Figura 10) que se forma natural y espontáneamente en la miel, a partir de los azúcares presentes, principalmente por la deshidratación de la fructuosa. A medida que transcurre la vida útil de una miel el hidroximetilfurfural va aumentando, al igual si es sometido algún procesamiento térmico (White, 1980).

El contenido de dicho aldehído es considerado uno de los parámetros de calidad, de las condiciones en que la miel fue almacenada o si recibió tratamiento térmico y la edad (White, 1980). El máximo permitido en la normativa Mexicana actual es de 40 mg de HMF/Kg de miel, valores superiores indican mieles viejas de baja calidad y/o excesivamente calentadas o adulteradas

(Subovsky, López, Rolla, Castillo, & Aleman, 2000). El producto de degradación más importante de la miel climatizada se considera que es hidroximetilfurfural (HMF), formado por la deshidratación de hexosa especialmente a un pH de 5 o inferior, o por la reacción de Maillard (Fenema, 1996). El contenido HMF es un excelente indicador de la frescura de la miel, debe estar por debajo de  $40\text{mg Kg}^{-1}$  de acuerdo con el comercio internacional (Bath & Singh, 1999). Los hidratos de carbono glucosa y fructosa juntos corresponden al 85-95% de los carbohidratos en la miel y su cantidad depende del tipo de miel (Cavia et al., 2002). La composición de la miel, así como las condiciones de almacenamiento afecta tanto la cristalización y la formación de HMF. Aunque se han elaborado estudios previos para determinar HMF durante el recalentamiento de las mieles florales en altas temperaturas (E. Tosi et al., 2002).



**Figura 10. Formación de Hidroximetilfurfural**  
Fuente: Rada, 2002.

### 2.2.10 Color en la miel

En la industria alimentaria, el color es un parámetro en base al cual se realizan clasificaciones de productos, se evalúan materias primas, se hace control de procesos y se miden indirectamente otros parámetros. En el caso de la miel, el color depende de varios factores, fundamentalmente está relacionado con el origen botánico y la composición del néctar, con el proceso de obtención y con la temperatura y tiempo de almacenamiento. El color tiene extrema importancia desde el punto de vista comercial, ya que determina su precio en el mercado así como su aceptabilidad por los consumidores. Las mieles claras son generalmente son ligeras en sabor y de un valor comercial superior a las mieles de colores oscuros (Wootton, Edwards, Faraji-Haremi & Johnson, 1976; Wootton, Edwards y Faraji-Haremi, 1976; Blanco, 1978).

La velocidad de oscurecimiento en la miel se ha relacionado con su composición y temperatura de almacenamiento (Gupta, Kaushik, & KJoshi, 1992). De los factores de composición, la proporción de glucosa en fructosa, el contenido de nitrógeno, aminoácidos libres, el contenido de humedad se han citado como posibles factores de determinación de la tasa de oscurecimiento (Schade, Marsh, & Eckert, 1958). La miel, una vez cristalizada, cambia su color. El tamaño del cristal afecta el grado de oscurecimiento, los cristales más finos imparten las tonalidades más claras.

## **2.3 Tecnologías emergentes**

Hace varios años se vienen investigando nuevas tecnologías para la conservación de alimentos, las que difieren del proceso convencional consisten en el tratamiento térmico para la destrucción de microorganismos que producen el deterioro del alimento e inactivación de enzimas que causan cambios no deseados en el producto alimenticio, afectando la aceptabilidad por parte del consumidor. Las nuevas tecnologías se basan esencialmente en la destrucción a través de otros mecanismos ocupándose presión, ondas electromagnéticas, microondas e infrarrojos, pulsos eléctricos, calentamiento óhmico, calentamiento infrarrojo, luz pulsada y ultrasonidos. Esta última tecnología emergente es un campo de crecimiento en la investigación, que está encontrando un uso creciente en la industria alimentaria, tanto para el análisis y modificación de los productos alimenticios. El uso del ultrasonido en el procesamiento de alimentos crea nuevas metodologías que a menudo son complementarias a las técnicas clásicas (Diamara, 2012).

### **2.3.1 Ultrasonido**

El ultrasonido se refiere a las ondas sonoras que van más allá de la frecuencia audible humana (en general, > 20 kHz). Cuando el ultrasonido pasa a través de un medio líquido, la interacción entre las ondas ultrasónicas, líquido y gas disuelto conduce a un fenómeno conocido como cavitación acústica (Chandrapala, Oliver, Kentish, & Ashokkumar, 2012).

### 2.3.1.1 Cavitación

La Cavitación acústica genera un ambiente físico y químico extremo en líquidos. La agitación, microjets, fuerzas de cizallamiento, microcorrientes, manchas y ondas de choque mecánico caliente son algunas de las fuerzas físicas que se han utilizado con eficacia en varias aplicaciones, incluyendo emulsificación y extracción (M. Ashokkumar & Mason, 2007). El extremo ambiente térmico generado dentro de las burbujas de cavitación conduce a la generación de una variedad de reacciones químicas, incluyendo la generación de radicales altamente reactivos (Okitsu et al., 2005).

En la mayoría de aplicaciones de procesamiento de ultrasonidos, los efectos observados se deben a la cavitación acústica (Muthupandian Ashokkumar et al., 2008), que implica el crecimiento y colapso de preexistente microburbujas en líquidos en un intervalo de tamaño adecuado (Yasui, 2002). El colapso de las burbujas de cavitación (tanto transitorias y estables) también conduce a la generación de altas temperaturas y presiones dentro de las burbujas. Esto es debido al hecho de que el colapso se produce en un tiempo muy corto ( $<1\mu\text{s}$ ) que conduce a un calentamiento casi adiabático del interior de la burbuja. Los experimentos han sugerido que las temperaturas generadas dentro de las burbujas de cavitación están en el rango de 2000-5000°K (Muthukumar, Kentish, Stevens, Ashokkumar, & Mawson, 2007). En soluciones acuosas, el interior de las burbujas de cavitación se llena con vapor de agua y moléculas de gas, tales como  $\text{N}_2$  y  $\text{O}_2$  que se difunden en las burbujas durante las oscilaciones de la burbuja en la fase de crecimiento. En soluciones acuosas, se puede esperar que la mayoría del contenido de la burbuja es vapor de agua ya que el agua es un disolvente (Ashokkumar M. et al., 2007). En general, la cavitación en los líquidos puede causar desgasificación rápida y completa; inicia varias reacciones químicas mediante la generación de iones libres de productos químicos (radicales); acelera las reacciones químicas, facilitando la mezcla de los reactivos; aumenta las reacciones de polimerización y despolimerización por la ruptura de enlaces químicos en las cadenas de polímeros; mejora los índices de difusión; produce emulsiones altamente concentradas; asiste a la extracción de enzimas de origen

animal, vegetal, o células bacterianas; elimina los virus de tejido infectado; y finalmente erosiona y rompe las partículas sensibles, incluidos los microorganismos (Kuldiloke, 2002).

### 2.3.1.2 Cavitación transitoria y estable

Existen dos tipos de cavitación, la transitoria (inercial) y la estable (no inercial). En la cavitación estable (Figura 11), el campo de sonido hace que las burbujas ya sea que aumenten de tamaño y luego se disuelvan o pulsen entre un tamaño más pequeño y más grande durante muchos ciclos acústicos. Debido a que las burbujas no colapsan o se rompen en fragmentos, esta forma de cavitación se denominó originalmente cavitación estable (Povey & Mason, 1998).

Cavitación transitoria se caracteriza tanto por un crecimiento rápido seguido de un rápido colapso de las burbujas o por extremas pulsaciones de gran amplitud en las que las burbujas se expanden en gran medida y en gran medida contraen, continuamente y, finalmente, colapsan (Figura 11). Después de que una burbuja se colapsa, puede fragmentarse en burbujas mucho menores o crecen de nuevo para someterse a más pulsaciones y/o colapsos (Povey & Mason, 1998).

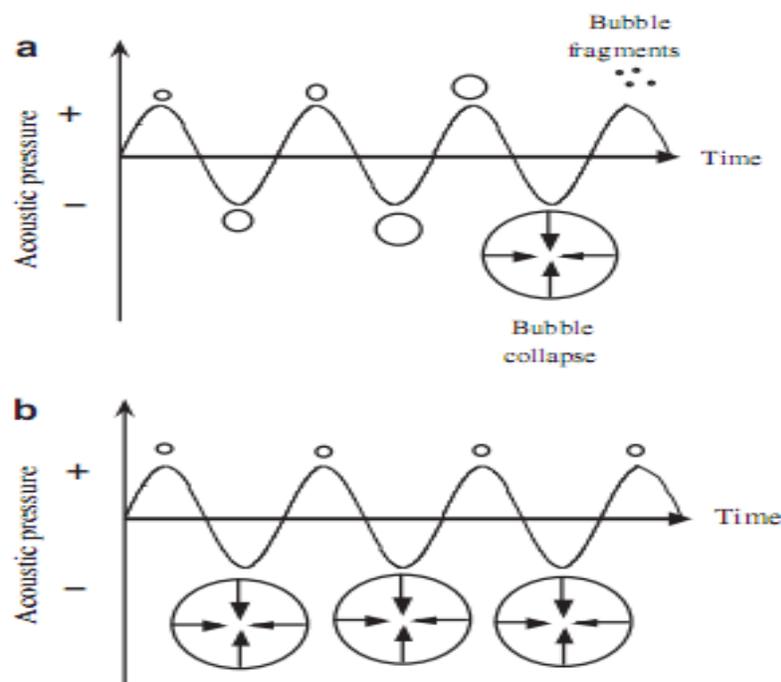


Figura 11. Representación esquemática (a) cavitación transitoria y (b) cavitación estable  
Fuente: (Chandrapala et al., 2012).

### **2.3.2 Clasificación de ultrasonido**

En cuanto a la frecuencia, el ultrasonido se puede clasificar en dos grandes categorías: (1) alta frecuencia (2-10 MHz) ultrasonido de diagnóstico y poder bajo, con la participación médica de imágenes, conocido como ensayos no destructivos, y (2) baja a media frecuencia (20 a 1000 kHz) que es el ultrasonido de frecuencia industrial alto, con la participación de otras aplicaciones en la industria, la nanotecnología, la terapia ultrasónica y sonoquímica (Pham et al., 2009).

#### **2.3.2.1 Ultrasonido de alta frecuencia**

Ultrasonido de baja intensidad (de alta frecuencia), acertadamente denominado ensayo no destructivo, envía ondas ultrasónicas a través de un medio sin causar ningún cambio físico, químico, eléctrico permanente en el medio, debido a que la intensidad ultrasónica es demasiado baja ( $<1\text{W}/\text{cm}^2$ ) para alterar el material (Gestrelius, Hertz, Nuamu, Person, & Lindström, 1993). Las partículas del medio oscilan en respuesta a la baja energía mientras está expuesto a olas ultrasónicas y simplemente vuelve a su posición de equilibrio cuando la fuente de ultrasonido se elimina. Cuando las ondas acústicas pasan a través del medio, las ondas son parcialmente reflejadas o dispersadas donde quiera que el medio cambie de un material a otro. La distancia se puede calcular mediante las propiedades ultrasónicas como la frecuencia (siempre superior a 1 MHz) y la atenuación coeficiente, para permitir la detección y la localización de la presencia de partículas extrañas y cambios de composición en los alimentos (McClements, 1995).

El ultrasonido de baja intensidad puede ayudar inestimablemente al control de calidad en la producción de alimentos, así como supervisar los cambios a los que los alimentos se someten a medida que se procesan (congelación, emulsionantes, secado, etc.). Los fabricantes de alimentos utilizan ensayos no destructivos por ultrasonidos para localizar cuerpos extraños, como vidrio, residuos orgánicos, o las infecciones bacterianas en los sólidos y líquidos, incluso después de que se envasan los alimentos (Gestrelius et al., 1993; Hæggström & Luukkala, 2001). El ultrasonido de baja intensidad o de alta frecuencia se utiliza principalmente para análisis, ensayos no destructivos y de imagen, el ultrasonido de alta intensidad se

utilizan para el tratamiento de los líquidos, para mezclar, emulsionar, desaglomerar, desintegrar, dispersar.

