

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y estabilidad de los compuestos bioactivos en la obtención de un derivado apícola “miel crema”

Presentado por:

Raquel Alarcón Centeno

Para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial

Abancay, Perú

2024



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

**Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y estabilidad de los compuestos bioactivos en la obtención de un derivado apícola "miel crema"**

Presentado por **Raquel Alarcón Centeno**, para optar el título de:  
Ingeniero Agroindustrial

Sustentado y aprobado el 25 de julio del 2024, ante el jurado evaluador:

**Presidente:**

*Dra. Guadalupe Chaquilla Quillca*

**Primer Miembro:**

*MSc. Luis Fernando Pérez Falcón*

**Segundo Miembro:**

*Mg. Jinmer Bravo Apaza*

**Asesores:**

*M.Sc. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca*

*Mag. Saúl Moreano Carrasco*



---

## CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD N° 107-2024

La Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, a través de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería declara que, la Tesis intitulada “**Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y estabilidad de los compuestos bioactivos en la obtención de un derivado apícola “miel crema”**”, presentado por el Bach. Raquel ALARCON CENTENO, para optar el Título de **Ingeniero Agroindustrial**; ha sido sometido a un mecanismo de evaluación y verificación de similitud, a través del Software Turnitin, siendo el índice de similitud ACEPTABLE de **(19%)** por lo que, cumple con los criterios de originalidad establecidos por la Universidad.

Abancay, 15 de julio del 2024

  
UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS  
DE APURIMAC  
Dr. Lintol Contreras Salas  
DIRECTOR(E) DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION  
FACULTAD DE INGENIERIA

C. c.  
Archivo  
REG. N° 456

## **Agradecimiento**

*Agradezco a Dios por brindarme salud y por ser mi fortaleza en momentos de debilidad.*

*Mi especial agradecimiento a mis asesores M.Sc Víctor Hugo Sarmiento Casavilca y Mag. Saúl Moreano Carrasco por compartir sus conocimientos, así como también haberme tenido toda la paciencia y el tiempo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.*

*A la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac y a la plana de docentes de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial por los conocimientos transmitidos durante mi formación académica.*

*A PROCIENCIA del CONCYTEC por el financiamiento para el desarrollo del presente trabajo de investigación “Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y estabilidad de los compuestos bioactivos en la obtención de un derivado apícola miel crema” N° de contrato PE501080004 – 2022 – PROCIENCIA.*

*Al Ingeniero Justo Flavio Arias Motta, por apoyarme en el desarrollo de los análisis del presente trabajo.*

*A mis padres y hermanos por el amor y su apoyo incondicional.*



## **Dedicatoria**

*El presente trabajo de investigación está dedicado con mucho cariño a mis queridos padres, quienes me apoyaron en todo momento, por todo el amor que siempre me muestran y han sido mi motivación para seguir adelante.*

*A mis hermanas Ruth, Yanet, Angela y Mari por el apoyo y su amor incondicional.*



“Evaluación de los parámetros fisicoquímicos y estabilidad de los compuestos bioactivos en la obtención de un derivado apícola miel crema”

Línea de investigación: Caracterización, desarrollo de procesos e innovación en la agroindustria.

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



## ÍNDICE

	Pág.
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>RESUMEN</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>CAPÍTULO I</b> .....	6
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	6
1.1 Descripción del problema .....	6
1.2 Enunciado del problema .....	7
1.2.1 Problema general .....	7
1.2.2 Problemas específicos .....	7
1.3 Justificación de la investigación .....	8
<b>CAPÍTULO II</b> .....	9
<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	9
2.1 Objetivos de la investigación .....	9
2.1.1 Objetivo general .....	9
2.1.2 Objetivos específicos.....	9
2.2 Hipótesis de la investigación .....	9
2.2.1 Hipótesis general .....	9
2.2.2 Hipótesis específicas .....	10
2.3 Operacionalización de variables .....	11
<b>CAPÍTULO III</b> .....	12
<b>MARCO TEÓRICO REFERENCIAL</b> .....	12
3.1 Antecedentes .....	12
3.2 Marco teórico .....	15
3.3 Marco conceptual.....	34
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	35
<b>METODOLOGÍA</b> .....	35



4.1	Tipo y nivel de investigación .....	35
4.2	Diseño de investigación .....	35
4.3	Población y muestra .....	37
4.4	Procedimiento de la investigación .....	38
4.5	Técnica e instrumento .....	40
4.6	Análisis estadístico.....	50
4.6.1	Hipótesis estadística (nula y alterna).....	50
<b>CAPÍTULO V.....</b>		<b>52</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>		<b>52</b>
5.1	Análisis de resultados .....	52
5.1.1	Características fisicoquímicas de miel cristalizada (materia prima).....	52
5.1.2	Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de miel cristalizada .....	56
5.1.3	Características fisicoquímicas de las mieles cremas .....	57
5.1.4	Contenido de polifenoles y actividad antioxidante .....	73
5.2	Contrastación de hipótesis .....	79
5.3	Discusión.....	81
5.3.1	Características fisicoquímicas .....	81
5.3.2	Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante.....	89
<b>CAPÍTULO VI.....</b>		<b>93</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>93</b>
6.1	Conclusiones .....	93
6.2	Recomendaciones .....	94
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>		<b>95</b>
<b>ANEXOS.....</b>		<b>110</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1</b> — Operacionalización de variables .....	11
<b>Tabla 2</b> — Composición química de la miel ( <i>Apis mellifera</i> ) .....	17
<b>Tabla 3</b> — Tipo de enzimas y funciones.....	22
<b>Tabla 4</b> — Parámetros de calidad de la miel según la Norma Técnica Peruana.....	32
<b>Tabla 5</b> — Parámetros de calidad de la miel según el Codex Alimentarius .....	33
<b>Tabla 6</b> — Esquematización del diseño experimental .....	36
<b>Tabla 7</b> — Concentración de ácido gálico y agua .....	45
<b>Tabla 8</b> — Concentración de trolox y etanol .....	47
<b>Tabla 9</b> — Características fisicoquímica de la miel cristalizada .....	52
<b>Tabla 10</b> — Resultados del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de la miel .....	56
<b>Tabla 11</b> — Comparación del rango de los números de onda del espectro FTIR de las mieles analizadas con otras investigaciones.....	69
<b>Tabla 12</b> — Resultados del porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante de los 18 tratamientos.....	77



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1</b> — Representación tridimensional del espacio de color CIEL*a*b*.....	25
<b>Figura 2</b> — Reacción química ABTS .....	30
<b>Figura 3</b> — Mapeo de ubicación del apiario.....	37
<b>Figura 4</b> — Diagrama de flujo para la obtención de miel crema.....	38
<b>Figura 5</b> — Cromatograma HPLC representativo de fructosa, glucosa y sacarosa de miel cristalizada .....	53
<b>Figura 6</b> — Espectro FTIR obtenido de miel cristalizada de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> .....	55
<b>Figura 7</b> — Comparación de medias de acidez titulable de los tratamientos 1 - 9.....	57
<b>Figura 8</b> — Comparación de medias de acidez titulable de los tratamientos 10 - 18.....	57
<b>Figura 9</b> — Comparación de medias de acidez titulable; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento. ....	58
<b>Figura 10</b> — Comparación de medias de pH.....	59
<b>Figura 11</b> — Comparación de medias de pH.....	59
<b>Figura 12</b> — Comparación de medias de pH; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento. ....	60
<b>Figura 13</b> — Comparación de medias de humedad (%).....	61
<b>Figura 14</b> — Comparación de medias de humedad (%).....	61
<b>Figura 15</b> — Comparación de medias de humedad; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento. ....	62
<b>Figura 16</b> — Comparación de medias de luminosidad (L*).....	63
<b>Figura 17</b> — Comparación de medias de luminosidad (L*).....	63
<b>Figura 18</b> — Comparación de medias de luminosidad L*; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento. ....	64
<b>Figura 19</b> — Comparación de medias de viscosidad.....	65
<b>Figura 20</b> — Comparación de medias de viscosidad.....	65



<b>Figura 21</b> — Comparación de medias de viscosidad; A) temperatura de agitación, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento. ....	66
<b>Figura 22</b> — Comparación de medias de azúcares; A) Fructosa, B) Glucosa y sacarosa.....	67
<b>Figura 23</b> — Cromatograma HPLC representativo de fructosa, glucosa y sacarosa del tratamiento 6.....	68
<b>Figura 24</b> — Estructura de los fenoles.....	70
<b>Figura 25</b> — Amida primaria y secundaria .....	71
<b>Figura 26</b> — Estructura de metil fenil sulfóxido .....	71
<b>Figura 27</b> — Espectros FTIR de miel cristalizada y los 18 tratamientos .....	72
<b>Figura 28</b> — Contenido de polifenoles totales .....	73
<b>Figura 29</b> — Contenido de polifenoles totales .....	73
<b>Figura 30</b> — Comparación de medias del contenido de polifenoles totales; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.....	74
<b>Figura 31</b> — Porcentaje de inhibición .....	75
<b>Figura 32</b> — Porcentaje de inhibición .....	75
<b>Figura 34</b> — Capacidad antioxidante .....	76
<b>Figura 35</b> — Comparación de medias del porcentaje de inhibición; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.....	78
<b>Figura 36</b> — Gráficas multivariantes para acidez .....	132
<b>Figura 37</b> — Gráficas multivariantes para pH.....	132
<b>Figura 38</b> — Gráficas multivariantes para humedad .....	133
<b>Figura 39</b> — Gráficas multivariantes para luminosidad L* .....	133
<b>Figura 40</b> — Gráficas multivariantes para viscosidad.....	134
<b>Figura 41</b> — Gráficas multivariantes para porcentaje de inhibición .....	134
<b>Figura 42</b> — Gráficas multivariantes para polifenoles totales .....	134
<b>Figura 43</b> — Curva de calibración de ácido gálico para polifenoles totales .....	149
<b>Figura 44</b> — Curva de calibración de Trolox para la capacidad antioxidante .....	149
<b>Figura 45</b> — Porcentaje de inhibición en función a la concentración del estándar Trolox .....	150



## INTRODUCCIÓN

Apurímac es considerada como una de las regiones con mayor diversidad de climas y de flora, que ofrece miel de naturaleza multifloral, la miel que se comercializa en esta región es líquida que con el tiempo de almacenamiento tiende a modificar su forma física, cristalizándose en fases, esta miel cristalizada tiene un aspecto opaco y ceroso si bien puede ser un indicador de buena calidad, para algunos consumidores no es aceptable por su difícil manejabilidad (GORE Apurímac, 2014; Tosi et al., 2004). En el Perú y en la región de Apurímac el consumo per cápita de miel es relativamente bajo que corresponde a 40 gramos de miel por persona al año (FAOSTAT, 2012), esto debido principalmente a que la miel tiende a cristalizarse, aunque desde el año 2020 este consumo se ha incrementado por la emergencia sanitaria de la enfermedad denominada COVID-19, debido a que la miel tiene propiedades beneficiosas para la salud, ya que actúa como agente antibacteriano, antioxidante, antiinflamatorio, antiviral y promotor del sistema inmunológico, la mayoría de sus propiedades se atribuyen a los compuestos como las proteínas, compuestos bioactivos, aminoácidos, enzimas, ácidos orgánicos, minerales y vitaminas, que depende en gran medida de una serie de factores como la fuente floral, región geográfica, condiciones climáticas, la temporada de recolección, las condiciones de procesamiento y almacenamiento (Cianciosi et al., 2018); es por ello, que en esta investigación se trabajó en establecer los parámetros óptimos para obtener un producto apícola “miel crema” y que permanezca estable en el tiempo de almacenamiento en cuanto a las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos; el procedimiento para la elaboración del producto consistió en incorporar aire a la estructura de la miel para mantener la estabilidad del producto, esto con la finalidad de controlar la cristalización de la miel, para ello, se utilizó tres tipos de paletas, dos tiempos de agitación y tres temperaturas de trabajo. De lo expuesto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas y estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema; y establecer los parámetros óptimos de temperatura de trabajo, tipo de paleta y tiempo de agitación para la obtención de miel crema.



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la temperatura de trabajo (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas (1, 2 y 3), tiempo de agitación (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21) sobre las características fisicoquímicas y estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema y establecer los parámetros óptimos de temperatura de trabajo, tipo de paleta y tiempo de agitación para la obtención de miel crema. Para la elaboración del derivado apícola se trabajó con miel multifloral, para ello, se realizó primeramente la recepción de la materia prima, acondicionamiento, emulsificado, envasado y almacenado; se obtuvieron un total de 18 tratamientos y se realizaron un análisis fisicoquímico: acidez titulable, pH, humedad, luminosidad ( $L^*$ ), viscosidad, espectro infrarrojo con transformada de Fourier y azúcares (el análisis de azúcares solo se realizó para la materia prima y para el tratamiento 6 porque fue el mejor tratamiento que permaneció estable en el tiempo de almacenamiento) y compuestos bioactivos: polifenoles totales y actividad antioxidante. Se evaluaron la estabilidad cada 7 días en el tiempo en anaquel. Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando el DBCA, para la evaluación de los factores en estudio se utilizó la prueba del ANOVA multifactorial con interacciones. Las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos de los 18 tratamientos analizados tuvieron una variación de acidez de 12.32 a 24.64 meq/Kg, pH 4.21 a 4.75, humedad 12.00 a 19.07 %, luminosidad ( $L^*$ ) 34.39 a 67.37, viscosidad 137.20 a 724.60 Pa.s, fructosa 38.66 %, glucosa 34.87 %, polifenoles totales 27.07 a 58.40 mg GAE/100 g y actividad antioxidante 208.20 a 323.59  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ . El tratamiento 6 permaneció estable en el tiempo de almacenamiento en cuanto a las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos. Según el análisis estadístico la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento presentaron un efecto significativo sobre el contenido de acidez, pH, humedad, luminosidad ( $L^*$ ), viscosidad y capacidad antioxidante de los tratamientos; por otro lado, los tipos de paleta no afectaron de manera significativa a los polifenoles totales de los tratamientos, pero sí fueron afectados por la temperatura de trabajo, tiempo de agitación y días de almacenamiento.



Los parámetros óptimos para la elaboración de miel crema fueron: temperatura de trabajo 20 °C, paleta 3 (combinación de paleta gancho amasador y paleta plana) y 120 minutos de agitación que corresponden al tratamiento 6 (T6).

*Palabras clave: Miel crema, compuestos bioactivos y derivado apícola*



## ABSTRACT

The objective of this research work was to evaluate the effect of working temperature (20, 35 and 50 °C), paddle types (1, 2 and 3), stirring time (60 and 120 minutes) and storage days (0, 7, 14 and 21) on the physicochemical characteristics and stability of the bioactive compounds of cream honey and to establish the optimal parameters of working temperature, paddle type and stirring time for obtaining cream honey. For the elaboration of the beekeeping derivative, multifloral honey was worked with, for this, first the reception of the raw material, conditioning, emulsification, packaging and storage was carried out; A total of 18 treatments were obtained and a physicochemical analysis was performed: titratable acidity, pH, humidity, luminosity (L\*), viscosity, infrared spectrum with Fourier transform and sugars (the sugar analysis was only performed for the raw material and for treatment 6 because it was the best treatment that remained stable over storage time) and bioactive compounds: total polyphenols and antioxidant activity. Stability was evaluated every 7 days over shelf time. The results were statistically analyzed using the DBCA; for the evaluation of the factors under study, the multifactorial ANOVA test with interactions was used. The physicochemical characteristics and bioactive compounds of the 18 treatments analyzed had a variation in acidity from 12.32 to 24.64 meq/Kg, pH 4.21 to 4.75, humidity 12.00 to 19.07%, luminosity (L\*) 34.39 to 67.37, viscosity 137.20 to 724.60 Pa.s, fructose 38.66%, glucose 34.87%, total polyphenols 27.07 to 58.40 mg GAE/100 g and antioxidant activity 208.20 to 323.59  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ . Treatment 6 remained stable over storage time in terms of physicochemical characteristics and bioactive compounds. According to the statistical analysis, the working temperature, paddle types, stirring time and storage days had a significant effect on the acidity content, pH, humidity, luminosity (L\*), viscosity and antioxidant capacity of the treatments; on the other hand, the paddle types did not significantly affect the total polyphenols of the treatments, but were affected by the working temperature, stirring time and storage days.



The optimal parameters for the production of cream honey were: working temperature 20 °C, paddle 3 (combination of a kneading hook paddle and a flat paddle) and 120 minutes of stirring, which correspond to treatment 6 (T6).

**Keywords:** *Cream honey, bioactive compounds and bee derivative*



## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Descripción del problema

El Perú cuenta con la ley N° 26 305, que declara de interés nacional a la Apicultura y a la agroindustria de los productos apícolas, por su importancia económica, social y ambiental; según al último Censo Nacional Agropecuario realizado en el año 2012, se ha reportado que en el Perú existen 41 327 apicultores que trabajan con 252 329 colmenas instaladas, de las cuales el 85 % corresponden a colmenas en producción, según este censo, los departamentos con mayor cantidad de colmenas y producción de miel son Cusco (11 %), La Libertad (10 %), Junín (9 %), Lima (8 %) y Apurímac (7 %). Esta actividad apícola en la mayoría de casos se considera una actividad complementaria a la actividad agrícola, lo que constituye una fuente secundaria de ingresos económicos (MINAGRI, 2015). En el Perú el consumo per cápita de miel es relativamente bajo que corresponde a 40 gramos de miel por persona al año (FAOSTAT, 2012), es por ello que el mercado de la miel se encuentra retraído, afectando negativamente a los productores. Por otro lado, en la región Apurímac una gran parte de apicultores son productores empíricos (sin formación académica específica en la apicultura), solo cuentan con estudios básicos que no están capacitados adecuadamente, por lo que existe una escasa aplicación de tecnología, ya que venden sus productos a acopiadores o empresas envasadoras de miel a un bajo precio, esta característica hace que no sea muy rentable su actividad apícola y en consecuencia no permite crecer en volúmenes de producción de miel en la región, la miel que se produce en Apurímac es mayormente multifloral que poseen un color ámbar oscuro que no es muy llamativo para el consumidor (Gonzales, 2011), los productores de miel y los apicultores tratan de proporcionar productos auténticos para satisfacer las necesidades de los consumidores, cuidando la calidad del producto final, pero la miel presentan un problema que es la cristalización que se produce de manera natural durante su almacenamiento, esto ocasiona que el producto tenga un aspecto opaco y ceroso, estas propiedades son percibidas y hace que se vea menos atractiva para el consumidor, que



generalmente la prefiere líquida para facilitar su consumo y consecuentemente disminuye la demanda por parte de la población (Tappi et al., 2021; Tosi et al., 2004). Por otra parte, para facilitar el envasado de la miel cristalizada, los productores someten a un tratamiento térmico sin controlar el tiempo ni la temperatura de calentamiento, afectando de manera negativa sus propiedades beneficiosas para la salud (Eshete y Eshete, 2019).

En la actualidad existe una escasa transformación de derivados apícolas, esto ocasiona que esta actividad económica no sea muy rentable, haciendo que varios productores dejen esta actividad. En respuesta a esta problemática se trabajó en establecer los parámetros óptimos para la elaboración de un derivado apícola “miel crema” mediante emulsión e incorporación de aire a la estructura de la miel cristalizada, con características fisicoquímicas y compuestos bioactivos muy cercanas a la miel pura y a su vez tener un producto untable con una textura muy cremosa (semejante a un manjar blanco), para ello, se trabajó con tres temperaturas de trabajo (20, 35 y 50 °C), tres tipos de paletas (gancho amasador, plano y combinación de la paleta gancho amasador y plano) y dos tiempos de agitación (60 y 120 minutos) para la incorporación de aire, así controlar la cristalización de la miel. Por otro lado, se realizó la evaluación de la estabilidad de las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos en los días 0, 7, 14 y 21 de almacenamiento. De esta manera, al obtener este producto, se podrá ampliar el mercado y aportar en el desarrollo de la apicultura de la región de Apurímac.

Por lo tanto, los problemas del presente trabajo de investigación son los siguientes:

## **1.2 Enunciado del problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿Cuál será el efecto de la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento en las características fisicoquímicas y estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema; y cuáles son los parámetros óptimos de temperatura de trabajo, tipo de paleta y tiempo de agitación para la obtención de miel crema?

### **1.2.2 Problemas específicos**

- ¿Cuál será el efecto de la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento en las características fisicoquímicas de miel crema?



- ¿Cuál será el efecto de la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento en la estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema?
- ¿Cuáles son los parámetros óptimos de temperatura de trabajo, tipo de paleta y tiempo de agitación para la obtención de miel crema que permitan mantener estables las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos?

### 1.3 Justificación de la investigación

El sector apícola es esencial, ya que cumple un rol muy importante en la agricultura que favorece directamente al bienestar de la sociedad, tanto desde el punto de vista económico como ambiental, preservando el equilibrio de los ecosistemas y la biodiversidad (Sainclair, 2021). Apurímac es una región que presenta una biodiversidad muy variada en flora, que ofrece miel de naturaleza multifloral (Gonzales, 2011), este producto natural es consumida desde la antigüedad principalmente por su valor nutricional y con fines terapéuticos en la medicina moderna (Meo et al., 2017), aunque esté compuesta principalmente de carbohidratos y agua, contiene otras sustancias en menor cantidad como proteínas, aminoácidos, enzimas, polifenoles, vitaminas y minerales que pueden mostrar varias propiedades funcionales (Bogdanov et al., 2013); diversos estudios han demostrado que la miel juega un papel importante como agente antioxidante, antiinflamatorio, antibacteriano y cicatrizante, lo cual tiene un efecto terapéutico contra enfermedades cardiovasculares, gastrointestinales, neurológicas, heridas, quemaduras y diversos tipos de cáncer, etc. (Cianciosi et al., 2018). Por las grandes bondades que presenta la miel, principalmente de su potencial bioactiva y nutricional se formuló un nuevo producto apícola “miel crema” por lo que beneficiará positivamente a los productores, ya que se dará asistencia técnica para que ellos generen un valor agregado a su producción de miel y así también contribuir en el desarrollo de la apicultura en la región de Apurímac. Por otro lado, al lograr un derivado apícola, se promueve la actividad de polinización, ya que las abejas son los principales polinizadores de las plantas que tienen una gran importancia en el mantenimiento de los ecosistemas, que afecta al 76 % de la producción de alimentos (Sainclair, 2021).



## **CAPÍTULO II**

### **OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

#### **2.1 Objetivos de la investigación**

##### **2.1.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento en las características fisicoquímicas y estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema; y establecer los parámetros óptimos de temperatura de trabajo, tipo de paleta y tiempo de agitación para la obtención de miel crema.

##### **2.1.2 Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento en las características fisicoquímicas de miel crema.
- Evaluar el efecto de la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento en la estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema.
- Establecer los parámetros óptimos de temperatura de trabajo, tipo de paleta y tiempo de agitación para la obtención de miel crema que permitan mantener estables las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos.

#### **2.2 Hipótesis de la investigación**

##### **2.2.1 Hipótesis general**

La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento tienen efecto en las características fisicoquímicas y estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema.



### 2.2.2 Hipótesis específicas

- La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento tienen efecto en las características fisicoquímicas de miel crema.
- La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento tienen efecto en la estabilidad de los compuestos bioactivos de miel crema.
- Los parámetros óptimos de temperatura de trabajo, tipo de paleta y tiempo de agitación mantienen estables las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos de miel crema.



### 2.3 Operacionalización de variables

La operacionalización de las variables independientes y dependientes del presente trabajo de investigación se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1 — Operacionalización de variables**

<b>VARIABLES</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>ÍNDICE</b>
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES (FIJAS)</b>		
Temperatura de trabajo	A1: 20 A2: 35 A3: 50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• °C</li> <li>• °C</li> <li>• °C</li> </ul>
Tipos de paletas	B1: Gancho amasador (1) B2: Batidor plano (2) B3: Gancho amasador y batidor plano (3)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nominal</li> <li>• Nominal</li> <li>• Nominal</li> </ul>
Tiempo de agitación	C1: 60 C2: 120	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Minutos</li> <li>• Minutos</li> </ul>
Tiempo de almacenamiento	D1: 0 D2: 7 D3: 14 D4: 21	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Días</li> <li>• Días</li> <li>• Días</li> <li>• Días</li> </ul>
<b>VARIABLES DEPENDIENTES (DE RESPUESTA)</b>		
Características fisicoquímicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acidez</li> <li>• pH</li> <li>• Humedad</li> <li>• Color (luminosidad)</li> <li>• Viscosidad</li> <li>• Espectro infrarrojo</li> <li>• Azúcares</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Meq de ácido/1000 g</li> <li>• Adimensional</li> <li>• Porcentaje (%)</li> <li>• L*</li> <li>• Pa.s</li> <li>• cm<sup>-1</sup></li> <li>• Porcentaje (%)</li> </ul>
Compuestos bioactivos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contenido de polifenoles</li> <li>• Actividad antioxidante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mg GAE /100 g</li> <li>• μmol TE /100 g</li> </ul>

## CAPÍTULO III

### MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 3.1 Antecedentes

- a) Frigerio (2010), en su tesis titulada “Elaboración de miel crema (*Apis mellifera*) mediante el método de cristalización inducida y evaluación de sus propiedades texturales” lo desarrolló con el objetivo de formular un producto definido miel crema, que sea capaz de mantener las propiedades fisicoquímicas, modificando sus propiedades texturales mediante acción mecánica, que le permita ser untable y permanecer estable a lo largo de su vida útil. La miel crema fue almacenada en refrigeración a 5 °C durante diez meses. El análisis fisicoquímico se realizó de la materia prima y de la miel crema en el tiempo cero y después de diez meses de almacenamiento. La miel crema en el tiempo cero y después de diez meses solo presentó diferencias significativas en el porcentaje de humedad que varió de 15.29 a 15.91 %. En cuanto al contenido de acidez total y pH, no presentaron diferencias significativas; estos valores fluctuaron de 0.24 a 0.25 % y 4.09 a 4.11, respectivamente.
  
- b) Karahan et al., (2023), realizaron una investigación titulada “Investigación del efecto del proceso de producción de crema de miel sobre el perfil de azúcar”, lo desarrollaron con objetivo de producir miel crema a partir de miel y evaluar el efecto del proceso de producción sobre el perfil de azúcar. Elaboraron miel crema en un batidor a una velocidad de 60 RPM, temperatura de 14 °C y por un tiempo de 4 minutos; el análisis de azúcares lo realizaron mediante el método de HPLC. Los resultados mostraron que la fructosa fue mayor (40.00 %), seguida por glucosa (33.66 %) y sacarosa (0.03 %), estos valores fueron similares al de la materia prima, por lo que la producción de miel crema no afectó significativamente ( $p>0.05$ ) sobre el perfil de azúcares.



- c) Coronado et al., (2022), realizaron una investigación titulada “Caracterización fisicoquímica de miel de abeja (*Apis mellifera*) procedentes de la Amazonia peruana” con el objetivo de evaluar las características fisicoquímicas de la miel proveniente de los ecosistemas Alto Mayo y Huallaga Central de la región San Martín. Se tomaron veinte muestras de miel de apiarios de la provincia de Rioja (ecosistema Alto Mayo) y Mariscal Cáceres (ecosistema Huallaga Central). Trabajaron con la metodología de la Norma Técnica Peruana y la AOAC para el análisis de las características fisicoquímicas de la miel. Como resultado, tuvieron una variación de acidez de 13.25 a 19.72 meq/Kg, pH 3.96 a 4.19, humedad 17.82 a 19.06 %, densidad 1.41 a 1.42 g/ml, azúcares reductores 63.00 a 64.95 % y contenido de cenizas 0.23 a 0.52 %. Los valores de pH, color, conductividad eléctrica y contenido de cenizas expresaron diferencias significativas.
- d) Primandasari et al., (2021), desarrollaron una investigación científica titulada “Efecto del contenido de humedad en la miel del bosque de Nusa Tenggara Timur sobre la viscosidad, pH y los sólidos disueltos totales” con el objetivo de determinar las propiedades fisicoquímicas en función de las diferencias en el contenido de humedad. La miel se sometió a un tratamiento térmico (60 °C), con la finalidad de reducir la humedad de 23 % a 22, 21 y 20 %, la viscosidad de la miel se determinó utilizando un viscosímetro Brookfield. Los resultados mostraron que la disminución de la humedad (23, 22, 21 y 20 %) aumentaba los valores de viscosidad (74.73, 88.23, 95.30 y 95.30 Pa.s), la humedad presentó un efecto significativo ( $P < 0.01$ ) sobre la viscosidad.
- e) Boussaid et al., (2018), desarrollaron un estudio sobre las “Propiedades fisicoquímicas y bioactivas de seis muestras de miel de diversos orígenes florales procedentes de Túnez”, donde determinaron los factores fisicoquímicos y bioquímicos en las mieles de menta, romero, eucalipto, marrubio, tomillo y naranja. La composición de azúcar fue determinada mediante el análisis de HPLC, equipado con un detector de índice de refracción a 30 °C, los compuestos fenólicos se realizaron por espectrofotometría utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu. Las características fisicoquímicas encontradas fueron: fructosa y glucosa que osciló entre 35.78 a 37.84 % y 31.07 a 36.58 % respectivamente, el contenido de agua entre 17.27 a 19.80 %, el mayor valor de contenido de agua se encontró en las mieles de menta y naranja, el pH osciló de 3.67



a 4.11, el contenido de acidez total varió de 7.11 a 27.20 meq/kg de miel y la viscosidad tuvo valores de 7.26 a 10.23 Pa.s., la miel de eucalipto y tomillo presentaron mayor viscosidad. El contenido total de polifenoles fue mayor en la miel de menta (119.42 mg GAE/100 g de miel), seguida de romero (89.31 mg GAE/100 g de miel), tomillo (63.08 mg GAE/100 g de miel), naranja (63.00 mg GAE/100 g de miel), marrubio (42.40 mg GAE/100 g de miel) y eucalipto (32.17 mg GAE/100 g de miel). No observaron variaciones significativas ( $p>0,05$ ) en las mieles de naranja y tomillo en términos del contenido total de fenoles.

- f) Perna et al., (2023), realizaron una investigación que lleva como título “Propiedades antioxidantes, contenido de polifenoles y características colorimétricas de diferentes mieles de origen floral de diferentes zonas del sur de Italia”, este estudio lo desarrollaron con el objetivo de evaluar el contenido de polifenoles y flavonoides totales, las características colorimétricas y la actividad antioxidante de diferentes mieles de origen floral. El análisis de polifenoles totales y la actividad antioxidante lo realizaron por el método espectrofotométrico, para los polifenoles totales utilizaron el reactivo Folin-Ciocalteu y para la capacidad antioxidante mediante ABTS, FRAP y DPPH. Los resultados de polifenoles totales fueron 11.790 mg GAE/100 g y el porcentaje de inhibición fue de 58.99 % (ABTS), 62.26 % (DPPH) y 208.97 % (FRAP).
- g) Šarić et al., (2013), realizaron una investigación titulada “Cambios en la actividad antioxidante de la miel después del tratamiento térmico”, el objetivo de este estudio fue determinar el cambio de la actividad antioxidante y el contenido fenólico total en muestras de miel después de ser sometidas a altas temperaturas en un corto periodo de tiempo. La investigación se realizó con 31 muestras de miel de acacia y 8 muestras de castaño, se trabajaron a 23 °C (temperatura ambiente) y después de 5 minutos se sometió a 95 °C. La actividad antioxidante se determinó por el ensayo DPPH y el contenido de polifenoles totales por Folin-Ciocalteu. Los resultados mostraron una disminución del contenido de polifenoles de 5.81 mg GAE /100 g (23 °C) a 3.97 mg GAE /100 g (95 °C) en mieles de acacia y un aumento de 22.96 mg GAE /100 g (23 °C) a 25.27 mg GAE /100 g (95 °C) en mieles de castaño; en cuanto a la capacidad



antioxidante, los valores disminuyeron después del tratamiento térmico, mientras que en otras aumentaron.

- h) Bueno et al., (2016), efectuaron una investigación titulada “Actividad antibacteriana y antioxidante de las mieles del estado de Rio Grande do Sul, Brasil”, donde evaluaron la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos. Los polifenoles totales se analizaron por espectrofotometría con el reactivo de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante por el ensayo de ABTS. El contenido total de compuestos fenólicos osciló entre 61.16 a 111.37 mg GAE/100 g, las actividades antioxidantes medidas por ABTS variaron de 8.240 a 111.48 mg trolox/100 g.
- i) Socha et al., (2011), realizaron una investigación titulada “Perfil fenólico y propiedades antioxidantes de las mieles polacas”, lo desarrollaron con el objetivo de evaluar el perfil fenólico y la actividad antioxidante de diferentes tipos de mieles polacas comerciales. La actividad antioxidante se realizó por el ensayo ABTS y el contenido de polifenoles totales lo realizaron por el ensayo Folin-Ciocalteu. El porcentaje de inhibición varió de 26.81 a 66.35 %, dentro de las siete muestras se encontraba la miel multifloral, el porcentaje de inhibición para esta muestra fue 35.48 %, los polifenoles totales variaron de 4.46 a 15.04 mg GAE/100 g.

## 3.2 Marco teórico

### 3.2.1 Miel de abeja (*Apis mellifera*)

La miel es una sustancia dulce que es producida por abejas obreras a partir del néctar de las flores, que son transformadas y combinadas con sustancias específicas propias, posteriormente almacenadas en panales para su maduración y añejamiento (NTP 209.168, 1999). La composición fisicoquímica se ve afectada por la fuente floral, clima y condiciones ambientales, la miel se destaca por sus altos valores nutricionales y sus funciones beneficiosas para la salud humana (Elbanna et al., 2014; Ogidi y Otenep, 2020).

### 3.2.2 Clasificación de la miel

Según la NTP 209.168 (1999), la miel es clasificada según su origen, método de elaboración y presentación.



### 3.2.2.1 Según su origen

- **Miel de flores o de néctar:** Procede del néctar de las flores.
- **Miel de mielada:** Procede principalmente de secreciones de las partes vivas de las plantas o de excreciones que los insectos succionadores de plantas dejan sobre las partes vivas de las plantas.

### 3.2.2.2 Según el método de elaboración

- **Miel escurrida:** Se obtiene por escurrido de panales desoperculados, sin larvas.
- **Miel centrifugada:** Se adquiere mediante centrifugación de panales desoperculados, sin larvas.
- **Miel prensada:** Conseguida mediante compresión de panales, sin larvas, con o sin aplicación de calor moderado (hasta 45°C).
- **Miel filtrada:** Se consigue eliminando materia orgánica o inorgánica ajena a la miel, donde se genera importante eliminación de polen.

### 3.2.2.3 Según su presentación

- **Miel:** Miel en estado líquido o cristalizada.
- **Miel en panal:** Miel depositada por abejas en alvéolos operculados de panales recién construidos, o en hojas de cera de abeja en forma de panal, sin larvas y vendida en panales enteros o trozos.
- **Miel en trozos:** Miel que contiene uno o más trozos de panales con miel.
- **Miel cristalizada:** Miel que ha experimentado un proceso natural de solidificación.
- **Miel cremosa:** Producto que tiene la estructura cristalina fina y que puede haber sido sometida a un proceso físico que le confiere esa estructura.

## 3.2.3 Composición química

La composición química de la miel es variable y depende principalmente de la fuente floral, sin embargo, ciertos factores externos también juegan un papel importante como las condiciones ambientales y estacionales (Álvarez et al., 2010; Azeredo et al., 2003). Según Ulloa et al., (2010), indican que la composición de la



miel es muy compleja y los carbohidratos presentan la mayor proporción, entre ellas la fructosa y la glucosa; por otro lado, se encuentran los aminoácidos, vitaminas y minerales en menor cantidad. En la Tabla 2 se observa la composición química de la miel de abeja según el laboratorio de nutrición del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

**Tabla 2 — Composición química de la miel (*Apis mellifera*)**

Componente en 100 g de miel	Cantidad
Agua (g)	17.10
Energía (Kcal)	304.00
Proteína (g)	0.30
Lípidos totales (grasa) (g)	0.00
Cenizas (g)	0.20
Azúcares (g)	82.10
Potasio (mg)	52.00
Calcio (mg)	6.00
Fósforo (mg)	4.00
Magnesio (mg)	2.00
Hierro (mg)	0.42
Sodio (mg)	4.00
Zinc (mg)	0.22
Vitamina C (mg)	0.50
Vitamina B- 6 (mg)	0.02
Tiamina (mg)	0.00
Riboflavina (mg)	0.04
Niacina (mg)	0.12

Extraído de USDA (2022).

- **Contenido de agua**

El contenido de agua de la miel aumenta durante su extracción y almacenamiento esto por sus propiedades higroscópicas, cuando la miel se almacena a temperaturas bajas y en ambientes húmedos tiende a absorber humedad, como consecuencia se produce la fermentación, en cambio sí se almacena en ambientes menos húmedos, la miel pierde agua, de modo que su cuerpo se vuelve más espeso (Suescun y Vit, 2008). El contenido de humedad en la miel es de alrededor de 15 – 20 % (Gallego et al., 2013), esto está relacionado con las condiciones climáticas, grado de

madurez, condiciones durante la extracción, almacenamiento y como consecuencia afecta al color de la miel, viscosidad, sabor y densidad. Por otro lado, un nivel alto de este parámetro estimula el proceso de fermentación y afecta la calidad de la miel (Fechner et al., 2016); la fermentación es causada por la acción de las levaduras osmotolerantes sobre los azúcares, lo que da como resultado la formación de alcohol etílico y dióxido de carbono (Moniruzzaman et al., 2013), el alcohol puede oxidarse aún más a ácido acético y agua, como efecto se tendrá una miel fermentada con un sabor agrio (Chirife et al., 2006).

- **Proteína y aminoácidos**

La proteína está presente sólo en cantidades mínimas, aproximadamente 0.1 - 0.5 %, generalmente se calcula multiplicando el contenido total de nitrógeno por el método Kjeldahl por un factor de 6.250 (Chua et al., 2013). Las abejas forman naturalmente la proteína de la miel a través de la descomposición enzimática del polen y el néctar, estas enzimas son secretadas por las glándulas salivales e hipofaríngeas de las abejas obreras, como  $\alpha$  - y  $\beta$  - glucosidasa (invertasa),  $\alpha$  - y  $\beta$  - amilasa (diastasa) y glucosa oxidasa (Babacan y Rand, 2005; Pontoh y Low, 2002). La existencia de proteínas a menudo hace que la miel tenga una tensión superficial más baja, por lo que tiene una tendencia a producir espuma y burbujas de aire (Di Girolamo et al., 2012). Según Won et al., (2008), mencionan que las proteínas de la miel no están influenciadas por el calor o el periodo de almacenamiento, están influenciadas por la especie de abejas y las condiciones ambientales.

La miel contiene 26 aminoácidos que están presentes el 1 % (p/p), siendo la prolina su principal contribuyente que corresponde a alrededor del 50 % de los aminoácidos libres totales, seguido de la fenilalanina y el ácido glutámico, estos aminoácidos dependen de su origen botánico y la principal fuente es el polen (Iglesias et al., 2003; Rebane y Herodes, 2008).

- **Azúcares**

Los carbohidratos son los componentes principales, que constituyen alrededor del 95 % del peso seco de la miel (Bogdanov et al., 2008), que se forman principalmente por la acción de la enzima invertasa que es secretada por las



glándulas hipofaríngeas de la abeja, que invierte la sacarosa del néctar o de la melaza en una mezcla compleja formada por un 70 % monosacáridos (glucosa y fructosa) y un 10 – 15 % de disacáridos (De La Fuente et al., 2006; Santos y González, 2017), los principales azúcares son la fructosa y glucosa (Park et al., 2020), estos azúcares son responsables de muchas de las propiedades fisicoquímicas de la miel, como la viscosidad, la higroscopicidad, granulación y el valor energético (Cavia et al., 2002), los diferentes tipos de miel suelen tener los mismos azúcares, pero en cantidades variables, estos porcentajes están relacionados principalmente con la fuente floral (Mărgăoan et al., 2021).

- **Minerales**

La miel contiene cantidades muy pequeñas de minerales que oscilan entre 0.020 y 0.300 % (Machado De-Melo et al., 2017), que dependen de la composición química del néctar que varían según la composición del suelo (origen geográfico) y el tipo floral (origen botánico) (Mărgăoan et al., 2021). El mineral más abundante es el potasio (K) que representa el 80 % del total, debido a su rápida secreción por la fuente del néctar, seguido por magnesio (Mg), calcio (Ca) y sodio (Na), los elementos menos abundantes son el hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn) y cloro (Cl), seguido por los oligoelementos boro (B), fósforo (P), azufre (S), silicio (Si) y níquel (Ni) (Doner, 2003), estos minerales son absorbidos en sus formas salinas disueltas en agua, pasando de las raíces a la savia de la planta y luego siendo transportados al néctar o melaza y al polen (Machado De-Melo et al., 2017).

El porcentaje de cenizas está relacionado con el contenido de minerales presentes en la miel, esta cantidad de cenizas es generalmente bajo y depende principalmente de la composición del néctar de las plantas, origen geográfico y la cantidad de minerales presentes en la miel (Felsner et al., 2004; Jovetić et al., 2017). Otros autores indican que también el contenido de sales minerales está relacionado con el tono de color de la miel, por ende, las mieles que presentan colores oscuros poseen un contenido mayor de minerales (Suescun y Vit, 2008). La NTP 209.168 (1999), establece que el contenido de cenizas presentes en la miel no debe superar el 0.600 %.



- **Vitaminas**

Las vitaminas se encuentran en pequeñas cantidades, el contenido de vitaminas hidrosolubles es superior que las liposolubles, estas vitaminas provienen principalmente del polen de las flores visitadas por las abejas, por otro lado, la vitamina C es la más predominante y suele encontrarse en casi todos los tipos de miel alrededor de 2 mg/100 g de miel, esta vitamina actúa en el organismo como antioxidante, ayudando a proteger a las células contra el daño causado por los radicales libres, esta vitamina es vulnerable a la oxidación química y enzimática, acelerada aún más por factores como la luz, oxígeno y calor (León et al., 2013; Santos y González, 2017). La miel también contiene diferentes vitaminas del complejo B, que incluyen tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido nicotínico (B3), ácido pantoténico (B5), piridoxina (B6), biotina (B8) y ácido fólico (B9) (Bonté y Desmoulière, 2013).

- **Ácidos orgánicos**

La acidez de la miel se debe principalmente a los ácidos orgánicos, cuya cantidad es menor al 0.5 % de los sólidos totales que contribuyen en el sabor, estabilidad frente a microorganismos, actividad antibacteriana y antioxidantes (Cavia et al. 2007). El ácido glucónico es el ácido predominante en la miel (Bonté y Desmoulière, 2013), que proviene de la glucosa por la acción de la glucosa oxidasa añadida por la abeja, la actividad metabólica del género *Gluconobacter* del intestino de las abejas podría producir ácido glucónico (Machado De-Melo et al., 2017), este ácido glucónico está en equilibrio con la gluconolactona (Cavia et al., 2007). Los ácidos menos predominantes reportados en la miel son los ácidos fórmico, acético, butírico, láctico, oxálico, succínico, tartárico, maleico, pirúvico, piroglutámico, glicólico, cítrico y málico, entre otros (Doner, 2003).

- **Enzimas**

Las enzimas de la miel provienen del néctar, polen o también de las secreciones salivales de la abeja, estas enzimas son termolábiles, la presencia o ausencia puede servir como indicador de sobrecalentamiento, ya que la actividad de estas enzimas disminuye o hasta son destruidas por el calor (Bonté y Desmoulière, 2013; Eshete y Eshete, 2019).



La diastasa, invertasa y glucosa - oxidasa son las enzimas más importantes, otras enzimas que se han encontrado en la miel son la fosfatasa ácida, catalasa y  $\beta$  - glucosidasa, el origen de la glucosa - oxidasa y la invertasa son las glándulas hipofaríngeas de las abejas (Álvarez et al., 2010; Machado De-Melo et al., 2017). La diastasa tiene la función principal de hidrolizar el almidón y las dextrinas en carbohidratos más pequeños, la actividad de la diastasa está relacionada con su estructura y puede modificarse por desnaturalización provocada por el calentamiento (Álvarez et al., 2010; Tosi et al., 2008).

La invertasa ( $\alpha$  - glucosidasa) es responsable de los cambios que ocurren durante la maduración, esta enzima convierte la sacarosa del disacárido del néctar en monosacáridos fructosa y glucosa, un proceso conocido como inversión (Doner, 2003), la actividad de esta enzima disminuye con el calor y almacenamiento, es un mejor indicador de calidad que la diastasa, ya que es más sensible al proceso térmico (Eshete y Eshete, 2019).

La principal función de la glucosa - oxidasa es degradar la glucosa a gluconolactona, que a su vez produce ácido glucónico (Álvarez et al., 2010), lo que aumenta la acidez y libera pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno, este compuesto es el responsable de la resistencia microbiana de la miel. La producción de peróxido de hidrógeno protege la miel de la descomposición bacteriana, hasta lograr una concentración de azúcar suficiente para evitar el crecimiento microbiano debido a su presión osmótica, esta enzima es sensible a la luz y al procesamiento térmico (Machado De-Melo et al., 2017).

Otras enzimas importantes en la miel son la catalasa y la fosfatasa ácida, la catalasa es responsable de convertir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, la fosfatasa ácida produce fosfatos inorgánicos a fosfatos orgánicos (Doner, 2003). En la siguiente Tabla se muestran los tipos de enzimas presentes en la miel y sus respectivas funciones:



**Tabla 3 — Tipo de enzimas y funciones**

<b>Enzima</b>	<b>Función</b>
Diastasa (amilasa)	Descompone el almidón o el glucógeno en unidades de azúcar más pequeñas.
Invertasa	Descompone la sacarosa a glucosa y fructosa.
Glucosa - Oxidasa	Degrada la glucosa a gluconolactona, a su vez es transformada a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno.
Catalasa	Convierte el peróxido de hidrógeno a oxígeno y agua.
Fosfatasa ácida	Convierte los fosfatos inorgánicos a fosfatos orgánicos.

Extraído de Álvarez et al., (2010); Machado De-Melo et al., (2017).

- **Pigmentos**

Los pigmentos son los principales responsables de la coloración de la miel, se han identificado dos grupos: las hidrosolubles y liposolubles; en las mieles claras predominan las liposolubles (carotenoides) y en las oscuras las hidrosolubles (compuestos polifenólicos, principalmente flavonoides) (Machado De-Melo et al., 2017), los polifenoles tienen propiedades antioxidantes, ya que participan en la neutralización de los radicales libres (Bonté y Desmoulière, 2013). Otros compuestos que pueden contribuir al color de la miel son los azúcares, los minerales y los aminoácidos (Machado De-Melo et al., 2017).

- **Compuestos bioactivos**

Los compuestos bioactivos son sustancias que están presentes en pequeñas cantidades, tienen la capacidad de mejorar o prevenir cualquier condición de salud, estos compuestos les otorgan a los alimentos actividades antioxidantes, antibacterianas y antiinflamatorias, etc., la mayoría de estas sustancias son los compuestos fenólicos que tienen la capacidad de regular diversos procesos metabólicos en el cuerpo humano, como la eliminación de radicales libres (Bansal et al., 2022). Los compuestos fenólicos poseen un anillo aromático que lleva uno o más grupos hidroxilos y sus estructuras pueden variar desde una molécula fenólica simple hasta la de un polímero complejo de alto peso molecular (Balasundram et al., 2006). Sus estructuras pueden clasificarse en diferentes categorías y dividirse en dos

grupos principales: no flavonoides (ácidos fenólicos, lignanos y estilbenos) y flavonoides (flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas y flavanoles), los flavonoides y los ácidos fenólicos son los principales polifenoles estudiados, dichos compuestos pueden estar unidos a uno o más azúcares (glucósidos) o pueden estar en forma libre (agliconas) (Santos et al., 2021). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a la capacidad que tiene de eliminar radicales libres, donar átomos de hidrógeno o electrones. Por otro lado, la estructura de los compuestos fenólicos juega un papel importante en la eliminación de los radicales libres y quelante de metales que se conoce como estructura - actividad (SAR), en el caso de los ácidos fenólicos la actividad antioxidante depende del número y las posiciones de los grupos hidroxilo en relación con el grupo funcional carboxilo, cuando mayor sea el número de grupos hidroxilo mayores serán las propiedades antioxidantes (Balasundram et al., 2006; Olszowy, 2019). Los compuestos fenólicos son bio sintetizados por las plantas para protegerlos contra el estrés oxidativo y pasan a la miel a través del néctar, la variedad y cantidad de estos componentes dependen principalmente del origen botánico y geográfico de la miel (Santos y González, 2017).

#### 3.2.4 Propiedades fisicoquímicas de la miel

Las propiedades fisicoquímicas de la miel de abeja son afectadas por el origen floral a partir del cual se produce y por las variaciones geográficas (Can et al., 2015).

- **Viscosidad**

La viscosidad es una de las características físicas más significativas de la miel, que afecta a la calidad del producto (Yanniotis et al., 2006), un valor bajo de la viscosidad indica una posible adulteración por adición de agua, esta propiedad depende de la composición, contenido de agua y temperatura (Suescun y Vit, 2008). Otros autores indican que la viscosidad también depende del origen botánico, relación fructosa/glucosa y granulación. Cuanto mayor sea la temperatura, humedad y contenido de polisacáridos, menor será la viscosidad (Machado De-Melo et al., 2017). Las mieles suelen exhibir un comportamiento newtoniano en estado líquido, sin embargo, durante la cristalización, las propiedades cambian a no newtonianas (Andraca et al., 2013).



- **Densidad**

Esta propiedad está expresada como la relación entre peso y el volumen para una temperatura constante, la densidad de la miel oscila entre 1.39 y 1.44 g/ml a 20 °C, este valor está directamente relacionado con el contenido de agua, cuanto mayor sea el porcentaje de agua menor será la densidad de la miel (Baglio, 2018). Según Oroian (2013), menciona que la densidad disminuye linealmente a medida que aumenta la temperatura.

- **Color**

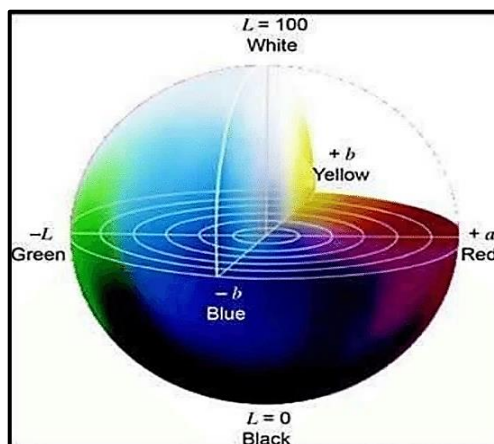
El color es una propiedad de la materia que está relacionada con el espectro de la luz y que puede medirse físicamente en términos de energía radiante o intensidad por su longitud de onda. El ojo humano sólo puede percibirlo cuando su energía corresponde a una longitud de onda que oscila entre 380 y 780 nm que se genera por la estimulación de la retina del ojo. Los colores de los alimentos se deben principalmente a los pigmentos que están presentes y también se producen durante su manejo y procesamiento (Badui, 2006).

En la miel el color es un factor muy importante que afecta principalmente su apariencia visual y depende de la presencia de pigmentos vegetales (caroteno, xantofilas, antocianinas, flavonoides, polifenoles), sales minerales, fuente del néctar, contenido del polen y aminoácidos (Baglio, 2018; Can et al., 2015). Las causas del oscurecimiento de la miel durante el procesamiento y el almacenamiento se pueden identificar brevemente con las reacciones de Maillard, caramelización de los azúcares y la oxidación de los polifenoles (Baglio, 2018).

El color se puede medir utilizando el sistema CIELab que es expresado en tres valores; L\* para la luminosidad, a\* y b\* para los colores de rojo, verde, azul y amarillo (Starowicz et al., 2021). El espacio de color CIE de 1976, también llamado CIELab es uno de los espacios de color más usados para medir la composición cromática de un objeto, el enfoque del espacio de color CIELab se basa en una representación cartesiana secuencial o continua de tres ejes ortogonales. Las características colorimétricas están definidas por las coordenadas de luminosidad L\* (L\*=0 negro y L\*=100 blanco), la componente



$a^*$  es la saturación que representa la diferencia entre el verde ( $-a^*$ ) y el rojo ( $+a^*$ ) y la componente  $b^*$  es el ángulo de tono que representa la diferencia entre el azul ( $-b^*$ ) y el amarillo ( $+b^*$ ) (Wrolstad y Smith, 2017).



**Figura 1 — Representación tridimensional del espacio de color CIE L\*a\*b\***

Extraído de Mihaela (2011).

En la Figura 1, se observa los valores de  $L^*$  que indica luminosidad (0 - 100), la coordenada  $a^*$  (+) rojo, (-) es verde y  $b^*$  es para amarillo (+) y azul (-).

- **Higroscopicidad**

La miel es un producto higroscópico debido a su alto contenido de azúcares (principalmente fructosa), tiene la capacidad de absorber y retener humedad del medio ambiente, dependiendo de la temperatura y la humedad relativa del ambiente donde se encuentre almacenado (Eteraf y Najafi, 2013).

- **Acidez**

En la miel existen tres tipos de acidez: libre, láctónica y total; el ácido libre es proporcionado por todos los ácidos libres en su conjunto (Cavia et al., 2007). La acidez láctónica se considera como una reserva de acidez cuando la miel se vuelve alcalina (Silva et al., 2009), la acidez de la miel aumenta durante la fermentación, está asociada con la transformación de azúcares y alcoholes en ácidos por parte de las levaduras osmofílicas de la miel (Villacrés et al., 2021). Por otra parte, cuando el contenido de humedad de la miel es lo suficientemente alto, la levadura crecerá, fermentando azúcares y produciendo más levadura,

alcohol, dióxido de carbono y ácido acético, todo lo cual afecta el sabor de la miel con el tiempo (Zulkhairi et al., 2019).

El Codex Alimentarius (2001), establece que el contenido de acidez libre debe ser máximo de 50 miliequivalentes por cada 1000 g de miel, mientras que la NTP 209.168 (1999), menciona que la acidez libre no debe superar los 40 miliequivalentes por 1000 g de miel, los valores superiores puede ser indicativo de fermentación de azúcares en ácidos orgánicos (Da Silva et al. 2016), la acidez varía en función de la temperatura de conservación, maduración y fermentación, este último factor es muy importante en el incremento de la acidez (Subovsky et al., 2002). Otros autores indican que también está asociada con la fuente floral, cantidad de minerales, tiempo de cosecha y la cantidad de ácido glucónico resultante de la acción enzimática sobre la glucosa (Finola et al., 2007; Ojeda et al., 2004).

- **pH**

El pH tiene un efecto importante en la conservación, esto debido a la capacidad de limitar e inhibir el crecimiento de microorganismos, que son afectados por las condiciones de extracción y almacenamiento. Por otro lado, tienen una influencia en la textura, estabilidad y vida útil de la miel (Corbella y Cozzolino, 2006), los valores de pH de la miel de flores pueden oscilar de 3.5 a 4.5 (Gallego et al., 2013).

- **Cristalización de la miel**

La cristalización o granulación de la miel es un proceso físico que ocurre de manera natural debido a la naturaleza sobresaturada de las mieles, la solución sobresaturada se compone principalmente de una mezcla compleja de carbohidratos (Saxena et al., 2010), la glucosa que es menos soluble que la fructosa, se separa del agua y precipita fuera de la solución sobresaturada, convirtiéndose en cristales de glucosa monohidratada por pérdida de agua (Gleiter et al., 2006). La cristalización afecta principalmente la vida útil de la miel, ya que la parte no cristalizada tendrá un mayor contenido de humedad, lo que la hace vulnerable al crecimiento de levaduras (Krishnan et al., 2021); este proceso es considerado indeseable por parte de los consumidores y



procesadores de miel, tanto desde el punto de vista sensorial como tecnológico, lo que genera dificultades en el manejo, fraccionamiento y vertido (Tappi et al., 2021). La miel cristalizada tiene un aspecto opaco y ceroso, si bien puede ser considerado un indicador de buena calidad para algunos consumidores, no es aceptable, ya que lo prefieren líquido y/o transparente (Tosi et al., 2004).

### **Factores que influyen en la cristalización de la miel**

- **Relación fructosa: glucosa (F/G)**

La glucosa es el azúcar en sufrir una transformación por ser menos soluble en agua que la fructosa; como consecuencia, ocurre una cristalización rápida convirtiéndose en glucosa monohidratada. Por otro lado, la fructosa tiene mayor solubilidad y permanece en solución durante más tiempo, la cristalización de la glucosa conduce a la sustracción de sólidos solubles que resulta en la dilución de la solución amorfa y a su vez en el aumento de la actividad de agua, por lo tanto, provoca la proliferación de levaduras (Venir et al., 2010).

- **Relación glucosa: agua (G/W)**

El proceso de cristalización de la miel es más rápido cuando es mayor el contenido de glucosa y menor el contenido de agua (Baloš et al., 2020).

## **3.2.5 Productos que se obtienen de miel cristalizada**

### **3.2.5.1 Miel crema**

La miel crema es un producto que es obtenido a partir de miel natural cristalizada, que se somete a un proceso de emulsificado para romper los cristales presentes en la miel e incorporar aire en la estructura. Se obtiene un producto de textura cremosa y untable que no gotea e incluye una gran cantidad de pequeños cristales que en condiciones normales evitan la formación de cristales más grandes que puedan formarse en la miel natural (NTP 209.168, 1999; Karahan et al., 2023).



- **Tecnología de emulsificación**

La agitación mecánica es una técnica común para crear emulsiones aplicando energía mecánica a la mezcla, donde se utilizan distintos tipos de paletas que se hacen girar en un recipiente o tanque. El uso de un dispositivo externo, como un mezclador es necesario en este método, el proceso requiere que la mezcla se someta a fuerzas de cizallamiento altas; esto ayuda a reducir el tamaño de las partículas y crear una dispersión estable por toda la fase continua (Henaó et al., 2024).

### 3.2.6 Efecto del tratamiento térmico sobre la calidad de la miel

Cuando la miel es sometida a tratamientos térmicos, tiene la probabilidad de perder su calidad natural, esto se debe a la descomposición de las vitaminas, destrucción de las enzimas y el desarrollo del contenido de hidroximetilfurfural (HMF) (Eshete y Eshete, 2019). Este procesamiento disuelve el azúcar y los núcleos cristalinos para retardar la granulación de la miel, por otro lado, también destruye las levaduras osmofílicas presentes, por lo que prolonga la vida útil del producto. La composición y las propiedades fisicoquímicas de la miel dependen principalmente de la temperatura de procesamiento, condiciones de almacenamiento, condiciones climáticas y regionales (Turhan et al., 2008; Saxena et al., 2010).

- **Efecto del calentamiento sobre los compuestos bioactivos**

Al someter a tratamientos térmicos, ocurren cambios que afectan a las concentraciones de los compuestos fenólicos, ya que estas sustancias son termolábiles, que se descomponen fácilmente cuando se someten al calentamiento (Da Silva et al., 2016), por otra parte, también pueden aparecer otros compuestos, así como el aumento de las concentraciones de algunos polifenoles, esto se puede deber a las reacciones específicas de hidrólisis de polisacáridos, el tratamiento térmico también puede hidrolizar/convertir otros compuestos presentes en la miel, como son los aminoácidos, obteniendo compuestos fenólicos (Braghini et al., 2019).

Durante el procesamiento térmico ocurre la reacción de Maillard o pardeamiento no enzimático, que da lugar a la formación de melanoidinas, que se caracterizan por una alta actividad antioxidante, la formación de este compuesto se inicia por



las reacciones entre los grupos amino de un aminoácido/proteínas y el grupo carbonilo de los azúcares reductores (Brudzynski 2012); la actividad antioxidante depende de la formación de las melanoidinas, que cambian según el tipo de miel (Turkmen et al., 2006), el tratamiento térmico puede reducir o aumentar el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de la miel.

### 3.2.7 Propiedades funcionales

- **Actividad antioxidante**

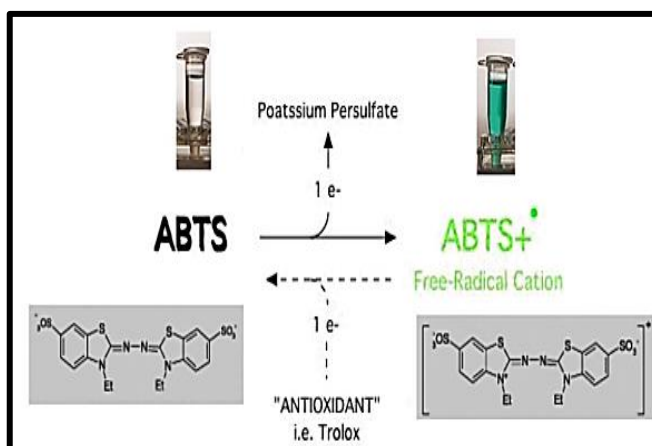
Los antioxidantes son elementos que pueden inhibir la oxidación de las moléculas, esta oxidación es una reacción bioquímica que genera radicales libres en una reacción en cadena que puede dañar las células y tejidos. Se ha demostrado que los alimentos que contienen antioxidantes ponen fin a las reacciones en cadena para proteger al cuerpo de los radicales libres para equilibrar el estrés oxidativo y promover la salud (Meo et al., 2017). La miel contiene flavonoides, glucosa oxidasa, catalasa, ácidos fenólicos, ácido ascórbico y carotenoides, que han demostrado tener una actividad antioxidante tanto in vitro como in vivo (Bogdanov et al., 2013). Los compuestos fenólicos de la miel proporcionan una actividad antioxidante que actúan como neutralizadores de los radicales libres (Kishore et al., 2011), por otro lado, la actividad antioxidante de la miel está influenciada mayormente por el origen botánico, mientras que el procesamiento, manipulación y el almacenamiento afectan en menor medida a su actividad antioxidante (Beretta et al., 2005). Algunos autores indican que la actividad antioxidante está fuertemente correlacionada con el color de la miel, donde se informó que el color oscuro de la miel tiene un mayor contenido fenólico total y como consecuencia mayor capacidad antioxidante (Čanadanović et al., 2014).

### 3.2.8 Método para la determinación de actividad antioxidante

- **Ensayo ABTS<sup>•+</sup>**

La generación del radical ABTS<sup>•+</sup> es un método que sirve para la detección de la actividad antioxidante, este ensayo de decoloración es aplicable a antioxidantes lipófilos como hidrófilos, incluidos flavonoides, hidroxycinamatos, carotenoides y antioxidantes plasmáticos. El monocation

radical preformado del ácido 2,2'- azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>) verde - azul es generada mediante la oxidación de ABTS con persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), el radical catiónico es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm (Re et al., 1999), la adición de antioxidantes al radical preformado (ABTS<sup>•+</sup>) lo reduce a su forma neutra incolora ABTS, como se observa en la Figura 2, los resultados suelen expresarse como capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) que es un análogo de la vitamina E (Boligon, 2014).



**Figura 2 — Reacción química ABTS**

Extraído de Boligon (2014).

### 3.2.9 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una técnica que separa físicamente los componentes de una muestra y proporciona información de la concentración de cada componente separado, los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, la primera es estacionaria (fase estacionaria) mientras que la otra (fase móvil) es un líquido que se mueve en dirección definida. Diferentes componentes de una muestra se transportan en la fase móvil a través de una fase estacionaria, los analitos suelen tener interacciones diferenciales con las fases móvil y estacionaria, dado que la fase estacionaria es la fija, aquellos solutos que tienen interacciones más fuertes con la fase estacionaria tenderán a moverse más lentamente que otros que tienen interacciones menores o nulas con la fase estacionaria tenderán a moverse más rápido. Por tanto, las separaciones

cromatográficas dependen de la fuerza de las interacciones de los analitos con las fases. Estas interacciones entre ambos, analitos y fases, determinan el tiempo que pasan los analitos dentro de la columna y el ensanchamiento del pico. En consecuencia, los compuestos eluyen de la columna y llegan al detector en diferentes momentos, siendo monitoreados por el detector durante una serie cromatográfica (Lozano et al., 2018).

### 3.2.10 Espectroscopia infrarroja

La espectroscopia infrarroja (IR) se basa en la absorción de radiación electromagnética en longitudes de onda, cuando una molécula absorbe radiación IR incidente coincide con la diferencia de energía entre estados energéticos y se produce un cambio en el momento dipolar de la molécula por movimientos vibratorios que pueden ser estiramiento y flexión del dipolo eléctrico, a medida que los compuestos absorben energía, la molécula vibrará más dependiendo de su geometría (Guerrero y Patience, 2020). La región infrarroja se sitúa entre  $14000 - 40 \text{ cm}^{-1}$  se divide en tres zonas: IR cercano ( $14000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ), IR medio ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) y IR lejano ( $400 - 40 \text{ cm}^{-1}$ ). La gráfica de la intensidad de la luz infrarroja absorbida medida en absorbancia o transmitancia se ubica en el eje Y, en el eje X se encuentra indicada la intensidad de la radiación infrarroja en número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ). El espectro consta de una serie de picos que son denominados bandas de absorción, se ubican en diferentes posiciones, tienen alturas y anchuras distintas (Khan et al. 2018).



### 3.2.11 Normas de calidad de la miel

A continuación, en las siguientes Tablas 4 y 5, se presentan las normas de calidad de la miel establecidas por la Norma Técnica Peruana y el Codex Alimentarius.

**Tabla 4 — Parámetros de calidad de la miel según la Norma Técnica Peruana**

<p><b>a) Contenido de humedad</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieles no indicadas a continuación</li> <li>• Miel de brezo (<i>Calluna</i>)</li> <li>• Miel de trébol (<i>Trifolium</i>)</li> </ul>	<p>21 % como máximo</p> <p>23 % como máximo</p> <p>23 % como máximo</p>
<p><b>b) Contenido de sustancias minerales (cenizas)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieles no indicadas a continuación</li> <li>• Mieles de mielada o una mezcla de miel de mielada y miel de flores</li> </ul>	<p>0.6 % como máximo</p> <p>1.0 % como máximo</p>
<p><b>c) Acidez</b></p>	<p>40 miliequivalentes de ácido por 1000 gramos como máximo</p>
<p><b>d) Contenido aparente de azúcar reductor</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieles no indicadas a continuación</li> <li>• Mieles de mielada</li> </ul>	<p>65 % como mínimo</p> <p>60 % como mínimo</p>
<p><b>e) Contenido aparente de sacarosa</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieles no indicadas a continuación</li> <li>• Mieles de mielada, mezcla de miel de mielada y mieles de flores</li> </ul>	<p>5 % como máximo</p> <p>10 % como máximo</p>

Extraído de las NTP 209.168, (1999).

Tabla 5 — Parámetros de calidad de la miel según el Codex Alimentarius

<p><b>a) Contenido de humedad</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieles no indicadas a continuación</li> <li>• Miel de brezo (<i>Calluna</i>)</li> </ul>	<p>No más del 20 %</p> <p>No más del 23 %</p>
<p><b>b) Contenido de azúcares</b></p> <p>Contenido de fructosa y glucosa (suma de ambas)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieles no enumeradas a continuación</li> <li>• Miel de mielada, mezcla de miel de mielada con miel de flores</li> </ul> <p>Contenido de sacarosa</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieles no enumeradas a continuación</li> <li>• Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>), Citrus spp., Falsa acacia (<i>Robinia pseudoacacia</i>), Madreselva francesa (<i>Hedysarum</i>), Menzies Banksia (<i>Banksia menziesii</i>), Red Gum (<i>Eucalyptus camaldulensis</i>), Leatherwood (<i>Eucryphia lucida</i>), Eucryphia milligani</li> <li>• Espliego (<i>Lavandula spp.</i>), borraja (<i>Borago officinalis</i>)</li> </ul>	<p>No menos de 60 g/100 g</p> <p>No menos de 45 g/100 g</p> <p>No más de 5 g/100 g</p> <p>No más de 10 g/100 g</p> <p>No más de 15 g/100 g</p>
<p><b>c) Acidez</b></p>	<p>No más de 50 miliequivalentes de ácido por 1000 gramos</p>

Extraído del Codex Alimentarius (2001).

### 3.3 Marco conceptual

- **Actividad de agua (aw):** Cantidad de agua disponible para la supervivencia o la limitación para el crecimiento y reproducción de los microorganismos que causan el deterioro de los alimentos (Tapía et al., 2020).
- **Aminoácidos:** Los aminoácidos son componentes básicos de las proteínas, son los compuestos orgánicos más abundantes en el cuerpo humano que desempeñan funciones importantes en diversas funciones bioquímicas (Ha y Bhagavan, 2023).
- **Antioxidantes:** Son compuestos naturales presentes en los alimentos que son utilizados para prevenir la oxidación de las moléculas causada por otras moléculas inestables conocidas como radicales libres (Al-Farsi et al., 2018).
- **Enzimas:** Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades (Badui, 2006).
- **Estrés oxidativo:** Es la alteración en el equilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (radicales libres) y defensas antioxidantes, que provocan daños en el organismo (Betteridge, 2000).
- **Levaduras osmotolerantes:** Son microorganismos que son la principal causa de la alteración de los alimentos altamente azucarados (Moniruzzaman et al., 2013).
- **Radicales libres:** Un radical libre es un átomo o molécula que contiene uno o más electrones desapareados, por lo que son muy reactivos, ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica, provocando gran daño a las moléculas (Avello y Suwalsky, 2006).



## CAPÍTULO IV METODOLOGÍA

### 4.1 Tipo y nivel de investigación

El presente trabajo de investigación, de acuerdo a la naturaleza de los datos es de tipo cuantitativo, el nivel de investigación según Hernández et al., (2014), es explicativo experimental, ya que se explicarán los efectos que ocurren con las variables dependientes al manipular las variables independientes.

### 4.2 Diseño de investigación

El diseño experimental corresponde a un DBCA, con arreglo factorial  $3 \times 3 \times 2 \times 4$ , donde se manipularon cuatro variables independientes: temperatura de trabajo con tres niveles (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas con tres niveles (1, 2 y 3), tiempo de agitación con dos niveles (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento con cuatro niveles (0, 7, 14 y 21 días). Las variables dependientes fueron: acidez titulable (meq/Kg), pH, humedad (%), color ( $L^*$ ), viscosidad (Pa.s), azúcares (%), polifenoles totales (mg GAE/100 g) y actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$ ). En el análisis de datos se comprobó la normalidad a través de la prueba Kolmogorov – Smirnov, las variables dependientes presentaron una distribución normal ( $p > 0.05$ ), por lo que corresponden a pruebas paramétricas. Para la evaluación de los factores en estudio sobre las medias de las variables dependientes se realizó la prueba ANOVA multifactorial con interacciones y con tres repeticiones con un nivel de confianza del 95 %, luego se aplicó la prueba del ranking de Tukey para la comparación de promedios con el siguiente modelo matemático lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (AD)_{il} + (BC)_{jk} + (BD)_{jl} + (CD)_{kl} + (ABC)_{ijk} + (ABD)_{ijl} + (ACD)_{ikl} + (BCD)_{jkl} + (ABCD)_{ijkl} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = características fisicoquímicas y compuestos bioactivos de los tratamientos

$\mu$  = media de los resultados de cada tratamiento

$A_i$  = es el efecto del i- énimo nivel del factor temperatura de trabajo

$B_j$  = es el efecto del j- énimo nivel del factor tipos de paletas

$C_k$  = es el efecto del k- énimo nivel del factor tiempo de agitación

$D_l$  = es el efecto del l- énimo nivel del factor días de almacenamiento



(AB)<sub>ij</sub>, (AC)<sub>ik</sub>, (BC)<sub>jk</sub>, ... (ABCD)<sub>ijkl</sub> = interacciones  
 $\epsilon_{ijk}$  = error experimental

**Tabla 6 — Esquematización del diseño experimental**

Tratamientos	Variables independientes			Variables dependientes		Bloques (Días)			
	A (°C)	B	C (min)	Características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, color L*, viscosidad, FTIR y azúcares)	Compuestos bioactivos (polifenoles totales y actividad antioxidante)	0	7	14	21
	20 35 50	1 2 3	60 120						
T1	20	1	60	X	Y	3	3	3	3
T2	20	1	120	X	Y	3	3	3	3
T3	20	2	60	X	Y	3	3	3	3
T4	20	2	120	X	Y	3	3	3	3
T5	20	3	60	X	Y	3	3	3	3
T6	20	3	120	X	Y	3	3	3	3
T7	35	1	60	X	Y	3	3	3	3
T8	35	1	120	X	Y	3	3	3	3
T9	35	2	60	X	Y	3	3	3	3
T10	35	2	120	X	Y	3	3	3	3
T11	35	3	60	X	Y	3	3	3	3
T12	35	3	120	X	Y	3	3	3	3
T13	50	1	60	X	Y	3	3	3	3
T14	50	1	120	X	Y	3	3	3	3
T15	50	2	60	X	Y	3	3	3	3
T16	50	2	120	X	Y	3	3	3	3
T17	50	3	60	X	Y	3	3	3	3
T18	50	3	120	X	Y	3	3	3	3
<b>TOTAL</b>						216 observaciones			

**Donde:**

A: temperatura de trabajo (20, 35 y 50 °C); B: tipos de paletas (1: paleta gancho amasador, 2: paleta plana, 3: combinación del gancho amasador y paleta plana (para el tiempo de 60 min se



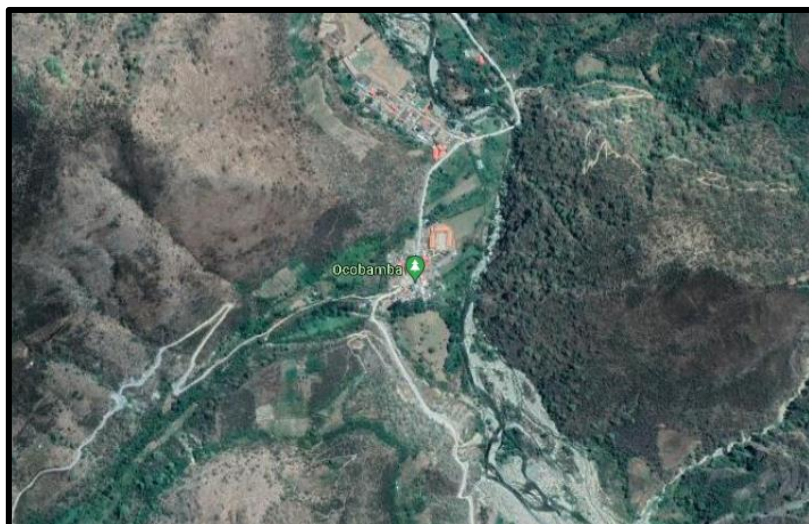
trabajó 30 min con paleta gancho amasador y 30 min con paleta plana, para el tiempo de 120 min se trabajó 60 min con paleta gancho amasador y 60 min con paleta plana)); C: tiempo de agitación (60 y 120 min); X: análisis de acidez, pH, humedad, luminosidad L\*, viscosidad y azúcares; Y: polifenoles totales y actividad antioxidante; D: días de almacenamiento.

A los 18 tratamientos se realizaron los análisis de las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos en función al tiempo de almacenamiento (día 0, 7, 14 y 21) para monitorear la estabilidad en el tiempo.

### 4.3 Población y muestra

#### 4.3.1 Población

La población de estudio en esta investigación estuvo constituida por miel de abeja (*Apis mellifera*) multiflora, procedente del apiario que está ubicado entre las coordenadas: latitud Sur 13° 52' 37.1" S (13.876973), longitud Oeste 72° 55' 54.3" W (-72.931740), y una altitud de 2100 msnm de la comunidad de Ocobamba, distrito de Circa, provincia Abancay, departamento Apurímac.



**Figura 3 — Mapeo de ubicación del apiario**

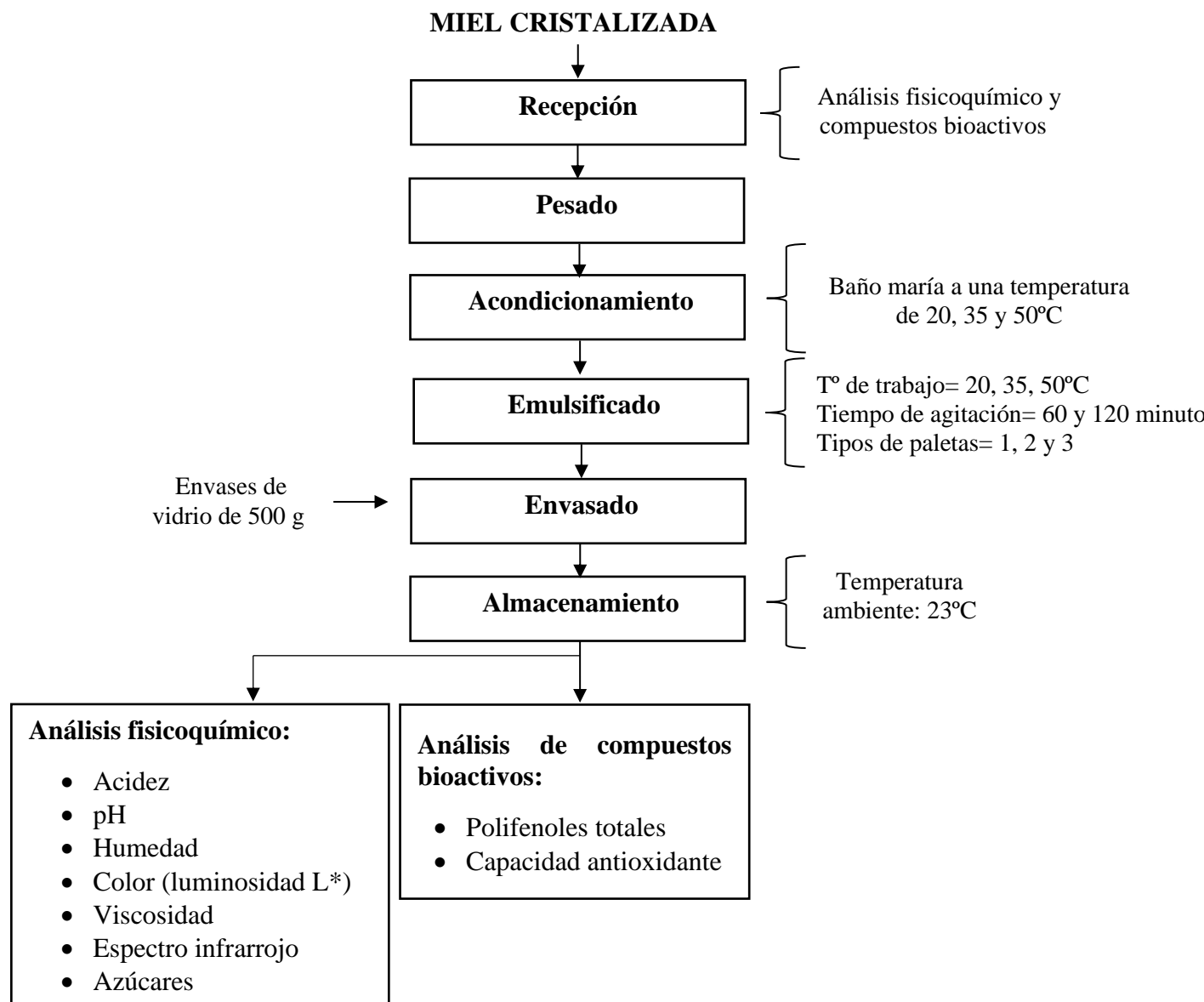
**Figura generada en Google Maps.**

#### 4.3.2 Muestra

Se trabajó con 100 Kg de miel multiflora para el análisis de la materia prima y la obtención de miel crema.

#### 4.4 Procedimiento de la investigación

##### 4.4.1 Proceso de obtención de miel crema



**Figura 4 — Diagrama de flujo para la obtención de miel crema**

Extraído de Frigerio (2010).

#### 4.4.2 Descripción del diagrama de flujo de obtención de miel crema

Para el proceso de obtención de los 18 tratamientos se siguió cada uno de las operaciones unitarias que se muestran en la Figura 4, acorde a la metodología de Frigerio (2010), con modificaciones.

A continuación, se describen las etapas del proceso:

##### a) Recepción

La materia prima fue recepcionado y llevado a un ambiente oscuro, posteriormente se sacó 500 g de muestra para realizar el análisis fisicoquímico y de compuestos bioactivos.

##### b) Pesado

La miel fue pesada con el objetivo de saber la cantidad exacta que se estaba utilizando.

##### c) Acondicionamiento

Este procedimiento se realizó con el fin de llevar a la miel cristalizada a la temperatura de trabajo de 20, 35 y 50 °C.

##### d) Emulsificado

El emulsificado consistió en someter a agitación a la miel cristalizada, esto con la finalidad de romper los cristales de la miel e incorporar aire a la estructura, la agitación de la miel se realizó a tres temperaturas (20, 35 y 50 °C), dos tiempos (60 y 120 min) y con tres tipos de paletas (gancho amasador, plana y combinación del gancho amasador y plana) esto a una velocidad de 100 RPM.

##### e) Envasado

Una vez terminado el emulsificado de la miel se procedió a pesar y envasar en frascos de vidrio de capacidad 500 g.

##### f) Almacenamiento

Finalmente, los 18 tratamientos fueron almacenados a una temperatura ambiente y en lugar oscuro protegido de la luz directa, seguidamente se realizaron los análisis de las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos en los días 0, 7, 14 y 21.



## 4.5 Técnica e instrumento

### 4.5.1 Determinación de la composición fisicoquímica

Para la materia prima se realizó el análisis de proteína, grasa, densidad, sólidos solubles, cenizas, pH, acidez, viscosidad, humedad, color (parámetro L\*), azúcares, espectro infrarrojo, polifenoles totales y actividad antioxidante; para las mieles cremas: acidez, pH, humedad, color (en los resultados de la investigación solo se muestran los valores de luminosidad L\*, esto debido a que en las mieles cremas este parámetro tiene mayor importancia por la claridad), viscosidad, espectro infrarrojo, polifenoles totales, actividad antioxidante y azúcares (en este caso no se ejecutaron para todos los tratamientos, solo para el tratamiento que permaneció más estable en el tiempo en cuanto a las variables dependientes).

- **Determinación de proteína**

Para la determinación de proteína se realizó por el método de Kjeldahl, siguiendo el procedimiento de Ogidi y Oteneb (2020), con algunas modificaciones, se desarrolló en tres etapas: digestión, destilación y titulación.

#### **Proceso de digestión por Kjeldahl**

Se pesó 2 g de muestra en un vaso precipitado y se diluyó con 10 ml de agua destilada, se introdujo en el balón Kjeldahl más 0.05 g de  $\text{CuSO}_4$ , 15 g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 25 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y perlas de vidrio para evitar que saliera borbotones durante el calentamiento.

Posteriormente, se colocó el balón de digestión en el sistema de calefacción durante una hora hasta la viración a un color verde claro esmeralda y se dejó enfriar.

#### **Proceso de destilación por Kjeldahl**

Se agregó 50 ml de agua destilada al balón con las muestras digeridas, posteriormente se añadieron 100 ml de hidróxido de sodio a cada balón y se colocaron en el sistema de calefacción introduciendo la bombilla de conexión a los balones.

En un matraz erlenmeyer se adicionó 100 ml de ácido bórico al 3 % y 0.3 ml de indicador (mezcla de azul de metileno y rojo de metilo) y fue colocado en el equipo de destilación.



El proceso de destilación finalizó cuando la solución en el matraz erlenmeyer conteniendo el amoníaco recogido viró de un color rojo púrpura a una coloración verdosa.

#### **Titulación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

La solución en el matraz erlenmeyer se tituló con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0.02 N hasta una variación de color, se utilizó la siguiente ecuación para la determinación del porcentaje de proteína:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V \times \text{normalidad del ácido sulfúrico} \times \text{meq. N}}{M} \times 100.. \text{Ec. (1)}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times F$$

Donde:

V= volumen gastado del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en la titulación (ml)

Meq.N= miliequivalente gramo del nitrógeno

100= en 100 g de muestra

F= 6.25 factor proteico

M= peso de la muestra (g)

- **Determinación de grasas por soxhlet**

Para la determinación de grasa se trabajó empleando el método de extracción de grasa en soxhlet con éter petróleo, se siguió el procedimiento de Ogidi y Otenepe (2020), con algunas modificaciones. Para ello, se pesaron 5 g de miel en un trozo de papel filtro que fueron colocados en cartuchos de celulosa. Seguidamente, también se pesaron vasos de acero inoxidable y se equipó en el extractor soxhlet. Se extrajo la grasa durante 2 horas a una temperatura de 80 °C con 70 ml de éter petróleo.

Se utilizó la siguiente fórmula para el porcentaje de grasa:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{(\text{peso del vaso} + \text{muestra}) - \text{peso del vaso vacío}}{\text{peso de la muestra}} \times 100.. \text{Ec. (2)}$$

- **Densidad**

Se determinó según la metodología que indican Abdallah y Ramadan (2021), donde establecen el procedimiento de ensayo para determinar la densidad de la miel mediante el método de picnometría.

Para el cálculo de la densidad se utilizó la siguiente fórmula:

$$Densidad = \frac{a - b}{c} \dots \dots \dots Ec. (3)$$

Donde:

a: peso del picnómetro con la muestra.

b: peso del picnómetro vacío.

c: volumen del picnómetro.

- **Determinación del contenido de sustancias minerales (cenizas)**

Para la determinación del contenido de cenizas se siguió la metodología de la NTP 209.175 (1999), con algunas modificaciones, para ello, se pesó 2 g de miel en un crisol de porcelana, seguidamente se llevó a una estufa a una temperatura de 120 °C por un tiempo de 2 horas, esto con la finalidad de eliminar la humedad, posteriormente la muestra fue pre calcinado, luego se colocó en la mufla a una temperatura de 600 °C durante 6 horas, finalmente se llevó a un desecador hasta su enfriamiento y se registró el peso final.

Para calcular el contenido de cenizas se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P - P1}{M} * 100 \dots \dots \dots Ec. (4)$$

Donde:

P = masa del crisol con la muestra calcinada en gramos.

P1= masa del crisol vacío en gramos.

M = masa de la muestra en gramos.

- **Determinación de sólidos solubles totales (°Brix)**

Se realizó utilizando un refractómetro RHB-90 ATC según la metodología de Nyau et al., (2013), con algunas modificaciones, para ello, se tomó una porción de una muestra a una temperatura de 25 °C, la muestra fue distribuida sobre el



prisma y se tapó cuidadosamente, finalmente los resultados fueron observados por el ocular del instrumento.

- **Acidez titulable**

Se realizó por la técnica de titulación, según la metodología que establece la NTP 209.174 (1999), se trabajó con 10 g de miel que fue disuelta en 75 ml de agua destilada, seguidamente se tituló con hidróxido de sodio al 0.1 N utilizando como indicador 3 gotas de fenolftaleína; la solución se agitó constantemente hasta alcanzar una coloración de rosa pálido que persistió durante 10 segundos. Los resultados se expresaron en miliequivalentes de ácido/Kg de miel.