### **2.3.2.2 Ultrasonido de baja frecuencia**

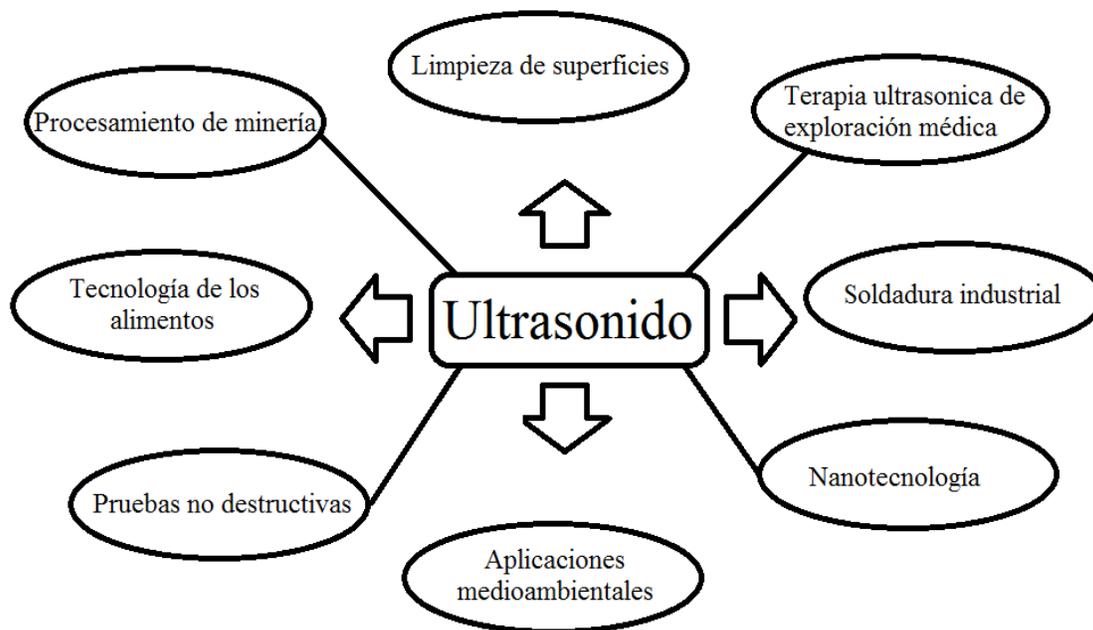
El ultrasonido de alta intensidad (de baja frecuencia, potencia) se utiliza ya sea para destruir estructuras celulares o para mejorar o inhibir las actividades dentro de los alimentos (Mason, Chemat, & Ashokkumar, 2015) (T. J. Mason, 1996), y es caracterizado por intensidades de potencia que en general oscilan entre 10 y 1.000 W/cm<sup>2</sup>. Estas ondas acústicas intensas pueden causar altas presiones en el interior de los alimentos líquidos, produciendo corrientes de microburbujas que se mueven rápidamente y causan el colapso violento de la burbujas en líquidos (Mann & Krull, 2004). Estos tipos de actividades de burbujas en líquidos, respectivamente se denomina cavitación no inercial e inercial y son mecanismos que afectan a la propiedades físicas y químicas de los alimentos (Povey & Mason, 1998). La actividad de cavitación en los líquidos puede ser tan intensa que las paredes celulares se rompen, los radicales libres y sonoquímicos se producen, y procesos tales como la germinación de las semillas son mejorados, mientras que las actividades enzimáticas se inhiben (Mason, Paniwnyk, & Chemat, 2003; McClements, 1995; Povey & J., 1998). Por lo tanto, (Povey & J., 1998) acuñaron el término "Material que altera" para describir ultrasonido de alta potencia, en paralelo con el descriptor "No destructivos" a ultrasonidos de baja intensidad. Las aplicaciones de materiales que alteran de ultrasonidos de alta intensidad son numerosos en el campo de procesamiento de alimentos. Las principales escuelas de investigación que trabajan con ultrasonidos de potencia en el procesamiento de alimentos principalmente están estudiando extracción, emulsificación, filtración, cristalización, producción de finas partículas, descongelación y congelación, mientras que varias investigaciones equipos de todo el mundo están estudiando la inactivación de microorganismos y enzimas en los alimentos. Parámetros que se utilizan ampliamente en el ultrasonido de baja intensidad incluyen la frecuencia, amplitud, velocidad, tiempo y distancia de viaje, coeficiente de atenuación, capacidad de reflexión, impedancia acústica y la densidad. Parámetros de

ultrasonido de alta intensidad pueden incluir la potencia, frecuencia, temperatura de tratamiento, y el tiempo de tratamiento (Mason et al., 2003).

El ultrasonido de alta intensidad produce agitación violenta en los líquidos de baja viscosidad, que puede ser usado para dispersar (Ensminger, 1988). En líquidos, sólidos o interfaces/gas, la implosión de las burbujas de cavitación asimétrica puede provocar turbulencias extremas que reducen el límite de la capa de difusión, aumentan la transferencia de masa por convección, y aceleran considerablemente la difusión en los sistemas en común, la mezcla no es posible (Nyborg, 1965).

### 2.3.2.3 Aplicaciones del ultrasonido

El ultrasonido es una tecnología que se ha utilizado para diversos propósitos en muchas áreas diferentes (Figura 10).



**Figura 12. Diversas aplicaciones del ultrasonido**  
Fuente: (Sillanpää, Thuy-Duong, & Shrestha, 2011)

En los últimos años, la tecnología de ultrasonido se ha encontrado para ser una técnica potencial de procesamiento de alimentos. El paso de los ultrasonidos en una matriz líquida genera agitación mecánica y otros efectos físicos debido a la cavitación acústica (Muthupandian Ashokkumar, 2015; Muthukumaran et al., 2007). La técnica de ultrasonido es relativamente barata, ahorra energía, y por lo

tanto se convirtió en una tecnología emergente para el sondeo y la modificación de los productos alimenticios. El ultrasonido de potencia baja (alta frecuencia) se utiliza para el control de las propiedades físico-químicas de composición y componentes de los alimentos y de los productos durante el procesamiento y almacenamiento, que es crucial para el control de las propiedades de los alimentos y la mejora de su calidad. Por otro lado el ultrasonido de alta potencia (baja frecuencia) induce cambios bioquímicos, químicos, mecánicas, físicas y a través de la cavitación, que soporta muchas operaciones de procesamiento de alimentos tales como extracción, congelación, secado, emulsificación y la inactivación de bacterias patógenas en las superficies de contacto con alimentos. Estas aplicaciones incluyen productos de carne, verduras y frutas, productos de cereales, alimentos aireados, miel, geles alimenticios, proteínas, enzimas alimentarias, la inactivación microbiana, la congelación, secado y extracción (Awad, Moharram, Shaltout, Asker, & Youssef, 2012).

#### **2.3.2.4 Funcionamiento del baño ultrasónico**

El baño ultrasónico es empleado normalmente para la limpieza de materiales. Cuando las ondas de sonido desde el transductor irradian a través de la solución en el tanque, causan alternando altas y bajas presiones en la solución Fig. 13 (a). Durante la etapa de baja presión, millones de burbujas microscópicas forman y crecen. Este proceso se llama cavitación, que significa "la formación de cavidades" (Figura 13 b). Durante la etapa de alta presión, el colapso de burbujas, o "implosión" libera enormes cantidades de energía. Estas implosiones actúan como un ejército de pequeños cepillos de fregado y trabajan en todas las direcciones, atacando a todas las superficies e invadiendo todos los huecos y aberturas (Figura. 13 c). En la (Figura 13 d) se observa que el efecto de cavitación puede traspasar materiales como vidrio o plástico.

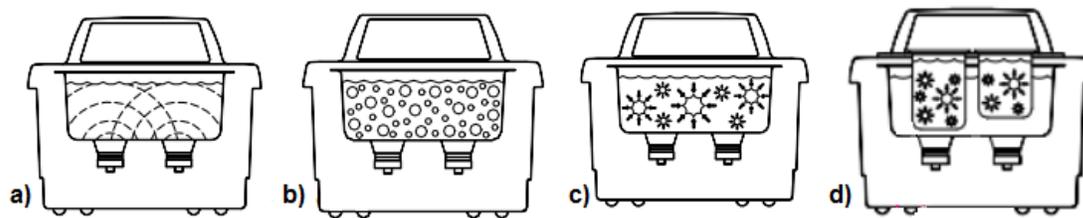


Figura 13. Formación de la cavitación en el baño ultrasónico  
Fuente: Branson Ultrasonics Corp

## 2.4 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos son moléculas presentes en productos de origen vegetal o animal que sin ser nutrientes actúan en el metabolismo humano y ejercen efectos beneficiosos para la salud. En la Figura 14 se muestra la clasificación de los compuestos bioactivos y sus derivados.

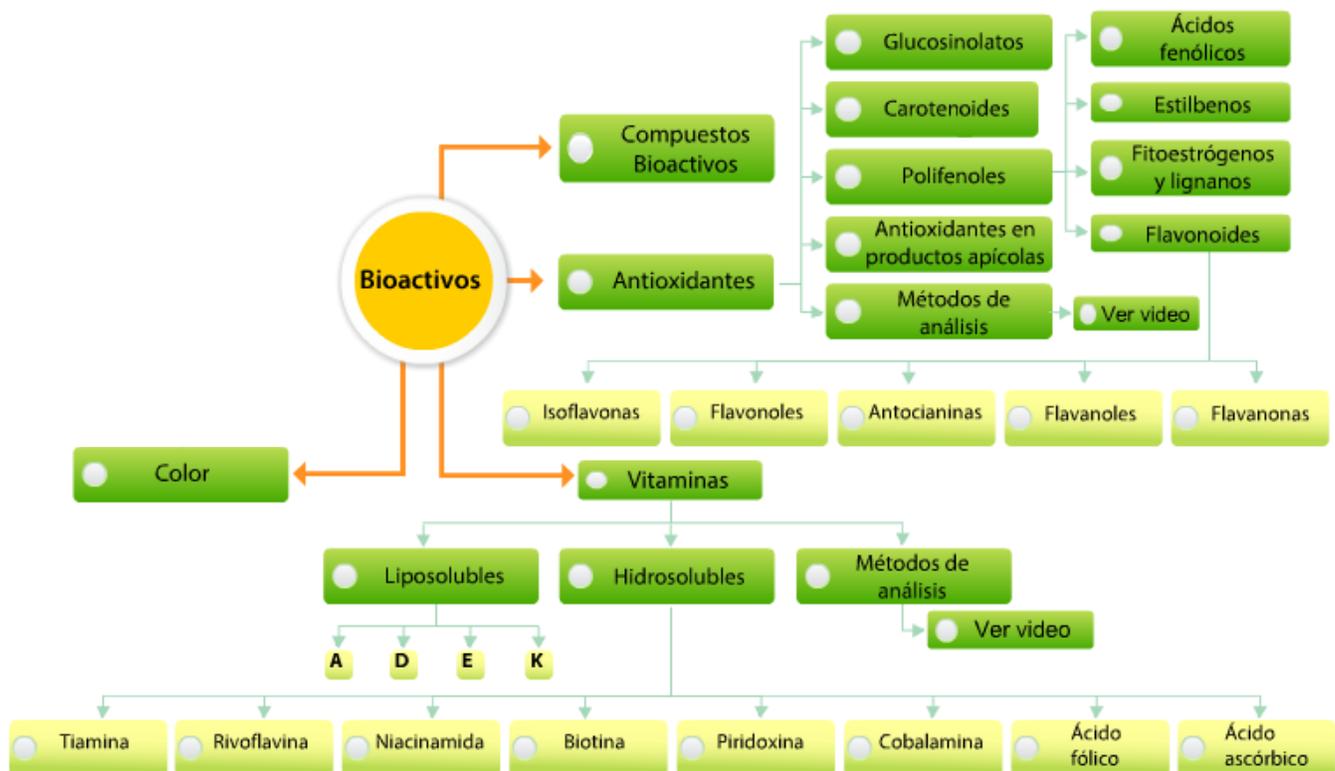


Figura 14. Compuestos bioactivos y tipos  
Fuente: Belitz, 2009

## 2.4.1 Compuestos fenólicos

Los componentes fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forman parte de la dieta humana. Dentro de la clasificación general se encuentran los fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, que constituyen un amplio grupo de sustancias químicas consideradas como metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y propiedades (Porras-Loaiza & López-Malo, 2009). Los compuestos fenólicos o polifenoles son uno de los grupos más importantes de compuestos que hay en las plantas, en la que están ampliamente distribuidos. Los flavonoides y ácidos fenólicos constituyen la mayoría de las clases importantes de polifenoles, con más de 5000 compuestos ya descritos (Muthupandian Ashokkumar et al., 2010)

### 2.4.1.1 Fenoles

Los fenoles son compuestos que presentan uno o más grupos hidroxilo (OH) unidos directamente a un anillo aromático y también denominado hidroxibenzeno (Figura 15). Los fenoles son poco solubles en agua, aunque presentan un puente de hidrógeno, la proporción de carbonos con respecto a la cantidad de OH es muy baja. Son componentes químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales. Originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en las plantas, en su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina. Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias presentes en las plantas con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas. Existen más de 80000 compuestos fenólicos identificados. (Shahidi & Naczki, 1995).

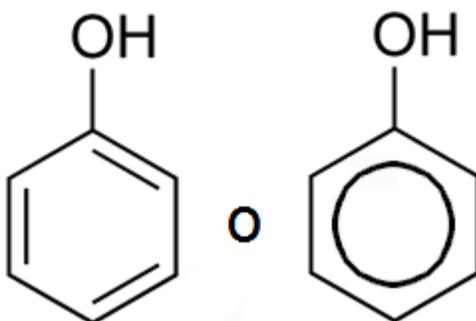


Figura 15. Estructura de los fenoles  
Fuente: (Requena, 2001)

### 2.4.1.2 Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales, son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética en la dieta humana (Figura 16). Se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en bebidas como vino. Se han identificado más de 5,000 flavonoides diferentes. La ingesta de flavonoides se estima como 23mg/día, siendo la quercetina el predominante con un valor medio de 16mg/día. Se han demostrado múltiples efectos positivos de los flavonoides debido a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres. Presentan efectos antiinflamatorios, antivirales o antialérgicos y un papel protector frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías. Algunos flavonoides poseen acciones pro-oxidantes, estas se producen solo en dosis altas (Martínez-Flóres, González-Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002).

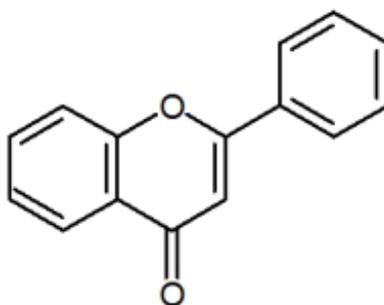


Figura 16. Estructura de los flavonoides  
Fuente: Trueba, 2003

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Havsteen, 1983; Peres, 1994). Se comportan como antioxidantes en una variedad de maneras, incluyendo la captura directa de especies reactivas del oxígeno, la inhibición de las enzimas responsables para la producción de aniones superóxido, la quelación de transición metales involucrados en los procesos de formación de los radicales y la prevención del proceso de peroxidación mediante la reducción de radicales libres alcoxilo y peroxilo.