Para la determinación de acidez se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Miliequivalentes de acidez} = \frac{G \times N \times 1000}{M} \dots \dots \text{EC. (5)}$$

Donde:

G = gasto del NaOH

N = Normalidad del NaOH (0.1 N)

M = peso de la muestra (g)

- **Determinación de potencial de iones de hidrógeno (pH)**

Se realizó acorde a la metodología de Bogdanov (2009), para ello, se procedió a disolver 10 g de miel en 75 ml de agua destilada, seguidamente se homogenizó y se dio lectura utilizando un potenciómetro.

- **Determinación del contenido de humedad por refractómetro**

Para la determinación del contenido de humedad se realizó aplicando el método refractométrico conforme a la metodología de la NTP 209.171 (1999), para ello, se utilizó 2 g de miel que fue adicionado al prisma del refractómetro y se procedió a visualizar el porcentaje de humedad.



- **Color**

Los parámetros de color CIEL\*a\*b\* se midieron con un colorímetro PCE siguiendo la metodología descrita por Boussaid et al., (2018), para la medición primeramente el equipo se calibró, seguidamente las muestras se colocaron en placas petri y se llenaron hasta el borde, cada placa petri fue colocado directamente sobre el sensor del colorímetro, se tomaron 7 mediciones en diferentes puntos.

- **Determinación de viscosidad**

La viscosidad de la miel se determinó acorde a la metodología de Sulistyianingsih et al., (2022), con algunas modificaciones, para ello, se utilizó un reómetro Brookfield DV3T, USA, N° de aguja 7 a una velocidad de 5 RPM a 20 °C.

- **Espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)**

Los espectros de todas las muestras se realizaron a una longitud de onda de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , en el espectrofotómetro FTIR Thermo Scientific, todos los espectros se registraron a una temperatura ambiente, el proceso del espectro se realizó por medio del Software OMNIC SPECTA según Nayik et al., (2019), con algunas modificaciones.

- **Cuantificación de azúcares mediante HPLC**

La cuantificación de azúcares se determinó por cromatografía líquida de alta resolución, para ello, se enviaron muestras al laboratorio de micología y biotecnología LMB de la Universidad Nacional Agraria la Molina, el equipo de instrumentación HPLC utilizado en el análisis de cuantificación de azúcares fue un cromatógrafo Agilent 1260 infinity (Agilent Technologies), equipado con una bomba de solvente 1260 Head BIO y con un detector de índice de refracción (RID), para lograr la separación de los azúcares, se utilizó una columna Asahipak NH2P-50 4E (Shodex) de 5  $\mu\text{m}$  250 mm x 4.6 mm (Nayik et al., 2019).



- **Determinación de compuestos fenólicos (Folin-Ciocalteu)**

La determinación de polifenoles totales se realizó por la metodología de Magalhães et al., (2010), con algunas modificaciones.

**Preparación de diluciones para la curva estándar de ácido gálico**

Se pesó 4 mg de ácido gálico y se aforó a 250 ml con agua destilada (solución madre), a partir de esta dilución se prepararon las concentraciones de ácido gálico de 0, 2, 4, 8 y 16 mg/L, como se muestra en la Tabla 7.

Para ello, se realizó el siguiente procedimiento:

- Se preparó y rotuló los tubos de ensayo.
- Se agregó a los tubos de ensayo la cantidad correspondiente de solución madre de ácido gálico y agua destilada, como se observa en la siguiente Tabla.

**Tabla 7 — Concentración de ácido gálico y agua**

Concentración (mg/L)	Solución madre de ácido gálico (ml)	Agua destilada (ml)
0 (blanco)	0	3
2	0.38	2.62
4	0.75	2.25
8	1.5	1.5
16	3	0

- Seguidamente se sacó 1 ml de la solución estándar de ácido gálico y se agregó a otro tubo de ensayo más 1 ml del reactivo folin-ciocalteu (0.2 N) y 2 ml de hidróxido de sodio (1.4 %).
- Se homogenizó y se dejó reposar 3 minutos en un ambiente oscuro.
- Se realizó la lectura en un espectrofotómetro a una absorbancia de 760 nm.

**Preparación de la muestra y lectura de la absorbancia**

- Se pesó 1 g de muestra y se diluyó con 75 ml de agua destilada, seguidamente se tomó 1 ml de la dilución y se añadió a un tubo de ensayo más 1 ml de folin-ciocalteu y 2 ml de hidróxido de sodio.
- Se homogenizó y se dejó reposar por tres minutos en un ambiente oscuro.



- Se realizó la lectura a 760 nm de longitud de onda.

Para el cálculo de polifenoles totales se utilizó la siguiente ecuación:

$$PFT \left( \frac{\text{mg de ácido gálico}}{100\text{g de muestra}} \right) = \left( \frac{\text{ABS.muestra}-b}{m} \right) \times \frac{V}{M} \times 100 \dots \dots \text{Ec. (6)}$$

Donde:

PFT = polifenoles totales.

ABS. Muestra = absorbancia de la muestra.

b = intercepto de la ecuación de la curva estándar.

m = pendiente de la ecuación de la curva estándar.

V = factor de dilución (ml).

M = peso de la muestra (g).

- **Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS**

La determinación de la capacidad antioxidante se realizó acorde a la metodología de Re et al., (1999), con algunas modificaciones.

**Preparación de la solución madre ABTS**

- Se pesó 77.6 mg del reactivo ABTS y se adicionó 20 ml de agua destilada (7 mM).
- Seguidamente se pesó 13.2 mg de persulfato de potasio (2.45 mM) y se hizo reaccionar con la solución de ABTS en un frasco ámbar, se homogenizó y se cubrió con papel aluminio.
- Finalmente, se incubó entre 12 - 16 horas a temperatura ambiente.

**Preparación de la solución de trabajo ABTS<sup>+</sup> y muestra**

- Para la preparación de solución de trabajo, se mezcló 500 µL de la solución madre de ABTS<sup>+</sup> con 20 ml de etanol para obtener una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 732 nm de longitud de onda.
- Se pesó 10 g de muestra y se diluyó en 10 ml de agua destilada.

**Lectura de la absorbancia de la muestra**

- Se añadió a un tubo de ensayo 2 700 µL de solución de trabajo ABTS<sup>+</sup> más 300 µL de la muestra diluida.



- Se homogenizó y se realizaron dos lecturas de absorbancia a 732 nm, la primera en el minuto 0 y la segunda en el minuto 6, durante este tiempo el extracto se mantuvo en un ambiente oscuro.

Para calcular el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Abs inicial} - \text{Abs final}}{\text{Abs inicial}} \times 100 \dots \dots \text{Ec. (7)}$$

Donde:

Abs inicial= absorbancia a tiempo 0 minutos.

Abs final= absorbancia a tiempo 6 minutos.

### Preparación de la curva de calibración de trolox

- Se preparó 0.0125 g de trolox que fue aforado en 10 ml de etanol (solución madre) se homogenizó y se cubrió con papel aluminio.
- Se rotularon los tubos de ensayo y se agregaron la cantidad adecuada de la solución madre de trolox y se enrazó a 5 ml con etanol, como se observa en la siguiente Tabla.

**Tabla 8 — Concentración de trolox y etanol**

Concentración (µM)	Trolox (solución madre) (µL)	Etanol (µL)
50	50	4950
100	100	4900
150	150	4850
200	200	4800
250	250	4750
300	300	4700
350	350	4650

### Lectura de la absorbancia de la curva estándar trolox

- En nuevos tubos de ensayo se agregó 2.8 ml de solución de trabajo de ABTS<sup>+</sup> y 200 µL del extracto trolox, se homogenizó y se dejó reposar por 6 minutos en un ambiente oscuro.



- Se dio lectura a una absorbancia de 732 nm de longitud de onda.

La concentración de antioxidantes se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$CA \left( \frac{\mu\text{mol eq.Trolox}}{100\text{g}} \right) = \left( \frac{\text{Abs.muestra}-B}{A} \right) \times \frac{FD}{m} \times 100 \dots \dots \dots \text{Ec. (8)}$$

Donde:

CA= capacidad antioxidante.

Abs. Muestra= absorbancia de la muestra.

B= intercepto de la ecuación de la curva estándar.

A= pendiente de la ecuación de la curva estándar.

FD= factor de dilución.

m= peso de la muestra.

#### 4.5.2 Materiales

- Pipeta de 10 ml
- Bureta de 50 ml
- Probetas de 10 ml y 100 ml
- Fiolas de 10 ml, 25 ml, 100 ml y 250 ml
- Vasos de precipitado de 50 ml, 80 ml, 100 ml, 250 ml y 500 ml
- Tubos de ensayo de 5 ml
- Soporte universal
- Micropipetas de 10-100  $\mu\text{L}$ , 20-200  $\mu\text{L}$  y 100-1000  $\mu\text{L}$  de capacidad
- Matraz erlenmeyer de 250 ml
- Frascos de vidrio con tapa rosca capacidad de 500 g
- Frascos ámbar
- Crisoles de porcelana
- Gradillas
- Balones de Kjeldahl
- Tubos de polipropileno 15 ml
- Piceta
- Baguetas de vidrio
- Pro pipeta



- Pinzas
- Papel aluminio
- Campana desecadora
- Papel toalla
- Papel tisú
- Luna de reloj

#### 4.5.3 Equipos

- Balanza analítica, marca RADWAG
- Estufa termostática, marca MEMMERT, tipo UNE 400, Germany.
- Potenciómetro, marca SIANALYTICS, modelo LAB 850
- Baño maría de 20 L, marca MEMMERT
- Mufla, marca THEMCONCEPT
- Digestor Kjeldahl, marca LABCONCO
- Destilador Kjeldahl, marca LABCONCO
- Extractor de grasa, marca JP SELECTA
- Colorímetro, marca PCE
- Campana extractora de gases, marca ESCO
- Refractómetro, marca RHB-90 ATC
- Batidora industrial, marca VENTUS
- Termómetro
- Refrigerador, marca MABE
- Microondas, marca SAMSUNG
- Espectrofotómetro infrarrojo, marca THERMO SCIENTIFIC
- Viscosímetro, marca BROOK FIELD
- Espectrofotómetro, marca SPECTROQUANT PHARO
- Agitador vórtex

#### 4.5.4 Reactivos

- Agua destilada
- Hidróxido de sodio (NaOH)



- Ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ )
- Fenolftaleína
- Sulfato cúprico ( $CuSO_4$ )
- Sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ )
- Ácido bórico ( $H_3BO_4$ )
- Etanol (Alcohol etílico)
- Ácido gálico ( $C_7H_6O_5$ )
- Folin-Ciocalteu
- Persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ )
- Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)
- 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (Trolox)

#### 4.6 Análisis estadístico

Para el análisis de varianza (ANOVA) y el ranking de Tukey se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion versión 19, para los gráficos el software OriginPro 2024 y la hoja de cálculo de Microsoft Excel 2019.

##### 4.6.1 Hipótesis estadística (nula y alterna)

- **Hipótesis nula**

Las temperaturas de trabajo (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas (gancho amasador, plana y combinación de gancho amasador y plana), tiempos de agitación (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21) no afectan significativamente en las características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, luminosidad  $L^*$  y viscosidad) y compuestos bioactivos (polifenoles totales y actividad antioxidante) de la miel crema.

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu = 18$$

- **Hipótesis alterna**

Las temperaturas de trabajo (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas (gancho amasador, plana y combinación de gancho amasador y plana), tiempos de agitación (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21) afectan significativamente en las características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, luminosidad  $L^*$  y



viscosidad) y compuestos bioactivos (polifenoles totales y actividad antioxidante) de la miel crema.

$$H_a = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \dots \neq \mu_{18}$$

- **Nivel de significancia**

El nivel de significancia fue de  $p=0.05$

Si  $\alpha > 0.05$ : no existe efecto de los factores en estudios sobre las variables dependientes, entonces se acepta la hipótesis nula.

Si  $\alpha < 0.05$ : existe efecto de los factores en estudios sobre las variables dependientes, entonces se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula.



## CAPÍTULO V RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1 Análisis de resultados

#### 5.1.1 Características fisicoquímicas de miel cristalizada (materia prima)

En la siguiente Tabla, se muestran los resultados obtenidos de la determinación de las características fisicoquímicas de la miel cristalizada que se utilizó como materia prima para la obtención de miel crema, expresados en media y desviación estándar ( $\bar{X} \pm DS$ ).

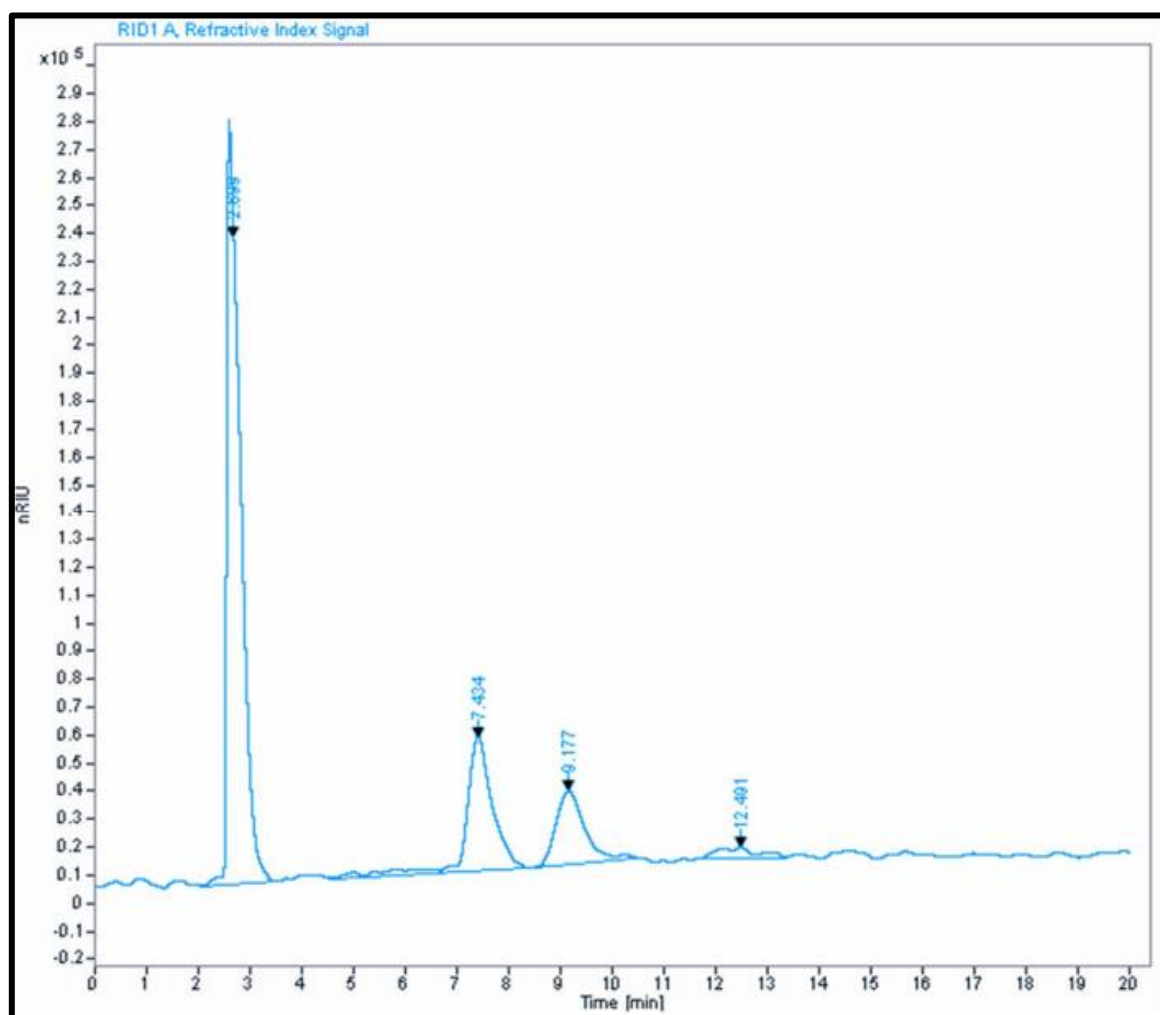
**Tabla 9 — Características fisicoquímica de la miel cristalizada**

Composición	Valor ( $\bar{X} \pm DS$ )
Proteína (%)	0.23±0.02
Grasa (%)	0.07±0.04
Densidad (g/ml)	1.41±0.01
Viscosidad (Pa.s)	567.00±82.87
Cenizas (%)	0.22±0.11
Sólidos totales (°Brix)	81.07±0.12
pH	4.19±0.01
Acidez (meq/kg)	17.98±0.58
Humedad (%)	17.07±0.06
Color L*	47.66±1.21
Fructosa (%)	38.11±1.52
Glucosa (%)	31.65±5.59
Sacarosa (%)	2.72±1.31
Relación F/G	1.20±0.17

Los valores de la Tabla representan los promedios de las características fisicoquímicas de la miel cristalizada con tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

### a) Azúcares

La identificación de los azúcares de la miel cristalizada se efectuó por comparación de los picos que aparecen en el cromatograma HPLC, material proporcionado por el Laboratorio de Micología y Biotecnología LMB (Figura 5), los resultados cromatográficos mostraron la presencia de azúcares de fructosa, glucosa y sacarosa en miel cristalizada como se observa en la Tabla 9, se encontró que la cantidad de fructosa fue mayor (38.11 %), seguido por glucosa (31.65 %) y sacarosa (2.72 %) respectivamente. La relación de fructosa y glucosa de la miel cristalizada se pudo calcular que correspondió a 1.20.



**Figura 5 — Cromatograma HPLC representativo de fructosa, glucosa y sacarosa de miel cristalizada**

**a) Espectro infrarrojo por transformada de Fourier de miel cristalizada**

En la Figura 6, se observa los espectros obtenidos de la miel cristalizada, se puede confirmar la presencia de sus componentes, por ejemplo, en la banda  $3239.82\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de estiramiento O – H del agua, en la banda  $2936.57\text{ cm}^{-1}$  a los enlaces de C – H corresponde a los modos vibratorios de los carbohidratos, en el pico  $1644.02\text{ cm}^{-1}$  se manifiesta las amidas alifáticas, referido al estiramiento C = O. La presencia de alcoholes y fenoles se confirma en el pico  $1008.59\text{ cm}^{-1}$  que pertenecen al estiramiento C – O. En la Tabla 11, se muestran los grupos funcionales que se encontraron en la miel cristalizada y los tratamientos.



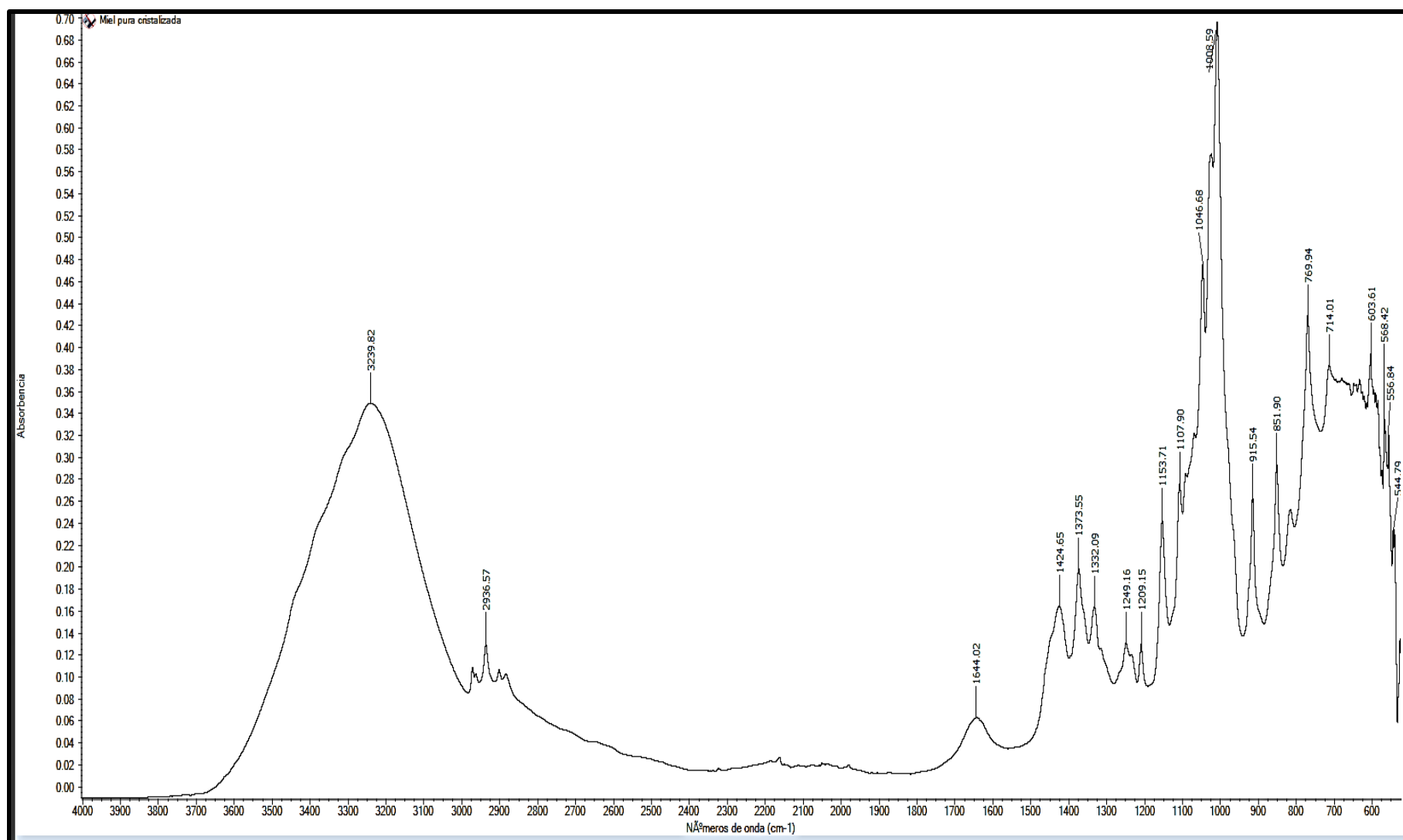


Figura 6 — Espectro FTIR obtenido de miel cristalizada de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>

### 5.1.2 Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de miel cristalizada

En la Tabla 10, se observa los resultados obtenidos de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de la miel cristalizada, el cual se determinó utilizando el método espectrofotométrico, para el contenido de compuestos fenólicos se realizó por el ensayo Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante por el ensayo ABTS.

**Tabla 10 — Resultados del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de la miel**

<b>PFT</b> <b>(mg GAE /100 g de</b> <b>muestra)</b>	<b>I</b> <b>(%)</b>	<b>CA</b> <b>(<math>\mu</math>mol ET/100 g de muestra)</b>
74.13 $\pm$ 1.88	27.83 $\pm$ 1.58	326.74 $\pm$ 3.83

**PFT:** polifenoles totales; **I:** porcentaje de inhibición; **CA:** capacidad antioxidante

### 5.1.3 Características fisicoquímicas de las mieles cremas

#### a) Acidez titulable

Los promedios de acidez titulable de los tratamientos variaron de 12.32 a 24.64 meq/Kg de miel, correspondientes al tratamiento T18 (miel crema emulsificada a 50 °C con paleta 3 por 120 min) y T10 (miel crema emulsificada a 35 °C con paleta 2 por 120 min); el comportamiento de las medias de acidez titulable de cada tratamiento se muestran en las Figuras 7 y 8, donde se observa que la tendencia de las medias de los tratamientos son decrecientes, el tratamiento 6 es el mejor tratamiento que permaneció estable en el tiempo.

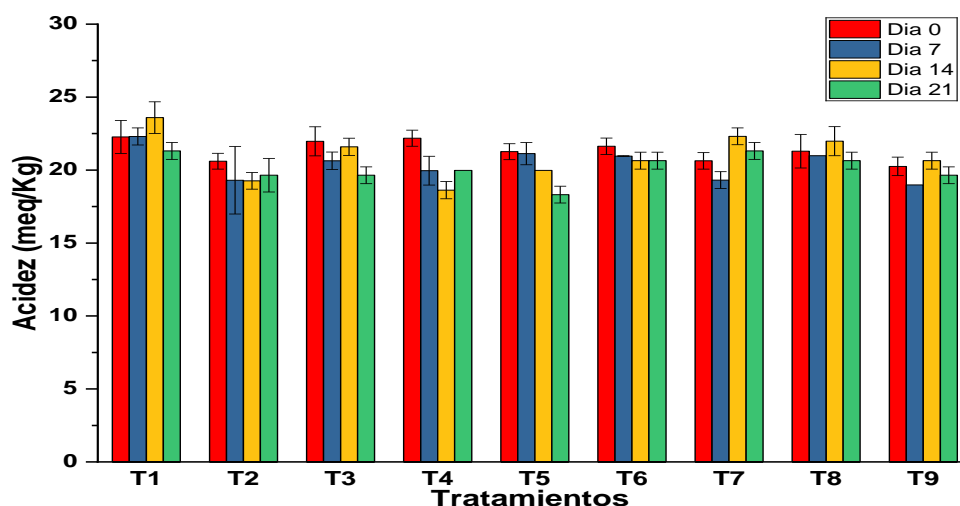


Figura 7 — Comparación de medias de acidez titulable de los tratamientos 1 - 9

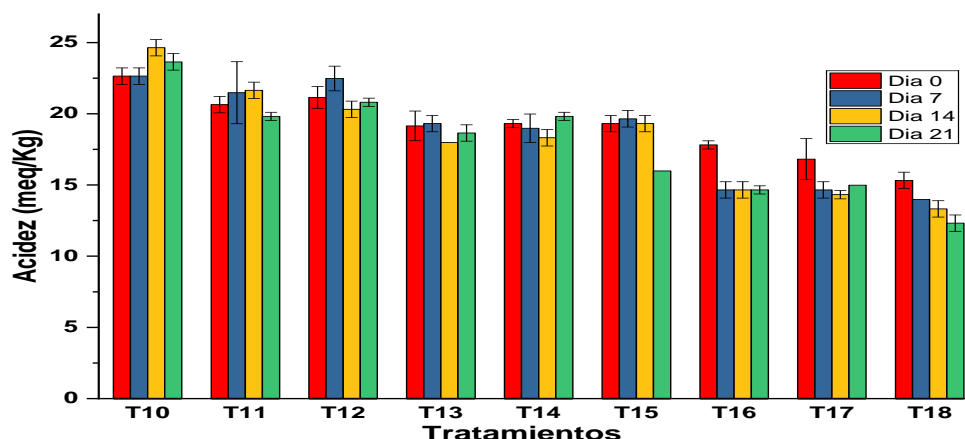
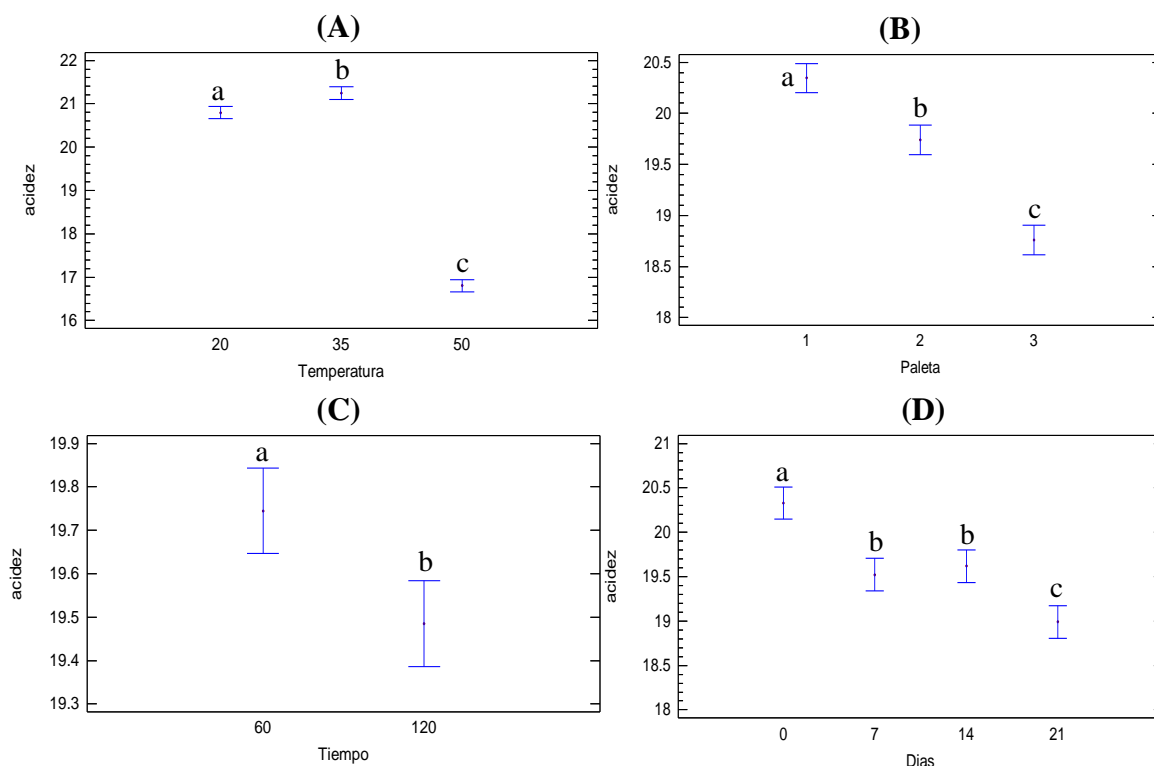


Figura 8 — Comparación de medias de acidez titulable de los tratamientos 10 - 18

Al realizar el ANOVA, las evidencias estadísticas mostraron que la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación, días de almacenamiento y las interacciones, a excepción de la triple interacción que corresponde a los tipos de paletas - tiempo de agitación - días de almacenamiento, presentaron un efecto significativo con un P - valor menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ), por lo que existe un efecto sobre la acidez titulable de los tratamientos (Ver Anexo 1.1).

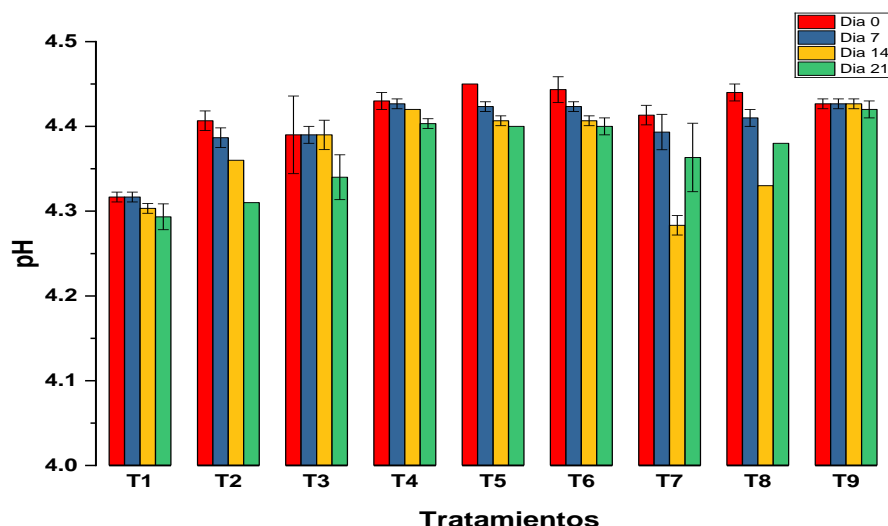
En la Figura 9 y Anexo 3.1, se observa la comparación de medias por diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey, las medias de acidez de los tratamientos con respecto a los niveles de temperatura de trabajo, tipos de paletas y tiempo de agitación son diferentes estadísticamente, mientras que las medias de acidez de los tratamientos en el día 7 y 14 son similares pero diferentes a las medias del día 0 y 21 de almacenamiento. Los promedios de acidez disminuyeron cuando se emulsificaron a mayor temperatura, con paleta 3, a mayor tiempo de agitación y en el día 21 de almacenamiento.



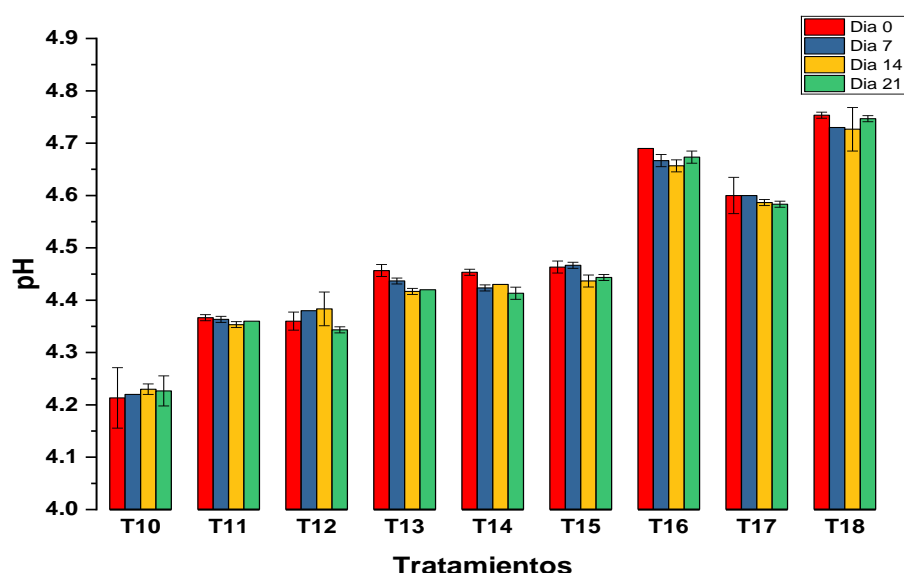
**Figura 9 — Comparación de medias de acidez titulable; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.**

**b) Potencial de hidrogeniones (pH)**

El contenido de pH de los tratamientos osciló de 4.21 a 4.75 que corresponde al tratamiento T10 (miel crema emulsificada a 35 °C con paleta 2 por 120 min) y T18 (miel crema emulsificada a 50 °C con paleta 3 por 120 min); en las Figuras 10 y 11, se muestran el comportamiento de las medias del pH de los tratamientos con respecto a los días de almacenamiento, se observa que la tendencia es decreciente.



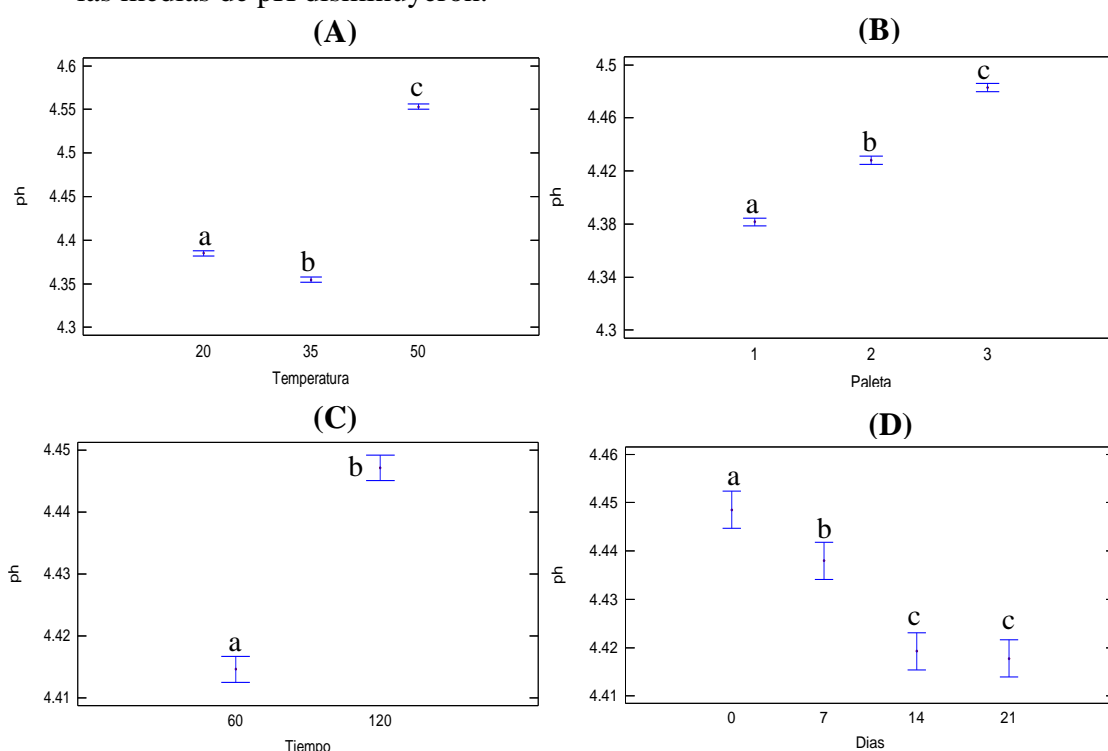
**Figura 10 — Comparación de medias de pH**



**Figura 11 — Comparación de medias de pH**

Los resultados de pH se analizaron mediante el análisis de varianza, donde la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación, días de almacenamiento y las interacciones, a excepción de la doble y cuádruple interacción que corresponden al tiempo de agitación - días de almacenamiento y temperatura de trabajo - tipos de paletas - tiempo de agitación - días de almacenamiento, presentaron un P - valor menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ), por lo que existe un efecto significativo sobre el contenido de pH de los tratamientos (Ver Anexo 1.2).

En la siguiente Figura y Anexo 3.2, se muestran la comparación de medias de pH, donde las medias de los tratamientos con respecto a los niveles de temperatura de trabajo, tipos de paletas y tiempo de agitación son diferentes estadísticamente, mientras que en los días 14 y 21 las medias de pH son similares, pero diferentes estadísticamente a los días 0 y 7 de almacenamiento. Los promedios de pH aumentaron cuando se sometieron a mayor temperatura, con paleta 3 y con mayor tiempo de agitación, en el día 21 de almacenamiento las medias de pH disminuyeron.



**Figura 12 — Comparación de medias de pH; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.**

c) **Contenido de humedad (%)**

El contenido de humedad total de los tratamientos variaron de 12.00 a 19.07 % que corresponden al tratamiento T18 (miel crema emulsificada a 50 °C con paleta 3 por 120 min), T16 (miel crema emulsificada a 50 °C con paleta 2 por 120 min) y T3 (miel crema emulsificada a 20 °C con paleta 2 por 60 min); en las Figuras 13 y 14, se muestran el comportamiento de las medias de humedad de los tratamientos con respecto al tiempo de almacenamiento, donde se observa que la tendencia de las medias de los tratamientos 3, 5, 8, 14 y 15 no permanecen estables en el tiempo de almacenamiento.

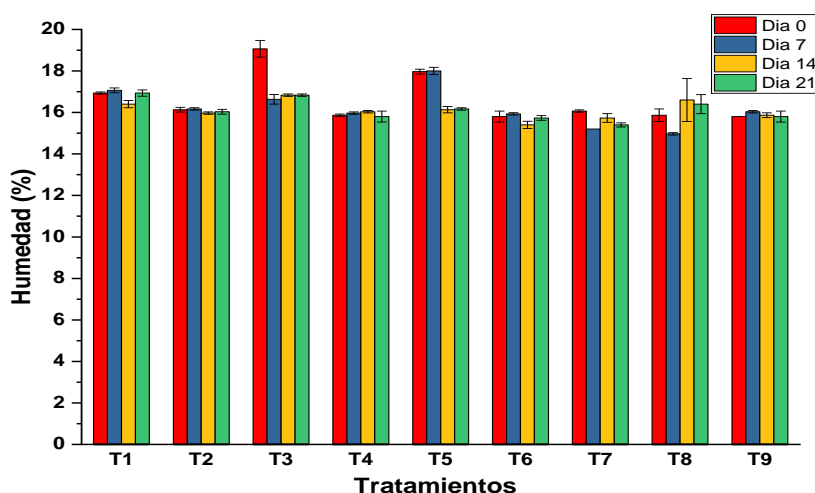


Figura 13 — Comparación de medias de humedad (%)

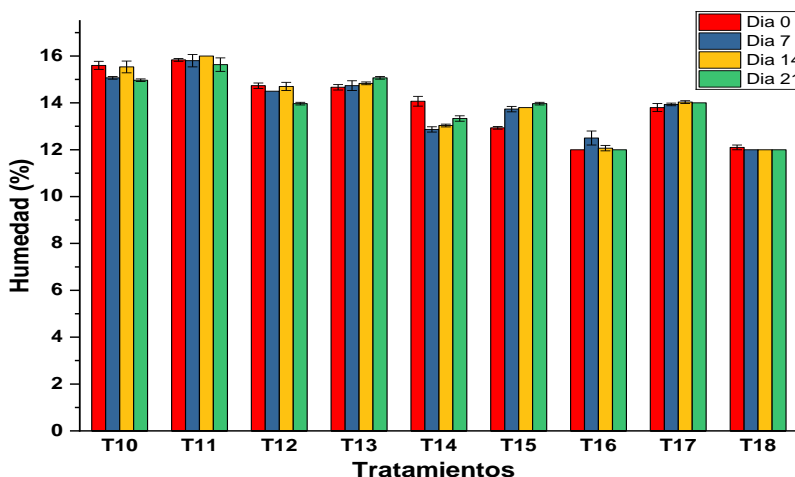
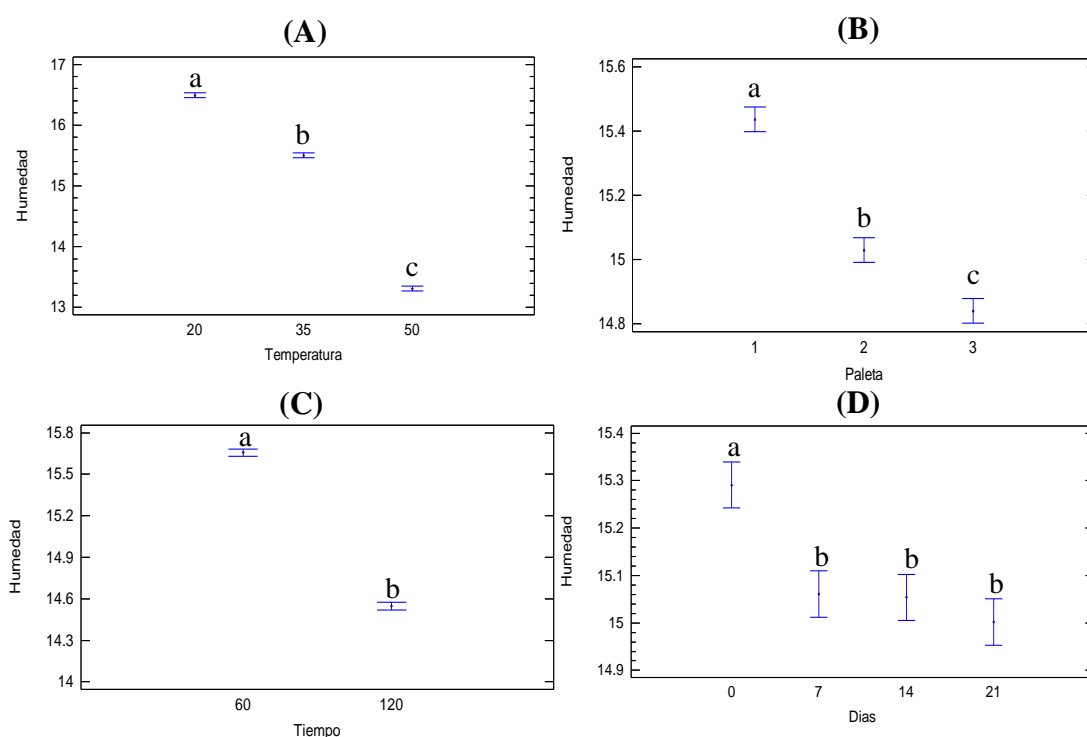


Figura 14 — Comparación de medias de humedad (%)

Según el análisis de varianza para los resultados de humedad, la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación, días de almacenamiento y todas las interacciones presentaron un P - valor menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ), por lo que existe un efecto altamente significativo sobre las medias de humedad de las mieles cremas como se observa en el Anexo 1.3.