### 2.4.1.3 Compuestos fenólicos en la miel

Los compuestos fenólicos en la miel son principalmente flavonoides, agliconas y derivados de ácidos fenólicos como ácidos benzoicos (Barberán, Martos, Ferreres,

Radovic, & Anklam, 2001). Hasta ahora, los compuestos fenólicos han estado en uso como marcadores químicos potenciales para autenticar el origen geográfico y botánico de la miel. Estos componentes bioactivos presentes en la miel varían ya que son de diferentes tipos de plantas (Martos, Ferreres, & Barberán, 2000).

## **2.5 Mecanismo de la acción antioxidante**

En la actualidad existen múltiples reportes que demuestran la capacidad antioxidante de plantas, frutas y vegetales que han sido utilizadas en tratamientos médicos tradicionales durante muchos años en diversas partes del mundo. La actividad antioxidante de dichas plantas se debe principalmente a compuestos no nutricionales que presentan una gran actividad biológica, tales como polifenoles, vitaminas y minerales (Chemah, Aminah, Noriham, & Aida, 2010; Khalaf, Ashok, Atif, & Zhana, 2008). Entre los polifenoles mayormente encontrados en los materiales vegetales estudiados se encuentran los flavonoides, isoflavonas, flavonas, quercitina, catequinas, isocatequinas y colorantes como betalainas e indicaxantina (Cai, Gu, & Tang, 2008; Sumaya-Martinez et al., 2011). La acción antioxidante presente en estas plantas es importante debido a que puede ayudar a las personas que las consumen a combatir enfermedades provocadas por una reacción de radicales libres o especies reactivas del oxígeno, nitrógeno o hierro. Los radicales libres son moléculas con un electrón desapareado, capaces de favorecer reacciones en cadena muy dañinas para el organismo, desencadenando un fenómeno conocido como estrés oxidativo. Dicho fenómeno ha sido recientemente asociado a enfermedades tales como Alzheimer, cáncer, además de algunas enfermedades cardiovasculares, debido a mecanismos de peroxidación lipídica, daño al DNA y proteínas, entre otros (Butera y col., 2002; Nuengchamng y col., 2004). En la Figura 17 se describe brevemente la acción antioxidante en contra de los radicales libres. Los antioxidantes poseen la capacidad para donar un electrón a los radicales libres y así detener la reacción en cadena dañina para el organismo.

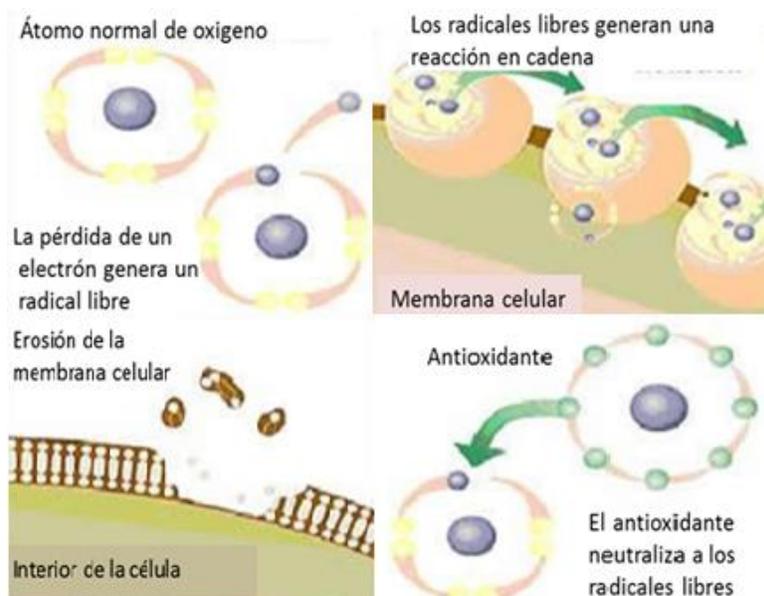


Figura 17. Acción antioxidante

Fuente: (Aguirre-Joya, Zugasti-Cruz, Belmares-Cerda, Aguilar, & Garza-Toledo, 2012)

### 2.5.1 Métodos para determinar actividad antioxidante

Existen distintos métodos para determinar la capacidad antioxidante como ABTS; DPPH, ORAC, DMPD, FRAP, ORAC. Sin embargo no existe el método ideal para evaluar la capacidad antioxidante total; por tal motivo se emplean análisis combinados para tener una mayor interpretación de resultados (Alvarez-Suarez et al., 2009).

Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH, ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de magnesio, persulfato de potasio, ABAP) enzimática (peroxidasa y mioglobulina) o también electroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en un medio orgánico. El radical ABTS tiene la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia de 515nm (Barquera, Cuenca, & Sánchez, 2008).

### 3 ANTECEDENTES

En la actualidad el estudio de la miel ha desarrollado un gran interés para los investigadores ya que es un alimento completo con grandes propiedades nutritivas. Sin embargo sufre un fenómeno de cristalización lo que ha llevado a los investigadores a realizar estudios para corregir este fenómeno y evaluar su calidad, utilizando principalmente el tratamiento térmico. Tal es el caso de (Turhan et al., 2008) en donde estudio la influencia del tratamiento térmico en la calidad de las mieles obteniendo como resultado que el contenido de HMF excesivo puede ser relacionada con las condiciones de almacenamiento primitivos en lugar de sobrecalentamiento.

(Singh & Bath, 1997) estudiaron la relación entre la calefacción y la formación de HMF en diferentes tipos de miel. La temperatura y tiempo de calentamiento mostraron efecto significativo sobre la formación de HMF, así mismo observaron una gran diferencia en la formación de HMF entre los diferentes tipos de miel y polinomios de segundo orden que se utilizan para predecir eficazmente la formación de HMF en diferentes tipos de miel.

(Kalogereas, 1955) informó por primera vez que las ondas sonoras de alta frecuencia (9kHz) eliminan los cristales existentes en la miel. El proceso de ultrasonido destruyó la mayor parte de las células de levadura que estaban presentes en la miel y las que sobrevivieron perdieron su capacidad para crecer. No se observaron cristales en ultrasonido tratada miel y granulación inhibida por un período (15 meses a 16°C) comparable al calentamiento de la miel. Una desventaja de este método es que se requieren tiempos de exposición de 15 a 30 minutos con implicaciones de costo.

(Liebl, 1978) propuso un método mejorado para la prevención de la granulación mediante la exposición la miel a las ondas de ultrasonido de una mucho más alta frecuencia (18 kHz) reduciendo el tiempo de licuefacción a menos de 30 segundos. Este proceso patentado fue diseñado para trabajar a menor temperatura de procesamiento (33°C) y facilitar una mayor retención de aroma y

sabor, junto con un gran ahorro en el costo de la energía en comparación con el tratamiento convencional que implica etapas de calentamiento y enfriamiento. Los estudios se llevaron a cabo a una escala considerablemente mayor (1500 Kg de miel/h) para demostrar las afirmaciones sobre la rentabilidad del proceso.

(Thrasyvoulou et al., 1994) estudiaron los efectos de las ondas ultrasónicas sobre la calidad de miel centrándose en algunas de las características químicas. Las muestras de miel cristalizada (100g c/u) fueron licuados por las ondas ultrasónicas de 23 kHz y se compararon con calentamiento convencional (calefacción de baño de agua; 60°C durante 30 minutos) y las muestras no tratadas. La licuefacción completa de miel (5 muestras de cada una de las mieles de flores y miel mielada) requirió de 18 a 25 minutos de procesamiento de ultrasonido. En consecuencia, la energía necesaria para la licuefacción varió desde 0.1056 hasta 0.1466 kWh, y la temperatura máxima alcanzada por las muestras fue de 76 a 82°C. La variación en el tiempo requerido para la licuefacción se atribuyó a la condición del granulado original y la naturaleza de las muestras.

(Kabbani, Sepulcre, & Wedekind, 2011) sometieron a la miel a temperaturas de 40-60°C por 20,40min, y 60 minutos de ultrasonicación y compararon con muestras tratadas térmicamente a las mismas temperaturas y tiempos. Los mejores resultados obtenidos fueron al aplicarle ultrasonido con una temperatura de 50°C. Estos autores comprobaron que al aplicarle ultrasonido a la miel cristalizada junto con tratamiento térmico la licuación de esta es más rápida y el contenido así como el tamaño de cristal disminuyen.

(Chaikham & Prangthip, 2015) realizaron un estudio en donde se evaluó la alteración de las propiedades antioxidantes en la miel después de ser sometidas a ultrasonicación a 5, 10, 15 y 20 minutos con diferentes amplitudes y proceso térmico (50,70 y 100°) con tiempos de 1,3 y 5 min, ellos obtuvieron mejores resultados en las muestras tratadas con ultrasonido y alta presión, ya que estas técnicas incrementaron su contenido en fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante (FRAP Y DPPH). Mientras que las muestras sometidas a tratamiento térmico disminuyeron su contenido.

## 4 JUSTIFICACIÓN

En los últimos años la miel de abeja ha tenido una producción relativamente considerable en el mundo, México se ha caracterizado por la producción de miel ocupando el tercer lugar a nivel mundial. Viendo que la producción de miel es un factor muy importante para la economía del país, se decidió estudiarla debido a que con el paso del tiempo esta tiende a cristalizar de manera espontánea formando monohidrato de glucosa, haciendo al producto poco aceptable para los consumidores, vendedores y productores, bajando así su calidad y contribuyendo a pérdidas económicas.

Actualmente la cristalización de la miel es retardada o eliminada con tratamiento térmico o microondas, sin embargo estas estrategias contribuyen a la pérdida de bionutrientes, aumentan el contenido de hidroximetilfurfural y realizan cambios en el color, debido a las reacciones químicas que se manifiestan al ser sometida a estos tratamientos.

Por tal motivo se buscó otra estrategia para la licuación de los cristales formados en la miel para no afectar sus compuestos bioactivos y su calidad, usando la aplicación de ultrasonido, ya que es una tecnología relativamente económica y que presenta diversos beneficios en los alimentos. Investigaciones anteriores han determinado que el ultrasonido junto con el tratamiento térmico es una estrategia para la licuación de la miel, sin embargo a altas temperaturas tiende a perder nutrientes y degradar la calidad. Por tal motivo en este estudio se decidió licuar la miel a una temperatura ambiente para ver el efecto que presentaba el ultrasonido en los compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

♣ Determinar el efecto del ultrasonido en los compuestos bioactivos durante la licuación de la miel por ultrasonido y evaluar el tamaño de cristal, actividad antioxidante, contenido de hidroximetilfurfural y color.

### 5.2 Objetivos Específicos

- Fijar las condiciones del proceso de ultrasonido para disminuir el tamaño de cristal y medir el tamaño a diferentes tiempos de sonicación.
- Determinar el efecto de ultrasonido en el parámetro de color
- Calcular el contenido de hidroximetilfurfural en las mieles
- Evaluar el efecto causado por ultrasonido en los compuestos fenólicos
- Valorar el efecto del ultrasonido en el contenido de flavonoides
- Cuantificar actividad antioxidante por ABTS y DPPH

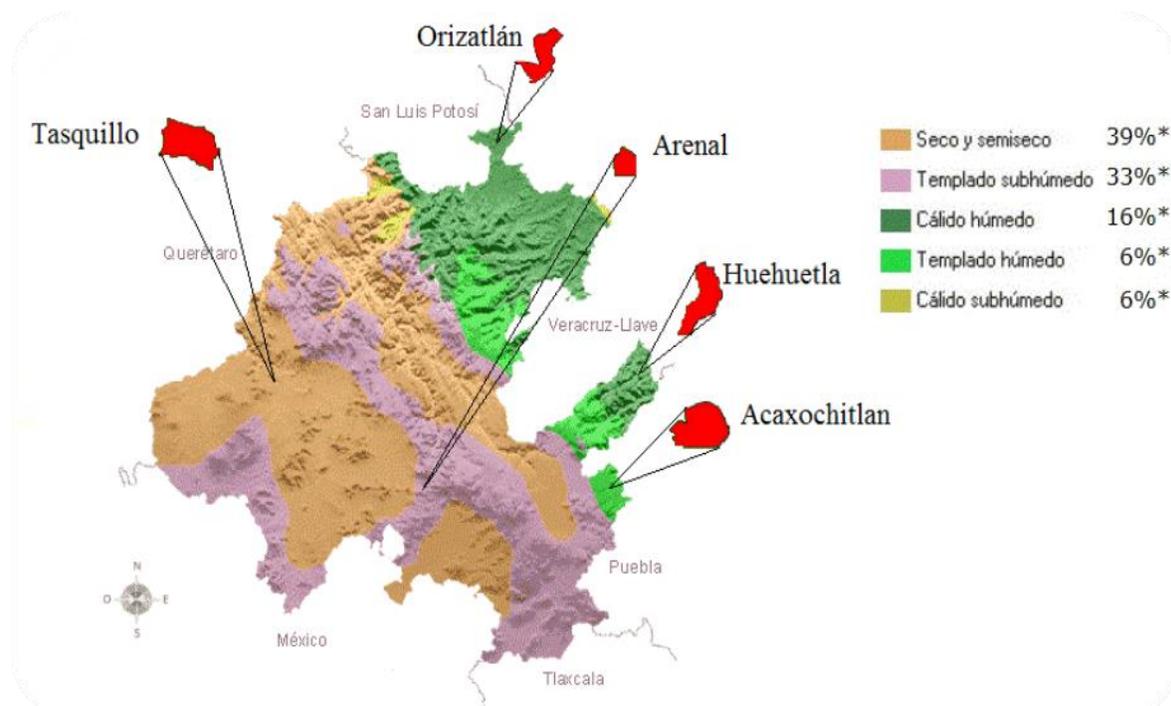
## **6 HIPÓTESIS**

La miel cristalizada al ser sometida a proceso de ultrasonido a una temperatura de 20°C se licua, no afectando los compuestos bioactivos.