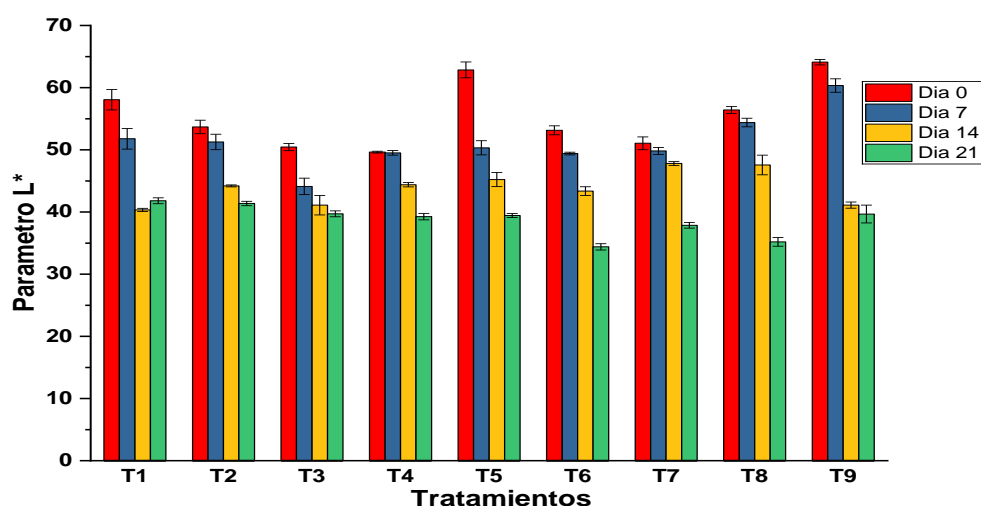
En la siguiente Figura y Anexo 3.3, se muestran la comparación de medias para humedad, donde los promedios con respecto a los niveles de temperatura de trabajo, tipos de paletas y tiempo de agitación son diferentes estadísticamente, mientras que las medias de humedad de los tratamientos en los días 7, 14 y 21 son similares estadísticamente, pero diferentes a las medias del día 0 de almacenamiento. Los promedios de humedad disminuyeron a mayor temperatura de emulsificado, a mayor tiempo de agitación, con paleta 3 y en el día 21 de almacenamiento.



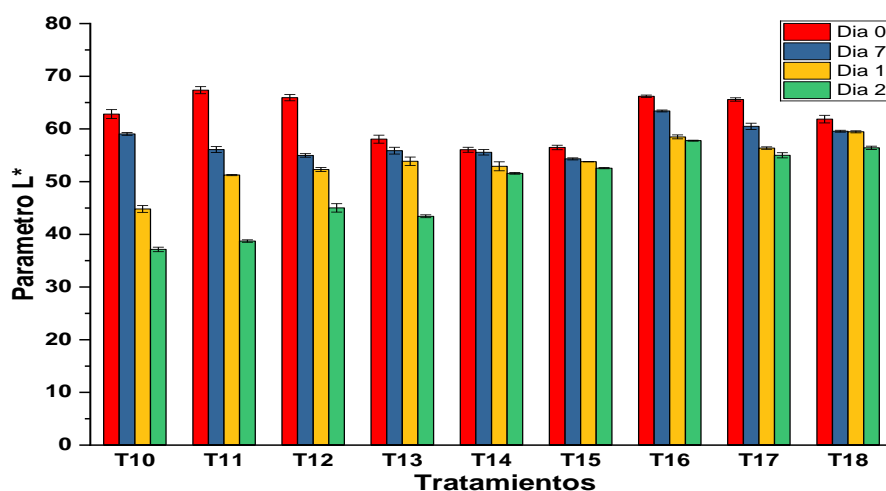
**Figura 15 — Comparación de medias de humedad; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.**

**d) Color (luminosidad L\*)**

Los valores de luminosidad (L\*) variaron de 34.39 a 67.37 que corresponden al tratamiento T6 (miel crema emulsificada a 20 °C con paleta 3 por 120 min) y T11 (miel crema emulsificada a 35 °C con paleta 3 por 60 min); en las Figuras 16 y 17, se muestran el comportamiento de las medias de luminosidad de los tratamientos analizados con respecto al tiempo de almacenamiento, donde se observa que la tendencia de las medias de luminosidad de cada uno de los tratamientos es decreciente. Los tratamientos que se sometieron a una temperatura de 35 y 50 °C presentaron mayor luminosidad, pero la viscosidad de estos aumentaba, provocando una solidificación.



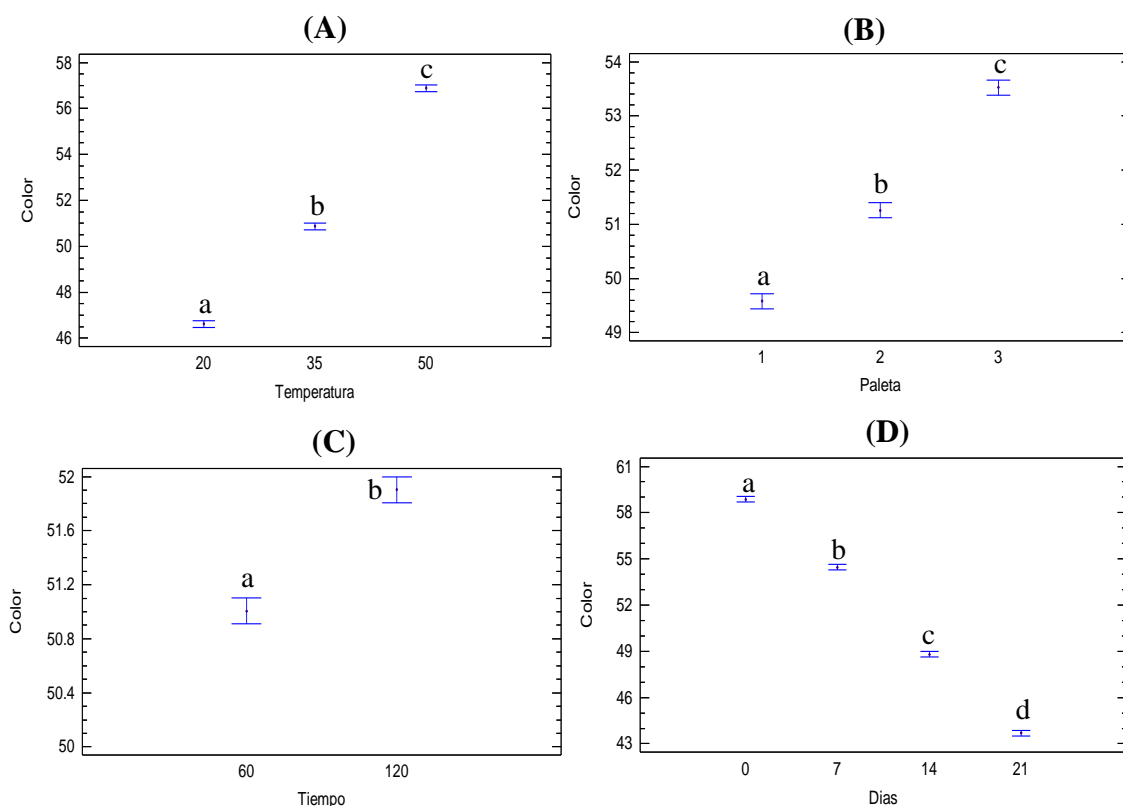
**Figura 16 — Comparación de medias de luminosidad (L\*)**



**Figura 17 — Comparación de medias de luminosidad (L\*)**

De acuerdo al análisis de varianza para las medias de luminosidad ( $L^*$ ), la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación, días de almacenamiento y todas las interacciones presentaron un efecto altamente significativo sobre la luminosidad ( $L^*$ ) de los tratamientos, obteniendo un P-valor menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ) (Ver Anexo 1.4).

En la siguiente Figura y Anexo 3.4, se muestran la comparación de medias de luminosidad ( $L^*$ ), donde los promedios con respecto a los niveles de temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento son diferentes estadísticamente, ya que las medias de luminosidad aumentaron cuando se emulsificaron a mayor temperatura, con paleta 3 y a mayor tiempo de agitación, por otro lado, en el día 21 de almacenamiento las medias de luminosidad disminuyeron significativamente.

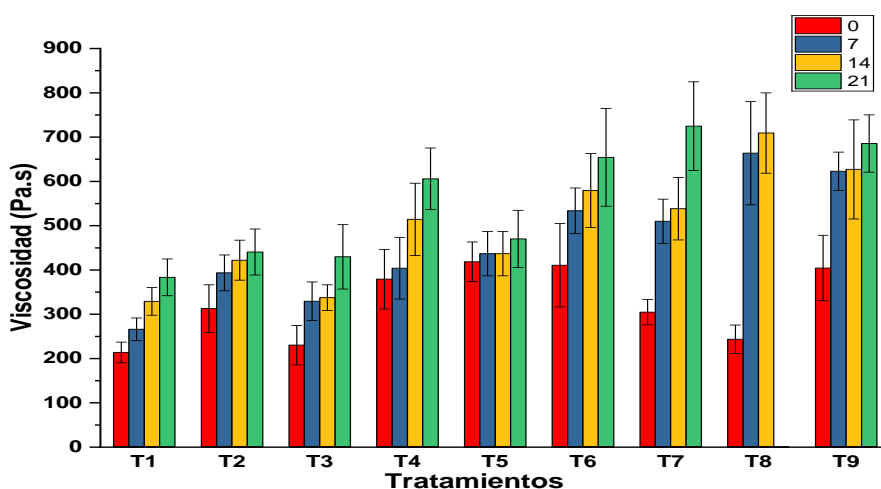


**Figura 18 — Comparación de medias de luminosidad  $L^*$ ; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.**

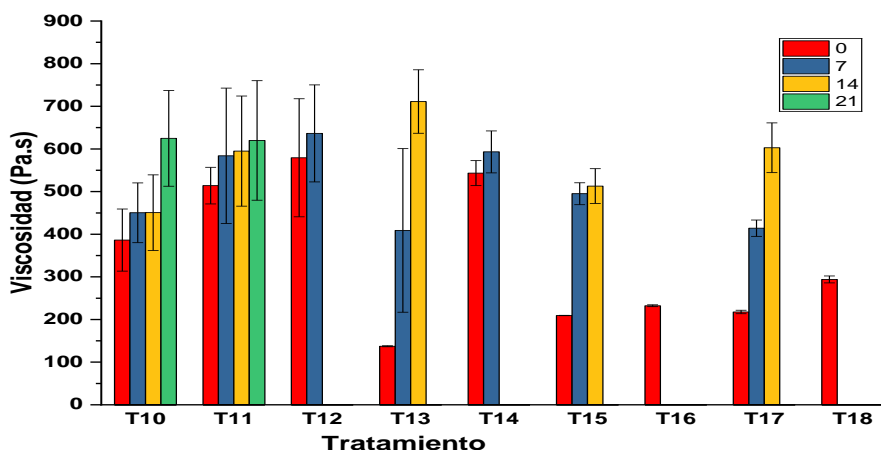
**e) Viscosidad**

La viscosidad de los tratamientos variaron de 137.20 a 724.60 Pa.s, que corresponden al tratamiento T13 (miel crema emulsificada a 50 °C con paleta 1 por 60 min) y T7 (miel crema emulsificada a 35 °C con paleta 1 por 60 min); en las Figuras 19 y 20, se muestran los resultados de las medias de viscosidad de los tratamientos, donde el T8, T12, T13, T14, T15, T16, T17 y T18 presentaron valores fuera del límite de tensión (superior a 800.00 Pa.s), estos tratamientos que se sometieron a una temperatura de 35 y 50 °C se solidificaron en el tiempo, esta solidificación hace que el producto no sea untable.

En las Figuras se observa que la tendencia de las medias de viscosidad de cada uno de estos tratamientos es creciente.



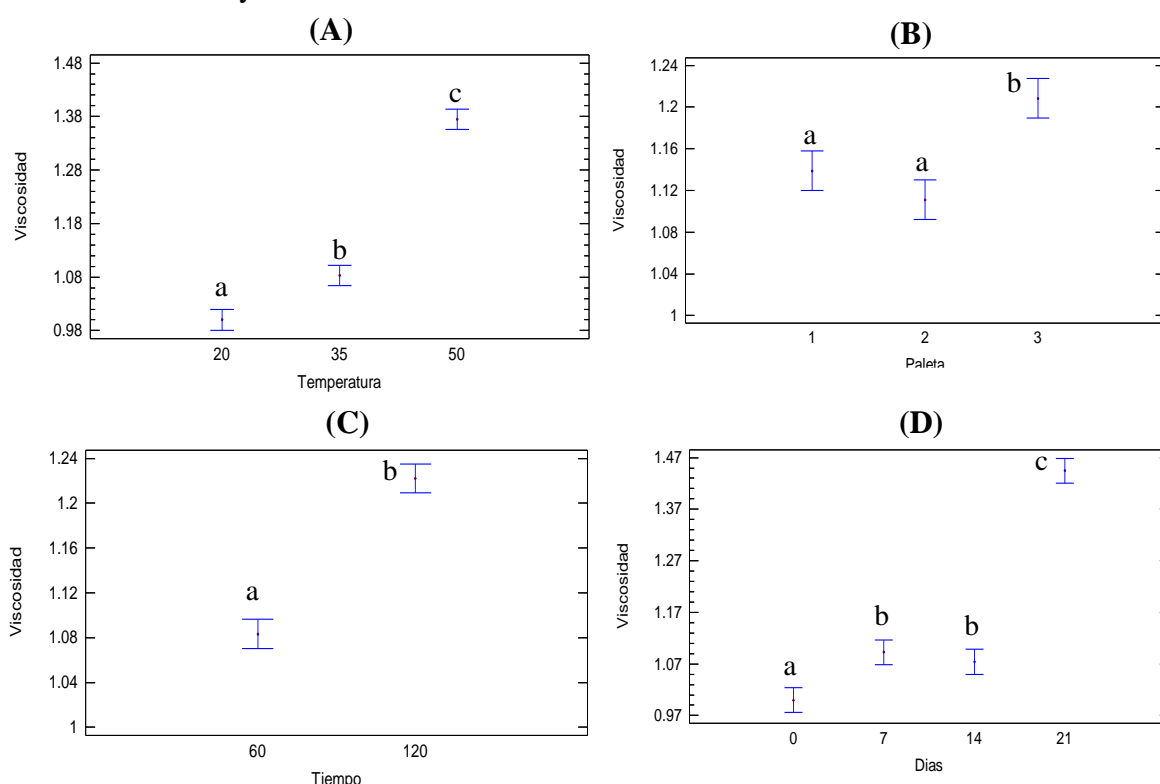
**Figura 19 — Comparación de medias de viscosidad**



**Figura 20 — Comparación de medias de viscosidad**

Los resultados de viscosidad fueron analizados mediante el análisis de varianza, la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación, días de almacenamiento y todas las interacciones tuvieron un efecto altamente significativo sobre las medias de viscosidad de los tratamientos obteniendo un P - valor menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ) (Ver Anexo 1.5).

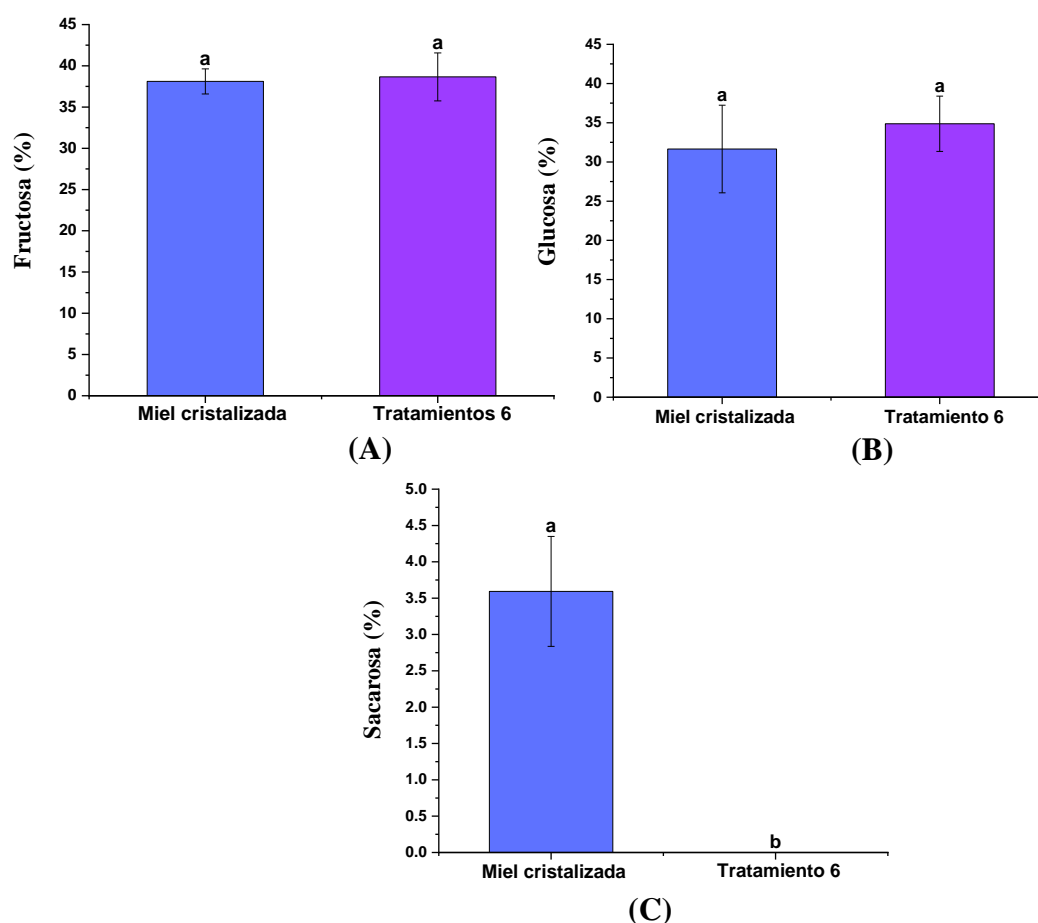
En la siguiente Figura y Anexo 3.5, se muestran la comparación de medias para la viscosidad con respecto a los niveles de las variables, donde los promedios para los niveles de temperatura de trabajo y tiempo de agitación son diferentes estadísticamente, mientras que las medias de viscosidad de los tratamientos cuando se emulsificaron con paleta 1 y 2 son similares, pero diferentes a las medias de los tratamientos que se emulsificaron con paleta 3, por otro lado, las medias de viscosidad son similares en los días 7 y 14 pero diferentes a las medias de los días 0 y 21 de almacenamiento.



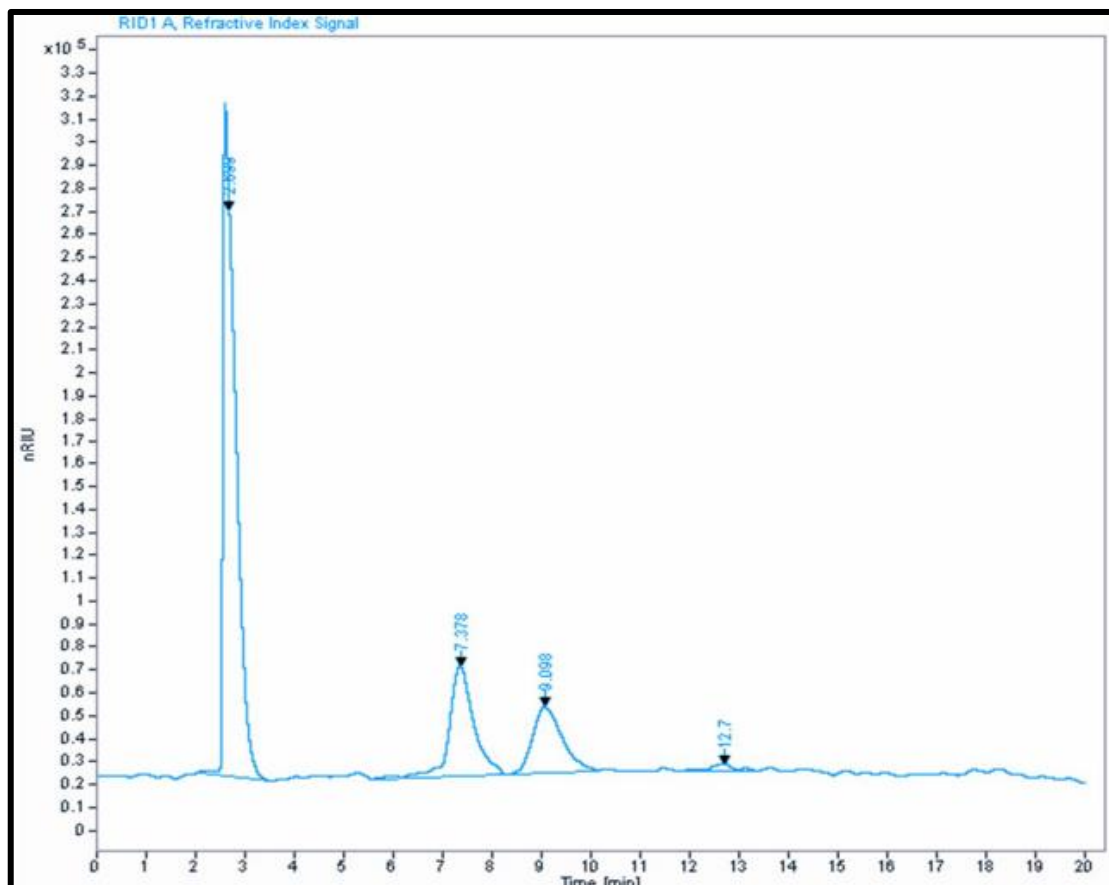
**Figura 21 — Comparación de medias de viscosidad; A) temperatura de agitación, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.**

**f) Azúcares**

En las siguientes Figuras, se muestran las comparaciones de medias de los azúcares de miel cristalizada (materia prima) y tratamiento 6 (el análisis de azúcares solo se realizó para el T6, ya que este tratamiento permaneció estable en cuanto a las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos). Las medias de fructosa y glucosa del tratamiento 6 fueron similares estadísticamente a la miel cristalizada, en cuanto a las medias de sacarosa del tratamiento 6 fueron diferentes estadísticamente a la miel cristalizada, la relación F/G fue 1.11. Los resultados de las medias de azúcares de miel cristalizada se muestran en la Tabla 9, el tratamiento 6 presentó fructosa (38.66 %) y glucosa (34.87 %), no hubo presencia de sacarosa.



**Figura 22 — Comparación de medias de azúcares; A) Fructosa, B) Glucosa y C) Sacarosa de miel cristalizada y tratamiento 6**



**Figura 23 — Cromatograma HPLC representativo de fructosa, glucosa y sacarosa del tratamiento 6**

**g) Análisis del espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)**

Al comparar los espectros de la miel cristalizada y los 18 tratamientos, se observa que no hay generación ni desaparición de los picos en las regiones (Figura 27); sin embargo, hay una variación en cuanto a las absorbancias, esto indica que existe una variación en las concentraciones de los compuestos como las amidas de las proteínas, enlaces carboxílicos presentes en la miel, etc., pero en general las regiones se mantienen constantes de los 18 tratamientos. Estas variaciones se deben principalmente a que a cada tratamiento se sometieron a diferentes temperaturas, tiempo de agitación y distintos tipos de paletas. En la Tabla 11, se muestra el rango de los números de onda del espectro FTIR, donde se evidencia la presencia de alcoholes, fenoles, agua, amidas, hidratos de carbono y otros.

**Tabla 11 — Comparación del rango de los números de onda del espectro FTIR de las mieles analizadas con otras investigaciones**

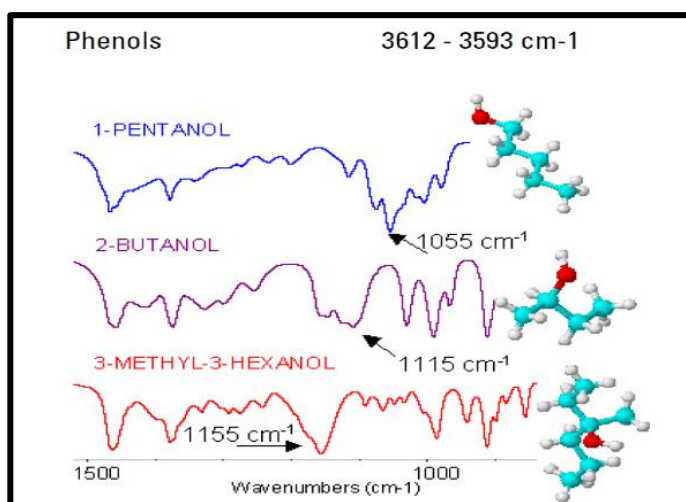
<b>Resultados de miel cristalizada y los 18 tratamientos [Número de onda <math>\text{cm}^{-1}</math>]</b>	<b>Artículo de referencia [Número de onda <math>\text{cm}^{-1}</math>]</b>	<b>Grupo funcional</b>	<b>Compuestos químicos</b>
3612 – 3593	3700 – 3600 (Shurvell, 2006)	Estiramiento OH	Alcoholes y fenoles
3600 – 3200	3700 – 3100 (Guerrero, 2020)	Estiramiento O – H	Agua
3350 – 3180	3200 – 3100 (Shurvell, 2006)	Estiramiento N – H	Amidas alifáticas (amida primaria)
3130 – 3030	3000 – 2580 (Shurvell, 2006)	Estiramiento $\text{NH}_3$	Aminoácidos libres
3100 – 2200	3300 – 2500 (Kędzierska et al., 2023)	Estiramiento -OH	Grupo carboxilo
2900 – 2700	3000 – 2800 (Gallardo-Velázquez et al., 2009; Gok et al., 2015)	Estiramiento C – H	Hidratos de carbono
1725 – 1700	1780 – 1740 (Shurvell, 2006)	Estiramiento C=O	Grupo carboxilo
1680 – 1650	1700 – 1600 (Gok et al. 2015)	Estiramiento C=O	Amidas alifáticas (Amidas primarias y secundarias)
1440 – 1395	1440 – 1400 (Shurvell, 2006)	Estiramiento C – O	Grupo carboxilo
1155 – 1000	1400 – 900 (Shurvell, 2006)	Estiramiento C – O	Alcoholes y fenoles
1045	~1050 (Shurvell, 2006)	Estiramiento -S=O	Sulfóxidos
918	940 – 700 (Gallardo-Velázquez et al., 2009; Gok et al., 2015)	Flexión C – H	Hidratos de carbono

Los resultados de los números de ondas  $\text{cm}^{-1}$ , grupo funcional y compuestos químicos de las muestras analizadas, se obtuvieron de la biblioteca espectral FTIR Thermo Fisher Scientific, (2009).

A continuación, se muestran las estructuras de los compuestos químicos que se encontraron en las muestras analizadas:

- **Alcoholes – fenoles**

Se encuentra en los espectros  $3612 - 3593 \text{ cm}^{-1}$  y  $1155 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ , estos compuestos de alcoholes donde se incluyen a los fenoles, varían en los distintos tratamientos, esto se puede corroborar cuantitativamente con los resultados de análisis de polifenoles que se han efectuado a los tratamientos.



**Figura 24 — Estructura de los fenoles**

- **Amidas alifáticas**

Se encuentran en el espectro de  $1680$  y  $1650 \text{ cm}^{-1}$  hay presencia de amidas primarias y secundarias, por la presencia de nitrógeno de la proteína de la miel, que también con los tratamientos varían.

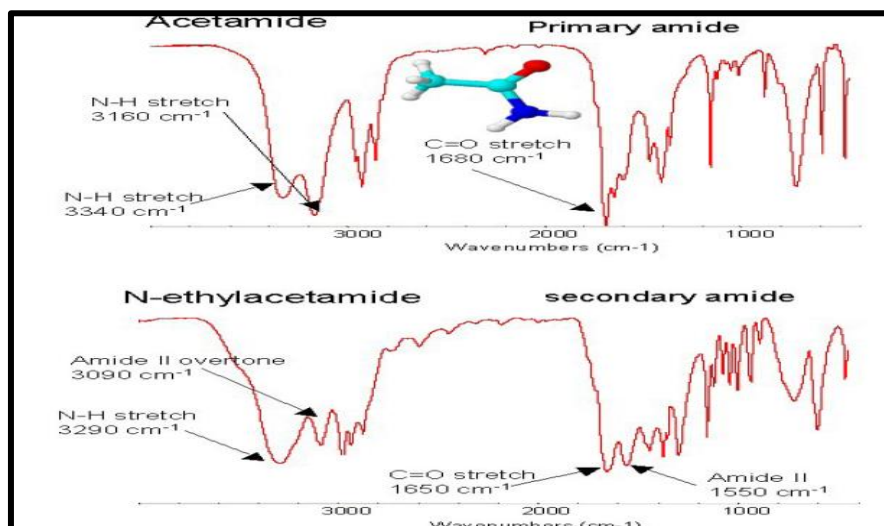


Figura 25 — Amida primaria y secundaria

- **Sulfóxidos aromáticos**

Enlace de tipo  $-S=O$  presente en el pico  $1045\text{ cm}^{-1}$ , en los distintos tratamientos se desplaza para arriba y para abajo, ese enlace perteneciente a puentes sulfuro de las proteínas de la miel están cambiando en cuanto a la concentración, en algunos casos disminuyendo y en otros aumentando, esto se debe a la acción del calor de las temperaturas de los distintos tratamientos.

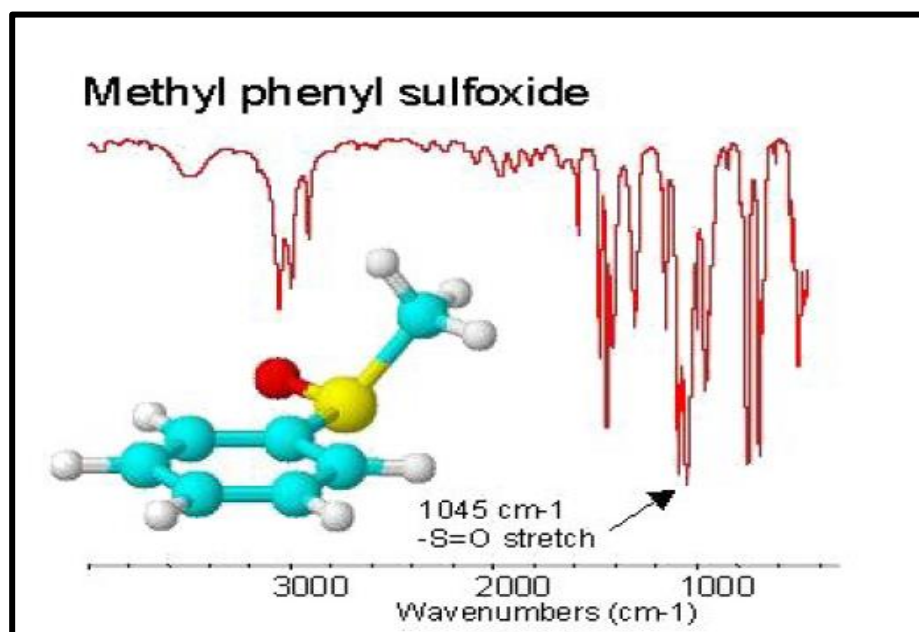


Figura 26 — Estructura de metil fenil sulfóxido

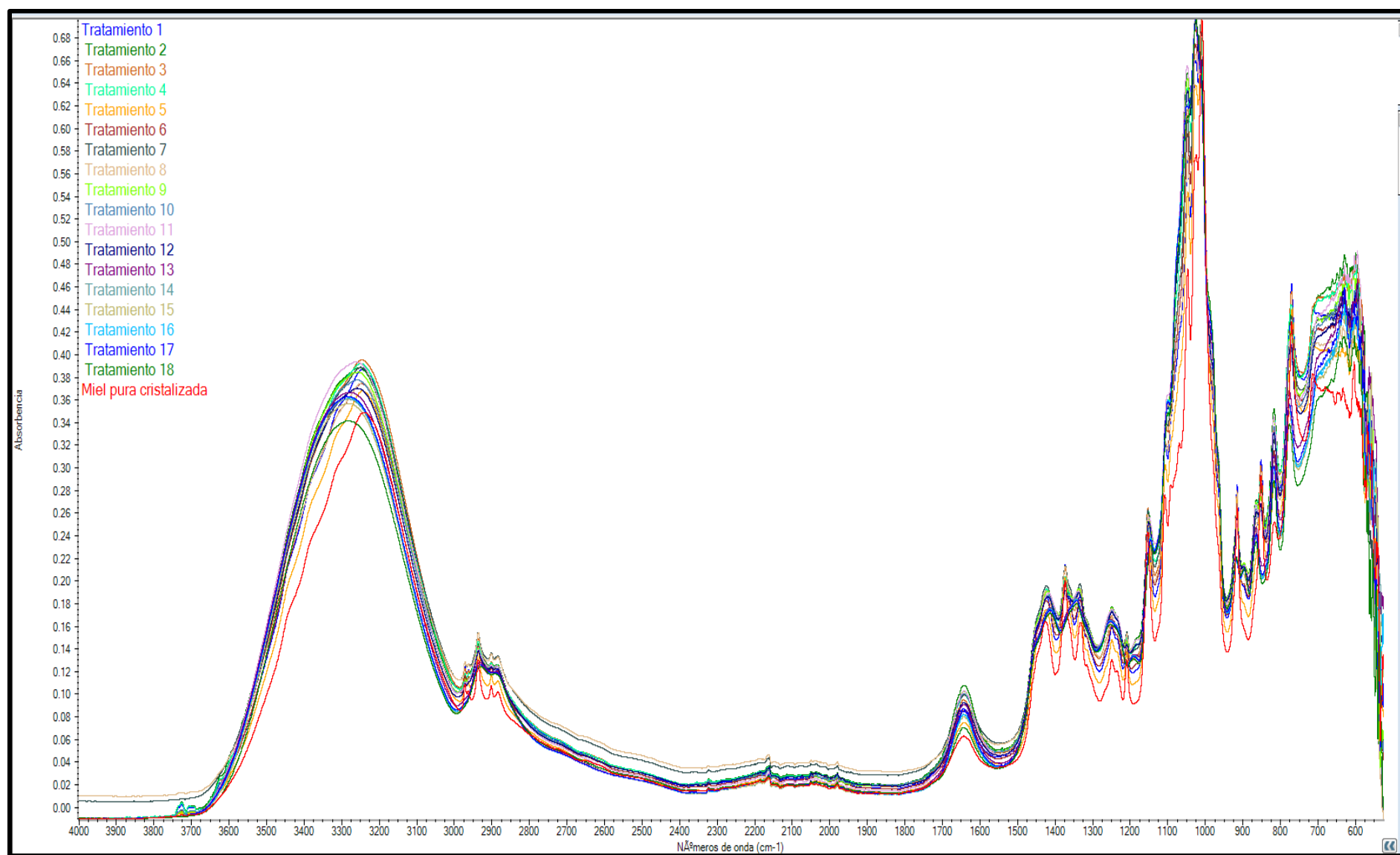


Figura 27 — Espectros FTIR de miel cristalizada y los 18 tratamientos

### 5.1.4 Contenido de polifenoles y actividad antioxidante

#### a) Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales de los tratamientos fueron de 27.07 a 58.40 mg GAE/100 g, correspondientes al tratamiento T11 (miel crema emulsificada a una temperatura de 35 °C con paleta 3 por 60 min) y T12 (miel crema emulsificada a 35 °C con paleta 3 por 120 min); en las Figuras 28 y 29, se muestran el comportamiento de las medias de polifenoles totales de los tratamientos analizados con respecto al tiempo de almacenamiento, donde se observa que la tendencia es inestable en el tiempo de almacenamiento, los promedios del contenido de polifenoles del tratamiento 6 (miel crema emulsificada a 20 °C con paleta 3 por 120 min) permanecieron estables en el tiempo de almacenamiento.

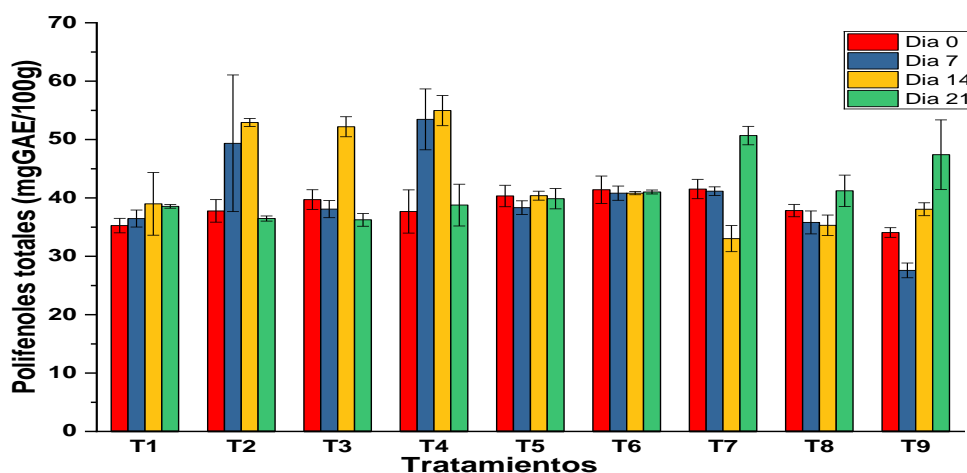


Figura 28 — Contenido de polifenoles totales

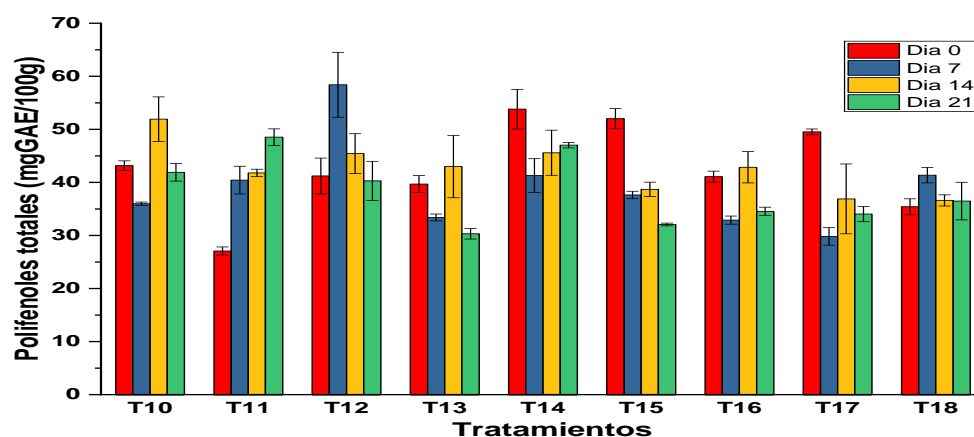
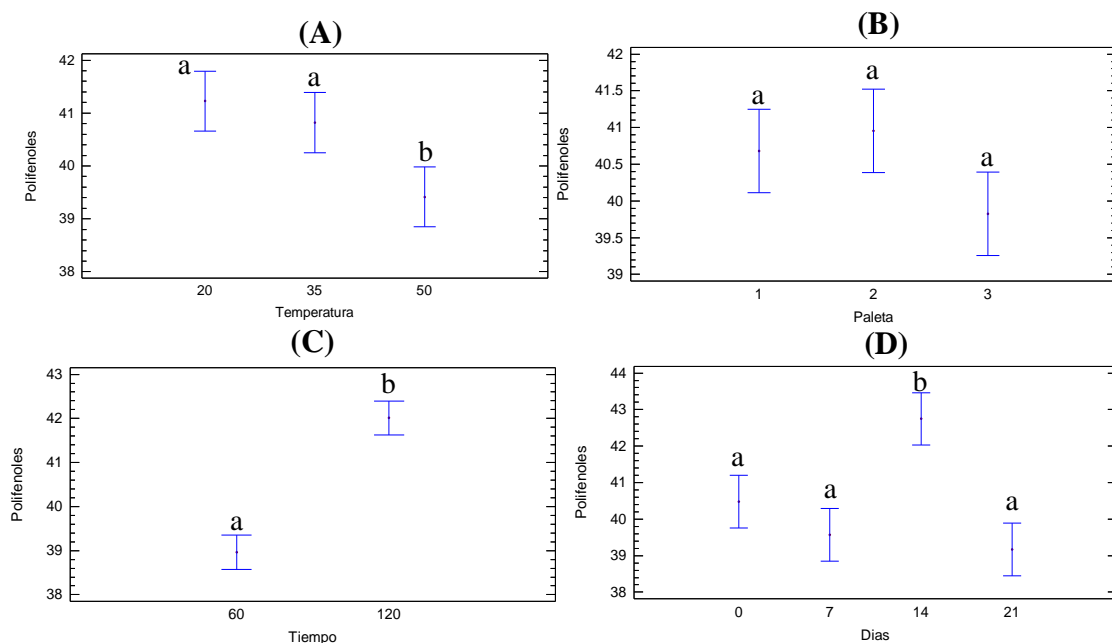


Figura 29 — Contenido de polifenoles totales

Al realizar el ANOVA, las evidencias estadísticas mostraron que el tiempo de agitación, temperatura de trabajo, días de almacenamiento y las interacciones, a excepción de la doble interacción que corresponde a la temperatura – tiempo de agitación, presentaron efectos significativos ( $p < 0.05$ ) sobre el contenido de polifenoles totales de los tratamientos. Por otro lado, los tipos de paletas que se utilizaron no presentaron efectos significativos ( $p > 0.05$ ) sobre el contenido de polifenoles totales (Ver Anexo 2.1).

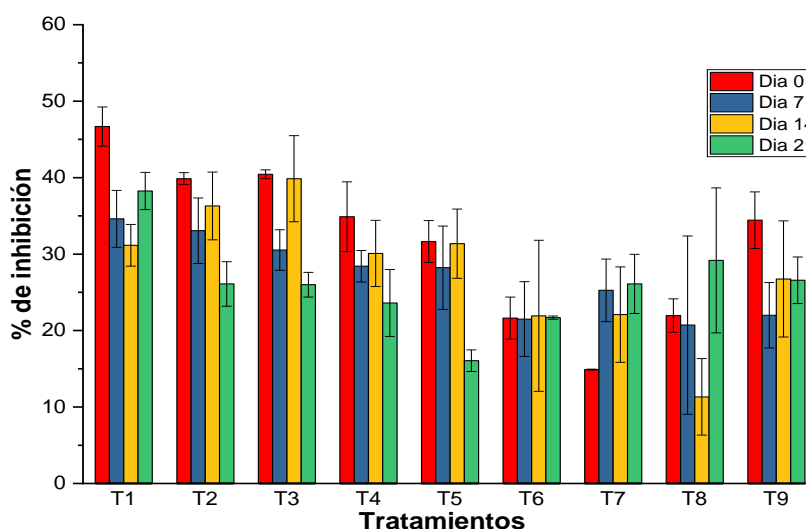
En la siguiente Figura y Anexo 4.1, se muestran la comparación de medias de polifenoles totales con respecto a los niveles de las variables, donde los promedios para los niveles de temperatura de trabajo son similares estadísticamente cuando se sometieron a 20 y 35 °C, pero diferentes a 50 °C; para los tipos de paletas las medias son similares estadísticamente, mientras que las medias con respecto al tiempo de agitación son diferentes estadísticamente, por otro lado, las medias de polifenoles en los días 0, 7 y 21 son similares estadísticamente, pero diferentes a las medias del día 14 de almacenamiento.