## 7 MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Materiales

Se analizaron mieles de 5 municipios del Estado de Hidalgo como el Arenal (multifloral), Orizatlán (monofloral), Tasquillo (mielada), Acaxochitlan (multifloral) y Huehuetla (multifloral) (Figura 18). Las mieles fueron cosechadas en marzo-mayo del año 2012. Las mieles fueron almacenadas y se dejaron cristalizar, en enero del año 2014 se procedió al análisis.



**Figura 18. Ubicación de los municipios del Estado de Hidalgo productores de miel y tipos de clima**  
Fuente: (INEGI, 2010)

### 7.2 Diseño Experimental

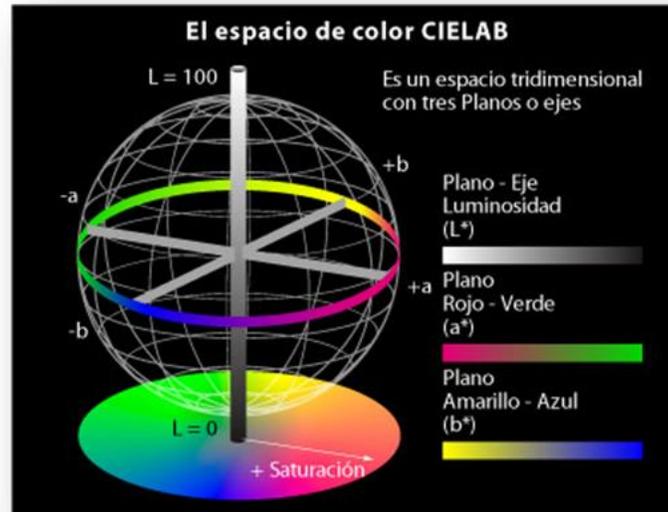
En tres tubos de ensaye se pesaron 15 gr de cada miel de los 5 municipios del Estado de Hidalgo. Las muestras pesadas se metieron en un baño ultrasónico Branson 3510 durante periodos de tiempo de 5, 10 y 15 minutos a una temperatura ambiente (20°C) con una frecuencia de 42KHz.

### 7.3 Tamaño de cristal

Se tomó una alícuota de aproximadamente 1ml de miel y se colocó en un porta objetos, posteriormente se observó en un microscopio Olympus CX31. Las muestras de miel cristalizada se observaron en el objetivo 4x y las tratadas con ultrasonido fueron vistas con los objetivos 10x y 40x. Por medio del programa Infinity capture se tomaron fotografías de 25 cristales de cada una de las muestras tratadas y no tratadas con ultrasonido. Con la ayuda del programa Image pro-plus se midió el área en  $\mu\text{m}^2$  de cada uno de los cristales.

### 7.4 Determinación de color

Para la determinación de color se utilizó un colorímetro (MINOLTA CM-508d, Japón), se midieron los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de la Comisión Internacional en Iluminación (CIE). Donde  $L^*$  es la luminosidad o brillo de la superficie y va de 0 (negro) a 100 (blanco). Los otros dos ejes de coordenadas son  $a^*$  y  $b^*$ , y representan variación entre rojizo-verdoso, y amarillento-azulado, respectivamente (Fig.19).



**Figura 19.** Espacio de color CIELAB  
Fuente: (Westland, 2001)

Las determinaciones de las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  fueron hechas por triplicado. Los valores  $a^*$  y  $b^*$  fueron utilizados para calcular la intensidad de color de la miel por la fórmula  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ . Para determinar el ángulo Hue o también llamado

tono, se utilizaron los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  y fue calculado por medio de la fórmula  $^{\circ}\text{H}=\text{Tan}^{-1}(b^*/a^*)$ . El ángulo del tono se expresó en grados que van de  $0^{\circ}$  a  $360^{\circ}$  como se encuentra representado en la Figura 20 (Francis, 1980).

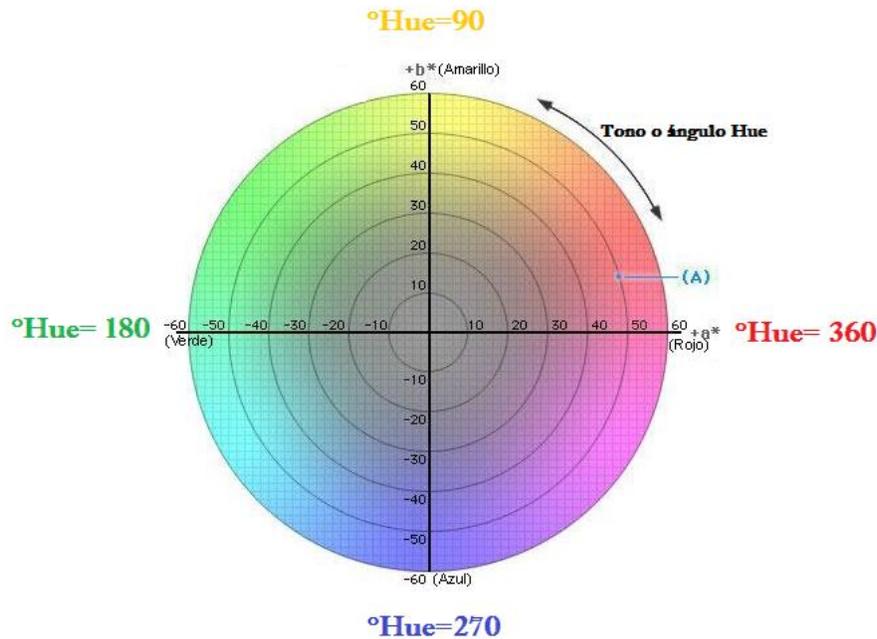


Figura 20. Espacio de color para determinar el ángulo de tono ( $^{\circ}\text{Hue}$ ).  
Fuente: (Baéz-Sañudo & Contreras- Martínez, 2011)

## 7.5 Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF)

Se utilizó el método descrito por la (AOAC980.23, 2005), para determinar el contenido de HMF en la miel, el cual consistió en pesar 5 g de miel en 25 mL de agua destilada, después se adicionó 0.5 mL de Carrez I (Ferrocianuro de potasio) (J.T. Baker, USA), enseguida se agregó 0.5 mL Carrez II (Acetato de zinc) y se homogenizó. La mezcla se colocó en un matraz de 50 mL y se aforó con agua destilada. Posteriormente se filtró el contenido, los primeros 10 mL del filtrado fueron eliminados. En dos tubos de ensayo se colocaron 5 mL del filtrado, en uno se agregó 5 mL de agua destilada y en el otro 5 mL de bisulfito de sodio al 0.2% (J. T. Baker, Germany). Se leyeron las absorbancias de la muestra con agua destilada y con bisulfito de sodio a 284 nm y 336 nm respectivamente. Para determinar la cantidad de hidroximetilfurfural en la miel se empleó la siguiente fórmula:  $\text{HMF (100 g de miel)} = (A_{284} - A_{336}) * 14.97 * (5 \text{ g muestra})$

Donde:

A 284 = valor de la absorbancia a 284 nm

A 336 = valor de la absorbancia a 336 nm

14.97= factor

## 7.6 Determinación de fenoles totales

Se llevó a cabo mediante la metodología de Folin- Ciocalteau (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999). Se pesaron 5 g de miel y se le adicionaron 50 mL de agua destilada y se homogenizó. El siguiente paso fue filtrar con papel Whatman No.1. Posteriormente se tomaron 0.5 mL de la muestra y se adicionaron en tres tubos de ensaye cubiertos con papel aluminio, se mezclaron con 2.5 mL del reactivo diluido (1:10) de Folin-Ciocalteau 0.2N (Sigma Aldrich, USA) dejándolos reposar por 5 min. Finalmente se adicionaron 2mL de la solución de carbonato de sodio al 7.5% hasta lograr una mezcla homogénea. Se dejaron reposar los tubos durante 2 horas y después se leyó la absorbancia de cada uno de ellos en un espectrofotómetro (Varian CARY 100BIO, Italia) con celdas de cuarzo, a una longitud de onda de 760nm. Los resultados obtenidos, se expresaron en miligramos de equivalentes de ácido gálico (mg EAG/100g miel) de acuerdo a la curva de calibración (Figura 21) de ácido gálico (Fermont, Productos químicos Monterey) con una de  $R=0.9993$  en concentraciones de 0-100mg/L. Las determinaciones de fenoles totales se realizaron por triplicado.

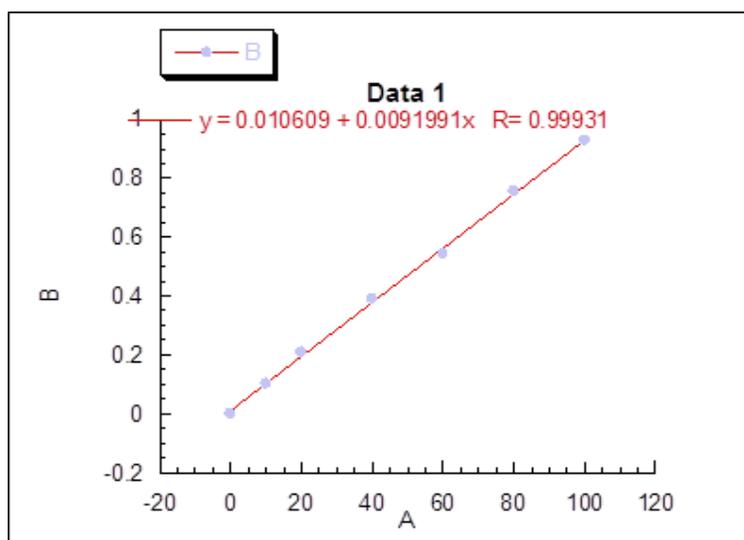


Figura 21. Curva patrón para fenoles totales

## 7.7 Contenido de flavonoides totales

Se realizó mediante el método Dowd, adaptado por (Arvouet-Grand, Vennat, & A., 1994). Se utilizó una solución de tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) (Fermont, Monterey, Mex.) al 2% en metanol. Se pesó 1g de miel y se aforo con 10 mL de metanol en en agitación hasta que se disolvieran los cristales, la mezcla obtenida se filtró con papel Whatman No. 1. Posteriormente se colocaron 2 mL de la mezcla de miel más 2 mL de la solución metanólica de  $\text{AlCl}_3$  en tres tubos de ensaye y se dejaron reposar durante 20 min en la obscuridad. Transcurrido el tiempo se leyeron las absorbancias a 415 nm en un espectrofotómetro. El contenido total de flavonoides fue determinado usando la curva (Figura 22) con quercetina (Sigma Aldrich, USA) (0-50mg/L) dando una  $R=0.9998$  con concentraciones de 0-70mg/L, los resultados fueron expresado en miligramos equivalentes de quercetina (mg EQ)/100g miel.

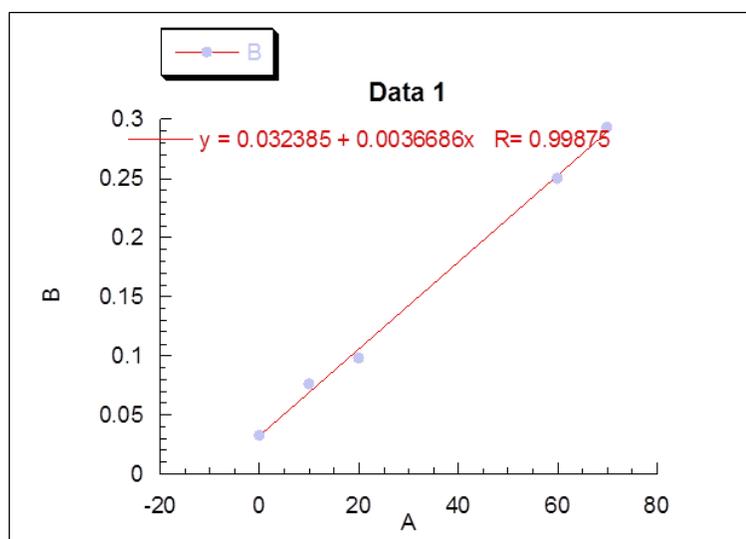


Figura 22. Curva patrón para Flavonoides totales

## 7.8 Determinación de actividad antioxidante del radical ABTS

Se realizó por la metodología de (Re. R., Pellegrini. N., Proteggente. A., Pannala. A., & Evans., 1999) la cual se basa en la decoloración del catión radical ABTS. El radical ABTS (Sigma-Aldrich, Canada)  $7 \mu\text{M}$ , se hizo reaccionar con persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) (Mallinckrodt Chemicals, USA)  $2.45 \mu\text{M}$ , mezclando ambos reactivos, en una proporción de 1:1. Esta mezcla se dejó en agitación en la

oscuridad durante 16 horas para formar el radical. Una vez formado se diluyó con etanol al 20%, hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre  $0,7 \pm 0,01$  a 734 nm. Ya alcanzada la absorbancia del ABTS se le agregaron 100 $\mu$ L del extracto de miel, se agitó rápidamente y se midió el cambio de absorbancia a los 10 min de la reacción. Se calculó la actividad antioxidante usando una curva estándar (Figura 23) de ácido ascórbico (REASOL) con una concentración de 0-95 mg EAA /L, dando una  $R=0,9987$ . Los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido ascórbico (mg EAA)/100g de miel.