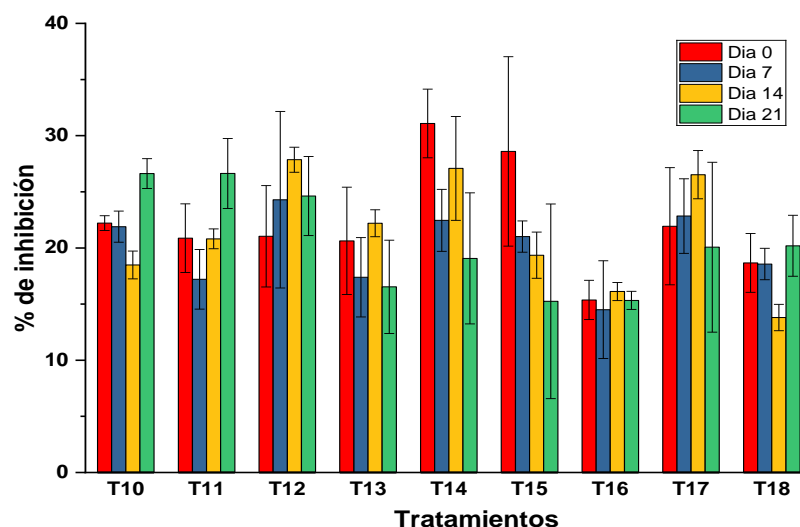
**Figura 30 — Comparación de medias del contenido de polifenoles totales; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.**

**b) Porcentaje de inhibición del radical ABTS**

El porcentaje de inhibición de los tratamientos variaron de 11.33 a 46.68 % que corresponde a los tratamientos T8 (miel crema emulsificada a una temperatura de 35 °C con paleta 1 por 120 min) y T1 (miel crema emulsificada a una temperatura de 20 °C con paleta 1 por 60 min); en las Figuras 31 y 32, se muestran el comportamiento de las medias del porcentaje de inhibición de los tratamientos analizados con respecto al tiempo de almacenamiento, el T6 (miel crema emulsificada a 20 °C con paleta 3 por 120 min) es el mejor tratamiento que permaneció estable en el tiempo.



**Figura 31 — Porcentaje de inhibición**



**Figura 32 — Porcentaje de inhibición**

En las Figuras 33 - 34 y Tabla 12 se observa los resultados de la capacidad antioxidante de los tratamientos, donde los promedios oscilaron de 208.20 a 323.59  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$  que corresponde al tratamiento T11 (miel crema emulsificada a 35 °C con paleta 3 por 60 min) y T6 (miel crema emulsificada a 20 °C con paleta 3 por 120 min); en las siguientes Figuras se muestra el comportamiento de las medias de capacidad antioxidante de los 18 tratamientos, el tratamiento 6 permaneció estable en el tiempo de almacenamiento en cuanto a la capacidad antioxidante.

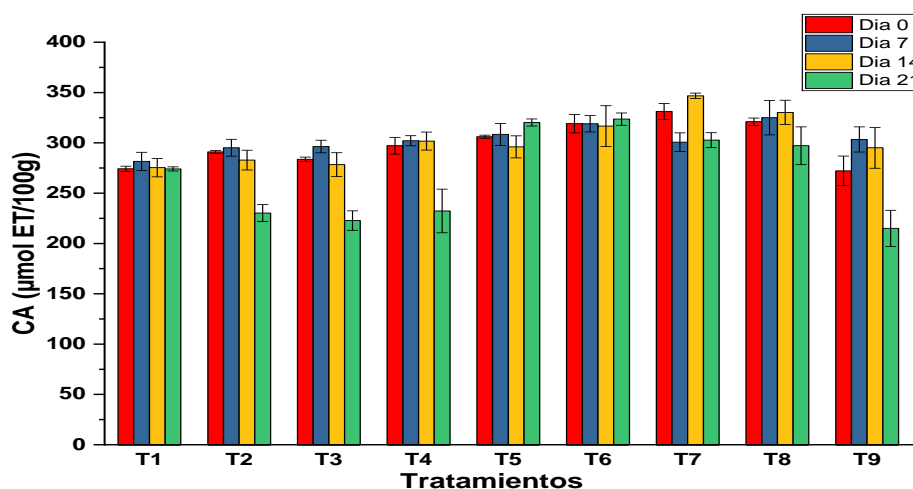


Figura 33 — Capacidad antioxidante

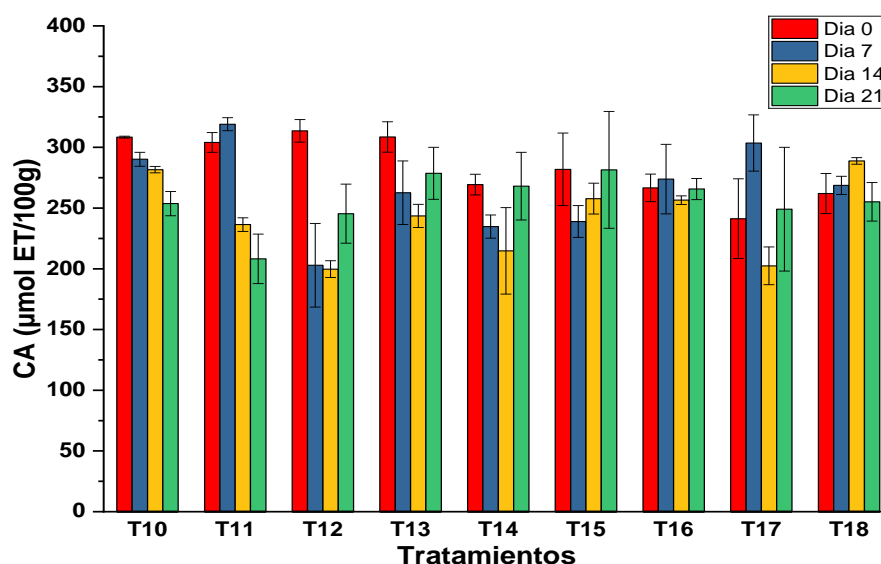


Figura 34 — Capacidad antioxidante

En la siguiente Tabla, se observan los resultados del porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante de los tratamientos analizados en el día 21 de almacenamiento, expresados en media y desviación estándar ( $\bar{X} \pm DS$ ). El T6 presentó mayor capacidad antioxidante, seguido por el T5.

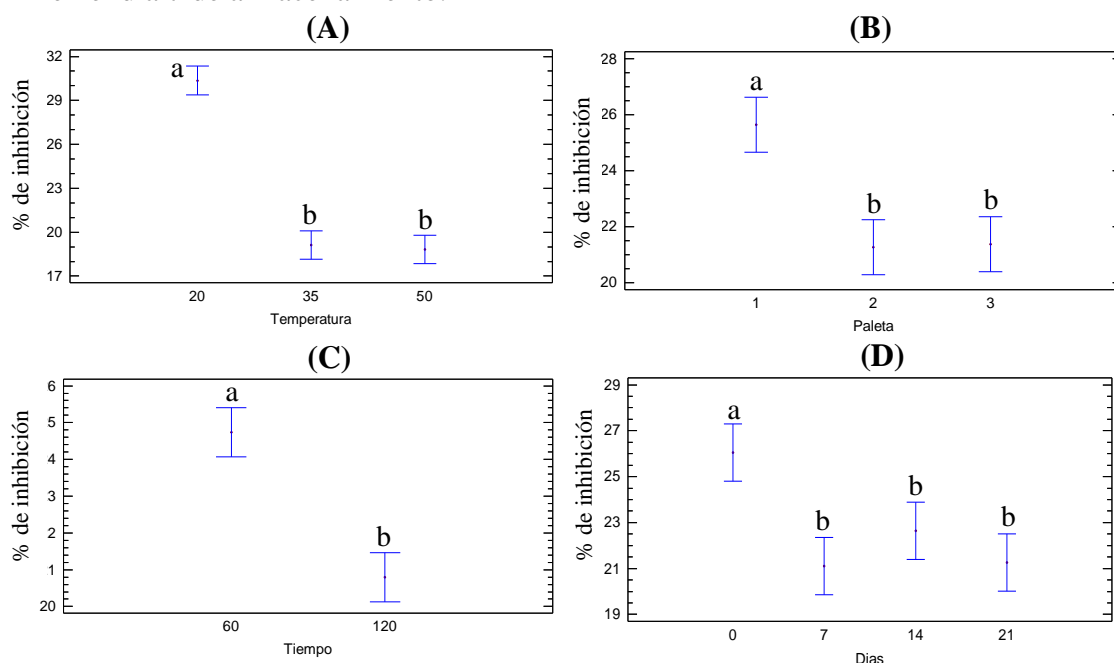
**Tabla 12 — Resultados del porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante de los 18 tratamientos**

<b>Tratamientos</b>	<b>Porcentaje de inhibición (%)</b>	<b>Capacidad antioxidante (<math>\mu\text{mol ET}/100 \text{ g de muestra}</math>)</b>
<b>T1</b>	38.26 $\pm$ 2.44	274.12 $\pm$ 2.04
<b>T2</b>	26.09 $\pm$ 2.92	230.21 $\pm$ 8.37
<b>T3</b>	26.00 $\pm$ 1.61	222.75 $\pm$ 9.70
<b>T4</b>	23.61 $\pm$ 4.37	232.27 $\pm$ 21.69
<b>T5</b>	16.06 $\pm$ 1.41	320.26 $\pm$ 3.54
<b>T6</b>	16.37 $\pm$ 3.14	323.59 $\pm$ 6.12
<b>T7</b>	26.11 $\pm$ 3.87	302.69 $\pm$ 7.46
<b>T8</b>	29.18 $\pm$ 9.48	297.14 $\pm$ 18.74
<b>T9</b>	26.58 $\pm$ 3.05	215.02 $\pm$ 17.94
<b>T10</b>	26.62 $\pm$ 1.47	253.69 $\pm$ 0.00
<b>T11</b>	26.63 $\pm$ 3.11	208.20 $\pm$ 20.44
<b>T12</b>	24.63 $\pm$ 3.52	245.39 $\pm$ 24.26
<b>T13</b>	16.54 $\pm$ 4.16	278.62 $\pm$ 21.43
<b>T14</b>	19.07 $\pm$ 5.84	267.98 $\pm$ 27.87
<b>T15</b>	15.25 $\pm$ 8.67	281.42 $\pm$ 48.14
<b>T16</b>	15.33 $\pm$ 0.41	265.67 $\pm$ 2.64
<b>T17</b>	20.07 $\pm$ 2.92	249.08 $\pm$ 15.11
<b>T18</b>	20.19 $\pm$ 2.71	255.13 $\pm$ 15.87

Los valores de la Tabla, representan los promedios del porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante con tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

Según el análisis de varianza, la temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación, días de almacenamiento y las interacciones, a excepción de la doble y triple interacción que corresponde al tiempo de agitación – días de almacenamiento y tiempo de agitación – temperatura de trabajo – días de almacenamiento, presentaron un P-valor menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ), por lo que existe un efecto significativo sobre el porcentaje de inhibición de los tratamientos (Ver Anexo 2.2).

En la siguiente Figura y Anexo 4.2, se muestran la comparación de medias para el porcentaje de inhibición, se observa que las medias con respecto a los niveles de temperatura son similares estadísticamente cuando se sometieron a 35 y 50 °C, pero diferentes a 20 °C. Por otro lado, cuando se utilizó las paletas 2 y 3 las medias fueron similares estadísticamente, pero diferentes a las medias con paleta 1. Las medias con respecto al tiempo de agitación fueron diferentes estadísticamente. Por último, los promedios en los días 7, 14 y 21 fueron similares estadísticamente, pero diferentes a las medias del día 0 de almacenamiento. Los promedios de los tratamientos disminuyeron cuando se emulsificaron a mayor temperatura, con paleta 2, mayor tiempo de agitación y en el día 7 de almacenamiento.



**Figura 35 — Comparación de medias del porcentaje de inhibición; A) temperatura de trabajo, B) tipos de paletas, C) tiempo de agitación y D) días de almacenamiento.**

## 5.2 Contrastación de hipótesis

**Hipótesis general:** La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento tienen efecto en las características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, luminosidad  $L^*$  y viscosidad) y estabilidad de los compuestos bioactivos (polifenoles totales y actividad antioxidante) de la miel crema.

La hipótesis general para su contrastación se compone de la siguiente manera:

### Características fisicoquímicas

#### Hipótesis específica 1

La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento tienen efecto en la acidez, pH, humedad, color y viscosidad de la miel crema.

**H<sub>0</sub>:** Las temperaturas de trabajo (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas (gancho amasador, plana y combinación del gancho amasador y plana), tiempos de agitación (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21), no afectan significativamente en las características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, luminosidad  $L^*$  y viscosidad).

**H<sub>a</sub>:** Las temperaturas de trabajo (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas (gancho amasador, plana y combinación del gancho amasador y plana), tiempos de agitación (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21), afectan significativamente en las características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, luminosidad  $L^*$  y viscosidad).

Según los resultados obtenidos existen diferencias significativas de las temperaturas de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento, sobre las características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, luminosidad  $L^*$  y viscosidad), porque el grado de significancia fue menor a 0.05 ( $P < 0.05$ ), entonces se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula.

Asimismo, las interacciones influyen significativamente sobre las características fisicoquímicas (acidez, pH, humedad, luminosidad  $L^*$  y viscosidad), porque el grado de significancia fue menor a 0.05 ( $P < 0.05$ ), entonces se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula (Ver Anexo 5).



## Compuestos bioactivos

### Hipótesis específica 1

La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21), tienen efecto en el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de la miel crema.

**Ho:** Las temperaturas de trabajo (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas (gancho amasador, plana y combinación del gancho amasador y plana), tiempos de agitación (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21), no afectan significativamente en los compuestos bioactivos (polifenoles totales y capacidad antioxidante) de la miel crema.

**Ha:** Las temperaturas de trabajo (20, 35 y 50 °C), tipos de paletas (gancho amasador, plana y combinación del gancho amasador y plana), tiempos de agitación (60 y 120 minutos) y días de almacenamiento (0, 7, 14 y 21), afectan significativamente en los compuestos bioactivos (polifenoles totales y capacidad antioxidante) de la miel crema.

De acuerdo a los resultados obtenidos existen diferencias significativas de las temperaturas de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento, sobre los compuestos bioactivos (polifenoles totales y capacidad antioxidante), porque el grado de significancia fue menor a 0.05 ( $P < 0.05$ ), entonces se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula.

Asimismo, las interacciones presentaron efectos significativos sobre los compuestos bioactivos (polifenoles totales y capacidad antioxidante), porque el grado de significancia fue menor a 0.05 ( $P < 0.05$ ), entonces se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula (Ver Anexo 5).



## 5.3 Discusión

### 5.3.1 Características fisicoquímicas

#### a) Acidez

Los resultados del contenido de acidez titulable de los 18 tratamientos oscilaron de 12.32 a 24.64 meq/Kg y de la materia prima fue de 17.98 meq/Kg, estos valores no superaron el límite máximo de 40.00 y 50.00 meq/Kg de miel, lo que significa que cumplieron con las normas establecidas por la NTP 209.168 (1999) y por el Codex Alimentarius (2001).

Los hallazgos también son similares a los de Coronado et al., (2022), quienes investigaron mieles del ecosistema Alto Mayo y Huallaga Central, encontrando una acidez que varía de 13.25 a 19.72 meq/Kg de miel, por otro lado, Finola et al., (2007), también obtuvieron resultados similares, estos valores de acidez oscilaron de 11.90 a 29.40 meq/Kg en 23 muestras de mieles procedentes de Argentina.

Según el análisis estadístico, todos los factores en estudio y las interacciones, a excepción de la triple interacción tipos de paletas – tiempo de agitación – días de almacenamiento, tuvieron efectos significativos sobre las medias de acidez titulable de los tratamientos en estudio. Los promedios de acidez disminuyeron cuando se emulsificaron a mayor temperatura, con paleta tres y a mayor tiempo de agitación. Karabagias et al., (2018), investigaron el efecto de la temperatura sobre la acidez de las mieles de tomillo, donde obtuvieron valores de 21.39 (control), 20.00 (40 °C), 19.30 (45 °C) y 20.26 meq/kg (80 °C) estos resultados de acidez fueron similares a lo encontrado en la investigación que fue 20.80 (20 °C), 21.25 (35 °C), 16.80 meq/kg (50 °C) en función a la temperatura de trabajo, además Ribeiro et al., (2018), realizaron una evaluación sobre el impacto de la pasteurización a 65 °C y almacenamiento a 20 y 30 °C por 180 días sobre la acidez de la miel, el valor de la muestra control fue 23.87 meq/Kg, cuando se pasteurizó a 65 °C disminuyó a 21.36 meq/Kg y las muestras que se almacenaron a 20 y 30 °C los valores de acidez fueron 23.12 y 26.10 meq/Kg.

Kowalski (2013), también investigó el efecto del tratamiento térmico sobre la acidez de las mieles de diferentes orígenes botánicas, los valores de acidez



disminuyeron significativamente. En la investigación la acidez de los tratamientos disminuyó en función a la temperatura, según Karabagias et al., (2018), mencionan que tanto el origen floral junto con el tiempo del procesamiento térmico influye en la acidez.

Teóricamente, según Sulaiman y Sarbon (2022), indican que la acidez de la miel cambia durante el tratamiento térmico debido a las reacciones químicas entre azúcares y ácidos orgánicos, esta reacción química del azúcar y los ácidos orgánicos reducirán el nivel de acidez de la miel, así los valores de pH de la miel aumentarán. Chen et al., (2021), mencionan que la reducción de acidez se debe al tratamiento térmico que provoca la reducción de ácidos orgánicos por evaporación o descomposición. Además, Danto (2022), menciona que la alta acidez de la miel es una indicación de la fermentación de los azúcares presentes en la miel en ácido orgánico.

#### **a) pH**

Los valores de pH de los 18 tratamientos fluctuaron de 4.21 a 4.75, que fueron superiores al valor obtenido de la materia prima 4.19. Estos resultados fueron similares a lo encontrado por Karasu et al., (2015), quienes reportaron un valor de 4.08 de pH en miel crema. Así mismo, Frigerio (2010), obtuvo valores que oscilaron de 4.10 a 4.11 en miel crema, por otro lado, Boussaid et al., (2018), hallaron valores que oscilaron de 3.11 a 3.67 en seis muestras de mieles frescas de diferentes orígenes botánicos, estos valores fueron menores a lo encontrado en la investigación.

Según el análisis estadístico que se realizó, todos los factores en estudio y las interacciones, a excepción de la doble y cuádruple interacción que corresponden al tiempo de agitación - días de almacenamiento y temperatura de trabajo - tipos de paletas - tiempo de agitación - días de almacenamiento, presentaron un efecto significativo sobre las medias de pH de los tratamientos. Este valor aumentó a mayor temperatura (50 °C), tiempo de agitación (120 minutos) y emulsificado con paleta tres.



Ribeiro et al., (2018), quienes sometieron a la miel a una temperatura de 65 °C, este valor aumentó de 3.73 (muestra control) a 3.85. Por otro lado, Raweh et al., (2022), evaluaron el efecto de las condiciones de almacenamiento a temperaturas de 0, 25, 35 y 45 °C en mieles frescas, donde observaron que la temperatura es un factor que influye en el valor del pH, este valor disminuyó durante el periodo de almacenamiento a temperaturas de 25, 35 y 45 °C, estos resultados contrastan a lo encontrado en la investigación, donde las medias de pH de los tratamientos disminuyeron a medida que pasaba el tiempo de almacenamiento, Sulaiman y Sarbon (2022), evaluaron la miel a diferentes temperaturas de 50, 75 y 90 °C, los valores de pH aumentaron de 4.14 a 4.28, estos resultados también corroboran a lo encontrado, ya que el valor de pH se incrementó en función a la temperatura.

De acuerdo con Moniruzzaman et al., (2013), mencionan que la miel se vuelve más ácida como resultado del proceso de fermentación alcohólica y esto reduce aún más el pH, este valor debe estar en un rango de 3.49 a 4.70, valores menores indican fermentación por levaduras osmofílicas.

#### **b) Humedad**

Los resultados obtenidos de humedad de los 18 tratamientos variaron de 12.00 a 19.07 %, mientras que el valor de la miel cristalizada fue 17.07 %, estos datos no superan el límite máximo de 21.00 y 20.00 % establecidos por la NTP 209.168 (1999) y por el Codex Alimentarius (2001).

Boussaid et al., (2018), analizaron seis muestras de mieles frescas de diferentes orígenes botánicos, el contenido de humedad varió de 17.27 a 19.80 %, estos resultados fueron similares a lo obtenido en la investigación, por otro lado, Frigerio (2010), evaluó la humedad en miel crema en el tiempo cero y después de 10 meses de almacenamiento, estos valores variaron de 15.29 a 15.91 %. Ramly et al., (2021), indican que las mieles que se encuentran en un rango de 18.00 a 20.00 % se consideran maduras y estables, la reducción del contenido de humedad por debajo del 17.00 % se considera un nivel seguro para retardar



la actividad de las levaduras osmofílicas, por ende, se evita el proceso de fermentación. Según Fechner et al., (2016), mencionan que la humedad está influenciada por el almacenamiento, procesamiento y las condiciones de extracción como consecuencia afecta al color, viscosidad, densidad y sabor de la miel.

Según el análisis estadístico, todos los factores y sus interacciones tuvieron un efecto altamente significativo sobre las medias de humedad de los tratamientos. Los promedios de humedad disminuyeron al someter a mayor temperatura, con mayor tiempo de agitación y con paleta tres; Zarei et al., (2019), realizaron una investigación sobre el efecto del tratamiento térmico a 63 °C durante 10, 20 y 30 minutos sobre el contenido de humedad de las mieles de loto, tomillo y multiflorales, el contenido inicial de humedad estuvieron en un rango de 16.40 % a 17.50 %, cuando se sometió al tratamiento térmico por 30 minutos, presentó una disminución del 0.40 al 0.56 % en el contenido de humedad de todos los tipos de miel.

### c) Color (luminosidad L\*)

Los resultados obtenidos de luminosidad (L\*) de los 18 tratamientos oscilaron de 34.39 a 67.37 y de la miel cristalizada fue 47.66 este valor de la materia prima estuvo en el rango a lo encontrado por Boussaid et al., (2018), quienes analizaron seis muestras de miel fresca de distintos orígenes botánicos, la luminosidad (L\*) fue de 36.64 a 51.37, esta variación se debe a que las mieles cristalizadas son más claras que las mieles líquidas debido al tamaño y a la forma de los cristales formados y al reflejo de la luz (Sereti et al., 2021), por otro lado, Frigerio (2010), elaboró miel crema a partir de miel cristalizada los valores de luminosidad para la materia prima fue de 15.83 y para la miel crema evaluada en dos tiempos de almacenamiento (0 y 10 meses) fueron 65.20 y 57.00 respectivamente. Terrab et al., (2004), mencionan que las características que influyen en el color son el néctar, reacción de Maillard (formación de pigmentos pardo), exposición a las altas temperaturas y almacenamiento.



Según el análisis estadístico, todos los factores en estudio y sus interacciones tuvieron un efecto altamente significativo sobre las medias de la luminosidad ( $L^*$ ) de los tratamientos; las medias de luminosidad aumentaron cuando se emulsificaron a mayor temperatura, con paleta 3 y a mayor tiempo de agitación, por otro lado, los valores de luminosidad de los tratamientos disminuyeron durante los días de almacenamiento, esto se puede deber a la acción de la enzima polifenol oxidasa, ya que la miel contiene esta enzima en pequeñas cantidades y causa el pardeamiento (Čaušević et al. 2017).

Visquert et al., (2014), detectaron que la luminosidad de las mieles disminuyen durante el tiempo de almacenamiento al igual que Jiménez et al., (2016), investigaron el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, los resultados mostraron que la luminosidad ( $L^*$ ) de las mieles analizadas disminuían a medida que la temperatura de almacenamiento aumentaba, obtuvieron valores de  $L^*$  15.90 a 8.45 en las temperaturas de almacenamiento de 25 a 45 °C respectivamente.

Como se mencionó anteriormente los valores de luminosidad aumentaron a mayor temperatura, tiempo de agitación y con paleta tres, esto se debe que en el proceso se incorpora oxígeno a la estructura de la miel cristalizada haciéndose la luminosidad más clara, Hasenhuettl (2019), indica que la luminosidad está relacionada fuertemente con el tamaño de las burbujas de aire y la concentración de éstas, este valor de luminosidad aumenta a medida que aumenta el tamaño de la burbuja.

#### **d) Viscosidad**

Los resultados de viscosidad de las mieles cremas fluctuaron de 137.20 a 724.60 Pa.s que corresponde a los tratamientos 13 y 7, el valor de la materia prima fue de 567.00 Pa.s, los tratamientos 8, 12 al 18 en el día 21 de almacenamiento estuvieron fuera del límite de tensión por encima de los 800.00 Pa.s que se comportaron como fluido no newtoniano. Estos datos estuvieron por encima a lo encontrado por Al-Habsi et al., (2013), quienes obtuvieron valores de 128.90 y 131.70 Pa.s en mieles cristalizadas australianas y chinas.



Según el análisis estadístico todos los factores y sus interacciones tuvieron efectos altamente significativos sobre las medias de viscosidad de los tratamientos; los promedios aumentaron al someter a mayor temperatura, con mayor tiempo de agitación y con paleta tres.

Primandasari et al., (2021), encontraron valores de viscosidad que osciló de 74.73 a 95.30 Pa.s con humedad de 23.00 a 20.00 %, por ello se deduce que cuando se someten a tratamientos térmicos a la miel para disminuir la humedad, la viscosidad subirá por la reducción del agua mediante evaporación; en la investigación la viscosidad se incrementó a mayor temperatura, esto se debe a la disminución de la humedad. Según Yanniotis et al., (2006), indican que la miel es fluido newtoniano, sin embargo, existen algunas mieles que son del tipo no newtoniano, esto por la presencia de azúcares de alto peso molecular, los azúcares están presentes en núcleos que cristalizan. Simovic et al. (1999), mencionan que el tiempo de agitación para la emulsificación produce una emulsión con mayor viscosidad, por lo que mejora la estabilidad de las cremas; en la presente investigación, la viscosidad de los tratamientos aumentó con el mayor tiempo de agitación.

En los resultados obtenidos se observó que a medida que pasaba el tiempo de almacenamiento, las viscosidades de las mieles cremas aumentaban. Según Ribeiro et al., (2018), mencionan que cuando las mieles se calientan a 70 °C y se licuan, la recristalización no es uniforme, por lo que tiende a aumentar la viscosidad.

#### e) Contenido de azúcares

El tratamiento 6 presentó mayor valor de fructosa y glucosa (38.66 y 34.87 %) que la miel cristalizada (38.11 y 31.65 %), el contenido de sacarosa solo lo presentó la miel cristalizada (2.72 %), los azúcares analizados estuvieron dentro de los estándares establecidos por la NTP 209.168 (1999), que mencionan que la fructosa y glucosa deben presentar mínimo 65.00 % y el contenido de sacarosa debe tener máximo 5.00 %, los valores de fructosa del tratamiento 6 fueron mayores a lo encontrado por Karasu et al., (2015), quienes analizaron los



azúcares de la miel crema que obtuvieron de un mercado local en Turquía, el valor de la fructosa fue 35.40 %, glucosa 36.45 % y sacarosa 1.39 %, por otro lado, Karahan et al., (2023), formularon miel crema mediante cristalización controlada, realizaron un análisis del perfil de azúcar mediante HPLC, donde la fructosa fue mayor (40.00 %), seguido por la glucosa (33.66 %) y sacarosa (0.03 %), estos datos fueron similares al perfil de azúcar de la materia prima que utilizaron, por lo que indican que el proceso de producción de miel crema no afectó significativamente al perfil de azúcar de la miel cruda que se utilizó, estos datos fueron similares a lo encontrado, a diferencia de la sacarosa que no se encontró en la investigación. Bayram et al., (2020), encontraron valores de mieles de diferentes regiones de Turquía, los datos de fructosa fueron superiores que osciló de 40.10 a 42.67 %, glucosa fue 32.92 a 36.78 %, este valor fue similar a lo encontrado en la investigación, por último, la sacarosa fue de 1.19 a 3.46%. Por otro lado, Rybak (2007), analizó mieles durante 24 semanas de almacenamiento a 20 °C, la concentración de sacarosa disminuyó un 79.00 %, el contenido de fructosa aumentó un 7.00 % y glucosa un 8.80 %, los resultados del tratamiento 6 mostraron un aumento en el contenido de fructosa y glucosa mientras que la sacarosa disminuyó, Da Silva et al., (2016), mencionan que el contenido de azúcares de la miel puede cambiar durante el almacenamiento, la disminución de los disacáridos (sacarosa) resulta de la acción de la enzima invertasa, lo que lleva a la formación de fructosa y la glucosa (Raweh et al., 2022). Una proporción de fructosa a glucosa F/G inferior a 1.000 conduce a una cristalización de la miel más rápida, mientras que la cristalización se vuelve lenta cuando esta proporción es superior a 1.00 (El Sohaimy et al., 2015), en el presente estudio la proporción F/G fue de 1.11 para el tratamiento 6 y 1.20 para la miel cristalizada, lo que indica menores posibilidades de cristalización del tratamiento 6.



**f) Espectro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)**

En la Figura 27, se logra apreciar los espectros FTIR tanto de la miel cristalizada como de los 18 tratamientos, desde el número de onda 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ; en la región 3612 a 3593  $\text{cm}^{-1}$  y 1155 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  se encontraron la presencia de los alcoholes y fenoles referidos al estiramiento OH y C – O, de acuerdo con Shurvell (2006), también encontró la presencia de alcoholes y fenoles en las regiones 3700 a 3600 y 1400 a 900  $\text{cm}^{-1}$ , de igual manera, Anguebes et al., (2016), analizaron los espectros FTIR de muestras de miel desde el número de onda 3700 a 700  $\text{cm}^{-1}$ , donde indican que en la región 1400 a 900  $\text{cm}^{-1}$  están relacionados con vibraciones de estiramiento y flexión de los grupos funcionales C-C, C-O, O-CH y C-OH que constituyen el esqueleto químico de los azúcares, polifenoles y ácidos orgánicos.

En la región espectral de 3600 a 3200  $\text{cm}^{-1}$  se evidenció el estiramiento O – H que corresponde al agua presente en la miel, esto corrobora con Guerrero (2020), que también confirmó la presencia del agua en la región 3700 a 3100  $\text{cm}^{-1}$ .

En la región 3350 a 3180  $\text{cm}^{-1}$  y 1680 a 1650  $\text{cm}^{-1}$  se encontraron las amidas alifáticas (amida primaria y secundaria) de las proteínas que corresponden al estiramiento N – H y C=O, de manera similar, Shurvell (2006) y Gok et al., (2015), también evidenciaron la presencia de las amidas alifáticas en las regiones 3200 a 3100  $\text{cm}^{-1}$  y 1700 a 1600  $\text{cm}^{-1}$ , según Philip (2010), menciona que estas bandas surgen debido al estiramiento del carboxilo y a las vibraciones de deformación N-H de las amidas de las proteínas.

En las regiones 3100 a 2200  $\text{cm}^{-1}$ , 1725 a 1700  $\text{cm}^{-1}$  y 1440 a 1395  $\text{cm}^{-1}$  se evidencia los ácidos carboxílicos que corresponden al estiramiento -OH, C=O y C – O, de manera similar, Kędzińska et al., (2023), encontraron los ácidos carboxílicos en la región 3300 a 2500  $\text{cm}^{-1}$  que corresponden al estiramiento -OH, por otro lado, Shurvell (2006), menciona que en la región 1780 a 1740  $\text{cm}^{-1}$  y 1440 a 1400 se encuentra el estiramiento C=O y C – O del grupo carboxílico que corresponden a los ácidos orgánicos de la miel.

En la banda 3130 a 3030  $\text{cm}^{-1}$  se evidencia el estiramiento NH<sub>3</sub> de los aminoácidos libres, de manera similar, Anjos et al., (2015), reportaron que en



el pico  $2932\text{ cm}^{-1}$  se encuentran los aminoácidos libres de las mieles con el estiramiento  $\text{NH}_3$ .

En las regiones  $2900$  a  $2700\text{ cm}^{-1}$  y  $918\text{ cm}^{-1}$  se presentaron el estiramiento C – H y flexión C – H de los carbohidratos, Gok et al., (2015), comprobaron la presencia de los carbohidratos en las regiones  $3000$  a  $2800\text{ cm}^{-1}$  y  $940$  a  $700\text{ cm}^{-1}$ .

En la investigación también se encontró los sulfóxidos en el pico  $1045\text{ cm}^{-1}$  que corresponden al estiramiento  $\text{-S=O}$ , de igual manera, Shurvell (2006), menciona que los sulfóxidos se encuentran en el pico  $1050\text{ cm}^{-1}$ . En la Figura 27, se comprueba la no generación de nuevos picos en las regiones más características de la miel, lo que sí existe es una variación en cuanto a la absorbancia de los picos, pero en general las regiones se mantienen muy constantes para los 18 tratamientos.

### 5.3.2 Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante

- **Polifenoles totales**

Los resultados obtenidos del contenido de polifenoles totales de los 18 tratamientos variaron de  $27.07$  a  $58.40\text{ mg GAE}/100\text{ g}$ , y de la materia prima fue  $74.13\text{ mg GAE}/100\text{ g}$ , estos valores estuvieron por encima a lo encontrado por Perna et al., (2023), quienes determinaron el compuesto fenólico de miel multifloral, este valor fue de  $11.79\text{ mg GAE}/100\text{ g}$  de miel del Sur de Italia, por otro lado, Muñoz et al., (2014), encontraron valores superiores de  $145.28\text{ mg GAE}/100\text{ g}$  en mieles multiflorales de la Costa Norte de Piura, al igual que Boussaid et al., (2018), hallaron valores superiores de polifenoles en 6 muestras de miel fresca de diferentes orígenes botánicos que osciló de  $32.17$  a  $119.42\text{ mg GAE}/100\text{ g}$ . Asimismo, Can et al., (2015), en su investigación encontraron valores de  $29.54\text{ mg GAE}/100\text{ g}$  en mieles multiflorales procedentes de Turquía, mientras que Bueno et al., (2016), quienes determinaron los compuestos fenólicos en 24 muestras de miel de diferentes orígenes geográficos, sus resultados oscilaron de  $61.16$  a  $111.37\text{ mg GAE}/100\text{ g}$ .



Según el análisis estadístico el tiempo de agitación, temperatura y las interacciones, a excepción de la doble interacción tiempo de agitación – temperatura, tuvieron efecto significativo sobre el contenido de polifenoles totales de las mieles cremas analizadas, los valores del contenido de polifenoles totales disminuyeron cuando se sometieron a mayor temperatura y tiempo de agitación; Šarić et al., (2013), sometieron a 23 y 95 °C las muestras de mieles de acacia, los valores de polifenoles totales disminuyeron de 5.81 mg GAE /100 g (23°C) a 3.97 mg GAE /100 g (95 °C), estos investigadores comentan que los polifenoles son susceptibles a la degradación térmica, por otro lado, Braghini et al., (2020), quienes procesaron térmicamente las mieles a 90 °C y almacenaron a 22 y 40 °C por 90 días, encontraron que las mieles tanto después del tratamiento térmico como después del almacenamiento, tenían concentraciones más bajas de la mayoría de los compuestos fenólicos identificados que las mieles frescas, sin embargo, se encontraron algunas excepciones, donde se determinaron seis compuestos que no estaban presentes en las mieles frescas, estas variaciones se puede deber a las condiciones de procesamiento y almacenamiento a las que se someten las muestras.

Los valores de polifenoles totales en la investigación disminuyeron en el tiempo de almacenamiento, esto corrobora a los resultados obtenidos de Šarić et al., (2012), quienes investigaron el contenido total de polifenoles en mieles multiflorales durante un periodo de almacenamiento y notaron una disminución de este compuesto.

- **Actividad antioxidante**

Los resultados obtenidos del porcentaje de inhibición del radical ABTS de los 18 tratamientos oscilaron de 11.33 a 46.68 % y de la miel cristalizada que se utilizó como materia prima fue 27.83 %, estos resultados se asemejan a lo encontrado por Socha et al., (2011), quienes determinaron el porcentaje de inhibición en siete muestras de mieles comerciales polacas de la misma región geográfica, sus resultados oscilaron de 26.81 a 66.35 %, dentro de las siete muestras se encontraba miel multifloral, el porcentaje de inhibición fue de 35.48



%, así mismo Majid et al., (2020), analizaron seis muestras de mieles entre ellas cuatro mieles multiflorales y dos uniflorales los valores oscilaron de 19.07 a 44.89 % y 42.79 a 65.02 % respectivamente, los valores de las multiflores estuvieron en el rango a lo obtenido. Por otro lado, Perna et al., (2023), encontraron valores superiores en sesenta y ocho muestras de miel de diferentes orígenes florales del sur de Italia que fluctuaron de 59.02 a 60.42 % de porcentaje de inhibición, dentro de estas muestras analizadas estuvieron mieles multiflorales con un valor de porcentaje de inhibición de 58.99 %.

La capacidad antioxidante de los 18 tratamientos varió de 208.20 a 323.59  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ , estos valores fueron similares a lo encontrado por Álvarez et al., (2010), analizaron mieles cubanas donde la capacidad antioxidante osciló de 21.46 a 294.50  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ .

Según el análisis estadístico, todos los factores en estudio y las interacciones, a excepción de la doble y triple interacción correspondientes al tiempo de agitación – días de almacenamiento y tiempo de agitación – temperatura – días de almacenamiento, tuvieron un efecto significativo sobre el porcentaje de inhibición de los tratamientos; las medias del porcentaje de inhibición disminuyen cuando se sometió a mayor temperatura, tiempo de agitación, con paleta dos y en el día 21 de almacenamiento; Majid et al., (2020), menciona que el porcentaje de inhibición de la miel depende de varios factores como fuentes vegetales, origen geográfico, ambientales, condiciones climáticas y métodos de procesamiento. Por otro lado, Kowalski (2013), evaluó el efecto del tratamiento térmico (90 °C) en mieles de melaza, el porcentaje de inhibición disminuyó de 63.00 a 38.70 %. Por otro lado, Yalçin (2021), reportó valores inferiores de capacidad antioxidante a lo encontrado en la investigación, este autor sometió a la miel a tratamientos térmicos de 20 y 30 °C por 5, 10, 15 y 20 minutos, los valores disminuyeron de 114.00  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$  (control) a 108.00  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$  (30 y 45 °C).

Brudzynski y Miotto, (2011), investigaron las melanoidinas de las mieles de diferentes orígenes florales tratadas térmicamente a 121 °C por 30 minutos para analizar la capacidad antioxidante, encontraron que la miel de trébol de color



claro y la miel de manuka de color medio, el tratamiento térmico aceleró la formación de melanoidinas y aumentó la actividad antioxidante, en el caso de la miel oscura de trigo sarraceno, el tratamiento térmico provocó una disminución de las melanoidinas y provocó una reducción de la actividad antioxidante. Por otro lado, Nagai et al., (2001), mencionan que los flavonoides, los aminoácidos y los compuestos fenólicos se encuentran entre los principales compuestos antioxidantes de la miel que son inestables en el tiempo y termolábiles, como son termolábiles las actividades antioxidantes de la miel se reducen debido a la descomposición de las vitaminas y también a la desnaturalización de las enzimas, particularmente a temperaturas más altas.

Actualmente existen pocas investigaciones sobre el efecto del tiempo de agitación y los tipos de paletas sobre las características fisicoquímicas y compuestos bioactivos de la miel crema.

De los datos fisicoquímicos y compuestos bioactivos de los tratamientos se escogió el tratamiento 6 en cuanto a los parámetros óptimos (miel crema emulsificada a 20 °C con paleta 3 por 120 minutos), porque presentó mejor estabilidad en el tiempo de almacenamiento en cuanto al contenido de acidez titulable, pH, humedad, viscosidad, azúcares, FTIR, polifenoles totales y actividad antioxidante.



## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1 Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos del presente trabajo de investigación, se tienen las siguientes conclusiones:

- La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento presentaron un efecto significativo ( $p < 0.05$ ), sobre el contenido de acidez titulable (0.000), pH (0.000), humedad (0.000), color  $L^*$  (0.000) y viscosidad (0.000) de los tratamientos.
- La temperatura de trabajo, tipos de paletas, tiempo de agitación y días de almacenamiento afectaron de manera significativa ( $p < 0.05$ ), al contenido de antioxidantes (0.000, 0.000, 0.000 y 0.000 respectivamente). El contenido de polifenoles totales no fue afectado de manera significativa con los tipos de paleta, pero sí presentó un efecto significativo ( $p < 0.05$ ), con la temperatura de trabajo (0.0006), tiempo de agitación (0.000) y días de almacenamiento (0.000).
- Los parámetros óptimos para la elaboración de miel crema fueron: temperatura de trabajo 20 °C, paleta 3 (combinación de paleta gancho amasador y paleta plana) y 120 minutos de agitación que corresponden al tratamiento 6 (T6). Este tratamiento permaneció estable en el día 0 y 21 de almacenamiento, en cuanto a las medias de acidez titulable (21.63 a 20.65 meq/Kg de miel), pH (4.44 a 4.40), humedad (15.80 a 15.73 %), viscosidad (410.80 a 654.30 Pa.s), azúcares (fructosa 38.66 % y glucosa 34.87 %), polifenoles totales (41.40 a 41.01 mg GAE/100 g) y actividad antioxidante (319.10 a 323.59  $\mu\text{mol ET} / 100 \text{ g}$ ). En cuanto al análisis del espectro infrarrojo con transformada de Fourier mostró una estabilidad de los enlaces químicos de los tratamientos y de la materia prima.



## 6.2 Recomendaciones

- Habiendo demostrado los resultados del trabajo de investigación, se recomienda utilizar los parámetros óptimos para la elaboración de miel crema.
- También se recomienda realizar un análisis sensorial del producto con la finalidad de comprobar la aceptación por parte de los consumidores.
- Realizar un análisis microbiológico, ya que esto permitirá conocer la calidad sanitaria del producto y así mejorar la inocuidad.
- Se recomienda realizar el análisis enzimático, ya que con esto se comprueba la calidad del producto.
- Así mismo, se recomienda realizar un análisis bromatológico con el objetivo de conocer el contenido nutricional del producto para proporcionar información al consumidor.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**ABDALLAH, Emad M y RAMADAN, Elsharkawy Eman, 2021.** Physico-chemical properties, antioxidant, and antimicrobial activity of five varieties of honey from Saudi Arabia. *Asia Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol.* Vol. 29, pp. 27-34.

**AL-FARSI, Mohamed et al., 2018.** Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon.* Vol. 4, n.º 10.

**AL-HABSI, Nasser A., DAVIS, Fred J. y NIRANJAN, Keshavan, 2013.** Development of novel methods to determine crystalline glucose content of honey based on DSC, HPLC, and viscosity measurements, and their use to examine the setting propensity of honey. *Journal of Food Science.* Vol. 78, n.º 6, pp. E845-E852.

**ALVAREZ, Suarez José M., TULIPANI, Sara, ROMANDINI, Stefania, et al., 2010.** Contribution of honey in nutrition and human health: A review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism.* Vol. 3, n.º 1, pp. 15-23.

**ALVAREZ, Suarez Jose M., TULIPANI, Sara, DÍAZ, Daimy, et al., 2010.** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology.* Vol. 48, n.º 8-9, pp. 2490-2499.

**ANDRACA, Adriana, GOLDSTEIN, Patricia y DEL CASTILLO, Luis Felipe, 2013.** Description of the viscosity of honeys in the supercooled regime. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications.* Vol. 392, n.º 24, pp. 6206-6213.

**ANGUEBES, Francisco et al., 2016.** Application of multivariable analysis and FTIR-ATR spectroscopy to the prediction of properties in campeche honey. *Journal of Analytical Methods in Chemistry.* Vol. 2016.



**ANJOS, Ofélia et al., 2015.** Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. *Food Chemistry*. Vol. 169, pp. 218-223.

**AVELLO, Marcia y SUWALSKY, Mario, 2006.** Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*. N.º 494, pp. 161-172.

**AZEREDO, L. D.C. et al., 2003.** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*. Vol. 80, n.º 2, pp. 249-254.

**BABACAN, Sibel y RAND, Arthur G., 2005.** Purification of Amylase from Honey. *Journal of Food Science*. Vol. 70, n.º 6, pp. c413-c418.

**BAGLIO, Ettore, 2018.** Chemistry and Technology of Honey Production. *Springer*.

**BALASUNDRAM, Nagendran, SUNDRAM, Kalyana y SAMMAN, Samir, 2006.** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. Vol. 99, n.º 1, pp. 191-203.

**BALOŠ, Milica M.Živkov et al., 2020.** Sugar profile of different floral origin honeys from Serbia. *Journal of Apicultural* . Vol. 59, n.º 4, pp. 398-405.

**BANSAL, Mrigya et al., 2022.** Introduction on Bioactive Compounds, Sources and their Potential Applications. *Bioactive Components: A Sustainable System for Good Health and Well-Being*. pp. 3-26. DOI 10.1007/978-981-19-2366-1\_1.

**BAYRAM, Nesrin Ecem et al., 2020.** Characterization of physicochemical and antioxidant properties of Bayburt honey from the North-east part of Turkey. *Journal of Apicultural Research*. Vol. 60, n.º 1, pp. 46-56.

**BERETTA, Giangiacomo et al., 2005.** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica* . Vol. 533, n.º 2, pp. 185-191.

**BETTERIDGE, D. J., 2000.** What is oxidative stress? *Metabolism*. Vol. 49, n.º 2, pp. 3-8.

**BOGDANOV, Stefan et al., 2008.** Honey for Nutrition and Health: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*. Vol. 27, n.º 6, pp. 677-689.



**BOGDANOV, Stefan, 2009.** Harmonised methods of the international honey commission. *Swiss Bee Research Center*. pp. 1-63.

**BOGDANOV, Stefan et al., 2013.** Honey for Nutrition and Health: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*. Vol. 27, n.º 6, pp. 677-689.

**BOLIGON, Aline Augusti, 2014.** Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Medicinal Chemistry*. Vol. 4, n.º 7.

**BONTÉ, Frédéric y DESMOULIÈRE, Alexis, 2013.** Le miel: origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*. Vol. 52, n.º 531, pp. 18-21.

**BOUSETA, Amina, COLLIN, Sonia y DUFOUR, Jean Pierre, 2015.** Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dynamic headspace GC-MS system. Vol. 31, n.º 2, pp. 96-109.

**BOUSSAID, Amel et al., 2018.** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*. Vol. 11, n.º 2, pp. 265-274.

**BRAGHINI, Francieli et al., 2019.** Impact of short-term thermal treatment on stingless bee honey (Meliponinae): Quality, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol. 43, n.º 7, p. e13954.

**BRAGHINI, Francieli et al., 2020.** Effect of different storage conditions on physicochemical and bioactive characteristics of thermally processed stingless bee honeys. *LWT*. Vol. 131, p. 109724.

**BRUDZYNSKI, Katrina y MIOTTO, Danielle, 2011.** The recognition of high molecular weight melanoidins as the main components responsible for radical-scavenging capacity of unheated and heat-treated Canadian honeys. *Food Chemistry*. Vol. 125, n.º 2, pp. 570-575.

**BRUDZYNSKI, Katrina, 2012.** Honey Melanoidins: Emerging Novel Understanding on the Mechanism of Antioxidant and Antibacterial Action of Honey.

**BUENO, Costa Francine M. et al., 2016.** Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food Science and Technology*. Vol. 65, pp. 333-340.



**CAN, Zehra et al., 2015.** An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*. Vol. 180, pp. 133-141.

**ČANADANOVIĆ, Brunet Jasna et al., 2014.** Evaluation of phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of Serbian honey-based product. *Industrial Crops and Products*. Vol. 62, pp. 1-7.

**CASTRO, Vázquez L., PÉREZ, Coello M. S. y CABEZUDO, M. D., 2003.** Analysis of volatile compounds of rosemary honey. Comparison of different extraction techniques. *Chromatographia*. Vol. 57, n.º 3-4, pp. 227-233.

**CAVIA, M. M. et al., 2002.** Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. *Food Chemistry*. Vol. 78, n.º 2, pp. 157-161.

**CAVIA, María M. et al., 2007.** Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*. Vol. 100, n.º 4, pp. 1728-1733.

**CHEN, Yien Hui, CHUAH, Wei Chean y CHYE, Fook Yee, 2021.** Effect of drying on physicochemical and functional properties of stingless bee honey. *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol. 45, n.º 4, p. e15328.

**CHIRIFE, Jorge, ZAMORA, María Clara y MOTTO, Aldo, 2006.** The correlation between water activity and moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*. Vol. 72, n.º 3, pp. 287-292.

**CHUA, Lee Suan, LEE, Jun You y CHAN, Giek Far, 2013.** Honey protein extraction and determination by mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol. 405, n.º 10, pp. 3063-3074.

**CIANCIOSI, Danila et al., 2018.** Phenolic Compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules 2018, Vol. 23, Page 2322*. Vol. 23, n.º 9, p. 2322.

**CODEX ALIMENTARIUS, 2001.** *Norma para la miel*.

**CORBELLA, E. y COZZOLINO, D., 2006.** Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 39, n.º 5, pp. 534-539.



**CORONADO, Jorge M. et al., 2022.** Caracterización físico-química de miel de abeja (*Apis mellifera* L.) procedentes de la Amazonía peruana. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. Vol. 17, n.º 4, pp. e2585-e2585.

**DA SILVA, Priscila Missio et al., 2016.** Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*. Vol. 196, pp. 309-323.

**DAMTO, Teferi, ZEWDU, Ashagrie y BIRHANU, Tarekegn, 2023.** Application of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and multivariate analysis for detection of adulteration in honey markets in Ethiopia. *Current Research in Food Science*. Vol. 7, p. 100565.

**DE LA FUENTE, E. et al., 2006.** Development of a robust method for the quantitative determination of disaccharides in honey by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1135, n.º 2, pp. 212-218.

**DI GIROLAMO, Francesco, D'AMATO, Alfonsina y RIGHETTI, Pier Giorgio, 2012.** Assessment of the floral origin of honey via proteomic tools. *Journal of Proteomics*. Vol. 75, n.º 12, pp. 3688-3693.

**DONER, L.W., 2003.** Honey. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. pp. 3125-3130.

**EL SOHAIMY, S. A., MASRY, S. H.D. y SHEHATA, M. G., 2015.** Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*. Vol. 60, n.º 2, pp. 279-287.

**ELBANNA, Khaled et al., 2014.** Impact of floral sources and processing on the antimicrobial activities of different unifloral honeys. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. Vol. 4, n.º 3, pp. 194-200.

**ESHETE, Yeshitila y ESHETE, Tekeba, 2019.** A Review on the Effect of Processing Temperature and Time duration on Commercial Honey Quality. *Madridge J Food Technol*. Vol. 4, n.º 1, pp. 159-163.

**ETERAF, Oskouei Tahereh y NAJAFI, Moslem, 2013.** Traditional and Modern Uses of Natural Honey in Human Diseases: A Review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. Vol. 16, n.º 6, p. 731.



**FAOSTAT, 2012.** FAOSTAT.

**FECHNER, Diana C. et al., 2016.** Multivariate classification of honeys from Corrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. *Food Bioscience*. Vol. 15, pp. 49-54.

**FELSNER, M. Ligiabi et al., 2004.** Characterization of monofloral honeys by ash contents through a hierarchical design. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 17, n.º 6, pp. 737-747.

**FINOLA, Mónica S., LASAGNO, Mirta C. y MARIOLI, Juan M., 2007.** Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*. Vol. 100, n.º 4, pp. 1649-1653.

**FRIGERIO, Tisi Cesarina Antonella, 2010.** Elaboración de miel crema (*Apis Mellífera*) mediante el método de cristalización inducida, y evaluación de sus propiedades texturales.

**GALLARDO, Velázquez Tzayhri et al., 2009.** Application of FTIR-HATR spectroscopy and multivariate analysis to the quantification of adulterants in Mexican honeys. *Food Research International*. Vol. 42, n.º 3, pp. 313-318.

**GALLEGO, Picó Alejandrina, GARCINUÑO, Martínez Rosa M. y FERNÁNDEZ, Hernando Pilar, 2013.** Honey Authenticity and Traceability. *Comprehensive Analytical Chemistry*. Vol. 60, pp. 511-541.

**GLEITER, R. A., HORN, H. y ISENGARD, H. D., 2006.** Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. En: *Food Chemistry*, pp. 441-445.

**GOK, Seher et al., 2015.** Differentiation of Anatolian honey samples from different botanical origins by ATR-FTIR spectroscopy using multivariate analysis. *Food Chemistry*. Vol. 170, pp. 234-240.

**GONZALES, Carbajal Victor, 2011.** *La cadena productiva de la miel de abeja orgánica en el corredor ecoturístico Saywite - Choquequirao - Ampay.*



**GORE APURÍMAC, 2014.** Estrategia Regional de la Diversidad Biológica de la Región Apurímac y Plan de Acción Regional de la Diversidad Biológica de la Región Apurímac (2014 - 2018).

**GUERRERO, Pérez M. Olga y PATIENCE, Gregory S., 2020.** Experimental methods in chemical engineering: Fourier transform infrared spectroscopy—FTIR. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. Vol. 98, n.º 1, pp. 25-33.

**HA, Chung Eun y BHAGAVAN, N.V., 2023.** Amino acids. *Essentials of Medical Biochemistry*. pp. 39-54.

**HASENHUETTL, Gerard L., 2019.** Overview of Food Emulsifiers. *Food Emulsifiers and their Applications: Third Edition*. pp. 1-9.

**HENAO-ARDILA, Alejandra, QUINTANILLA-CARVAJAL, María y MORENO, Fabián, 2024.** Emulsification and stabilisation technologies used for the inclusion of lipophilic functional ingredients in food systems. *Heliyon*. Vol. 10, n.º 11, p. e32150.

**HERNÁNDEZ, Sampieri Roberto, FERNÁNDEZ, Collado Carlos y BAPTISTA, Lucio Pilar, 2014.** *Metodología de la investigación*. ISBN 978-1-4562-2396-0.

**IGLESIAS, María Teresa et al., 2003.** Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 52, n.º 1, pp. 84-89.

**JIMENEZ, Maribel et al., 2016.** Physicochemical and antioxidant properties of honey from *Scaptotrigona mexicana* bee. *Journal of Apicultural Research*. Vol. 55, n.º 2, pp. 151-160.

**JOVETIĆ, Milica et al., 2017.** Mineral content as a tool for the assessment of honey authenticity. *Journal of AOAC*. Vol. 100, n.º 4, pp. 862-870.

**KARABAGIAS, Vassilios K., KARABAGIAS, Ioannis K. y GATZIAS, Ilias, 2018.** The impact of different heating temperatures on physicochemical, color attributes, and antioxidant activity parameters of Greek honeys. *Journal of Food Process Engineering*. Vol. 41, n.º 3, p. e12668.



**KARAHAN, Davut, YURT, Bayram y ÇAPANOĞLU GÜVEN, Esra, 2023.** Investigation of the effect of creamed honey production process on the sugar profile of honey. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*. Vol. 12, n.º 2, pp. 76-81.

**KARASU, Salih et al., 2015.** Thermal loop test to determine structural changes and thermal stability of creamed honey: Rheological characterization. *Journal of Food Engineering*. Vol. 150, pp. 90-98.

**KĘDZIERSKA, Matysek Monika et al., 2023.** Use of physicochemical, FTIR and chemometric analysis for quality assessment of selected monofloral honeys. *Journal of Apicultural Research*. Vol. 62, n.º 4, pp. 863-872.

**KHAN, Shahid Ali et al., 2018.** Fourier transform infrared spectroscopy: Fundamentals and application in functional groups and nanomaterials characterization. *Handbook of Materials Characterization*. pp. 317-344.

**KISHORE, R. Krishna et al., 2011.** Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. *Nutrition Research*. Vol. 31, n.º 4, pp. 322-325.

**KOWALSKI, Stanislaw, 2013.** Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chemistry*. Vol. 141, n.º 2, pp. 1378-1382.

**KRISHNAN, Reshma, MOHAMMED, Thasniya y SH, Arunima, 2021.** Honey crystallization: Mechanism, evaluation and application. *The Pharma Innovation Journal*. Vol. 10, n.º 5S, pp. 222-231.

**LEÓN, Ruiz Virginia et al., 2013.** Analysis of water-soluble vitamins in honey by isocratic RP-HPLC. *Food Analytical Methods*. Vol. 6, n.º 2, pp. 488-496.

**LOZANO, Sánchez Jesús et al., 2018.** Chromatographic technique: High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Modern Techniques for Food Authentication*. pp. 459-526.

**MACHADO DE-MELO, Adriane Alexandre et al., 2017.** Composition and properties of Apis mellifera honey: A review. *Journal of apicultural research*. Vol. 57, n.º 1, pp. 5-37.



**MAGALHÃES, Luís M. et al., 2010.** Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*. Vol. 83, n.º 2, pp. 441-447.

**MAJID, Mahani, ELLULU, Mohammed S. y ABU BAKAR, Mohd Fadzelly, 2020.** Melissopalynological Study, Phenolic Compounds, and Antioxidant Properties of Heterotrigona itama Honey from Johor, Malaysia. *Scientifica*. Vol. 2020.

**MĂRGĂOAN, Rodica et al., 2021.** Monofloral Honeys as a Potential Source of Natural Antioxidants, Minerals and Medicine. *Antioxidants 2021, Vol. 10, Page 1023*. Vol. 10, n.º 7, p. 1023.

**MEO, Sultan Ayoub et al., 2017.** Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*. Vol. 24, n.º 5, pp. 975-978.

**MIHAELA, Matei Petruta, 2011.** Coordenadas CIE L\*a\*b representadas en un sistema tridimensional. . . 2011.

**MINAGRI, 2015.** Plan Nacional de desarrollo apícola.

**MONIRUZZAMAN, Mohammed et al., 2013.** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: A comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*. Vol. 7, n.º 1, pp. 1-12.

**MONTENEGRO, Gloria et al., 2008.** Implementación de un panel sensorial para mieles chilenas. *Ciencia e investigación agraria*. Vol. 35, n.º 1, pp. 51-58.

**MUÑOZ, Jáuregui Ana María et al., 2014.** Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. Vol. 80, n.º 4, pp. 287-297.

**NAGAI, Takeshi et al., 2001.** Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry*. Vol. 75, n.º 2, pp. 237-240.

**NAYIK, Gulzar Ahmad, DAR, B. N. y NANDA, Vikas, 2019.** Physico-chemical, rheological and sugar profile of different unifloral honeys from Kashmir valley of India. *Arabian Journal of Chemistry*. Vol. 12, n.º 8, pp. 3151-3162.



**NORMA TÉCNICA PERUANA (NTP 209.168), 1999.** Miel, definiciones, requisitos y rotulado. Elaborado por la comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales del Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI).

**NORMA TÉCNICA PERUANA (NTP 209.171), 1999.** Miel. Determinación del contenido de humedad. Elaborado por la comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales del Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI).

**NORMA TÉCNICA PERUANA (NTP 209.174), 1999.** Miel. Determinación de la acidez. Elaborado por la comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales del Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI).

**NORMA TÉCNICA PERUANA (NTP 209.175), 1999.** Miel. Determinación del contenido de sustancias minerales. Elaborado por la comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales del Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI).

**NYAU, V, MWANZA, EP y MOONGA, HB, 2013.** Physico- chemical qualities of honey harvested from different beehive types in Zambia. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*. Vol. 13, n.º 2, pp. 7415-7427.

**OGIDI, Odangwei I y OTENEP, Ebenyam J, 2020.** Determination of nutritional properties of honey from *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science and Nutrition*. Vol. 5, n.º January 2020.

**OJEDA DE RODRÍGUEZ, Graciela et al., 2004.** Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*. Vol. 84, n.º 4, pp. 499-502.

**OLSZOWY, Malgorzata, 2019.** What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 144, pp. 135-143.

**OROIAN, Mircea, 2013.** Measurement, prediction and correlation of density, viscosity, surface tension and ultrasonic velocity of different honey types at different temperatures. *Journal of Food Engineering*. Vol. 119, n.º 1, pp. 167-172.



**PARK, Seung Hee et al., 2020.** Antioxidant and Antibacterial Properties of Hovenia (*Hovenia dulcis*) Monofloral Honey Produced in South Korea. *Food Science of Animal Resources*. Vol. 40, n.º 2, p. 221.

**PERNA, Anna Maria et al., 2023.** Antioxidant Properties, Polyphenol Content and Colorimetric Characteristics of Different Floral Origin Honeys from Different Areas of Southern Italy. *Journal of life sciences*. Vol. 7, n.º 4.

**PHILIP, Daizy, 2010.** Honey mediated green synthesis of silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Vol. 75, n.º 3, pp. 1078-1081.

**PONTOH, J. y LOW, N. H., 2002.** Purification and characterization of  $\beta$ -glucosidase from honey bees (*Apis mellifera*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. Vol. 32, n.º 6, pp. 679-690.

**PRIMANDASARI, E P, SUSILO, A y MASYITHOH, D, 2021.** The effect of moisture content in Nusa Tenggara Timur Forest honey on viscosity, pH and total dissolved solids. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 788, n.º 1, p. 012108.

**RABABAH, Taha et al., 2024.** Effect of Temperature and Time on the Physicochemical and Sensory Properties of Crystallized Honey. *ACS Omega*. Vol. 9, n.º 18, pp. 20243-20252.

**RAMLY, Nur Syahidah et al., 2021.** The Impact of Processing Methods on the Quality of Honey: A Review. *Malaysian Journal of Applied Sciences*. Vol. 6, n.º 1, pp. 99-110.

**RAWEH, Hael S.A. et al., 2022.** Impact of Different Storage Regimes on the Levels of Physicochemical Characteristics, Especially Free Acidity in Talh (*Acacia gerrardii* Benth.) Honey. *Molecules (Basel, Switzerland)*. Vol. 27, n.º 18, p. 5959.

**RE, Roberta et al., 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. Vol. 26, n.º 9-10, pp. 1231-1237.

**REBANE, Riin y HERODES, Koit, 2008.** Evaluation of the botanical origin of Estonian Uni- and polyfloral honeys by amino acid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 56, n.º 22, pp. 10716-10720.

**RIBEIRO, Geovana Piveta et al., 2018.** Influence of freezing, pasteurization and maturation on Tiúba honey quality. *LWT*. Vol. 90, pp. 607-612.



**RYBAK, Chmielewska H., 2007.** Changes in the carbohydrate composition of honey undergoing during storage. *Journal of Apicultural Science*.

**SAINCLAIR, Justin, 2021.** *Protección internacional de las abejas: Especial referencia a la Unión Europea. . .*

**SANTOS, Buelga Celestino y GONZÁLEZ, Paramás Ana M., 2017.** Chemical composition of honey. *Bee Products - Chemical and Biological Properties*. pp. 43-82.

**SANTOS, Adriane Costa dos et al., 2021.** Phenolic composition and biological activities of stingless bee honey: An overview based on its aglycone and glycoside compounds. *Food Research International*. Vol. 147, p. 110553.

**ŠARIĆ, Goran et al., 2013.** Changes of Antioxidant Activity in Honey after Heat Treatment. *Czech J. Food Sci*. Vol. 31, n.º 6, pp. 601-606.

**SARKAR, Tanmay et al., 2022.** A Review on the Commonly Used Methods for Analysis of Physical Properties of Food Materials. *Applied Sciences (Switzerland)*. Vol. 12, n.º 4.

**SAXENA, Sudhanshu, GAUTAM, Satyendra y SHARMA, Arun, 2010.** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*. Vol. 118, n.º 2, pp. 391-397.

**SERETI, Vasileia et al., 2021.** Development of a cotton honey-based spread by controlling compositional and processing parameters. *Food Biophysics*. Vol. 16, n.º 3, pp. 365-380.

**SHURVELL, H F, 2006.** Spectra-Structure Correlations Spectra-Structure Correlations in the Mid-and Far-infrared.

**SILVA, Luís R. et al., 2009.** Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*. Vol. 93, n.º 1, pp. 73-77.

**SIMOVIC, S. et al., 1999.** The Influence of processing variables on performance of O/W emulsion gels based on polymeric emulsifier. *International Journal of Cosmetic Science*. Vol. 21, n.º 2, pp. 119-125.

**SOCHA, Robert et al., 2011.** Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International Journal of Food Science & Technology*. Vol. 46, n.º 3, pp. 528-534.



- STAROWICZ, Malgorzata, OSTASZYK, Anita y ZIELIŃSKI, Henryk, 2021.** The relationship between the browning Index, total phenolics, color, and antioxidant activity of polish-originated honey samples. *Foods 2021, Vol. 10, Page 967.* Vol. 10, n.º 5, p. 967.
- SUBOVSKY, Martha J. et al., 2002.** Importancia de la calidad de la miel. *Agrotecnia: REBIOS, 2002, no. 9, p. 25-28.* Vol. 9, n.º 9, p. 25. DOI 10.30972/AGR.09470.
- SUESCUN, Leisnys y VIT, Patricia, 2008.** Control de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. Vol. 1.
- SULAIMAN, Nur Hanis Izzati y SARBON, Norizah M., 2022.** Physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties of selected Malaysian honey as treated at different temperature: A comparative study. *Journal of Apicultural Research.* Vol. 61, n.º 4, pp. 567-575.
- SULISTYIANINGSIH, POERNOMO, Achmad Toto y PRIMAHARINASTITI, Riesta, 2022.** Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Three Types of Monofloral Honey from Indonesia. *Jurnal farmasi dan ilmu kefarmasian Indonesia.* Vol. 9, n.º 3, pp. 290-297.
- TAPÍA, Maria S., ALZAMORA, Stella M. y CHIRIFE, Jorge, 2020.** Effects of Water Activity on Microbial Stability as a Hurdle in Food Preservation. *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications.* pp. 323-355.
- TAPPI, Silvia et al., 2021.** Physical and structural properties of honey crystallized by static and dynamic processes. *Journal of Food Engineering.* Vol. 292, p. 110316.
- TERRAB, Anass, GONZÁLEZ-MIRET, Lourdes y HEREDIA, Francisco J., 2004.** Colour characterisation of thyme and avocado honeys by diffuse reflectance spectrophotometry and spectroradiometry. *European Food Research and Technology.* Vol. 218, n.º 5, pp. 488-492.
- THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2009.** Infrared Spectral Interpretation.
- TOSI, E. A. et al., 2004.** Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT.* Vol. 37, n.º 6, pp. 669-678.
- TOSI, E. et al., 2008.** Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry.* Vol. 106, n.º 3, pp. 883-887.



**TURHAN, Irfan et al., 2008.** Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 41, n.º 8, pp. 1396-1399.

**TURKMEN, Nihal et al., 2006.** Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*. Vol. 95, n.º 4, pp. 653-657.

**ULLOA, Armando et al., 2010.** La miel de abeja y su importancia. *Fuente*. Vol. 2, n.º 4.

**UMESH, Hebbar,H., RASTOGI, N. K. y SUBRAMANIAN, R., 2008.** Properties of Dried and Intermediate Moisture Honey Products: A Review. *International Journal of Food Properties*. Vol. 11, n.º 4, pp. 804-819.

**USDA, 2022.** Departamento de agricultura de EE.UU.

**VENIR, Elena, SPAZIANI, Massimiliano y MALTINI, Enrico, 2010.** Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*. Vol. 122, n.º 2, pp. 410-415.

**VILLACRÉS, Granda Irina et al., 2021.** Honey quality parameters, chemical composition and antimicrobial activity in twelve Ecuadorian stingless bees (Apidae: Apinae: Meliponini) tested against multiresistant human pathogens. *LWT*. Vol. 140.

**VISQUERT, Mario, VARGAS, Maria y ESCRICHE, Isabel, 2014.** Effect of postharvest storage conditions on the colour and freshness parameters of raw honey. *International Journal of Food Science & Technology*. Vol. 49, n.º 1, pp. 181-187.

**WON, Se Ra et al., 2008.** Honey major protein characterization and its application to adulteration detection. *Food Research International*. Vol. 41, n.º 10, pp. 952-956.

**WROLSTAD, Ronald E. y SMITH, Daniel E., 2017.** Color Analysis. pp. 545-555.

**YALÇIN, Görkem, 2021.** Effects of Thermal Treatment, Ultrasonication, and Sunlight Exposure on Antioxidant Properties of Honey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 18, n.º 6, p. 776. DOI 10.4274/TJPS.GALENOS.2021.53810.

**YANNIOTIS, S., SKALTSI, S. y KARABURNIOTI, S., 2006.** Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. *Journal of Food Engineering*. Vol. 72, n.º 4, pp. 372-377.



**ZAREI, Mehdi, FAZLARA, Ali y TULABIFARD, Noushin, 2019.** Effect of thermal treatment on physicochemical and antioxidant properties of honey. *Heliyon*. Vol. 5, n.º 6, p. e01894.

**ZULKHAIRI, Amin Fatin et al., 2019.** Probiotic Properties of Bacillus Strains Isolated from Stingless Bee (*Heterotrigona itama*) Honey Collected across Malaysia. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2020, Vol. 17, Page 278. Vol. 17, n.º 1, p. 278.



## ANEXOS



**ANEXO I**  
**RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO**  
**RESULTADO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS MIELES**  
**CREMAS**

**1.1 ANOVA PARA ACIDEZ TITULABLE**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Tipos de paletas	91.869	2	45.9345	85.86	0.0000
B: Temperatura de trabajo	861.361	2	430.681	805.05	0.0000
C: Tiempo de agitación	3.63508	1	3.63508	6.79	0.0101
D: Días de almacenamiento	49.0672	3	16.3557	30.57	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	157.972	4	39.4931	73.82	0.0000
AC	4.67178	2	2.33589	4.37	0.0144
AD	23.95	6	3.99166	7.46	0.0000
BC	76.4855	2	38.2427	71.49	0.0000
BD	37.5858	6	6.26431	11.71	0.0000
CD	15.2094	3	5.0698	9.48	0.0000
ABC	117.314	4	29.3285	54.82	0.0000
ABD	27.5318	12	2.29432	4.29	0.0000
ACD	4.17406	6	0.695677	1.30	0.2607
BCD	13.3124	6	2.21873	4.15	0.0007
ABCD	27.2906	12	2.27422	4.25	0.0000
RESIDUOS	77.0364	144	0.534975		
TOTAL (CORREGIDO)	1588.47	215			

## 1.2 ANOVA PARA pH

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Tipos de paletas	0.370848	2	0.185424	780.73	0.0000
B: Días de almacenamiento	0.0360718	3	0.0120239	50.63	0.0000
C: Temperatura de trabajo	1.64481	2	0.822406	3462.76	0.0000
D: Tiempo de agitación	0.0570375	1	0.0570375	240.16	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.015263	6	0.00254383	10.71	0.0000
AC	0.417594	4	0.104398	439.57	0.0000
AD	0.00907778	2	0.00453889	19.11	0.0000
BC	0.00918796	6	0.00153133	6.45	0.0000
BD	0.000771759	3	0.000257253	1.08	0.3583
CD	0.284453	2	0.142226	598.85	0.0000
ABC	0.0248731	12	0.00207276	8.73	0.0000
ABD	0.00344074	6	0.000573457	2.41	0.0297
ACD	0.348519	4	0.0871299	366.86	0.0000
BCD	0.00311019	6	0.000518364	2.18	0.0480
ABCD	0.00367315	12	0.000306096	1.29	0.2311
RESIDUOS	0.0342	144	0.0002375		
TOTAL (CORREGIDO)	3.26293	215			

### 1.3 ANOVA PARA HUMEDAD

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Tipos de paletas	13.3512	2	6.6756	175.85	0.0000
B: Días de almacenamiento	2.68148	3	0.893827	23.54	0.0000
C: Temperatura de trabajo	381.534	2	190.767	5025.08	0.0000
D: Tiempo de agitación	66.4446	1	66.4446	1750.25	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	3.18546	6	0.53091	13.98	0.0000
AC	13.571	4	3.39275	89.37	0.0000
AD	7.40009	2	3.70005	97.46	0.0000
BC	8.03963	6	1.33994	35.30	0.0000
BD	0.87463	3	0.291543	7.68	0.0001
CD	11.127	2	5.56352	146.55	0.0000
ABC	7.59009	12	0.632508	16.66	0.0000
ABD	1.33509	6	0.222515	5.86	0.0000
ACD	3.65824	4	0.91456	24.09	0.0000
BCD	7.20481	6	1.2008	31.63	0.0000
ABCD	6.41546	12	0.534622	14.08	0.0000
RESIDUOS	5.46667	144	0.037963		
TOTAL (CORREGIDO)	539.879	215			

### 1.4 ANOVA PARA LUMINOSIDAD L\*

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Días de almacenamiento	7103.75	3	2367.92	4602.78	0.0000
B: Tipos de paletas	564.147	2	282.073	548.30	0.0000
C: Temperatura de trabajo	3832.43	2	1916.22	3724.76	0.0000
D: Tiempo de agitación	43.4884	1	43.4884	84.53	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	232.498	6	38.7496	75.32	0.0000
AC	1147.01	6	191.168	371.59	0.0000
AD	63.1981	3	21.066	40.95	0.0000
BC	521.587	4	130.397	253.47	0.0000
BD	141.734	2	70.8671	137.75	0.0000
CD	126.795	2	63.3974	123.23	0.0000
ABC	585.233	12	48.7694	94.80	0.0000
ABD	83.2834	6	13.8806	26.98	0.0000
ACD	105.223	6	17.5372	34.09	0.0000
BCD	170.708	4	42.6771	82.96	0.0000
ABCD	236.518	12	19.7098	38.31	0.0000
RESIDUOS	74.0814	144	0.514454		
TOTAL (CORREGIDO)	15031.7	215			

### 1.5 ANOVA PARA VISCOSIDAD

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Tipos de paletas	0.361111	2	0.180556	19.50	0.0000
B: Días de almacenamiento	6.38426	3	2.12809	229.83	0.0000
C: Tiempo de agitación	1.04167	1	1.04167	112.50	0.0000
D: Temperatura de trabajo	5.58333	2	2.79167	301.50	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.490741	6	0.0817901	8.83	0.0000
AC	0.361111	2	0.180556	19.50	0.0000
AD	0.472222	4	0.118056	12.75	0.0000
BC	0.384259	3	0.128086	13.83	0.0000
BD	5.26852	6	0.878086	94.83	0.0000
CD	0.583333	2	0.291667	31.50	0.0000
ABC	0.490741	6	0.0817901	8.83	0.0000
ABD	1.23148	12	0.102623	11.08	0.0000
ACD	0.472222	4	0.118056	12.75	0.0000
BCD	2.26852	6	0.378086	40.83	0.0000
ABCD	1.23148	12	0.102623	11.08	0.0000
RESIDUOS	1.33333	144	0.00925926		
TOTAL (CORREGIDO)	27.9583	215			



**ANEXO II**  
**COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LAS MIELES CREMAS**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA DE COMPUESTOS BIOACTIVOS**

**2.1 ANOVA PARA POLIFENOLES TOTALES**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Días de almacenamiento	415.397	3	138.466	16.69	0.0000
B: Tipos de paletas	49.9164	2	24.9582	3.01	0.0525
C: Temperatura de trabajo	130.477	2	65.2386	7.86	0.0006
D: Tiempo de agitación	501.091	1	501.091	60.41	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	582.431	6	97.0718	11.70	0.0000
AC	2257.72	6	376.286	45.36	0.0000
AD	584.174	3	194.725	23.48	0.0000
BC	617.474	4	154.368	18.61	0.0000
BD	58.4634	2	29.2317	3.52	0.0320
CD	4.92403	2	2.46202	0.30	0.7436
ABC	1276.01	12	106.334	12.82	0.0000
ABD	287.426	6	47.9043	5.78	0.0000
ACD	868.615	6	144.769	17.45	0.0000
BCD	1158.5	4	289.624	34.92	0.0000
ABCD	866.656	12	72.2213	8.71	0.0000
<b>RESIDUOS</b>	1194.45	144	8.29482		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	10853.7	215			

## 2.2 ANOVA PARA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Tipos de paletas	895.757	2	447.878	18.03	0.0000
B: Tiempo de agitación	840.198	1	840.198	33.82	0.0000
C: Temperatura de trabajo	6228.78	2	3114.39	125.37	0.0000
D: Días de almacenamiento	855.03	3	285.01	11.47	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	2079.6	2	1039.8	41.86	0.0000
AC	2024.65	4	506.163	20.38	0.0000
AD	678.005	6	113.001	4.55	0.0003
BC	272.515	2	136.257	5.49	0.0050
BD	71.4805	3	23.8268	0.96	0.4136
CD	2262.22	6	377.036	15.18	0.0000
ABC	1576.63	4	394.159	15.87	0.0000
ABD	538.173	6	89.6956	3.61	0.0022
ACD	1074.49	12	89.5405	3.60	0.0001
BCD	205.321	6	34.2202	1.38	0.2269
RESIDUOS	3875.15	156	24.8407		
TOTAL (CORREGIDO)	23478.0	215			



**ANEXO III**  
**PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO**  
**RESULTADO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y COMPUESTOS**  
**BIOACTIVOS DE LAS MIELES CREMAS**

**3.1 PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO PARA ACIDEZ**

Pruebas de múltiples rangos para acidez por temperatura de trabajo

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
50	72	16.8027	0.0861987	c
20	72	20.7963	0.0861987	a
35	72	21.2456	0.0861987	b

Pruebas de múltiples rangos para acidez por tipos de paletas

Paleta	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	72	18.7615	0.0861987	c
2	72	19.7385	0.0861987	b
1	72	20.3446	0.0861987	a

Pruebas de múltiples rangos para acidez por tiempo de agitación

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
120	108	19.4851	0.0703809	b
60	108	19.7446	0.0703809	a

Pruebas de múltiples rangos para acidez por días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
21	54	18.9903	0.0995337	c
7	54	19.5215	0.0995337	b
14	54	19.6188	0.0995337	b
0	54	20.3289	0.0995337	a

### 3.2 PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO PARA pH

Pruebas de múltiples rangos para pH por tipos de paletas

Paleta	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	72	4.38153	0.00181621	a
2	72	4.42819	0.00181621	b
3	72	4.48292	0.00181621	c

Pruebas de múltiples rangos para pH por tiempo de agitación

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
60	108	4.41463	0.00148293	a
120	108	4.44713	0.00148293	b

Pruebas de múltiples rangos para pH por temperatura de trabajo

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
35	72	4.35472	0.00181621	b
20	72	4.38486	0.00181621	a
50	72	4.55306	0.00181621	c

Pruebas de múltiples rangos para pH por días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
21	54	4.41778	0.00209718	c
14	54	4.41926	0.00209718	c
7	54	4.43796	0.00209718	b
0	54	4.44852	0.00209718	a

### 3.3 PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO PARA HUMEDAD

Pruebas de múltiples rangos para humedad por tiempo de agitación

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
120	108	14.5472	0.0187486	b
60	108	15.6565	0.0187486	a

Pruebas de múltiples rangos para humedad por temperatura de trabajo

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
50	72	13.3111	0.0229622	c
35	72	15.5028	0.0229622	b
20	72	16.4917	0.0229622	a

Pruebas de múltiples rangos para humedad por días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
21	54	15.0019	0.0265145	b
14	54	15.0537	0.0265145	b
7	54	15.0611	0.0265145	b
0	54	15.2907	0.0265145	a

Pruebas de múltiples rangos para humedad por tipos de paletas

Paleta	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	72	14.8403	0.0229622	c
2	72	15.0292	0.0229622	b
1	72	15.4361	0.0229622	a

### 3.4 PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO PARA LUMINOSIDAD L\*

Pruebas de múltiples rangos para color por tipos de paletas

Paleta	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	72	49.5801	0.0845293	a
2	72	51.2594	0.0845293	b
3	72	53.5243	0.0845293	c

Pruebas de múltiples rangos para color por tiempo de agitación

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
60	108	51.0059	0.0690179	a
120	108	51.9033	0.0690179	b

Pruebas de múltiples rangos para color por temperatura de trabajo

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
20	72	46.616	0.0845293	a
35	72	50.8649	0.0845293	b
50	72	56.8831	0.0845293	c

Pruebas de múltiples rangos para color por días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
21	54	43.685	0.097606	d
14	54	48.7957	0.097606	c
7	54	54.4624	0.097606	b
0	54	58.8754	0.097606	a

### 3.5 PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO PARA VISCOSIDAD

Pruebas de múltiples rangos para viscosidad por tipos de paletas

Paleta	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	72	1.11111	0.0113402	a
1	72	1.13889	0.0113402	a
3	72	1.20833	0.0113402	b

Pruebas de múltiples rangos para viscosidad por tiempo de agitación

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
60	108	1.08333	0.00925926	a
120	108	1.22222	0.00925926	b

Pruebas de múltiples rangos para viscosidad por temperatura de trabajo

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
20	72	1.0	0.0113402	a
35	72	1.08333	0.0113402	b
50	72	1.375	0.0113402	c

Pruebas de múltiples rangos para viscosidad por días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	54	1.0	0.0130946	a
14	54	1.07407	0.0130946	b
7	54	1.09259	0.0130946	b
21	54	1.44444	0.0130946	c

**ANEXO IV**  
**PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO**  
**RESULTADO DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LAS MIELES CREMAS**

**4.1 PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO PARA POLIFENOLES**

Pruebas de múltiples rangos para polifenoles por tipos de paletas

Paleta	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	72	39.826	0.33942	a
1	72	40.6813	0.33942	a
2	72	40.9546	0.33942	a

Pruebas de múltiples rangos para polifenoles por tiempo de agitación

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
60	108	38.9642	0.277135	a
120	108	42.0104	0.277135	b

Pruebas de múltiples rangos para polifenoles por temperatura de trabajo

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
50	72	39.4135	0.33942	b
35	72	40.821	0.33942	a
20	72	41.2274	0.33942	a

Pruebas de múltiples rangos para polifenoles por días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
21	54	39.1649	0.391928	a
7	54	39.5658	0.391928	a
0	54	40.4741	0.391928	a
14	54	42.7444	0.391928	b

## 4.2 PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGO PARA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN

Pruebas de múltiples rangos para el porcentaje de inhibición por tipos de paletas

Paleta	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	72	21.2779	0.587376	b
3	72	21.3737	0.587376	b
1	72	25.6449	0.587376	a

Pruebas de múltiples rangos para el porcentaje de inhibición por tiempo de agitación

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
120	108	20.7932	0.47959	b
60	108	24.7377	0.47959	a

Pruebas de múltiples rangos para el porcentaje de inhibición por temperatura de trabajo

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
50	72	18.8165	0.587376	b
35	72	19.1222	0.587376	b
20	72	30.3578	0.587376	a

Pruebas de múltiples rangos para el porcentaje de inhibición por días

Días	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
7	54	21.1045	0.678243	b
21	54	21.2701	0.678243	b
14	54	22.6322	0.678243	b
0	54	26.0551	0.678243	a

ANEXO V

CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS DE LAS INTERACCIONES

5.1 Acidez titulable

Interacciones	Hipótesis nula (H <sub>0</sub> )	Hipótesis alterna (H <sub>a</sub> )	Conclusión
<b>AB</b>	La interacción AB no afecta a la acidez	La interacción AB afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>AC</b>	La interacción AC no afecta a la acidez	La interacción AC afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>AD</b>	La interacción AD no afecta a la acidez	La interacción AD afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>BC</b>	La interacción BC no afecta a la acidez	La interacción BC afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>BD</b>	La interacción BD no afecta a la acidez	La interacción BD afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>CD</b>	La interacción CD no afecta a la acidez	La interacción CD afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>ABC</b>	La interacción ABC no afecta a la acidez	La interacción ABC afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>ABD</b>	La interacción ABD no afecta a la acidez	La interacción ABD afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>ACD</b>	La interacción ACD no afecta a la acidez	La interacción ACD afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>0</sub> y se rechaza la H <sub>a</sub>
<b>BCD</b>	La interacción BCD no afecta a la acidez	La interacción BCD afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>ABCD</b>	La interacción ABCD no afecta a la acidez	La interacción ABCD afecta a la acidez	Se acepta la H <sub>a</sub>

Donde:

A: tipos de paletas, B: temperatura de trabajo, C: tiempo de agitación, D: días de almacenamiento

## 5.2 pH

Interacciones	Hipótesis nula (Ho)	Hipótesis alterna (Ha)	Conclusión
<b>AB</b>	La interacción AB no afecta al pH	La interacción AB afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>AC</b>	La interacción AC no afecta al pH	La interacción AC afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>AD</b>	La interacción AD no afecta al pH	La interacción AD afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>BC</b>	La interacción BC no afecta al pH	La interacción BC afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>BD</b>	La interacción BD no afecta al pH	La interacción BD afecta al pH	Se acepta la Ho y se rechaza la Ha
<b>CD</b>	La interacción CD no afecta al pH	La interacción CD afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>ABC</b>	La interacción ABC no afecta al pH	La interacción ABC afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>ABD</b>	La interacción ABD no afecta al pH	La interacción ABD afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>ACD</b>	La interacción ACD no afecta al pH	La interacción ACD afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>BCD</b>	La interacción BCD no afecta al pH	La interacción BCD afecta al pH	Se acepta la Ha
<b>ABCD</b>	La interacción ABCD no afecta al pH	La interacción ABCD afecta al pH	Se acepta la Ho y se rechaza la Ha

Donde:

A: tipos de paletas, B: días de almacenamiento, C: temperatura de trabajo, D: tiempo de agitación

### 5.3 Humedad

Interacciones	Hipótesis nula (Ho)	Hipótesis alterna (Ha)	Conclusión
<b>AB</b>	La interacción AB no afecta a la humedad	La interacción AB afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>AC</b>	La interacción AC no afecta a la humedad	La interacción AC afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>AD</b>	La interacción AD no afecta a la humedad	La interacción AD afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>BC</b>	La interacción BC no afecta a la humedad	La interacción BC afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>BD</b>	La interacción BD no afecta a la humedad	La interacción BD afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>CD</b>	La interacción CD no afecta a la humedad	La interacción CD afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>ABC</b>	La interacción ABC no afecta a la humedad	La interacción ABC afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>ABD</b>	La interacción ABD no afecta a la humedad	La interacción ABD afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>ACD</b>	La interacción ACD no afecta a la humedad	La interacción ACD afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>BCD</b>	La interacción BCD no afecta a la humedad	La interacción BCD afecta a la humedad	Se acepta la Ha
<b>ABCD</b>	La interacción ABCD no afecta a la humedad	La interacción ABCD afecta a la humedad	Se acepta la Ha

Donde:

A: tipos de paletas, B: días de almacenamiento, C: temperatura de trabajo, D: tiempo de agitación

#### 5.4 Luminosidad L\*

Interacciones	Hipótesis nula (Ho)	Hipótesis alterna (Ha)	Conclusión
<b>AB</b>	La interacción AB no afecta a la luminosidad	La interacción AB afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>AC</b>	La interacción AC no afecta a la luminosidad	La interacción AC afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>AD</b>	La interacción AD no afecta a la luminosidad	La interacción AD afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>BC</b>	La interacción BC no afecta a la luminosidad	La interacción BC afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>BD</b>	La interacción BD no afecta a la luminosidad	La interacción BD afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>CD</b>	La interacción CD no afecta a la luminosidad	La interacción CD afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>ABC</b>	La interacción ABC no afecta a la luminosidad	La interacción ABC afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>ABD</b>	La interacción ABD no afecta a la luminosidad	La interacción ABD afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>ACD</b>	La interacción ACD no afecta a la luminosidad	La interacción ACD afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>BCD</b>	La interacción BCD no afecta a la luminosidad	La interacción BCD afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha
<b>ABCD</b>	La interacción ABCD no afecta a la luminosidad	La interacción ABCD afecta a la luminosidad	Se acepta la Ha

Donde:

A: días de almacenamiento, B: tipos de paletas, C: temperatura de trabajo, D: tiempo de agitación

### 5.5 Viscosidad

<b>Interacciones</b>	<b>Hipótesis nula (Ho)</b>	<b>Hipótesis alterna (Ha)</b>	<b>Conclusión</b>
<b>AB</b>	La interacción AB no afecta a la viscosidad	La interacción AB afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>AC</b>	La interacción AC no afecta a la viscosidad	La interacción AC afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>AD</b>	La interacción AD no afecta a la viscosidad	La interacción AD afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>BC</b>	La interacción BC no afecta a la viscosidad	La interacción BC afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>BD</b>	La interacción BD no afecta a la viscosidad	La interacción BD afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>CD</b>	La interacción CD no afecta a la viscosidad	La interacción CD afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>ABC</b>	La interacción ABC no afecta a la viscosidad	La interacción ABC afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>ABD</b>	La interacción ABD no afecta a la viscosidad	La interacción ABD afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>ACD</b>	La interacción ACD no afecta a la viscosidad	La interacción ACD afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>BCD</b>	La interacción BCD no afecta a la viscosidad	La interacción BCD afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha
<b>ABCD</b>	La interacción ABCD no afecta a la viscosidad	La interacción ABCD afecta a la viscosidad	Se acepta la Ha

Donde:

A: tipos de paletas, B: días de almacenamiento, C: tiempo de agitación, D: temperatura de trabajo

### 5.6 Polifenoles totales

Interacciones	Hipótesis nula (H <sub>0</sub> )	Hipótesis alterna (H <sub>a</sub> )	Conclusión
<b>AB</b>	La interacción AB no afecta a los polifenoles	La interacción AB afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>AC</b>	La interacción AC no afecta a los polifenoles	La interacción AC afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>AD</b>	La interacción AD no afecta a los polifenoles	La interacción AD afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>BC</b>	La interacción BC no afecta a los polifenoles	La interacción BC afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>BD</b>	La interacción BD no afecta a los polifenoles	La interacción BD afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>CD</b>	La interacción CD no afecta a los polifenoles	La interacción CD afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>0</sub> y se rechaza la H <sub>a</sub>
<b>ABC</b>	La interacción ABC no afecta a los polifenoles	La interacción ABC afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>ABD</b>	La interacción ABD no afecta a los polifenoles	La interacción ABD afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>ACD</b>	La interacción ACD no afecta a los polifenoles	La interacción ACD afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>BCD</b>	La interacción BCD no afecta a los polifenoles	La interacción BCD afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>
<b>ABCD</b>	La interacción ABCD no afecta a los polifenoles	La interacción ABCD afecta a los polifenoles	Se acepta la H <sub>a</sub>

Donde:

A: días de almacenamiento, B: tipos de paletas, C: temperatura de trabajo, D: tiempo de agitación



### 5.7 Porcentaje de inhibición

Interacciones	Hipótesis nula (Ho)	Hipótesis alterna (Ha)	Conclusión
<b>AB</b>	La interacción AB no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción AB afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>AC</b>	La interacción AC no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción AC afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>AD</b>	La interacción AD no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción AD afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>BC</b>	La interacción BC no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción BC afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>BD</b>	La interacción BD no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción BD afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ho y se rechaza la Ha
<b>CD</b>	La interacción CD no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción CD afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>ABC</b>	La interacción ABC no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción ABC afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>ABD</b>	La interacción ABD no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción ABD afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>ACD</b>	La interacción ACD no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción ACD afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ha
<b>BCD</b>	La interacción BCD no afecta al porcentaje de inhibición	La interacción BCD afecta al porcentaje de inhibición	Se acepta la Ho y se rechaza la Ha

Donde:

A: tipos de paletas, B: tiempo de agitación, C: temperatura de trabajo, D: días de almacenamiento

## ANEXO VI GRÁFICAS MULTIVARIABLES

### 6.1 GRÁFICAS MULTIVARIABLES PARA LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

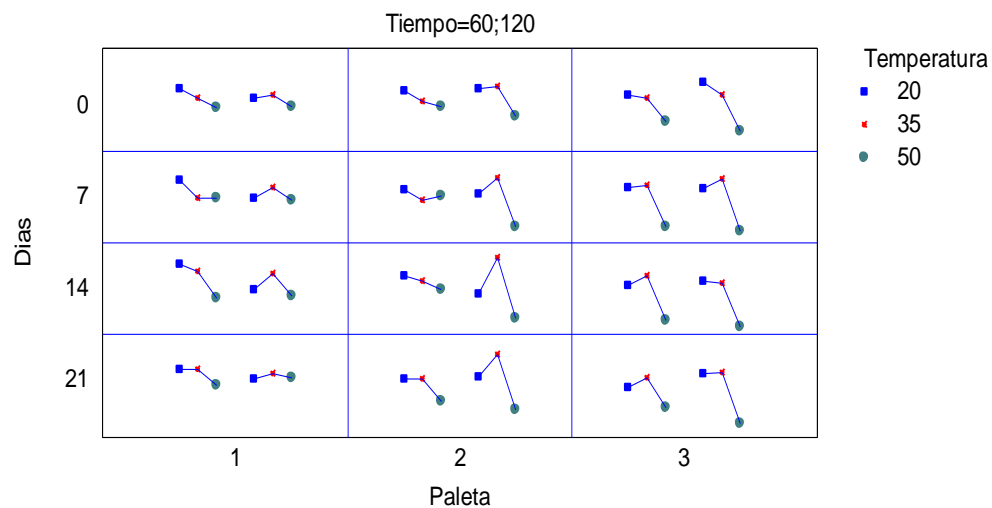


Figura 36 — Gráficas multivARIABLES para acidez

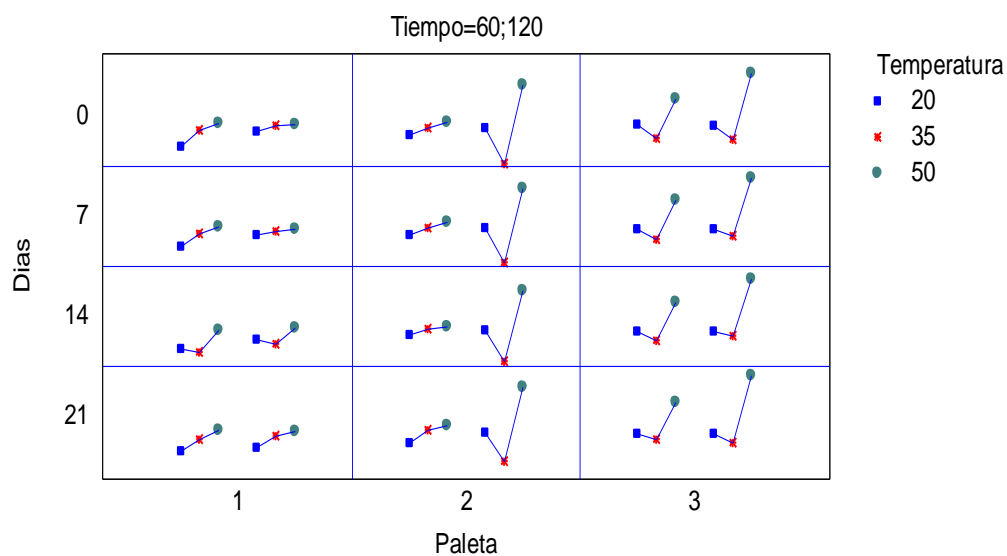
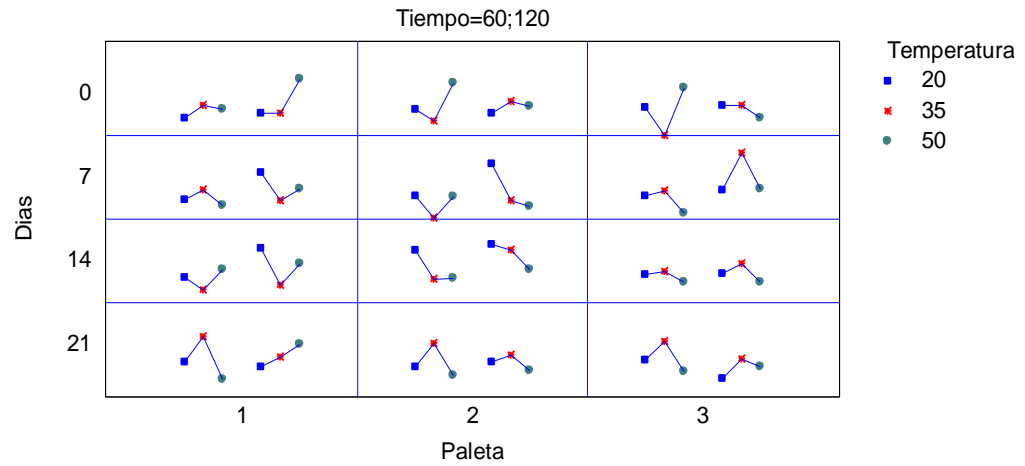
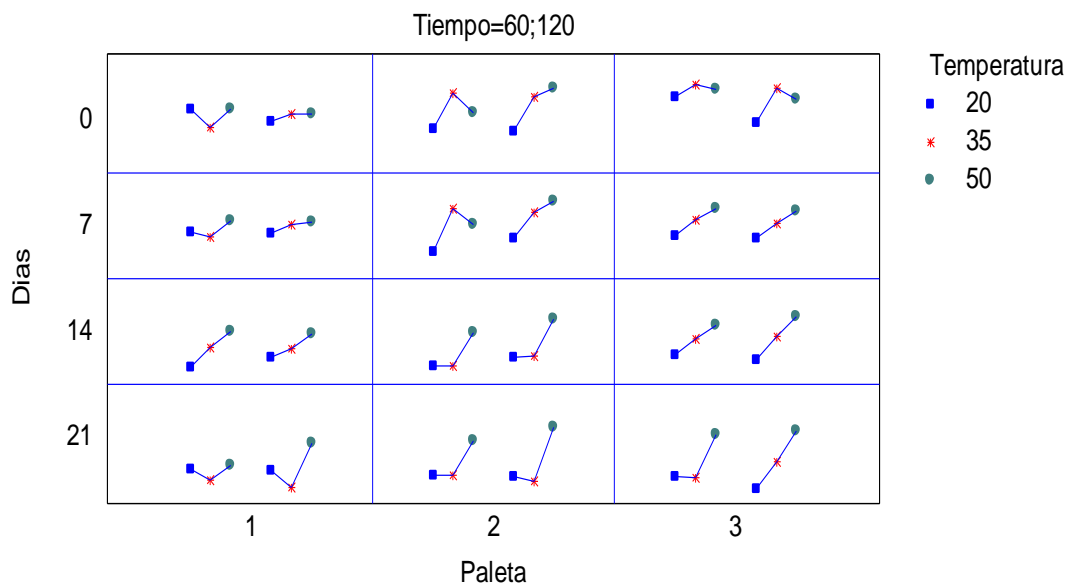


Figura 37 — Gráficas multivARIABLES para pH



**Figura 38 — Gráficas multivariadas para humedad**



**Figura 39 — Gráficas multivariadas para luminosidad L\***

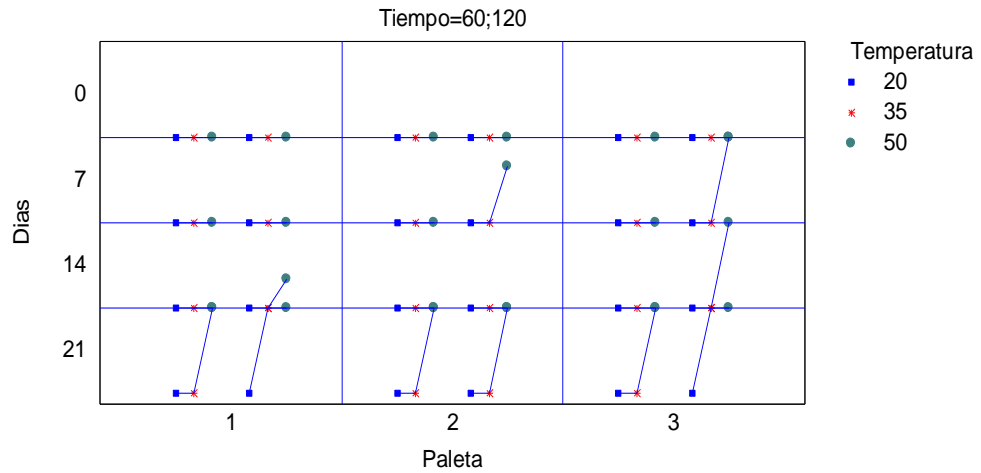


Figura 40 — Gráficas multivariables para viscosidad

## 6.2 GRÁFICAS MULTIVARIABLES PARA COMPUESTOS BIOACTIVOS

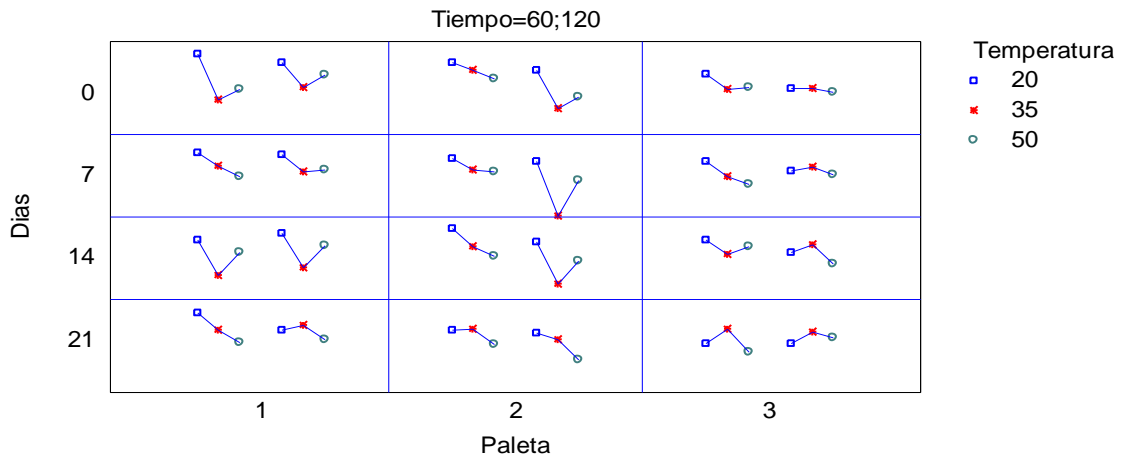


Figura 41 — Gráficas multivariables para porcentaje de inhibición

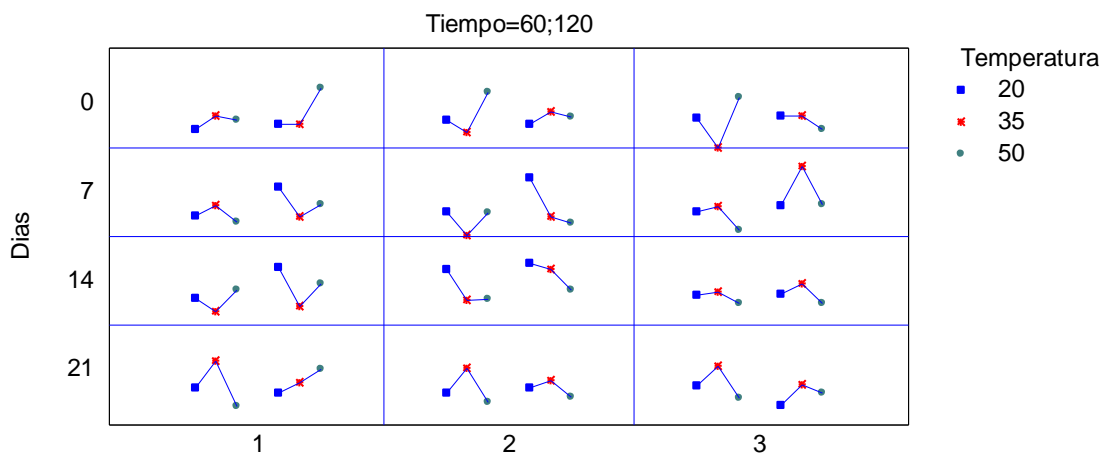
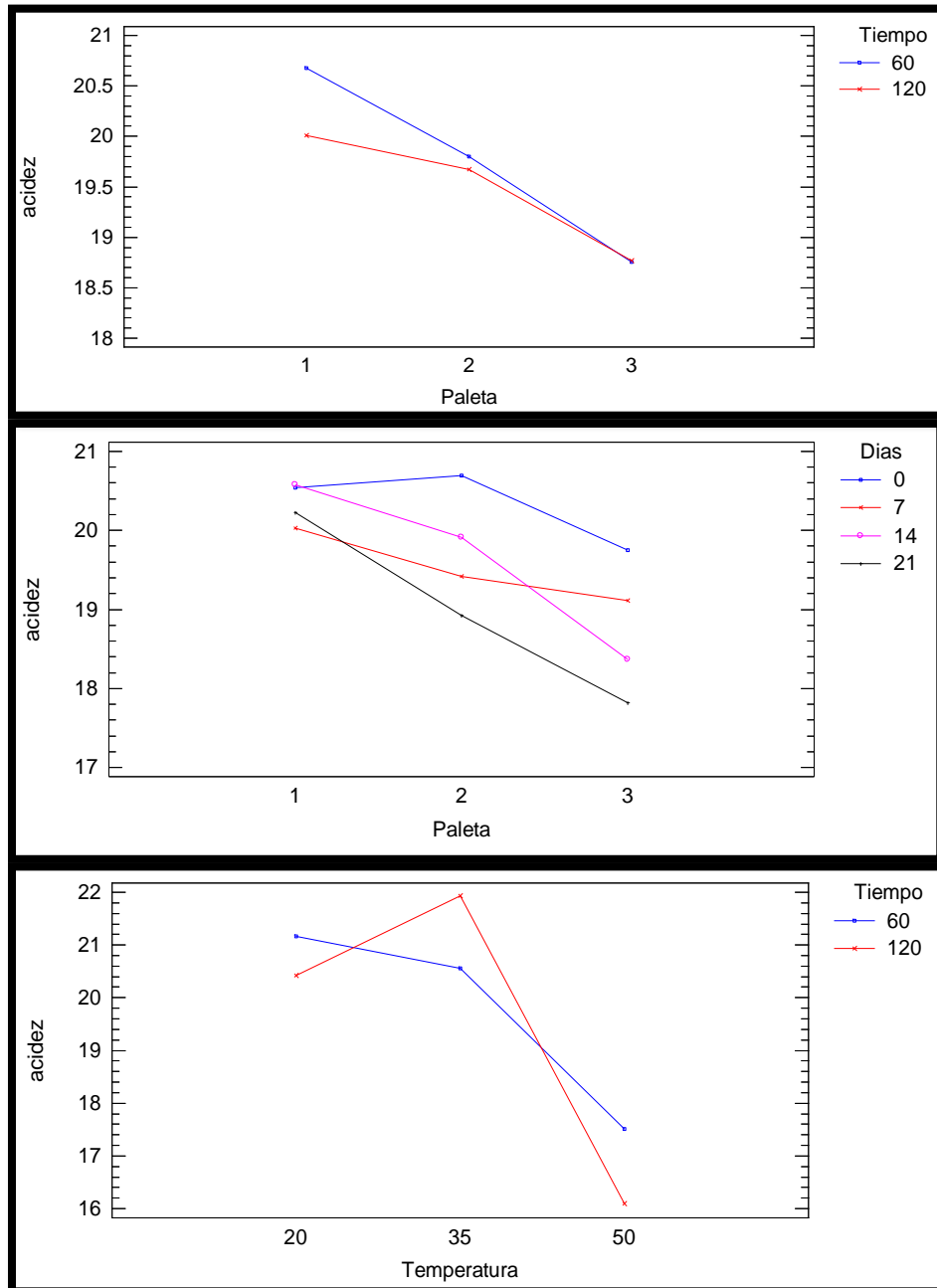


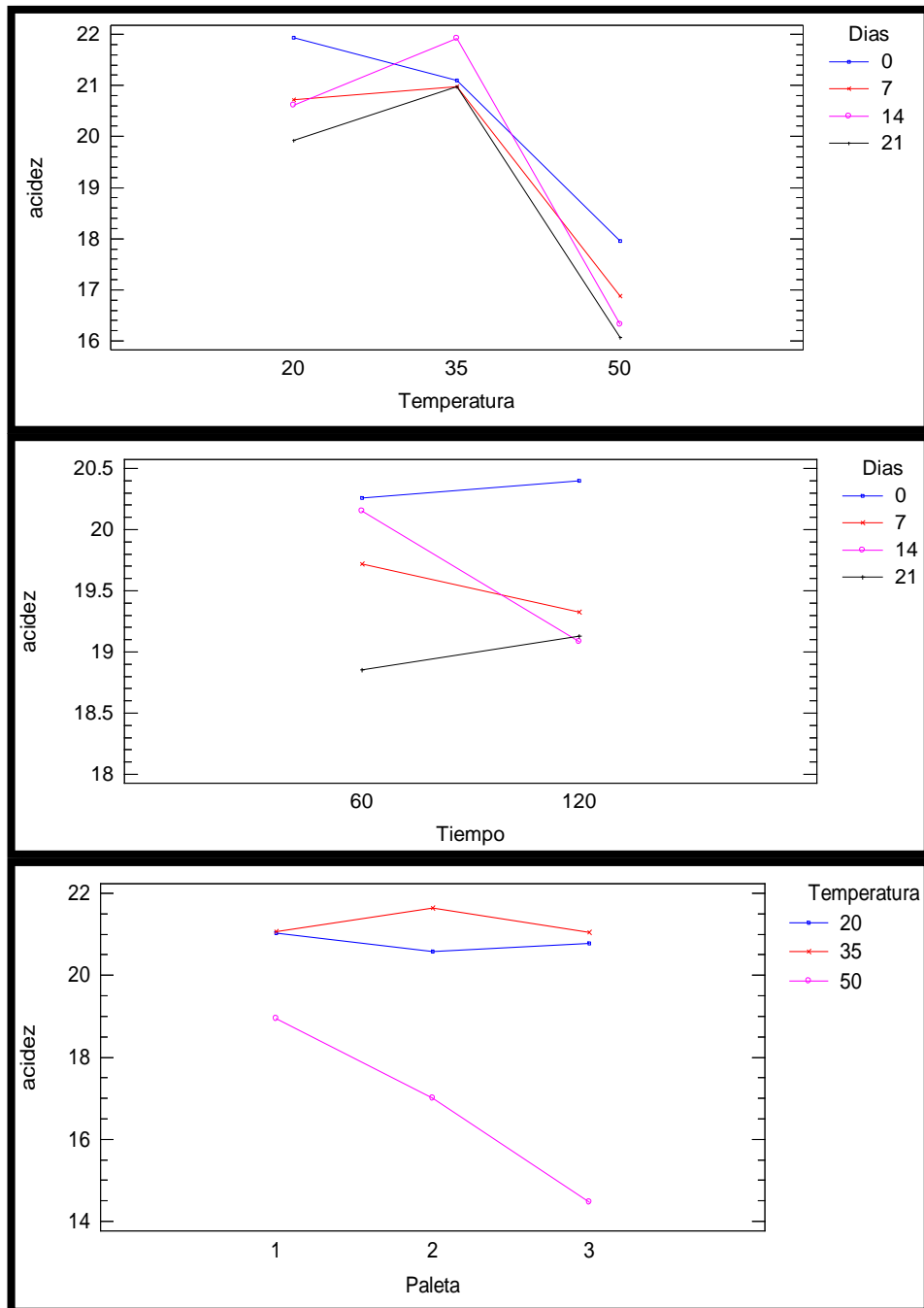
Figura 42 — Gráficas multivariables para polifenoles totales

## ANEXO VII

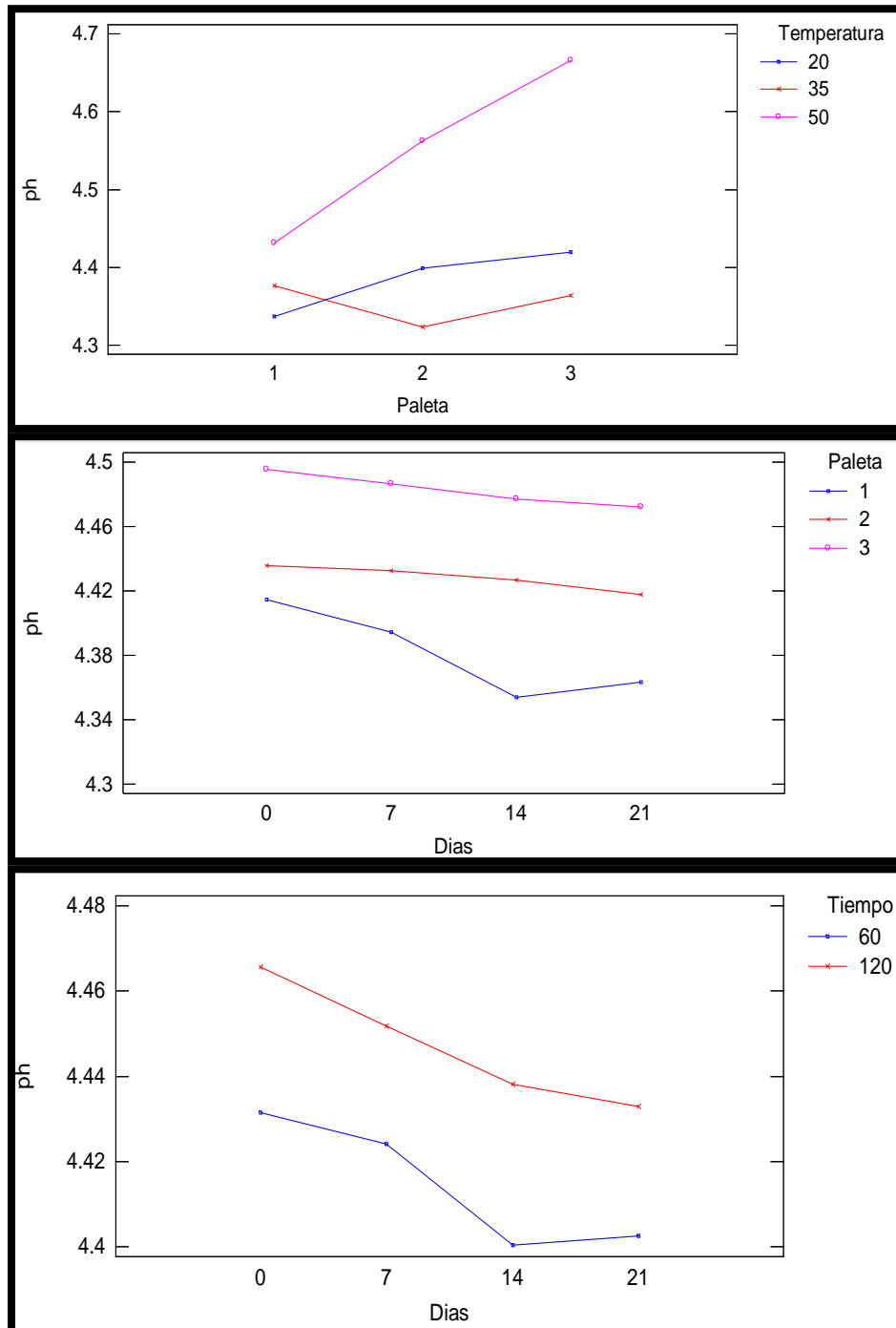
### GRÁFICOS DE INTERACCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

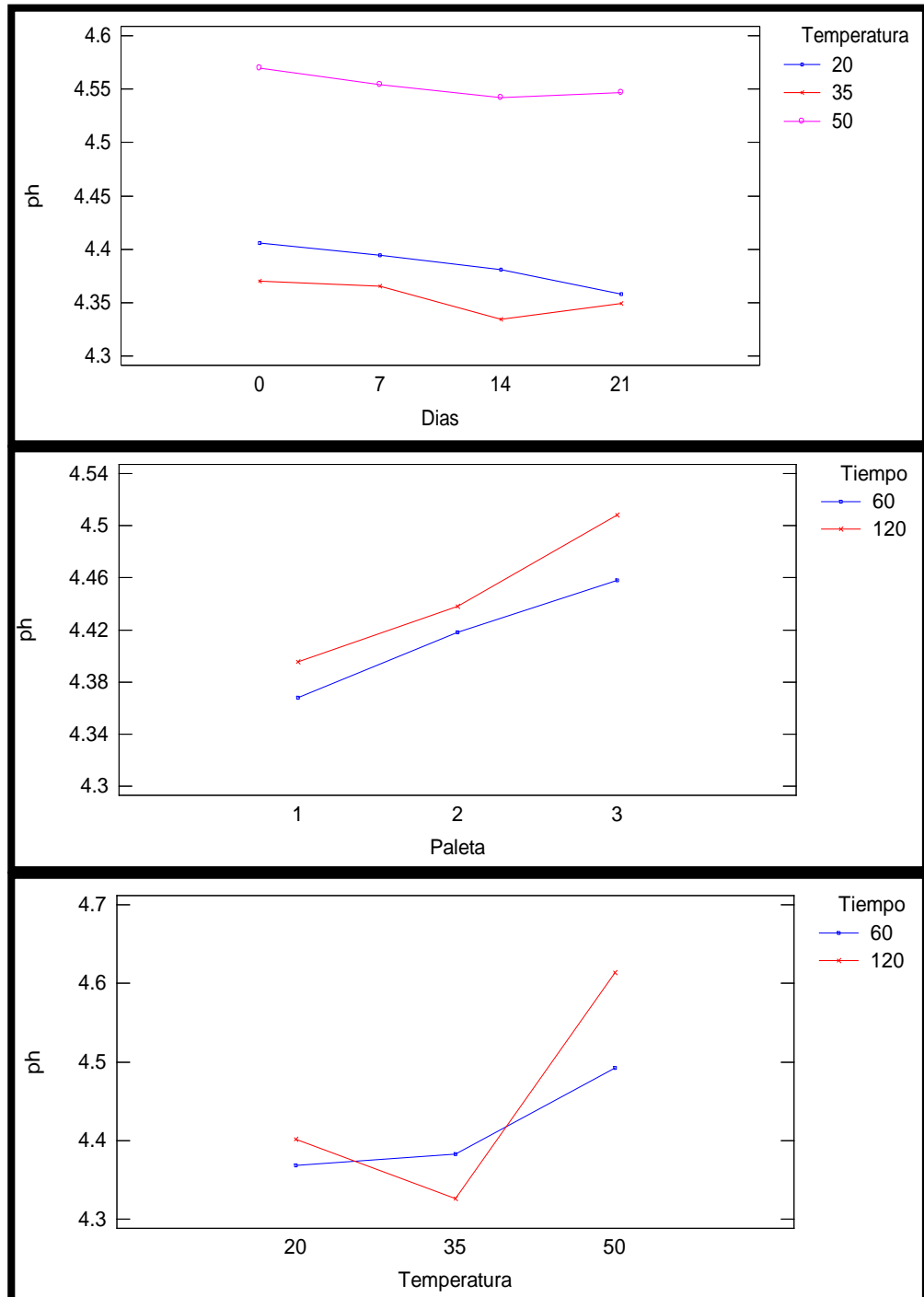
#### 7.1 ACIDEZ



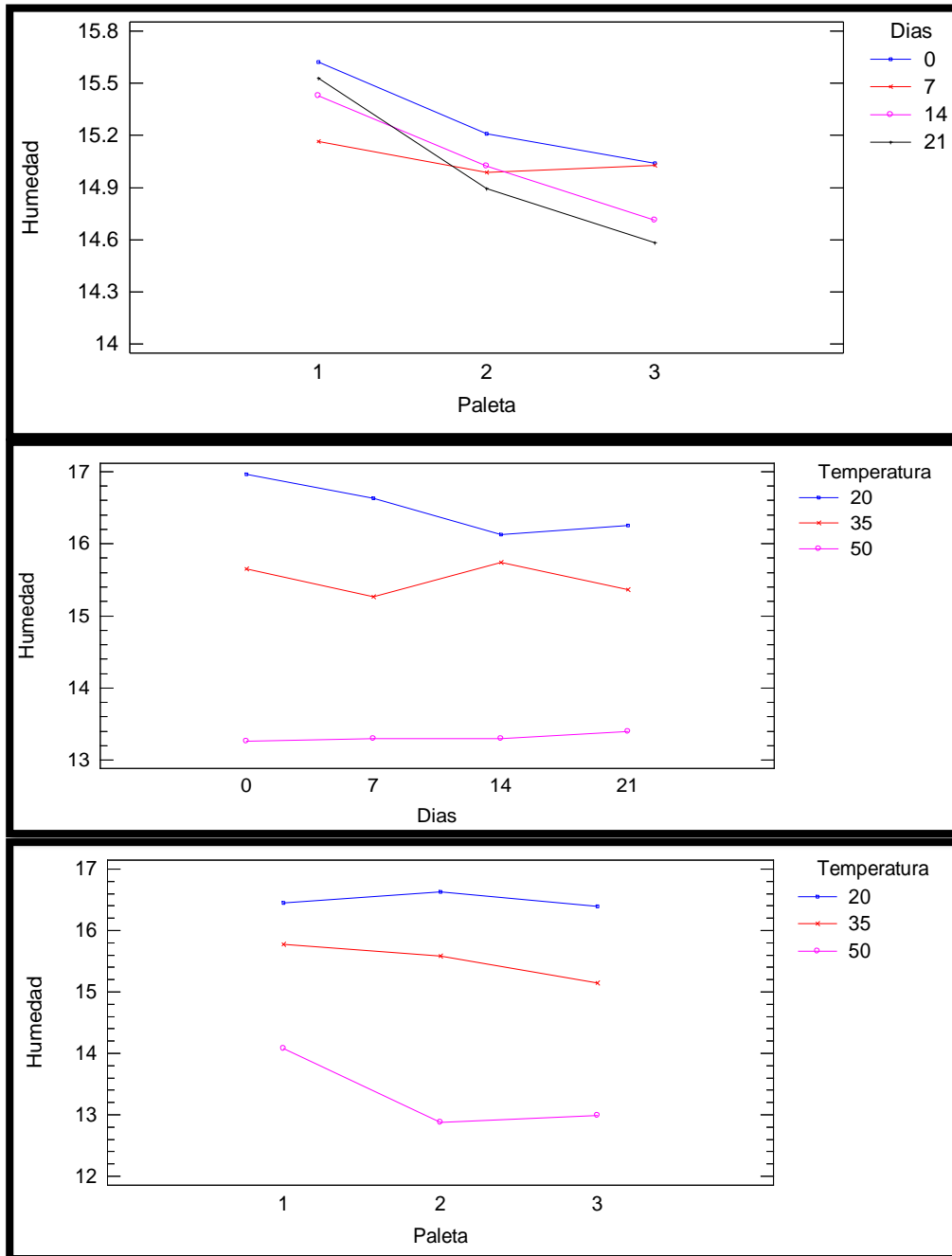


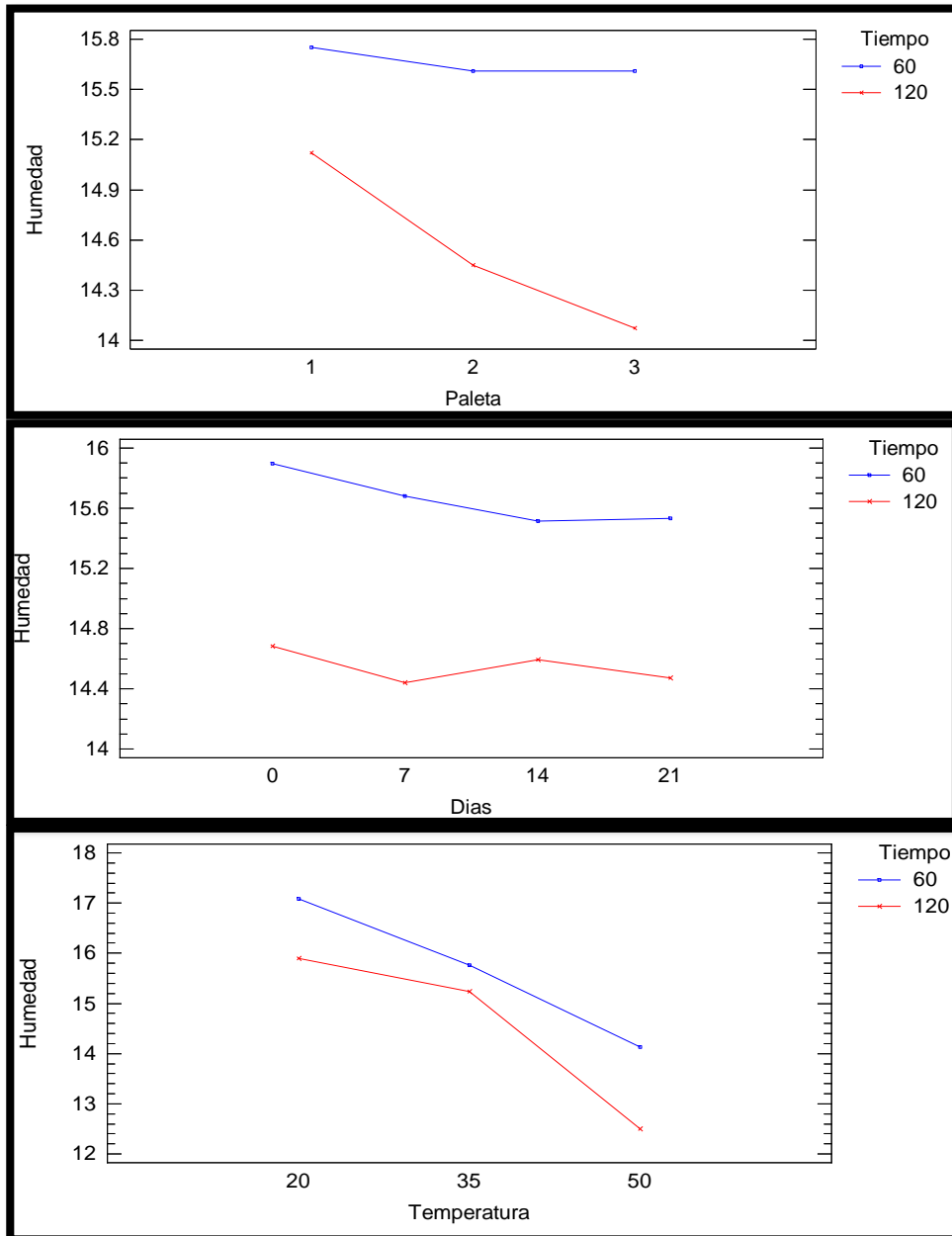
### 7.2 pH



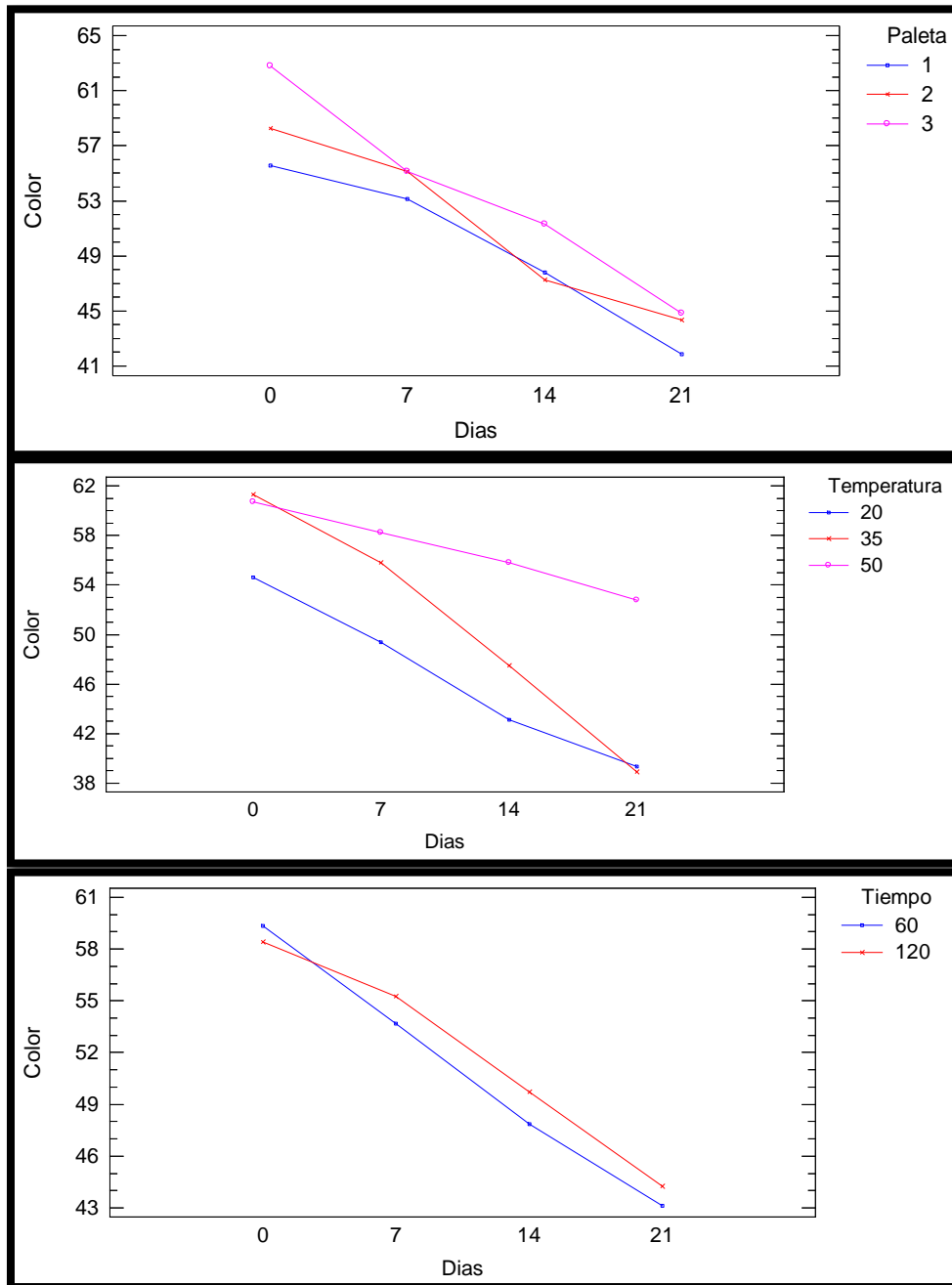


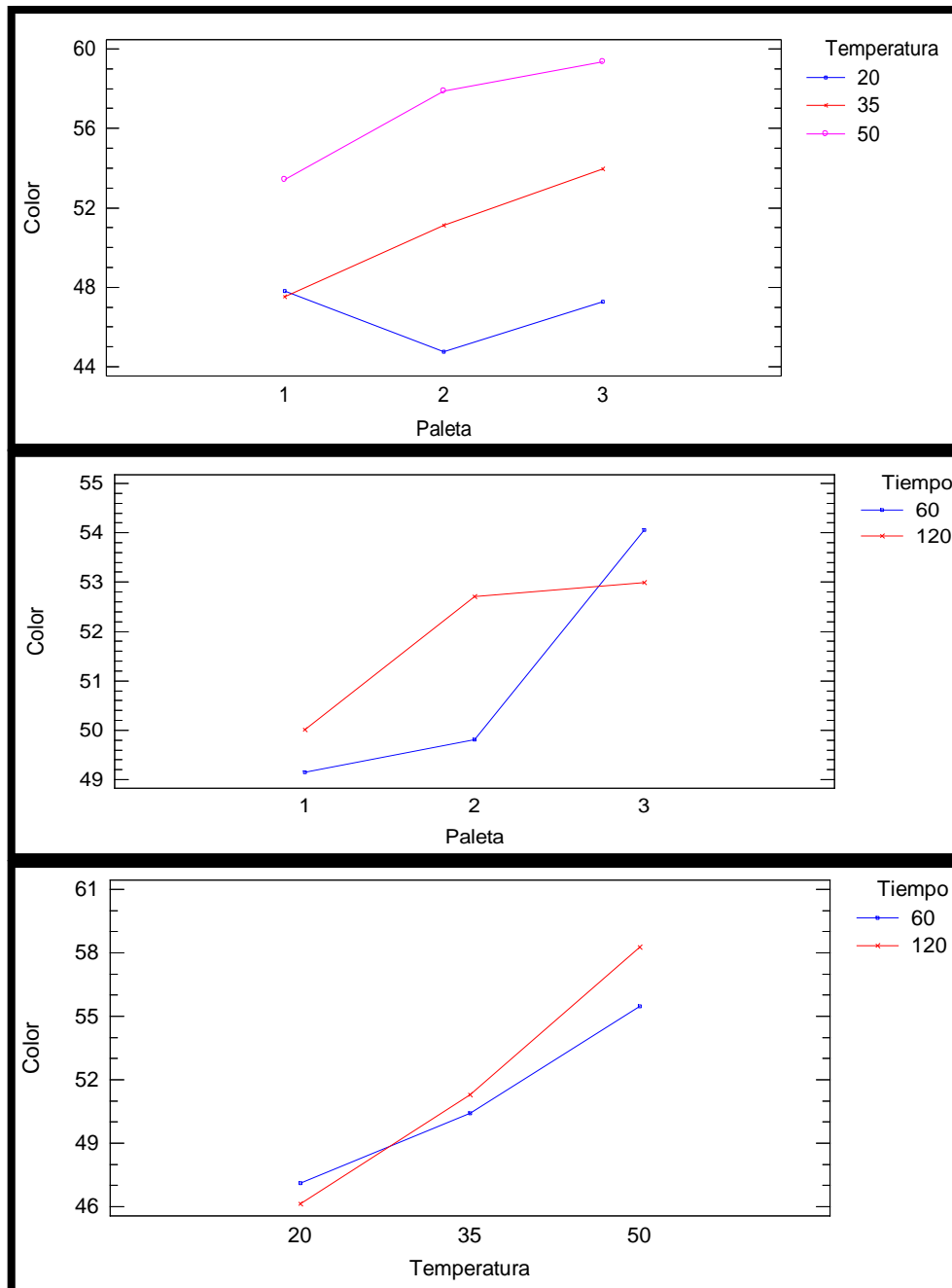
### 7.3 HUMEDAD



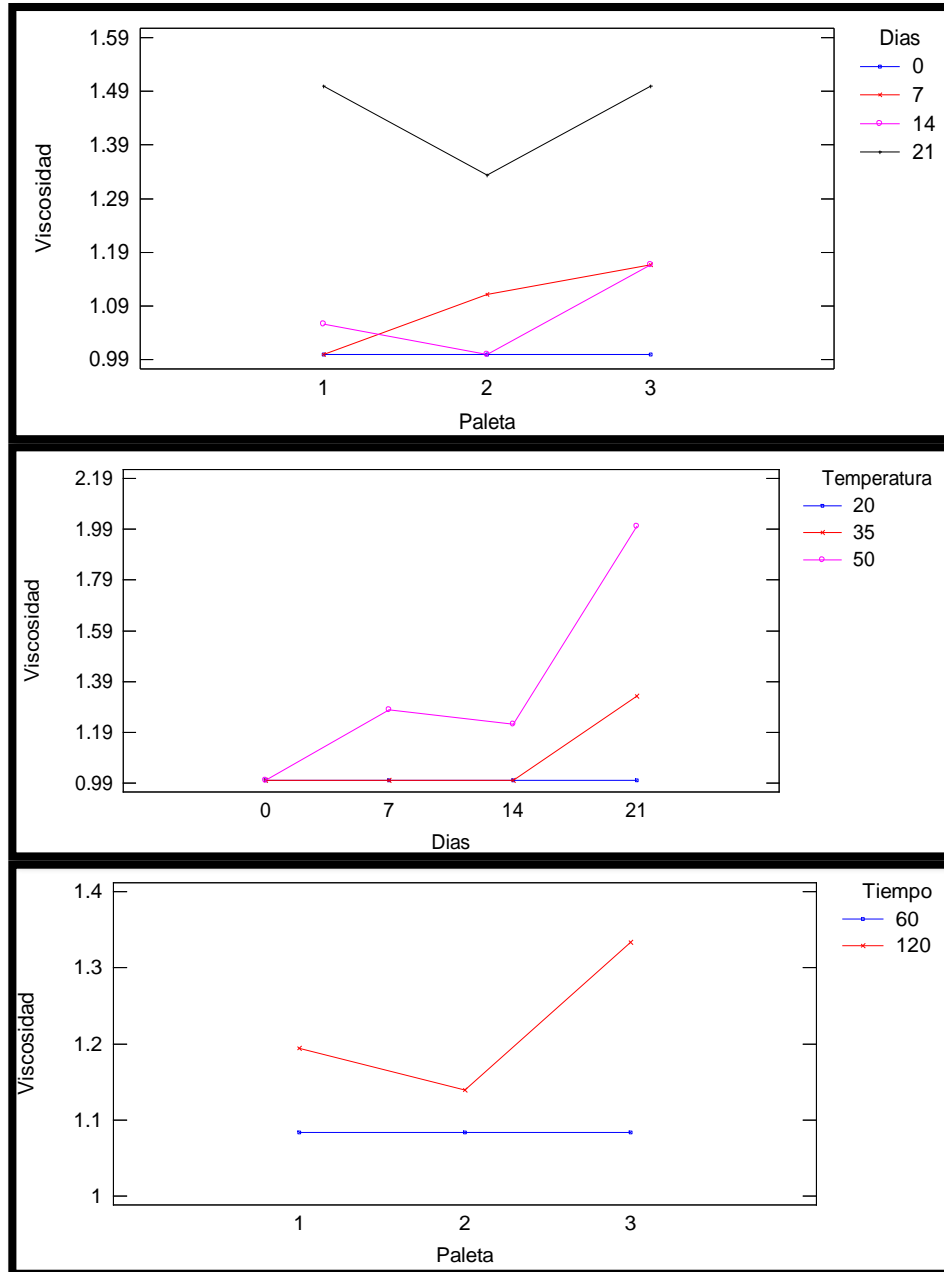


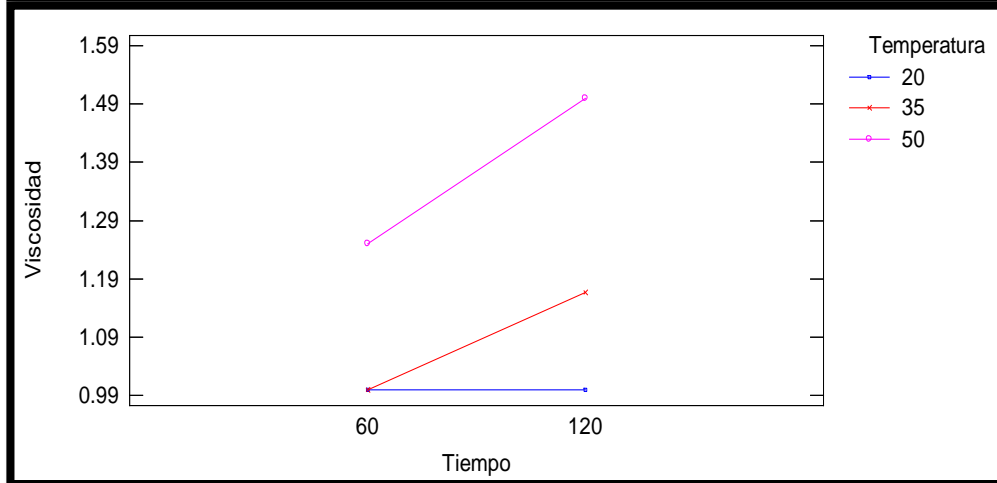
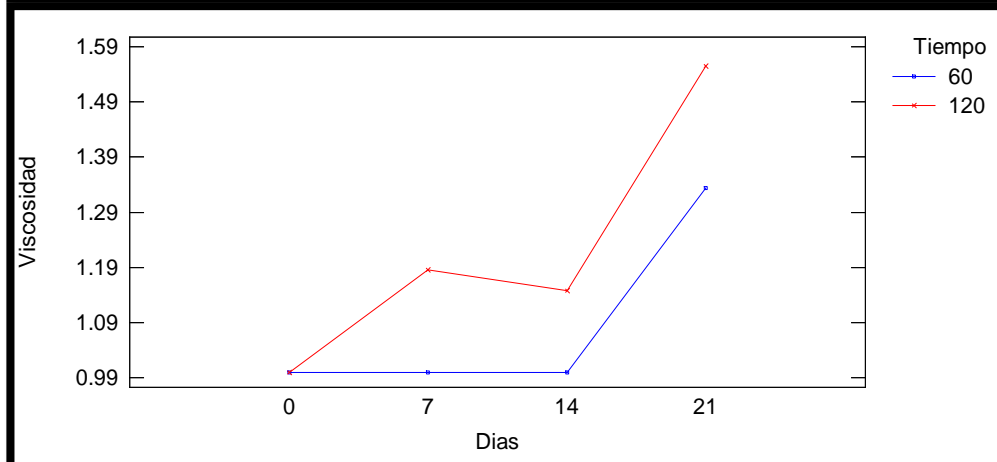
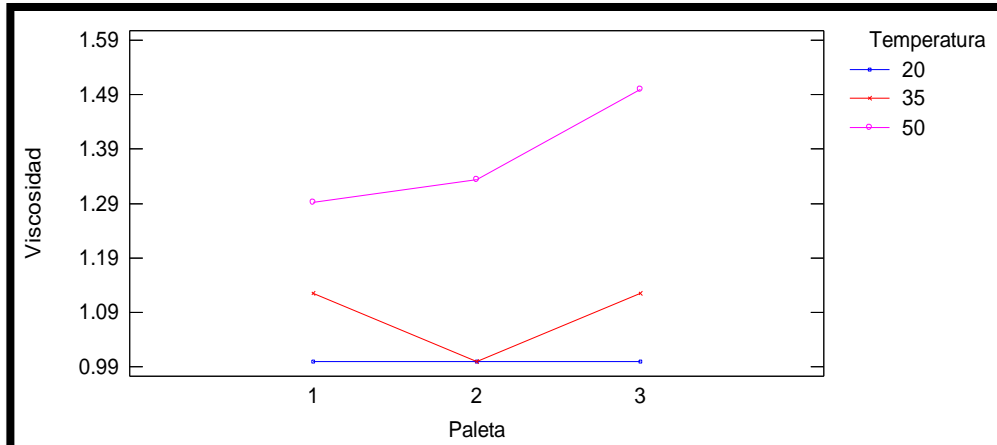
### 7.4 LUMINOSIDAD L\*





### 7.5 VISCOSIDAD

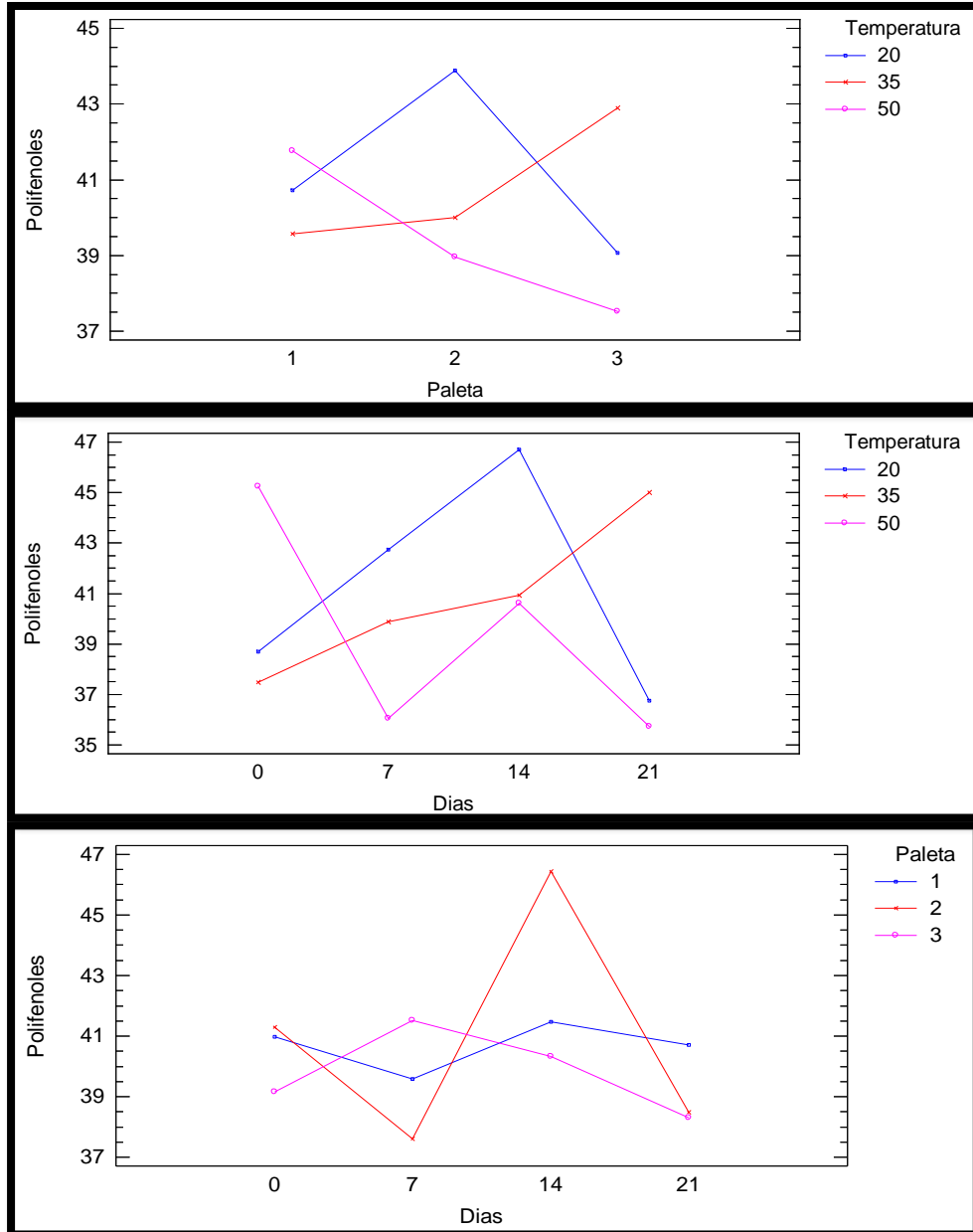


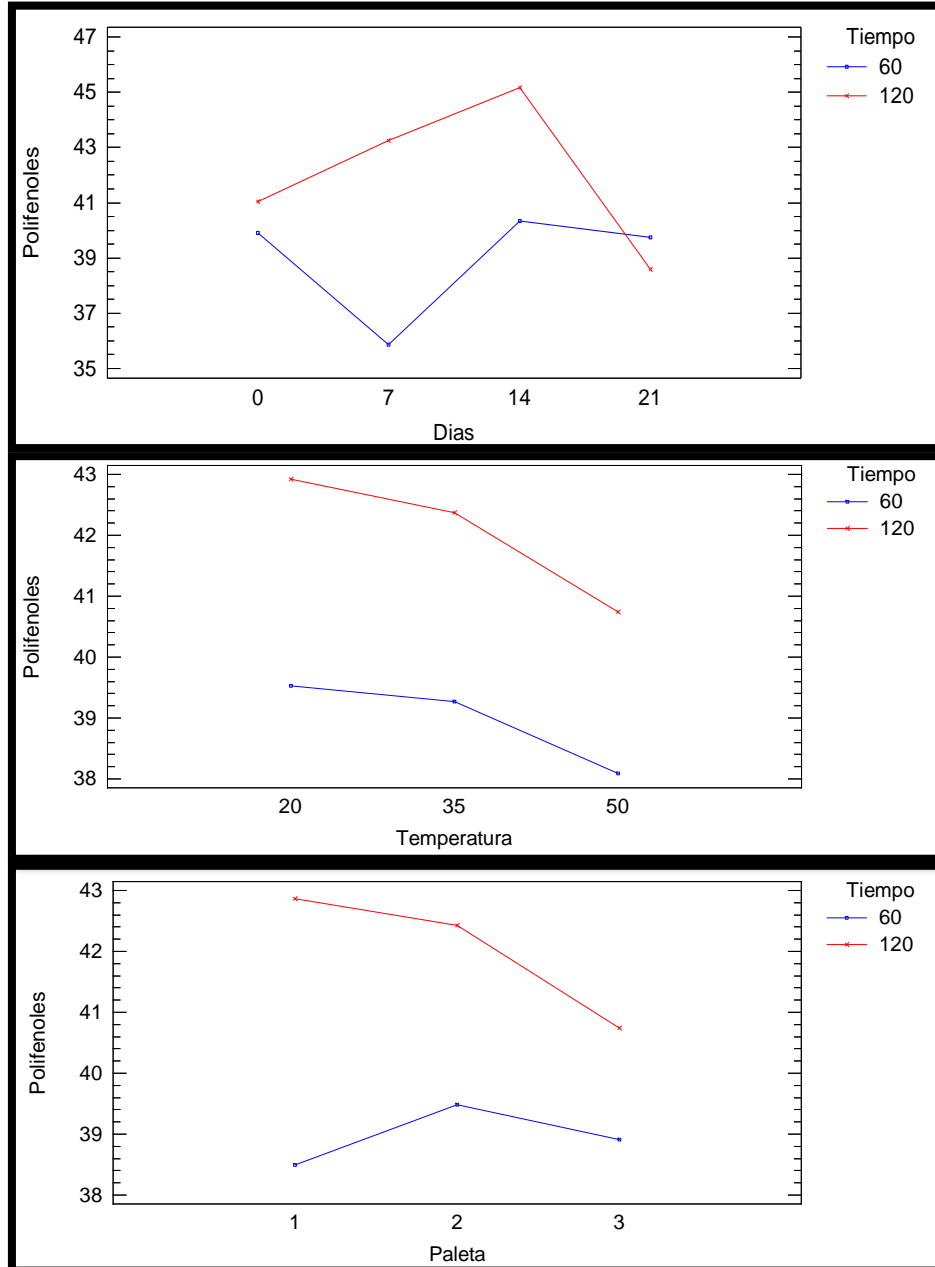


### ANEXO VIII

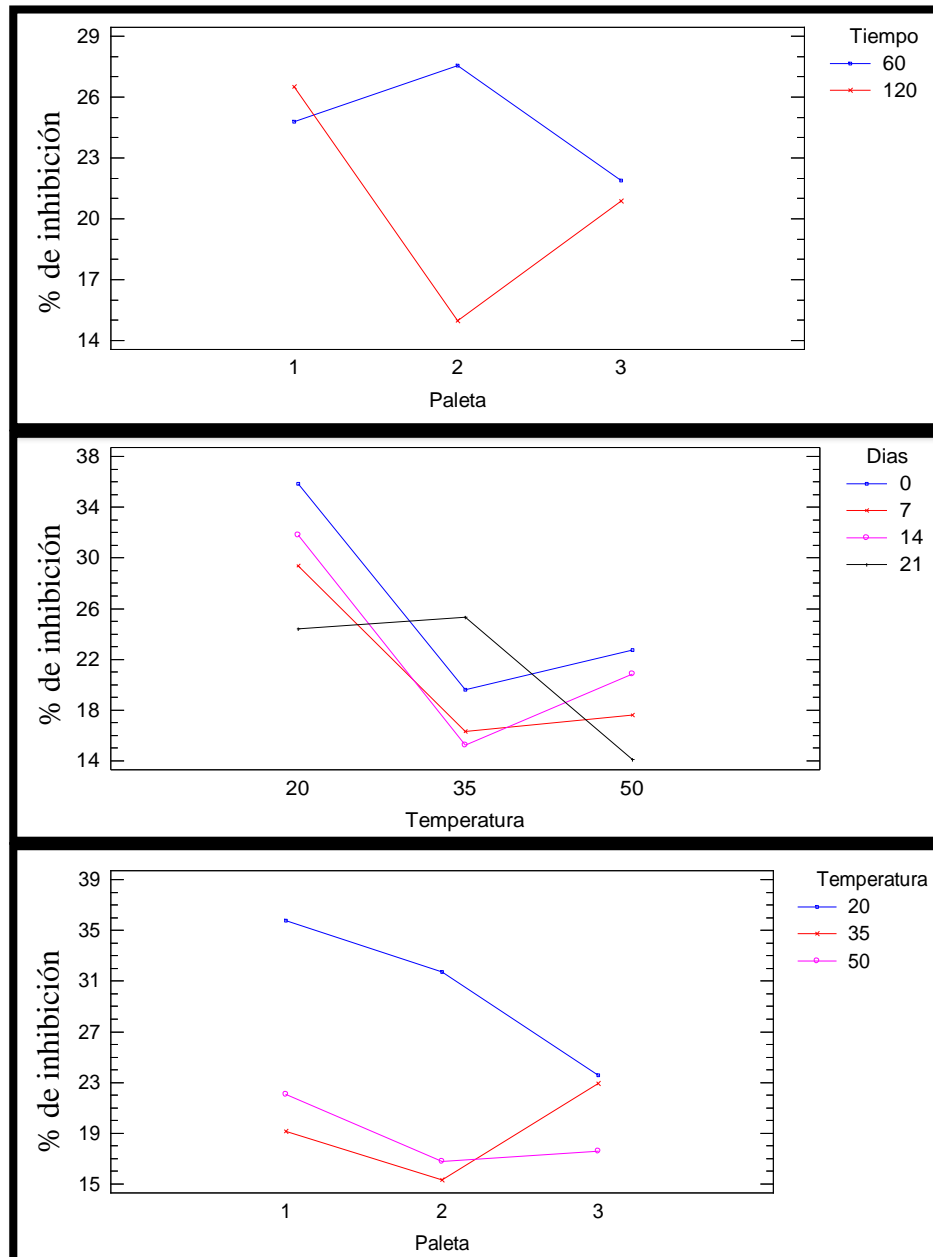
## GRÁFICAS DE INTERACCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

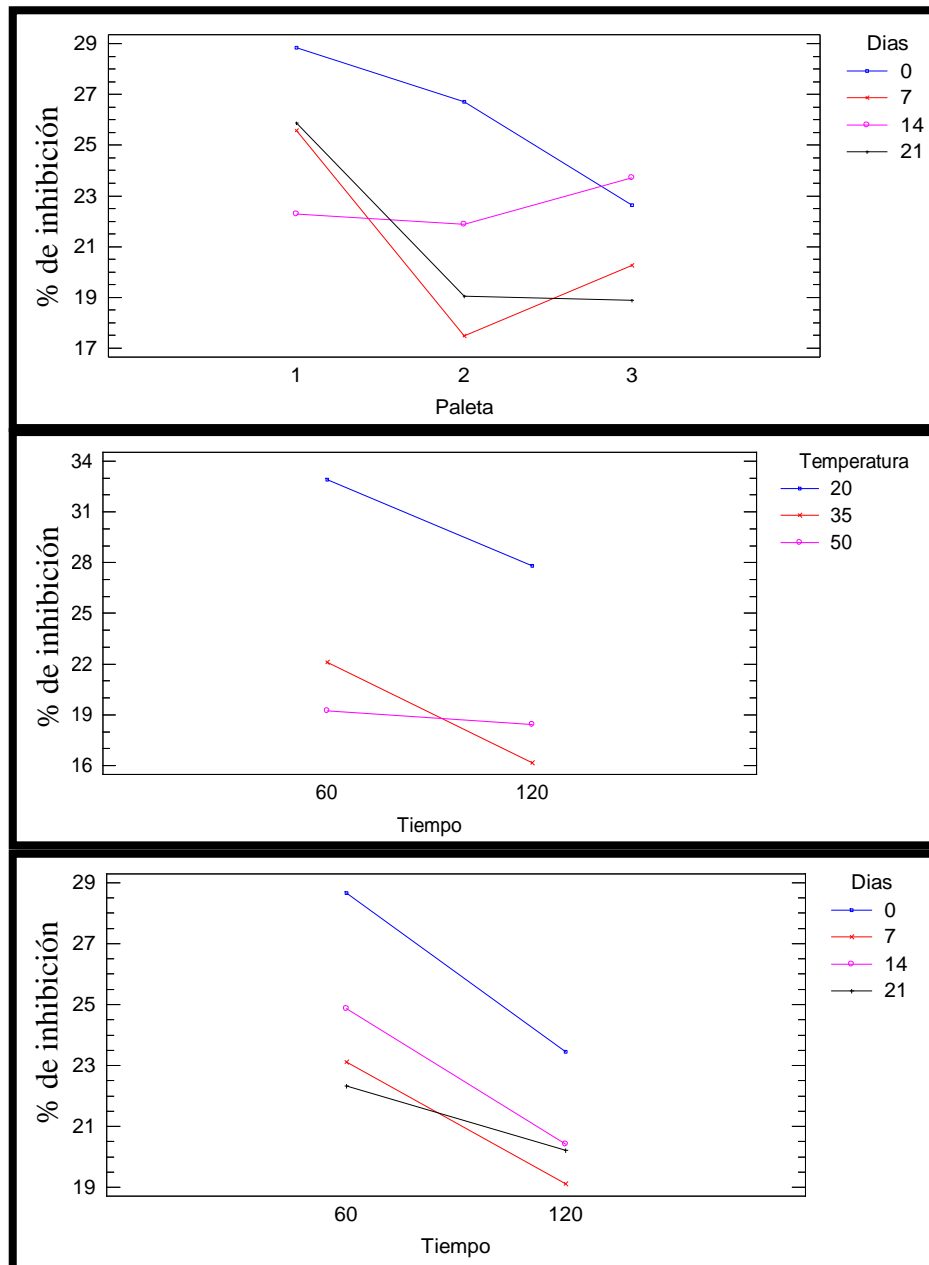
### 8.1 POLIFENÓLES TOTALES





## 8.2 PORCENTAJE DE INHIBICIÓN





## ANEXO IX CURVAS DE CALIBRACIÓN

### 9.1 CURVA ESTÁNDAR DE ÁCIDO GÁLICO

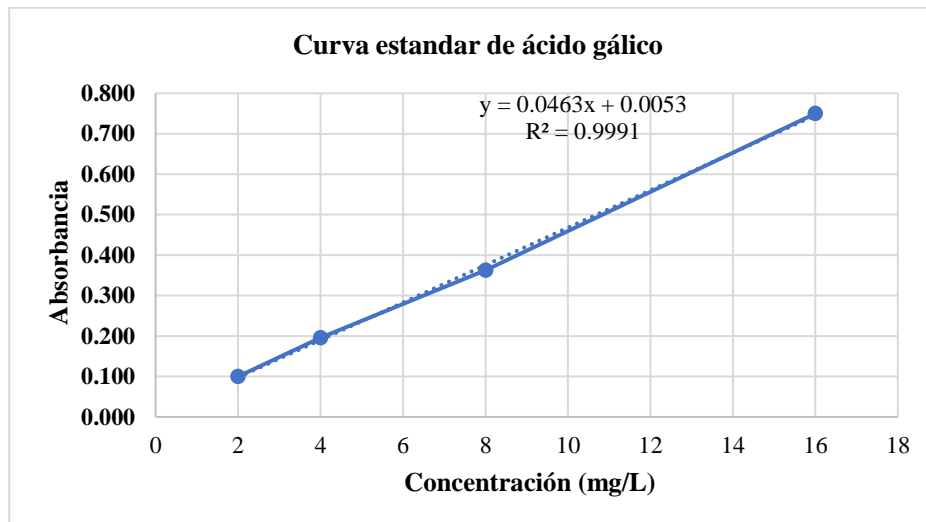


Figura 43 — Curva de calibración de ácido gálico para polifenoles totales

### 9.2 CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX

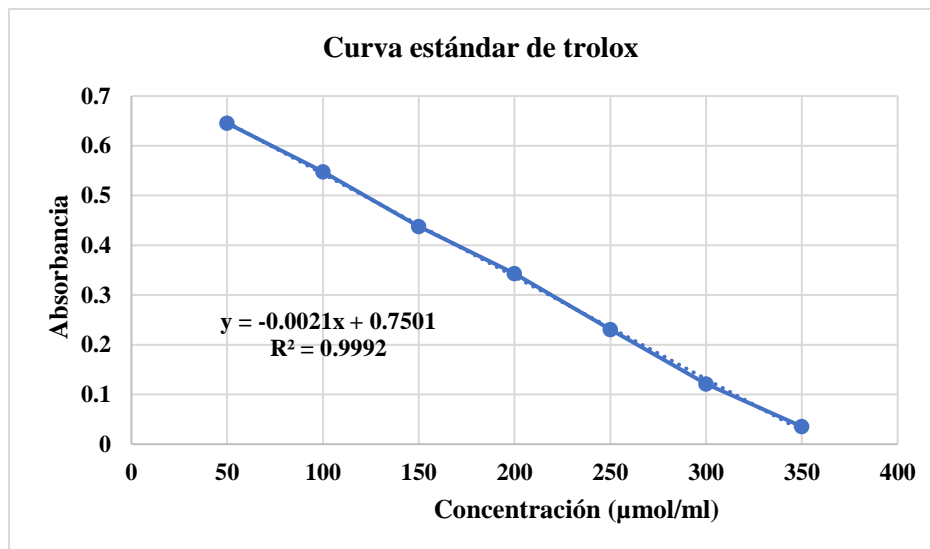


Figura 44 — Curva de calibración de Trolox para la capacidad antioxidante

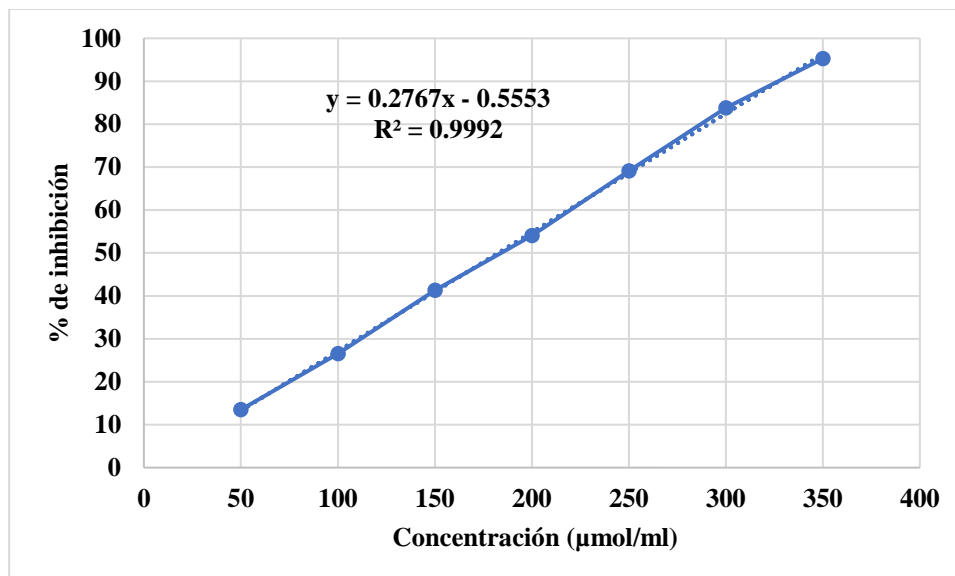


Figura 45 — Porcentaje de inhibición en función a la concentración del estándar Trolox

## ANEXO X PANEL FOTOGRÁFICO

### MATERIA PRIMA



Foto 1: Miel cristalizada

## ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA



Foto 2: Calcinación de la muestra



Foto 3: Muestras calcinadas

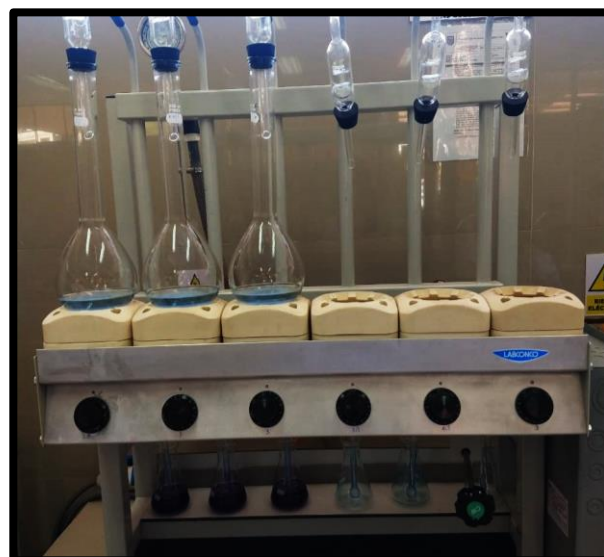
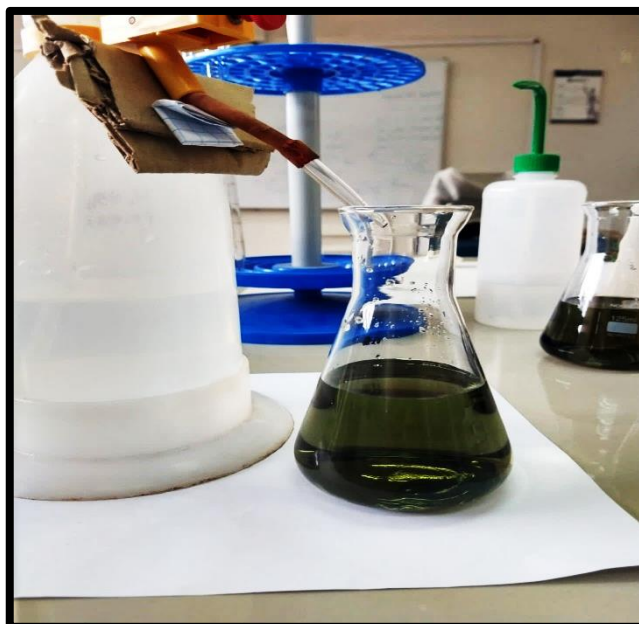


Foto 4: Proceso de digestión y destilación para la determinación de proteínas de la materia prima



**Foto 5: Titulación de las muestras con ácido sulfúrico**

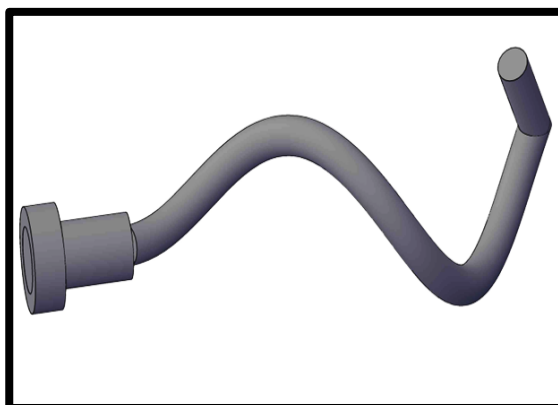


**Foto 6: Determinación de grasas por Soxhlet**



**Foto 7: Medición de viscosidad**

## TIPOS DE PALETAS QUE SE UTILIZARON PARA LA OBTENCIÓN DE LOS 18 TRATAMIENTOS



**Foto 8: Paleta gancho amasador (1)**

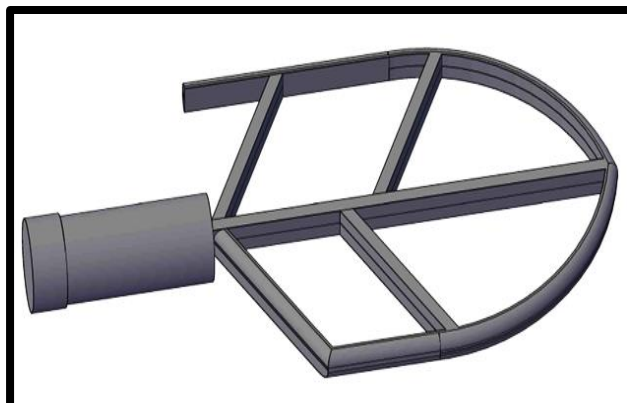


Foto 9: Paleta plana (2)

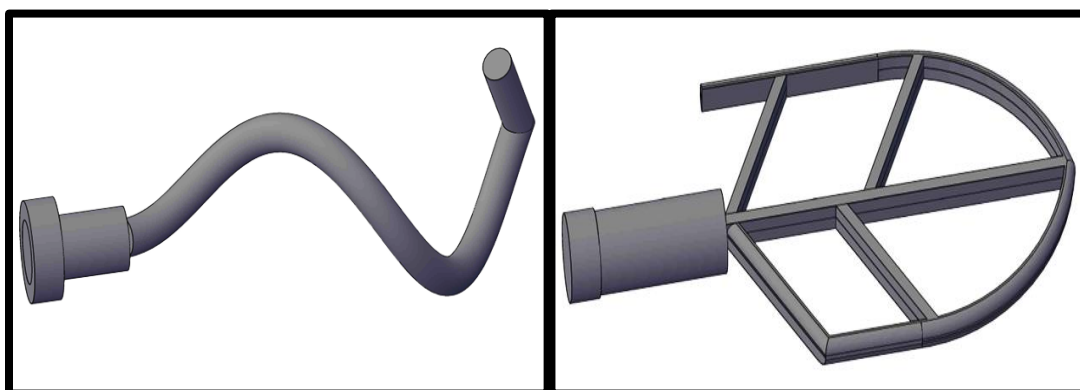


Foto 10: Combinación del gancho amasador y paleta plana (3)

### PROCESO DE EMULSIFICADO DE MIEL CREMA



Foto 11: Miel cristalizada



Foto 12: Emulsificado de la miel



Foto 13: Miel crema

## TRATAMIENTOS



Foto 14: Tratamiento 1

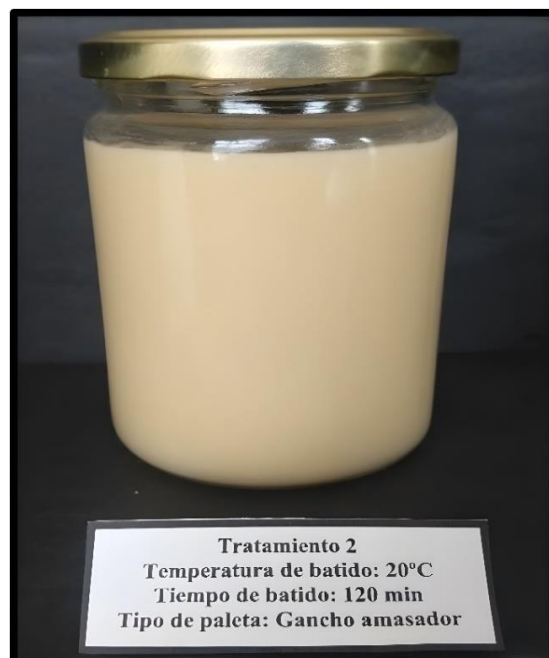


Foto 15: Tratamiento 2



Foto 16: Tratamiento 3



Foto 17: Tratamiento 4



Foto 18: Tratamiento 5



Foto 19: Tratamiento 6



Foto 20: Tratamiento 7



Foto 21: Tratamiento 8



Foto 22: Tratamiento 9

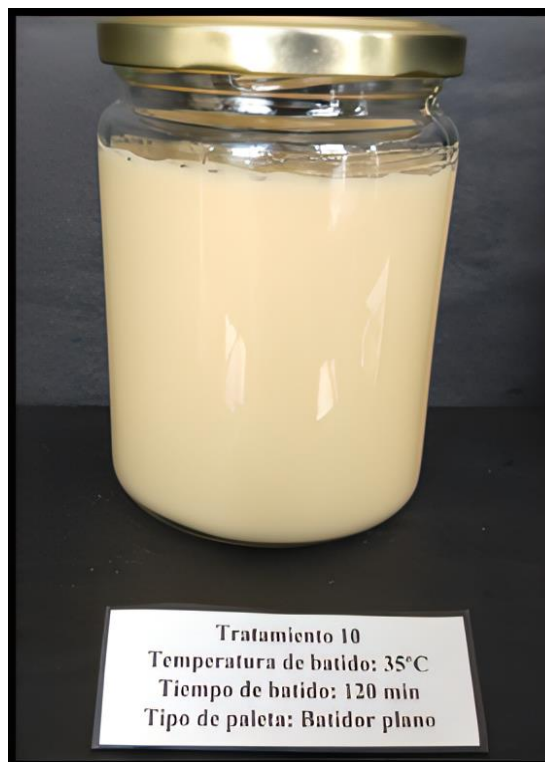


Foto 23: Tratamiento 10



Foto 24: Tratamiento 11



Foto 25: Tratamiento 12

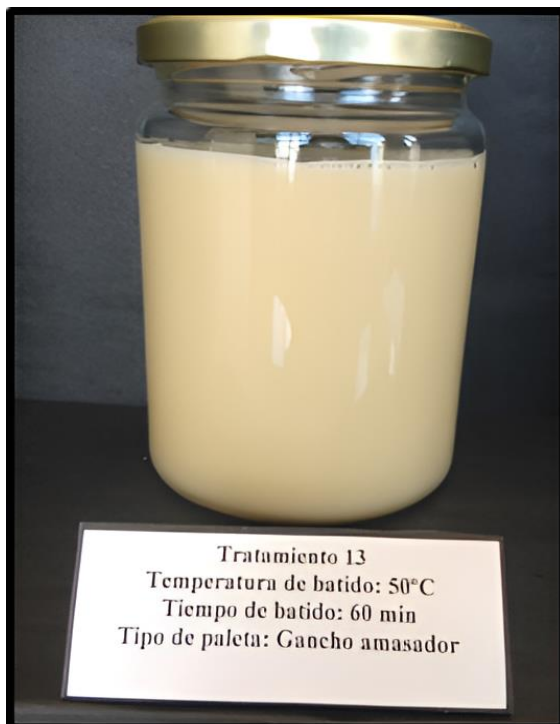


Foto 26: Tratamiento 13



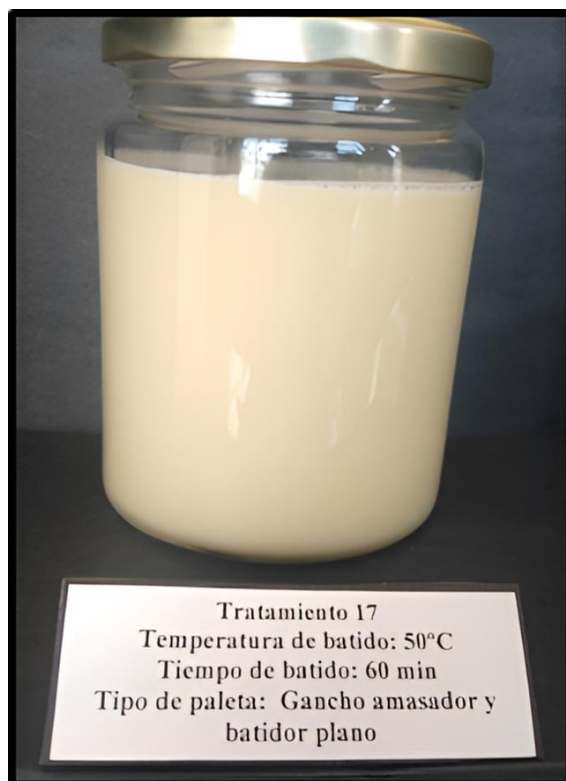
Foto 27: Tratamiento 14



Foto 28: Tratamiento 15



Foto 29: Tratamiento 16



**Foto 30: Tratamiento 17**



**Foto 31: Tratamiento 18**