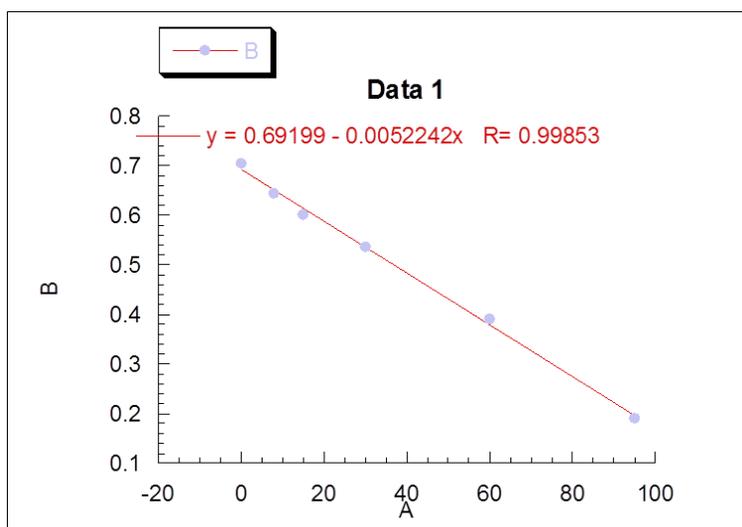


Figura 23. Curva patrón para determinar actividad antioxidante por DPPH

## 7.9 Determinación de la actividad antioxidante por DPPH

Para la preparación de la solución de DPPH 0.2 Mm, se pesaron 7.8 mg de DPPH (Sigma Aldrich, USA) y se disolvieron en 100 mL de metanol al 80%, la mezcla se dejó en agitación en la oscuridad durante dos horas para una buena disolución. En una celda de cuarzo se colocaron 2.5 mL de solución metanólica de DPPH y se hicieron reaccionar con 0.5 mL de solución de miel, la mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 minutos y se leyó a una absorbancia de 517 nm. La actividad antioxidante fue determinada usando una curva estándar (Figura 24) con ácido ascórbico (0-80 mg/L) dando una  $R=0,998$ . Los resultados fueron

expresados en miligramos equivalentes de ácido ascórbico (mg EAA)/100g de miel (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995).

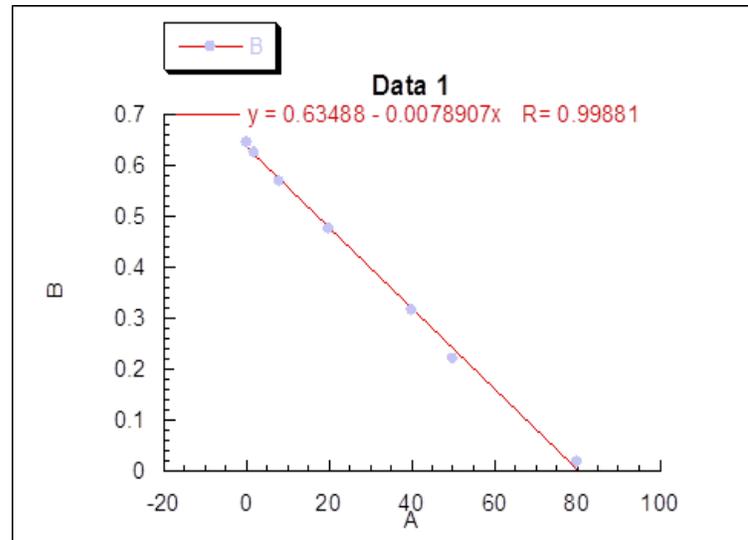


Figura 24. Curva patrón para determinar actividad antioxidante por ABTS

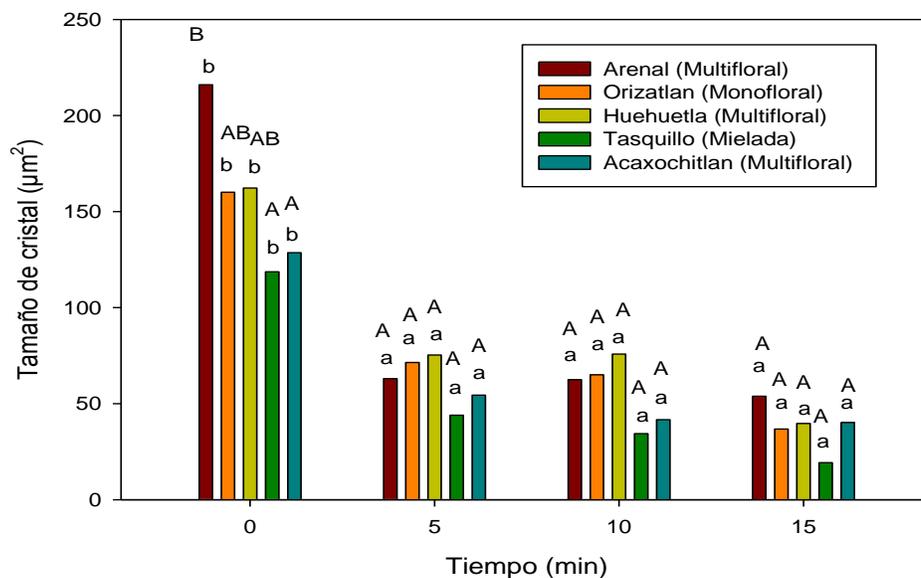
### 7.10 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron por un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un diseño completamente al azar. Como se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) se utilizó la técnica de comparación de medias de Tukey esto con ayuda del paquete estadístico NCSS (2007).

## 8 RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 8.1 Tamaño de Cristal

En la Figura 25 se puede observar que las mieles presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el tamaño de cristal, siendo la miel del Arenal la que presentó el tamaño más grande. Esta diferencia puede deberse a la nucleación de los cristales conforme al tiempo, a las condiciones de almacenamiento o al contenido de glucosa de cada miel (Flood & Srisanga, 2012). Cuando se aplicó ultrasonido los cristales redujeron significativamente ( $p < 0.05$ ). La miel que más disminuyó el tamaño de cristal fue la del Arenal con una reducción de  $153 \mu\text{m}^2$ , seguida por las mieles de Orizatlan, Huehuetla y Tasquillo con una reducción de tamaño de  $123.29$ ,  $122.60$  y  $118.61 \mu\text{m}^2$  respectivamente. Sin embargo la miel que presento menor reducción en tamaño de cristal fue la miel de Acaxochitlan con solo  $74.16 \mu\text{m}^2$ . Se puede observar que todas las miles desde el minuto 5 al minuto 15 de ultrasonido no presentan diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el tamaño de cristal. (Mortas & Yazici, 2013) y (Kabbani et al., 2011) mencionan que la ultrasonificación es uno de los procesos no térmicos que reduce el tamaño de partícula y también elimina los cristales existentes en la miel, esta información es corroborada con los datos obtenidos en este estudio.



**Figura 25. Efecto de ultrasonido en el tamaño de cristal de la miel cristalizada de diferentes municipios del estado de Hidalgo a tiempos de 5, 10 y 15 minutos.**

Las letras minúsculas representan la diferencia significativa entre la miel cristalizada y las tratadas con ultrasonido de cada una de las muestras. Las letras mayúsculas indican la diferencia significativa entre todos los tipos de mieles.

## 8.2 Color

En la Tabla 2 se observa que las mieles de Orizatlan, Huehuetla, Acaxochitlan y Tasquillo al ser tratadas con ultrasonido presentaron disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en su luminosidad ( $L^*$ ), esto podría ser debido la reacción de Maillard, a la caramelización de la fructosa o a las reacciones de los polifenoles (Gonzales et al., 1999) (Gonzales et al., 1999). Sin embargo la miel del Arenal aumento su luminosidad. Estos resultados obtenidos de  $L^*$  de las muestras de miel concuerdan a los reportados por (Wilczyńska, 2014) donde el efecto de la filtración en la luminosidad de la miel dependió de su origen floral. Los parámetros  $a^+$  y  $b^+$  de las cinco muestras de miel presentaron valores con tendencias rojas  $a^+$  y valores con tendencias amarillas  $b^+$  con respecto al diagrama de color, presentando diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en todos los tratamientos de ultrasonido.

La cromaticidad la miel del Arenal, Orizatlan, Huehuetla y Tasquillo al aplicarles ultrasonido presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) (Tabla 2) lo que indica que la saturación del color aumentó. Sin embargo en la miel de Acaxochitlan no existieron efectos significativos ( $p > 0.05$ ) por el tratamiento de ultrasonido.

En cuanto al tono (ángulo Hue) todos los ángulos de las mieles se encontraron en el ángulo de color de 0 a 90° con colores que van de rojo-amarillo (Tabla 2). Cuando las mieles fueron sometidas a ultrasonido se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) obteniendo el tono más oscuro. Una de las razones del cambio de color en las muestras de miel podría ser por el efecto de cavitación del ultrasonido el cual puede producir reacciones químicas (Adekunte, Tiwari, Cullen, Scannell, & O'Donnell, 2010).

Tabla 2. Determinación de los parámetros de color L, a+, b+, cromaticidad (Cr) y tono o ángulo Hue de las cinco mieles del Estado de Hidalgo tratadas con tiempos de ultrasonido de 5,10 y 15 minutos.

Miel	Parámetro	Cristalizada			5'			10'			15'		
		Medición	Cr	Ángulo Hue	Medición	Cr	Ángulo Hue	Medición	Cr	Ángulo Hue	Medición	Cr	Ángulo Hue
Arenal (Multifloral)	L	18.66±0.31b	123.33±1.70a	51.40±0.68c	21.49±0.31d	161.83±3.82bc	51.96±0.72c	17.22±0.17a	158.27±4.99b	40.09±0.43a	20.17±0.18c	167.66±2.54c	46.94±0.94b
	a	9.79±0.08 <sup>a</sup>			11.09±0.24b			13.61±0.29d			12.50±0.31c		
	b	12.28±0.20b			14.17±0.20d			11.46±0.11a			13.38±0.11c		
Orizatlan (Monofloral)	L	25.95±0.63c	134.40±2.94a	67.06±1.00c	22.80±0.45b	157.78±1.06b	56.90±1.40b	21.40±0.17a	159.30±1.57bc	52.14±0.47a	23.44±0.22b	168.26±6.38c	56.88±1.54b
	a	6.39±0.33 <sup>a</sup>			9.70±0.39b			10.95±0.13c			10.02±0.59bc		
	b	15.10±0.06bc			14.89±0.20b			14.09±0.11a			15.36±0.12c		
Huehuetla (Multifloral)	L	22.09±0.17b	142.82±1.85b	57.87±0.33b	17.77±0.63a	124.92±7.59a	48.01±2.78a	19.38±0.15a	125.61±1.28a	53.33±0.94ab	17.34±1.76a	121.36±6.82a	47.33±7.11a
	a	8.99±0.11 <sup>a</sup>			10.57±0.82a			9.46±0.26a			10.53±1.73a		
	b	14.31±0.10c			11.73±0.38ab			12.71±0.09b			11.37±0.92a		
Tasquillo (Mielada)	L	14.29±0.44b	120.83±5.13a	37.76±2.29b	14.09±0.60b	160.72±3.57c	31.62±1.80a	12.51±0.20a	142.44±5.15b	29.63±1.09a	12.30±0.53a	133.67±7.51ab	30.17±2.40a
	a	12.29±0.64 <sup>a</sup>			15.26±0.45b			14.67±0.42b			14.13±0.75b		
	b	9.51±0.28b			9.39±0.40b			8.34±0.13a			8.20±0.35a		
Acaxochitlan (Multifloral)	L	17.19±0.29b	190.07±1.39a	35.95±0.81b	14.06±0.62a	182.55±11.47a	29.37±0.50a	13.97±0.24a	179.41±3.37a	29.45±0.84a	15.18±0.77a	187.07±9.51a	31.63±2.63a
	a	15.78±0.21 <sup>a</sup>			16.64±0.46a			16.49±0.29a			16.45±0.87a		
	b	8.11±0.19b			9.37±0.42a			9.31±0.16a			10.12±0.51a		

Las letras minúsculas en forma horizontal indican las diferencias significativas (p<0.05) de Luminosidad, a+ y b+, cromaticidad (Cr) y tono o ángulo Hue entre los tiempos de tratamiento de ultrasonido aplicados a cada una de las mieles.

### 8.3 Contenido de Hidroximetilfurfural (HMF)

En la figura 26 se observa el efecto del ultrasonido en HMF de las diferentes mieles. La miel de Arenal, Huehuetla, Tasquillo y Orizatlan no presentan efecto significativo ( $p>0.05$ ) en el contenido de hidroximetilfurfural. (Biluca et al., 2014) muestran que al aplicarle un tratamiento térmico a la miel si existen diferencias por el tipo de abeja con o sin aguijón. Encontrando un contenido mayor de hidroximetilfurfural en las mieles producidas por abejas con aguijón. Estos resultados están relacionados ya que la mieles de las abejas sin aguijón presentan una mayor concentración de fructuosa que tiene una mayor resistencia en la a reacción de Maillard. La miel de Acaxochitlan presento efecto significativo ( $p<0.05$ ) aumentando su contenido de hidroximetilfurfural un 28.73% a los 15 minutos de ultrasonido pero encontrándose por debajo de los 40 mg/kg (Figura 26). Este fenómeno puede deberse a que a través del tratamiento de ultrasonido ocurre el efecto de cavitación (Muthupandian Ashokkumar et al., 2010) que puede contribuir a la generación de la reacción de Maillard. Estudios de (Fallico, Zappalà, Arena, & Verzera, 2004);(Turhan et al., 2008);(Biluca et al., 2014); (Escriche, Kadar, Juan-Borrás, & Domenech, 2014) mostraron que las mieles incrementan su contenido de HMF al aplicarles tratamiento térmico.

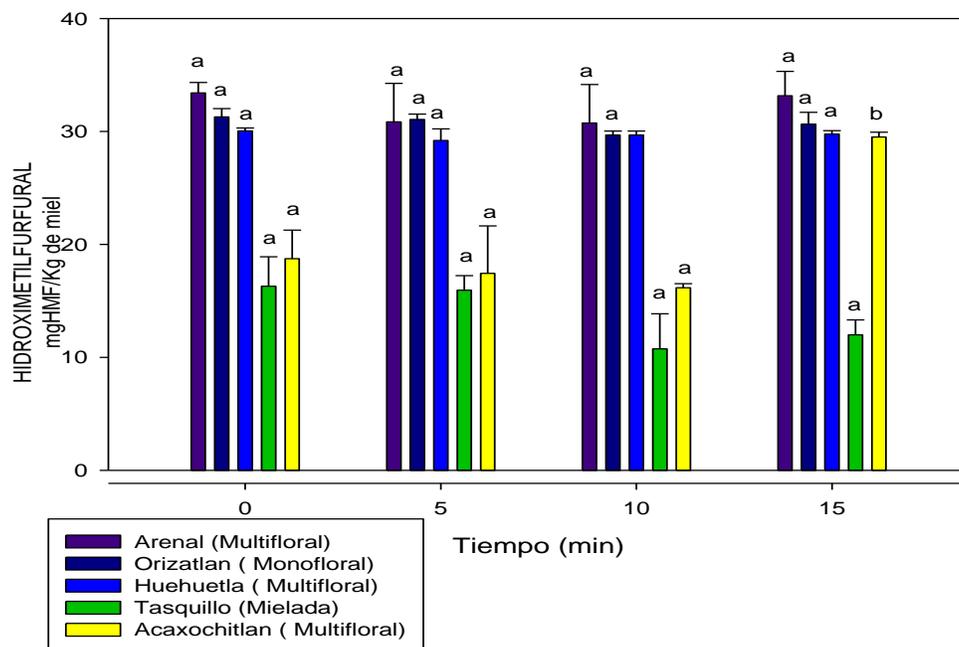


Figura 26. Efecto de ultrasonido en el contenido de Hidroximetilfurfural de la miel

#### **8.4 Fenoles totales**

En la Figura 27 se observa que las mieles de Orizatlán, Huehuetla, Tasquillo y Acaxochitlán presentan efecto significativo ( $p < 0.05$ ) al ser sometidas a ultrasonido aumentando su contenido en fenoles totales. La miel de Orizatlán fue la miel que más incrementó su contenido de fenoles en el minuto cinco 33.58 mg EAG/100g de miel, siendo el 214.47%; así mismo se observa que la miel del Arenal no presentó ningún efecto con respecto al contenido de fenoles totales, ya que en esta miel no se incrementó su contenido como en las demás (Figura 27).

Los resultados de (Chaikham & Prangthip, 2015) mostraron que los compuestos fenólicos totales en mieles tratadas con ultrasonido a 20 kHz y 20-60% amplitudes durante 5-20 minutos aumentaron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) en comparación con la muestra no tratada. El tratamiento con 60% de la amplitud durante 20 min se incrementó de 49 a 74 mg EAG/100g de miel, siendo el 51.02% de incremento.

(Martínez-Flores, Garnica-Romo, Bermúdez-Aguirre, Pokhrel, & Barbosa-Cánovas, 2015) reportaron que el contenido inicial de compuestos fenólicos en las muestras de jugo de zanahoria tratadas con termosonicación a 50, 54 y 58°C mostraron valores similares no presentando diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), que van desde 20.25 hasta 20.63  $\mu\text{g/mL}$ . Al ser almacenadas durante 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 días estas incrementaron su contenido de 20.25-49.28  $\mu\text{g/mL}$  en el día 10, de 20.38-25.85  $\mu\text{g/mL}$  y 20.19 a 26.45 en los días 12 y 14, respectivamente. El aumento de los compuestos fenólicos tanto en muestras de jugo de zanahoria procesadas y sin procesar, podría ser el resultado del mecanismo de estrés inducido en las células de la zanahoria dañadas por la acción física al exprimir el jugo o por el procesamiento con ultrasonido.

En otro estudio, (Altemimi, Choudhary, Watson, & Lightfoot, 2015) determinaron el efecto de ultrasonido en el contenido de fenoles en espinaca en donde se realizó la comparación entre la extracción de polifenoles de espinaca con la extracción convencional (control). Con el fin de comparar entre la técnica de baño de agua ultrasónico y el método convencional, se llevó a cabo el primer experimento utilizando un baño de agua ultrasónico con temperatura 40°C, 50% de potencia,

30 minutos y ambos 37 y 80 kHz por separado mientras que el tradicional fue 50°C durante 30 min. Los resultados mostraron que ultrasonificación a 37 kHz aumenta significativamente ( $P < 0.0001$ ) el rendimiento de los contenidos fenólicos de hojas de espinaca en comparación con la extracción convencional. Los rendimientos fueron 22.47, 69.32 y 95.76 mg/100g DW y contenido de fenoles totales fue 11.98 para el control y 33.33, y 51 mg GAE/100gDW para ultrasonido de 80 kHz y 37 kHz respectivamente.

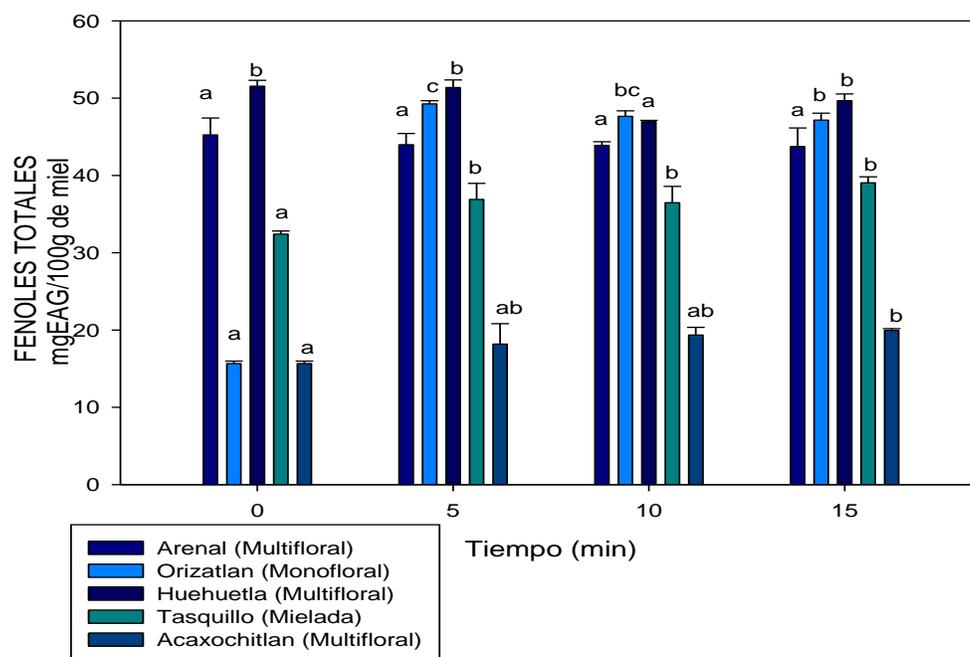


Figura 27. Efecto del ultrasonido en el contenido de fenoles totales de la miel

## 8.5 Flavonoides totales

En la Figura 28 se observa que las mieles del Arenal, Tasquillo, Orizatlan y Acaxochitlán presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el contenido de flavonoides totales al ser expuestas a ultrasonido, estas mieles presentaron un efecto positivo al incrementar su contenido 14.15, 10.59, 22.15 y 19.92% respectivamente. Mientras que la miel de Huehuetla no presenta diferencias significativas en ninguno de los tiempos de ultrasonido comparados con el control.

Estudio relacionado con el tema de investigación fue el realizado por (Chaikham & Prangthip, 2015) en donde las muestras de miel se sometieron a 0,5,10, 15 y 20 minutos de sonicación a una amplitud de 20, 40 y 60 % incrementando su contenido de flavonoides de una manera significativa con la amplitud del 60%. El incremento a esa amplitud fue de 31.88, 34.09, 38.63 y 47.72 mg/100g de miel en los minutos 5, 10, 15 y 20 respectivamente. Como se puede observar este estudio se encuentra relacionado con el nuestro, ya que desde el minuto cinco el ultrasonido empieza hacer su efecto incrementando el contenido en flavonoides.

En otro estudio (Altemimi et al., 2015) determinó el efecto de ultrasonido en el contenido de fenoles y actividad antioxidante del extracto de espinaca en donde se realizó la comparación entre la extracción de polifenoles de espinaca con la extracción convencional (control). Con el fin de comparar entre la técnica de baño de agua ultrasónico y el método convencional, se llevó a cabo el primer experimento utilizando un baño de agua ultrasónico con la temperatura 40°C, 50% de potencia, 30 min y ambos 37 y 80 kHz por separado mientras que la extracción convencional fue utilizado 50°C durante 30 min. Los flavonoides totales de espinacas se incrementaron de 10 a 25 y 45 (mg catequina/100 g D.W) en 30 y 37 Khz incrementando así un 150 y 450%.

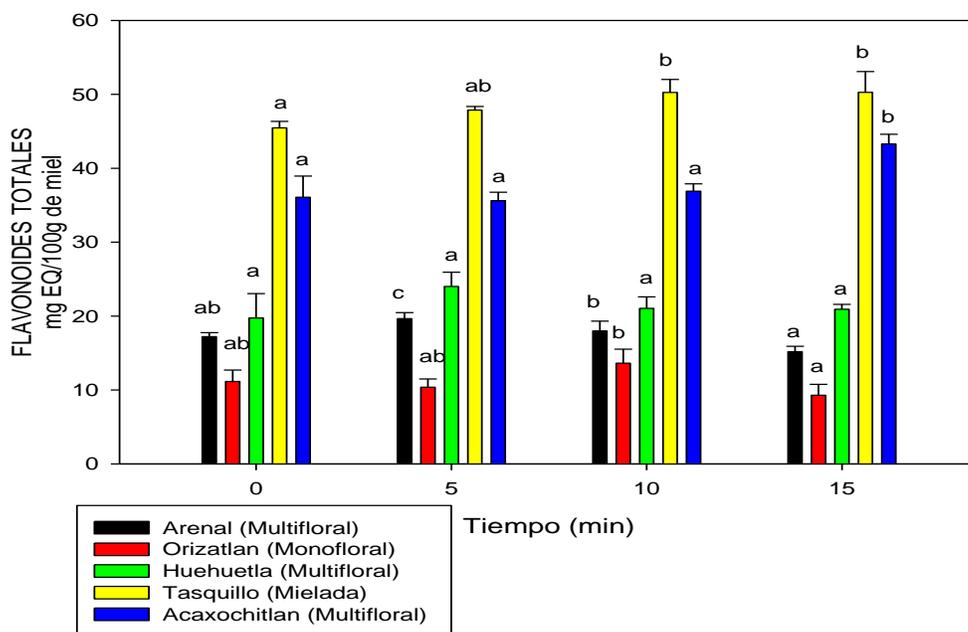


Figura 28. Efecto de ultrasonido en el contenido de flavonoides totales de la miel

## 8.6 Actividad antioxidante por radical ABTS

La Figura 29 muestra los resultados de la actividad antioxidante por ABTS obtenidos de las muestras tratadas con ultrasonido y el control, encontrando diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en las mieles de Acaxochitlán y Tasquillo ya que estas mieles incrementaron su actividad antioxidante durante el tratamiento de ultrasonido a 67.94 y 47.58 respectivamente. La miel que mayor incremento tuvo durante el proceso de ultrasonido fue la miel de Orizatlan con 116.49%. En la miel del Arenal el ultrasonido no tuvo influencia en el incremento de la actividad antioxidante, esta conservo su actividad antioxidante inicial.

(Lachman et al., 2010) estudiaron la actividad antioxidante de mieles Checas y mostraron diferencias en las propiedades antioxidantes. Los valores más altos de actividad antioxidante los mostraron las mieles mielada y más bajas las mieles florales. Las diferencias en las mieles poliflorales en comparación con mieles monoflorales son indicativos de un amplio espectro de antioxidantes. Estos resultados concuerdan con los nuestros ya que la miel monofloral de Orizatlan fue la que presentó menor actividad antioxidante.

El incremento en la actividad antioxidante de la miel sometida a ultrasonido no concuerda los con los resultados que se determinaron en el jugo de tuna (*Opuntia ficus-indica*) al cual se le aplico ultrasonido con amplitudes de 40, 60 y 80%, ya que no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en la captación de radicales ABTS (Zafra-Rojas et al., 2013).

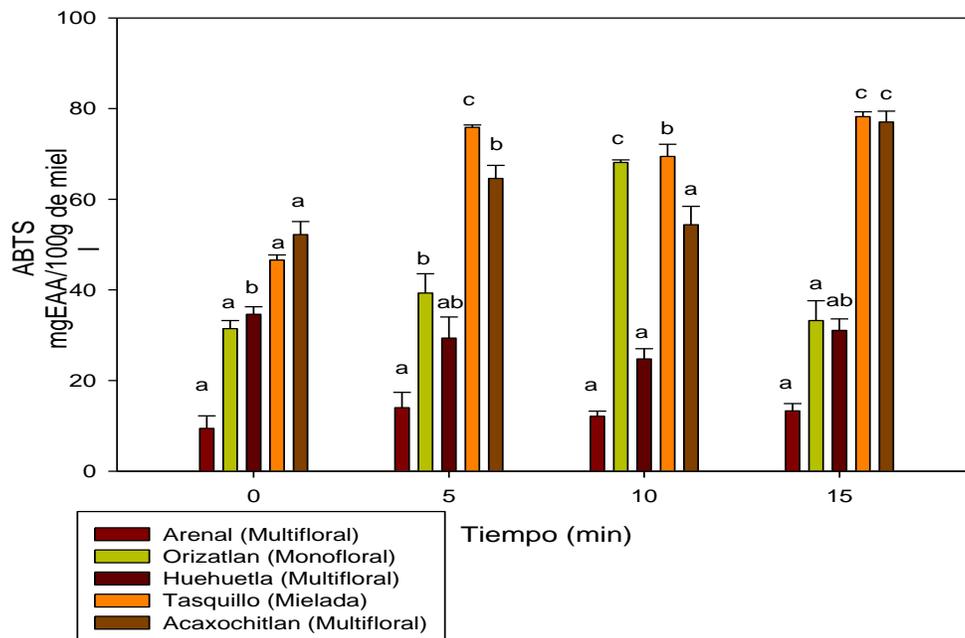


Figura 29. Efecto del ultrasonido en la actividad antioxidante de la miel y su Inhibición del radical ABTS

### 8.7 Actividad antioxidante por radical DPPH

En la Figura 30 se muestra el efecto del ultrasonido en la actividad antioxidante por el radical DPPH, en donde se observa que las mieles de los municipios del Arenal, Tasquillo, Orizatlan y Acaxochitlán tuvieron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) al ser tratadas con ultrasonido aumentando su actividad antioxidante 13.56, 5.81, 7.02 y 2.25% respectivamente. Sin embargo la miel de Huehuetla no presentó efecto por el ultrasonido ( $p > 0.05$ ).

(Chaikham & Prangthip, 2015) revelaron que la miel al ser tratada con termosonicación a una amplitud de 60% y temperatura de 65°C aumenta su actividad antioxidante (DPPH) con respecto al tiempo de sonicación, incrementando hasta un 30.43% su actividad en el minuto 20.

Los resultados obtenidos en este estudio son similares a los que presenta (Zafra-Rojas et al., 2013) ya que al aplicarle ultrasonido al jugo de la tuna obtuvieron un incremento en actividad antioxidante de 4368.5 a 4812.9  $\mu\text{mol TE/L}$  aumentando un 10.24%. Este incremento se observó a una amplitud de 80% en el minuto 15.

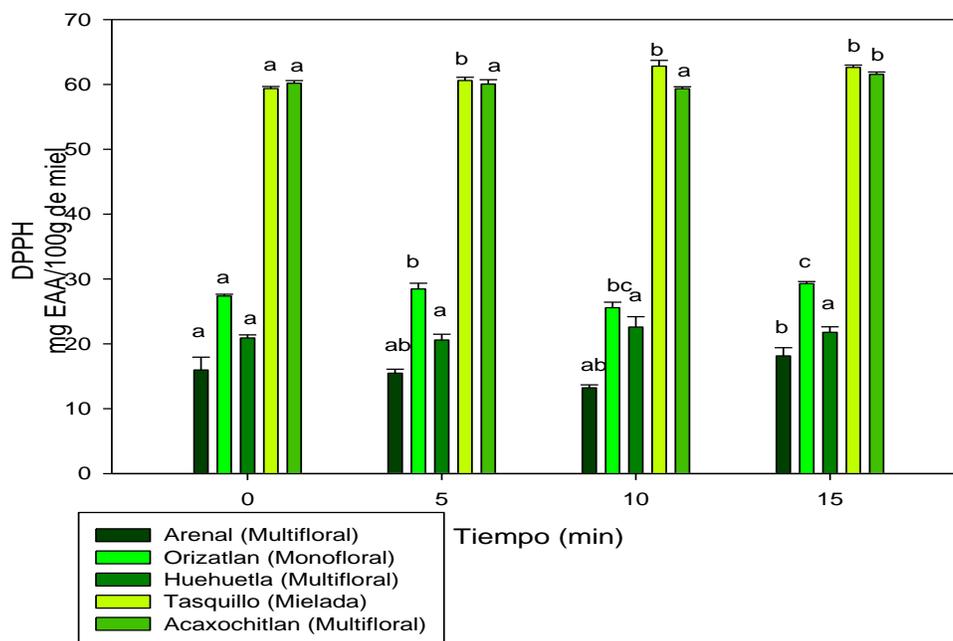


Figura 30. Efecto del ultrasonido en la actividad antioxidante de la miel y su Inhibición del radical DPPH.

## 8.8 Correlación de parámetros determinados de mieles del Estado de Hidalgo

En la tabla 3 se puede apreciar que la miel de Tasquillo presenta una buena correlación entre fenoles totales y ABTS ( $r=0.936$ ) así como la miel del Arenal ( $r=0.814$ ), mientras que la miel de Huehuetla presenta una buena correlación entre flavonoides totales y DPPH ( $r=0.942$ ) mostrando así que los flavonoides totales son los responsables de la actividad antioxidante. Orizatlan y Tasquillo presentan una excelente correlación entre flavonoides y DPPH de  $r=0.987$  y  $r=0.980$ . Los resultados obtenidos muestran que las mieles contienen diferentes compuestos bioactivos con actividad antioxidante por su diferente origen floral como los reporto (Alvarez-Suarez et al., 2009) los fenoles totales y los flavonoides están relacionados con la actividad antioxidante. Las correlaciones determinadas por (Cimpoi, Hosu, Miclaus, & Puscas, 2013) son similares a las nuestras ya que se reportaron una buena correlación entre los fenoles totales y la actividad antioxidante por DPPH con una  $r=0.856$ . (Gheldof & Engeseth, 2002) mencionan que existe una fuerte correlación entre la actividad antioxidante de las mieles y su composición fenólica.

Con respecto a la correlación entre hidroximetilfurfural y DPPH las mieles de Tasquillo y Acaxochitlan presentan una correlación de  $r=0.918$  y  $r=0.933$ . Estos resultados son similares a los que reportó (Kowalski, 2013), ya que presentó coeficientes de correlación entre el HMF y la actividad antioxidante por ABTS y DPPH dando una correlación de  $r=0.8157$  y  $0.824$  respectivamente.

Tabla 3. Coeficiente de correlación de mieles del Estado de Hidalgo referente a fenoles, flavonoides, ABTS, DPPH e hidroximetilfurfural

MIEL	FENOLES/ ABTS	FENOLES/ DPPH	FLAVONOIDES/ ABTS	FLAVONOIDES/ DPPH	HMF/ ABTS	HMF/ DPPH
ARENAL	<b>0.814</b>	0.790	0.034	0.438	0.280	0.569
ORIZATLAN	0.198	0.017	0.778	<b>0.987</b>	<b>0.831</b>	0.393
HUEHUETLA	0.696	<b>0.942</b>	0.126	0.153	0.225	0.068
TASQUILLO	<b>0.936</b>	0.639	0.657	<b>0.980</b>	0.242	<b>0.918</b>
ACAXOCHITLAN	0.427	0.067	0.676	0.729	0.727	<b>0.933</b>

## 9 CONCLUSIONES

- El ultrasonido es una alternativa para la licuación de la miel y la disminución de los cristales sin incremento de temperatura.
- El efecto del ultrasonido en luminosidad, tonalidad e intensidad de color depende del origen floral de la miel.
- La licuación de miel por ultrasonido es una alternativa para mantener al HMF entre los límites establecidos por la normativa (40 mg/kg de miel) y va a depender del origen floral de la miel.
- La licuación por ultrasonido en los compuestos bioactivos (fenoles totales y flavonoides totales) tiene por general un efecto de incrementar estos compuestos y este efecto dependen de del origen floral de la miel.
- La actividad antioxidante medida como DPPH y ABTS por lo general tiene un incremento al ser sometida al ultrasonido y la cual depende del origen floral de la miel.

## **10 RECOMENDACIONES**

- Evaluar el contenido de glucosa en cada una de las mieles para determinar su porcentaje y determinar cuál es el tiempo de cristalización. Así mismo para que indique cuales mieles son más susceptibles a la formación de hidroximetilfurfural.
- Monitorear el comportamiento de la miel licuada por ultrasonido midiendo constantemente el tamaño de cristal y estudiar el proceso de nucleación de los cristales.

## 11 BIBLIOGRAFÍA

- Adekunte, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M., & O'Donnell, C. P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3), 500-507. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.026>
- Aguirre-Joya, Jorge Alejandro, Zugasti-Cruz, Alejandro, Belmares-Cerda, Ruth, Aguilar, Cristobal N., & Garza-Toledo, Heliedori De la. (2012). Actividad antioxidante de algunas plantas tropicales subtropicales y semidesérticas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 4(7), 1-7.
- Ajlouni, Said, & Sujirapinyokul, Puripast. (2010). Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chemistry*, 119(3), 1000-1005. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.057>
- Altemimi, Ammar, Choudhary, Ruplal, Watson, Dennis G., & Lightfoot, David A. (2015). Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24(0), 247-255. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.10.023>
- Alvarez-Suarez, J.M., S.Tulipani, Romandini, S., & Vidal, A. (2009). Metodological Aspects about Determination of Phenolic Compounds and In Vitro Evaluation of Antioxidant Capacity in the Honey: A Review. *Current Analytical Chemistry* 5, 203-302.
- AOAC980.23. (2005). Hydroxymethylfurfural in Honey, spectrophotometric method *AOAC Official Methods 80.23* (18th edition ed., Vol. "Hydroxymethylfurfural in Honey, spectrophotometric method", Chapter 44, pag. 32; AOAC 18th edition 2005., pp. 44).

- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, , & A., Lergret, P. (1994). Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J. Pharm. Belgique*, 49, 462-468.
- Ashokkumar, M., & Mason, T. (2007). *Encyclopedia of chemical Tecnology* (J. Sons Ed.).
- Ashokkumar, Muthupandian. (2015). Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 25(0), 17-23. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.08.012>
- Ashokkumar, Muthupandian, Bhaskaracharya, Raman, Kentish, Sandra, Lee, Judy, Palmer, Martin, & Zisu, Bogdan. (2010). The ultrasonic processing of dairy products — An overview. *Dairy Science & Technology*, 90(2-3), 147-168. doi: 10.1051/dst/2009044
- Ashokkumar, Muthupandian, Sunartio, Devi, Kentish, Sandra, Mawson, Raymond, Simons, Lloyd, Vilkh, Kamaljit, & Versteeg, Cornelis. (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 155-160. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2007.05.005>
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2), 410-427. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>
- Baéz-Sañudo, Manuel, & Contreras- Martínez, Rosalba. (2011). Efecto de la película comestible Natral Life en la calidad poscosecha de aguacate “Hass” almacenado previamente 21 días en condiciones de refrigeración. *Nutrateg Internacional, LTD*, 108(3), 390-394.

- Barberán, F.A. Tomás, Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B.S., & Anklam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 485-496.
- Barquera, D.R. Rojas, Cuenca, E.C. Narvaés, & Sánchez, L.P. Restrepo. (2008). Evaluación del contenido de vitamina C, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava L.*) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. 49-60.
- Bath, Parminder Kaur, & Singh, Narpinder. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67(4), 389-397. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00132-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00132-6)
- Biluca, Fabíola C., Della Betta, Fabiana, de Oliveira, Gabriela Pirassol, Pereira, Lais Morilla, Gonzaga, Luciano Valdemiro, Costa, Ana Carolina Oliveira, & Fett, Roseane. (2014). 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. *Food Chemistry*, 159(0), 244-249. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.016>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cai, Weirong, Gu, Xiaohong, & Tang, Jian. (2008). Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. *Carbohydrate Polymers*, 71(3), 403-410. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.06.008>
- Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Gómez-Alonso, E., Montes-Pérez, M. J., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2002). Evolution of fructose and glucose in

- honey over one year: influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 78(2), 157-161. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00393-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00393-4)
- Cimpoi, Claudia, Hosu, Anamaria, Miclaus, Vasile, & Puscas, Anitta. (2013). Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 100(0), 149-154. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.04.008>
- Chaikham, Pittaya, & Prangthip, Pattaneeya. (2015). Alteration of antioxidative properties of longan flower-honey after high pressure, ultra-sonic and thermal processing. *Food Bioscience*, 10(0), 1-7. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.01.002>
- Chandrapala, Jayani, Oliver, Christine, Kentish, Sandra, & Ashokkumar, Muthupandian. (2012). Ultrasonics in food processing – Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 88-98. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.01.010>
- Chemah, T. C., Aminah, A., Noriham, A., & Aida, W. M. Wan. (2010). Determination of pitaya seeds as a natural antioxidant and source of essential fatty acids. *International Food Research Journal*, 17, 1003-1010.
- d’Arcy, R. (2007). *High-power ultrasound to control of honey crystallisation* (Vol. 07): Australian Government.
- Diamara, Vergara Farías. (2012). Ultrasonido en la industria de alimentos. *Universidad de Chile Facultad de Cs. Químicas y Farmacéuticas Departamento de Ciencias y Tecnología de Alimentos*, 1-5.
- Doner, Landis W. (1976). The sugars of Honey- A review. *Science of food and Agriculture*, 28, 443-456.

- Escriche, Isabel, Kadar, Melinda, Juan-Borrás, Marisol, & Domenech, Eva. (2014). Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. *Food Chemistry*, 142(0), 135-143. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.033>
- Fallico, B., Zappalà, M., Arena, E., & Verzera, A. (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85(2), 305-313. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.010>
- FAO. (2014). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Fenema, O. R. (1996). *Introduction to food Chemistry* (3rd. ed ed.). New York: Marcel dekker Inc.
- Flood, Adrian E., & Srisanga, Sukanya. (2012). An improved model of the seeded batch crystallization of glucose monohydrate from aqueous solutions. *Journal of Food Engineering*, 109(2), 209-217. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.035>
- Francis, F. (1980). Color quality evaluation of horticultural crops. *Hort Science*, 15(1), 14-16.
- Gestrelus, H., Hertz, T. G., Nuamu, M., Person, H. W., & Lindström, K. (1993). A Non-Destructive Ultrasound Method for Microbial Quality Control of Aseptically Packaged Milk. *LWT - Food Science and Technology*, 26(4), 334-339. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/fstl.1993.1068>
- Gheldof, N., & Engeseth, N.J. (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance

capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3050-3055.

Gleiter, R. A., Horn, H., & Isengard, H. D. (2006). Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. *Food Chemistry*, 96(3), 441-445. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.051>

Gonzales, Adriana Pereyra, Burin, Leila, & Buera, María del Pilar. (1999). Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*, 32(3), 185-191. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00075-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00075-7)

Gupta, J.K., Kaushik, R., & KJoshi, V. (1992). Influence of different treatments, storage temperature and period on some physico-chemical characteristics and sensory qualities of Indian Honey. *Journal Title Journal of food science and technology* 29(2), 84-87.

Hægström, Edward, & Luukkala, Mauri. (2001). Ultrasound detection and identification of foreign bodies in food products. *Food Control*, 12(1), 37-45. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0956-7135\(00\)00007-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0956-7135(00)00007-4)

Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, 32(7), 1141-1148. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90262-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(83)90262-9)

Huidobro, J.F. and Simal, J. (1984). Determinación del color y la turbidez en las mieles. *Anal. Bromatol*, 36(2), 225-245.

INEGI. (2010). Instituto Nacional de Estadística y geografía.

INEGI. (2013). Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

- INEGI. (2015). Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
- Kabbani, Dania, Sepulcre, Francesc, & Wedekind, Jan. (2011). Ultrasound-assisted liquefaction of rosemary honey: Influence on rheology and crystal content. *Journal of Food Engineering*, 107(2), 173-178. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.027>
- Kalogereas, T. (1955). Preliminary report on the effect of ultrasonic waves on the crystallization of honey. *Journal of Food Science*, 121, 339-340.
- Khalaf, A., Ashok, Nooman Shakya K, Atif, Al-Othman, & Zhana, El-Agabar. (2008). Antioxidant Activity Of Some Common Plants. *Turk J. Biol*, 51-55.
- Kowalski, Stanisław. (2013). Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chemistry*, 141(2), 1378-1382. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.025>
- Lachman, Jaromír, Orsák, Matyáš, Hejtmánková, Alena, & Kovářová, Eva. (2010). Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. *LWT - Food Science and Technology*, 43(1), 52-58. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.008>
- Liebl. (1978). Ultrasound and granulation of honey *American Bee Journal*, 2, 107.
- Martínez-Flores, Héctor E., Garnica-Romo, Ma Guadalupe, Bermúdez-Aguirre, Daniela, Pokhrel, Prashant Raj, & Barbosa-Cánovas, Gustavo V. (2015). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*, 172(0), 650-656. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.072>

- Martínez-Flóres, S., González-Gallego, J., Culebras, J.M., & Tuñón, Ma. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17, 271-278.
- Martos, I., Ferreres, F., & Barberán, F.A. Tomás. (2000). Identification of flavonoid markers for the botanical origin of eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1498-1502.
- Mason, T. J., Chemat, F., & Ashokkumar, M. (2015). 27 - Power ultrasonics for food processing. In J. A. Gallego-Juárez & K. F. Graff (Eds.), *Power Ultrasonics* (pp. 815-843). Oxford: Woodhead Publishing.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Chemat, F. (2003). 16 - Ultrasound as a preservation technology. In P. Zeuthen & L. Bøgh-Sørensen (Eds.), *Food Preservation Techniques* (pp. 303-337): Woodhead Publishing.
- McClements, D. Julian. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science & Technology*, 6(9), 293-299. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89139-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89139-6)
- Morales, Pablo. (2011). *Morfología interna de las abejas. La guía de la Biología*.
- Mortas, Mustafa, & Yazici, Fehmi. (2013). Application of ultrasound technology to honey. *Balda Ultrasound Teknolojisinin Uygulanmasi*, 13:25, 2-5.
- Muthukumaran, Shobha, Kentish, Sandra E., Stevens, Geoffrey W., Ashokkumar, Muthupandian, & Mawson, Raymond. (2007). The application of ultrasound to dairy ultrafiltration: The influence of operating conditions. *Journal of Food Engineering*, 81(2), 364-373. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.11.008>

NOM-145-SCFI-2001. Norma Oficial Mexicana. Información comercial, etiquetado de miel en sus diferentes presentaciones.

Okitsu, Kenji, Iwasaki, Kazuya, Yobiko, Yoshihiro, Bandow, Hiroshi, Nishimura, Rokuro, & Maeda, Yasuaki. (2005). Sonochemical degradation of azo dyes in aqueous solution: a new heterogeneous kinetics model taking into account the local concentration of OH radicals and azo dyes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 12(4), 255-262. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.038>

Peres, W. (1994). *Radicais Livres em níveis biológicos* (Ed. Universidade Católica de Pelotas ed.).

Pirre, Jean-Prost, & Le-Conti, Yves. (2007). *Apicultura: Conocimiento de la abeja, Manejo de la colmena* (E. M. Presnsa Ed. Cuarta Edición ed.). España.

Porras-Loaiza, A. P., & López-Malo, A. (2009). importancia de los grupos fenolicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingenieria de Alimentos*, 3(1), 121-134.

Povey, Malcom J.W., & J., Mason Timothy. (1998). *Ultrasound in food processing*: Blackic Academic.

Re. R., Pellegrini. N., Proteggente. A., Pannala. A., & Evans., Yang. M. Rice. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical action decolonization assay free Radical *Biology and Medicine*, 26, 1231-1337.

Requena, L. . (2001). *Vamos a Estudiar Química Orgánica* (E. ENEVA Ed.).

SAGARPA. (2015). Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo rural, Pesca y Alimentacion.

- Saxena, Sudhanshu, Gautam, Satyendra, & Sharma, Arun. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118(2), 391-397. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.001>
- Schade, J. E., Marsh, G. L., & Eckert, J. E. (1958). Diastase activity and Hydroxy-Methyl- Furfural in honey and their usefulness in detecting heat alteration. *Journal of Food Science*, 23(5), 446.
- Shahidi, F., & Naczk, M. (1995). *Food Phenolics Sources, Chemistry, Effect, Applications* (T. Publishing Ed.).
- Sillanpää, Mika, Thuy-Duong, Pham, & Shrestha, Reena Amatya. (2011). *Ultrasound Technology in Green Chemistry*
- Singh, Narpinder, & Bath, Panninder Kaur. (1997). Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58(1-2), 129-133. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00231-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00231-2)
- Singleton, Vernon L., Orthofer, Rudolf, & Lamuela-Raventós, Rosa M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In P. Lester (Ed.), *Methods in Enzymology* (Vol. Volume 299, pp. 152-178): Academic Press.
- Stinson, Edgar E., Subers, Mary H., Petty, Jeanne, & White Jr, Jonathan W. (1960). The composition of honey. V. Separation and identification of the organic acids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 89(1), 6-12. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(60\)90003-5](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(60)90003-5)
- Subovsky, M., López, A. Sosa, Rolla, R., Castillo, A., & Aleman, M. (2000). Cambios en la formación del hidroximetilfurfural en mieles sometidas a calentamiento *Tecnología Química* (pp. 7). Facultad de Ciencias Exactas y

Naturales y Agrimensura: Universidad Nacional del Nordeste Corrientes, Argentina.

Sumaya-Martinez, M. T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J.D., Cariño-Cortes, R., Cruz-Cansino, N., . . . Alanís-García, E. (2011). Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Purple, Red, Yellow and White Cactus Pears. *nt. J. Sci*, 12, 6452-6468.

Tellería, M.C. (2001). El polen de las mieles, un indicador de su procedencia botánica y geográfica. *Ciencia Hoy*, 11(4-5), 63-65.

Thrasyvoulou, A. , Manikis, J., & Tselios, D. (1994). Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves. *Apidologie*, 25, 297-302.

Tosi, E. A., Ré, E., Lucero, H., & Bulacio, L. (2004). Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT - Food Science and Technology*, 37(6), 669-678. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2004.02.005>

Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E., & Lucero, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77(1), 71-74. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00325-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00325-9)

Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., & Ré, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry*, 106(3), 883-887. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.025>

Turhan, Irfan, Tetik, Nedim, Karhan, Mustafa, Gurel, Fehmi, & Reyhan Tavukcuoglu, H. (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1396-1399. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2007.09.008>

- Venir, Elena, Spaziani, Massimiliano, & Maltini, Enrico. (2010). Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*, 122(2), 410-415. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.012>
- Wakhle, DM, & Padhke, RP. (1995). Design for honey processing unit-Part I. *Indian Bee J*, 57(3), 144-146.
- Westland, Stephen. (2001). *Espacio de color Lab. Teoría del color*.
- White Jr, Jonathan W. (1978). Honey. In C. O. Chichester (Ed.), *Advances in Food Research* (Vol. Volume 24, pp. 287-374): Academic Press.
- White Jr, Jonathan W., Subers, Mary H., & Schepartz, Abner I. (1963). The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Specialized Section on Enzymological Subjects*, 73(1), 57-70. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0926-6569\(63\)90108-1](http://dx.doi.org/10.1016/0926-6569(63)90108-1)
- White, JW Jr. (1980). Detection of honey adulteration by carbohydrate analysis. *Association of Official Analytical Chemists* 63(1), 11-18.
- Wilczyńska, Aleksandra. (2014). Effect of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 767-774. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.034>
- Yasui, K. (2002). Influence of ultrasonic frequency on multibubble sonoluminescence. *J. Acoust. Soc. Am.*, 112, 1405–1413.
- Zafra-Rojas, Quinatzin Yadira, Cruz-Cansino, Nelly, Ramírez-Moreno, Esther, Delgado-Olivares, Luis, Villanueva-Sánchez, Javier, & Alanís-García, Ernesto. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear

(Opuntia ficus-indica) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1283-1288.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.021>



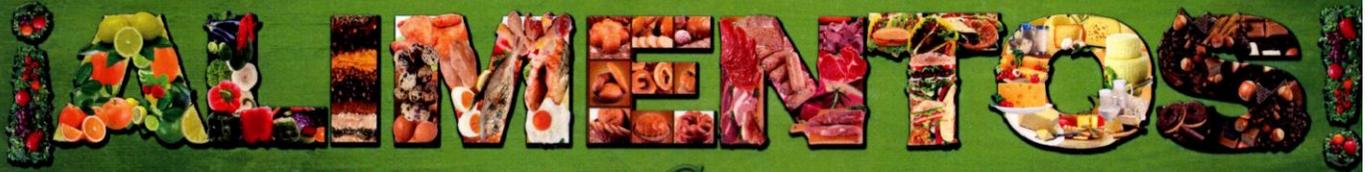
Universidad  
de Guanajuato



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Ier CONGRESO INTERNACIONAL SOBRE INNOVACIÓN Y TENDENCIAS EN PROCESAMIENTO DE  
XVI CONGRESO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE



28-30 mayo 2014 **CA** Guanajuato, Gto.



La Universidad de Guanajuato y  
La Universidad Autónoma de Nuevo León  
otorgan la presente

# CONSTANCIA

a

Ángeles Santos A., Pimentel González D.J., González Vargas E.A, Solís Silva R., Campos  
Montiel R.G.

Por su participación con el trabajo

EFFECTO DE ULTRASONIDO EN LA DESCRISTALIZACIÓN DE LA MIEL

En el Ier. Congreso Internacional sobre Innovación y Tendencias  
en Procesamiento de Alimentos y el  
XVI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos



Del 28 al 30 de mayo de 2014 en la ciudad de Guanajuato, Gto.

Dr. Gerardo Martínez Soto  
Director del Departamento de Alimentos  
Universidad de Guanajuato

Dra. Ma. Guadalupe Alanís Guzmán  
Jefe del Depto. de Alimentos  
Universidad Autónoma de Nuevo León

Dra. Ma. del Rosario Abraham Juárez  
Coordinadora del evento

# AMIDIO

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.  
"Retos de la Ingeniería Química en la Globalización"

Otorga el presente

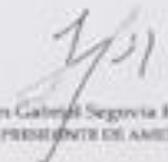
## RECONOCIMIENTO

a:

Adriana Ángeles Santos, Gabriel Aguirre Álvarez, Alma Delia Hernández Fuentes, Ana  
Cristina Oliveira Lopes Figueira, Rafael Germán Campos Montiel  
Por la presentación del trabajo:

**EFFECTO DE LA LICUACIÓN POR ULTRASONIDO EN LOS COMPUESTOS  
BIOACTIVOS Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE DIFERENTES MIELES**

XXXVI Encuentro Nacional  
Cancún, Quintana Roo, 5 al 8 de Mayo 2015

  
Dr. Juan Gabriel Segovia Hernández  
PRESIDENTE DE AMIDIO

  
Dr. Adriana Bousilla Perrioleat  
PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR

  
Dr. Tomás Siverón García  
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO