



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación del proceso de cristalización inducida en miel de plantaciones forestales de *Acacia mangium*

Armando Daniel Ochoa Castro

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
Bogotá D.C., Colombia
2023

Evaluación del proceso de cristalización inducida en miel de plantaciones forestales de *Acacia mangium*

Armando Daniel Ochoa Castro

Trabajo final de maestría presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Director (a):

PhD. Amanda Consuelo Díaz Moreno

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Bogotá D.C., Colombia

2023

A mi madre, a quien le debo todo y más, y sin su ayuda este no sería posible.

A mis hermanas, por su comprensión y paciencia.

A mi familia, por estar siempre en mis alegrías y más en mis tristezas.

A la memoria de mi padre...

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Nombre: Armando Daniel Ochoa Castro

Fecha 13/04/2023

Fecha

Resumen

Título en español: Evaluación del proceso de cristalización inducida en miel de plantaciones forestales de *Acacia mangium*

***Descripción:**

La miel sufre un proceso de cristalización natural al ser una solución sobresaturada en glucosa. La velocidad de este proceso depende esencialmente de su composición química, aunque los procesos tecnológicos (tratamientos físicos y térmicos) también son importantes. La miel proveniente de plantaciones forestales de *Acacia mangium* en Vichada es un producto que tiende a formar rápidamente cristales de dimensiones visibles, lo que afecta su comercialización. La cristalización inducida o granulación es una alternativa para controlar la tasa de crecimiento (tamaño y forma cristalina) y de nucleación (número de cristales). En ella se adiciona a la miel una sustancia semilla o inoculante (azúcares o miel) con cristales de menores dimensiones y se hace agitación con el fin de conferirle características físicas y texturales deseables. El objetivo fue evaluar el proceso de cristalización inducida en este tipo de miel. Inicialmente se analizó la correlación entre variables de respuesta actividad de agua, turbidez (absorbancia a 660 nm), color (L^* , a^* , b^* , matiz, croma) y textura (firmeza y cohesividad). Posteriormente se optimizó el proceso de granulación para poder lograr un producto con una similitud en las variables medidas respecto a la miel empleada como "testigo comercial" utilizando un diseño Box-Behnken, con parámetros el tiempo (1, 5 y 10 min) y velocidad de agitación (250, 500 y 750 rpm) y porcentaje de semilla inoculada (0, 5 y 10%). Además, se determinaron las diferencias respecto a la miel sin agitación y sin inoculación (testigo control o cristalización natural no dirigida) y a la miel usada como semilla (testigo comercial y con las propiedades organolépticas deseadas). La actividad de agua de todas las muestras aumenta con el tiempo con valores entre $0,573 \pm 0,011$ y $0,613 \pm 0,009$, estabilizando su valor desde el día 15 de almacenamiento. Se observaron variaciones importantes en los valores de los

componentes cromáticos a^* y b^* entre los tratamientos con una proporción elevada de inoculante en comparación con las muestras que tenían una cantidad menor de miel semilla añadida. De la misma forma, la turbidez de los tratamientos (pasados 15 días de almacenamiento a temperatura controlada de $14\pm 1^\circ\text{C}$) fue en promedio $2,72\pm 0,028$ unidades de absorbancia a 660 nm, tendiendo a tener valores similares a los de la miel con cristalización natural. La firmeza y la cohesividad de las muestras sin adición de miel semilla tenían un valor de hasta dos órdenes de magnitud inferiores en comparación al resto de tratamientos. Por otro lado, se encontró una correlación significativa entre variables como la absorbancia con la firmeza ($r^2=0,75^{***}$) o la cohesividad ($r^2=0,74^{***}$), mostrando cómo el cambio en las propiedades texturales está relacionado con la formación de cristales medida por la turbidez. Además, el factor semilla es mucho más significativo que la velocidad o el tiempo de agitación, con lo cual implica que en la granulación en esta miel es más importante la velocidad de nucleación que la de crecimiento. Con el PCA se establecieron tres componentes: el primero está más fuertemente influenciado por las variables texturales y la actividad de agua, y explica el 43,9% de la varianza observada; el segundo componente está más definido por las coordenadas de color (24,6%). Al realizar la optimización se encontró que el procedimiento óptimo estaba definido por tiempo de 2,5 min, velocidad de 850 rpm y porcentaje de semilla del 7%. Una vez definido el tratamiento óptimo se procedió a evaluar la variación de propiedades texturales, colorimétricas, micromorfológicas, calorimétricas y reológicas durante el tiempo de almacenamiento a $14\pm 1^\circ\text{C}$ y en oscuridad. En este caso, la actividad de agua (de $0,546\pm 0,001$ en el día inicial a $0,557\pm 0,002$ en el 18), la turbidez (absorbancia de $3,27\pm 0,01$ en el día 18), el diámetro ponderado medio, la firmeza ($30.967,0\pm 2400,0$ g en el día 15) y la cohesividad ($86.411,0\pm 9465,0$ g s en el día 15) aumentaron con el tiempo. Las coordenadas CIELab y los índices de color no presentaron diferencias significativas excepto el ángulo de matiz que aumentó. La entalpía de la miel aumentó a 550 kW/g en el último día de evaluación con temperaturas de fusión entre 40 y 60°C . La reología siguió los comportamientos esperados para el módulo de pérdida (G'') y almacenamiento (G'). Con todo lo anterior, se observó que en miel de *Acacia mangium* la cristalización está controlada por el crecimiento, de tal manera que aumentando la cantidad de núcleos mejora las propiedades sensoriales.

Palabras clave: miel, cristalización inducida, optimización

Abstract

Evaluation of the induced crystallization process in honey from forest plantations of *Acacia mangium*

Honey experiments a natural crystallization process as it is a supersaturated glucose solution. The speed of this process essentially depends on its chemical composition, although the technological processes (physical and thermal treatments) are also important. Honey from *Acacia mangium* forest plantations in Vichada is a product that tends to quickly form crystals of visible dimensions, which affects its commercialization. Induced crystallization or granulation is an alternative to control the rate of growth (size and crystalline shape) and nucleation (number of crystals). In the commercial way, a seed or inoculant substance (sugars or honey) with smaller crystals is added to the honey and agitation is done in order to confer desirable physical and textural characteristics. The objective was to evaluate the crystallization process induced in this type of honey. Initially, the correlation between response variables water activity, turbidity (absorbance at 660 nm), color (L^* , a^* , b^* , hue, chroma) and texture (firmness and cohesiveness) was analyzed. Subsequently, the granulation process was optimized in order to achieve a product with similar measured variables with respect to the honey used as "commercial control" using a Box-Behnken design, with parameters of time (1, 5 and 10 min) and the shaking speed (250, 500 and 750 rpm) and percentage of inoculated seed (0, 5 and 10%). In addition, the differences were determined with respect to honey without agitation and without inoculation (control control or undirected natural crystallization) and honey used as seed (commercial control and with the desired organoleptic properties). The water activity of all the samples increases with time with values between 0.573 ± 0.011 and 0.613 ± 0.009 , stabilizing its value from day 15 of storage. Significant variations in the values of the chromatic components a^* and b^* were observed between the treatments with a high proportion of inoculant compared to the samples that had a lower amount of honey added. In the same way, the turbidity of

the treatments (after 15 days of storage at a controlled temperature of $14\pm 1^{\circ}\text{C}$) was on average 2.72 ± 0.028 absorbance units at 660 nm, tending to have values similar to those of honey with natural crystallization. The firmness and cohesiveness of the samples without the addition of seed molasses had a value of up to two orders of magnitude lower compared to the rest of the treatments. On the other hand, a significant correlation was found between variables such as absorbance with firmness ($r^2=0.75^{***}$) or cohesiveness ($r^2=0.74^{***}$), showing how the change in textural properties is related to crystal formation as measured by turbidity. In addition, the seed factor is much more significant than the speed or the agitation time, which implies that in the granulation in this honey the speed of nucleation is more important than that of growth. With the PCA, three components were established: the first is more strongly influenced by textural variables and water activity, and explains 43.9% of the observed variance; the second component is more defined by color coordinates (24.6%). When performing the optimization, it was found that the optimal procedure was defined by a time of 2.5 min, a speed of 850 rpm and a seed percentage of 7%. Once the optimal treatment was defined, we proceeded to evaluate the variation of textural, colorimetric, micromorphological, calorimetric and rheological properties during the storage time at $14\pm 1^{\circ}\text{C}$ and in the dark. In this case, the water activity (from 0.546 ± 0.001 on the initial day to 0.557 ± 0.002 on the 18th), the turbidity (absorbance of 3.27 ± 0.01 on the 18th day), the mean weighted diameter, the firmness ($30,967.0\pm 2400.0$ g on day 15) and cohesiveness ($86,411.0\pm 9465.0$ g s on day 15) increased over time. The CIELab coordinates and the color indices did not present significant differences except for the hue angle that increased. The enthalpy of honey increased to 550 kW/g on the last day of evaluation with melting temperatures between 40 and 60°C . The rheology followed the expected behaviors for the modulus of loss (G'') and storage (G'). With all of the above, it was observed that crystallization in *Acacia mangium* honey is controlled by growth, in such a way that increasing the number of nuclei improves sensory properties.

Keywords: honey, induced crystallization, optimization

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras	XV
Lista de tablas	XVIII
Introducción	1
1. Cristalización natural e inducida en miel	5
1.1 Química de la cristalización de la miel	6
1.1.1 Composición	6
1.1.2 Solubilidad	7
1.1.3 Proceso de cristalización	9
1.1.4 Estado físico	11
1.2 Mecanismo de la cristalización	12
1.2.1 Desarrollo de la fuerza impulsora.	12
1.2.2 Nucleación	14
1.2.3 Crecimiento	17
1.3 Factores que afectan la cristalización	19
1.3.1 Factores químicos	19
1.3.2 Factores físicos.....	22
1.3.3 Núcleos de cristalización y semilla.....	26
1.4 Cristalización inducida o Granulación en miel	27
1.4.1 Miel granulada o cremosa.....	27
1.4.2 Miel co-cristalizada.	30
1.5 Productos esparcibles a base de miel	31
1.5.1 Esparcible de miel	31
1.5.2 Basados en fruta.....	32
1.5.3 Basados en grasa.....	32
2. Correlación de parámetros de cristalización inducida con propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la miel de <i>Acacia mangium</i>	33
2.1 Materiales y métodos	34
2.1.1 Preparación de la muestra	34
2.1.2 Parámetros analizados	36
2.1.3 Análisis estadístico	44
2.2 Resultados y discusión.....	48
2.2.1 Datos exploratorios.....	48
2.2.2 Análisis multivariado	63

2.2.3 Optimización de los parámetros de proceso.....	69
2.3 Conclusión parcial.....	77
3. Cambios fisicoquímicos y sensoriales en el proceso de cristalización inducida de miel de plantaciones forestales de <i>Acacia mangium</i>.....	79
3.1 Materiales y métodos.....	81
4. Conclusiones y recomendaciones	115
4.1 Conclusiones	115
Bibliografía	117

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Solubilidad de fructosa, glucosa y sacarosa en agua. Se presenta únicamente de la forma más importante a la temperatura analizada	8
Figura 2-1. Agitador RW20	35
Figura 2-2. Incubadora de CO ₂	36
Figura 2-3. Medidor de actividad de agua	37
Figura 2-4 Espectrofotómetro UV-Visible Jasco V-730	41
Figura 2-5. Texturómetro TA.X Analyzer.....	42
Figura 2-6. Recipientes utilizados en el análisis textural	42
Figura 2-7. Variación en la actividad de agua promedio de miel de plantaciones de Acacia del Vichada sometidas a tratamiento de cristalización inducida	49
Figura 2-8. Comportamiento de los tratamientos de cristalización inducida en la actividad de agua después de 40 días de almacenamiento*	51
Figura 2-9. Comportamiento a los 40 días de almacenamiento de las coordenadas CIELab a* (rojo-verde), b* (amarillo-azul) y L* (luminosidad) en los tratamientos de cristalización inducida en miel proveniente de plantaciones de <i>Acacia mangium</i> en Vichada	52
Figura 2-10. Comportamiento del color a los 40 días de almacenamiento en los tratamientos de cristalización inducida evaluados en sistema CIELab	54
Figura 2-11. Comparación en el ángulo de matiz (hue °h) y el croma (C*) para las muestras de miel sometidas a tratamientos de cristalización inducida (tiempo y velocidad de agitación y porcentaje de miel semilla añadida) a los 40 días de almacenamiento	55
Figura 2-12. Comportamiento del Índice de Blanqueamiento y de amarillamiento a los 40 días de almacenamiento con la adición de semilla, la velocidad y tiempo de agitación ..	57
Figura 2-13. Cambios en la diferencia de color total a los 40 días de almacenamiento respecto a la miel de Acacia sin tratar (color azul) y la miel usada como semilla (color verde)	58
Figura 2-14. Cambios de la turbidez a 40 días de almacenamiento entre tratamientos .	59
Figura 2-15. Variación de la firmeza a los 40 días de almacenamiento entre tratamientos de cristalización inducida en miel de Acacia de Vichada	61
Figura 2-16. Variación de la consistencia a los 40 días de almacenamiento entre tratamientos de cristalización inducida en miel de Acacia de Vichada	62
Figura 2-17. Análisis de correlación de Pearson para las variables analizadas con coeficientes de regresión para un modelo lineal de primer orden	63

Figura 2-18. Gráfico biplot de variables medidas y muestras consideradas al inicio y al final de los procesos de cristalización inducida con tablas anexas de convenciones para individuos y variables	67
Figura 2-19. Superficies de optimización de los parámetros de proceso para la absorbancia a 660 nm de miel con cristalización inducida a los 40 días de almacenamiento.....	72
Figura 2-20. Comportamiento de las superficies de optimización de la firmeza respecto a los factores evaluados	73
Figura 2-21. Superficies de respuesta para b^* en relación a los parámetros de cristalización inducida en miel de <i>Acacia mangium</i> del Vichada	74
Figura 2-22. Función de deseabilidad	76
Figura 3-1 Microscopio ZEISS Axioscope 5	83
Figura 3-2. Equipo DSC	85
Figura 3-3. Reómetro rotacional.....	86
Figura 3-4. Comportamiento de la actividad de agua con el tiempo de almacenamiento para miel de <i>Acacia mangium</i>	87
Figura 3-5. Comportamiento de las coordenadas de color con la cristalización.....	89
Figura 3-6. Comportamiento de los componentes de color CIELab (L^* , a^* , b^*) en el tiempo de almacenamiento	90
Figura 3-7. Representación del espacio de color del tratamiento óptimo en el tiempo de almacenamiento.....	91
Figura 3-8. Comportamiento del ángulo de matiz de miel de Acacia sometida a cristalización inducida respecto al tiempo de almacenamiento.....	92
Figura 3-9. Comportamiento de la diferencia de color total de la miel cremada de Acacia de Vichada respecto a la miel sin tratar en el tiempo de almacenamiento.....	93
Figura 3-10. Variación de los índices de blanqueamiento en la cristalización inducida de miel de <i>Acacia mangium</i>	94
Figura 3-11. Variación de los índices de amarillamiento en la cristalización inducida de miel de <i>Acacia mangium</i>	95
Figura 3-12. Comportamiento de la absorbancia a 660 nm de miel de <i>Acacia mangium</i> sometida al tratamiento de cristalización inducida.....	96
Figura 3-13. Cambios en propiedades texturales como firmeza durante el tiempo de almacenamiento.....	97
Figura 3-14. Cambios en propiedades texturales como la consistencia durante el tiempo de almacenamiento.....	98
Figura 3-15. Tamaño relativo de cristales en miel sin tratar en micrografías a 20X	99
Figura 3-16. Micrografía 20x de miel recién inoculada con semilla en el proceso de cristalización inducida	100
Figura 3-17. Micrografía 20X de muestra de miel de Acacia con cristalización inducida a los 11 días de almacenamiento.....	101
Figura 3-18. Micrografía de miel cristalizada de <i>Acacia mangium</i> a los 15 días de almacenamiento.....	102
Figura 3-19. Variación de la Distribución granulométrica con el tiempo de almacenamiento.....	103

Figura 3-20 Termogramas de DSC para miel cremada de <i>Acacia mangium</i> de acuerdo con el tiempo de almacenamiento	105
Figura 3-21. Termograma de DSC mostrando la zona de interés con puntos de inflexión y entalpías normalizadas por día para la cristalización inducida de miel de Acacia	106
Figura 3-22. Región viscoelástica lineal para miel cristalizada de <i>Acacia mangium</i>	108
Figura 3-23. Variación del módulo de almacenamiento G' con la frecuencia angular (ω) y con el tiempo de almacenamiento de miel de Acacia con cristalización inducida	109
Figura 3-24. Evolución del módulo de pérdida en el proceso de cristalización inducida a 1, 4, 8, 11 y 15 días de almacenamiento	110
Figura 3-25. Variación del ángulo de fase en el tiempo de almacenamiento y comparación con mieles líquidas.....	111
Figura 3-26. Cambios en la viscosidad compleja con el tiempo de almacenamiento	112

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1 Parámetros fisicoquímicos promedio de las mieles provenientes de plantaciones de <i>Acacia mangium</i> en el dpto de Vichada.....	6
Tabla 1-2 Composición promedio de miel de abejas procedente de plantaciones forestales de <i>Acacia mangium</i> en Vichada.....	7
Tabla 1-3. Fuerza impulsora por tipo de cristalización	13
Tabla 1-4. Índices de cristalización de miel de Vichada provenientes de plantaciones forestales de <i>Acacia mangium</i> (Núcleo Inverbosques).....	19
Tabla 1-5. Valores de glucosa para cristalización de acuerdo a algunos autores	19
Tabla 2-1. Toma de datos de la actividad de agua de acuerdo con el Tiempo de almacenamiento.....	37
Tabla 2-2. Significado de la diferencia de color total	38
Tabla 2-3. Variables medidas en colorimetría	39
Tabla 2-4. Definición de tratamientos	44
Tabla 2-5. Definición de variables para el diseño Box-Behnken	46
Tabla 2-6. Convenciones usadas en la Figura 2-18.....	64
Tabla 2-7. Principales correlaciones entre algunas variables estudiadas para la cristalización inducida	65
Tabla 2-8. Valor de p para los coeficientes generalizados del modelo cuadrático y el coeficiente de correlación de Pearson (r) para las ecuaciones de las superficies de respuesta de cada variable en la optimización de parámetros de proceso de cristalización inducida en miel de Acacia del Vichada	70
Tabla 2-9. Estimado y nivel de significancia para los coeficientes de las ecuaciones de optimización para los parámetros de proceso de cristalización inducida	71
Tabla 2-11. Objetivos de optimización para la función de deseabilidad	74
Tabla 2-12. Parámetros de optimización.....	75
Tabla 3-1. Valores de temperaturas y entalpías encontradas durante el proceso	106

Introducción

El cultivo de *Acacia mangium* como forestal y recuperador de ecosistemas en el Vichada ha incentivado la actividad apícola, pasando de 1.592 en 2016 (Castro Mercado *et al.*, 2017) a 4.087 colmenas y un rendimiento de 40 kg de miel por colmena al año (Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura, 2021). La miel producida en estas condiciones, a pesar que tiene excelentes propiedades funcionales se caracteriza por la rápida formación de cristales que pueden llegar a tener un gran tamaño (mayores a 1 mm de diámetro), siendo visibles a simple vista (Castro Mercado *et al.*, 2017), especialmente cuando la miel es transportada a ciudades con mayor altitud como Bogotá o Medellín. Lo anterior está relacionado con un proceso natural de solidificación como consecuencia de la cristalización de los azúcares que la constituyen (ICONTEC, 2007).

La miel, independiente de su origen y de su proceso de envasado, se afecta por el fenómeno de cristalización, la velocidad de formación y en la morfología de los cristales dependen del origen botánico y geográfico de la muestra, Sánchez, Castañeda, Muños, & Tellez, 2013, indican que la cristalización natural de la miel produce un cambio de las propiedades organolépticas (sabor, textura y color). La presencia de cristales grandes, origina un producto no homogéneo (con separación de fases líquida y sólida), opaco (más oscuro de lo tradicional), turbio (con manchas blanquecinas) y con apariencia cerosa, que puede además afectar su viscosidad y su capacidad de almacenamiento (Venir, Spaziani, & Maltini, 2010), la sensación en el paladar y finalmente, la aceptación por el consumidor (Amariei, Norocel, & Scripcă, 2020). Azémar, Nevers, Laurie, Poirot, & Le Ball, 2011, demostraron que una miel tiende a ser más apreciada en el mercado en su forma líquida, además el aumento de la actividad del agua promovida por la formación de cristales de glucosa puede provocar el crecimiento de levaduras y fermentaciones no deseadas (Dettori, Tappi, Piana, Dalla Rosa, & Rocculi, 2018)

El incremento en la producción de miel impulsa la apertura de nuevos mercados, la comercialización de productos apícolas se afecta por sus características tecnológicas de

diferenciación y del precio (Vargas Abella, 2016). Los productores que disponen de la tecnología evitan o retrasan la cristalización fundiendo o disolviendo los cristales mediante tratamiento térmico controlado (por 20-30min a 35-40°C) o mediante pasteurización previa al envasado (calentamiento instantáneo hasta 80°C seguido de filtración a presión). Sin embargo, el aumento de temperatura reduce la calidad del producto por la pérdida de compuestos termolábiles, aromáticos, volátiles y bioactivos, además de la producción de hidroximetilfurfural (HMF). En este sentido, se han reportado otras alternativas como la ultrafiltración (para retener partículas como cera o polen menor a 80 µm), tratamientos con ultrasonidos (que destruyen la estructura cristalina), aplicación de energía de microondas o de infrarrojos (IR), el uso de aditivos (ácido isobutírico o el ácido sórbico o trehalosa) y disminución de temperatura (-40°C); los cuales, si bien reducen el porcentaje de cristalización, son costosos y difíciles de implementar (Amariei *et al.*, 2020).

Pese a que el proceso de granulación en la miel es natural y no puede detenerse de manera definitiva, puede aprovecharse de manera dirigida controlando el tamaño y número de los cristales formados (Frigerio Tisi, 2010). Algunas técnicas han sido desarrolladas para guiar el proceso de cristalización hacia un producto final con una estructura cristalina fina, estable a temperatura ambiente, una apariencia agradable (homogénea, cremosa, untable) que podría tener buena recepción en los consumidores (Chen, Lin, Wu, & Chen, 2009) (Calderone, 2002). Una de esas técnicas para obtener miel de abejas cremosa o miel cremada es someterla a un proceso físico (batido, agitación u homogenización) o por inoculación (adición, introducción, incorporación) de cristales de otra miel u otras sustancias (sacarosa o glucosa) (Krishnan, Mohammed, Kumar, & SH, 2021).

Con base en lo anterior, la presente investigación evaluó el proceso de cristalización natural e inducida en miel del Vichada. Para ello, se analizó el efecto que tienen diversos parámetros de proceso (tiempo, velocidad de agitación y adición de semilla) en las características del producto cristalizado correlacionándolos con propiedades visuales como el color (componentes de color, matiz, saturación, luminancia) como la turbidez (absorbancia), texturales (como firmeza y cohesividad) y fisicoquímicas (como actividad de agua). Una vez se definió el tratamiento óptimo, se caracterizó el producto durante el tiempo de almacenamiento utilizando variables de respuesta como la actividad de agua, la firmeza, cohesividad, turbidez, coordenadas de color, diámetro ponderado medio de los cristales, módulo de pérdida y almacenamiento, viscosidad, temperatura y entalpía de fusión.

Por lo anterior, se planteó la pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto que tiene la cristalización inducida en las propiedades sensoriales, fisicoquímicas, microscópicas, térmicas, texturales y reológicas de miel de *Acacia mangium*?

Por lo tanto, se establecieron los siguientes objetivos:

General:

- Evaluar el efecto del proceso de cristalización inducida en miel de plantaciones forestales de *Acacia mangium*.

Específicos:

- Correlacionar el comportamiento fisicoquímico, visual y textural de la miel con cristalización natural y la miel sometida a cristalización inducida
- Evaluar los cambios fisicoquímicos, sensoriales, micromorfológicos, termodinámicos y reológicos en el proceso de cristalización inducida de miel de plantaciones forestales de *Acacia mangium*.

El trabajo se organizó en tres capítulos:

El primer capítulo hace una revisión de literatura acerca de los principales factores que intervienen en la cristalización natural de la miel. Empieza mostrando la composición química de la miel de estudio y el proceso de cristalización natural de la miel (cambios composicionales y formación de fases). Posteriormente se analizan los factores que afectan la velocidad de cristalización y se muestra como la cristalización inducida (o granulación) es una alternativa para el control de la tasa de nucleación y crecimiento cristalino.

El segundo capítulo, presenta la correlación entre parámetros del proceso de cristalización inducida (velocidad, tiempo de agitación y porcentaje de adición de la semilla) con algunas propiedades sensoriales de la miel como la turbidez (absorbancia), color, textura (firmeza y cohesividad) y la actividad de agua (como indicador del cambio de fase), además presenta la optimización del proceso de granulación para poder realizar comparaciones y establecer diferencias entre la miel sin tratamiento (cristalización natural) y la que estuvo sometida a cada tratamiento (cristalización inducida).

Finalmente, el tercer capítulo evalúa los cambios en el comportamiento sensorial (turbidez, color, textura), reológico (módulos de pérdida y almacenamiento), termodinámico y microscópico que sufrió la miel sometida al tratamiento óptimo. Con esto se puede analizar a mayor profundidad la influencia de los tratamientos de cristalización en la miel y se dota al productor de recursos a la hora de buscar alternativas y tomar decisiones empresariales.

1. Cristalización natural e inducida en miel

La miel es una *“sustancia dulce producida por las abejas a partir del néctar de las flores, de secreciones de partes vivas de las plantas, o de excreciones de insectos succionadores sobre partes vivas de las plantas, las cuales son recolectadas, transformadas mediante la combinación con sustancias específicas de las abejas, depositadas, deshidratadas, almacenadas, y dejadas en el panal hasta su maduración”* (Codex Alimentarius, 2019). En la NTC 1273 se define miel (exclusivamente de *Apis mellifera*) como la *“sustancia natural azucarada producida por abejas obreras de diferentes especies a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o excreciones de insectos chupadores sobre partes vivas, recolectadas por las abejas, transformada por combinación con sustancias específicas propias de las abejas, depositada, deshidratada, almacenada y colocada dentro de las celdillas del panal para su madurez”* (ICONTEC, 2007).

En el caso de las mieles, estas tienden a separarse naturalmente en una fase cristalina en el fondo y una fase líquida en la cima. Lo anterior ocurre debido a la cristalización o granulación, que es el proceso por el cual cristales sólidos de un soluto se forman dentro de una solución sobresaturada (Gleiter, Horn, & Isengard, 2006). Debido a lo anterior, la estandarización por grados de la miel que se aplica en los Estados Unidos cataloga este producto en tres grados: líquido (libre de cristales visibles), cristalizado (granulada o sólida sin importar si es confitada, pasta de azúcar o cremada) y parcialmente cristalizado (mezcla entre líquido y cristalizado) (Agricultural Marketing Service, 1985).

1.1 Química de la cristalización de la miel

1.1.1 Composición

La miel es esencialmente una mezcla homogénea y sobresaturada de monosacáridos como glucosa, fructosa y en menor medida de sacarosa. Además, contiene cantidades menores de ácido glucónico, lactona, compuestos nitrogenados, minerales y vitaminas (Frigerio Tisi, 2010), ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas derivadas o provenientes del proceso apícola (Da Silva, Gauche, Gonzaga, Costa, & Fett, 2016). Los monosacáridos representan típicamente el 80-85% de los sólidos en la miel, aunque en la mayoría de mieles la fructosa es la predominante (Cavia *et al.*, 2002)

Castro Mercado, 2018, encontró que la miel del Vichada proveniente de plantaciones forestales de *Acacia mangium* tiene un contenido de humedad, cenizas y conductividad ajustada a las normas internacionales (**Tabla 1-1**), mientras que la acidez libre estaba muy cercana al límite (50 meq/kg) (Consejo Económico Europeo, 2001)

Tabla 1-1 Parámetros fisicoquímicos promedio de las mieles provenientes de plantaciones de *Acacia mangium* en el dpto de Vichada

Propiedad	Valor	Unidad
Humedad	19,42 ± 1,15	%
Cenizas	0,09 ± 0,06	%
Conductividad eléctrica	558,80 ± 80,88	μS cm ⁻¹
pH	3,60 ± 0,21	
Acidez	libre	41,7 ± 3,5 meq kg ⁻¹
	lactónica	4,63 ± 4,63 meq kg ⁻¹

Fuente: Castro Mercado, 2018

En cuanto a la composición química de la miel (**Tabla 1-2**), Castro Mercado, 2018, encontró que el contenido de azúcares reductores (glucosa y fructosa) fue en 69,00 ± 7,88 %_{m/m}, siendo superior al límite establecido por el Consejo Económico Europeo, 2001, de 60%. Los monosacáridos son los responsables de las propiedades físicas y químicas del producto como la viscosidad, la higroscopicidad y la cristalización (Cavia *et al.*, 2002). Por otro lado, el contenido de potasio es altamente dependiente de la época en la que se cosecha la miel y el contenido de cobre es muy variable.

Tabla 1-2 Composición promedio de miel de abejas procedente de plantaciones forestales de *Acacia mangium* en Vichada

Tipo de componente		Componente	Concentración
Azúcares (%)	Monosacárido	Glucosa	34,1 ± 3,61
		Fructosa	34,9 ± 4,33
	Disacárido	Sacarosa	8,94 ± 2,39
		Turanosa	1,56 ± 0,65
		Maltosa	0,43 ± 0,39
		Isomaltosa	Inferior a 0,1
		Trehalosa	Inferior a 0,1
		Melecitosa	0,65 ± 0,35
	Trisacárido	Erlosa	Inferior a 0,1
		Potasio	219,85± 134,71
Mineral (mg kg ⁻¹)	Mayores	Calcio	119,83 ± 34,51
		Sodio	73,35 ± 40,79
		Magnesio	21,33 ± 7,22
		Hierro	4,78 ± 2,82
	Menores	Zinc	3,66 ± 2,03
		Cobre	1,41 ± 0,99
		Compuestos orgánicos (g kg ⁻¹)	Ácidos orgánicos

Fuente: Castro Mercado, 2018

1.1.2 Solubilidad

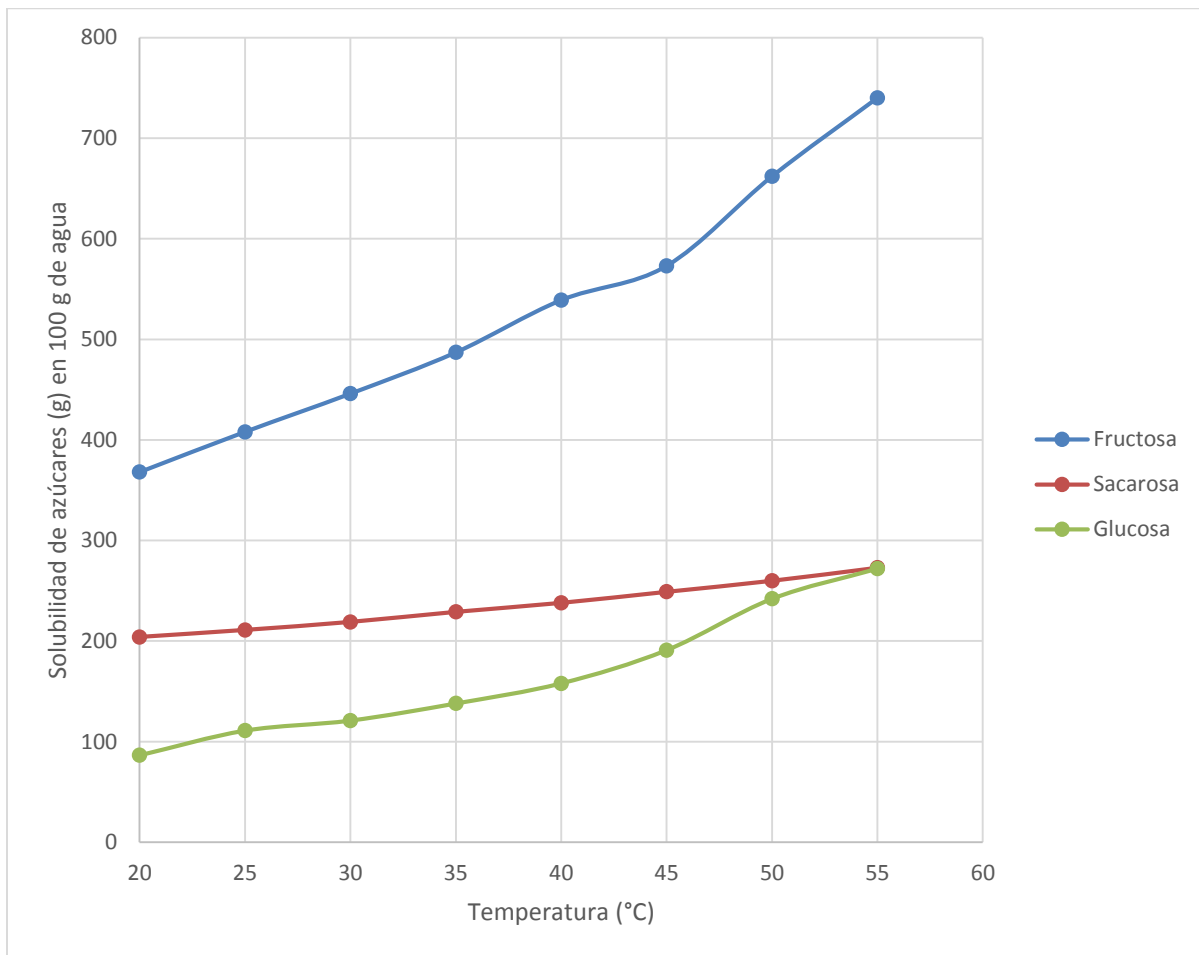
Los azúcares en soluciones acuosas sufren un gran número de interacciones, tanto con moléculas del agua, otras moléculas y con ellas mismas (Hartel & Shastri, 1991), aunque estas moléculas están atraídas preferencialmente más a unos solutos que a otros (hidratación). En la miel, el agua está principalmente fijada a los carbohidratos por puentes de hidrógeno, donde sus grupos hidroxilo interactúan con las moléculas de agua, aunque la disponibilidad y orientación de estos grupos depende del tipo de monosacárido y su autoasociación (Gleiter *et al.*, 2006; Subbiah, Blank, & Morison, 2020)

La solubilidad es la concentración en la cual el azúcar en solución (fase líquida) se encuentra en equilibrio con el azúcar en la fase sólida (cristal). La solubilidad de cada

azúcar depende de la especie molecular de la que se trate y la temperatura (Hartel & Shastry, 1991). Como se observa en la **Figura 1-1**, a temperatura ambiente el carbohidrato simple más soluble de los constituyentes de la miel es la D-fructosa (gracias a que su estructura permite la formación de más fuerzas atractivas con las moléculas de agua resultando una mayor interacción entre el solvente y soluto) seguida de la sacarosa y glucosa (Silva, 2010).

Cualquier soluto cristaliza fuera de la solución cuando su concentración es mayor que el valor de su solubilidad, a una temperatura y presión características dadas. En la miel, que se encuentra en estado de sobresaturación, como la glucosa es el componente menos soluble, esta cristaliza extrayéndose de la solución (Krishnan *et al.*, 2021).

Figura 1-1: Solubilidad de fructosa, glucosa y sacarosa en agua. Se presenta únicamente de la forma más importante a la temperatura analizada



Fuente: Silva, 2010

Para que ocurra la cristalización se debe generar un estado de sobresaturación, que ocurre cuando la concentración actual del soluto excede la concentración de saturación (solubilidad) del soluto (Bund & Hartel, 2010). La sobresaturación puede ocurrir por remoción del solvente (evaporación, separación por membranas, crioconcentración), enfriamiento de la solución, cambiando el pH o la fuerza iónica, adición de un solvente miscible o complejamiento y precipitación química (Berk, 2009).

La región de concentraciones entre la concentración en la saturación y la concentración crítica se llama región metaestable y se puede observar en un diagrama de sobresaturación. La región varía con la temperatura, la tasa de agitación y el nivel de aditivos o impurezas puesto que la concentración crítica está relacionada con los requerimientos para la formación de una fase sólida (energía barrera de la nucleación). De esta forma, cualquier perturbación puede causar cristalización. Por ejemplo, bajo condiciones de agitación la supersaturación crítica para la nucleación puede disminuir. En el caso de la glucosa, a bajas temperaturas y concentraciones la región metaestable es muy amplia y su tamaño disminuye con el aumento de temperatura o concentración (Hartel & Shastri, 1991)

Teniendo en cuenta el gráfico anterior y la composición reportada por Castro Mercado, 2018, se puede observar que la miel es una solución naturalmente sobresaturada de carbohidratos simples en la que el agua representa menos del 20% (Amariei *et al.*, 2020).

1.1.3 Proceso de cristalización

En la miel en estado líquido las moléculas de glucosa se mueven libremente en una matriz en la que el agua está en poca concentración. Durante el proceso de cristalización ocurre una disminución de la energía traslacional, rotacional y vibracional de estas (O dian, 2004) en un equilibrio dinámico, en el cual pueden en su movimiento aleatorio (térmico), acercarse unas a otras (Hartel & Shastri, 1991). Una vez las energías traslacionales y rotacionales de las moléculas son nulas, y si ciertos requerimientos de simetría se cumplen, se forman regiones de agrupamiento de estas dentro de la solución (O dian, 2004).

En este punto empieza la formación de dominios o clústeres (centros de nucleación en soluciones sobresaturadas) (Hartel & Shastri, 1991), que son regiones en la que las moléculas de los solutos están en mayor concentración (Husband, 2014), por encima del valor de la solubilidad, respecto del resto de la solución. En consecuencia, las moléculas del azúcar se alinean espacialmente, interactuando entre ellas en un empaquetamiento reticulado con patrones definidos para formar cristales, cada uno conteniendo muchas moléculas orientadas (Penfield & Campbell, 1990; Odian, 2004). En simulaciones moleculares (Ma *et al.*, 2017; Naik, Gandhi, Thakur, & Nanda, 2019), encontraron que a 0 ps (picosegundos) las moléculas de azúcares se encontraban en posiciones aleatorias distribuidas por el sistema, gradualmente algunos núcleos se empiezan a formar en la fase amorfa, posteriormente, el cristal empieza a crecer hasta que se forma una estructura cristalina ordenada con una morfología cúbica.

El proceso de cristalización continua hasta que la concentración interna de glucosa aumente en un punto en el cual no se puede remover más glucosa de la solución (Conforti, Lupano, Malacalza, Arias, & Castells, 2006). La composición de cristales purificados de miel para (Venir *et al.*, 2010), arrojó que el 73,02% es glucosa, 2,11% fructosa, el 1,5% son otros azúcares y el agua correspondió a 7-8% del peso del cristal purificado. La miel natural contiene entre 17 y 19% de agua, mientras que los cristales sólidos de glucosa monohidratada poseen 9,09% de esta (Calderone, 2002).

Al mismo tiempo, como la fructosa es más soluble en agua que la glucosa, esta última cristaliza, precipita y sale de la solución mientras la disolución (licor madre) se vuelve más concentrada en fructosa (Conforti *et al.*, 2006). Así mismo, cuando se forman los cristales de glucosa monohidratada hay liberación de moléculas de agua de hidratación, aunque una molécula de agua se queda dentro de la estructura cristalina (Gleiter *et al.*, 2006; Venir *et al.*, 2010) quedando los clústeres de azúcar rodeados por un alto número de moléculas de agua y, con esto, un aumento en la concentración aparente de agua fuera de los dominios (B. Bhandari & Bareyre, 2003; Hartel & Shastri, 1991). De esta forma hay una ganancia neta de agua en la solución (Subbiah *et al.*, 2020), y por tanto cambios en el color, textura y sabor de la miel. Incluso, puede presentarse pérdida de la calidad comercial por la separación de fases, la sedimentación o fermentación.

1.1.4 Estado físico

Al inicio de la cristalización la miel es un líquido viscoso (con todos sus azúcares en estado amorfo) de una solución coloidal en la cual las partículas no son visibles a simple vista (10^{-7} a 10^{-4} cm de diámetro), y no se depositan en la disolución (Bhandari, D'Arcy, & Chow, 1999; Costa *et al.*, 2013).

En el estado metaestable de la miel (que se puede considerar como una solución de cristales), la interacción soluto-solvente es fuerte mientras que la solvente-material cristalino está limitada a la superficie de la fase cristalina (componente no soluble) (Bhandari & Bareyre, 2003). Así se produce una transición de fases formando una mezcla entre una fase cristalina, compuesta por una suspensión sólida de glucosa y una líquida compuesta por agua y fructosa (Bakier, 2009; Crane & Visscher, 2009). De esta forma, como los cristales tienen una densidad aparente menor que la región acuosa que los rodean (Hartel & Shastry, 1991), hay una separación de las fases que depende del tamaño del cristal.

La formación de un líquido sobrenadante es característica de una formación de cristal lenta, donde una gran cantidad de cristales tiende a asentarse en el fondo del frasco debido a las fuerzas gravitacionales (Costa *et al.*, 2015). Tosi, Ré, Lucero, & Bulacio, 2004, reportan que las fases cristalina y acuosa coexisten durante un tiempo más, en el cual la actividad de agua aumenta. Esto hace que la concentración de glucosa en la fase líquida continúe disminuyendo debido a la continua liberación de moléculas de agua de la fase sólida en formación.

1.2 Mecanismo de la cristalización

Bund & Hartel, 2010, y Krishnan *et al.*, 2021, exponen que la cristalización envuelve cuatro pasos. En el primero ocurre la generación de un estado sobresaturado o superenfriado (generación de la fuerza impulsora). Una vez se activa la fuerza impulsora, empieza la nucleación que es la formación de núcleos de la estructura de red cristalina. Este es un fenómeno combinado de difusión y adsorción del soluto. El tercer paso es el crecimiento que es el aumento del tamaño de los núcleos hasta que se alcanza el volumen de fase de equilibrio. El último paso es la recristalización o la reorganización de la estructura cristalina para reducir aún más la energía libre (P. A. Sopade, Halley, & Junming, 2004) (Tan, 2004).

1.2.1 Desarrollo de la fuerza impulsora.

Termodinámicamente el punto de equilibrio entre dos fases se da cuando la diferencia de potencial químico entre la fase liviana (solución) y la pesada (cristales) es cero (Hartel & Shastry, 1991). En el equilibrio de solubilidad en la cristalización espontánea del monohidrato de glucosa de la solución supersaturada, los potenciales químicos son los mismos en el cristal y en la solución, por lo tanto la actividad de agua de una solución saturada es constante, independiente de la proporción de las fracciones cristalina y en solución (B. Bhandari & Bareyre, 2003).

A pesar que la miel se encuentra en un estado de sobresaturación de glucosa, y por lo tanto de no equilibrio termodinámico, (Zamora & Chirife, 2006) por lo general no cristalizará hasta que la fuerza impulsora sobrepase cierto valor crítico. Khaleghi, Sadrameli, & Manteghian, 2020, exponen que esta fuerza impulsora es función del potencial químico entre la solución supersaturada y la saturada. Recordando que el potencial químico (μ) está relacionado con la actividad del soluto (a) y la temperatura (T , en escalas absolutas), donde R es la constante de los gases, por medio de la Ecuación 1-1

$$\mu = \mu^{\circ} + RT \ln a \quad (1-1)$$

El potencial químico de la glucosa es una función de la concentración del soluto en el líquido sobresaturado (c) y en equilibrio (c_{eq}) y el coeficiente de actividad (γ). Este es mayor en la fase líquida que en el sólido debido a su alta actividad (medida indirectamente por la concentración). Así, se genera una fuerza impulsora (diferencial de potencial químico) que favorece la transición de fases y el exceso de soluto por encima de la saturación cristaliza (B. Bhandari & Bareyre, 2003). Esta diferencia en el potencial químico entre la solución

concentrada y la condición de equilibrio se reduce por transferencia de algunas moléculas de soluto de un estado líquido (miel) al estado sólido (cristal de glucosa) (Bund & Hartel, 2010). Con esto, la formación de cristales de glucosa lleva a una sustracción de sólidos solubles de la miel (Venir *et al.*, 2010).

La concentración en equilibrio es la solubilidad en equilibrio o solubilidad normal y que puede obtenerse de los datos encontrados por (Peres & Macedo, 1997). Y así se tiene una definición de súper saturación, S conforme a la Ecuación 1-2:

$$S = \frac{\Delta\mu}{RT} = \frac{\mu_{liq} - \mu_{eq}}{RT} = \ln\left(\frac{a}{a_{eq}}\right) = \ln\left(\frac{\gamma c}{\gamma_{eq} c_{eq}}\right) \approx \ln\left(\frac{c}{c_{eq}}\right) \approx \frac{c - c_{eq}}{c_{eq}} \quad (1-2)$$

En este caso, se supone que el coeficiente de actividad no varía con la concentración, como se deriva de la aproximación de Davies o a bajas concentraciones (menores a 0,001 M) (Khaleghi *et al.*, 2020). La fuerza impulsora puede además ser escrita en varias formas (**Tabla 1-3**), las cuales dependen de la fase en las que se encuentren (Srisa-nga, 2005).

Tabla 1-3. Fuerza impulsora por tipo de cristalización

FASE	TIPO	FUERZA IMPULSORA
Crecimiento	Por difusión	$\Delta C = C - C_{eq} \{\text{kmol m}^{-3}\}$ $\Delta c = c - c_{eq} \{\text{kg m}^{-3}\}$
	Por integración de superficie	$\sigma_n = \frac{\Delta c}{c_{eq}}; \sigma_m = \frac{\Delta C}{C_{eq}}$
Nucleación	Primaria	$S = \frac{c}{c_{eq}} = 1 + \sigma$
	Secundaria	$\sigma_n = \frac{\Delta c}{c_{eq}}; \sigma_m = \frac{\Delta C}{C_{eq}}$

Fuente: (Srisa-nga, 2005)

Tan, 2004, expone un método para medir la saturación en mieles debido a la imposibilidad de medir la concentración en la interfase en función de la relación glucosa (G): agua (W) en la Ecuación 1-3:

$$\Delta c = (c - c^*) = \left(\left[\frac{G}{W} \right] - \left[\frac{G}{W} \right]^* \right) \quad (1-3)$$

1.2.2 Nucleación

Se definen como núcleos de cristalización (clústers) a los microcristales de glucosa de distintos tamaños distribuidos en la miel. El núcleo y tamaño de los mismos determina el tipo y facilidad de cristalización, siendo la composición de los azúcares una de las variables de mayor importancia en el proceso (Frigerio Tisi, 2010). En este paso las moléculas de soluto se juntan en pequeños clústeres y alcanzan un tamaño crítico. Los clústeres más pequeños pueden redisolverse. En este caso es importante conocer la tasa de formación de núcleos (número de núcleos formados por unidad de volumen o tiempo) y el tiempo de inducción (periodo para obtener la primera evidencia detectable de formación de núcleos (Bund & Hartel, 2010). Se definen como núcleos de cristalización a los microcristales de glucosa de distintos tamaños distribuidos en la miel. El núcleo y tamaño de los mismos determina el tipo y facilidad de cristalización, siendo la composición de los azúcares una de las variables de mayor importancia en el proceso (Frigerio Tisi, 2010).

- **Termodinámica de la nucleación**

Khaleghi *et al.*, 2020, utilizan la teoría clásica de nucleación para explicar la formación de clústers en estado estacionario (independiente del tiempo). Este modelo utiliza la energía libre de Gibbs como resultado de dos procesos para explicar la nucleación homogénea (la que se da en el seno de un líquido sin interferencia de superficies distintas a las de los cristales en formación (Nanev, 2015). Así se tienen dos procesos antagónicos: la disolución (dependiente de la superficie ΔG_s), que impone una barrera a la nucleación como una energía de activación para que una molécula en la interfase pueda ingresar al cristal y la deposición (función del volumen, ΔG_v), que es la energía libre para la transformación de una solución supersaturada a una saturada en la interfase entre el líquido y el cristal (Ecuación 1-4).

$$\Delta G = \Delta G_s + \Delta G_v = -\frac{V}{V_0} k_B T \ln S + A\tau \quad (1-4)$$

Donde V es el volumen, V_0 es el volumen de una molécula dentro del cristal (volumen molar), y por lo tanto el factor V/V_0 es el número de moléculas dentro del cristal. Además, A es el área y τ es la energía libre interfacial entre el núcleo y la solución supersaturada, k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta. La supersaturación S es la

relación entre la concentración del líquido y la del equilibrio. De manera más genérica, como en la Ecuación 1-5:

$$\Delta G = -\beta L^3 k_B T \ln S + \alpha L^2 \gamma \quad (1-5)$$

Donde α y β son los factores del área y del volumen y L la longitud característica del cristal. Como se observa en la ecuación 1-5, la disolución (factor del área) y de deposición (dependiente del volumen) son competitivos, por lo tanto, hay un valor particular de la longitud característica en la que la energía se maximiza (L_c). Entonces con núcleos de tamaños inferiores a L_c el cristal se disuelve porque predomina el proceso disolucional. Para núcleos de tamaños mayor a L_c ocurre nucleación (Nanev, 2015). Para calcularla se debe optimizar respecto a la longitud característica, como en la Ecuación 1-6:

$$\frac{d(\Delta G)}{dr} = \frac{d(-\beta L^3 k_B T \ln S + \alpha L^2 \gamma)}{dr} = 0 \quad (1-6)$$

Para un núcleo esférico $\alpha = \pi/6$, $\beta = \pi$, y $L=2r$, donde la cantidad $16 \pi/3$ es el factor de forma del núcleo y r el radio del cristal esférico en cualquier momento. Para un cubo el factor de forma es 32 con $V = 8L^3$ y $A = 24L^2$. Con estos valores se tiene el radio crítico (r^*) como el valor del radio a la energía libre de Gibbs máxima (ΔG^*). En la Ecuación 1-7 y en la Ecuación 1-8 se observa tanto el radio crítico como la energía libre de Gibbs necesaria para alcanzarla

$$\Delta G = -\left(\frac{4\pi r^3}{3 V_0}\right) k_B T \ln S + (4\pi r^2) \gamma \quad (1-7)$$

$$r^* = \frac{2\gamma V_0}{k_B T \ln S}; \Delta G^* = \frac{16\pi\gamma^3 V_0^2}{3(k_B T \ln S)^2} = \frac{1}{3}(4\pi r^{*2} \gamma) \quad (1-8)$$

En el caso de la nucleación heterogénea, existen nuevas superficies que actúan como agente catalizante en la nucleación. Así, sobre la superficie de un sustrato plano, inerte e indeformable en una partícula nucleante (fase s), en contacto con un líquido supersaturado (fase f), empieza el crecimiento de un núcleo cristalino (fase c) (Khaleghi *et al.*, 2020). Por consiguiente, denominando γ_{ij} a la tensión superficial (energía libre) entre las fases i -ésima y j -ésima, hay dos nuevos términos en el balance de energía del sistema (Ecuación 1-9):

$$\Delta G = \Delta G_V + \Delta G_S = -\frac{V}{V_0} k_B T \ln S - A_{sc} \gamma_{sc} + A_{sf} \gamma_{sf} + A_{cf} \gamma_{cf} \quad (1-9)$$

Por la ecuación clásica de Young se puede expresar el ángulo de contacto (θ) entre las superficies y el líquido supersaturado que las moja como función de las tensiones superficiales.

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{sc} - \gamma_{sf}}{\gamma_{cf}} \quad (1-10)$$

De manera resumida, Khaleghi *et al.*, 2020, y Uwaha, 2015, presentan la energía libre para la formación de un núcleo cristalino de forma heterogénea (ΔG^{het}) en función de la homogénea (ΔG) y del ángulo de contacto entre las fases

$$\Delta G^{het} = \varphi \Delta G$$

$$\varphi = \frac{(2 + \cos \theta)(1 - \cos \theta)^2}{4} = \frac{2 - 3 \cos \theta + \cos^3 \theta}{4} \quad (1-11)$$

- **Cinética de Nucleación**

La velocidad de nucleación $J(t)$ se refiere a la frecuencia con la cual aparecen clústers de tamaño superior al radio crítico en el tiempo $N(t)$ (Khaleghi *et al.*, 2020) Al ser un proceso limitado cinéticamente, J se puede expresar en términos de la Ley de Arrhenius:

$$J(t) = \frac{dN(t)}{dt} = J_0 \exp\left(\frac{-\Delta G}{k_B T}\right) = J_0 \exp\left(\frac{16\pi V_0^2}{3(k_B T)^3} \frac{\gamma^3}{(\ln S)^2}\right) = J_0 \exp\left(B \frac{\gamma^3}{(\ln S)^2}\right) \quad (1-12)$$

El factor pre exponencial (J_0) y la contante B aglutinan diversas condiciones que pueden variar. Srisa-nga, 2005, expone que para cristalizadores industriales la tasa de nucleación es función de la supersaturación (σ), la temperatura (T), la densidad de la suspensión (ρ) y la velocidad de agitación (ω), con k_N , a , b , c , d como constantes experimentales, como en la Ecuación 1-13

$$J(t) = k_N \sigma^a T^b \rho_l^c \omega^d \quad (1-13)$$

La cinética de la nucleación depende de la formulación (impurezas, aditivos), la sobresaturación (sobre la concentración crítica la tasa de nucleación es más alta), la temperatura (a menor temperatura menor solubilidad, pero también hay una menor velocidad de difusión) y la agitación (que provee la energía necesaria para la formación de núcleos) (Bund & Hartel, 2010).

1.2.3 Crecimiento

Se refiere al incremento en el tamaño de los núcleos hasta que se alcanza el equilibrio de fase (curva de solubilidad). Es un proceso que comprende la migración de las especies cristalizantes a la superficie por difusión o transporte convectivo, y por lo tanto el estado de sobresaturación y la temperatura son factores dominantes (Bund & Hartel, 2010).

- **Termodinámica del crecimiento**

A temperatura ambiente en las caras de los cristales se forman, por la excitación térmica, pequeñas islas u orificios bidimensionales que se pueden considerar de longitud infinita, pero de altura unitaria (diámetro de una molécula que se encuentra en el borde), como un escalón formado por sucesivos cristales en una única capa que solo puede crecer en una sola dimensión. La energía libre total de una isla circular bidimensional (ΔG_{2D}) está dada por la energía libre ganada por la solidificación en el área molecular, función de la altura (\bar{a}_z) y el volumen molecular en el sólido (V_S) y el potencial químico ($\Delta\mu$) Si κ es la densidad de energía libre del escalón por longitud y considerando una isla o un orificio circular de radio R , entonces el costo energético del aumento del borde es $2\pi R\kappa$ (Uwaha, 2015).

$$\Delta G_{2D}(R) = \pi R^2 \frac{\bar{a}_z}{V_S} \Delta\mu + 2\pi R\kappa \quad (1-14)$$

Teniendo en cuenta la fluctuación térmica (con energías del orden $k_B T$), entonces para que las islas crezcan, el sistema debe tener energías inferiores a ΔG_{2D} . En estados sobresaturados G_{2D} aumenta a un valor máximo, al igual que el radio (Ecuación 1-15).

$$\Delta G_{2D}^* = \pi \frac{V_S \kappa^2}{\bar{a}_z \Delta\mu} R^* = \frac{V_S}{\bar{a}_z} \quad (1-15)$$

- **Cinética del crecimiento**

Para un único cristal, la velocidad de crecimiento perpendicular a la superficie de un cristal (J) está conectada con la tasa de crecimiento lineal (dL/dt) de un lado del cristal (de longitud L) y la densidad del cristal del monohidrato de glucosa (ρ_c) por la Ecuación 1-16:

$$J = \frac{dm}{dt} = \frac{1}{2} \pi \rho_c L^2 \frac{dL}{dt} \quad (1-16)$$

Donde m es la masa de glucosa depositada en un tiempo t . Por otro lado, Tan, 2004, describe la cinética simplificada de la cristalización de la glucosa en la miel partiendo de la fuerza impulsora de este proceso: la diferencia de concentraciones entre la miel (c), la interfase (c_i) y la correspondiente al equilibrio de saturación (c^*). Este proceso requiere dos partes: una difusional, en la cual el soluto (glucosa) se transporta de la solución a la interfase, y un paso de deposición superficial, donde el carbohidrato es adsorbido e integrado a la red cristalina, de área superficial A , siendo k es el coeficiente de transferencia (D) difusional o (R) de deposición; j es el orden de la cinética de deposición.

$$G = \frac{dm}{dt} = k_D A (c - c_i) = k_R A (c_i - c^*)^j \quad (1-17)$$

Srisa-nga, 2005, expone varios modelos para el cálculo de la velocidad de crecimiento. Una de ellas es el "Birth and spread model", donde los núcleos pueden formarse en cualquier ubicación en la superficie, lo que permite el crecimiento a velocidad constante, que es independiente de la superficie del núcleo.

$$G = K_1 (S - 1)^{\frac{2}{3}} [\ln S]^{\frac{1}{6}} \exp \left[-\frac{K_2}{T^2} \ln S \right] \quad (1-18)$$

Así, el tamaño de los cristales, se ve afectado por la relación fructosa/glucosa, la cantidad de agua, la viscosidad, el envase y la presencia de impurezas (Frigerio Tisi, 2010)

1.3 Factores que afectan la cristalización

1.3.1 Factores químicos

Para analizar la influencia de estos factores en la velocidad y tipo de cristalización se presenta la **Tabla 1-4** (tomada de Castro Mercado, 2018) en la que se encuentra la composición de monosacáridos en la miel y la relación entre algunos de ellos (índices de cristalización).

Tabla 1-4. Índices de cristalización de miel de Vichada provenientes de plantaciones forestales de *Acacia mangium* (Núcleo Inverbosques)

Humedad W (%)	Glucosa G (%)	Fructosa F (%)	F/G	G/W
18,68 ± 1,25	36,49 ± 5,19	35,63 ± 4,27	0,97 ± 0,11	1,92 ± 0,13

Fuente:(Castro Mercado, 2018)

Concentración de Glucosa (G): Tosi *et al.*, 2004, reportan que las mieles cristalizan más rápido cuando el contenido de glucosa es superior al rango 280 – 300 g kg⁻¹ de miel. Para Manikis & Thrasivoulou, 2001, no hay correlación entre cristalización y la concentración de glucosa para mieles con valores entre 288-380 g kg⁻¹. A modo de resumen, Bhandari, D'Arcy, & Kelly, 1999; Bogdanov S., 2011; Naik *et al.*, 2019, exponen distintos rangos, pero muy cercanos para la cristalización de la miel (**Tabla 1-5**). En el caso de la miel del Vichada, que contiene un valor superior al 36% (Castro Mercado, 2018), se puede considerar que tiene cristalización rápida.

Tabla 1-5. Valores de glucosa para cristalización de acuerdo a algunos autores

Referencia	Cristalización		
	No	Presencia	Rápida
(Bodganov, 2011)	<28%	>28%	
(Bhandari, D'Arcy, & Kelly, 1999)	<27.7%		>35%
(Naik, Gandhi, Thakur, & Nanda, 2019)	<28%	>28-30%	>38%

Yao, Bhandari, Datta, Singanusong, & D'Arcy, 2003, presentan el coeficiente de sobresaturación de glucosa como la razón de la concentración de soluto en la muestra a

una temperatura dada con la concentración del soluto en una solución saturada a la misma temperatura. Valores mayores de 2,6 representan mieles que cristalizan muy rápido. En la Figura 1-1 se observa que el valor de saturación de glucosa a 20°C es cercano a 100 g / 100 g de agua. Así, el coeficiente de sobresaturación de glucosa en la miel de *Acacia mangium* es de 3,5, por lo cual cristaliza muy rápido.

Contenido de agua (W) y humedad: la cristalización tiene una velocidad máxima con contenidos de agua entre 15-18% (Bogdanov S., 2011). En el caso de la miel de *Acacia mangium* de plantaciones del Vichada, se tiene un valor superior a este rango. Para Conforti *et al.*, 2006, la textura es afectada por la humedad debido a que el agua actúa como un plastificante, disminuyendo la viscosidad de la solución y favoreciendo la cristalización. Así que mieles con humedades de 17-18% tienen mejor untabilidad, mientras que a menores contenidos se tiene una cristalización más dura, y a mayores permanece más suave (Bogdanov S., 2011).

Por otro lado, la desorción de agua de la miel cuando es expuesta a ambientes con baja humedad relativa puede provocar cristalización debido a la pérdida de humedad (Conforti *et al.*, 2006). En este caso, la humedad relativa del aire en Bogotá oscila entre 77 y 83 %, mientras que en la Orinoquía puede llegar de 54 a 79% en Puerto Carreño (datos tomados de IDEAM, 2000). Así, Bogotá es un tanto más húmeda que Vichada y la miel puede tornarse higroscópica, favoreciendo la cristalización.

Interacción fructosa/glucosa (F/G): el tiempo requerido para que la miel cristalice depende mayoritariamente de la razón fructosa a glucosa. Las muestras de miel que no cristalizan por un gran tiempo tienen un F/G mayor a 1.33 y si la razón es menor a 1.11 la miel cristaliza (Escuredo, Dobre, Fernández-González, & Seijo, 2014; Tosi *et al.*, 2004). Sin embargo, Manikis & Thrasivoulou, 2001, encontraron una baja correlación entre esta relación y la tasa de cristalización. En la miel de estudio, la relación del contenido de fructosa y glucosa (F/G) fue menor a 1,11 (Castro Mercado, 2018); lo que indica que las mieles se conservan en estado líquido por corto tiempo.

Interacción glucosa/agua (G/W): la tasa a la cual la miel cristaliza también depende de la relación glucosa/agua, de tal forma que una cristalización lenta ocurre cuando G/W es menor a 1,7 y el fenómeno es rápido y completo cuando G/W es mayor a 2,0. Escuredo *et al.*, 2014; Tosi *et al.*, 2004 y Manikis & Thrasivoulou, 2001, encontraron buena correlación entre este índice y parámetros de cristalización visuales (sensorial por panel entrenado y microscopía). La mayoría de las mieles del Vichada estudiadas por Castro Mercado, 2018, tienen relaciones glucosa:agua (G/W) cercanas y superiores a 2,0, haciéndolas sensibles a la cristalización.

Parada Silva, 2003, cita algunos grados de desarrollo de la cristalización respecto a la relación glucosa/agua. En el caso de la miel del núcleo Inverbosques del Vichada, al tener un valor de G/W de 1,92 presenta un desarrollo de un pequeño grupo de cristales y hasta un cuarto cristalizado en profundidad de acuerdo a la tabla presentada por Parada Silva, 2003.

Glucosa-fructosa-agua (G-W)/F: Tosi *et al.*, 2004, evaluaron esta relación entre la concentración de los componentes mayoritarios de la miel. Aunque una relación (G-W)/F alta se ha reportado por estos autores origina una cristalización más rápida, el valor encontrado en la miel de *Acacia mangium* del Vichada es de 0,49 y tiene una velocidad de granulación bastante alta. Lo anterior está acorde con Manikis & Thrasivoulou, 2001, quienes no encontraron buena correlación en mieles monoflorales griegas.

Relación con otros azúcares: la cristalización de un carbohidrato se ve afectada por la presencia de los otros compuestos. Por ejemplo, Bhandari & Hartel, 2002, encontraron que la cristalización de sacarosa se ralentizaba cuando estaba en presencia de glucosa y fructosa, lo que hacía que existiera un gran nivel de humedad en los cristales. Para Naik *et al.*, 2019, el proceso inverso también es cierto debido a que se conoce que la concentración de sacarosa y maltosa disminuyen la solubilidad de D-glucosa, afectando el proceso de cristalización. La miel de *Acacia mangium* tiene 0,65% de melecitosa y para Bogdanov S., 2011, mieles de melaza con más del 10% de melecitosa cristalizan en la llamada miel de cemento.

pH y Acidez: el pH de la miel depende de los ácidos ionizados y de los elementos minerales presentes, mientras que la acidez se debe en gran medida al ácido glucónico (en equilibrio con la gluconolactona), que proviene de la acción de la glucosa oxidasa en la glucosa y cuya cantidad debe ser menor a 0,5%. La acidez contribuye al sabor, estabilidad contra microorganismos, reacciones químicas y la actividad antibacteriana y antioxidante. En la miel de *Acacia mangium* del Vichada se tiene una concentración de ácido glucónico de $10,3 \pm 0,88 \text{ g kg}^{-1}$ de miel, que corresponde a una acidez libre de $41,7 \pm 3,5 \text{ meq kg}^{-1}$ y láctica de $4,63 \pm 3,5 \text{ meq kg}^{-1}$, con un pH que oscila entre $3,60 \pm 0,21$ (Castro Mercado, 2018). De acuerdo a lo anterior, la acidez libre estaba muy cercana al límite (50 meq kg^{-1}) (Codex Alimentarius, 2019).

Con los tratamientos térmicos u almacenamientos prolongados se espera que exista una disminución de fructosa debido a la deshidratación del monosacárido, la formación de hidroximetilfurfural (HMF) y también a la formación de oligosacáridos por la acción de la enzima transglucosilasa. En teoría lo anterior no podría afectar la cristalización, debido a que la fructosa no contribuye tan activamente como la glucosa en el proceso. Castro Mercado, 2018, encontró valores de $47,54 \pm 37,35 \text{ mg kg}^{-1}$ para el HMF en las mieles de estudio, lo cual fue menor a lo reglamentado para mieles tropicales (80 mg kg^{-1}) (Codex Alimentarius, 2019). Todos estos procesos están mediados por cambios en el pH: a menor pH mayores variaciones en la concentración de fructosa (Cavia, Fernández Muiño, Huidobro, Álvarez, & Teresa Sancho, 2009).

1.3.2 Factores físicos

Temperatura: Para su proceso de granulación de miel, Dyce en su patente (US1987893A, 1935) describe que la velocidad de formación de cristales de cada miel se maximiza a una temperatura dada. Para Yao *et al.*, 2003, la velocidad de cristalización en miel es máxima alrededor de $10\text{-}15^\circ\text{C}$. En mieles de consistencia promedio, una temperatura de 14°C produce una apariencia sólida en un tiempo de 34 h. Además, una desviación de 1 o 2°C del valor óptimo puede duplicar el tiempo de formación de los cristales. White Jr, 1975, relaciona el efecto en diagramas ternarios para los componentes mayoritarios de la miel (agua-glucosa-fructosa) y la temperatura.

Costa *et al.*, 2015, observaron por microscopía óptica y difracción láser que hay una mayor cantidad de cristales pequeños en una miel brasileña almacenada a 15°C que a 20°C, mientras que la misma distribución de tamaño se presentó para distintas velocidades de agitación a 15°C. La temperatura tiene un efecto mayor en la homogenización que la agitación en la distribución de los cristales. Moreno, 2010, descubrió que la temperatura de cristalización depende exclusivamente de la cantidad de glucosa y de los grados Brix° en la solución acuosa para mezclas de glucosa/fructosa.

La pasteurización a 77°C por 5 min seguida de un enfriamiento a 0°C por 5 semanas retarda la cristalización de la miel en anaquel hasta por dos años (Yao *et al.*, 2003). Tosi *et al.*, 2004, encontraron que mieles con distintas relaciones F/G presentaban diferencias en el tiempo de cristalización entre mieles no calentadas o aquellas sometidas a un proceso de calentamiento a 80°C por 60 s. A bajas temperaturas la viscosidad aumenta, retardando la cristalización. El agua entonces actúa como un plastificante, disminuyendo la viscosidad y favoreciendo la cristalización (Conforti *et al.*, 2006).

Viscosidad: Para un mejor efecto de la granulación sobre las propiedades físicas y sensoriales de la miel cremada, Dyce (US1987893A, 1935) recomienda el uso de mieles con gravedades específicas menores a 1,42. A mayores valores la velocidad de formación de cristales se retarda mucho y se pueden producir mieles duras que causen rechazo por el consumidor. Castro Mercado, 2018, encontró un valor promedio de viscosidad a 20°C de $1,48 \pm 0,78$ Pa.s, que es cercano al límite encontrado por Dyce, 1935. Además, se halló que la viscosidad era afectada por la concentración de agua en la miel y no por los aditivos utilizados. Con la composición se ha hallado que un aumento en 1% de la humedad tiene el mismo efecto sobre la viscosidad que un cambio de la temperatura en 3,5°C. (Cohen & Weihs, 2010)

La solubilidad de la glucosa es función de la temperatura y la viscosidad de la miel, pero estos dos parámetros actúan como dos fuerzas opuestas en la cristalización de la miel. Cuando la temperatura disminuye, la solubilidad de los azúcares disminuye, el agua actúa como un plastificante y se favorece la granulación. Al mismo tiempo, la viscosidad aumenta y se ralentiza la movilidad molecular, disminuyendo la velocidad de cristalización (Conforti *et al.*, 2006; Lupano, 1997). De esta forma, las moléculas pueden moverse en sus posiciones adecuadas más fácilmente en mieles de viscosidad baja que en mieles de

mayor viscosidad (Penfield & Campbell, 1990) Por encima de 30°C no ocurre la cristalización porque aumenta la solubilidad de la glucosa por encima de la formación de núcleos (Yao *et al.*, 2003). Se ha encontrado que la temperatura y la viscosidad siguen una relación de Arrhenius, donde a mayor temperatura hay una disminución en la fricción molecular y una disminución en las fuerzas hidrodinámicas que afectan la viscosidad. (Cohen & Weihs, 2010) hallaron que la energía de activación disminuye linealmente con el contenido de humedad mientras que el factor pre-exponencial aumentaba con el contenido de agua.

Tiempo de Almacenamiento: Dyce en su patente US1987893A, 1935, encontró que, a una temperatura adecuada, si se almacena por mayor tiempo los cristales son más grandes y de da una apariencia granulosa. La miel brasileña evaluada por Costa *et al.*, 2015, empezó a cristalizar después de siete días de almacenamiento a 15°C cuando fue sometida a una agitación a 360 y 540 rpm, mientras que almacenada a 20°C se demoró 20 días. Por otro lado, con un tratamiento térmico a 80°C con etapa transitoria de 60 s y una isotérmica por 30 s (tratamiento a alta temperatura y corto tiempo -HTST), la cristalización de muestras almacenadas a 4°C se retrasó por 8-9 semanas, mientras que las almacenadas a 20°C se retrasaron 4 semanas, lo que casi duplica el tiempo para que inicie la cristalización de mieles no tratadas (Tosi *et al.*, 2004).

Fuerzas mecánicas y agitación: El efecto del batido lo probó Dyce, 1935, para ver el efecto de la incorporación de diminutas burbujas de aire en la matriz en el inicio de la cristalización. En su proceso de granulación de miel chilena Frigerio Tisi, 2010, realizó agitación a 660 rpm por 50 min. Snider Earl, 1933, mejoró la textura de la miel cremada con una agitación vigorosa de miel líquida que empezaba el proceso de cristalización a una temperatura de 37-43°C por 45-90 min y encontró que el volumen de la miel aumentaba 12% respecto del valor inicial. La agitación vigorosa causó un enfriamiento rápido y la incorporación de aire dentro del jarabe, causando una nucleación rápida y un aumento en la turbidez y una consistencia cremosa (Bhandari & Hartel, 2002). Costa *et al.*, 2015, al evaluar velocidades de batido de 180, 360 y 540 rpm a 15°C encontraron resultados similares en la distribución del tamaño del cristal.

Si el batido inicia y la solución aún está caliente, la cristalización es muy rápida y se forma un producto granular. En cambio, si el batido empieza cuando la temperatura disminuyó a la ambiental, requiere más energía, la cristalización es lenta y el producto es suave. Una vez iniciado el batido, la cristalización continua espontáneamente. Sin embargo, el batido se mantiene para mantener los cristales pequeños y el producto suave (Penfield & Campbell, 1990).

Meixner, Weber, Lella, Rozhon, & Dasbach, 2022, evaluaron la influencia de implementos de homogenización (máquina agitadora con tornillo agitador, agitador con impulsor, máquina agitadora con espiral agitadora y agitación manual), encontrando que existen no diferencias significativas justo después de terminar el tratamiento. Ya después de 56 días la miel sometida a impulsor tiene un mayor índice de blanqueamiento, aunque el tamaño de cristal disminuye entre 40-50 μm .

Empaque: Joseph *et al.*, 2007, analizaron el efecto de distintos tipos de empaque en la velocidad de cristalización de miel en Camerún, encontrando que no había diferencias entre los empaques en botellas coloreadas, transparentes claras, oscuros y plástico traslúcido. Assil, Sterling, & Sporns, 1991, estiman que el material de envasado puede contribuir con la pérdida de humedad, siendo el tereftalato de polietileno (PETG) cuatro veces más permeable al agua que el polietileno de baja densidad (LDPE) a espesor y condiciones ambientales similares. De esta forma, a pesar que la miel es higroscópica, en ambientes secos se puede fomentar la cristalización. Las mieles envasadas y cristalizadas pueden producir veteados por la ocurrencia de zonas frías en algunos lados del envase: los cambios bruscos de temperatura contraen la masa de los cristales y los seca en esa parte del envase (Parada Silva, 2003).

Luz y oscuridad: Para Joseph *et al.*, 2007, la luz durante el almacenamiento influye negativamente en la cristalización. Este efecto se explica por la destrucción de la glucosa oxidasa en condiciones de luz. Esta enzima forma ácido glucónico y peróxido de hidrógeno a partir de glucosa. Aunque si el peróxido de hidrógeno se descompone libera agua y oxígeno, aumentando el contenido de agua y por tanto aumenta la solubilidad de la glucosa.

Otros factores: Dubinov *et al.*, 2015, probaron que secuencias periódicas (20 Hz) de microdescargas causan una rápida cristalización (en 76 ns) de los azúcares de mieles producidas en Rusia. Por otro lado, Stasiak & Dolatowski, 2007, en estudios llevados a cabo con ultrasonido a 40 kHz de frecuencia e intensidades de hasta 2 W cm^{-2} , encontraron que el curso de la granulación de miel puede modificarse con tratamientos de hasta 30 min, aumentando la viscosidad (30 mPa.s) y la dureza (120N) y reduciendo la conductividad (0.6 mS/cm) y el tamaño del cristal.

1.3.3 Núcleos de cristalización y semilla

Las sustancias sólidas (cristales primarios, polvo, pólenes), amorfos no azucarados (sales, ácidos, dextrinas, proteínas, y otras) y otros tipos de suspensiones (burbujas microscópicas de aire, etc.) actúan como catalizadores de la cristalización favoreciendo la velocidad del proceso. Estas partículas actúan como núcleos o semillas alrededor de los cuales se aglutinan las moléculas de glucosa, disminuyendo su solubilidad, aumentando la viscosidad o depositándose sobre la superficie de los cristales e impidiendo de este modo un engrosamiento regular (Frigerio Tisi, 2010).

Para el uso como núcleos de cristalización se deben emplear mieles con cristales muy finos, ya sea naturalmente o por triturado de los cristales. Se puede crear un iniciador de la cristalización con una semilla dada si se recupera un pequeño lote para que sirva en el proceso (Krell, 1996). Chen *et al.*, 2009, encuentran que los valores de inclusión de semilla deben estar entre el 5 y el 10%. Dyce en su patente (US1987893A, 1935) encontró que no existe un valor agregado en la parte comercial en las adiciones de semilla por encima del 10%, y que el aumento en la velocidad de cristalización en este caso se debe a la mayor cantidad de núcleos de formación de cristales incorporados en la miel líquida.

Los materiales co-cristalizados tienen mejores propiedades que sus componentes individuales como un aumento en la solubilidad, compresibilidad y emulsificación. Por esta razón, Maulny, Beckett, & Mackenzie, 2005, co-cristalizaron sacarosa con miel para obtener un polvo seco después de hacer una centrifugación. Se encontró que la cantidad de miel: sacarosa daba distintos tipos de compuestos que variaban en su consistencia y color después de la centrifugación. Chen *et al.*, 2009, reemplazaron la semilla natural con glucosa en polvo (0.1%_{m/m}) mejorando cualidades como la untabilidad en miel de lichi.

1.4 Cristalización inducida o Granulación en miel

DeJong & Hartel, 2019, exponen la importancia de la cristalización en los alimentos, dividiéndola en dos tipos: en los que influyen en la estructura y en los que es un proceso de separación. Como se ha visto, el proceso de granulación natural en la miel es espontáneo y tiene ambos tipos de cristalización y por lo tanto no puede detenerse de manera definitiva. Pese a lo anterior, el primer tipo de cristalización se puede aprovechar manejando los factores cinéticos y termodinámicos de la nucleación y crecimiento, con lo cual se restringe el número, tamaño, distribución, forma y polimorfismo de los cristales en la solución. (Frigerio Tisi, 2010; Krishnan *et al.*, 2021; Umesh Hebbar, Rastogi, & Subramanian, 2008, exponen que la cristalización de la miel puede ser controlada. (Cavia *et al.*, 2009) demostraron que existen diferencias entre la cristalización natural y la inducida. Para (Calderone, 2002), la característica más importante del proceso de inducción es que permite el control de la cristalización de la miel por medio de la introducción de cristales iniciadores del proceso. En cualquier caso, el objetivo es controlar el tamaño del cristal de tal manera que no puedan ser detectados por la lengua y sean estables cuando se mantienen a temperatura ambiente (Krell, 1996).

La cristalización controlada de la miel produce cristales finos y el producto formado es miel cremosa (Umesh Hebbar *et al.*, 2008). En este caso se trata de inducir la cristalización de manera controlada, manejando el tamaño de los cristales y su homogeneidad en la solución. Así se obtienen nuevos productos que pueden satisfacer a los consumidores (US1987893A, 1935). Varias técnicas han sido desarrolladas para guiar el proceso de cristalización natural de la miel hacia un producto final completamente cristalizado, estable y homogéneo, con una apariencia agradable, consistencia cremosa y buena recepción por la mayoría de los consumidores (Krell, 1996).

1.4.1 Miel granulada o cremosa

Miel de abejas granulada o cremosa es la miel que tiene estructura cristalina fina y que puede haber sido sometida a un proceso físico (batido) que le confiera esta estructura y que la haga fácil de untar o por inoculación (introducción, incorporación) de cristales de otra miel (ICONTEC, 2007). Es aquella que se encuentra en un estado semisólido, de consistencia untada por medio de la adición de finos núcleos de cristalización (Umesh

Hebbar *et al.*, 2008). El método básico consiste en acelerar la tendencia natural de la miel a cristalizar por adición de pequeñas cantidades de miel que ya está cristalizada. La miel base líquida (o fundida) es mezclada con miel que contiene cristales muy finos (Krell, 1996).

United States Department of Agriculture, 1985, define la miel crema o untable como la miel cristalizada con una consistencia suave por la presencia de cristales muy finos. Esta miel se produce inoculando una miel de rápida cristalización (como la de trébol), precalentada para lograr la licuefacción de los cristales y colada, con una miel de lenta cristalización en cantidades que dependen de la temporada, el tipo de miel y el porcentaje de humedad, aunque usualmente el semillado requiere de 5-10% de miel con cristales con el grado deseado. Este producto debe esparcirse como mantequilla, no debe gotear, los cristales deben ser pequeños para que no puedan ser detectados por la lengua y debe poderse mantener a temperatura ambiental y no en refrigeración (Calderone, 2002).

Paniagua Niño, 2011, realizó un estudio sobre un panel de 150 personas consumidores habituales de miel, corriendo pruebas hedónicas (con cinco niveles nominales para representar el nivel de agrado a parámetros de olor, color y sabor) y de aceptación de la miel crema elaborada por agitación intensa con licuadora de tipo industrial y posteriormente una batidora eléctrica. Se encontró una aceptación de 97,33%, mientras que para las variables color, olor y sabor los resultados más frecuentes fueron lo de “me gusta”, “indiferente” y “me gusta mucho”.

Azemar, Nevers, Laurie, Poirot, & Le Bail, 2011, realizaron una prueba sensorial para determinar la diferencia en el dulzor (Ranking test) y 5 descriptores visuales y gustativos por un análisis hedónico (color, consistencia, sensación en la boca, sabor global del producto) de miel cruda de girasol, cremada y líquida (fundida). El panel de jurados se compuso de 60 personas, donde del total, el 70% eran mujeres; el 67% se encontraban entre 18 y 25 años de edad, 15% entre 26-35 años, el 2% entre 36-45 y el 10% entre 46 y 65 años de edad. Se realizaron siete sesiones de 45 minutos en un laboratorio de análisis sensorial. Los resultados se procesaron con un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos factores sin repeticiones. Se concluyó que no había diferencias significativas entre el sabor dulce la miel líquida y la cruda, pero si con la miel cremada. Además, que no existieron diferencias en la preferencia mostrada por los consumidores en los cinco descriptores analizados, debido a que, en una escala de 10, el promedio de cada tipo de miel fue de

seis en cada parámetro. En cuanto la miel cremada, el mejor desempeño se obtuvo en la sensación en la boca, con un promedio de 6,6. Por lo anterior se puede concluir que los consumidores no prefieren ninguno de tres productos analizados.

Granulación sin semilla: Método Earl: La energía mecánica acelera la formación de cristales y ayuda a regular el tamaño de estos, aunque se requiere una gran fuerza mecánica para agitar la masa viscosa (por la baja temperatura) de miel y es posible la formación de espumas por incorporación de aire (Krell, 1996). Este es el proceso que se usan en algunas patentes tanto (US1908454A, 1931), como (US4004040A, 1977). El primero agita la miel líquida a temperatura ambiente controlando este parámetro (en un recipiente enchaquetado). Después de dos días la cristalización se completa. (US4004040A, 1977) sometió la miel natural líquida y sin pasteurizar, a agitación en una cámara cerrada a 4–16 °C en presencia de aire a una presión superior a la presión atmosférica, para facilitar la incorporación y distribución uniforme de las burbujas de aire en toda la miel (Umesh Hebbar *et al.*, 2008). La principal desventaja de estos métodos es la inestabilidad debido a la separación de las fases cristalina y líquida a temperaturas cercanas a 25°C y almacenamientos prolongados (por meses), y la necesidad de refrigeración en el método de (US4004040A, 1977). Esto es especialmente importante en mieles con altos contenidos de humedad (mayor al 18%).

Miel previamente granulada como semilla, Método Dyce: La semilla puede ser una miel granulada o polvo de miel que se ha molido hasta alcanzar un tamaño de partícula fino que puede pasar por un tamiz de malla 80. La semilla se adiciona en cantidad suficiente que permita la formación de cristales del tamaño deseado. La patente de Sterling (US4986855A, 1991), recomienda 25% mientras que Dyce (US1908454A, 1931), estima en un 10%, ambos en volumen. La adición de la miel semilla se hace por agitación a una velocidad lo suficientemente baja que minimice la entrada de aire (33-44 rpm) en Sterling (US4986855A, 1991). Se prepara adicionando cristales de miel granulada a temperatura ambiente hasta su completa cristalización (Chen *et al.*, 2009; US1987893A, 1935). La miel debe ser calentada para permitir un mezclado más fácil. Ya en la segunda fase los contenedores se colocan en un cuarto caliente a 28-30°C (siempre debajo del punto de fusión) hasta que la miel se ponga un poco más suave debido a la ruptura de los cristales (Krell, 1996).

Siguiendo la metodología dada por Dyce (US1908454A, 1931), la miel es pasteurizada a 50°C por 30 min y luego es filtrada tres veces. Posteriormente la miel se enfría a 24°C y se empieza un proceso de agitación. Se agrega 10% de la miel semilla y se continúa el proceso de agitación hasta lograr una consistencia uniforme. La miel semilla restante se agrega lentamente para evitar la incorporación de aire. La mezcla se envasa en recipientes transparentes de vidrio y se almacena de 5-14°C por 10 días (Umesh Hebbar *et al.*, 2008)

El problema de este método es la excesiva dureza que se alcanza en las mieles de baja humedad debida a la formación de cristales transversales y aglomeraciones especiales. Además, puede ocurrir una formación de afloramientos blanquecinos potencialmente desagradables a los consumidores debido a la evaporación superficial del agua y el secado de los cristales de monohidrato de glucosa en la superficie y el interior de las burbujas de aire encerradas (Krell, 1996). Otro problema es que la miel aumenta su pegajosidad aunque aún posee su intensa dulzura (US 2009/0047388 A1, 2007).

1.4.2 Miel co-cristalizada.

La co-cristalización es la incorporación de un ingrediente activo (usualmente sacarosa) al conglomerado de cristales. Las ventajas de los productos cocrystalizados son su mejor fluidez, baja naturaleza higroscópica y propiedades de dispersión (Bhesh R. Bhandari, Datta, D'Arcy, & Rintoul, 1998; Umesh Hebbar *et al.*, 2008). En este caso la cristalización del jarabe de sacarosa supersaturado se logra agregando el ingrediente activo (miel) para que se incorpore a los espacios vacíos del aglomerado de cristales (Krishnan *et al.*, 2021). Tanto Bhandari *et al.*, 1998, como Maulny *et al.*, 2005, realizaron co-cristalizaciones de jarabes de sacarosa con distintas proporciones de miel. Ambas se realizaron a alta temperatura (128°C), bajos valores de humedad (95-97°Brix) y proporción de sacarosa: miel de 90:10, 85:15 y 80:20 (p/p). La principal diferencia entre los métodos es que el de Bhandari, D'Arcy, & Kelly, 1999, donde fue secado en un horno a 40°C durante la noche y en el de Maulny *et al.*, 2005, la separación de los cristales se logró por medio de filtración centrífuga para eliminar los cristales aglomerados

1.5 Productos esparcibles a base de miel

1.5.1 Esparcible de miel

Se producen por adición de otras sustancias distintas a la miel para generar los núcleos de cristalización. En este caso emplean el método Dyce para controlar la cristalización (Umesh Hebbar *et al.*, 2008). Por ejemplo, Luje & Santillán, 2012, citados por Flores Moya, 2013, sostienen que el proceso industrial para la producción de untables de miel tiene tres pasos. En el primero (cremado) se mezcla la miel líquida con la cristalizada por cinco minutos en la batidora. En la etapa de estabilización se agrega goma xanthan o pectinas de bajo y alto metoxilo, se mezcla por otros cinco minutos y se envasa (Umesh Hebbar *et al.*, 2008).

Chen *et al.*, 2009, desarrollaron un método utilizando glucosa en polvo para granular miel de lichi. Primero, se pasteurizó a 60°C durante 30 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente bajo agua corriente durante 1 hora. Posteriormente se añadió polvo de D-glucosa anhidra a la muestra pasteurizada a una concentración de 0,1% (p/p) y se mezcló. La muestra se almacenó en frasco de vidrio a 14°C hasta su total cristalización y luego de la cristalización la miel se mantuvo a temperatura ambiente. Para mantener la capacidad de esparcimiento adecuada, la muestra debe almacenarse entre 11 y 30 °C.

Elhamid & Abou-Shaara, 2016, también usaron glucosa en polvo para hacer miel granulada con miel de algodón (F/G = 1.19) y trébol (F/G = 1.18). En este caso la semilla se añadió a una concentración de 0,1, 0,3, 0,6, 1,2, 1,8 y 2,4% (p/p), encontrando que la miel granulaba mejor después de 2 semanas a 5°C con una concentración de glucosa entre 1,2-2,4% (p/p). En otro caso, Suriwong, Jaturonglumlert, Varith, Narkprasom, & Nitatwichit, 2020, añadieron glucosa en polvo a la miel de girasol (F/G = 1.03) y longan (F/G = 1.25) y se almacenaron a 10-15°C para su cristalización. La tasa de cristalización más alta se encontró después de la adición de glucosa al 2,0% (p/p).

Wright en su patente (US 2009/0047388 A1, 2007) implementó un método para producir miel cremada fortificada con calcio en forma de partículas de diámetro 30 nm a 10 µm en distintos portadores (carbonato, fosfato, óxido, cloruro, citrato, gluconato, entre otros). Se encuentra que la mejor forma de suspender los portadores del calcio es por medio de aditivos como agentes emulsificantes, de suspensión y espesantes. Entre estos aditivos están la goma xanthan, goma guar, polisacáridos (almidón, celulosa microcristalina o

carragenina) y poliuronidos. Carragenano es la opción preferida en cantidades de 0.01 a 0.05% por peso de miel cremada. El calcio se mezcla en un molino coloidal manteniendo la humedad de la mezcla de 3 a 5% añadiendo agua y controlando la temperatura y tiempo en el proceso.

1.5.2 Basados en fruta

La miel puede reemplazar parcial o totalmente el azúcar utilizado en la formulación de productos para untar de frutas (Umesh Hebbar *et al.*, 2008). Krell, 1996, reporta que se deben usar frutas con un bajo contenido de humedad, es decir, frutas secadas al sol, frutos secos (nuez, maní, almendra) o especias (canela, nuez moscada). Los productos para untar a base de frutas se preparan mediante tratamientos térmicos controlados (de la pulpa de la fruta o de la miel formando jarabes) y la incorporación de miel y otros ingredientes esenciales. Los procesos y aditivos dependen de las características que se quieran conferir al producto final, por ejemplo, el desarrollo del color, producción y pérdida de sabores, el riesgo de fermentación, la higiene, entre otros, son afectados por prácticas como la pasteurización. Además, para mejorar la consistencia y la humedad se agregan distintos tipos de gomas y estabilizadores (azúcar, ácido cítrico, benzoato de sodio, pectina) para producir geles estables, (Krell, 1996; Umesh Hebbar *et al.*, 2008).

1.5.3 Basados en grasa

Los productos para untar de grasa de miel se obtienen mezclando miel con mantequilla, margarina o mantequilla de maní. Generalmente contienen más de 60% de grasa. Una mezcla de 1:1 de aceite: manteca vegetal con un monoglicérido como emulgente se mezcló y luego añadió a miel a 65°C (Umesh Hebbar *et al.*, 2008) Los capítulos son las principales divisiones del documento. En estos, se desarrolla el tema del documento. Cada capítulo debe corresponder a uno de los temas o aspectos tratados en el documento y por tanto debe llevar un título que indique el contenido del capítulo.

2. Correlación de parámetros de cristalización inducida con propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la miel de *Acacia mangium*

La miel es esencialmente una mezcla homogénea, coloidal (Costa *et al.*, 2013) sobresaturada de monosacáridos (glucosa y fructosa), que representan típicamente el 80-85% de los sólidos en la miel, y en menor medida de sacarosa (Frigerio Tisi, 2010). De estos carbohidratos la glucosa es la menos soluble (Silva, 2010), precipitando como α -D-glucosa monohidratada como forma estable por debajo de 50°C (Venir *et al.*, 2010) con una estructura cristalina ordenada con una morfología cúbica (Ma *et al.*, 2017; Naik *et al.*, 2019). Como la fructosa es mucho más soluble permanece en solución por más tiempo, y por lo tanto la disolución (licor madre) se vuelve más concentrada en fructosa hasta que no se puede remover más glucosa y el proceso de cristalización se detiene (Crane & Kirk Visscher, 2009). De esta forma, la cristalización espontánea del monohidrato de glucosa en la miel forma una mezcla de dos fases: la pesada está compuesta por una suspensión cristalina mientras la liviana es acuosa y está compuesta por fructosa (Bakier, 2009).

La cinética de la granulación es función de la velocidad de formación (número) y el crecimiento (tamaño) de los cristales; además, depende de la formulación (impurezas, aditivos), la sobresaturación, la temperatura (a menor temperatura menor solubilidad, pero también hay una menor velocidad de difusión) y la agitación (que provee la energía necesaria para la formación de núcleos) (Bund & Hartel, 2010). La velocidad de cristalización, la forma y tamaño de los cristales depende de la composición de la miel (relación fructosa/glucosa, la cantidad de agua presente) y la temperatura de almacenamiento (Lupano, 1997). Las muestras de miel que no cristalizan por un gran tiempo tienen un F/G mayor a 1,33 y si la razón es menor a 1,11 la miel cristaliza rápidamente (Escuredo *et al.*, 2014; Tosi *et al.*, 2004). Costa *et al.*, 2015, encontraron que las mieles cristalizadas a 15°C tenían cristales menores a 20 μm . Por otra parte, los cristales en los estados iniciales no tienen un tamaño homogéneo ya que están presentes

algunos pequeños ($>10\ \mu\text{m}$) y otros más grandes (alrededor de $100\ \mu\text{m}$) (Dettori *et al.*, 2018). Sin embargo, parecen tener una morfología similar, con formas y espesores regulares. Además, se ve afectada por factores como la viscosidad, el envase y la presencia de impurezas que funcionen como núcleos de formación (Frigerio Tisi, 2010).

Para Amariei *et al.*, 2020, la cristalización trae varios problemas en la miel como la impresión en el usuario de posibles adulteraciones y dificultades en el manejo, procesamiento y porcionamiento. Además, hay rechazo por la presencia de cristales, apariencia cerosa y cambios de color. Pese a que la cristalización de la miel es natural, puede aprovecharse de manera dirigida, controlando el tamaño y número de los cristales formados (Frigerio Tisi, 2010). Varias técnicas han sido desarrolladas para guiar el proceso de cristalización natural de la miel hacia un producto final completamente cristalizado, estable y homogéneo, con una apariencia agradable, consistencia cremosa y buena recepción por la mayoría de los consumidores (Krell, 1996).

Con lo anterior en mente, el objetivo del presente estudio fue producir un producto a base de miel mediante el control de la velocidad, el tiempo de agitación y la cantidad de semilla de nucleación usada. Para ello, se estudiaron los efectos de la adición de miel de cremada a distintos porcentajes, junto con tasas y tiempos de agitación, sobre la actividad de agua y las características visuales y de textura del producto final. Con lo anterior se optimizó el proceso para producir una miel con las características organolépticas más parecidas a la miel comercial que representara de manera satisfactoria el proceso de cristalización inducida en la miel de *Acacia mangium*.

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Preparación de la muestra

Las muestras de miel fueron provistas por apicultores y productores durante la cosecha abril de 2021 en Puerto Carreño (Vichada). Las muestras fueron tomadas directamente del contenedor de almacenamiento, asépticamente transferidas a envases de vidrio claro estériles (Tosi *et al.*, 2004). El método utilizado fue el Dyce, reportado por (Umesh Hebbar *et al.*, 2008) donde las muestras de miel se calentaron en un baño termostático a 63°C para eliminar cristales naturales y levaduras osmotolerantes y osmofílicas. La temperatura

se mantiene constante por 30 min o hasta que no se perciban cristales a simple vista. Entonces la miel se filtró a través de una malla de 140 mesh (106 μm) de acero inoxidable y se colocó en frascos de vidrio transparente a temperatura ambiente.

Como núcleo cristalino se usó miel cremada comercial Biabejas[®], que produce con miel de altura (de 2700 msnm) y que se bate durante 15 días (Biabejas, 2020). Para la adición de la semilla, se pesó esta miel cremada en beakers de vidrio y con ayuda de espátula, en balanza analítica con dos decimales de cifras significativas. Después se pesó la miel a cristalizar de acuerdo con cada tratamiento. La agitación se realizó con un agitador de hélice con indicador digital RW20 (IKA, China) (**Figura 2-1**), procurando no exceder en 5% la velocidad de agitación. El tiempo de batido se contabilizó con cronómetro digital hasta milisegundos, procurando estar en 5% de margen de error. Después de realizada la agitación de acuerdo con cada tratamiento, se dejó en reposo durante una hora y posteriormente se trasvasaron las muestras en cada uno de los recipientes para cada determinación.

Figura 2-1. Agitador RW20



(Zamora & Chirife, 2006) concluyeron que la miel cristaliza más rápido entre 10 y 15°C, con valor máximo en 14°C. Por esta razón, el almacenamiento se realiza a temperatura de $14\pm 1^\circ\text{C}$, en oscuridad (**Figura 2-2**) y en recipientes separados para cada determinación. La temperatura en el refrigerador se registró diariamente durante el experimento. Para seguir la evolución de la cristalización se van a realizar dos tomas de información al principio y al final del ensayo, de propiedades físicas (adhesividad, firmeza, colorimetría, turbidez y micrografía) y química (actividad de agua).

Figura 2-2. Incubadora de CO₂

2.1.2 Parámetros analizados

- **Actividad de agua (a_w) durante la cristalización**

Es la relación de la presión de vapor del agua del alimento a la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura” (Gleiter *et al.*, 2006). Es una representación del potencial químico de una solución por medio de mediciones de propiedades coligativas como la presión de vapor, la disminución en el punto de fusión, aumento en el punto de ebullición y la presión osmótica. Este parámetro es afectado por las interacciones agua-agua, agua-glucosa y glucosa-glucosa, las cuales son dependientes tanto de la concentración como de la temperatura (Subbiah *et al.*, 2020). De esta manera, la actividad acuosa del agua pura es 1 y la adición de sustancias que fijen moléculas de agua hace que descienda la presión de vapor del alimento y por lo tanto la actividad de agua disminuye.

La actividad de agua de cada una de las muestras se midió utilizando un medidor de actividad de agua HydroLab C1 (Rotronic, EE. UU) que funciona según el principio de la temperatura del punto de rocío (**Figura 2-3**). El medidor de actividad de agua se calibró con frecuencia con soluciones estándar con actividades de agua especificadas ($0,43 \pm 0,05$ y $0,80 \pm 0,05$). Además de las soluciones estándar, el medidor de actividad del agua también se verificó con agua desionizada ($a_w = 1,00 \pm 0,05$) (Kuroishi, Queiroz, Almeida, & Quast, 2012; Subbiah *et al.*, 2020)

Figura 2-3. Medidor de actividad de agua

Como la miel se cristalizó estáticamente, los portamuestras plásticos circulares PS-14 que servían para el equipo de medición de dimensiones: 46 mm x 14 mm se llenaron con la miel líquida al inicio del almacenamiento, y se midió cada una por separado (Tappi *et al.*, 2019). Para poder acelerar el tiempo de medición, las muestras de miel granuladas se colocaron en un recipiente plástico y se colocaron durante tres horas a temperatura ambiente. Para cada determinación dos réplicas se realizaron y se reportó únicamente el promedio (Zamora & Chirife, 2006). En esta parte, y como criterio para poder determinar la finalización del ensayo, se realizaron 8 toma de muestras de acuerdo a la **Tabla 2-1**

Tabla 2-1. Toma de datos de la actividad de agua de acuerdo con el Tiempo de almacenamiento

Toma de datos	Nombre	Tiempo de almacenamiento (d)
1	Aw1	1
2	Aw2	4
3	Aw3	8
4	Aw4	11
5	Aw5	15
6	Aw6	20
7	Aw7	30
8	Aw8	40

- **Colorimetría**

De manera general, el color de una miel es función del contenido de flavonoles, xantofilas y carotenos, en el néctar floral y del contenido de cenizas (minerales del suelo como sodio), de polen, acidez y fructosa (Szabó, Mézes, Szalai, Zajác, & Weber, 2016). Para Tappi *et al.*, 2021, el color está relacionado con el origen botánico, geográfico y la estacionalidad. Por otro lado, el desarrollo del color durante el almacenamiento se debe a la reacción de tanatos y otros polifenoles con el hierro de los contenedores y equipos de procesamiento; las reacciones de Maillard de azúcares reductores con sustancias que contienen grupos amino (aminoácidos, polipéptidos y proteínas), y la inestabilidad de la fructosa en solución ácida (caramelización), cristalización y el tratamiento térmico (frecuencia e intensidad) (Negueruela & Perez-Arquillue, 2000).

Las muestras en estado líquido se vertieron aproximadamente 5 mL en una caja de Petri de vidrio de 3,5 cm de diámetro y 1 cm de altura en un fondo blanco (Escuredo, Rodríguez-Flores, Rojo-Martínez, & Seijo, 2019). El análisis de color se llevó a cabo usando un colorímetro portátil digital Minolta ChromaMeter CR-400 que utiliza luz difusa y que fue previamente calibrado con una pantalla blanca (CR-A43) en iluminante D65. El cabezal de medición (50 mm de diámetro de apertura) se colocó sobre superficie de la muestra de miel a una distancia muy cercana a la superficie (en término de milímetros) y se midió la absorbancia de la superficie de la muestra de miel con varios disparos y se tomaron los tres en los que la variabilidad era menor al 5%. Se evaluaron los tres componentes en la escala CIELab (L^* , a^* y b^*): L^* es componente de luminosidad o brillo que varía de 0 a 100; y a^* y b^* son los dos componentes de color, que varían de -100 a 100 (a^* es de verde a rojo y b^* es de azul a amarillo). Adicionalmente, los demás parámetros de color se calcularon de acuerdo a la **Tabla 2-3**. Bodor, Benedek, Urbin, Szabó, & Sipos, 2021, y Szabó *et al.*, 2016, presentan la **Tabla 2-2** para la interpretación de la diferencia de color en términos de la percepción visual.

Tabla 2-2. Significado de la diferencia de color total

Rango	Diferencia perceptible
$\Delta E_i^* \leq 0,5$	No perceptible
$0,5 \leq \Delta E_i^* \leq 1,5$	Apenas perceptible
$1,5 \leq \Delta E_i^* \leq 3$	Perceptible
$3 \leq \Delta E_i^* \leq 6$	Visible
$6 < \Delta E_i^*$	Grande

Fuente: Bodor, Benedek, Urbin, Szabó, & Sipos, 2021; Szabó *et al.*, 2016

Tabla 2-3. Variables medidas en colorimetría

PARÁMETRO	DEFINICIÓN	FUENTE
<p>Luminosidad (ΔL) $\Delta L > 0$ muestra más luminosa que el estándar (i) $\Delta L < 0$ muestra más oscura que el estándar (i)</p>	$\Delta L_i^* = L^* - L_i^*$	(Frigerio Tisi, 2010)
<p>Verde a rojo (Δa) $\Delta a > 0$: la muestra es más roja que el estándar (i) $\Delta a < 0$: la muestra es más verde que el estándar (i)</p>	$\Delta a_i^* = a^* - a_i^*$	(Frigerio Tisi, 2010)
<p>Azul a amarillo (Δb) $\Delta b > 0$: la muestra es más amarilla que el estándar (i) $\Delta b < 0$: la muestra es más azul que el estándar (i)</p>	$\Delta b_i^* = b^* - b_i^*$	(Frigerio Tisi, 2010)
<p>Índice de blancura (WI)</p>	$WI = 100 - \sqrt{[(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]}$	(Costa <i>et al.</i> , 2015)
<p>Índice de amarillamiento (YI) Describe el cambio de color en una muestra prueba de clara o blanca a amarilla</p>	$YI = 142,86 \frac{b^*}{L^*}$	(Amariei <i>et al.</i> , 2020)
<p>Tono o ángulo de matiz (h^*) Percepción visual en la cual un área parece ser similar a una combinación de pares adyacentes de los colores rojo, amarillo, verde y azul. Mieles de color ámbar oscuro presentan valores bajos</p>	<p>Si $a^* > 0$:</p> $h^*(rad) = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right)$ <p>Si $a^* < 0$:</p> $h^*(rad) = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) + \pi$ <p>En grados sexagesimales:</p> $^\circ h^* = \frac{\arctan \left(\frac{b^*}{a^*} \right)}{2\pi} \cdot 360^\circ$	(Escuredo <i>et al.</i> , 2014; Juan-Borrás <i>et al.</i> , 2014) (Suriwong <i>et al.</i> , 2020) (Dettori <i>et al.</i> , 2018)
<p>Croma o Saturación (C^*) Cantidad de color de un área, y aumenta con la luminosidad y de esta manera las mieles más claras tienen valores más altos</p>	$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{\frac{1}{2}}$	(Escuredo <i>et al.</i> , 2014; Juan-Borrás <i>et al.</i> , 2014)
<p>Diferencia de color total (ΔE^*) Percepción visual entre la muestra y un estándar (i). Se determina como un promedio de las coordenadas del espacio CIELab</p>	$\Delta E_i^* = \sqrt{(\Delta L_i^*)^2 + (\Delta a_i^*)^2 + (\Delta b_i^*)^2}$	(Amiry, Esmaili, & Alizadeh, 2017; Costa <i>et al.</i> , 2015; Kuroishi <i>et al.</i> , 2012; Suriwong <i>et al.</i> , 2020) y (Kuroishi, Queiroz, Almeida, & Quast, 2012)

- **Turbidez**

La turbidez es una medida relativa de la transparencia de una miel y está relacionada con los sólidos en suspensión (presencia de cristales de glucosa o rastros microbianos) (Costa *et al.*, 2015). Cuando la luz pasa a través de un solvente una cantidad de luz es absorbida de acuerdo a la Ley de Beer-Lambert. La absorbancia o densidad óptica es la cantidad de luz absorbida por la solución y dispersión de la luz incidente causada por las partículas suspendidas y es un estimativo de la turbidez de las soluciones (Karki, Dobhi, & Dobhi, 2021). La densidad óptica se ve afectada por el número, tamaño y en menor medida, la forma de las partículas. Por lo tanto, si las partículas aumentan en cantidad o dimensiones, esto debería ser evidente por un cambio en la turbidez de la solución. La miel líquida se volverá opaca debido a la granulación, lo que dará como resultado un aumento en el valor de absorbancia, y con esto la turbidez de la miel puede ser una medida de la formación de cristales (Costa *et al.*, 2015).

Por otro lado, para obtener una medida real de la turbidez, se debe reducir o eliminar la absorción, por ejemplo, a 720 nm los tonos amarillentos no tienen incidencia. Huidobro-Canales & Simal-Lozano, 1984, afirmaron que la absorbancia de la miel va aumentando con la longitud de onda que se hace incidir en un rango entre 650 nm y 700 nm, en donde se encuentra un valor de absorbancia constante (Karki *et al.*, 2021). En cuanto a la importancia de la turbidez, por una evaluación sensorial, la aceptabilidad de los consumidores se redujo (de aproximadamente 7 a menos de 3 en escala hedonista de nueve puntos con miel sin cristalizar y cristalizada al 100%) casi proporcionalmente cuando la turbidez de miel de girasol de Tailandia aumentó con el grado de cristalización (Srinual & Intipunya, 2009).

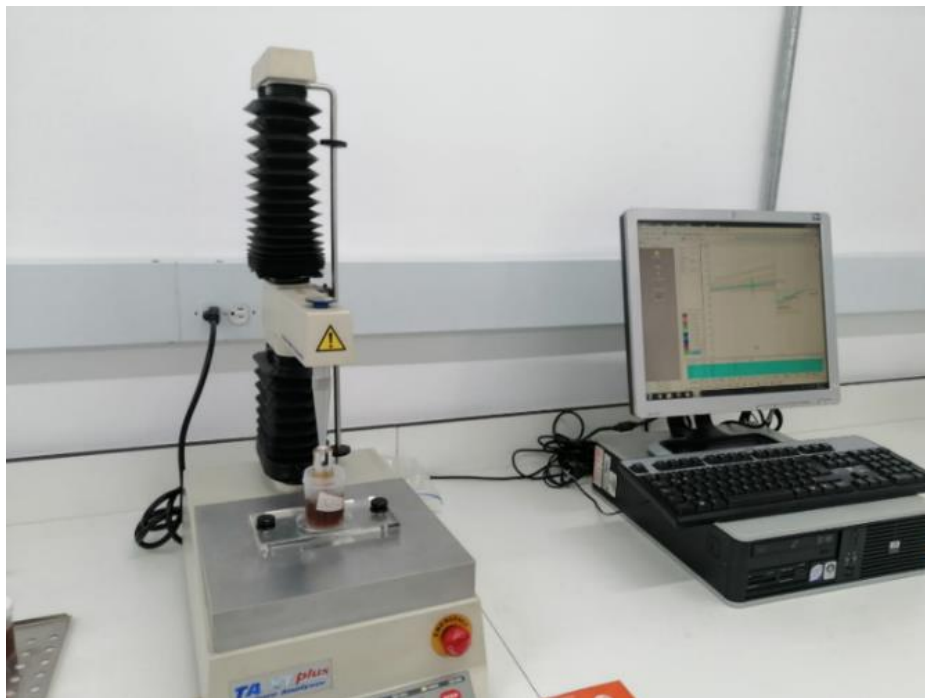
Según la información ya mencionada, las muestras de miel ya agitadas y mezcladas, y sin diluir, se dejaron reposar a temperatura ambiente, y cerca de 2 mL de muestra se colocaron en una cubeta plástica (12,5 mm × 12,5 mm × 45 mm) con una longitud de trayectoria de 1 cm. La absorbancia se midió a 660 nm con un espectrofotómetro UV-Visible Jasco V-730 (**Figura 2-4**) de acuerdo a los resultados de Conforti *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2015; Lupano, 1997; Suriwong *et al.*, 2020. Se hicieron tres réplicas por tratamiento y los valores se expresaron como el promedio ± desviación estándar.

Figura 2-4 Espectrofotómetro UV-Visible Jasco V-730

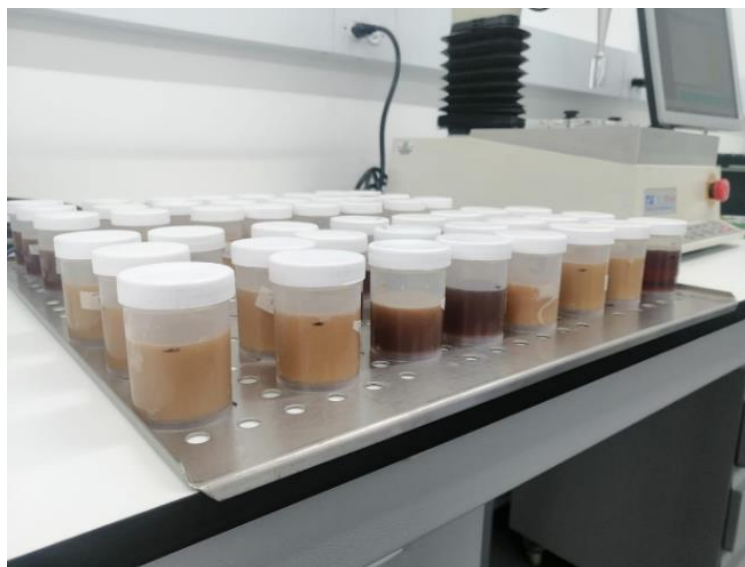
- **Textura**

La textura es una de las propiedades clave que evalúa un consumidor cuando determina la calidad y aceptabilidad de un alimento. En el caso de materiales no autoportantes o viscosos (mantequilla, margarina, geles y algunos productos líquidos espesos) la medición se puede realizar por métodos de extrusión donde las propiedades reológicas del producto afectan el flujo. En la retroextrusión (BE) la muestra está contenida en una celda fuerte con una base sólida y una parte superior abierta. Luego se realiza una prueba de compresión, en la que se fuerza una probeta con un disco dentro del recipiente hasta que la muestra fluye (extruye) hacia arriba (hacia atrás) alrededor del borde del disco y las paredes del recipiente. Este test mide la consistencia de productos no homogéneos con propiedades como la firmeza, cohesividad, capacidad de untar o extender, capacidad de extrusión, trabajo de extrusión, que se relacionan con las mediciones de viscosidad (Systems, 2015).

Para las medidas de textura, se realizó una prueba de retroextrusión (BE) utilizando un analizador de textura TA. HDPlus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Reino Unido) equipado con una celda de carga de 5 g, que constaba de un émbolo de cilindro Perspex plano de 5 mm de diámetro (P/5) que se movía dentro de un portamuestras cilíndrico lleno hasta la mitad (**Figura 2-5**).

Figura 2-5. Texturómetro TA.X Analyzer

La miel en estado líquido fue vertida en recipientes cilíndricos de plástico (volumen interno de 36 mL, llenado a la mitad) (**Figura 2-6**). Se realizó con modificaciones el método reportado por (Soria, González, De Lorenzo, Martínez-Castro, & Sanz, 2004)

Figura 2-6. Recipientes utilizados en el análisis textural

El producto se extruyó a una distancia de 20 mm a una velocidad de compresión de 2 mm/s. En este caso se quiere medir la fuerza necesaria para llegar a la distancia de 12 mm sobre la muestra. Cuando el tirador alcanza la superficie, la sonda penetra la profundidad establecida. En este punto, la sonda vuelve a su posición original a velocidad constante y se logra la máxima fuerza positiva. Las curvas de tiempo de fuerza registradas proporcionaron la fuerza máxima positiva de extrusión (firmeza) y el área positiva bajo la curva da una indicación de la consistencia de la muestra. Las medidas de textura se realizaron por triplicado y los resultados se promediaron.

De acuerdo con Bourne, 2002, la firmeza “*describe un producto que, durante la masticación, presenta una moderada resistencia a la rotura*”. Por ello se relaciona con la máxima fuerza realizada en el ensayo de extrusión. Para Álvarez, Fernández, Olivares, Jiménez, & Canet, 2013, está relacionada con fuerza necesaria para lograr una deformación de una muestra entre la lengua y el paladar y por lo tanto se percibe en el momento de colocar la muestra en la boca.

La consistencia se relaciona con “las sensaciones resultantes de la estimulación de los receptores mecánicos y los receptores táctiles, especialmente en la región de la boca, y que varían con la textura del producto (Bourne, 2002). De esta forma es un atributo textural mecánico que refleja el esfuerzo requerido para reducir la muestra a un estado apto para la deglución, teniendo en cuenta la resistencia a la desintegración (Álvarez *et al.*, 2013). Al ser percibido en el momento de preparar la muestra para tragar y que, para Dettori *et al.*, 2018, depende de las fuerzas atómicas e intermoleculares, ambas propiedades tienen un comportamiento similar. En este caso se relaciona con el área bajo la curva en la prueba de extrusión.

2.1.3 Análisis estadístico

- **Diferencia entre tratamientos y los testigos**

La elección de los factores, niveles y selección de características de calidad se realizó por medio de investigación con fuentes secundarias y contrastando con los equipos y posibilidades que tendrían en las apícolas del Vichada. Teniendo en cuenta la información recolectada por Castro Mercado, 2018, se procedió a elegir el batido y la inoculación de una semilla como tecnologías que pueden ser disponibles en la región. Posteriormente se eligieron los niveles de cada factor teniendo en cuenta las especificaciones técnicas de los equipos en la Planta de Vegetales del ICTA. De este análisis salieron 15 tratamientos como se especifica en la **Tabla 2-4**. Además, para evaluar el comportamiento de la cristalización natural se adicionó un tratamiento que no sería sometido ni a la adición ni a la homogenización y se llamó Testigo control. Las características sensoriales deseadas en la miel fueron comparadas con la miel que se utilizó como semilla (testigo comercial), que fue la miel cremada de Biabejas®. Cada tratamiento se va a realizar con 3 réplicas. Los datos se expresaron como promedio \pm desviación estándar.

Tabla 2-4. Definición de tratamientos

Tratamiento	Tiempo	Velocidad	Semilla
	min	rpm	% m/m
0	Miel de Acacia de Vichada sin tratamiento		
1	10	500	0
2	10	500	10
3	10	750	5
4	10	250	5
5	5	500	5
6	5	250	0
7	5	500	5
8	5	750	10
9	5	250	10
10	5	500	5
11	5	750	0
12	1	500	0
13	1	250	5
14	1	750	5
15	1	500	10
16	Semilla utilizada sin tratamiento		

Para poder realizar una comparación entre los testigos comercial y control con cada tratamiento se procedió identificar las diferencias estadísticamente significativas entre cada tratamiento por medio de un ANOVA para cada variable medida (Jose, 2022). Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para confirmar la distribución gaussiana y la prueba de Levene para probar la homogeneidad de la varianza. La diferencia de medias en los niveles de confianza de 95% y 99% ($p \leq 0,05$ y $p \leq 0,01$, respectivamente) se consideró estadísticamente significativo (Juan-Borrás *et al.*, 2014). Las diferencias entre los factores (tiempo y velocidad de batido y porcentaje de adición de inoculante) se hallaron con un análisis de varianza multivariante (MANOVA) (Tappi *et al.*, 2019). El MANOVA permite una exploración adicional de las diferencias entre medias cuando se obtiene una prueba F significativa que proporciona información específica sobre qué muestras eran significativamente diferentes entre sí. Adicionalmente, se practicó un Análisis de correlación de Pearson para las variables analizadas con coeficientes de regresión en un modelo lineal de primer orden

- **Grado de asociación entre los diferentes parámetros estudiados**

Como se tienen muchas variables, y muchas de ellas calculadas, se deben realizar grupos con ellas. El Análisis de Componentes Principales (PCA) convierte un conjunto de observaciones de variables posiblemente correlacionadas en un conjunto de valores de variables no correlacionadas (actividad de agua, cohesividad, turbidez, etc.) llamados componentes principales (PC) Esto se hace mediante el uso de transformaciones ortogonales, con las que se calculan los eigenvectores de la matriz de covarianza de las entradas originales. De esta forma, los datos se proyectan desde un espacio de gran dimensión a un espacio de menor dimensión (Li & Yang, 2012). La matriz de datos original se escaló automáticamente por columna, restando la media de cada columna a cada muestra y dividiéndola por su desviación estándar (datos estandarizados) para garantizar que todos los elementos tuvieran la misma ponderación en los resultados. Solo se consideraron significativos los componentes principales con valor propio superior a uno (Amariei *et al.*, 2020; Silvano, Varela, Palacio, Ruffinengo, & Yamul, 2014; Tappi *et al.*, 2021).

- **Optimización de los parámetros de proceso**

Se empleó un diseño experimental de metodología de superficie de respuesta (RSM) basado en el diseño de Box-Behnken, para estudiar los efectos de tres variables cuantitativas: tiempo de agitación (1 - 10 min), velocidad de batido (30 – 540 rpm) y porcentaje de adición de la semilla (0 – 10%) sobre las propiedades fisicoquímicas, colorimétricas y texturales de las preparaciones de miel de *Acacia mangium*. Las variables fueron medidas a tres niveles: -1, 0 y +1. Las variables cuantitativas se examinaron en tres niveles experimentales -1, 0, +1. Así se tienen 15 tratamientos de estudio (cada combinación de tiempo, inclusión o velocidad) y uno adicional de control (**Tabla 2-5**).

Tabla 2-5. Definición de variables para el diseño Box-Behnken

Tratamiento	Tiempo	Velocidad	Semilla	Variables naturales		
	min	rpm	% m/m	x_T	x_V	x_S
1	10	500	0	1	0	-1
2	10	500	10	1	0	1
3	10	750	5	1	1	0
4	10	250	5	1	-1	0
5	5	500	5	0	0	0
6	5	250	0	0	-1	-1
7	5	500	5	0	0	0
8	5	750	10	0	1	1
9	5	250	10	0	-1	1
10	5	500	5	0	0	0
11	5	750	0	0	1	-1
12	1	500	0	-1	0	-1
13	1	250	5	-1	-1	0
14	1	750	5	-1	1	0
15	1	500	10	-1	0	1

Los resultados fueron analizados considerando: el coeficiente de determinación (r^2), el análisis de varianza multifactorial (MANOVA), diagramas de superficie de respuesta. Un método de regresión no lineal fue empleado para ajustar el segundo orden polinomial para los datos experimentales y para identificar los términos relevantes del modelo. La ecuación representa en forma simbólica el modelo de respuesta considerando todos los términos lineales, cuadráticos y los términos de interacción lineal-lineal, donde β_0 es el término compensatorio; β_i es el término dependiente o el efecto lineal del factor de entrada x_i ; β_{ij} es

el efecto cuadrático del factor de entrada x_i y β_{ij} es el efecto de interacción lineal- lineal entre el factor de entrada x_i y x_j

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{i < j}^l \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (2-1)$$

La estimación más precisa de las condiciones óptimas de los factores, se realizó por medio del cálculo de la función de deseabilidad (D) de Derringer y Suich, 1980, sobre los valores predichos por los modelos.

2.2 Resultados y discusión

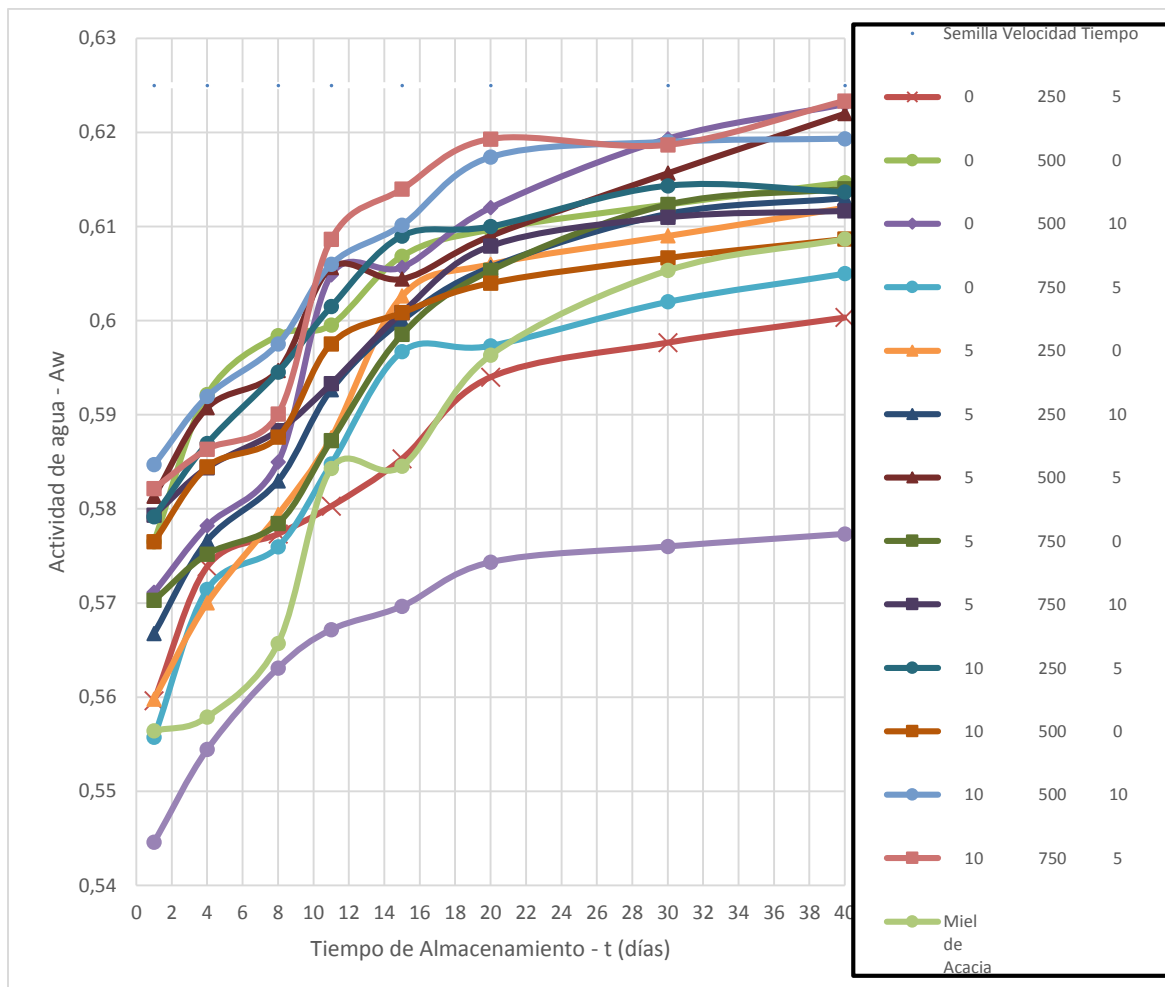
2.2.1 Datos exploratorios

Una muestra de miel extraída de plantaciones forestales de *Acacia mangium* del Vichada fue sometida a tratamiento de cristalización inducida variando la cantidad de miel semilla añadida y el tiempo y velocidad de homogenización, usando la miel cremada de Biabejas® como inóculo de cristalización. Estas muestras (tratamiento), así como mieles de Acacia sin tratamiento de inducción de cristalización (testigo control) y muestras de miel cremada Biabejas® empleada como inóculo (testigo comercial), se almacenaron en distintos recipientes plásticos traslúcidos a temperatura de $14\pm 1^{\circ}\text{C}$ y en oscuridad. Las muestras fueron analizadas para parámetros fisicoquímicos (actividad de agua) y características visuales (turbidez y componentes de color) y de textura (firmeza y consistencia). A continuación se presenta la evaluación de dichos parámetros.

- **Actividad de Agua (a_w) en el ensayo**

La actividad de agua en la miel de Acacia sin tratar (testigo control) aumentó constantemente con un valor de 0,556 en el día 1 a 0,609 al final del ensayo. En la misma línea, en los tratamientos de cristalización inducida evaluados a_w también aumenta entre $0,573\pm 0,011$ y $0,613\pm 0,009$ (**Figura 2-7**). En cambio, la actividad de agua de la miel semilla (a_w de 0,545 a 0,577 entre el día 1 y 40 respectivamente) tuvo diferencias significativas respecto a la miel sin tratar (testigo control) y a las muestras de miel de Acacia sometidas a tratamientos. Estos valores están en línea con lo reportado por Cavia, Fernández-Muiño, Huidobro, & Sancho, 2004, para quienes la actividad de agua de mieles argentinas se encuentra en el rango de 0,49 a 0,65. Conforti *et al.*, 2006, encontraron que 102 muestras de mieles de la provincia de Buenos Aires con contenidos de agua entre 13,3 y 24,5% tenían actividades de agua entre 0,55 y 0,65. De la misma forma, Abramovič, Jamnik, Burkan, & Kač, 2008 encontraron valores de 0,483 a 0,591 (13,4-18,0% de agua) en mieles de melaza, y de 0,479 a 0,557 (14,0-18,6% de agua) en mieles poliflorales en 150 muestras de miel eslovaca. Zamora & Chirife, 2006, encontraron que la actividad de agua de la miel cambia entre la miel cristalizada y la re-disuelta en valores que van desde 0,566 antes hasta 0,635, para un cambio de actividad de 0,069 para una miel proveniente de Estados Unidos con 36,2% de fructosa, 31,2% de glucosa y humedad del 19,1%.

Figura 2-7. Variación en la actividad de agua promedio de miel de plantaciones de Acacia del Vichada sometidas a tratamiento de cristalización inducida



Por otro lado, la actividad de agua promedio de los tratamientos en el día 1 es de $0,572 \pm 0,007$, y va aumentando hasta $0,602 \pm 0,007$ en el día 15 y $0,607 \pm 0,008$ en el día 20, lo cual estima una tasa de cambio de 0,003 unidades de actividad de agua por día hasta el día 15, que disminuye a 0,001 desde el día 20. Entonces, a partir del día 15 desde la inoculación de la semilla en las muestras con tratamiento se tiene una tendencia constante (tasas de cambio muy bajas) en la actividad de agua. La condición de equilibrio termodinámico se alcanza solo cuando la actividad de agua del sistema es reducida a un valor constante. En este punto los potenciales químicos son los mismos en el cristal y en la solución, por lo tanto, la actividad de agua de una solución saturada es constante, independiente de la proporción de las fracciones cristalina y en solución, lo que Manikis & Thrasivoulou, 2001, consideran una cristalización rápida (granulación completa en menos

de un mes). Esto está en consistencia en lo expresado por Castro Mercado, 2018, que considera a la miel de Acacia como de cristalización rápida.

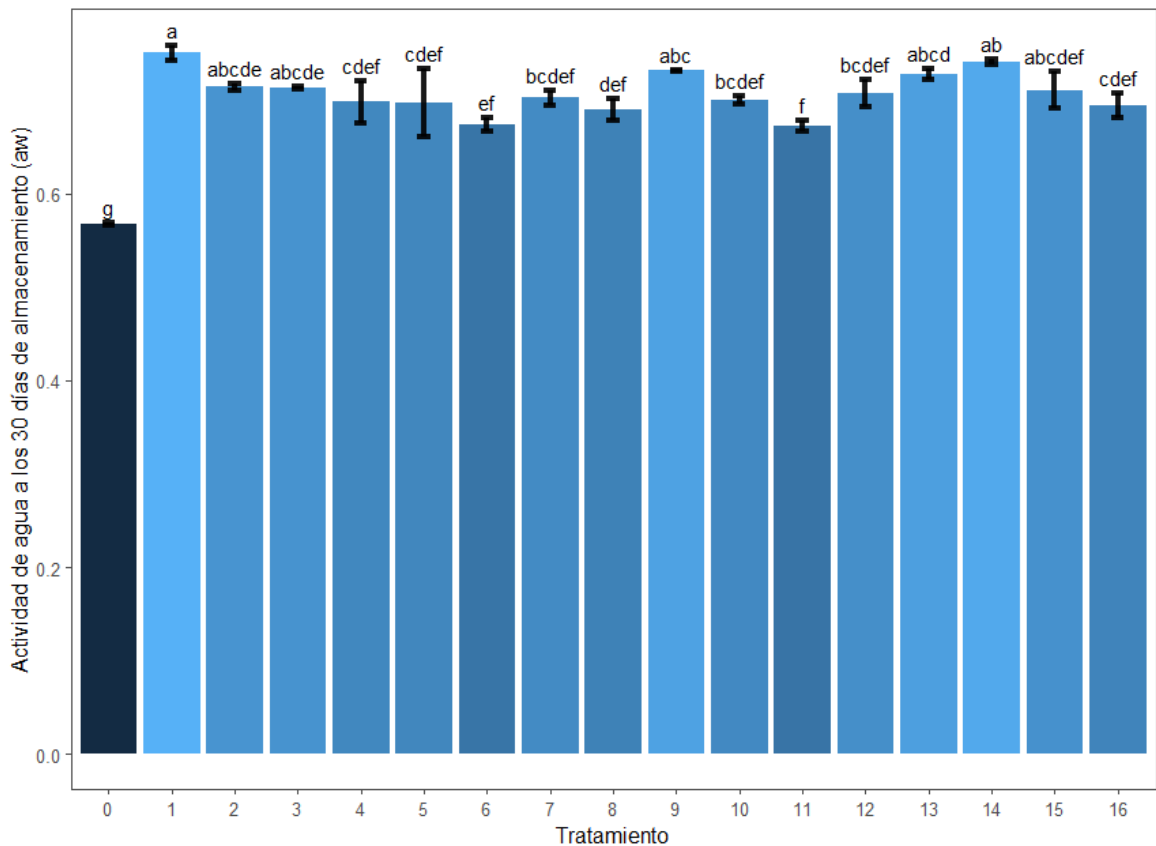
a_w de la miel comercial aumentó solo hasta el día 20 llegando solo hasta valores constantes de $0,577 \pm 0,004$ a los 30 días de almacenamiento (**Figura 2-7**) y siendo estadísticamente diferente a los tratamientos y al testigo comercial. Estos resultados se encuentran en valores más elevados a los indicados por Kuroishi *et al.*, 2012, que reportan una actividad de agua inicial en las muestras de miel brasileña de *Croton floribundus* de 0,563 a 0,576 con tratamientos de cristalización. Pero, Venir *et al.*, 2010, reportan valores de actividad de agua de 0,593 en 33 días de almacenamiento en miel Tarassaco (con F/G de 1,15) que llegó a 0,640 después de 220 días de almacenamiento, con lo cual la actividad encontrada se encuentra entre estos rangos.

De la **Figura 2-7** se observa que, al aumentar el tiempo de almacenamiento, aumenta la actividad de agua para todos los tratamientos evaluados. Laos, Kirs, Pall, & Martverk, 2011, encontraron que la actividad de agua de mieles de colza y poliflorales aumentó con el tiempo de almacenamiento desde valores de 0,56 a 0,61, permaneciendo estable a partir del día 30. Kuroishi *et al.*, 2012 hallaron una tendencia idéntica, con valores de 0,611 después de tres semanas de almacenamiento, con valores máximos de 0,620. Por otro lado, la miel alcanzó el umbral para el crecimiento de levaduras osmófilas 0,60 con solo 40 días de vida en anaquel (**Figura 2-7**), aunque aún a los 45 días no se evidenciaron cambios en su aspecto, lo cual también sucedió con Kuroishi *et al.*, 2012.

Finalmente, en la **Figura 2-8** se muestra que a_w en el día 40 de muestras sin adición de semilla es menor (0,611 en promedio) en tiempos inferiores a 5 min que las si se añadió semilla (promedio de 0,615 y 0,616 para 5 y 10%, respectivamente). Esta tendencia es similar a la encontrada para la velocidad de agitación (a_w media de 0,610 para los tratamientos con 250 rpm, para 500 rpm es de 0,618 y 0,614 en 750 rpm) y los tiempos de homogenización (a_w media de 0,617 en tratamientos con 10 min, 0,613 en 5 min y 0,612 en 1 min). De manera general, la diferencia en los valores de actividad de agua entre los tratamientos, el testigo control y el comercial puede deberse a la composición de la miel pues la miel cremada Biabejas® tiene un origen geográfico y una composición química distinta a la que tiene la miel de plantaciones del Vichada. Lo anterior puede verificarse con Bakier, 2006, quien encontró correlación lineal entre la actividad de agua y la fracción másica de la fase cristalina. Para este autor, mieles de colza con humedad del 19,6%

presentaron actividad de agua de 0,607 cuando se encontraba en estado cristalizado y de 0,578 después de la licuefacción. Además, la actividad de agua varía linealmente con la humedad de la miel (Conforti *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2013) y la miel comercial reporta un mayor contenido de agua (20%) que la de *Acacia mangium* (18%). Los cambios en la actividad de agua podrían deberse a efectos higroscópicos de la fase sólida o que adicionan agua a la solución.

Figura 2-8. Comportamiento de los tratamientos de cristalización inducida en la actividad de agua después de 40 días de almacenamiento*



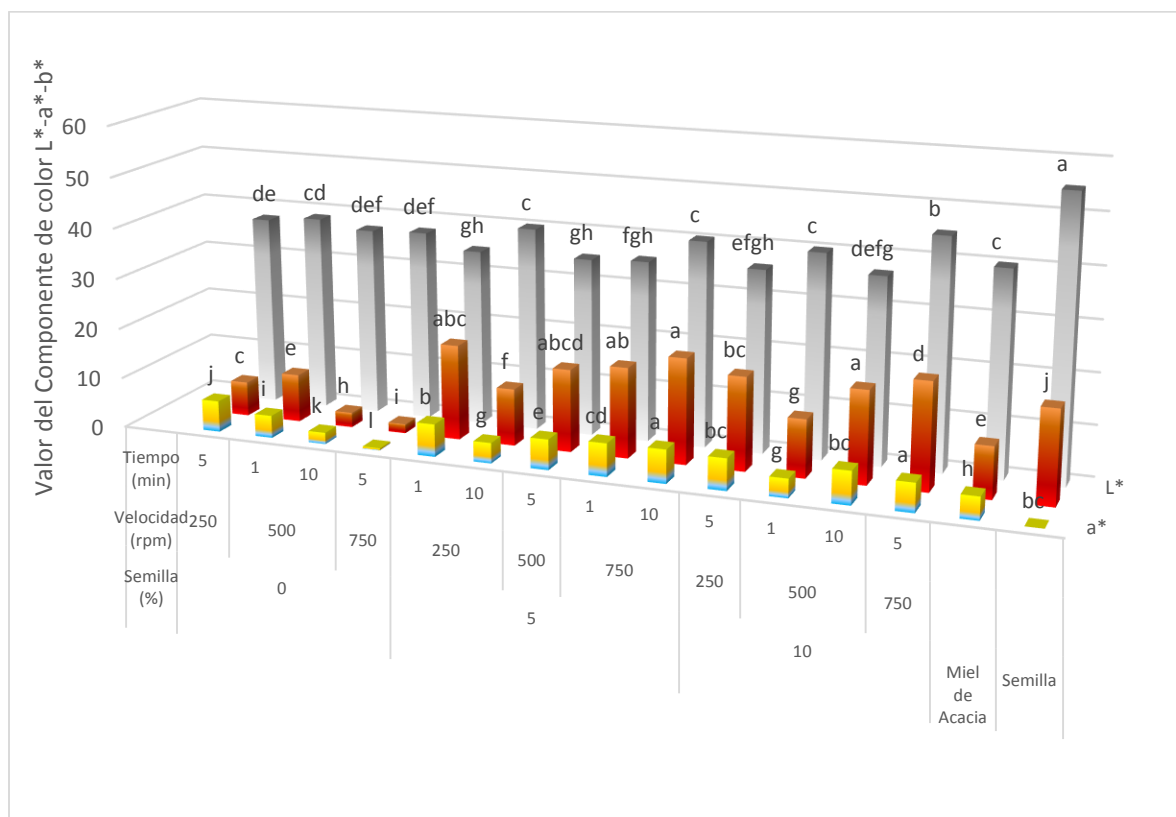
Tratamiento		6	12	1	11	13	4	5, 7, 10	14	3	9	15	2	8	0	16
Semilla añadida (%)		0			5					10					Miel de Acacia Natural	Semilla cristalizada
Agitación	Velocidad (rpm)	250	500	750	250	500	750	250	500	750	250	500	750			
	Tiempo (min)	5	1	10	5	1	10	5	1	10	5	1	10	5		

*Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (p-value > 0,05) según lo analizado por ANOVA unidireccional y la prueba de Tukey

- **Análisis de Color al final del ensayo**

Analizando cada componente por separado, se encuentra que los tratamientos sin adición de semilla presentan valores de componente a^* más pequeños y estadísticamente similares a la semilla utilizada (**Figura 2-9**). Además, los tratamientos con mayor velocidad y adición de semilla aumentaron su coordenada de color a^* . Amariei *et al.*, 2020, encontraron valores cercanos a cero (7,99 a 8,06) y negativos para mieles de Acacia inoculadas con trehalosa y sin tratamiento. Por otro lado, Kędzińska-Matysek, Florek, Wolanciuk, Skalecki, & Litwińczuk, 2016, encontraron valores de a^* entre 5,86 y 8,48, que se encuentra en el rango encontrado para estas muestras. Tappi *et al.*, 2021, encontraron que los valores a^* no variaron significativamente en tratamientos de cristalización estática, similar a la utilizada en este ensayo.

Figura 2-9. Comportamiento a los 40 días de almacenamiento de las coordenadas CIELab a^* (rojo-verde), b^* (amarillo-azul) y L^* (luminosidad) en los tratamientos de cristalización inducida en miel proveniente de plantaciones de *Acacia mangium* en Vichada



*Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (p -value > 0,05) según lo analizado por ANOVA unidireccional y la prueba de Tukey

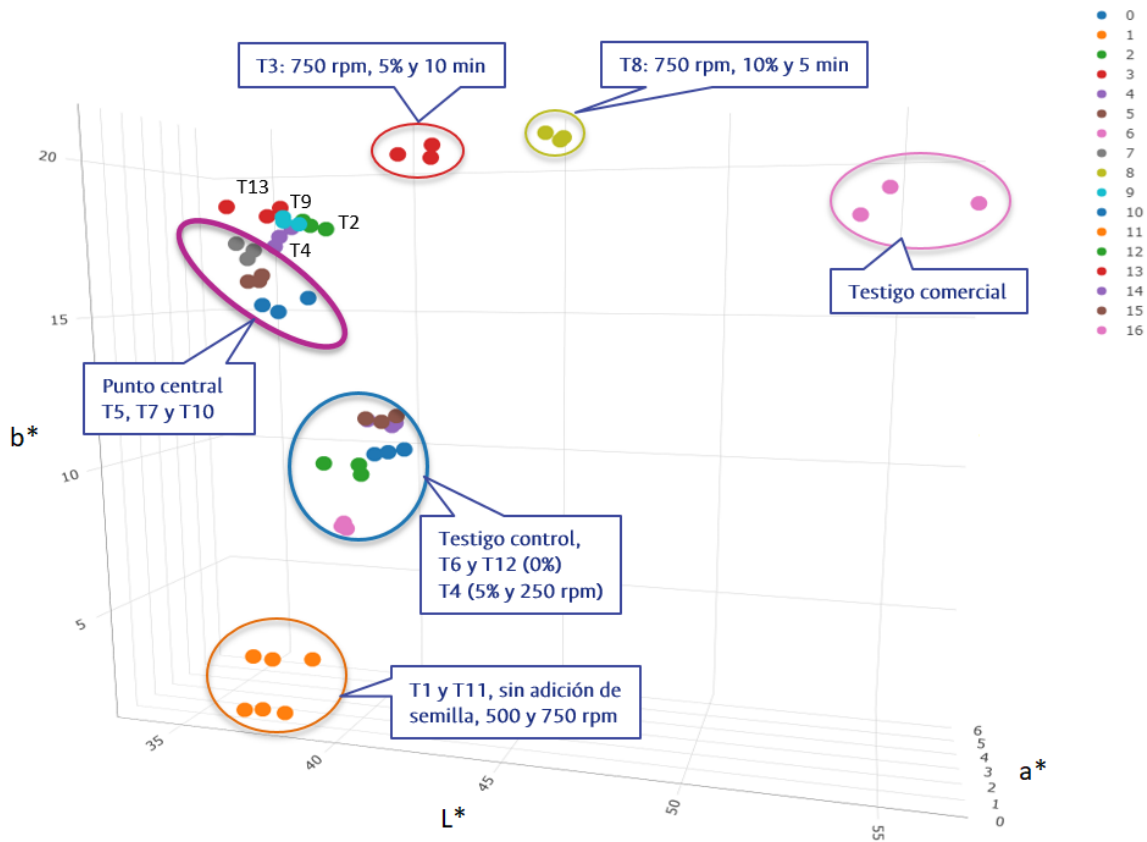
El componente de color b^* (amarillo azul) presenta mayores variaciones entre los tratamientos y los testigos respecto al componente anterior. Es destacable que los tratamientos con alta velocidad de agitación como el 3 (750 rpm, adición de 5% de inoculante y 10 min de agitación) y 8 (750 rpm, 10% de semilla y 5 minutos de agitación) presentaron los valores más altos y son estadísticamente distintos a los demás tratamientos. Los menores valores se registraron en los tratamientos sin adición de semilla: 11 (750 rpm y 5 min), 1 (500 rpm y 10 min) y 6 (250 rpm y 5 min de homogenización). Lo anterior difiere a lo encontrado por Kędzińska-Matysek *et al.*, 2016, con valores de 23,37 a 39,05 para mieles con tratamientos de temperatura de 20°C y 80°C.

La semilla utilizada si tiene una luminancia (L^*) significativamente distinta al resto de tratamientos, con valores de 48 (Figura 2-10). Dettori *et al.*, 2018, reportan valores superiores a 37,44 hasta 58,18 para miel de cristalización rápida. El tratamiento más cercano a la semilla fue el 8, que tiene la mayor tasa de semilla usada y mayor velocidad a un tiempo de homogenización de 5 min, seguidos del tratamiento 3 y 4, con el mayor tiempo de agitación y 5% de inoculante, y velocidades distintas: Para los demás tratamientos la luminancia estuvo en valores muy cercanos a 40. Tappi *et al.*, 2021, encontraron valores de L^* con valores entre 40 a 70, siendo casi constante a partir del día 20, rango en el que se encuentran los resultados hallados. Para Amariei *et al.*, 2020, no hubo cambios en el valor de L^* entre mieles inoculadas con trehalosa y no tratadas (37)

Los tratamientos en promedio tuvieron $L^* = 38,00 \pm 0,58$, $a^* = 4,99 \pm 0,08$ y $b^* = 13,44 \pm 0,21$, valores muy cercanos a los reportados para la miel sin tratar ($39,98 \pm 0,49$, $4,47 \pm 0,06$ y $10,11 \pm 0,10$, respectivamente) y muy distintos a los del inoculante empleado ($54,95 \pm 1,33$, $-0,45 \pm 0,02$ y $18,33 \pm 0,35$ (**Figura 2-10**), respectivamente y que se encuentran en los rangos reportados por Ahmed, Prabhu, Raghavan, & Ngadi, 2007, que también encontraron en muestras de siete mieles indias con valores de luminosidad (L^*) entre $53,53 \pm 0,61$ y $40,96 \pm 0,23$, de enrojecimiento ($+a^*$) entre $5,86 \pm 0,16$ y $0,10 \pm 0,04$, y de amarillamiento (b^*) entre $22,99 \pm 0,33$ y $10,62 \pm 0,23$. Por otro lado, la miel romana de Acacia estudiada por Amariei *et al.*, 2020, con un contenido de glucosa de 25,37%, a_w de 0,56 y una relación F/G = 1,766, no presenta cambios en los valores de L^* , a^* y b^* en el tiempo (hasta 12 meses) y entre la miel sin tratar y tratada con adición de trehalosa. Los valores en las coordenadas son comparables a las encontradas por otros autores. Por ejemplo, Frigerio Tisi, 2010, encontró que miel cremada chilena tenía valores de $L^* = 57,00 \pm 1,10$, $a^* = 9,80 \pm 0,30$ y $b^* = 34,30 \pm 0,05$ después de 10 meses de elaboración. Da Silva *et al.*, 2016,

referencia valores de luminancia entre 36,64 a 51,37 para mieles de Túnez. Özcan & Ölmez, 2014, encuentran valores de L entre 24,56 y 41,21, 0,02 a 1,00 para a* y 0,02 a 9,84 para b*.

Figura 2-10. Comportamiento del color a los 40 días de almacenamiento en los tratamientos de cristalización inducida evaluados en sistema CIELab



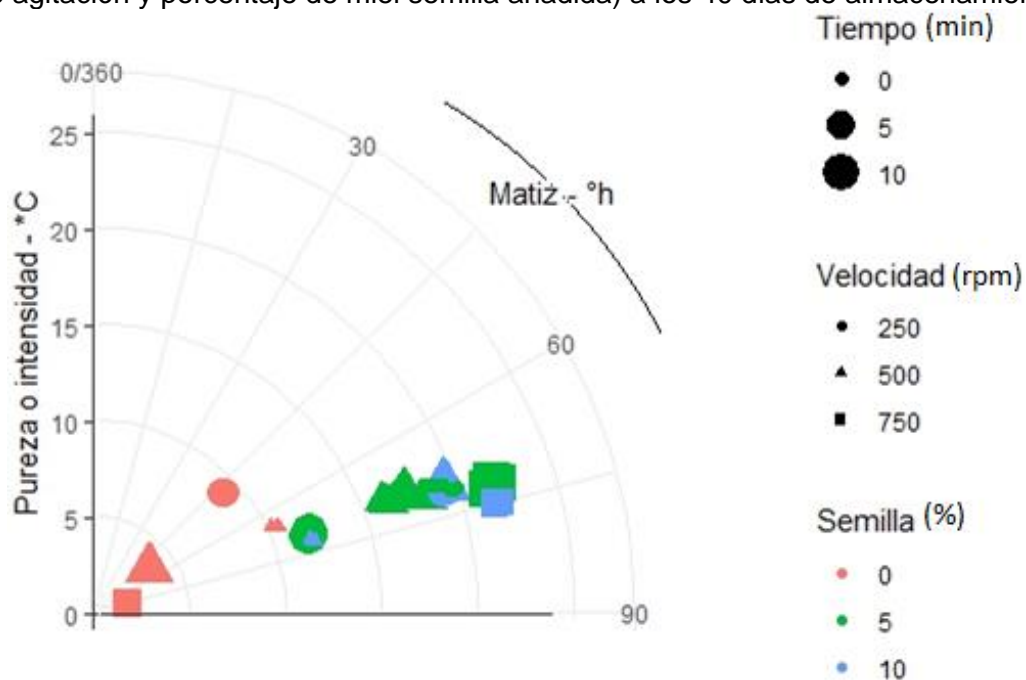
Tratamiento		6	12	1	11	13	4	5, 7, 10	14	3	9	15	2	8	0	16
Semilla añadida (%)		0			5						10				Miel de Acacia Natural	Semilla cristalizada
Agitación	Velocidad (rpm)	250	500	750	250	500	750	250	500	750	250	500	750	5		
	Tiempo (min)	5	1	10	5	1	10	5	1	10	5	1	10	5		

El color de la miel está principalmente relacionado con su origen botánico y al contenido de algunos componentes menores como minerales y polifenoles y a los procesos tecnológicos y almacenamiento (Tappi *et al.*, 2021). Esto explica que el color de la semilla sea muy distinto a la de los tratamientos y que algunos tratamientos sean distintos a la miel de Acacia sin tratar (**Figura 2-10**). El color en los tratamientos 11 y 1 es similar debido a

que en ambos no se adicionó semilla. Los tratamientos 8 y 3 tuvieron colores similares debido a la alta velocidad (750 rpm). En los demás tratamientos no se observaron diferencias significativas.

En cuanto al croma – C* (Saturación, pureza o intensidad) y el matiz - °h (tono) se encontró que la miel sin tratar tiene valores entre 66,16 y 11,06 mientras que la semilla reportó valores de 91,39 y 18,39 para croma y matiz, respectivamente (**Figura 2-11**). En medio de este rango se encuentran los tratamientos, con un promedio de 68,27 en el croma y 14,79 en el matiz, de acuerdo a lo anterior, los tratamientos conservan colores más similares a la miel de Acacia que a la semilla, lo que refuerza la influencia del origen en la percepción visual. Además, como se observa en la **Figura 2-11**, a mayor cantidad de semilla adicionada y velocidad aumentan tanto el croma como el matiz. De cualquier forma, estos valores son inferiores a los reportados por Juan-Borrás *et al.*, 2014, para mieles de Acacia de tres orígenes distintos (España, Rumania y República Checa) que encuentran valores entre $50,6 \pm 4,3$ y $56,6 \pm 5,8$ para L*, $17,8 \pm 5,9$ y $19,3 \pm 3,1$ para el croma y $84,4 \pm 9,1$ y $94,9 \pm 3,6$ para el ángulo de matiz.

Figura 2-11. Comparación en el ángulo de matiz (hue °h) y el croma (C*) para las muestras de miel sometidas a tratamientos de cristalización inducida (tiempo y velocidad de agitación y porcentaje de miel semilla añadida) a los 40 días de almacenamiento

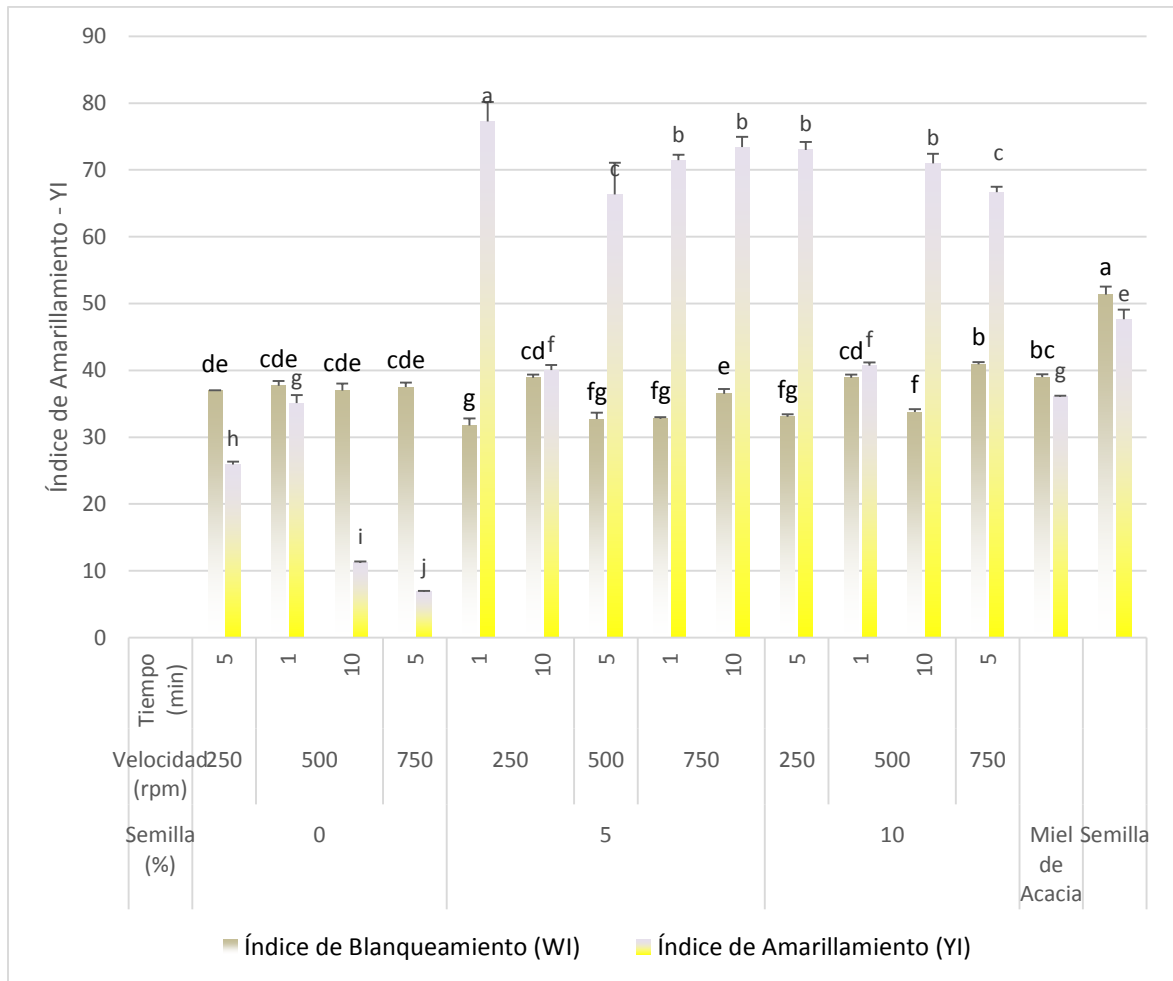


Los valores máximos de croma se encuentran en el tratamiento que tiene mayor tiempo y velocidad de agitación, con adición de 5% de semilla (Tratamiento 3), mientras que la

mayor diferencia de color está en el segundo (con 10 min de agitación, 500 rpm y 10% de adición). Dettori *et al.*, 2018, encontraron que los colores de muestras con cristalización rápida tienen valores de L^* de $58,18 \pm 0,22$ y $h^\circ=79,20 \pm 0,02$ a los 50 días de inoculación. De la misma forma, Amariei *et al.*, 2020, reporta valores de croma de $7,99 \pm 0,24$ al inicio de la cristalización y tuvo un muy ligero aumento hasta $8,05 \pm 0,64$ al noveno mes y un ángulo de matiz de $-1,53 \pm 0,03$ durante todo el transcurso del ensayo y no se encontraron diferencias entre la adición de trehalosa y la miel natural.

En cuanto a los índices de blanqueamiento (**Figura 2-12**), la semilla también tuvo un comportamiento significativamente diferente a los demás tratamientos, con $51,34 \pm 1,21$. El tratamiento con mayor velocidad y adición de inoculante tuvo un IW estadísticamente semejante al de la miel de Acacia sin tratar ($38,97 \pm 0,46$ y $40,89 \pm 0,32$). Asimismo, los tratamientos ($36,05 \pm 0,58$) se encuentran en los rangos hallados por (Costa, y otros, 2015). Para este autor, las mieles brasileñas almacenadas a 15°C por 34 d tuvieron un índice mayor (de 29,8 a 49) que aquellas almacenadas a 25°C (que no mostraron tendencia), y, además, que las distintas velocidades de agitación tuvieron un comportamiento idéntico entre ellas, mostrando que la temperatura es el factor más determinante. Meixner *et al.*, 2022, encontraron valores de Índice de blancura entre 50 y 63, y los valores dependen del tipo de tratamiento. Por ejemplo, la miel no agitada tiene valores menores, y estos disminuyen en el tiempo desde el final de la agitación. Por otro lado, cuando no se adicionó semilla o la temperatura de almacenamiento aumenta se presentaron valores de WI más bajos.

Figura 2-12. Comportamiento del Índice de Blanqueamiento y de amarillamiento a los 40 días de almacenamiento con la adición de semilla, la velocidad y tiempo de agitación

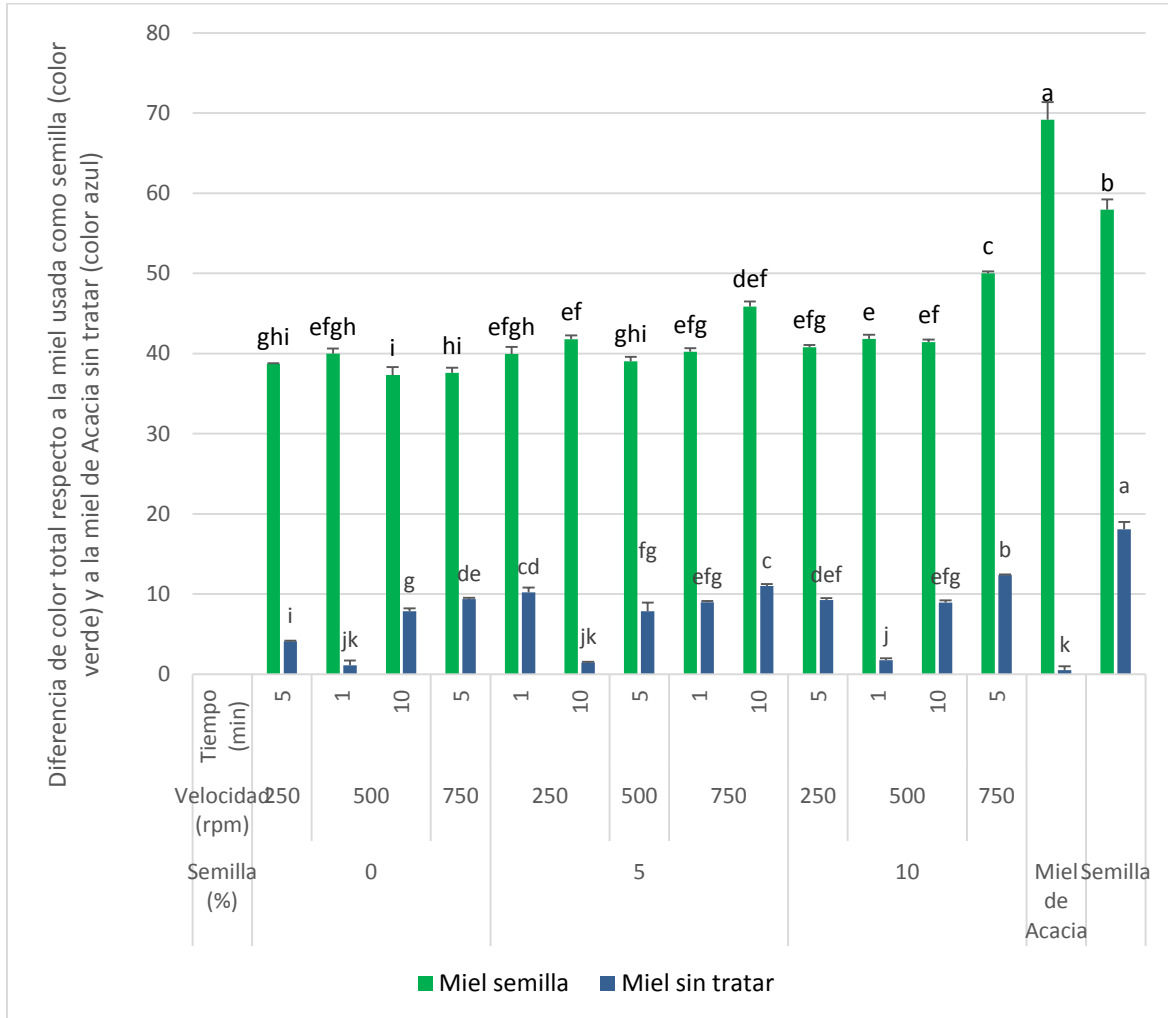


*Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (p-value > 0,05) según lo analizado por ANOVA unidireccional y la prueba de Tukey

En la diferencia de color total se comprobó que existe mayor parecido a la miel de Acacia sin tratar (color azul en la **Figura 2-13**) que a la semilla empleada (color verde en la **Figura 2-13**), observándose grandes diferencias perceptibles. Dettori *et al.*, 2018, encontraron ΔE de $18,33 \pm 0,25$ a los 50 días de inoculación, que son comparables a los encontrados en este estudio, tanto para la comparación de diferencia total con el testigo control (miel sin adición) y para el tratamiento comercial. El tratamiento 12, con 1 minuto de agitación a velocidad media (500 rpm) y sin adición de semilla, tiene diferencias de color imperceptibles con el testigo control, mientras que el tratamiento 2 (con los mayores niveles

en el tiempo de agitación y adición de semilla) tiene visibles diferencias de color con el tratamiento comercial. El resto de los tratamientos tienen grandes diferencias de percepción en la diferencia de color con ambos testigos.

Figura 2-13. Cambios en la diferencia de color total a los 40 días de almacenamiento respecto a la miel de Acacia sin tratar (color azul) y la miel usada como semilla (color verde)

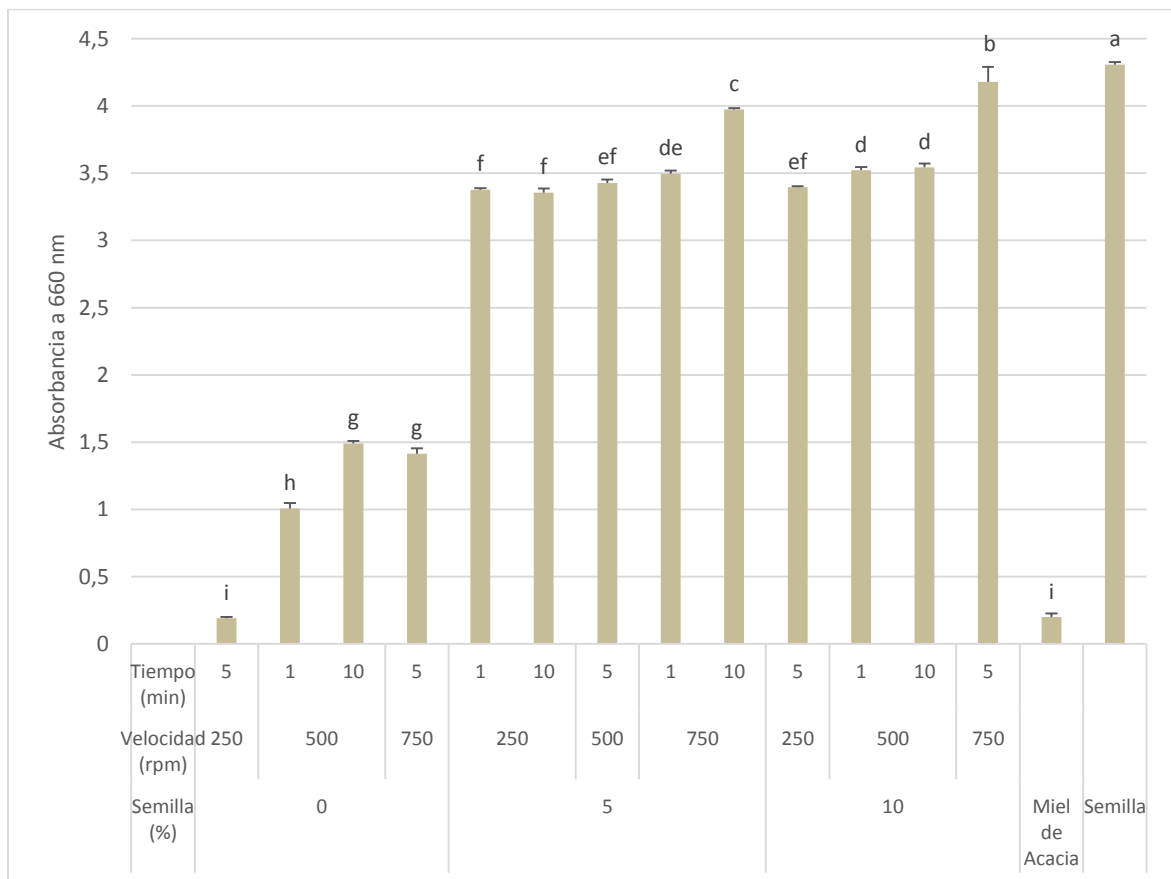


*Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (p -value > 0,05) según lo analizado por ANOVA unidireccional y la prueba de Tukey

• **Turbidez**

La absorbancia promedio a 660 nm de los tratamientos fue de $2,72 \pm 0,028$ para el día 15 de evaluación, aunque la miel sin tratar tuvo un valor de $0,20 \pm 0,02$ y la semilla utilizada estuvo en $4,31 \pm 0,02$ (**Figura 2-14**). Se observa que los tratamientos con menores adiciones de semilla tienen absorbancias cercanas a la de la miel de Acacia. Estos valores están en el rango reportado por Conforti *et al.*, 2006, que encontraron que la absorbancia a 660 nm de 102 muestras de miel argentinas se encuentran en su mayoría entre 2.5 y 3.0 con contenidos entre 16 y 20% de agua. Suriwong *et al.*, 2020, reporta un valor de absorbancia de $3,072 \pm 0,047$ en el día 23 (a cristalización completa) para la miel de girasol (F/G = 1,03 y G/W = 2,12) control y con adición de 2,5% de glucosa en polvo se llega a valores de $3,118 \pm 0,007$ a penas en 9 días.

Figura 2-14. Cambios de la turbidez a 40 días de almacenamiento entre tratamientos



*Barras con la misma letra no son significativamente diferentes ($p\text{-value} > 0,05$) según lo analizado por ANOVA unidireccional y la prueba de Tukey

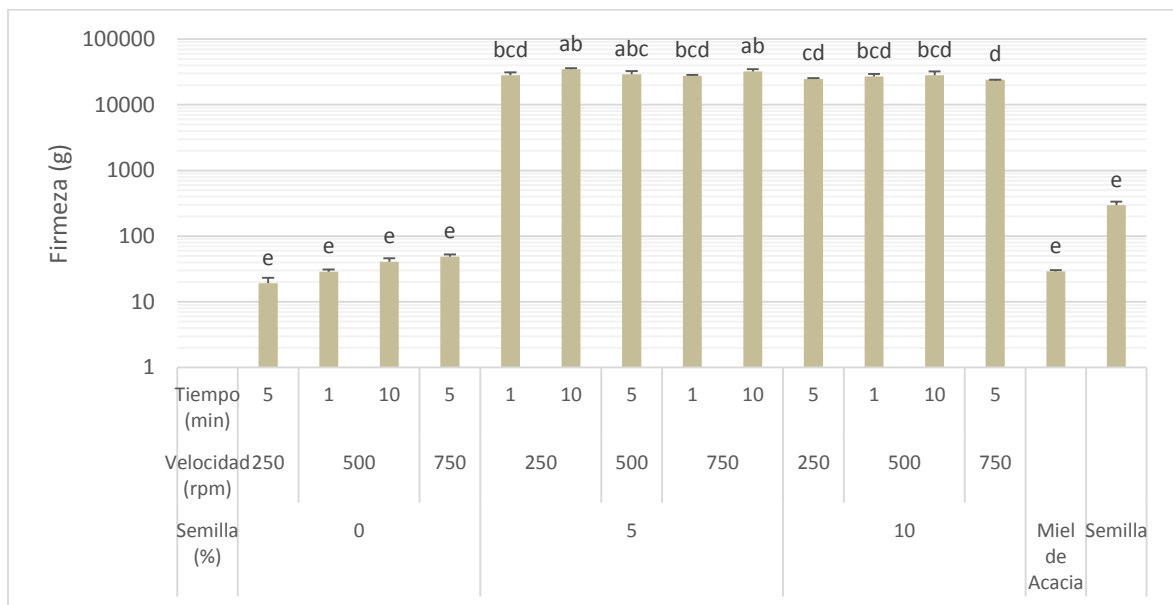
El mayor valor de absorbancia encontrado fue de $4,18 \pm 0,11$ correspondiente al promedio del tratamiento 8 (con los mayores niveles de velocidad de agitación e inclusión de semilla), seguida del tratamiento 3 (con mayores valores de tiempo y velocidad de agitación). Lupano, 1997, encontró que la absorbancia de la miel cremada aumenta con el tiempo de almacenamiento, desde 0,5 al inicio llegando una absorbancia de 3 a los 40 días para una miel multifloral de 38,3% de glucosa, 34,4% de fructosa y una relación G/W de 1,95. Finola, Lasagno, & Marioli, 2007, encontraron que la miel que cristaliza rápidamente experimenta un rápido aumento en la absorbancia (hasta de 1.5 unidades de absorbancia en la segunda semana y hasta 2 unidades en la séptima que se mantiene por 20 semanas), mientras que mieles de cristalización lenta no varían su valor de absorbancia.

Como se observa en la **Figura 2-14** hay diferencias significativas en la absorbancia entre los tratamientos con adición de semilla con los que no tienen este tratamiento y la miel sin tratar debido a que la turbidez se incrementa con la granulación. Lupano, 1997, expone cómo la absorbancia presenta un efecto similar a la entalpía de fusión de los cristales, donde la turbidez medida por la absorbancia a 600 nm, tuvo un comportamiento similar en las muestras almacenadas a 4 y 10°C, y fue superior a la mostrada por las muestras a 20 y -20°C. Por otro lado, en el ensayo de Costa *et al.*, 2015, a 25°C los valores de la absorbancia no sobrepasaron 2,5 incluso con 34 días de almacenamiento, mientras que a 15°C este valor se superó a los 15 días.

• **Cambio de parámetros texturales a los 40 días de almacenamiento**

Los tratamientos que no tenían adición de semilla tuvieron valores cercanos (entre 20 a 50 g) al de la miel líquida ($29,07 \pm 1,27$ g) y cerca de 10 veces menos que la semilla usada ($296,23 \pm 38,08$ g) (**Figura 2-15**). Los tratamientos con mayores valores son el 4, 3 y el 10 que tienen una cantidad media de semilla (5%) y tres veces más que los reportados por Conforti *et al.*, 2006, que encontraron que la firmeza de la miel se encontraba entre 0 y 25g con mieles con humedad de 16 a 20%.

Figura 2-15. Variación de la firmeza a los 40 días de almacenamiento entre tratamientos de cristalización inducida en miel de Acacia de Vichada

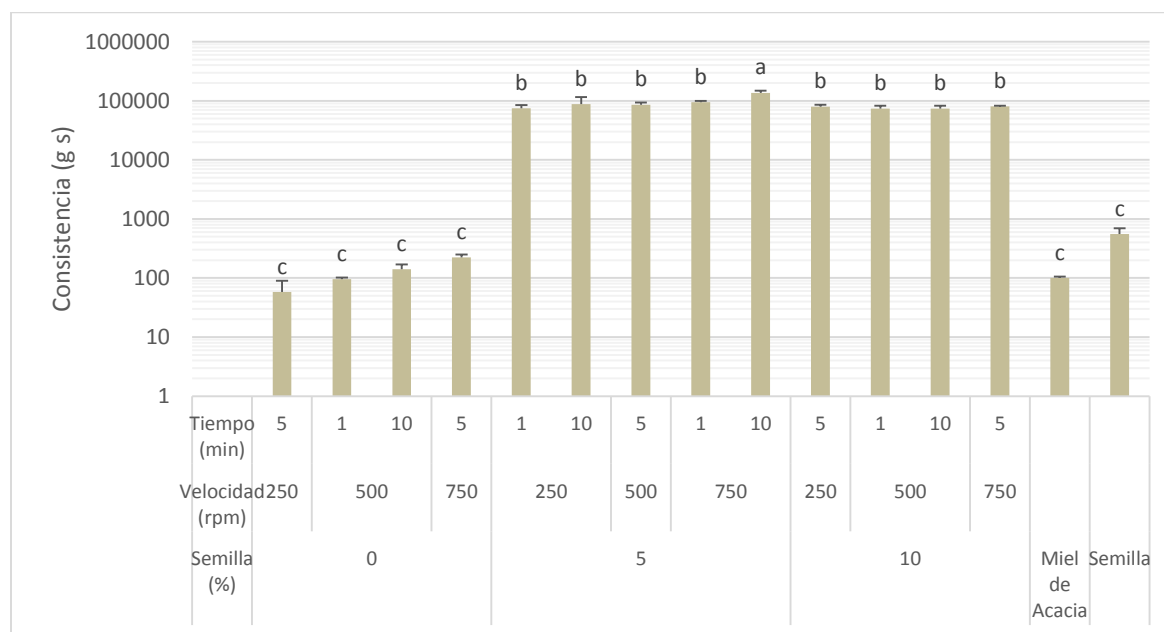


*Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (p-value > 0,05) según lo analizado por ANOVA unidireccional y la prueba de Tukey

Los valores de firmeza se encuentran entre $19,27 \pm 4,01$ g (0% de semilla, 250 rpm y 5 min de homogenización) y $32409,19 \pm 2524,24$ g (con la mayor velocidad y tiempo de agitación y 5% de semilla) (Figura 2-18). Conforti *et al.*, 2006, encuentran que la firmeza puede ser el resultado de una concentración alta de azúcar en solución o de la estructura formada por los cristales en algunas mieles cremadas. De acuerdo a lo anterior, las diferencias de hasta cuatro órdenes de magnitud entre las mieles con adición de semilla y las que no la tenían pueden deberse a la formación de una estructura interna muy fuerte en la miel con adición de inoculante.

En cuanto a la consistencia (**Figura 2-16**), los rangos se encuentran entre 21 y 146587 g s. Conforti *et al.*, 2006, encontraron valores entre 0 y -4 N s. Shinn & Wang, 1990, encontraron valores de adhesividad entre 11,67 y 126,2, con el nivel de adhesividad más alto en mieles con 17% de humedad, 12,5% de semilla adicionada, almacenamiento de 13,5 días y una relación glucosa/maltosa de 40,9%. Al igual que con la firmeza, los tratamientos sin adición de semilla se comportaron de manera idéntica a la miel de Acacia sin tratar. A comparación de los anteriores autores, la miel cremada fue mucho más adhesiva con incorporación de semilla.

Figura 2-16. Variación de la consistencia a los 40 días de almacenamiento entre tratamientos de cristalización inducida en miel de Acacia de Vichada



*Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (p -value > 0,05) según lo analizado por ANOVA unidireccional y la prueba de Tukey

Conforti *et al.*, 2006, exponen que “la adhesividad representa el trabajo necesario para vencer las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y la superficie de otro material con el que el alimento entra en contacto”. Así, se puede evaluar como la contribución de una energía superficial (asociada con el tipo y magnitud de la fuerza de unión entre el adhesivo y el sustrato) y la energía cohesiva (que es la disipada en la deformación viscoelástica y plástica dentro del adhesivo). Shinn & Wang, 1990, realizaron una optimización de la cristalización de miel midiendo parámetros texturales. En este caso usaron relaciones con transformaciones logarítmicas.

Tabla 2-6. Convenciones usadas en la Figura 2-18

Nombre	Significado
Abs0	Absorbancia inicial (día 1)
Abs	Absorbancia final (día 40)
Rel_Abs	Relación de absorbancias
Firmness0	Firmeza inicial (día 1)
Consistency0	Consistencia Inicial (día 1)
Firmness	Firmeza final (día 40)
Consistency	Consistencia final (día 40)
Aw1	Actividad de agua al día 1
Aw2	Actividad de agua a los 4 días
Aw3	Actividad de agua a los 8 días
Aw4	Actividad de agua a los 11 días
Aw5	Actividad de agua a los 15 días
Aw6	Actividad de agua a los 20 días
Aw7	Actividad de agua a los 30 días
Aw8	Actividad de agua a los 40 días
L_col	L* (luminosidad) (día 40)
a_col	a* (rojo-verde) (día 40)
b_col	b* (amarillo-azul) (día 40)
gradH	°h (ángulo de matiz) (día 40)
Chro	C* (Croma) (día 40)
WI	Índice de Blanqueamiento (WI) (día 40)
YI	Índice de amarillamiento (YI) (día 40)
DE_Comercial	Diferencia de color total respecto a la miel usada como semilla
DE_Control	Diferencia de color total respecto a la miel de Acacia sin tratar

El mismo análisis de correlación entre las variables de textura muestra que, por ejemplo, hay una muy alta correlación significativa ($r^2 = 0,94$ y $p\text{-value} < 0,05$) entre la firmeza y la consistencia (**Figura 2-17** y **Tabla 2-6**). Esta tendencia también fue observada por Shinn & Wang, 1990 al estudiar la fuerza máxima y la cohesividad y por Tappi *et al.*, 2019, con la adhesividad y la dureza de mieles cremadas. La fuerza y la dureza están relacionadas con los enlaces internos que dan la estructura de la miel cremada, y por tanto de su composición. En ambos estudios y para Dettori *et al.*, 2018, la adhesividad disminuye con el tiempo de almacenamiento, la relación G/W o el porcentaje de inoculante. Amariei *et al.*, 2020, encuentran que el comportamiento de la adhesividad y la gomosidad tienen correlación con la adición de trehalosa en miel de rábano.

Tabla 2-7. Principales correlaciones entre algunas variables estudiadas para la cristalización inducida

Variable 1	Variable 2	Correlación
Absorbancia inicial	Absorbancia final	0,99***
Absorbancia final	Firmeza	0,75***
Absorbancia final	Cohesividad	0,74***
Absorbancia final	b*	0,80***
Absorbancia final	Croma	0,76***
Firmeza	Consistencia	0,94**
Actividad de agua en el día 4	Actividad de agua en el día 7	0,92***
Actividad de agua en el día 4	Actividad de agua en el día 15	0,73***
Actividad de agua en el día 4	Actividad de agua en el día 18	0,58***

Otra tendencia a tener en cuenta es la que se presenta con la actividad de agua medida a varios puntos (**Tabla 2-7**). En este caso las correlaciones más fuertes y significantes se dieron entre las actividades tomadas en tiempos cercanos. Por ejemplo, la actividad entre el día 4 (Aw2) y el día 7 (Aw3) tuvo $r^2 = 0,92^{***}$, pero entre el día 4 y el 15 cae a $0,73^{***}$ y al día 40 (Aw8) ya llega $r^2=0,58^{***}$. Altas correlaciones también fueron observadas por Sereti *et al.*, 2021, con $r^2=0,838$ y p-value = 0,00009259 para el tiempo de almacenamiento.

Tendencias menos importantes se encuentran entre los componentes de color L* y b* con el croma y el índice de blanqueamiento debido a que unos los últimos se definen como funciones de los primeros.

- **Análisis de Componentes Principales**

Para el análisis de PCA (**Figura 2-18**) solo se usaron las variables en las que se encontraron diferencias significativas en el ANOVA. Así, quedan incluidas las variables absorbancia, relación de absorbancia, firmeza, consistencia, actividad de agua en el día 40, los componentes de color L^* , b^* y a^* , el índice de blanqueamiento, el ángulo de matiz, el croma, la diferencia de color total con el testigo comercial y el control, y el índice de amarillamiento. Tappi *et al.*, 2021, utilizaron solo algunos parámetros visuales (L^* , a^*) y texturales (adhesividad y dureza). Amariei *et al.*, 2020, utilizaron parámetros de textura como la elasticidad, cohesividad, dureza, adhesividad, gomosidad y masticabilidad en su PCA a pesar de haber medido los componentes de color (L^* , b^* , a^*) y termodinámicos (entalpía y temperatura máxima).

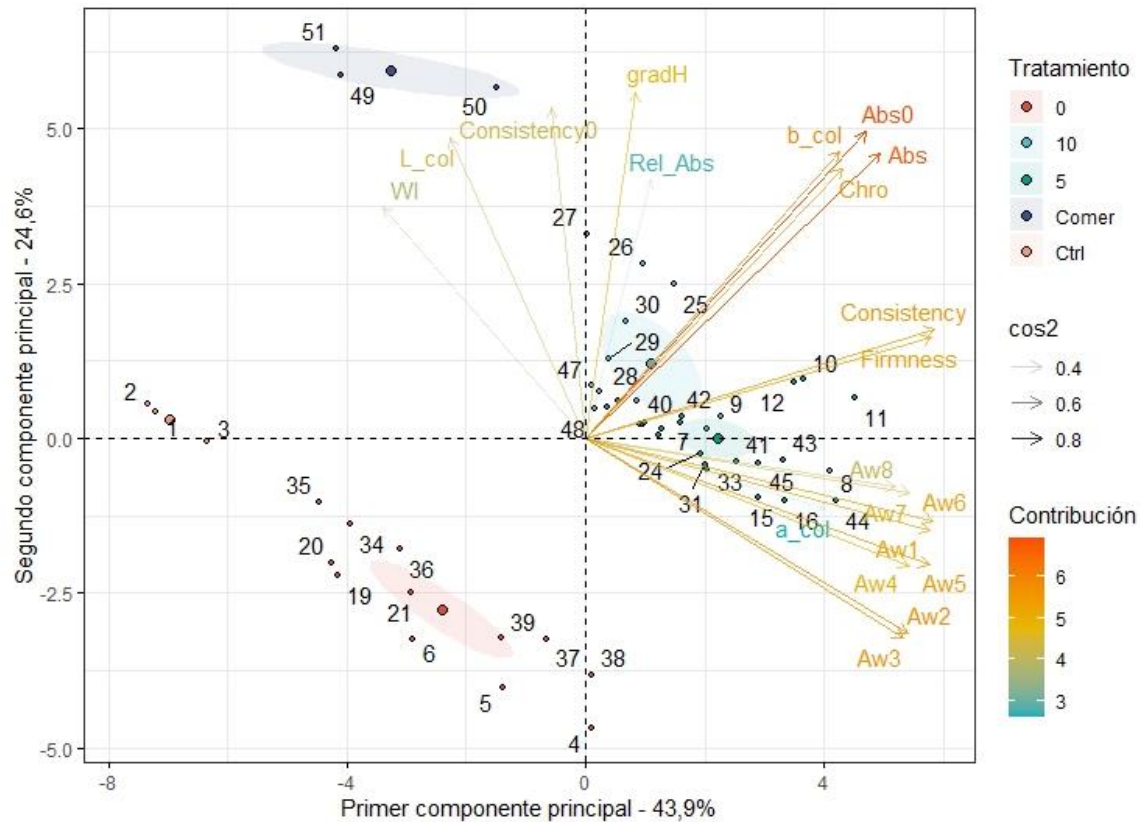
Al analizar el PCA se encontró que el primer componente (PC1) explica el 43,9% y está integrado por las variables de textura y la actividad de agua (**Figura 2-18**). La contribución de las absorbancias en este componente es baja. Tappi *et al.*, 2021 encontraron que el primer componente en el PCA que realizaron estaba explicando el 56,44% y se componía por parámetros texturales y reológicos. En el ensayo de Amariei *et al.*, 2020, el 61,22% de la varianza observada es explicada por el primer componente al inicio del ensayo y 50,28% un año después.

El segundo componente (PC2) está integrado especialmente por parámetros de color ángulo de matiz ($^{\circ}h$), L^* , b^* , el croma ($^{\circ}C$) y el índice de blanqueamiento (WI). Además, se encuentran las absorbancias inicial y final y la consistencia inicial. Este componente explica un 24,6% de la varianza observada (Figura 2-23), por lo cual su aporte es significativo. Entre este y el componente anterior se explica un poco más de las 2/3 partes de la varianza total, por lo cual se hace necesario un tercer componente. Para Tappi *et al.*, 2021, el segundo componente de la PCA (27,67%) realizada también estaba influenciada por las coordenadas de color.

El PCA muestra (**Figura 2-18**) que ΔL tuvo un comportamiento opuesto al de b^* y C^* , al igual que Δa^* con la firmeza y la consistencia inicial. Tappi *et al.*, 2021, encontraron una relación similar entre L^* y a^* , en el cual esas tienen una relación inversa. El índice de blanqueamiento no presenta correlación con las diferencias de color con los dos testigos, al igual que L^* y b^* . De esta forma se ve que la actividad de agua no fue una variable

diferencial para ninguno de los experimentos. Esto puede deberse a que la miel tiende a estar en niveles de a_w entre 0,5 y 0,6.

Figura 2-18. Gráfico biplot de variables medidas y muestras consideradas al inicio y al final de los procesos de cristalización inducida con tablas anexas de convenciones para individuos y variables



Tratamiento	6	12	1	11	13	4	5, 7, 10	14	3	9	15	2	8	0	16
Individuo	19, 20, 21	37, 38, 39	4, 5, 6	34, 35, 36	40, 41, 42	13, 14, 15	16, 17, 18, 22, 23, 24, 31, 32, 33	43, 44, 45	10, 11, 12	28, 29, 30	46, 47, 48	7, 8, 9	25, 26, 27	1, 2, 3	49, 50, 51
Semilla añadida (%)	0			5			10								
Agitación	Velocidad (rpm)	250	500	750	250	500	750	250	500	750	Miel de Acacia Natural	Semilla cristalizada			
	Tiempo (min)	5	1	10	5	1	10	5	1	10	5				

Nombre	Significado	Nombre	Significado	Nombre	Significado
Aw1	Actividad de agua a los 1 días	Abs0	Absorbancia inicial (día 1)	L_col	L* (luminosidad) (día 40)
Aw2	Actividad de agua a los 4 días	Abs	Absorbancia final (día 40)	a_col	a* (rojo-verde) (día 40)
Aw3	Actividad de agua a los 8 días	Rel_Abs	Relación de absorbancias	b_col	b* (amarillo-azul) (día 40)
Aw4	Actividad de agua a los 11 días	Firmness0	Firmeza inicial (día 1)	gradH	°h (ángulo de matiz) (día 40)
Aw5	Actividad de agua a los 15 días	Consistency0	Consistencia Inicial (día 1)	Chro	C* (Croma) (día 40)
Aw6	Actividad de agua a los 20 días	Firmness	Firmeza final (día 40)	WI	Índice de Blanqueamiento (WI) (día 40)
Aw7	Actividad de agua a los 30 días	Consistency	Consistencia final (día 40)	YI	Índice de amarillamiento (YI) (día 40)
Aw8	Actividad de agua a los 40 días				

En este caso, y para todas las variables analizadas, solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas con el factor semilla en las variables firmeza, consistencia, absorbancia inicial, absorbancia final, relación de absorbancias, índice de amarillamiento y el croma. Esto es clave para elegir los parámetros a evaluar en la cristalización durante la segunda parte del trabajo. De acuerdo a lo anterior, la actividad de agua no es distinta en ninguno de los tratamientos, así como las variables iniciales de textura (consistencia y firmeza) y los cambios de color con los testigos y las totales. Esto se relaciona con lo expresado por Zamora, Chirife, & Roldán, 2006, quienes encontraron que la miel argentina tiene rangos de actividad limitados aun así esté cristalizada. Piotraszewska-Pająk & Gliszczyńska-Świgło, 2015, encontraron que no había cambios en la diferencia total de color con el almacenamiento hasta 3 meses.

Por otro lado, en el parámetro velocidad de homogenización solo la consistencia presentó diferencias significativas, mientras que, para el tiempo de agitación, solo la firmeza y la consistencia presentan diferencias significativas. Con la cantidad de semilla adicionada hay más variables que presentan diferencias, como las diferencias de L^* y b^* con el testigo control, el componente a^* y b^* del color, el croma, el índice de amarillamiento, las absorbancias y su relación y las firmezas y consistencias al final, como se observa en la **Figura 2-18**.

En cuanto a los tratamientos, ninguno tuvo un comportamiento semejante al testigo comercial (49, 50 y 51). El tratamiento 4 (10, 11 y 12) tuvo mayores respuestas que los otros tratamientos. Además, el tratamiento al cual no se le había agregado semilla y tuvo una velocidad de agitación de 500 rpm por un minuto tuvo un comportamiento idéntico al reportado para la miel en estado líquido. Comportamientos similares al testigo control (miel fresca) se tuvieron con el tratamiento 1, 6 y 12 (que no tienen semilla adicionada y tuvieron un comportamiento semejante a este). El análisis de conglomerados entrega resultados similares a los encontrados en el PCA. El tratamiento más parecido al testigo control es el 12, que no tiene semilla adicionada y el tiempo de agitación es de solo un minuto. La gran mayoría de los tratamientos son parecidos entre sí y difieren con el testigo comercial.

2.2.3 Optimización de los parámetros de proceso

Con el fin de lograr un producto a base de miel proveniente de plantaciones de *Acacia mangium* del Vichada con características muy similares a las mostradas por productos en el mercado, se optimizaron los parámetros del proceso de cristalización inducida antes discutidos (cantidad de miel semilla añadida y velocidad y tiempo de batido), maximizando, minimizando o colocando en un rango específico cada una de las variables respuesta analizadas (actividad de agua, turbidez, firmeza, consistencia y componentes del color) por medio de la metodología de superficie de respuesta (RSM) en un diseño de Box-Behnken. Para esto se procedió a evaluar cuál es el modelo matemático (lineal o cuadrático) que mejor describía el comportamiento de cada variable de respuesta con los parámetros del proceso, para posteriormente verificar los objetivos de optimización de cada variable de respuesta de acuerdo con su comportamiento, y finalmente, evaluar la deseabilidad del proceso.

- **Elección del modelo matemático**

La **Tabla 2-8** muestra para cada una de las variables de respuesta analizadas los niveles de significancia de los coeficientes lineal y cuadráticos del modelo matemático general, así como el coeficiente de correlación r^2 múltiple. Como se observa, en nueve variables al menos uno de los coeficientes tuvo diferencias significativas (valor $p < 0,05$). Esto significa que las variables ángulo de matiz ($^{\circ}h$), componente de color amarillo-azul (a^*), luminancia (L^*) e índice de blanqueamiento (WI) no están suficientemente correlacionadas con los parámetros de proceso evaluados (semilla añadida y agitación). Lo anterior está acorde a lo expresado en la Figura 2-19, en la cual estas variables tenían una contribución y un \cos^2 muy bajo. Además, esos mismos parámetros fueron los que menos diferencias estadísticas encontraron entre los tratamientos de cristalización inducida.

Tabla 2-8. Valor de p para los coeficientes generalizados del modelo cuadrático y el coeficiente de correlación de Pearson (r) para las ecuaciones de las superficies de respuesta de cada variable en la optimización de parámetros de proceso de cristalización inducida en miel de Acacia del Vichada

Variables	Valor p				r ²	
	Lineal		Cuadráticos			
Firmeza a los 40 días	1,14E-04	***	1,98E-04	***	0,9888	***
Turbidez a los 40 días	2,88E-04	***	3,80E-03	**	0,9783	***
Consistencia a los 40 días	2,97E-03	**	3,96E-03	**	0,9596	***
b* a los 40 días	0,0133	*	0,0948	,	0,9111	***
Croma (C*) a los 40 días	0,0208	*	0,1203		0,8970	***
Índice de amarillamiento	0,0286	*	0,0942	,	0,8862	**
Matiz (°h) a los 40 días	0,0742		0,5341		0,8109	
a* a los 40 días	0,3199		0,4483		0,7280	
L* a los 40 días	0,5705		0,3900		0,6298	
Índice de Blanqueamiento	0,8574		0,3638		0,5748	

Códigos de significancia: valor-p ^{simbolo}: 0,001^{***}; 0,01^{**}; 0,05^{*}; 0,1^(.)

De la Tabla 1-13 se observa que la absorbancia y las variables texturales medidas a los 40 días de almacenamiento presentaron altamente diferencias significativas con un buen ajuste en el modelo cuadrático. La componente del color b* y el índice de amarillamiento presentaron diferencias significativas en el modelo cuadrático y lineal, mientras que el croma solo en el lineal.

El análisis de las curvas modeladas se encuentra en la **Tabla 2-9**, para la cual x₁ se refiere al “tiempo de agitación”, x₂ es la “velocidad de agitación” y x₃ es “porcentaje de semilla añadida”. Al realizar las comparaciones se encontró que el parámetro “porcentaje de semilla añadida” fue el que más influyó en la generación de las curvas de optimización pues presentaba diferencias altamente significativas en el coeficiente lineal y cuadrático en las variables firmeza, turbidez y consistencia. Con esto en mente, se encontraron los modelos para las variables de respuesta que resultaron viables después de realizar todo el proceso de selección, como se muestra en la **Tabla 2-9**.

Tabla 2-9. Estimado y nivel de significancia para los coeficientes de las ecuaciones de optimización para los parámetros de proceso de cristalización inducida

Variable	Firmeza	Turbidez	Consistencia	b*	C*	YI	°h
Intercepto	29636,00***	3,1043541***	85213,766***	16,41653***	17,7914***	66,3602***	67,71033***
x ₁	1865,03	-0,0083325	-2336,231	-3,11778	-3,18603	-12,27991	-2,13389
x ₂	-241,28	0,3098125	-8045,119	-1,45778	-1,78752	-0,99685	-0,42265
x ₃	13170,03***	1,4353885***	38332,298**	3,92186 ^(.)	3,31324	17,8871 ^(.)	12,10398*
x ₁ :x ₂	-469,31	0,117638	8939,362	2,68896	2,7803	9,75124	0,4028
x ₁ :x ₃	416,69	-0,1494376	-234,010	3,53788 ^(.)	3,74644	14,75854	3,37934
x ₂ :x ₃	-198,91	-0,11	-11,092	1,9425	2,45085	3,24352	-6,44786 ^(.)
x ₁ ²	1712,92	0,1201389	5104,135	-0,40451	-0,59328	-3,56543	-0,85009
x ₂ ²	-104,82	0,0136111	8098,022	1,14792	1,17696	0,80548	2,3474
x ₃ ²	-16983,25***	-1,1463889***	-53299,789***	-5,15208*	-5,20811*	-23,22877*	-3,93339

Códigos de significancia: valor-p ^{símbolo}: 0,001 ^{****}; 0,01 ^{***}; 0,05 ^{**}; 0,1 ^(.). En los parámetros x₁ se refiere al “tiempo de agitación”, x₂ es la “velocidad de agitación” y x₃ es “porcentaje de semilla añadida”.

De la Tabla 1-14 se tienen, por ejemplo, la siguiente ecuación como modelo predictivo para la firmeza (y_{firmeza}) en función de los parámetros del proceso de cristalización inducida que están siendo optimizados: tiempo de agitación (x₁), velocidad de agitación (x₂) y el porcentaje de semilla añadida (x₃).

$$y_{firmeza} = 29636 + 1865,03x_1 - 241,28x_2 + 13170,03x_3 - 469,31x_1x_2 + 416,69x_1x_3 - 198,91x_2x_3 + 1712,92x_1^2 - 104,82x_2^2 - 16983,25x_3^2 + \epsilon \tag{2-2}$$

Teniendo en cuenta únicamente los coeficientes que tienen diferencias significativas, el modelo predictivo para los valores de firmeza queda expresado por:

$$y_{firmeza} = 29636 + 13170,03x_3 - 16983,25x_3^2 + \epsilon \tag{2-3}$$

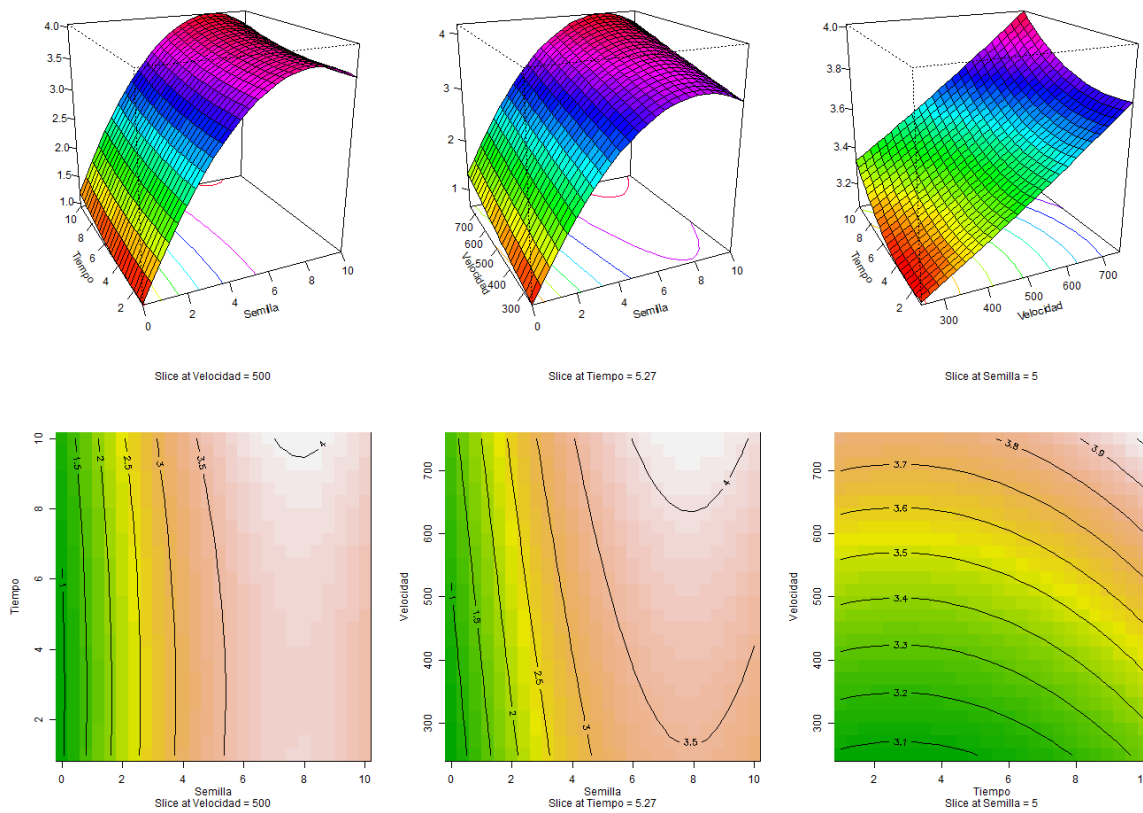
- **Generación de las superficies de respuesta**

Tomando las superficies de contorno y en 3D generadas por las ecuaciones precedentes, a continuación se presenta una breve discusión de las tendencias encontradas para las variables de turbidez, firmeza y componente de color b*.

En la turbidez a los 40 días se observa cómo con el aumento de la semilla hay un aumento en la respuesta, en condiciones de tiempo y velocidad constantes. Por otro lado, al dejar constante el porcentaje de semilla adicionada, las mayores respuestas en la absorbancia se obtienen con los valores más altos de tiempo y de velocidad. Con esto, solo hay

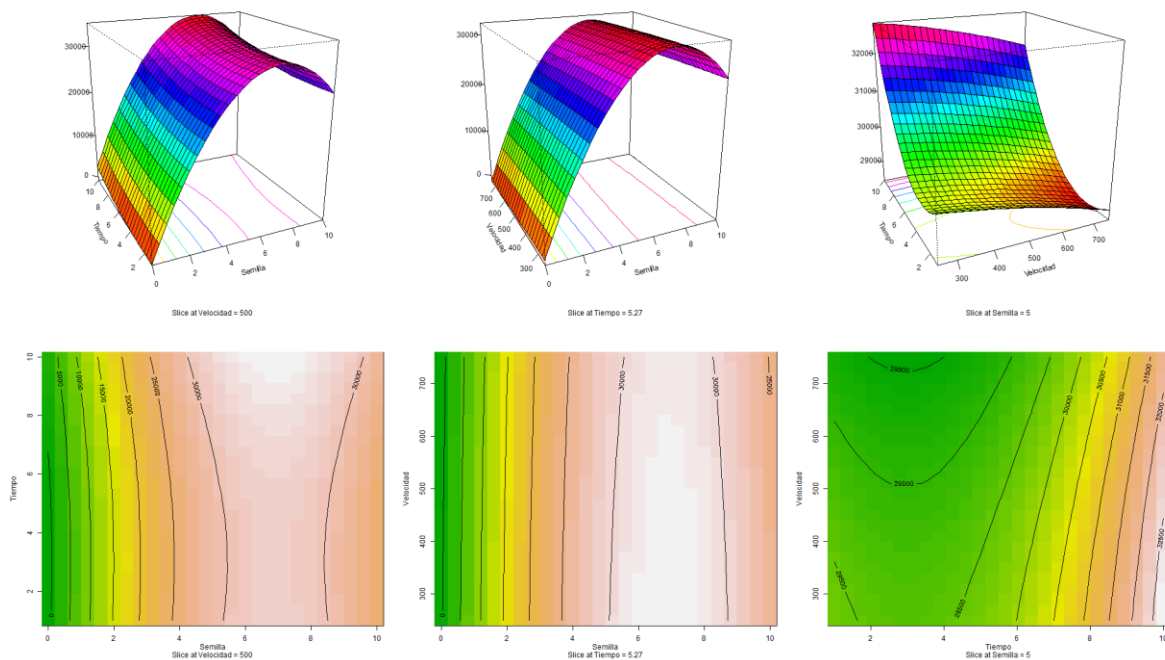
respuestas a altas velocidades y tiempos que se encuentran más allá de la zona de estudio y que no son tan significativas como con la semilla, pues con un aumento de 6 a 8% de semilla se tienen absorbancias mayores a 4, mientras que solo a las velocidades y tiempos mayores a 750 rpm y 10 min se tienen absorbancias cercanas a 3.9 (**Figura 2-19**).

Figura 2-19. Superficies de optimización de los parámetros de proceso para la absorbancia a 660 nm de miel con cristalización inducida a los 40 días de almacenamiento



La firmeza tiene un comportamiento semejante al que exhibe la absorbancia (**Figura 2-20**). En este caso, con el aumento de la semilla aumenta la firmeza hasta el punto máximo y desde ahí disminuye, pero las menores velocidades producen las mayores respuestas. Este comportamiento se puede asimilar al encontrado por Tappi *et al.*, 2021, en el que la dureza es inversamente proporcional a la adhesividad, es decir, que las fuerzas internas superan a las externas en el máximo.

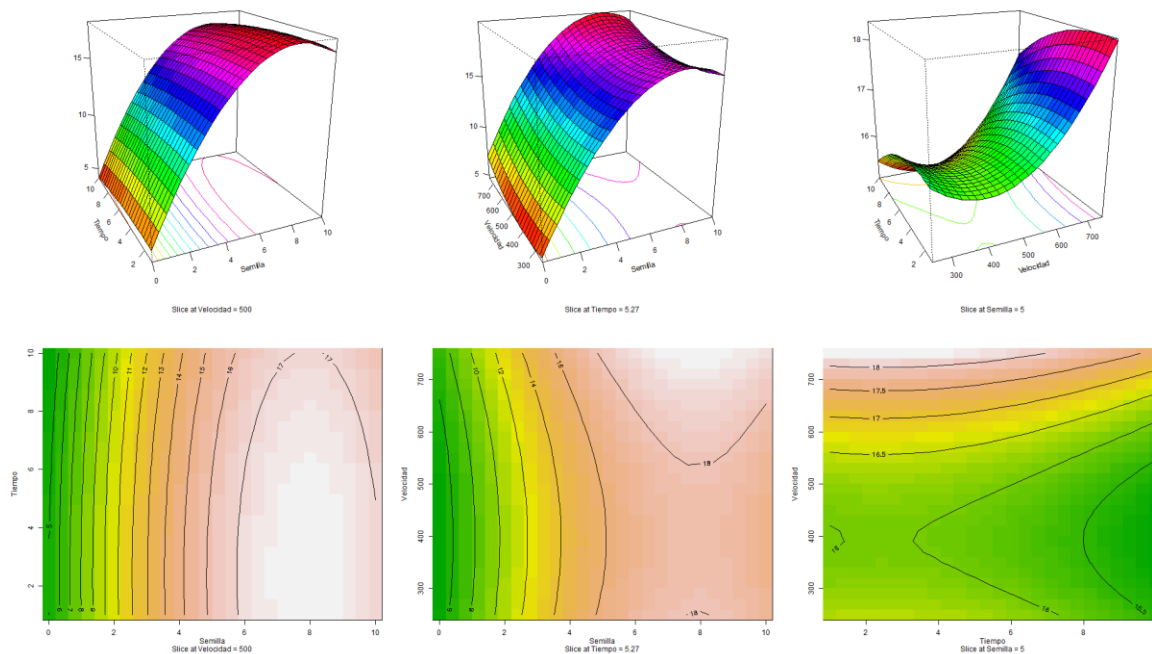
Figura 2-20. Comportamiento de las superficies de optimización de la firmeza respecto a los factores evaluados



El esfuerzo de corte puede proporcionar energía que permite que los sistemas superen la energía de activación asociada con la nucleación primaria y al romper los cristales existentes y aumentar el número de sitios para la cristalización, acelera la nucleación secundaria, incrementando .la velocidad de cristalización y reduciendo el tamaño medio de los cristales. En este punto, la capacidad de la agitación para afectar el tamaño del cristal depende de la velocidad. A bajas velocidades, el esfuerzo de corte puede aumentar la frecuencia de colisiones entre cristales, originando cristales más grandes. A velocidades más altas, el tamaño del cristal se reduce a través de una mayor nucleación y la ruptura de cristales grandes (DeJong & Hartel, 2019). De esta forma, solo a velocidades más altas que las reportadas en este trabajo se pueden obtener mejores resultados en términos de textura.

En la **Figura 2-21** se aprecia el proceso de optimización para el componente azul-amarillo. Se tiene un comportamiento en el cual b^* tiende a un valor máximo, con un punto estacionario a 3,87 min y 388,79 rpm en agitación y 7,04% de semilla añadida.

Figura 2-21. Superficies de respuesta para b^* en relación a los parámetros de cristalización inducida en miel de *Acacia mangium* del Vichada



- **Optimización**

Con la información obtenida a partir de los ANOVA y el PCA realizado en la sección anterior para las variables respuesta se procedió a generar los objetivos de optimización, mostrados en la **Tabla 2-10**

Tabla 2-10. Objetivos de optimización para la función de deseabilidad

Variable	Objetivo de optimización	Justificación
Actividad de agua	Maximización	Tendencia observada en el ANOVA
Turbidez	Maximización	Tendencia observada en el ANOVA
L*	Valor objetivo	Testigo comercial
a*	Valor objetivo	Testigo comercial
b*	Maximización	Tendencia observada de la RSM
°h	Valor objetivo	Testigo comercial
C*	Valor objetivo	Testigo comercial
Firmeza	Minimización	Valores muy altos comparados al testigo comercial
Consistencia	Minimización	Valores muy altos comparados al testigo comercial

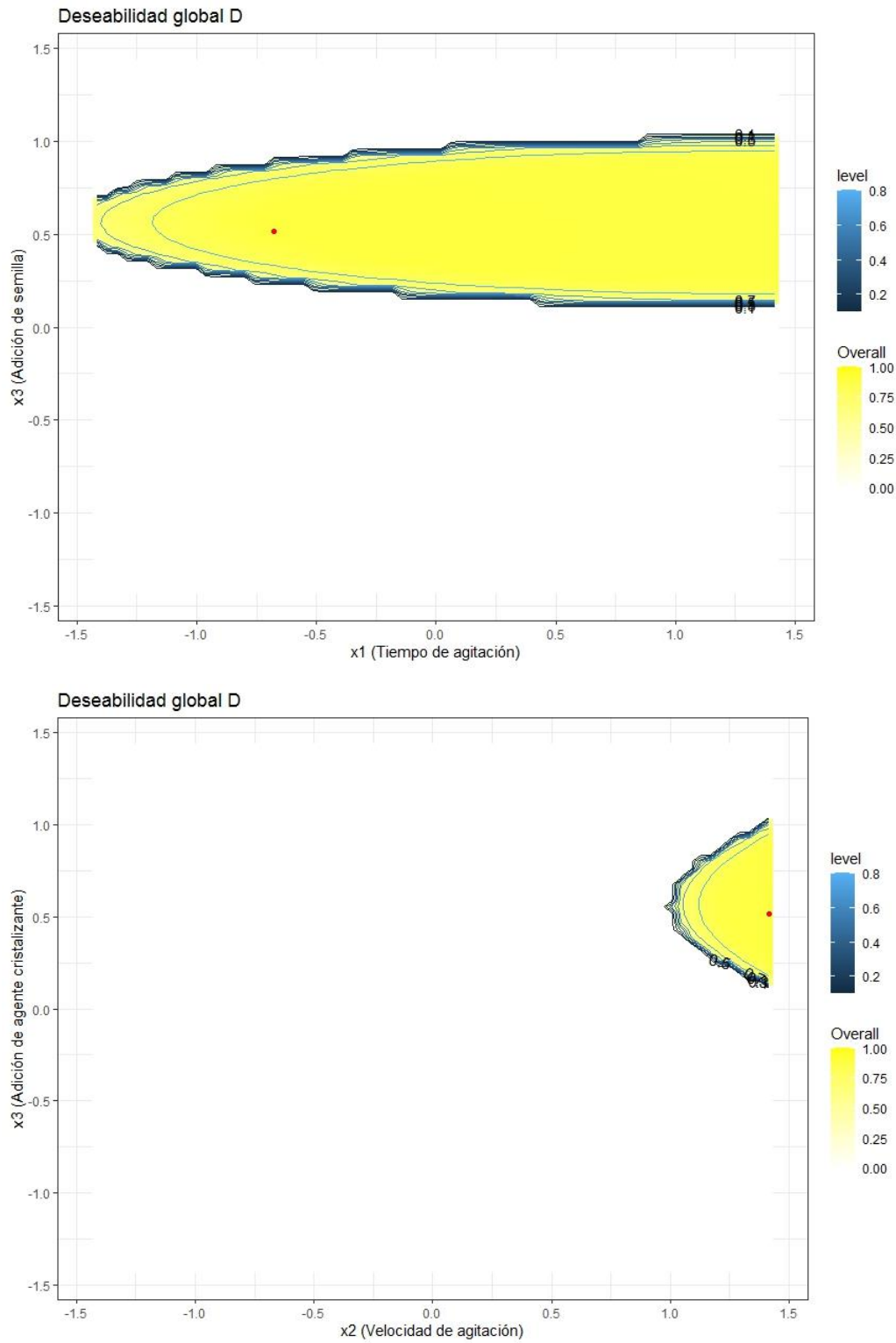
La maximización de la respuesta se realizó por medio de la función de deseabilidad de Derringer y Suich, 1980. Como se puede observar en la **Figura 2-22**. Función de deseabilidad, la función de deseabilidad es muy plana en la vecindad de la solución óptima (punto rojo), indicando que pequeñas variaciones en la velocidad de agitación o el tiempo no cambian las condiciones de deseabilidad drásticamente. En cambio, al cambiar la cantidad de miel cremada añadida si se afecta la deseabilidad fuertemente.

De la **Figura 2-22** se extrapola que el valor óptimo se encuentra en tiempos de 2,5 min y velocidad de agitación altas (el máximo en el ensayo es de 750 rpm, pero el óptimo se encuentra en 850 rpm) y con 7,97% de semilla adicionada como núcleo de cristalización. Estos valores son consecuentes debido a que se requieren altas velocidades para producir una buena homogenización en poco tiempo. A pesar de esto, el tiempo puede ser mayor, como se observa en la **Tabla 2-11**. Parámetros de optimización. Otro aspecto a tener en cuenta es que las velocidades altas son mejores por la posible inclusión de aire en la mezcla, que también actúan como núcleos y al esfuerzo cortante que se realiza sobre los cristales haciendo que tengan un menor tamaño.

Tabla 2-11. Parámetros de optimización

x1	-0,5123913	Tiempo	2,438
x2	1,4142	Velocidad	853,550
x3	0,5943739	Semilla	7,972

Figura 2-22. Función de deseabilidad



2.3 Conclusión parcial

Al evaluar la actividad de agua se registró un valor promedio para las muestras tratadas de $0,573\pm 0,007$ en el día inicial del ensayo, que aumentó a $0,602\pm 0,007$ en el día 15 y $0,607\pm 0,008$ a los 20 días de almacenamiento. De lo anterior se puede concluir que la actividad de agua de las muestras con tratamiento de cristalización inducida aumenta con el tiempo de almacenamiento, presentando una estabilización de tasa de cambio de a_w desde el día 15. Igualmente se presentaron diferencias significativas al comparar la miel utilizada como semilla ($0,566\pm 0,004$) con los tratamientos (con un promedio de promedios de $0,597\pm 0,006$ para todos los tratamientos y todos los días). En este caso, el tratamiento con la actividad más cercana al inoculante fue el que tenía 0% de adición de semilla, velocidad de 250 rpm y 5 min de homogenización ($0,598\pm 0,010$ a los 30 días). El incremento en la actividad es consecuencia de la cristalización y la liberación de moléculas de agua.

Por otro lado, la turbidez promedio (medida como la absorbancia a 660 nm) de los tratamientos fue de $2,72\pm 0,028$ para el día 15 de evaluación, aunque la miel sin tratar tuvo un valor de $0,20\pm 0,02$ y la semilla utilizada estuvo en $4,31\pm 0,02$. Se observa que los tratamientos con menores adiciones de semilla tienen absorbancias cercanas a la de la miel de Acacia original. De igual forma se comportaron los componentes de color, en los cuales los tratamientos en promedio tuvieron $L^* = 38,00\pm 0,58$, $a^* = 4,99\pm 0,08$ y $b^* = 13,44\pm 0,21$, valores muy cercanos a los reportados para la miel sin tratar ($39,98\pm 0,49$, $4,47\pm 0,06$ y $10,11\pm 0,10$, respectivamente) y muy distintos a los del inoculante empleado ($54,95\pm 1,33$, $-0,45\pm 0,02$ y $18,33\pm 0,35$, respectivamente). Tendencias idénticas se encontraron con el ángulo de matiz (tono) y la saturación de color (croma) y se comprobaron con las diferencias de color total respecto a la miel sin tratar y a la semilla. De esta forma la incorporación de la semilla indujo la formación de cristales que producen una superficie capaz de reflejar más la luz, cambiando la percepción visual.

Un comportamiento distinto se encontró con la textura, donde la firmeza de la miel de Acacia sin tratar es de $29,07\pm 1,27$ g, mientras que el inoculante tenía un valor 10 veces superior ($296,23\pm 38,07$ g), pero el promedio de los tratamientos se encontraba en $17116,18\pm 1224,97$ g. En la consistencia los valores observados fueron $100,19\pm 5,02$ g·s, $556,98\pm 140,36$ g·s y $52418,36\pm 5988,00$ g·s. En este caso se observa que la adición de

semilla aumenta las fuerzas cohesivas internas y por ello la miel sin tratar y los tratamientos sin adición son semejantes a la semilla.

Se encontró correlación significativa entre las variables de absorbancia entre el día 1 y el 40 de almacenamiento ($r^2=0,99^{***}$), la firmeza y consistencia ($r^2=0,94^{***}$), la absorbancia final y el componente de color b^* ($r^2=0,80^{***}$) y las actividades de agua en distintos tiempos de almacenamiento ($r^2=0,96^{***}$ para la actividad entre los días 30 y 40). Las relaciones se pueden explicar por la formación de cristales y la formación de estructura interna en la miel cremada. El análisis de varianza multivariado encontró que es el factor semilla el que más peso tiene, seguido de la velocidad y su interacción. Con lo anterior en mente, solo se presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos al medir la absorbancia inicial, la absorbancia final, la relación de las absorbancias, la firmeza y consistencia iniciales y finales, el croma y el índice de amarillamiento

El PCA encontró que 3 componentes principales podrían explicar hasta el 84% de la varianza. El primer componente (43,9%) está conformado por las actividades de agua y parámetros de extrusión. El segundo componente (24,6%) abarca la mayoría de parámetros de color y la absorbancia. El tercer componente (15,6%) tiene a los restantes componentes visuales. El análisis de clúster y el diagrama biplot muestran que los testigos utilizados (la miel sin tratar y la semilla) se comportaron de manera distinta a los tratamientos y que el tratamiento 11 (que no tenía semilla añadida y con el tiempo de homogenización más bajo) fue el más cercano, seguido del tratamiento 6 (sin semilla añadida y velocidad de homogenización baja). Por otro lado, el testigo comercial fue diferente al resto de tratamientos por lo que no puede usarse como comparativo para la optimización. Asimismo, hay variables que tienen un comportamiento similar a otros, como la actividad de agua en distintos tiempos, la firmeza y consistencia, la absorbancia inicial y final, entre otras. Esto se puede explicar por la alta correlación entre ellas y por lo cual pueden ser reemplazados para disminuir la dimensionalidad del ensayo.

De acuerdo con los resultados de las superficies de optimización, las absorbancias, firmezas, consistencias iniciales y finales presentaron coeficientes significativos y un buen ajuste de modelo de tipo cuadrático. Con estos se generaron las curvas de optimización encontrándose un máximo en los valores de 2,5 min de tiempo de homogenización, 850 rpm de velocidad de agitación y 7,97% de semilla añadida, con una deseabilidad de 0,87.

3. Cambios fisicoquímicos y sensoriales en el proceso de cristalización inducida de miel de plantaciones forestales de *Acacia mangium*

La miel es un producto alimenticio natural dulce y viscoso compuesto en su gran parte por glucosa y fructosa, en concentraciones aproximadamente iguales (Shinn & Wang, 1990; Suriwong *et al.*, 2020). Debido a la baja solubilidad de la glucosa en agua (909 g/L a 25°C), esta tiende a precipitar por lo que se considera que la miel es una solución supersaturada de este monosacárido (Amariei *et al.*, 2020). En cambio, la fructosa es altamente soluble (4000 g/L a 25°C) en agua y permanece en la solución por mayor tiempo, siendo responsable de la higroscopicidad de la miel (Sereti *et al.*, 2021). Por lo anterior, las mieles con altas relaciones glucosa/fructosa, como la miel proveniente de plantaciones forestales de *Acacia mangium*, tienden a cristalizar rápidamente,

Al encontrarse a una concentración más alta que la solubilidad crítica, la miel se encuentra en un estado de no equilibrio termodinámico (Zamora & Chirife, 2006) y cualquier perturbación puede causar su cristalización (Cavia *et al.*, 2002; Hartel & Shastry, 1991). Este es un fenómeno de transferencia de masas que lleva a la creación de una interfase sólido-líquido (Nurul Zaizuliana, Anis Mastura, Abd Jamil, Norshazila, & Zarinah, 2017) y en el cual influyen tanto la solubilidad o potencial químico (termodinámica) como la difusividad, dependiente de la viscosidad de la solución, de la glucosa (cinética). En un inicio y tomando a la miel como una solución de cristales, el potencial químico de la glucosa es mayor en la fase líquida que en el sólido puesto que su actividad (medida indirectamente por la concentración) es mayor (Bhandari & Bareyre, 2003). Así, se genera una fuerza impulsora (diferencial de potencial químico por la sobresaturación) que produce transferencia de moléculas del soluto (glucosa) de un estado líquido (miel) al estado sólido (cristal de glucosa) que favorece la transición de fases y el exceso de soluto que se

encuentra por encima de la concentración de saturación cristaliza (Bhandari & Bareyre, 2003). De la misma forma, con el paso del tiempo aumenta la actividad de agua (Laos *et al.*, 2011).

La cinética de la cristalización de la miel requiere dos procesos simultáneos: una difusión, en la cual el soluto (glucosa) se transporta de la solución a la interfase, y la deposición superficial, donde el carbohidrato es adsorbido e integrado a la red cristalina (Sopade *et al.*, 2004). De esta forma, la cristalización involucra tres pasos (Bund & Hartel, 2010; Krishnan *et al.*, 2021). En el primero ocurre la generación de la fuerza impulsora debido a la diferencia de concentraciones entre la miel, la interfase y la correspondiente al equilibrio de saturación desde un estado sobresaturado. Luego empieza la nucleación, que es la formación de núcleos de la estructura de red cristalina. El núcleo y tamaño de los mismos determina el tipo y facilidad de cristalización, siendo la composición de los azúcares una de las variables de mayor importancia en el proceso (Frigerio Tisi, 2010). El tercer paso es el crecimiento que es el aumento del tamaño de los núcleos hasta que se alcanza el volumen de fase de equilibrio (Bund & Hartel, 2010; Krishnan *et al.*, 2021)

Por tal motivo, se requiere profundizar más en este tema, por lo cual es necesario evaluar los cambios que ocurren en el proceso de cristalización inducida en miel de *Acacia magnium* recolectada en el departamento del Vichada analizando el efecto que tienen la temperatura y velocidad de agitación y el porcentaje de adición de inoculante en las características físicas del producto cristalizado. Para ello se requiere verificar el cambio en distintas propiedades de la miel cremada con un tratamiento específico. Para ello, se empleó un análisis multi-instrumental, haciendo mediciones fisicoquímicas (actividad de agua), sensoriales (color, turbidez y textura), microscópicas (tamaño y forma del cristal), termodinámicas (entalpía y temperatura de fusión) y reológicas (módulos de pérdida y almacenamiento) de la miel con una combinación óptima de velocidad y tiempo de agitación con una adición de semilla en concentración específica.

3.1 Materiales y métodos

3.1.1 Preparación de la muestra

La miel fue provista por apicultores y productores durante la cosecha abril de 2021 en Puerto Carreño (Vichada) y trasvasadas a vasos de precipitado estériles. Para la cristalización la miel se calentó en un baño termostático a 63°C hasta que no se percibieron cristales a simple vista. Entonces la miel se filtró a través de una malla de 140 mesh (106 μm) de acero inoxidable. Como núcleo cristalino se usó miel cremada comercial (Bi abejas, 2020), que se pesó en beakers de vidrio y con una balanza analítica con dos decimales de cifras significativas. Después se pesó la miel a cristalizar de acuerdo con cada tratamiento. La agitación se realizó con un agitador de hélice con indicador digital RW20 (IKA, China) procurando no exceder en 5% la velocidad de agitación elegida.

El tiempo de batido se contabilizó con cronómetro digital hasta milisegundos, procurando estar en 5% de margen de error. Después de realizada la agitación se dejó en reposo durante una hora a temperatura ambiente y posteriormente se trasvasaron las muestras en cada uno de los recipientes para cada determinación. El almacenamiento se realiza a temperatura de $14\pm 1^\circ\text{C}$, en oscuridad y en recipientes separados para cada determinación. De acuerdo con los resultados del capítulo anterior en cuanto a las superficies de optimización, se encontró que para poder realizar una óptima inducción en la cristalización el tratamiento a utilizar es de 2,5 min de tiempo de homogenización, 750 rpm de velocidad de agitación y 8% de semilla añadida.

3.1.2 Análisis de parámetros de cristalización

- **Actividad de agua**

La actividad de agua de cada una de las muestras se midió utilizando un medidor de actividad de agua HydroLab C1 (Rotronic, EEUU) que funciona según el principio de la temperatura del punto de rocío. El medidor de actividad de agua se calibró con frecuencia con soluciones estándar con actividades de agua especificadas ($0,43\pm 0,05$ y $0,80\pm 0,05$). (Kuroishi *et al.*, 2012; Subbiah *et al.*, 2020; Tappi *et al.*, 2019). Para esta determinación se realizaron tres réplicas (Zamora & Chirife, 2006).

- **Colorimetría**

De las muestras, aún en estado líquido, se vertieron aproximadamente 5 mL en una caja de Petri de vidrio de 3,5 cm de diámetro y 1 cm de altura en un fondo blanco (Escuredo *et al.*, 2019). El análisis de color se llevó a cabo usando un colorímetro portátil digital Minolta ChromaMeter CR-400 que utiliza luz difusa y que fue previamente calibrado con una pantalla blanca (CR-A43) en iluminante D65. Esta determinación se realizó por triplicado, evaluando los tres componentes en la escala CIELAB (L^* , a^* y b^*): L^* es componente de luminosidad o brillo que varía de 0 a 100; y a^* y b^* son los dos componentes de color, que varían de -100 a 100 (a^* es de verde a rojo y b^* es de azul a amarillo). Adicionalmente, los demás parámetros de color se calcularon de acuerdo a la **Tabla 2-3**.

- **Turbidez**

Se colocaron 2 mL de la miel ya tratada en una cubeta plástica (12,5 mm × 12,5 mm × 45 mm) con una longitud de trayectoria de 1 cm. La absorbancia se midió a 660 nm con un espectrofotómetro UV-Visible Jasco V-730 (Conforti *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2015; Lupano, 1997; Suriwong *et al.*, 2020).

- **Textura**

Para las medidas de textura, la miel en estado líquido fue vertida en recipientes cilíndricos de plástico (volumen interno de 36 mL, llenado a la mitad). Se llevó a cabo un ensayo de extrusión usando un texturómetro TA.X Analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, UK) con una probeta cilíndrica de 20 mm (P/5) de acrílico a una velocidad de 2,0mm/s en el ensayo, y un tirador automático de 5 g. En este caso se quiso medir la fuerza necesaria para llegar a la distancia de 12 mm sobre la muestra. Cuando el tirador alcanzó la superficie, la sonda penetró la profundidad establecida. En este punto, la sonda vuelve a su posición original a velocidad constante y se logra la máxima fuerza positiva. De cada muestra se analizaron tres réplicas y se reportó el promedio ± desviación estándar.

- **Análisis micromorfológico**

Se siguió una técnica similar a la utilizada por Tappi *et al.*, 2021. Se esparció una gota de la muestra en un portaobjetos (Tosi *et al.*, 2004; Venir *et al.*, 2010) de 25,4 x 76,2 mm con ayuda de una espátula hasta tener un espesor menor a 0,5 mm (Bonifácio Queiróz, 2010). Las observaciones se realizan con imágenes de microscopía óptica con luz polarizada a baja ampliación (de acuerdo con Suriwong *et al.*, 2020, a temperatura ambiente y a 10-20X) para evitar la confusión con otros sólidos como granos de polen. Para la captura de

las imágenes se utilizó una cámara digital AxioCam 506 color, acoplada al microscopio ZEISS Axioscope 5 (Zeiss, Alemania) con módulo para luz reflejada para campo claro (Epi_BF), contraste de interferencia (DIC R) y luz polarizada (POL) (**Figura 3-1**).

Figura 3-1 Microscopio ZEISS Axioscope 5



Las longitudes características de un cristal se definen de acuerdo a la posición de cada partícula. Así, la longitud (l_a) del cristal es la distancia entre dos planos paralelos, perpendiculares a la base, tangentes al cristal por la cara, vértice o arista más alejada. El ancho (l_b) es la distancia entre dos planos paralelos, perpendiculares a la base y también a los planos que definen la longitud a , en contacto con el cristal en vértices, aristas o planos opuestos. El análisis de imágenes por microscopía da el tamaño de partícula como el diámetro equivalente al del círculo que tiene la misma área que la proyectada por la partícula medida en su posición de máxima estabilidad (Bonifácio Queiróz, 2010) y se relaciona con las dimensiones de la partícula por la Ecuación 3-1:

$$D_{eq} = \left(\frac{4l_a l_b}{\pi} \right)^{0.5} \quad (3-1)$$

La distribución relativa en el número de partículas está dada por la distribución de N_i/N a lo largo de los diversos tamaños de partícula, donde N_i representa el número de partículas en el i -ésimo intervalo ΔL de tamaño L . La densidad de distribución (q_i) resulta de la relación entre la distribución relativa por el largo del intervalo (Costa & Giulietti, 2010) como se encuentra en la Ecuación 3-2

$$q_0(L_i) = \frac{N_i}{\sum N_i} \frac{1}{\Delta L_i} \quad (3-2)$$

- **Calorimetría Diferencial de Barrido DSC**

El proceso de cristalización es fundamentalmente una transición de fases que produce cambios en propiedades como el volumen específico y la capacidad calorífica (O dian, 2004). La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es el método comúnmente usado para investigar y analizar los fenómenos de transición de fases que ocurren durante los procesos térmicos (Tomaszewska-Gras, Bakier, Goderska, & Mansfeld, 2015).

Cordella *et al.*, 2002, utilizaron esta técnica para detectar diferencias en diversos tipos de miel en Francia, encontrando una transición de -44 a -36°C. Esta es la transición vítrea (de segundo orden) y en ella los movimientos de rotación de los enlaces moleculares se detienen. En la temperatura de transición vítrea (T_g) los dominios amorfos de una muestra toman características propias como un cambio en el coeficiente de temperatura del volumen específico (O dian, 2004). Por esta razón, la miel pasa de un estado gomoso a otro estado vítreo con un cambio en la capacidad calorífica.

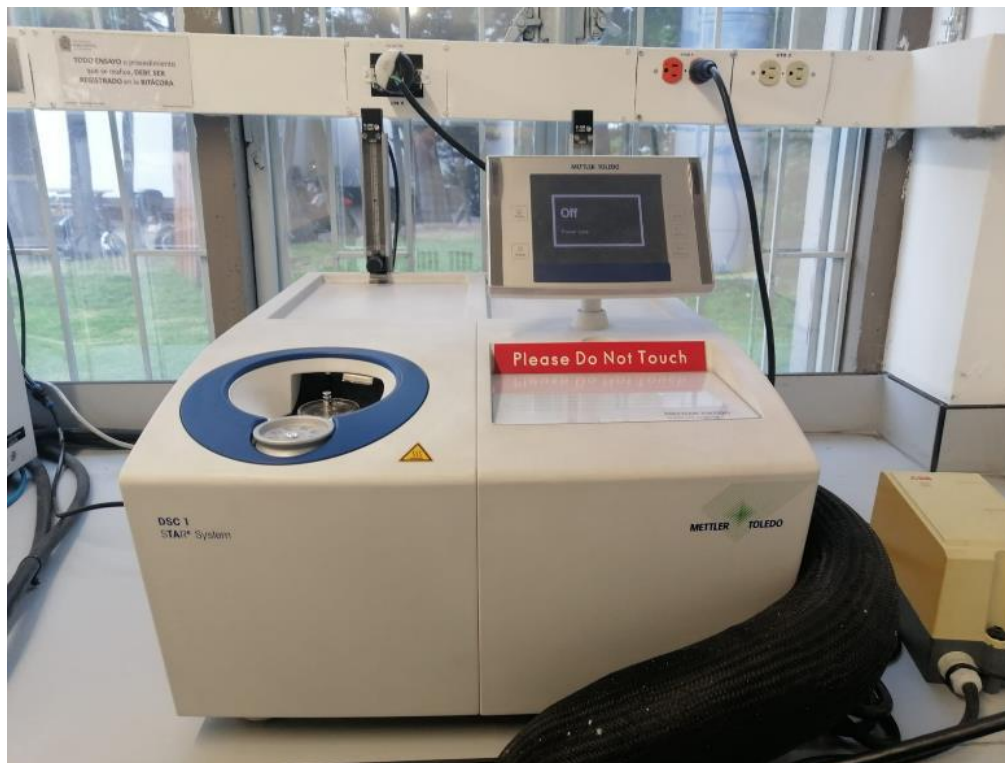
La segunda transición (de primer orden) está relacionada con el paso de sólido al líquido (40 a 90°C) (Tomaszewska-Gras *et al.*, 2015). En la temperatura de fusión cristalina (T_m) los dominios cristalinos de una muestra se funden con un cambio discontinuo en el volumen específico (O dian, 2004). Esta transición se produce sólo en el caso de las mieles que se encuentran en un estado parcial o totalmente cristalizado, pero desaparece después de un enfriamiento y calentamiento regulares (Tomaszewska-Gras *et al.*, 2015). (Venir *et al.*, 2010) encontraron dos picos endotérmicos en muestras de miel en esta etapa, el primero asociado a la liberación de agua de cristalización (aprox. 50°C) y un segundo con la fusión del cristal (a 80°C aprox).

La tercera transición más intensa, tiene lugar en el rango de temperaturas de aproximadamente 140 a 220°C y es causada por la caramelización de azúcares (Cordella *et al.*, 2002; Tomaszewska-Gras *et al.*, 2015).

Para la determinación de la entalpía y temperaturas de transición por calorimetría diferencial de barrido se utilizó una temperatura inicial de 14 °C, una velocidad de calentamiento de 10°C/min hasta una temperatura final de 80 °C, con atmósfera de 99,999% de nitrógeno a un flujo de gas de 50 mL/min (**Figura 3-2**). El tamaño de la muestra

se encontraba entre 1 y 15 mg, en un crisol estándar de aluminio con tapa de geometría circular de 6 mm de diámetro y 1 mm de altura (Al-Habsi, Davis, & Niranjan, 2013).

Figura 3-2. Equipo DSC



El equipo utilizado es DSC2-01450 (TA Instruments) y el procesamiento se realizó sobre el software TRIOS versión 4.5.0.42498. Estas características fueron extraídas de los trabajos de (Dettori *et al.*, 2018; Tomaszewska-Gras *et al.*, 2015; Venir *et al.*, 2010) y adaptadas a las condiciones locales. . El grado de cristalización se halla con la relación entre la entalpía de la fusión de los cristales formados (Ecuación 3-3) calculado a partir del pico endotérmico (Lupano, 1997) y la entalpía de fusión de la glucosa pura:

$$\Delta H \{J g^{-1}\} = E \times A \times 60 \times S_x S_y w^{-1} \beta^{-1} \quad (3-3)$$

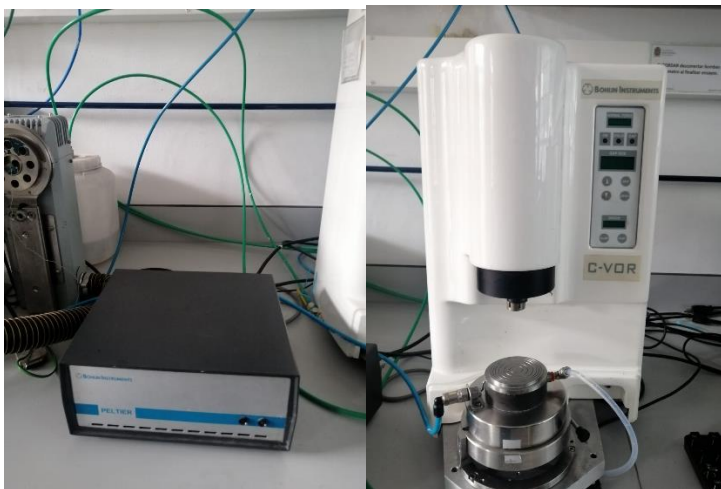
Donde E: constante (mw mV⁻¹); A: área bajo la curva (cm²); 60 (s min⁻¹); S_x: velocidad de tarjeta de registro (°C cm⁻¹); S_y: sensibilidad del eje y (mV cm⁻¹); w: peso de la muestra (mg) y β: velocidad de calentamiento (°C min⁻¹). La entalpía de disolución de glucosa monohidratada en soluciones en equilibrio es de 105±1.9 J g⁻¹ (Al-Habsi *et al.*, 2013).

- **Análisis Reológico**

La reología es clave para entender el flujo y deformación de un material (Sopade, Halley, D'Arcy, Bhandari, & Caffin, 2004). Además, juega un papel importante en la transferencia de calor del fluido, en el diseño de equipos para el transporte, bombeo, procesamiento, control de calidad, análisis sensorial y el almacenamiento de miel. Las propiedades reológicas de este producto determinan la facilidad para su manejo, procesamiento, la experiencia del consumidor y permiten el entendimiento de la organización estructural y la transferencia de calor (Ahmed *et al.*, 2007). Las principales propiedades reológicas son la viscosidad aparente (relación entre esfuerzo de corte y velocidad de corte), los coeficientes de esfuerzos normales, la viscosidad compleja (respuesta ante esfuerzos de corte oscilatorio), el módulo de almacenamiento y módulo de pérdidas (comportamiento viscoelástico lineal) y las funciones complejas de viscoelasticidad no lineal (Dobre, Georgescu, Alexe, Escuredo, & Seijo, 2012).

El barrido de frecuencia se realizó para determinar la región viscoelástica de la muestra: Para esto se usó un reómetro rotacional equipado con sistema Peltier con una geometría de platos de acero paralelos de 40 mm, con una brecha (gap) de 1000,0 μm , sobre el rango de 0.63-63 rad/s en 3% de esfuerzo a 20°C (**Figura 3-3**).

Figura 3-3. Reómetro rotacional



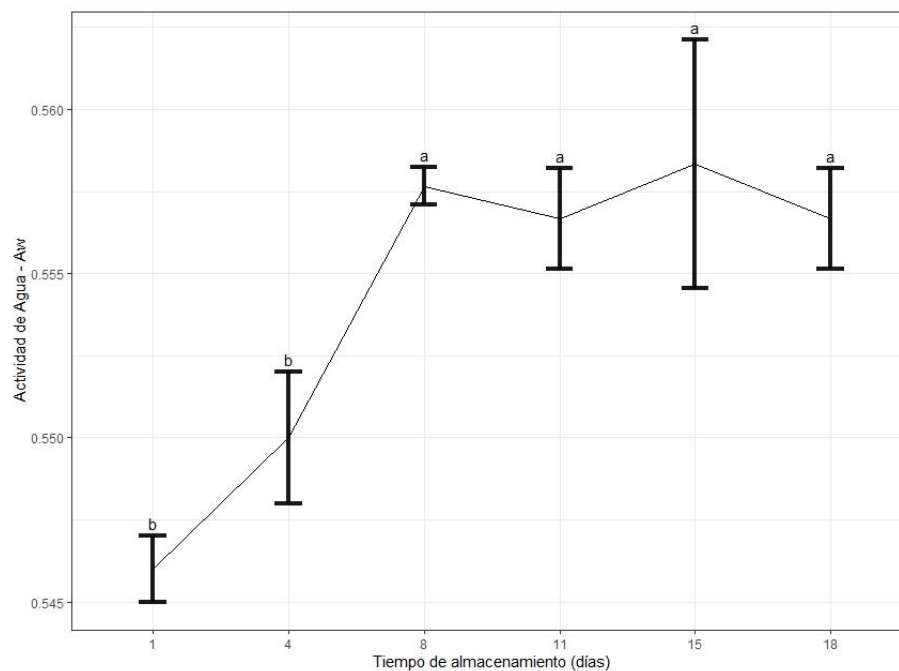
El comportamiento reológico de la miel cremada se realizó con platos paralelos de acero a 20°C, espacio entre los platos de 1 mm. Una vez confirmado el porcentaje de deformación se realizó el ensayo en el rango 0 a 100 rad/s (Nayik, Dar, & Nanda, 2019).

3.2 Resultados y discusión

3.2.1 Actividad de Agua

La actividad de agua de la miel de Acacia con cristalización inducida pasó de $0,546 \pm 0,001$ en el día inicial a $0,557 \pm 0,002$ al día 18 (**Figura 3-4**). Zamora *et al.*, 2006, encontraron valores de actividad de agua para distintas mieles de distintos orígenes entre 0,550 y más de 0,700, por lo que lo encontrado en este trabajo se encuentra en el rango señalado. Gleiter *et al.*, 2006, exponen un rango entre 0,50 y 0,65. En esta misma medida se encuentra los resultados encontrados por Abramovič *et al.*, 2008; Conforti *et al.*, 2006; Kuroishi *et al.*, 2012.

Figura 3-4. Comportamiento de la actividad de agua con el tiempo de almacenamiento para miel de *Acacia mangium*



En la granulación dirigida de la miel de Acacia del Vichada, al igual que Laos *et al.*, 2011, en mieles de rábano y en poliflorales, se encontró un incremento en la actividad de agua debida a la cristalización entre los días 1 y 8. Este mismo comportamiento fue observado por Gleiter *et al.*, 2006; Zamora & Chirife, 2006. Además, Subbiah *et al.*, 2020, explican esta tendencia por cuanto se forman los cristales de monohidrato de glucosa se liberan aguas de hidratación y de esta forma se aumenta el promedio de número de hidratación y con ello la actividad de agua.

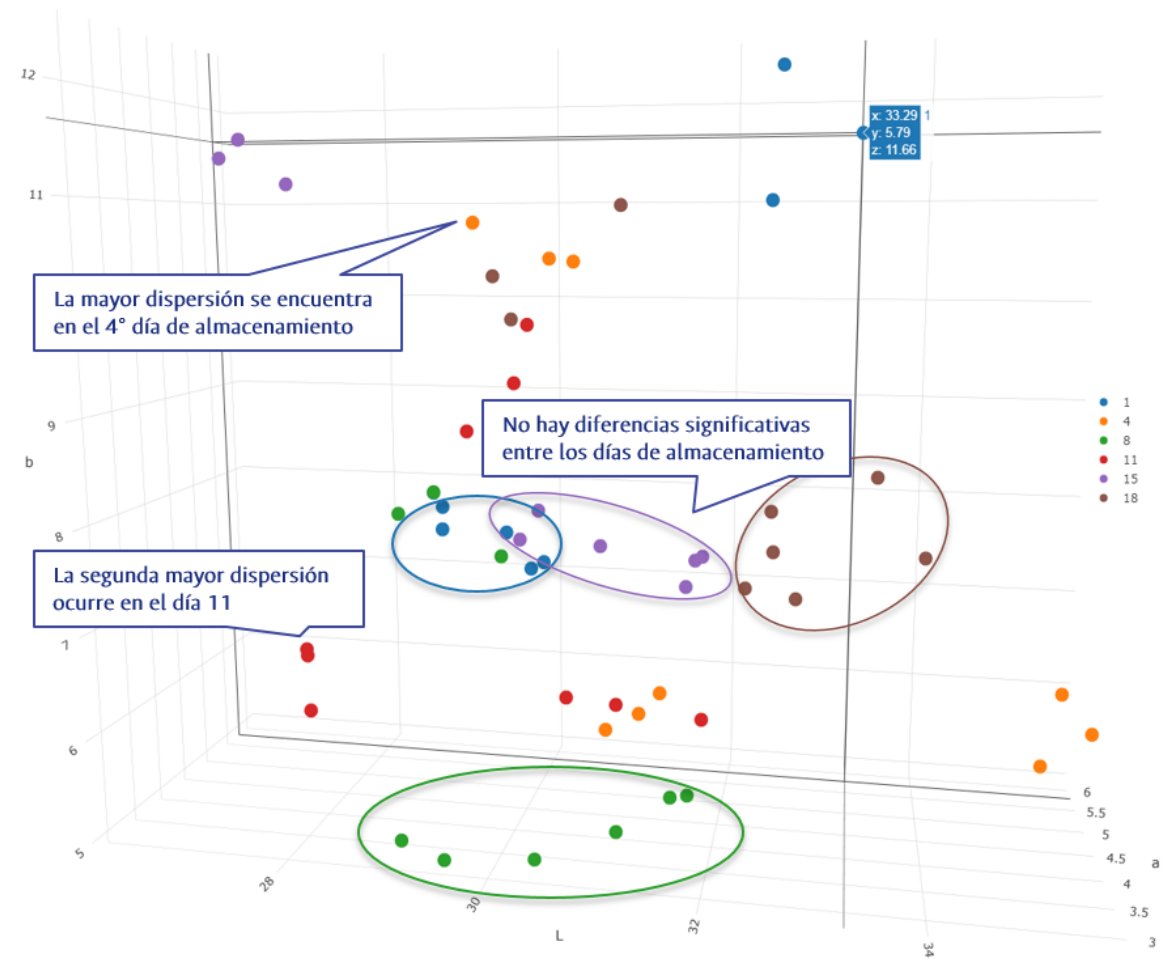
Una tendencia importante encontrada en este estudio es que después del día octavo no hay cambios estadísticamente significativos en la actividad de agua. Dettori *et al.*, 2018, encontraron que la miel de cristalización rápida ($F/G = 1,08$) aumentó la actividad de agua en los primeros 10 días, y se mantuvo más o menos constante hasta el día 42, donde vuelve a subir hasta el día 50. Para Laos *et al.*, 2011, después de 56 días de almacenamiento se alcanza un valor constante en la actividad de agua e indicando que se alcanzó un equilibrio entre las fases, es decir, una cristalización completa de la glucosa. Amariei *et al.*, 2020, no encuentra cambios en la actividad de agua de miel de Acacia en un periodo de un año y evaluando los meses 1, 3, 6, 9 y 12. Esta tendencia a la estabilización en la actividad de agua puede deberse a que la condición de equilibrio termodinámico se alcanza solo cuando la actividad de agua del sistema es reducida a un valor constante al valor de saturación (Bhandari & Bareyre, 2003).

3.2.2 Análisis colorimétrico

- **Componentes de color CIELab**

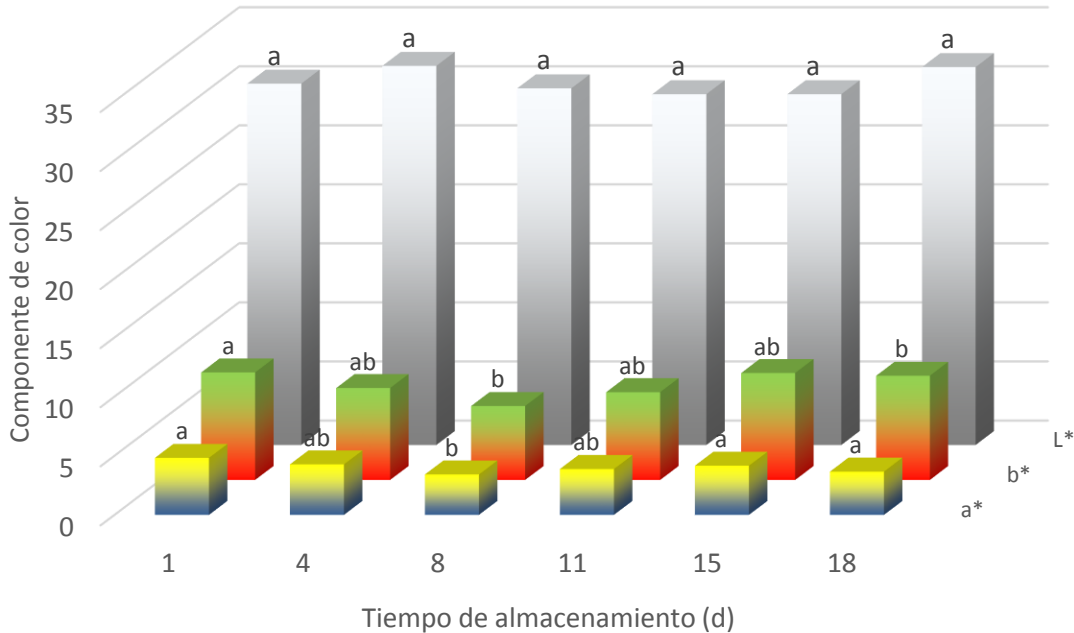
La **Figura 3-5** presenta el espacio de color CIELab encontrado para la miel cremada de Acacia bajo el tratamiento óptimo. Se observa que los puntos se hallan entre las coordenadas $L^* = (28 - 33)$, $a^* = (3 - 6)$ y $b^* = (5 - 12)$, lo cual constituye un espacio de color muy reducido y evidencia que visualmente no se encuentren diferencias perceptibles. Además, los componentes a^* son positivos, por lo cual el color tiende al rojo, al igual que el b^* , que tiende al amarillo. La relación rojo-verde (a^*) y azul-amarillo (b^*) si tienen un valor diferenciado en el día octavo comparado con el primer día ($b^* = 3,42 \pm 0,73$ en el 8 y $4,82 \pm 0,79$ en el primero), y en el caso de b^* también en el día 18. Los valores de a^* pueden llegar de -3.56 a 6.32 y para b^* de 9.32-26.62, que se encuentran en los rangos medidos para la miel de *Acacia mangium*. El índice de rojo-verde (a^*) reportado por Tappi *et al.*, 2021, si presentó un comportamiento más parecido al reportado en este trabajo, con valores entre 0 y 4 para mieles de cristalización rápida. Tal como lo expone, el color está relacionado con el origen botánico y a algunos componentes menores (minerales, polen, HMF y polifenoles). Szabó *et al.*, 2016, encuentran que en mieles oscuras (como la miel de *Acacia mangium*) un valor positivo de a^* es indicativo de presencia de antocianinas y flavonoides, mientras que valores positivos de b^* son resultado de pigmentos tipo carotenoide. Además, el contenido de aminoácidos tirosina y triptófano es mayor en las mieles oscuras que en las claras (Negueruela & Perez-Arquillue, 2000).

Figura 3-5. Comportamiento de las coordenadas de color con la cristalización



Como se ve en la **Figura 3-6**, no se encuentran diferencias entre la luminosidad en distintos tiempos ($L^* = 30,2 \pm 1,19$ en el día 8) para la miel cristalizada. Como el rango de luminosidad va de 0 (negro puro) a 100 (blanco puro), la miel se puede considerar como oscura al estar más cercana al límite bajo. Piotraszewska-Pająk & Gliszczyńska-Świgło, 2015, en mieles polacas encontraron rangos de valores para L^* de 51.28 a 70.56, por lo cual la miel analizada aquí tiene menor luminosidad. Tappi *et al.*, 2021, hallan que no había cambios en L^* después del décimo día en condiciones estáticas. Amariei *et al.*, 2020, concluyen que la cristalización de glucosa de la solución de miel sobresaturada determina el cambio en los parámetros de color debido a la capacidad de reflexión de los cristales de glucosa formados. De manera general, objetos más blancos (mayores valores de L^*) tienden a reflejar más luz, además que objetos cristalinos aumentan su capacidad de reflexión de manera especular, mientras los objetos amorfos lo hacen de manera difusa.

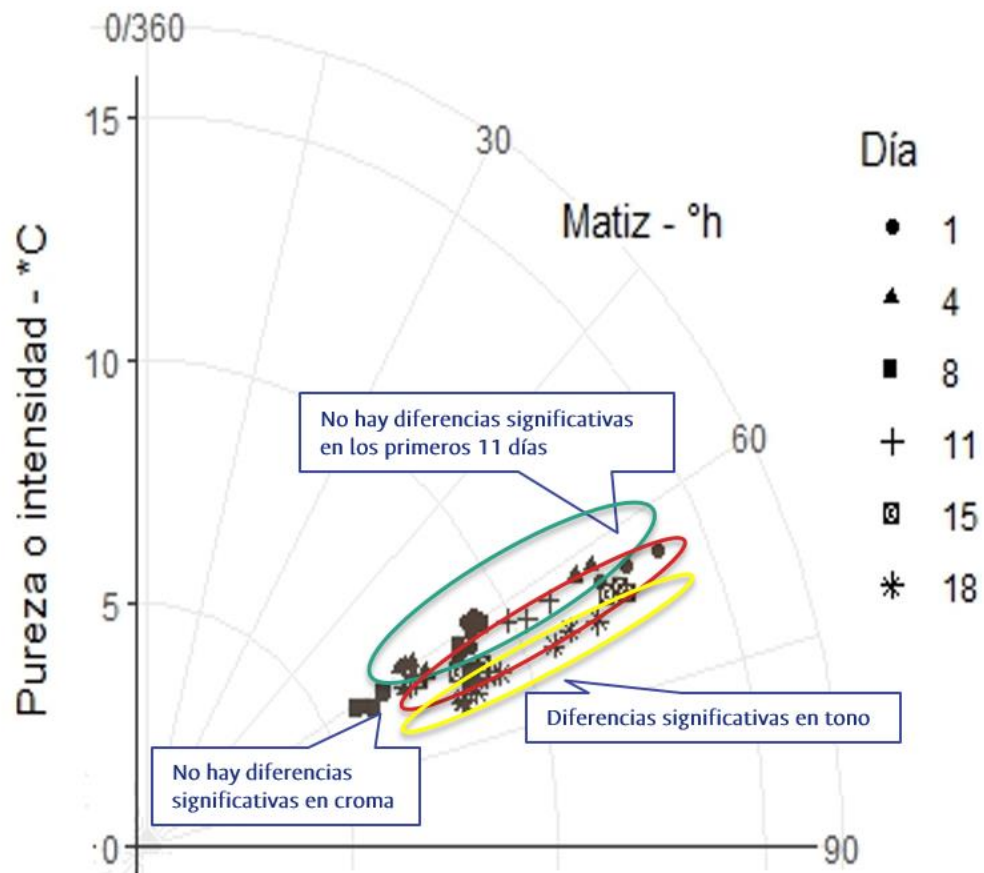
Figura 3-6. Comportamiento de los componentes de color CIELab (L^* , a^* , b^*) en el tiempo de almacenamiento



- **Cromaticidad**

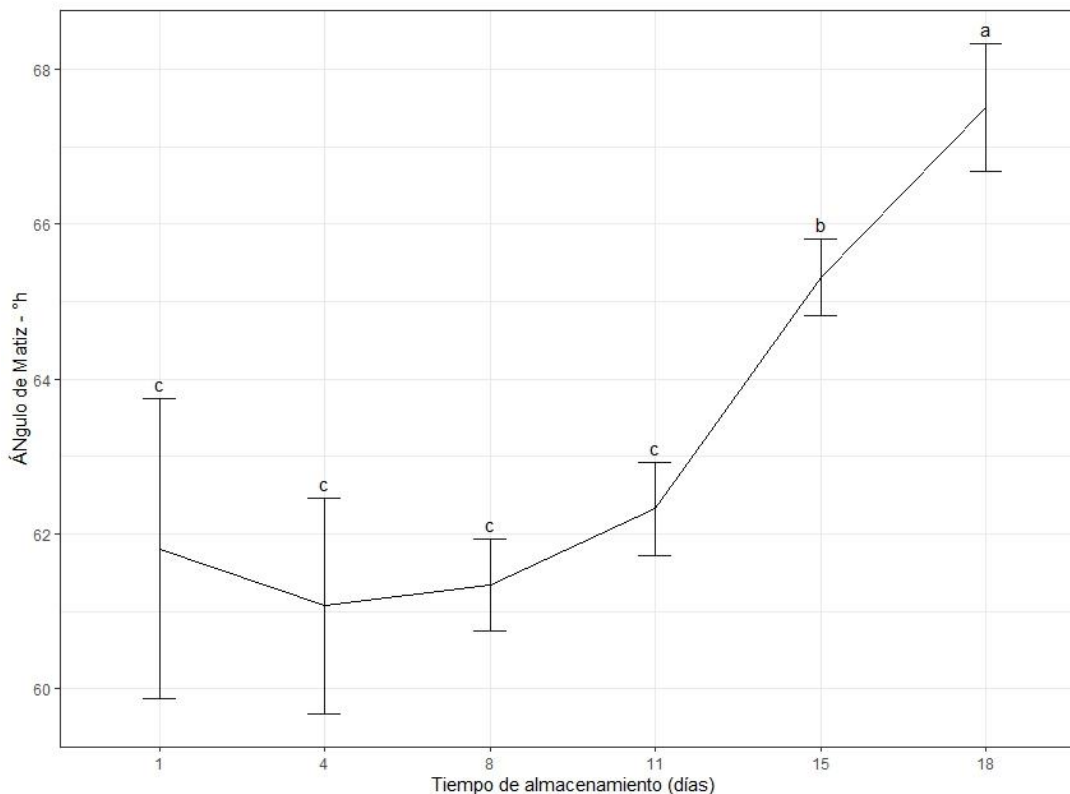
La **Figura 3-7** representa el espacio de color con el croma y el tono en coordenadas polares. La pureza (croma) para la miel granulada del Vichada con tratamiento óptimo va de $10,3 \pm 2,10$ en el día 1 a $7,12 \pm 1,45$ en el 8 día y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la saturación con el tiempo de almacenamiento. Esto es consecuente con lo expresado por Piotraszewska-Pająk & Gliszczyńska-Świątło, 2015, que encontraron que entre las distintas mieles analizadas los valores de croma estaban entre 9,71 y 27,44 para mieles frescas, por lo que los resultados encontrados en este estudio se encuentran en el mínimo del rango. Las intensidades de color encontradas son bajas, por lo cual se puede decir que la miel cremada es casi acromática o desaturada (con valor cercano al límite inferior que es 0).

Figura 3-7. Representación del espacio de color del tratamiento óptimo en el tiempo de almacenamiento



El ángulo de matiz de la miel de Acacia se encuentra entre $61,1^{\circ} \pm 1,39^{\circ}$ en el día 4 hasta $67,5^{\circ} \pm 0,82^{\circ}$ en el 18, mientras que, analizando respecto al tiempo se encuentra un aumento en el tono, encontrando diferencias significativas entre los primeros once días y el último evaluado (**Figura 3-8**). Castro Mercado, 2018, expone que la miel es de color ámbar, correspondiente al tono localizado. Dettori *et al.*, 2018, observaron un aumento de la luminosidad y el matiz (tono) con el tiempo de almacenamiento hasta 15 días, desde el cuál no hubo cambios.

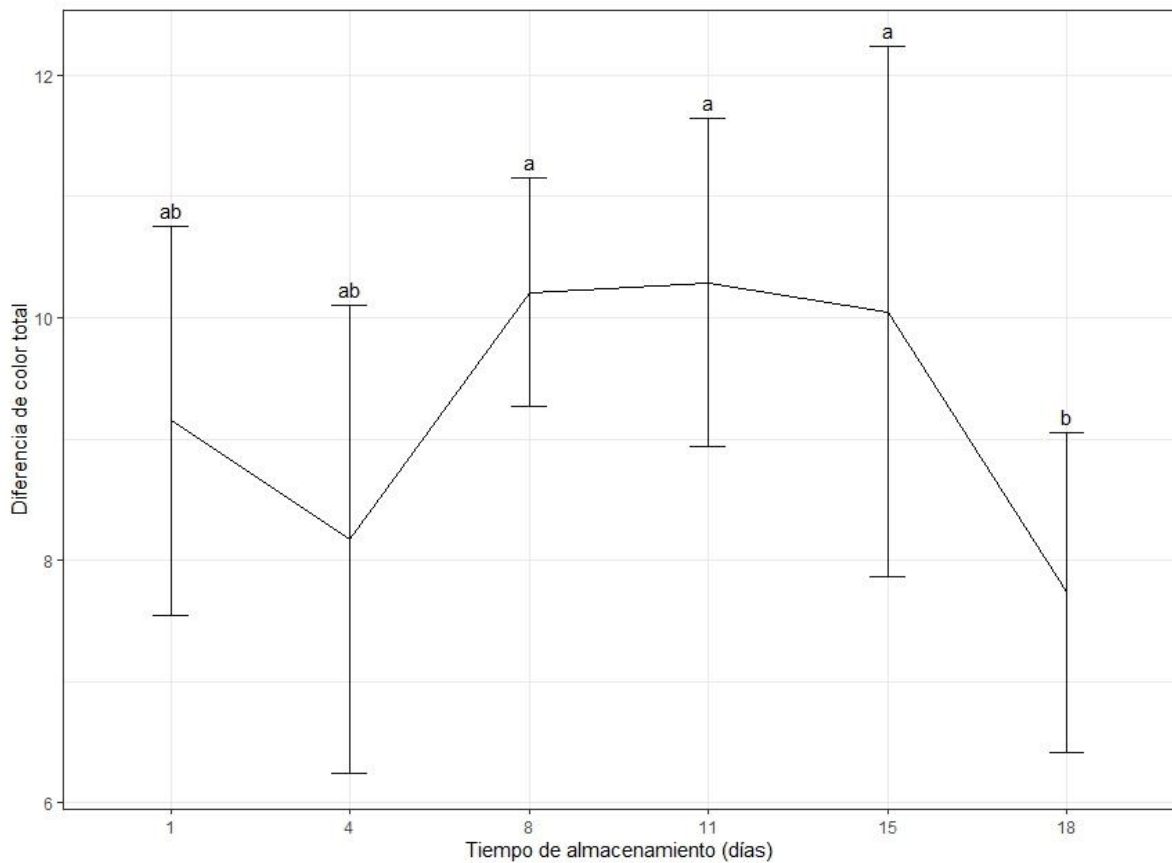
Figura 3-8. Comportamiento del ángulo de matiz de miel de Acacia sometida a cristalización inducida respecto al tiempo de almacenamiento



- **Índices de color**

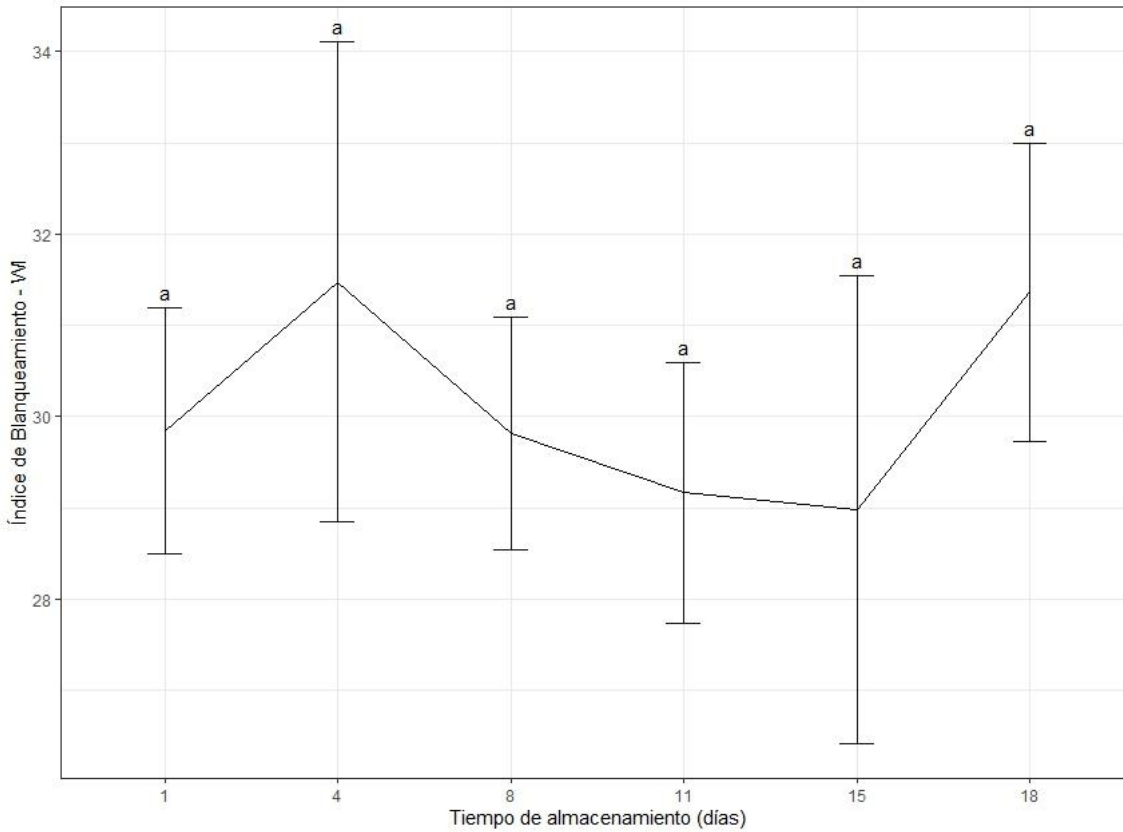
La diferencia de color total respecto a la miel de Acacia sin tratar no tiene cambios significativos con el almacenamiento, como se observa en la **Figura 3-9**, con valores entre $7,73 \pm 1,32$ en el día 18 a $10,2 \pm 0,94$ en el día 8. Se observa una diferencia significativa entre los días 8, 11 y 15 con el 18 y los cambios se pueden explicar debido a que la cristalización rápida de la luz forma cristales que dispersan la luz. Negueruela & Perez-Arquillue, 2000; y Piotraszewska-Pająk & Gliszczynska-Swiglo, 2015, concluyen que las diferencias de color entre mieles de romero en estado sólido sin fundir se deben a la dispersión de la luz en el interior de la muestra, lo que genera cambios en los espectros de reflectancia y principalmente, en los espectros de transmitancia interna. Como en esta miel cristalizada no se encontraron cambios, no hay diferencia en la reflectancia en el tiempo. Esa última cualidad es función de la cantidad de cristales.

Figura 3-9. Comportamiento de la diferencia de color total de la miel cremada de Acacia de Vichada respecto a la miel sin tratar en el tiempo de almacenamiento



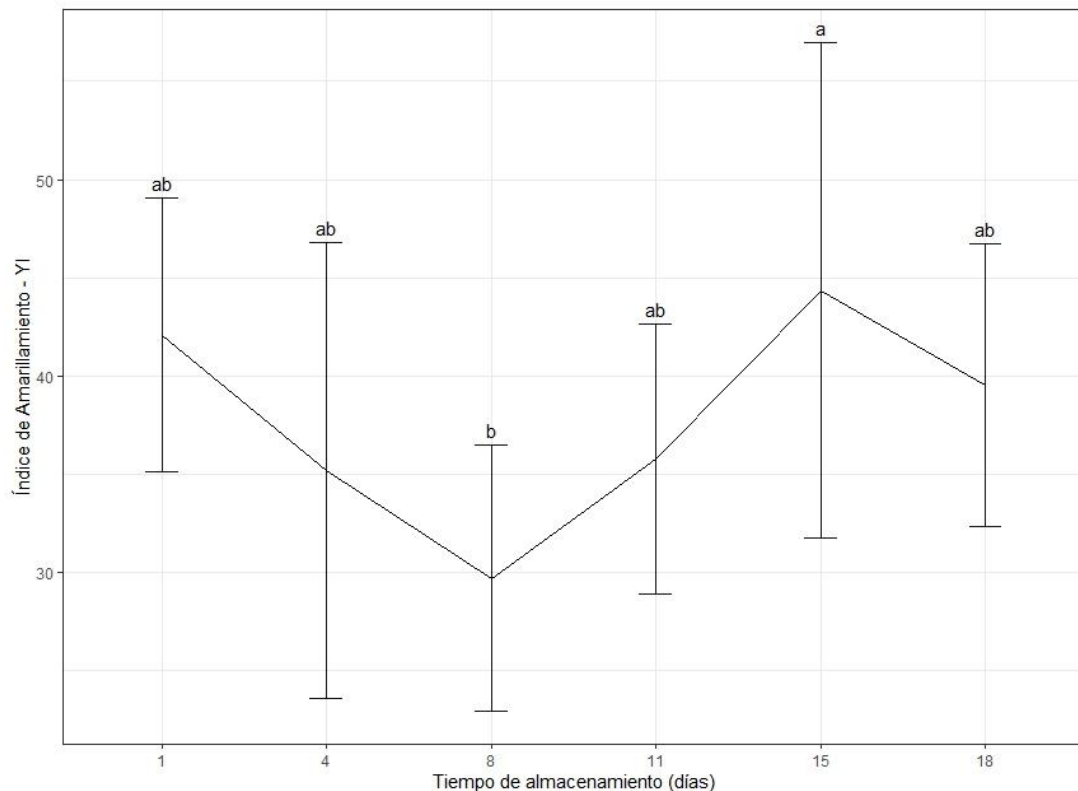
Los valores de Índice de blanqueamiento encontrados en este estudio concuerdan con los presentados por Costa *et al.*, 2015, que hallaron WI de 25 a 38 unidades, pero que a diferencia de este trabajo, si se vieron diferencias en el tiempo (**Figura 3-10**). Suriwong *et al.*, 2020, encontraron que el índice de blanqueamiento aumenta rápidamente y luego se estabiliza en valores cercanos a 40 en miel de girasol medida hasta 45 días, valores cercanos al encontrados en este estudio. En este ensayo, el índice de blanqueamiento no varió en el tiempo, con lo cual la evolución de este parámetro se da desde el mismo momento de la homogenización.

Figura 3-10. Variación de los índices de blanqueamiento en la cristalización inducida de miel de *Acacia mangium*



En el presente ensayo el índice de amarillamiento varió entre $44,4 \pm 12,6$ en el día 15 a $29,7 \pm 6,75$ en el octavo, y en general no se encontraron diferencias significativas en el tiempo (**Figura 3-11**). Amariei *et al.*, 2020, reportan valores del índice de amarillamiento de $7,99 \pm 0,24$ y $7,98 \pm 0,01$ en el primer mes de miel de *Acacia* sin y con adición de trehalosa y este parámetro no varió pasado un año de almacenamiento.

Figura 3-11. Variación de los índices de amarillamiento en la cristalización inducida de miel de *Acacia mangium*

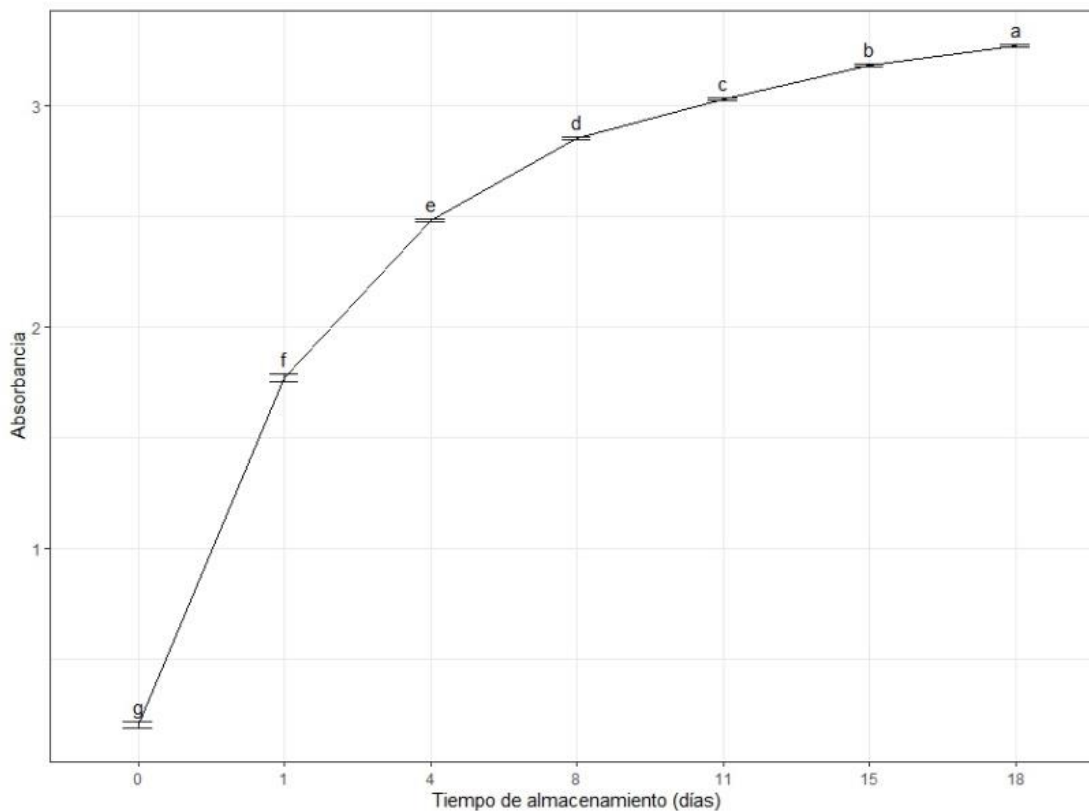


- **Turbidez**

Como se observa en la **Figura 3-12**, la mayor absorbancia se encontró en el día 18 con $3,27 \pm 0,01$. Conforti *et al.*, 2006, en mediciones de la absorbancia a 660 nm para 140 muestras de miel argentinas, encontraron valores entre 2.5 y 3.0, rango en el cual se encuentra este trabajo. Costa *et al.*, 2015, encontraron que a una temperatura de almacenamiento de 25°C se alcanzó una absorbancia máxima de 2,5 después de 34 días. Lupano, 1997, halló una absorbancia máxima cercana a 3 en miel almacenada por 40 días a bajas temperaturas (10 y 4°C)

Además, se observa una tendencia en la que la absorbancia aumenta con el tiempo, teniendo una mayor tasa de cambio en los primeros días y esta velocidad va disminuyendo. En miel de girasol ($F/G = 1.03$) la absorbancia aumentó rápidamente hasta llegar a un valor de 3 en el día 23. Suriwong *et al.*, 2020, encuentran que la miel más granulada tiene mayores valores de turbidez, presentando un comportamiento asintótico después de cierto tiempo de almacenamiento.

Figura 3-12. Comportamiento de la absorbancia a 660 nm de miel de *Acacia mangium* sometida al tratamiento de cristalización inducida

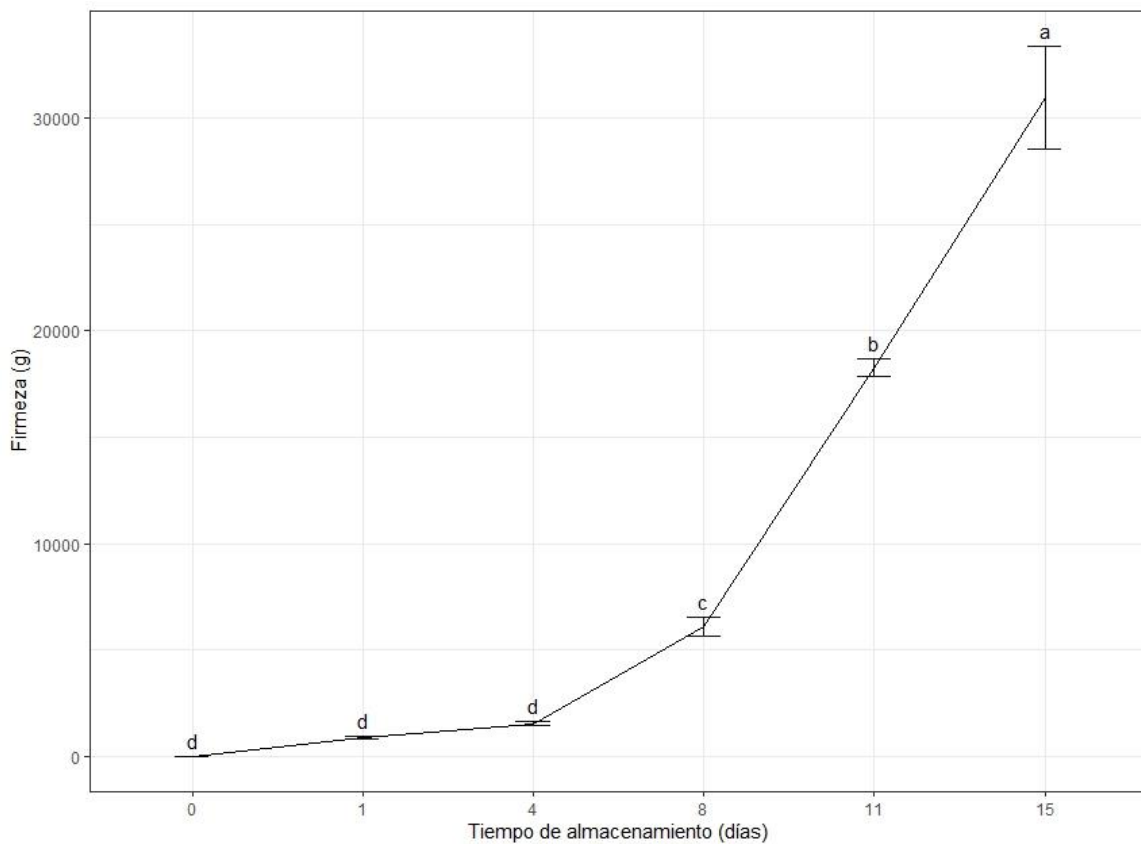


La relación entre las absorbancias muestra que en el día 15 se puede llegar a un 96,4% de cristalización. Suriwong *et al.*, 2020, encuentran un comportamiento idéntico al encontrado en este trabajo, donde la tasa de cristalización fue más alta al inicio y alcanza un máximo cuando la miel alcanzaba la cristalización completa y los núcleos ya formados se encontraban en fase de crecimiento.

3.2.3 Análisis textural

Durante los primeros instantes se encuentra que la firmeza tiene valores de $19,59 \pm 0.35$ g, valores coincidentes con Dettori *et al.*, 2018, que encuentran que la firmeza inicial en muestras de miel se encontraba en el rango de 0.02-0.03 N (**Figura 3-13**). Conforti *et al.*, 2006, encuentran que la firmeza de 111 muestras de miel de Argentina puede ser descrita como una función del contenido de agua en la solución, siendo resultado de una alta concentración de azúcar en miel no cristalizada o de una estructura tridimensional formada por los cristales.

Figura 3-13. Cambios en propiedades texturales como firmeza durante el tiempo de almacenamiento

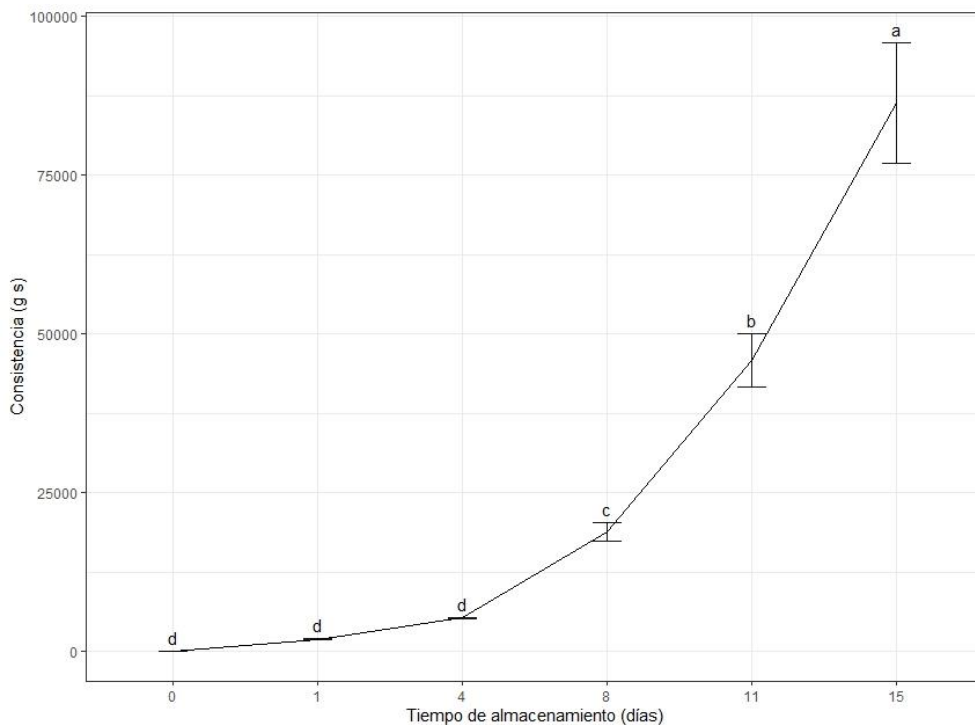


Mientras va aumentando el tiempo de almacenamiento va aumentando el valor de la firmeza. Durante los primeros cuatro días no se ven diferencias en la tasa de cambio, llegando a un valor de $1539,0 \pm 97,9$. Pasado el día 8 cuando llega a $6100,0 \pm 426,0$ g, aumentando en seis veces la velocidad. Ya entre el día 11 y 15 pasa de 18000 a 31000, disminuyendo la velocidad. Estos valores se encuentran en el mismo orden de magnitud

que las reportadas por Dettori *et al.*, 2018, para mieles de cristalización rápida. Tappi *et al.*, 2021, mostraron que a medida que aumentaba la fase cristalina se formaba una estructura sólida donde los cristales formaban una matriz caracterizada por una cohesión que aumentaba con el tiempo. Además, la tasa de cambio de la actividad de agua parece tener relación con la de la firmeza, ya que mientras en el día octavo la absorbancia variaba en cerca del 10%, la firmeza aumentaba en cerca de 3 veces.

Al igual que la firmeza, no existen diferencias significativas durante los primeros días, aunque entre el día 11 y 15 aumenta de $45.861,0 \pm 4277,0$ a $86.411,0 \pm 9465,0$ (**Figura 3-14**). Entre más pasa el tiempo se va formando una estructura más intrincada y por ello la firmeza va aumentando, aunque la firmeza y la cohesividad aumentan más rápidamente entre el día 1 y 8, posiblemente por la rápida formación de cristales. En este caso aumenta la tasa de cambio de manera más fuerte que con la firmeza, esto se explica por Conforti *et al.*, 2006, para quienes no existe una relación proporcional entre la firmeza y la adhesividad. Como se vio en el capítulo 2, estos dos parámetros si están correlacionados significativamente.

Figura 3-14. Cambios en propiedades texturales como la consistencia durante el tiempo de almacenamiento

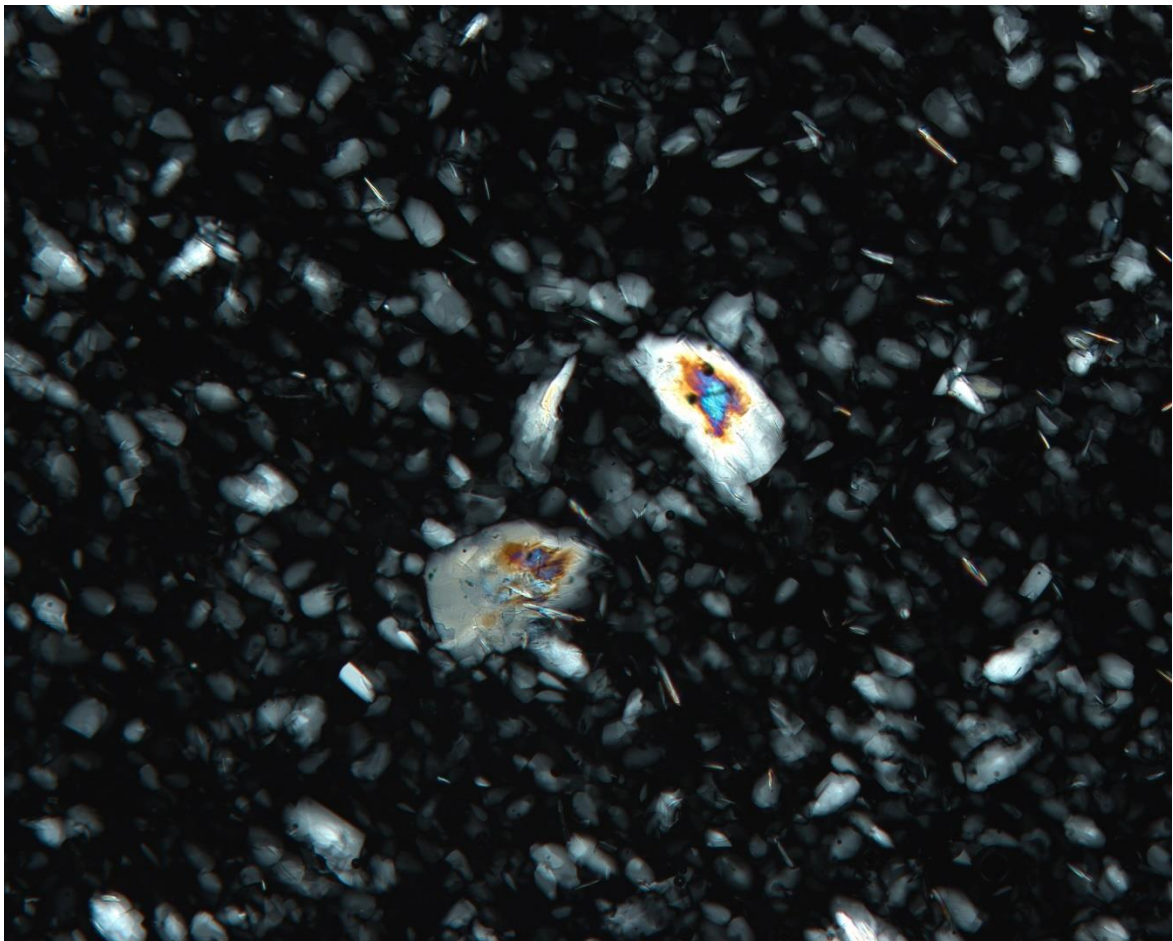


3.2.4 Análisis micrográfico

- **Morfología de los cristales**

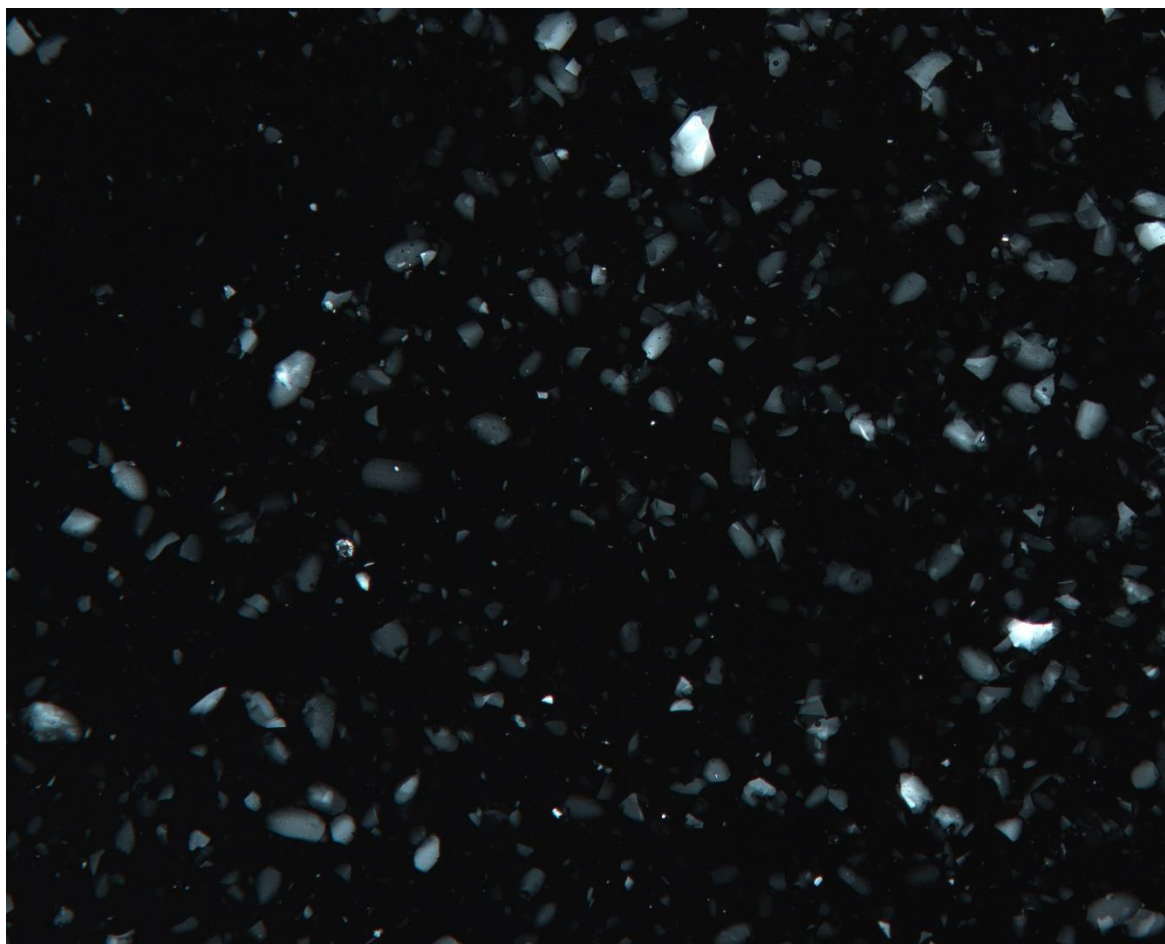
Durante la cristalización natural (miel fresca sin tratamiento) se encuentran pocos cristales de gran tamaño, como los que aparecen en la **Figura 3-15**. Sin embargo, como se aprecia en la **Figura 3-15** se encuentran cristales de gran tamaño que llegan a presentar el fenómeno de birrefringencia y los bordes se ven claramente definidos. Dettori *et al.*, 2018, exponen que en este tipo de granulación las mieles presentan cristales grandes, con bordes afilados y de mayor espesor. Estos cristales no tienen un tamaño completamente regular, ya que están presentes algunos pequeños ($> 10 \mu\text{m}$) y otros más grandes (alrededor de $100 \mu\text{m}$). Además se encuentran pocos cristales en forma de aguja como los reportados por Lupano, 1997, que causan que el producto se vuelva turbio y menos atractivo al consumidor (Bund & Hartel, 2010).

Figura 3-15. Tamaño relativo de cristales en miel sin tratar en micrografías a 20X



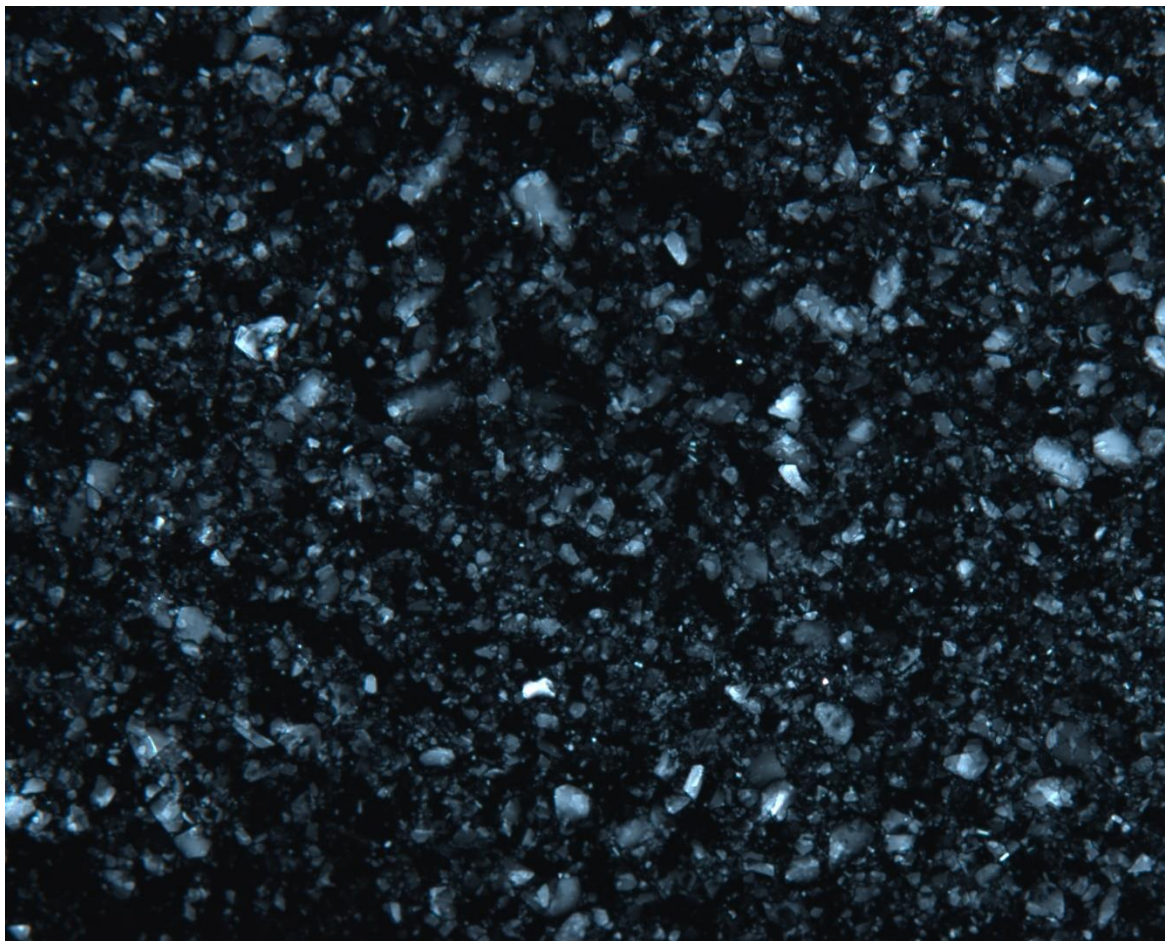
De acuerdo con la etapa de crecimiento, los cristales pueden tener forma esférica, acicular, de placa plana o estrellada. Al igual que lo anota Tappi *et al.*, 2021, al inicio de la cristalización los cristales visibles pertenecen al núcleo del cristal (**Figura 3-16**) y debido a la agitación se observa una distribución homogénea de los cristales en la solución. Además, a diferencia de lo reportado por Conforti *et al.*, 2006, donde la mayoría de las muestras de miel argentina almacenadas presentaron cristales de aguja, los cristales observados tienden a tener forma esférica (sin dimensión sobresaliente).

Figura 3-16. Micrografía 20x de miel recién inoculada con semilla en el proceso de cristalización inducida



Con el tiempo estos van eligiendo una dirección para el crecimiento, alargándose sobre un único eje y mezclándose entre ellos, perdiendo su esfericidad. Este mismo comportamiento fue encontrado por Laos *et al.*, 2011, en mieles poliflorales eslovenas., dispuestos como ramos o dispuestos aleatoriamente. Como se aprecia en las micrografías (**Figura 3-17**), la forma es más alargada, como la presentada por Suriwong *et al.*, 2020.

Figura 3-17. Micrografía 20X de muestra de miel de Acacia con cristalización inducida a los 11 días de almacenamiento

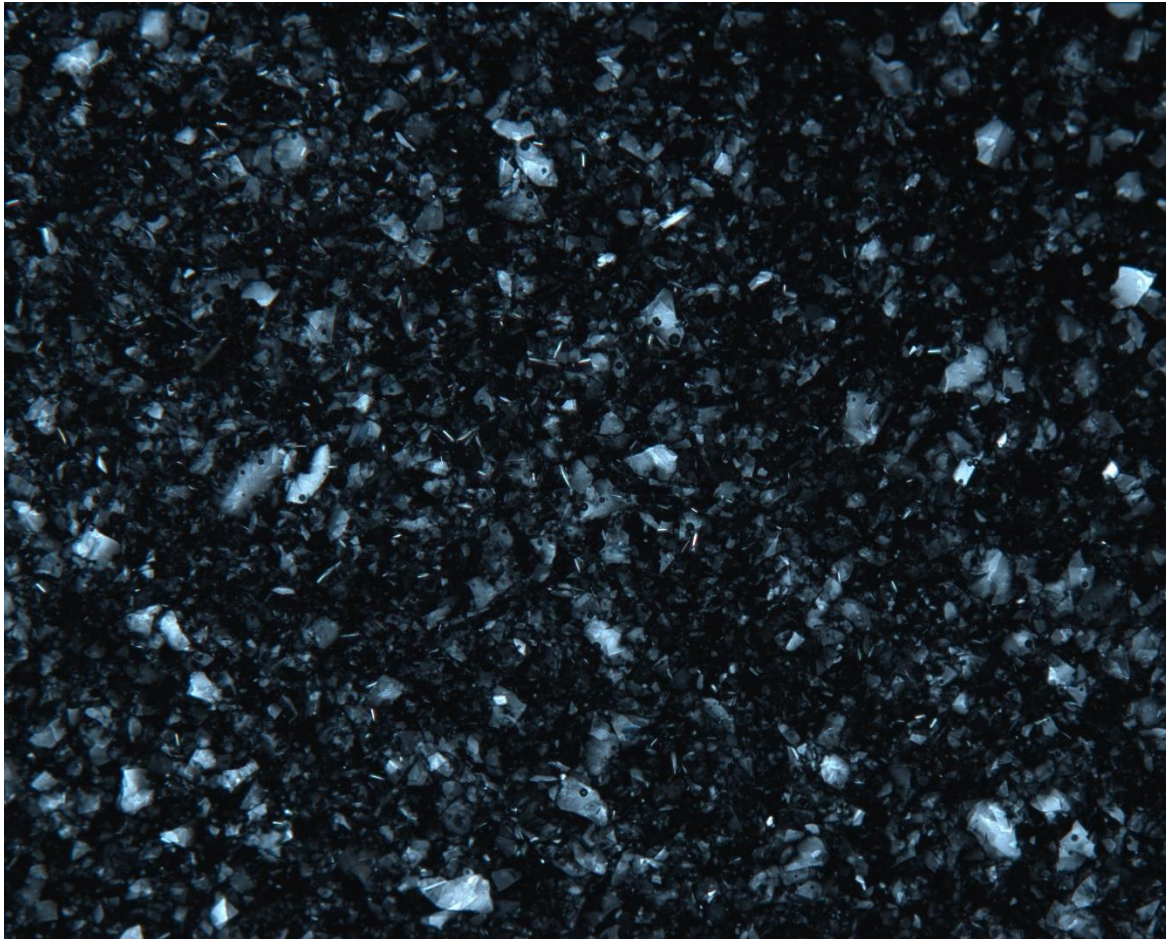


Por otro lado, a una tasa de cristalización muy lenta se forman grandes masas con forma de estrella debido a que los cristales crecen desde su base. Esto es típico en los frascos de miel líquida comercial (Bhandari, D'Arcy, & Kelly, 1999). Como ya se ha discutido, la tasa de cristalización de la miel de *Acacia mangium* en este estudio fue muy rápida, por lo que se explica que no se encuentren aglomeraciones de cristales.

En las **Figura 3-15** a **Figura 3-18** se observa que en la miel sometida a la inducción los bordes de los cristales son redondeados (difusos) mientras que en el crecimiento natural los bordes son más definidos (afilados). Para Dettori *et al.*, 2018, la forma de los cristales más grandes parece no ser regular y en imágenes microscópicas se ven diferentes formas y tamaños, aunque no encontró diferencias en la morfología. Ma *et al.*, 2017, observaron la microestructura de los cristales de miel y de glucosa, encontrando que los primeros son irregulares y con bordes suaves mientras que los de glucosa son de morfología plana con

bordes afilados. DeJong & Hartel, 2019, exponen que los cristales con superficie redondeada y suave, como los encontrados en este estudio, pueden fluir uno sobre otro dando sensación de cremosidad. En este sentido, los cristales en forma de placa plana, característicos de una granulación fina, otorgan una sensación sensorial agradable (Bhandari, D'Arcy, & Kelly, 1999).

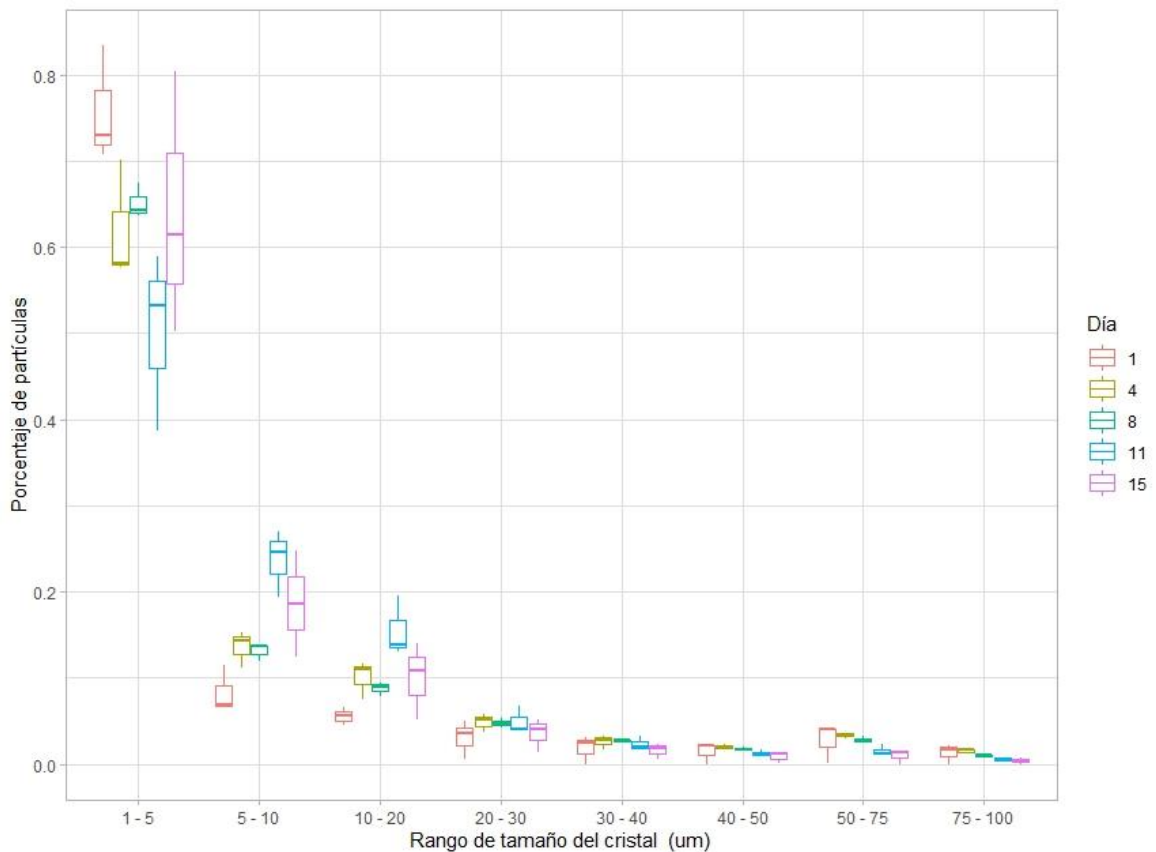
Figura 3-18. Micrografía de miel con cristalización inducida de *Acacia mangium* a los 15 días de almacenamiento



- **Tamaño de los cristales**

Con el avance del tiempo va aumentando el número de cristales y su tamaño promedio, cambiando el rango de 1-5 μm a 5-10 μm (**Figura 3-19**). En el día 1 había un porcentaje de 75,74% \pm 6,73% y cayó a 64,06% \pm 15,30% en el día 15 para el tamaño de cristal de 1-5 μm . Esto está conforme a lo reportado por Costa *et al.*, 2015, que encontraron que ninguna de las muestras cristalizadas a 15°C mostró cristales mayores a 20 μm y que mayores tamaños se consiguieron a 25°C. Además, que con esta última temperatura una agitación a una velocidad de 540 rpm también disminuyó el diámetro equivalente de la partícula a 20 μm . Bakier, 2009, encontró que la fase pesada de la cristalización tenía cristales con área superficial menor a 300 μm^2 .

Figura 3-19. Variación de la Distribución granulométrica con el tiempo de almacenamiento



Al inicio del tratamiento la miel presenta pocos cristales de tamaño homogéneo (1000 partículas de diámetro equivalente $3.46\pm 3.64\mu\text{m}$) y con el avance del tiempo se va aumentando la cantidad de cristales y su tamaño se va haciendo más grande (Figura 3-

15). Ya sobre el día 15 el número de cristales aumentó a 8954 con un diámetro equivalente de $7.74 \pm 12.09 \mu\text{m}$ incrementando la curtosis de la distribución.

Los diámetros equivalentes máximos encontrados fue de $99,47 \mu\text{m}$ y el mínimo $0,51 \mu\text{m}$. En el día octavo ocurre un aumento en el número de cristales, coincidiendo con el momento en el que la absorbancia se estabiliza. Por esta razón la absorbancia puede utilizarse como indicador del proceso. Costa *et al.*, 2015, encuentra que a temperaturas bajas de almacenamiento (15°C) y a 540 rpm de agitación se encuentra que hasta el 90% de los cristales tienen un tamaño inferior a $10 \mu\text{m}$. Esto es coincidente con lo encontrado en este estudio que se llevó a cabo a temperaturas de almacenamiento de 14°C y a 850 rpm, con lo cual se esperan diámetros equivalentes inferiores.

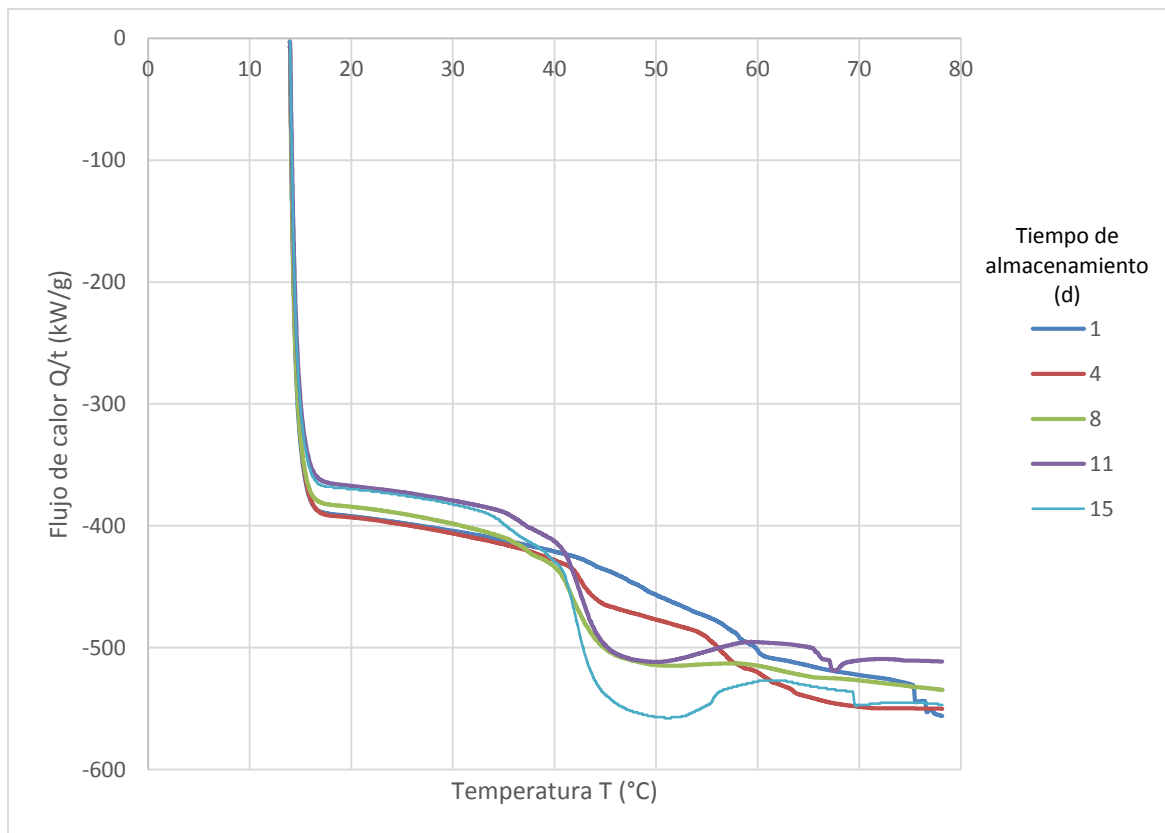
El comportamiento de la distribución granulométrica con el tiempo de almacenamiento presenta una tendencia clara en la que al principio los cristales en su mayoría tenían tamaños entre $1\text{-}5 \mu\text{m}$ (**Figura 3-19**). Este parámetro es importante porque DeJong & Hartel, 2019, expone que el paladar puede detectar cristales de hielo de $50 \mu\text{m}$ y que una buena microestructura cristalina puede influir en características como la apariencia, untabilidad, dureza, suavidad y masticabilidad.

Por otro lado, Costa *et al.*, 2015, encontraron que una alta velocidad de homogenización disminuye el tamaño de los cristales, pero a una temperatura de almacenamiento de 15°C se formaron más rápidamente que a temperaturas superiores, por lo cual la agitación produjo rápidamente cristales de pequeño diámetro equivalente. Entonces la tasa de cristalización se ve poco afectada por la homogenización.

3.2.5 Análisis termodinámico

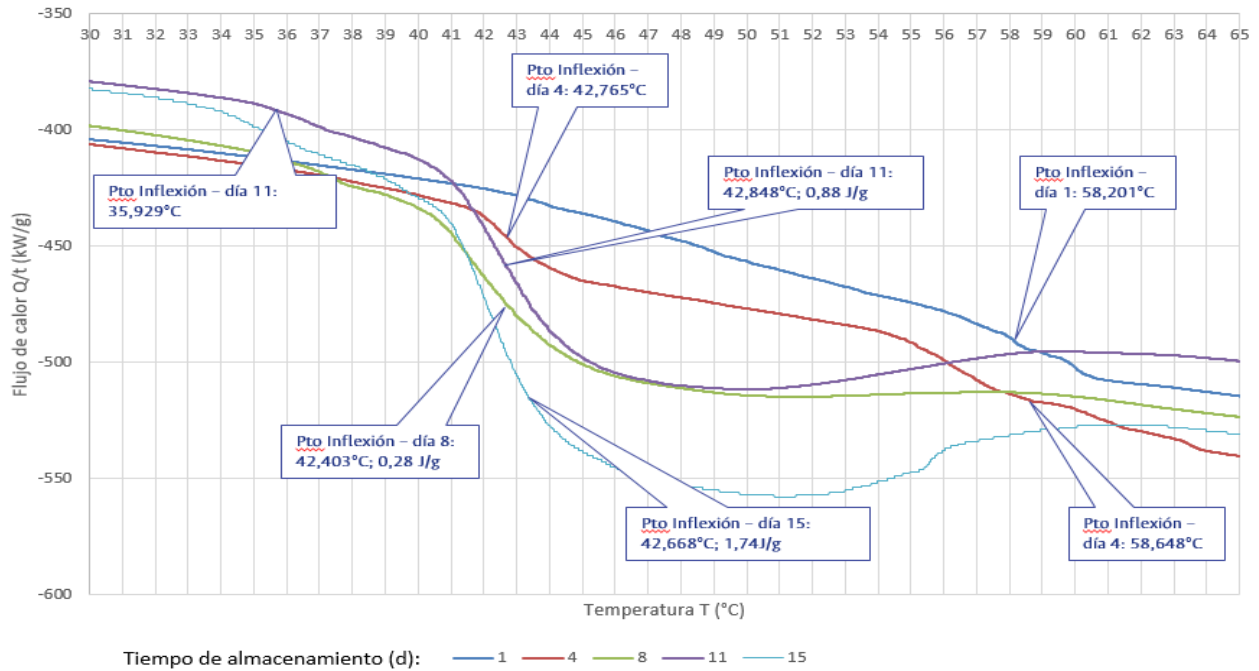
En este estudio solo se puede reconocer la transición de fusión (**Figura 3-20**), que coincide con un pico endotérmico en los extremos reportados ($60,735^\circ\text{C}$ como pico máximo). Tomaszewska-Gras *et al.*, 2015, exponen los picos de temperatura alcanzados por distintos tipos de mieles polacas durante corridas experimentales en DSC, encontrando valores de picos entre $47,28 \pm 0,31^\circ\text{C}$ para miel de lima ($F/G = 1,04$ y $G/W = 1,73$) y $65,76 \pm 0,18^\circ\text{C}$ para girasol ($F/G = 0,79$ y $G/W = 2,72$). Estos valores se encuentran acordes a los encontrados durante este ensayo, siendo el $58,201^\circ\text{C}$ para el día 1 de almacenamiento y llegando a $60,735^\circ\text{C}$ en el día 15 de ensayo.

Figura 3-20 Termogramas de DSC para miel cremada de *Acacia mangium* de acuerdo con el tiempo de almacenamiento



En este estudio se encuentra que a 15 días de almacenamiento de miel cremada de Acacia de Vichada la entalpía apenas llegó a 1,7409 J/g, que comparado con otros autores indicarían que el proceso de cristalización aún no está completo. Tappi *et al.*, 2019, encontraron valores de entalpía de 34,72 J/g después de 9 días de almacenamiento en mieles de cristalización rápida ($F/G = 1,08$). Venir *et al.*, 2010, hallaron que una entalpía de 108,39 J g⁻¹ era la necesaria en la segunda transición. Tappi *et al.*, 2021, calcularon la entalpía específica para la fusión de cristales monohidratados de glucosa en un valor de 176,8±4,3 J/g, mostrando que la tasa de calentamiento durante el DSC es importante en el cálculo de la entalpía (**Figura 3-21**).

Figura 3-21. Termograma de DSC mostrando la zona de interés con puntos de inflexión y entalpías normalizadas por día para la cristalización inducida de miel de Acacia



En cuanto a la tasa de formación de cristales de glucosa (**Tabla 3-1**), Tappi *et al.*, 2021, hallaron un contenido de cristales al final del proceso (noveno día) de 21-22 g/100 g en mieles de cristalización rápida, con una tasa de cristalización de 1,271 g de cristales/100 g de miel /día. En este estudio, con miel de *Acacia mangium* del Vichada se encontró una tasa de 0,097 hasta el día 15. Comparando con lo encontrado en la actividad de agua (que para el día 15 ya estaba en valores estables) o con la turbidez (cuya tasa de cambio no cambió entre el día 15 y el 18).

Tabla 3-1. Valores de temperaturas y entalpías encontradas durante el proceso

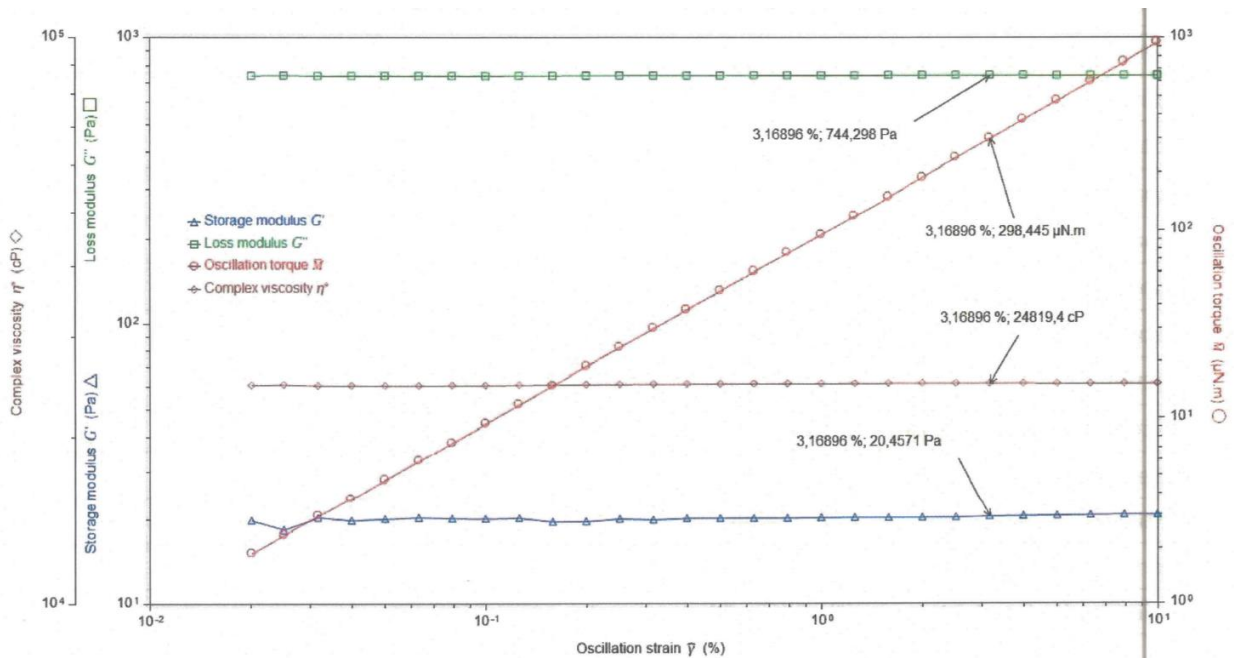
Tiempo (día)	Temperatura de inflexión (°C)			Entalpía (normalizada) $J g^{-1}$	Grado de cristalización (g de cristal / 100 g de miel)
	Punto medio	Inicio	Pico		
1	58.201				0
4	42.765 58.648				0
8	42.403	52.020	58.416	0,28544	0,26
11	35.929 42.848	51.591	59.309	0.88471	0,82
15	42,668	54.814	60,735	1,7409	1,62

De acuerdo con Dettori *et al.*, 2018, la tasa de cristalización es la suma de la velocidad de nucleación y de crecimiento de los cristales. Cuando la sobresaturación es alta, la formación de nuevos cristales es más rápida que su crecimiento. A medida que avanza la cristalización, la velocidad de nucleación decrece exponencialmente, de modo que, el proceso predominante es el agrandamiento de los núcleos existentes (Tappi *et al.*, 2019). Por esta razón se encuentran dos zonas en la cinética de cristalización: una rápida y otra casi constante (Tappi *et al.*, 2021). Al analizar los cambios de entalpía de fusión de los cristales de miel de Acacia del Vichada con el tiempo se encuentra que el tiempo de almacenamiento fue muy poco y no se ha completado la primera fase.

3.2.6 Análisis reológico

- **Región viscoelástica lineal**

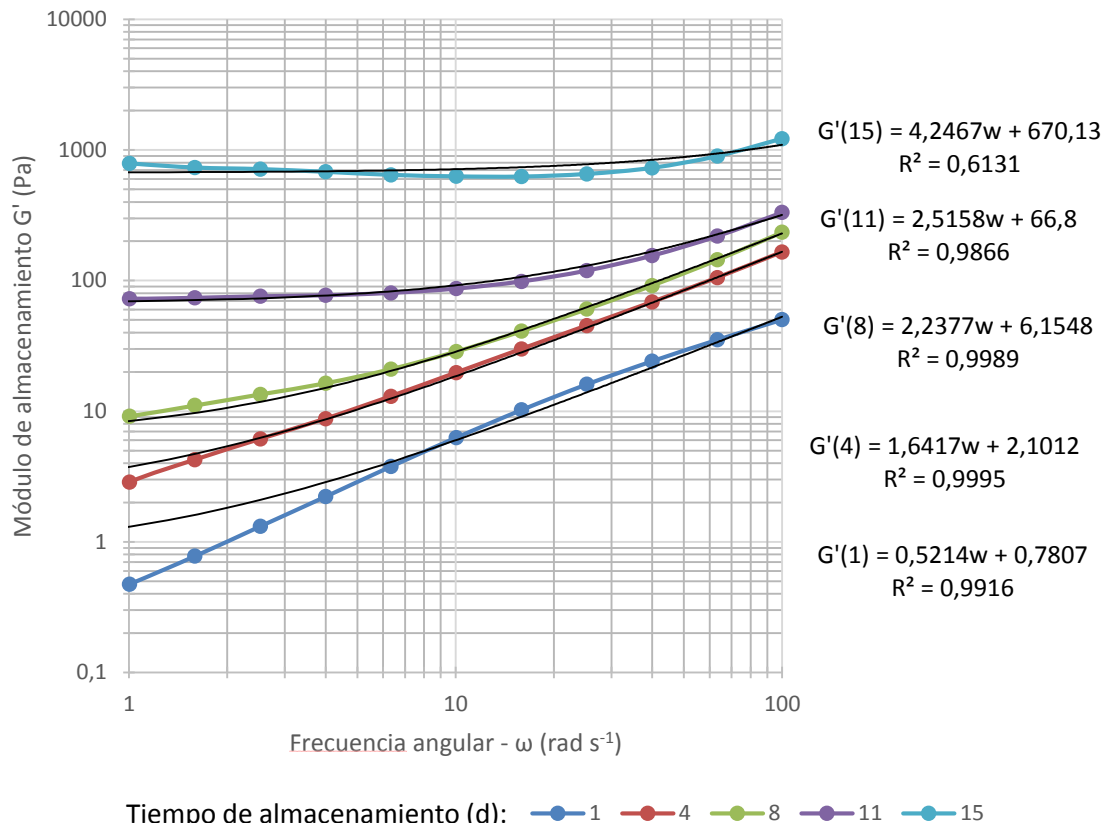
Dobre *et al.*, 2012 determinan que con una deformación mayor al 3% se pierde la red estructural de la miel y su comportamiento se vuelve no lineal desde ese punto. Como muestra la **Figura 3-22**, estos resultados están acordes a los encontrados en este ensayo, que para 3% se encuentran valores constantes de los módulos de almacenamiento y pérdida. Se puede observar, la miel de Acacia del Vichada presenta un comportamiento newtoniano (Bhandari, D'Arcy, & Kelly, 1999). Ahmed *et al.*, 2007; Cohen & Weihs, 2010, analizaron el comportamiento del flujo de miel, demostrando que la miel líquida es un fluido newtoniano en las escalas macro y microscópica y que la viscosidad fue consistente con el clásico modelo estacionario a todas las temperaturas (Cohen & Weihs, 2010). El comportamiento newtoniano es característico de soluciones concentradas con componentes de bajo peso molecular (Costa *et al.*, 2013). Conforti *et al.*, 2006, encontraron que muestras con pocos cristales presentaban un comportamiento newtoniano con alta densidad.

Figura 3-22. Región viscoelástica lineal para miel cristalizada de *Acacia mangium*

- **Barrido de frecuencia**

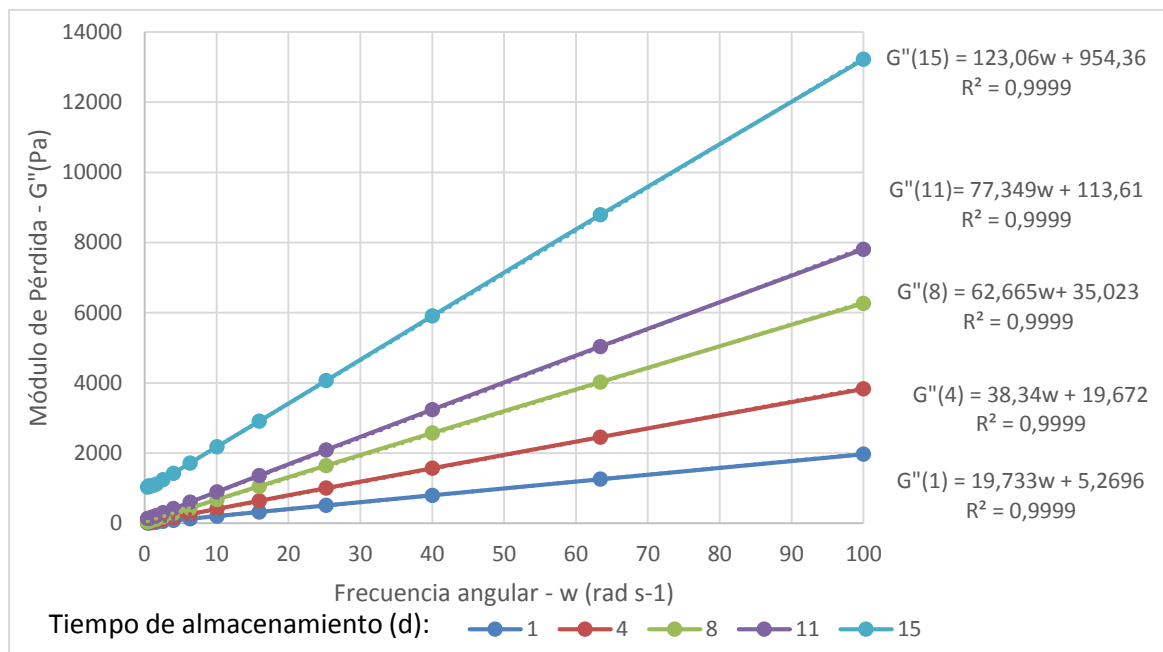
La **Figura 3-23** muestra los resultados del módulo de almacenamiento en la frecuencia angular de oscilación como función del tiempo de almacenamiento. En los primeros días se da una tendencia lineal (r^2 cercano a 1), y ya en el último día se da un efecto viscoso que altera el módulo de almacenamiento debido a un cambio en el comportamiento de flujo (Oroian, 2015). Se puede observar que el comportamiento elástico aumenta mientras mayor cantidad de días dure la miel en el proceso de cremado, y con ello se vuelve más sólida. Ahmed *et al.*, 2007, encontraron que la glucosa cristalizada en la miel lleva a un bajo esfuerzo de deformación debido a su destruida red molecular cuando se aplica el esfuerzo. Así, consideran que la concentración de glucosa y fructosa y su relación, son los parámetros más importantes para entender el mecanismo de flujo en un nivel estructural y molecular.

Figura 3-23. Variación del módulo de almacenamiento G' con la frecuencia angular (ω) y con el tiempo de almacenamiento de miel de Acacia con cristalización inducida



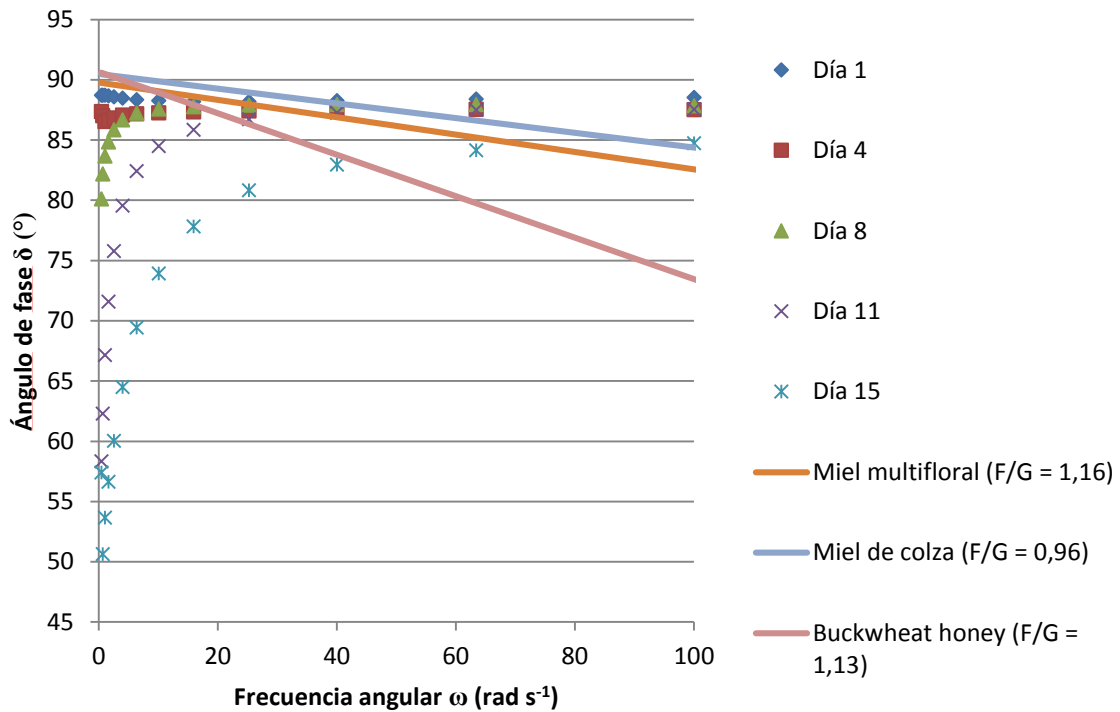
Como observan Nayik *et al.*, 2019, al ser mayor el módulo de pérdida que el del almacenamiento, la miel observa un comportamiento más viscoso que elástico. En la **Figura 3-24** se observa este fenómeno, y además se ve que puede llegar a ser 10 veces mayor el módulo de pérdida que el de almacenamiento. Además, la miel cremada tiene un comportamiento más viscoso (líquido) que elástico (sólido) debido a que no hay solapamientos en las funciones de G' y G'' con T y ω en todo el rango (Ahmed *et al.*, 2007).

Figura 3-24. Evolución del módulo de pérdida en el proceso de cristalización inducida a 1, 4, 8, 11 y 15 días de almacenamiento



En la **Figura 3-25** se observa que a mayor tiempo de almacenamiento, mayor ángulo de fase, mostrando un comportamiento casi intermedio entre sólido y líquido. Pero en frecuencias más altas el ángulo se hace constante. Y finalmente, con más días de almacenamiento el ángulo va disminuyendo rápidamente a bajas frecuencias. Para Dobre *et al.*, 2012, el comportamiento reológico se vuelve no lineal después de una cierta frecuencia angular, como se observa en el caso de la miel almacenada después de 15 días. Nayik *et al.*, 2019, investiga el comportamiento reológico para cuatro tipos de miel con la temperatura, encontrando un coeficiente de correlación mayor a 0.97 para los gráficos entre el módulo de pérdida y el módulo de almacenamiento respecto a la frecuencia angular. Además, encuentra valores entre 10^0 y 10^2 Pa para todas las mieles a una temperatura de 20°C , con un comportamiento lineal. Tappi *et al.*, 2019, encuentran que el aumento en las fuerzas viscosas con el tiempo de almacenamiento está relacionado con el crecimiento de cristales debido a que la miel cristalizada es un semisólido en la que el comportamiento reológico está determinado por la fracción másica de la fracción sólida y la morfología cristalina.

Figura 3-25. Variación del ángulo de fase en el tiempo de almacenamiento y comparación con mieles líquidas

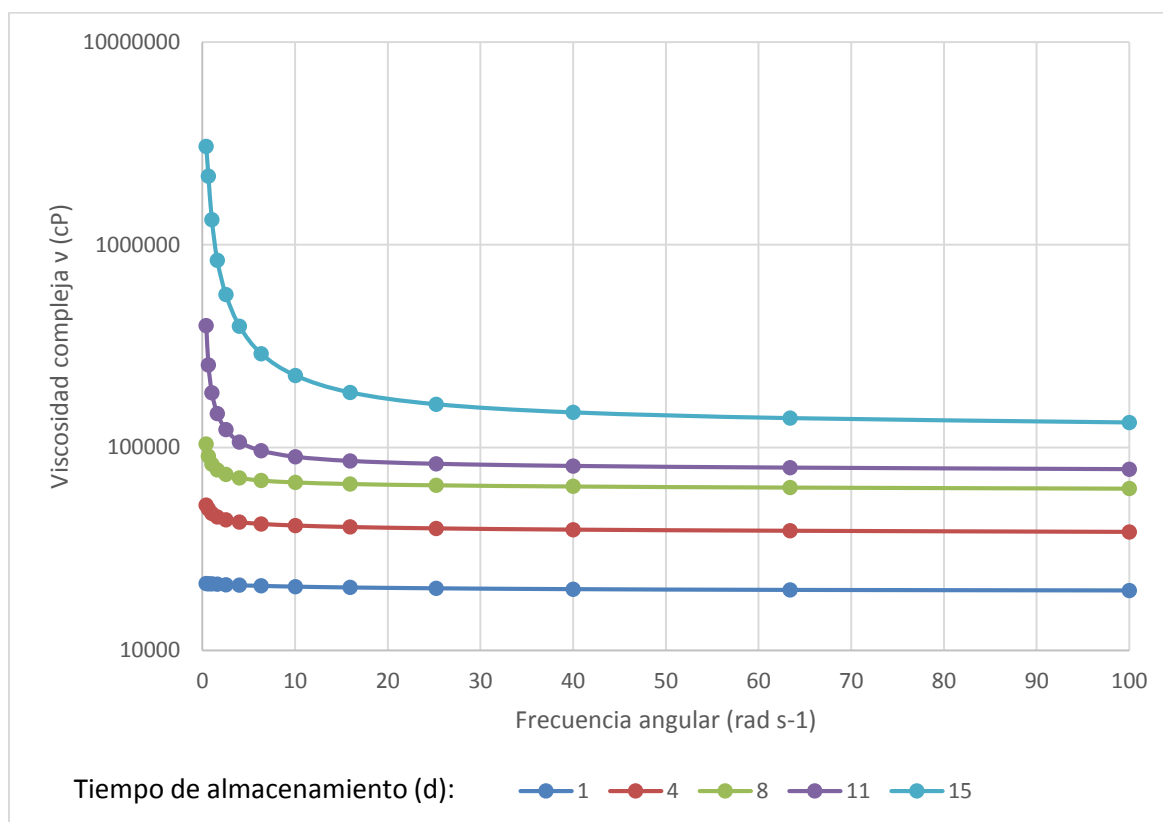


Fuente: Propia con datos reportados por Dobre, Georgescu, Alexe, Escuredo, & Seijo, 2012; Nayik, Dar, & Nanda, 2019 y Ahmed, Prabhu, Raghavan, & Ngadi, 2007

El fenómeno de tixotropía puede ser el causante del comportamiento anómalo a los 15 días de almacenamiento. Para Conforti *et al.*, 2006, las mieles con cristales grandes y dispuestos en ramos presentaban comportamientos pseudoplásticos a bajos esfuerzos y newtonianos a altos esfuerzos, por lo que presentaba histéresis. La miel presenta tixotropía (histéresis) debido a su comportamiento adelgazante con el esfuerzo, sugiriendo que el cizallamiento causó una mayor tasa de desentrelazado que reenlazamiento de macromoléculas (azúcares, proteínas, etc.) (Sopade *et al.*, 2004). A mayor temperatura, menor área de histéresis (energía esencial para romper la estructura), lo que indica que el calentamiento daña la estructura (Karasu, Toker, Yilmaz, Karaman, & Dertli, 2015). La ausencia de fenómenos tixotrópicos o dilatantes en algunas mieles puede ser explicado por la ausencia de macromoléculas o partículas en suspensión (Costa *et al.*, 2013).

En el caso de la viscosidad compleja (**Figura 3-26**) y su cambio respecto a la frecuencia, se encuentra una tendencia igual a la reportada por Nayik *et al.*, 2019, en la cual durante los primeros instantes la viscosidad es altísima, pero una vez se rompe la inercia, se comporta como un fluido hasta un valor asintótico que depende del tiempo de almacenamiento. La viscosidad de la miel cremada a 50 s^{-1} disminuye con el incremento de temperatura debido a la expansión térmica: se requiere menos energía para romper la estructura a temperaturas más altas debido a la reducción de fuerzas intermoleculares, aumentando la distancia intermolecular (Karasu *et al.*, 2015).

Figura 3-26. Cambios en la viscosidad compleja con el tiempo de almacenamiento



Una vez cristalizada, la fase sólida, con presencia de cristales y moléculas de alto peso molecular (proteínas y dextranos), presenta un comportamiento pseudoplástico cuando es comprimida mecánicamente con una alta viscosidad ($>100 \text{ Pa s}$) (Bakier, 2009). La resistencia de la miel cremada a la deformación disminuye con la cristalización (Karasu *et al.*, 2015), lo cual puede explicar que la viscosidad llegue a un valor fijo con el aumento de la frecuencia angular.

3.3 Conclusión parcial

En el presente estudio se pudo evaluar el efecto de la cristalización inducida en propiedades térmicas y reológicas, y analizar la cinética de la granulación. Durante los primeros días, tanto la actividad de agua y en la turbidez aumentaron rápidamente (cerca de 2,5 unidades de absorbancia para el día cuatro y la actividad de agua pasó de 0,546 a 0,557 al día octavo), coincidiendo con una fase de rápida formación de núcleos (como se evidencia en las micrografías, cerca del 70% de los cristales tuvieron tamaños inferiores a 5 μm). En este caso, al examinar la micromorfología, se encuentra que al avanzar en la cristalización aumenta la tasa de nucleación. Después de esta etapa (día ocho) los valores tanto de la actividad de agua como de la turbidez permanecen casi constantes. Esta tendencia coincide con el crecimiento de los cristales en el que los tamaños de 1-5 μm eran del 74% en el primer día y bajaron a 54% en el día 11, mientras que los cristales de tamaño entre 5-10 μm aumentaron de 7,56% el primer día a 25% en el día 11. Por otro lado, los termogramas muestran hasta ahora la fase de crecimiento en la tasa de cristalización, por lo que en esta miel de Acacia puede no ser un buen parámetro para evaluar la cristalización. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en los parámetros de color, solo en el tono, indicando que la miel tiende a aumentar en el ángulo de matiz y se presentan ligeras variaciones que no son perceptibles.

La firmeza y la consistencia presentan una tendencia en la que conforme va pasando el tiempo van aumentando en magnitud (31000 g y 86000 g s en el día 18, respectivamente), lo que implica que se hace un mayor esfuerzo en el tiempo para presionar la miel de Acacia con el paladar. Esto puede correlacionarse con el comportamiento viscoelástico. Como el módulo de pérdida es superior al de almacenamiento (pendiente de 123,06 y 4,24 en el día 15) se muestra un comportamiento más de sólido, con lo cual aumentan las fuerzas internas debidas a la cohesión entre partículas de la misma miel (firmeza) y la fricción interna entre ellas (consistencia).

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

La cristalización inducida en miel proveniente de plantaciones de *Acacia mangium* en Vichada produjo un cambio en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del producto respecto a la cristalización natural. Esta conclusión parte de la correlación estadísticamente significativa hallada entre los parámetros evaluados de tiempo y velocidad de agitación y cantidad de semilla añadida con las variables respuesta. De manera general, las muestras con mayores porcentajes de inoculante tuvieron los cambios más importantes en propiedades sensoriales. Tanto en consistencia (9000 a 14000 g s) como en firmeza (2500 a 3500 g), los tratamientos sin adición de semilla fueron estadísticamente similares al testigo control y muy superior al testigo comercial. En el caso del color no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos con valores que oscilan de L^* de 39.57 ± 6.06 , $a^* = 4.739 \pm 2.14$, $b^* = 14.59 \pm 5.83$, $^{\circ}h = 70,40 \pm 8,99$ y croma de $15,48 \pm 5,84$. La turbidez si presentó diferencias significativas, donde el tratamiento 8 tuvo (con mayores velocidades de homogenización y semilla, tiempo medio) los mayores valores (4.23 unidades de absorbancia), en comparación con el testigo control (miel fresca) de 0.20. En el PCA se encontraron dos componentes que explican hasta el 84% de la varianza. El primer componente está conformado por absorbancia final, el índice de amarillamiento, el croma, la componente b^* del color, consistencia y firmeza finales. De acuerdo a lo anterior, la interacción de los parámetros e indica que la optimización del proceso de cristalización inducida en miel de *Acacia mangium* es posible. Finalmente se encontró que solo 8 variables presentaban una buena correlación con un modelo cuadrático. Según los resultados encontrados, la granulación en miel de plantaciones forestales de *Acacia mangium* tiene mejores características cuando se le añade mayores cantidades de inoculante (mayor a 5%) y es sometida a una rapidez de homogenización de 700 rpm. Los valores óptimos encontrados fueron 7,92% de semilla y 853,55 rpm.

Al evaluar el efecto de la cristalización inducida en la miel de *Acacia mangium* del Vichada con las condiciones óptimas se encuentra que las características organolépticas (visuales y texturales) si dependen en gran medida de la estructura (medida por la reología) y la morfología (analizada en la entalpía y micrografías) cristalina formada. Todos estos cambios son explicables desde el análisis micromorfológico donde al inicio se encontraban pocos cristales de pequeño tamaño y con el almacenamiento va aumentando tanto en número como en diámetro equivalente. Así se puede correlacionar la velocidad de nucleación debido a que la actividad de agua y la turbidez aumentan en el tiempo de almacenamiento en el que se incrementan el número de cristales, Además, estas variables alcanzan un valor casi constante después de 8 días de almacenamiento, cuando no existen diferencias significativas en el número de cristales formados de tamaño superior a 50 μm . Por otro lado, la velocidad de crecimiento de cristales se correlaciona con el aumento del comportamiento sólido (módulos de almacenamiento y pérdida) y por lo tanto con la firmeza y la consistencia. La viscosidad compleja aumenta con el tiempo, pero es estable con la variación de la frecuencia angular debido a que es un fluido newtoniano. La entalpía de fusión de los cristales aumentó en el tiempo y las temperaturas pico fueron relativamente constantes. De acuerdo a los resultados, la miel de Acacia inductivamente cristalizada con el tratamiento óptimo presentó condiciones sensoriales comparables a la miel usada como semilla y que le permitirían ser usadas en un canal de comercialización.

4.2 Recomendaciones

- Con base en los resultados anteriores se sugiere hacer estudios de aceptabilidad por parte de los consumidores, y realizar más estudios de evaluación de cristalización para mieles de otros orígenes geográficos y botánicos.
- Ampliar el aspecto del trabajo para evaluar la estructura interna del cristal (resonancia magnética nuclear, difracción de rayos X, entre otras), la estructura de la solución (estudios reológicos de tixotropía) e incluso aumentar el tiempo de almacenamiento para poder observar mejor en técnicas como el DSC la cinética completa.

Bibliografía

- Abou-Shaara, H., & Abd Elhamid, A. (2017). Scientific Note: Effects of Nuclei Type on Characteristics of Creamed Honey. *Journal of Apiculture*, 32(1), 59-62. doi:10.17519/apiculture.2017.04.32.1.17
- Abramovič, H., Jamnik, M., Burkan, L., & Kač, M. (noviembre de 2008). Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control*, 19(11), 1086 - 1090. doi:10.1016/j.foodcont.2007.11.008
- Abramovič, H., Jamnik, M., Burkan, L., & Kač, M. (2008). Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control*, 19(11).
- Agricultural Marketing Service. (5 de 1985). *United States Standards for Grades of Extracted Honey*. Recuperado el 20 de Septiembre de 2018, de https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/Extracted_Honey_Standard%5B1%5D.pdf
- Ahmed, J., Prabhu, S. T., Raghavan, G. S., & Ngadi, M. O. (Abril de 2007). Physico-chemical, rheological, calorimetric and dielectric behavior of selected Indian honey. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1207-1213. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.048
- Al-Habsi, N., Davis, F., & Niranjana, K. (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*, 78(6). doi:10.1111/1750-3841.12103
- Álvarez, M. D., Fernández, C., Olivares, M. D., Jiménez, M. J., & Canet, W. (Junio de 2013). Sensory and Texture Properties of Mashed Potato Incorporated with Inulin and Olive Oil Blends. *International Journal of Food Properties*, 16, 1839-1859. doi:10.1080/10942912.2011.610211
- Amariei, S., Norocel, L., & Agripina Scripcă, L. (Diciembre de 2020). An innovative method for preventing honey crystallization. *Innovative food science & emerging technologies*(66), 102481. doi:10.1016/j.ifset.2020.102481
- Amiry, S., Esmaili, M., & Alizadeh, M. (Junio de 2017). Classification of adulterated honeys by multivariate analysis. *Food Chemistry*, 224, Pages 390-397. doi:10.1016/j.foodchem.2016.12.025
- Assil, H. I., Sterling, R., & Sporns, P. (1991). Crystal Control In Processed Liquid Honey. *Journal of Food Science*, 56(4), 1034 - 1034. doi:10.1111/j.1365-2621.1991.tb14635.x
- Azemar, R., Nevers, V., Laurie, M., Poirot, B., & Le Bail, A. (9 de 2011). *Study of the perception of a liquid and translucent honey versus creamed honey in France*. Buenos Aires, Argentine: Apimondia. Obtenido de https://www.apinov.com/wp-content/uploads/2021/09/Study_of_the_perception_of_honey_in_France.pdf
- Bakier, S. (2006). Characteristics of water state in some chosen types of honey found in Poland. *Acta Agrophysica*, 7(1), 7-15. Recuperado el 19 de septiembre de 2020, de

- <http://www.acta-agrophysica.org/pdf-107839-38645?filename=Characteristics%20of%20water.pdf>
- Bakier, S. (2009). Capabilities of near-infrared spectroscopy to analyse changes in water bonding during honey crystallisation process. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(3), 519-524. doi:10.1111/j.1365-2621.2008.01837.x
- Berk, Z. (2009). Extraction. En Z. Berk, *Food Process Engineering and Technology* (2 ed.). San Diego, CA, USA: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-812018-7.09994-2
- Bhandari, B., & Bareyre, I. (2003). Estimation of crystalline phase present in the glucose crystal-solution mixture by water activity measurement. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 729-733. doi:10.1016/S0023-6438(03)00086-0
- Bhandari, B., & Hartel, R. (July de 2006). Co-crystallization of sucrose at high concentration in the presence of glucose and fructose. *Journal of Food Science*, 67(5), 1797-1802. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb08725.x
- Bhandari, B., D'Arcy, B., & Kelly, C. (1999). Rheology and crystallization kinetics of honey: Present status. *International Journal of Food Properties*, 2(3), 217-226. doi:https://doi.org/10.1080/10942919909524606
- Bhandari, B., Datta, N., D'Arcy, B., & Rintoul, G. (1998). Co-crystallization of honey with sucrose. *LWT - Food Science and Technology*, 31(2), 138-142. doi:https://doi.org/10.1111/jfpp.14876
- Bodganov, S. (20 de April de 2011). *Honey Technology*. (B. P. Science, Ed.) Obtenido de The Book of Honey: https://www.researchgate.net/publication/304011769_Honey_Technology
- Bodor, Z., Benedek, C., Urbin, Á., Szabó, D., & Sipos, L. (2021). Colour of honey: can we trust the Pfund scale? – An alternative graphical tool covering the whole visible spectra. *LWT*, 149, 111859. doi:10.1016/j.lwt.2021.111859
- Bodganov, S. (5 de mayo de 2011). *Honey composition*. Recuperado el 19 de diciembre de 2017, de The Honey Book: https://www.researchgate.net/publication/304011775_Honey_Composition
- Bonifácio Queiróz, M. (4 de 2010). *Estudo da cristalização de fondants formulados com xarope de glicose obtido da fecula de mandioca. Tese (doutorado)*. (O. T. Kieckbusch, Ed.) Campinas, São Paulo, Brasil: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química. doi:10.47749/T/UNICAMP.2010.769629
- Bourne, M. C. (1982). CHAPTER 1 - Texture, Viscosity, and Food. En M. C. Bourne, *Food Texture and Viscosity* (págs. 1 - 23). ACADEMIC PRESS, INC. doi:10.1016/B978-0-12-119060-6.50006-X
- Bund, R. K., & Hartel, R. W. (2010). Crystallization in foods and food quality deterioration. *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages*.
- Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura. (2021). *Cifras sectoriales - 2° trimestre año 2021*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Dirección de Cadenas Pecuarias, Pesqueras y Acuícolas. Bogotá: SIOC. Obtenido de <https://sioc.minagricultura.gov.co/Apicola/Documentos/2021-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- Calderone, N. (2002). Creamed Honey - Theory. *Dyce Laboratory for Honey Bee Studies, Cornell University*, 1-5. Obtenido de <https://www.bobsbeekeeping.com.au/image/bee-resources/Creamed-Honey.pdf>
- Castro Mercado, L. (2018). *Evaluación de la composición, calidad y generación de valor de miel de abejas originaria de zonas forestales en la altillanura del departamento de Vichada*. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

- Castro Mercado, L., Correa David, C., Murillo Rodas, M., Cabrera Flórez, E., Sinisterra Bravo, S., Requiniva Teran, E., & Castaño Salazar, R. (2017). Servicios tecnológicos para la apicultura “la única industria que conforme crece beneficia al medio ambiente”. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9).
- Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. Á., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100(4), 1728-1733. doi:10.1016/j.foodchem.2005.10.019
- Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. Á., Gómez-Alonso, E., Montes-Pérez, M. J., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2002). Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 78(2), 157-161. doi:10.1016/S0308-8146(01)00393-4
- Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. Á., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2004). Correlation between moisture and water activity of honeys harvested in different years. *Journal of Food Science*, 69(5), C368-C370. doi:10.1111/j.1365-2621.2004.tb10699.x
- Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Huidobro, J. F., Álvarez, C., & Sancho, M. T. (19 de 2 de 2009). Evolution of monosaccharides of honey over 3 years: Influence of induced granulation. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(3), 623-628. doi:10.1111/j.1365-2621.2008.01882.x
- Chen, Y., Lin, C., Wu, F., & Chen, H. (28 de July de 2009). Rheological properties of crystallized honey prepared by a new type of nuclei. *Journal of Food Process Engineering*, 32(4), 512-527. doi:10.1111/j.1745-4530.2007.00227.x
- Codex Alimentarius. (2019). Norma para la miel. 14(1), 37. Recuperado el 28 de Noviembre de 2019, de https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B12-1981%252FCXS_012s.pdf
- Cohen, I., & Weihs, D. (Septiembre de 2010). Rheology and microrheology of natural and reduced-calorie Israeli honeys as a model for high-viscosity Newtonian liquids. *Journal of Food Engineering*, 100(2), 366-371. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.023
- Conforti, P., Lupano, C., Malacalza, N., Arias, V., & Castells, C. (2006). Crystallization of honey at -20°C. *International Journal of Food Properties*, 9(1), 99-107. doi:10.1080/10942910500473962
- Consejo Económico Europeo. (20 de Diciembre de 2001). Directiva 2001/110/CEE del Consejo de 20 de diciembre de 2001 relativa a la miel. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas - DOUE, L10(DOUE-L-2002-80034)*, 47 - 52. Comunidades Europeas. Obtenido de <https://wipolex.wipo.int/es/text/236352>
- Cordella, C., Antinelli, J. F., Aurières, C., Faucon, J.-P., Cabrol-Bass, D., & Sbirrazzuoli, N. (2002). Use of differential scanning calorimetry (DSC) as a new technique for detection of adulteration in honeys. 1. Study of adulteration effect on honey thermal behavior. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 203-208. doi:10.1021/jf010752s
- Cordella, C., Faucon, J.-P., Cabrol-Bass, D., & Sbirrazzuoli, N. (January de 2003). Application of DSC as a tool for honey floral species characterization and adulteration detection. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 71(1), 275-286. doi:10.1023/A:1022251208688
- Costa, C., & Giulietti, M. (12 de 2010). *Introdução à cristalização: princípios e aplicações* (1ª edição ed.). São Carlos, Brasil: EdUFSCar. Obtenido de http://livresaber.sead.ufscar.br:8080/jspui/bitstream/123456789/2771/1/TS_Caliane_IntroCristalizacao.pdf

- Costa, L., Kaspchak, E., Queiroz, M., De Almeida, M., Quast, E., & Quast, L. (2015). Influência da temperatura e da homogeneização na cristalização de mel. *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(2), 155-161. doi:10.1590/1981-6723.7314
- Costa, P. A., Moraes, I. C., Bittante, A. M., Sobral, P. J., Gomide, C. A., & Carrer, C. C. (2013). Physical properties of honeys produced in the Northeast of Brazil. *International Journal of Food Studies*, 2(1), 118-125. doi:10.7455/ijfs/2.1.2013.a9
- Crane, E., & Kirk Visscher, P. (2009). Honey. En V. H. Resh, & R. T. Cardé, *Encyclopedia of Insects* (págs. 521-523). Amsterdam ; London: Elsevier/Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-374144-8.00130-2
- Da Silva, P., Gauche, C., Gonzaga, L., Costa, A., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.051
- Dettori, A., Tappi, S., Piana, L., Dalla Rosa, M., & Rocculi, P. (Septiembre de 2018). Kinetic of induced honey crystallization and related evolution of structural and physical properties. *LWT*, 95, 333-338. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.092
- Dobre, I., Georgescu, L., Alexe, P., Escuredo, O., & Seijo, M. (Noviembre de 2012). Rheological behavior of different honey types from Romania. *Food Research International*, 49(1), 126-132. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.009
- Doner, L. (May de 1977). The sugars of honey—A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(5), 443-456. doi:10.1002/jsfa.2740280508
- Dubinov, A., Kozhayeva, J., L'Vov, I., Sadovoy, S., Selemir, V., & Vyalykh, D. (18 de September de 2015). Rapid Crystallization of Natural Sugars in Bee's Honey under the Influence of Nanosecond Microdischarges. *Crystal Growth and Design*, 15(10), 4975–4978. doi:10.1021/acs.cgd.5b00889
- Dyce, E. J. (1935). *United States Patente nº US1987893A*. Obtenido de <https://patents.google.com/patent/US1987893A/en>
- Elhamid, A., & Abou-Shaara, H. (2016). Producing Clover and Cotton Creamed Honey under Cooling Conditions and Potential use as Feeding to Honey Bee Colonies. *Journal of Apiculture*, 31(1), 59-64. doi:10.17519/apiculture.2016.04.31.1.59
- Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M., & Seijo, M. (April de 2014). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry*, 149, 84-90. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.097
- Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M., Rojo-Martínez, S., & Seijo, M. (2019). Contribution to the chromatic characterization of unifloral honeys from Galicia (NW Spain). *Foods*, 8(7), 1-16. doi:10.3390/foods8070233
- Evans, M. (2015). *Solvation in Aqueous Solutions: microscopic models, chemical equations*. Recuperado el 1 de Diciembre de 2017, de Metallacycle: <https://www.metallacycle.com/chemistry/aqueous-solutions/solvation-models/>
- Faustino, C., & Pinheiro, L. (2021). Analytical rheology of honey: A state-of-the-art review. *Foods*, 10(8), 1 - 40. doi:10.3390/foods10081709
- Finola, M., Lasagno, M., & Marioli, J. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100(4), 1649-1653. doi:10.1016/j.foodchem.2005.12.046
- Flores Moya, E. (11 de 2013). *Análisis financiero y de mercado por el cambio de presentación de la miel cremada Zamorano de 300 g a 150 g en envases: vidrio, poliestireno y doy pack*. Escuela Agrícola Panamericana, Administración de Agronegocios. Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana. Obtenido de

- <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/7a736798-8066-44bb-bfb9-352e6d8ceaf5/content>
- Frigerio Tisi, C. (2010). *Elaboración de miel crema (Apis mellífera) mediante el método de cristalización inducida y evaluación de sus propiedades texturales (Memoria de pregrado)*. Santiago, Chile: Universidad de Chile, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Obtenido de https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/105332/qf-frigerio_ca.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Ghosh, M., Howard, M., Dussan, K., & Dooley, S. (2019). Mechanism and theory of d-glucopyranose homogeneous acid catalysis in the aqueous solution phase. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 21(32), 17993-18011. doi:10.1039/C8CP07224H
- Gleiter, R., Horn, H., & Isengard, H. (2006). *Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey* (Vol. 96). doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.051>
- Hartel, R. W. (2019). Chapter 15 - Crystallization in Foods. En A. S. Myerson, D. Erdemir, & A. Y. Lee (Edits.), *Handbook of Industrial Crystallization* (1 ed., págs. 460 - 478). Cambridge University Press. doi:<https://doi.org/10.1017/9781139026949.015>
- Hartel, R. W. (2019). Crystallization in Foods. En A. S. Myerson, D. Erdemir, A. Y. Lee, A. S. Myerson, D. Erdemir, & A. Y. Lee (Edits.), *Handbook of Industrial Crystallization* (1 ed., págs. 460 - 478). Cambridge University Press. doi:<https://doi.org/10.1017/9781139026949.015>
- Hartel, R., & Shastry, A. (1991). Sugar Crystallization in Food Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30(1), 49-112. doi:<https://doi.org/10.1080/10408399109527541>
- Huidobro-Canales, J. F., & Simal-Lozano, J. (Enero de 1984). Determinación del color y turbidez en mieles. *Anales de Bromatología*, 36(2), 225-245. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/235698285_Determinacion_del_color_y_turbidez_en_mieles
- Hurta, M., Pitkänen, I., & Knuutinen, J. (13 de Septiembre de 2004). Melting behaviour of D-sucrose, D-glucose and D-fructose. *Carbohydrate research*, 339(13), 2267-2273. doi:10.1016/j.carres.2004.06.022
- Husband, T. (Octubre/Noviembre de 2014). *La ciencia dulce de hacer caramelos*. (ChemMatters, Editor) Recuperado el 29 de septiembre de 2021, de American Chemical Society (ACS) - 2022: <https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/spanishtranslations/chemmatters-oct2014-candymaking-spanish-trans.pdf>
- ICONTEC. (12 de 2007). *Miel de Abejas*. Bogotá, Colombia: ICONTEC.
- Jose, A., & P, N. (2022). Development and Evaluation of Creamed honey added with glucose & seed crystal as nuclei. *The Pharma Innovation Journal*, 11(7), 917-923. Obtenido de <https://www.thepharmajournal.com/archives/2022/vol11issue7/PartL/11-7-22-972.pdf>
- Joseph, T., Julius, A., Florence A, F., Delphine, D., Jonnas, P., & Ze Antoine, M. (2007). Physico-chemical and microbiological characteristics of honey from the sudano-guinean zone of West Cameroon. *African Journal of Biotechnology*, 6(7), 908-913.
- Juan-Borrás, M., Domenech, E., Hellebrandova, M., & Escriche, I. (2014). Effect of country origin on physicochemical, sugar and volatile composition of acacia, sunflower and tilia honeys. *Food Research International*, 60, 86-94. doi:10.1016/j.foodres.2013.11.045
- Karasu, S., Toker, O., Yilmaz, M., Karaman, S., & Dertli, E. (Abril de 2015). Thermal loop test to determine structural changes and thermal stability of creamed honey: Rheological characterization. *Journal of Food Engineering*, 150, 90-98. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.10.004>

- Karki, B., Dhobi, S. H., & Dhobi, I. (22 de Diciembre de 2021). Optical properties of Transparent Liquid: Water, Oils, and Honey. *Journal of Materials and Environmental Science*, 12(12), 1524-1537. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/357269513_Optical_properties_of_Transparent_Liquid_Water_Oils_and_Honey
- Kędzierska-Matyssek, M., Florek, M., Wolanciuk, A., Skalecki, P., & Litwińczuk, A. (19 de Abril de 2016). Characterisation of viscosity, colour, 5-hydroxymethylfurfural content and diastase activity in raw rape honey (*Brassica napus*) at different temperatures. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 2092–2098. doi:10.1007/s13197-016-2194-z
- Khaleghi, A., Sadrameli, S., & Manteghian, M. (2020). Thermodynamic and kinetics investigation of homogeneous and heterogeneous nucleation. *Reviews in Inorganic Chemistry*, 40(4).
- Krell, R. (1996). *Value-added products from beekeeping* (Vol. 124). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Obtenido de <https://www.fao.org/3/w0076e/w0076e00.htm>
- Krishnan, R., Mohammed, T., Kumar, G. S., & Arunima, S. (2021). Honey crystallization: Mechanism, evaluation and application. *The Pharma Innovation Journal*, 10(5), 222-231. doi:10.22271/tpi.2021.v10.i5Sd.6213
- Krishnan, R., Mohammed, T., Kumar, G. S., & SH, A. (2021). Honey crystallization: Mechanism, evaluation and application. *The Pharma Innovation Journal*, 10(5S), 222-231. doi:10.22271/tpi.2021.v10.i5Sd.6213
- Kuroishi, A., Queiroz, M., Almeida, M., & Quast, L. (2012). Avaliação da cristalização de mel utilizando parâmetros de cor e atividade de água. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(1), 84-91. doi:10.1590/s1981-67232012000100009
- Laos, K., Kirs, E., Pall, R., & Martverk, K. (2011). The crystallization behaviour of Estonian honeys. *Agronomy Research*, 9(SPPL. ISS. 2).
- Li, Y., & Yang, H. (2012). Honey Discrimination Using Visible and Near-Infrared Spectroscopy. (F. R, G. J, & G. H. C., Edits.) *ISRN Spectroscopy*, 2012(487040), 4. doi:10.5402/2012/487040
- Lupano, C. (1997). DSC study of honey granulation stored at various temperatures. *Food Research International*, 30(9), 683-688. doi:10.1016/S0963-9969(98)00030-1
- Ma, Y., Zhang, B., Li, H., Li, Y., Hu, J., Li, J., . . . Deng, Z. (2017). Chemical and molecular dynamics analysis of crystallization properties of honey. *International Journal of Food Properties*, 20(3), 725-733. doi:10.1080/10942912.2016.1178282
- Manikis, I., & Thrasivoulou, A. (2001). The relation of physicochemical characteristics of honey and the crystallization sensitive parameters. *Apiacta*, 36(2).
- Materials Desing, Inc. (2009). *Crystal Structure of Glucose: Placing Hydrogen Atoms by Computations*. Recuperado el 26 de Abril de 2018, de Crystal structure of α -glucose: <http://my.materialsdesign.com/appnote/crystal-structure-glucose-placing-hydrogen-atoms-computations>
- Mathlouthi, M., Benmessaoud, G., & Rogé, B. (2012). Role of water in the polymorphic transitions of small carbohydrates. *Food Chemistry*, 132(4), 1630-1637. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.103
- Maulny, A. P., Beckett, S. T., & Mackenzie, G. (May de 2005). Physical properties of co-crystalline sugar and honey. *Journal of Food Science*, 70(9), E567-E572. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb08320.x
- Meixner, M., Weber, M., Lella, S., Rozhon, W., Dasbach, & Margot. (2023). Influence of Stirring Parameters on Creaminess of Spring Blossom Honey Measured by Crystal Size, Whiteness Index and Mouthfeel. *Foods*, 12(48), 1 - 11. doi:10.3390/foods12010048

- Moreno, E. (2010). *Determinación de la solubilidad de mezclas de glucosa, fructosa y maltodextrina [Tesis para optar al título de ingeniera química]*. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander.
- Naik, R., Gandhi, N., Thakur, M., & Nanda, V. (15 de julio de 2019). Analysis of crystallization phenomenon in Indian honey using molecular dynamics simulations and artificial neural network. (E. Ltd., Ed.) *Food Chemistry*(300), 1 - 8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125182>
- Nayik, G., Dar, B., & Nanda, V. (2019). Physico-chemical, rheological and sugar profile of different unifloral honeys from Kashmir valley of India. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8).
- Negueruela, A. I., & Perez-Arquillue, C. (Mayo de 2000). Color Measurement of Rosemary Honey in the Solid State by Reflectance Spectroscopy with Black Background. *Journal of AOAC International*, 83(3), 669-674. doi:10.1093/jaoac/83.3.669
- Nurul Zaizuliana, R., Anis Mastura, A., Abd Jamil, Z., Norshazila, S., & Zarinah, Z. (2017). Effect of storage conditions on the crystallisation behaviour of selected Malaysian honeys. *International Food Research Journal*, 24, S475-S480. Obtenido de [http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20\(07\)%202017%20supplementary/\(35\)%20R1.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(07)%202017%20supplementary/(35)%20R1.pdf)
- Odian, G. (2004). *Principles of Polymerization*.
- Oroian, M. (2015). Influence of temperature, frequency and moisture content on honey viscoelastic parameters - Neural networks and adaptive neuro-fuzzy inference system prediction. *LWT*, 63(2), 1309-1316. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.051>
- Özcan, M., & Ölmez, Ç. (2014). Some qualitative properties of different monofloral honeys. *Food Chemistry*, 163, 212–218. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.072>
- Paniagua Niño, Á. (7 de 2011). *Evaluación sensorial de un subproducto apícola denominado crema-miel*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Licenciatura en Veterinaria. Ciudad de Guatemala, Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Obtenido de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/2934/>
- Parada Silva, J. (2003). *Desarrollo de una mezcla de "miel crema" de abeja (Apis mellifera) con avellana chilena (Gevuina avellana Mol) para consumo humano*. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería de Alimentos. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fap222d/pdf/fap222d.pdf>
- Penfield, M., & Campbell, A. M. (1990). Crystallization. En M. P. Penfield, & A. M. Campbell, *Experimental Food Science* (3 ed., págs. 494-503). Academic Press - Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-157920-3.50028-4
- Peres, A., & Macedo, E. (1997). A modified UNIFAC model for the calculation of thermodynamic properties of aqueous and non-aqueous solutions containing sugars. *Fluid Phase Equilibria*, 139(1-2), 47-74. doi:10.1016/S0378-3812(97)00196-9
- Piotraszewska-Pająk, A., & Gliszczyńska-Świągło, A. (2015). Directions of colour changes of nectar honeys depending on honey type and storage conditions. *Journal of Apicultural Science*, 59(2). doi:10.1515/jas-2015-0019
- Poirot, B., Azémar, R., & Nevers, V. (9 de 2011). *Study of crystal melting kinetics of honey during low heating conditions*. Buenos Aires, Argentina. Obtenido de https://www.apinov.com/wp-content/uploads/2021/09/Study_of_crystal_melting_kinetics_on_honey_during_low_heating_conditions.pdf

- Putra, R. (18 de Enero de 1977). *United States Patente nº US4004040A*. Obtenido de <https://patents.google.com/patent/US4004040A/en>
- Sánchez, O., Castañeda, P., Muños, G., & Tellez, G. (2013). Aportes para el análisis del sector Apícola Colombiano. *CienciAgro*, 2(4), 469-483. Obtenido de http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-14042013000100005&lng=es&nrm=iso
- Sereti, Vasileia; Lazaridou, Athina; Tananaki, Chrysoula; Biliaderis, Costas G. (2021). Development of a Cotton Honey-Based Spread by Controlling Compositional and Processing Parameters. *Food Biophysics*, 16(3), 365–380. doi:<https://doi.org/10.1007/s11483-021-09677-9>
- Shinn, J., & Wang, S. (1990). Textural Analysis of Crystallized Honey Using Response Surface Methodology. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 23(4-5), 178-182. doi:[10.1016/s0315-5463\(90\)70238-6](https://doi.org/10.1016/s0315-5463(90)70238-6)
- Silva, A. (2010). *Estudo da cristalização da frutose em diferentes meios*. Sao Carlos, Brasil. Obtenido de <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/4042?show=full>
- Silvano, M., Varela, M., Palacio, M., Ruffinengo, S., & Yamul, D. (2014). Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. *Food Chemistry*, 152, 500–507. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.011](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.011)
- Snider, E. J. (1931). *Estados Unidos Patente nº US1908454A*. Recuperado el 20 de Octubre de 2020, de <https://patents.google.com/patent/US1908454A/en>
- Sopade, P., Halley, P., D'Arcy, B., Bhandari, B., & Caffin, N. (2004). Dynamic and steady-state rheology of Australian honeys at subzero temperatures. *Journal of Food Process Engineering*, 27(4), 284-309. doi:[10.1111/j.1745-4530.2004.00468.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2004.00468.x)
- Soria, A., González, M., C. d., Martínez-Castro, I., & Sanz, J. (2004). Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. *Food Chemistry*, 85, 121–130. doi:[10.1016/j.foodchem.2003.06.012](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.012)
- Srinual, K., & Intipunya, P. (2009). Effects of crystallization and processing on sensory and physicochemical qualities of Thai sunflower honey. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(4), 749 - 754. Obtenido de <https://www.semanticscholar.org/paper/Effects-of-crystallization-and-processing-on-and-of-Srinual-Intipunya/476f74e1817a08859fa4b64fbeb3d03c05413cc>
- Srisa-nga, S. (2005). *The effect of the mutarotation reaction on the crystallization of glucose monohydrate*. Nakhon Ratchasima, Tailandia: Suranaree University of Technology. Recuperado el 20 de abril de 2022, de <https://core.ac.uk/download/pdf/70931166.pdf>
- Stable Micro Systems. (12 de Febrero de 2015). *Texture Analysis Professionals Blog*. Obtenido de [Texture Analysis in action: the Back Extrusion Rig: https://textureanalysisprofessionals.blogspot.com/2015/02/texture-analysis-in-action-back.html](https://textureanalysisprofessionals.blogspot.com/2015/02/texture-analysis-in-action-back.html)
- Stasiak, D., & Dolatowski, Z. (2007). Effect of sonication on the crystallization of honeys. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 57(3), 133-136. Obtenido de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.891.9823&rep=rep1&type=pdf>
- Sterling, R. E. (1 de 1991). *United States Patente nº US4986855A*. Obtenido de <https://patentimages.storage.googleapis.com/9a/79/47/c8a8f00dd743d4/US4986855.pdf>
- Subbiah, B., Blank, U., & Morison, K. (2020). A review, analysis and extension of water activity data of sugars and model honey solutions. *Food Chemistry*, 326, 126981. doi:[10.1016/j.foodchem.2020.126981](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126981)

- Suriwong, V., Jaturonglumert, S., Varith, J., Narkprasom, K., & Nitatwichit, C. (Agosto de 2020). Crystallisation behaviour of sunflower and longan honey with glucose addition by absorbance measurement. *International Food Research Journal*, 27(4), 717-734. Obtenido de [http://www.ifrj.upm.edu.my/27%20\(04\)%202020/DONE%20-%2015%20-%20IFRJ20115.R2.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/27%20(04)%202020/DONE%20-%2015%20-%20IFRJ20115.R2.pdf)
- Szabó, R., Mézes, M., Szalai, T., Zajác, E., & Weber, M. (2016). Colour identification of honey and methodical development of its instrumental measuring. *Columella : Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 3(1), 29-36. doi:10.18380/SZIE.COLUM.2016.3.1.29
- Tan, P. (2004). *Palatable Creamed Honey*. Queensland, Australia: University of Queensland, Department of Chemical Engineering.
- Tappi, S., Glicerina, V., Ragni, L., Dettori, A., Romani, S., & Rocculi, P. (marzo de 2021). Physical and structural properties of honey crystallized by static and dynamic processes. *Journal of Food Engineering*, 292, 110316. doi:10.1016/j.jfoodeng.2020.110316
- Tappi, S., Laghi, L., Dettori, A., Piana, L., Ragni, L., & Rocculi, P. (1 de octubre de 2019). Investigation of water state during induced crystallization of honey. *Food Chemistry*, 294, 260-266. doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.047
- Thrasylvoulou, A., Manikis, J., & Tselios, D. (January de 1994). Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves. *Apidologie*, 25(3), 297-302. doi:10.1051/apido:19940304
- Tomaszewska-Gras, J., Bakier, S., Goderska, K., & Mansfeld, K. (2015). Differential scanning calorimetry for determining the thermodynamic properties of selected honeys. *Journal of Apicultural Science*, 59(1), 109–118. doi:10.1515/jas-2015-0012
- Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E., & Lucero, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77(1), 71-74. doi:10.1016/S0308-8146(01)00325-9
- Tosi, E., Ré, E., Lucero, H., & Bulacio, L. (2004). Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT - Food Science and Technology*, 37(6), 669-678. doi:10.1016/j.lwt.2004.02.005
- Tosi, E., Ré, E., Lucero, H., & Bulacio, L. (2004). Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. (E. Ltd., Ed.) *LWT - Food Science and Technology*, 37(6), 669-678. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.02.005
- Umesh Hebbar, H., Rastogi, N., & Subramanian, R. (2008). Properties of Dried and Intermediate Moisture Honey Products: A Review. *International Journal of Food Properties*, 11(4), 804-819. doi:https://doi.org/10.1080/10942910701624736
- USDA. (1985). United States Standards for Grades of Extracted Honey. (U. S.-D. Branch, Ed.) *Federal register*, 50FR15861(5), 14. Obtenido de [https://books.google.com.pk/books?hl=en&lr=&id=O1zhx2OWftQC&oi=fnd&pg=PA287&dq=Kader,+A.+A.+\(2002\).+US+GRADE+STANDARDS.+Postharvest+technology+of+horticul+ural+crops,+3311,+287.&ots=4hy390DpGL&sig=WBSdjl7j2K8ddPYH2rgxhXCWNEI](https://books.google.com.pk/books?hl=en&lr=&id=O1zhx2OWftQC&oi=fnd&pg=PA287&dq=Kader,+A.+A.+(2002).+US+GRADE+STANDARDS.+Postharvest+technology+of+horticul+ural+crops,+3311,+287.&ots=4hy390DpGL&sig=WBSdjl7j2K8ddPYH2rgxhXCWNEI)
- Uwaha, M. (2015). Growth Kinetics: Basics of Crystal Growth Mechanisms. *Handbook of Crystal Growth: Second Edition*, 1.
- Vargas Abella, J. (2016). *Canales y márgenes de comercialización de los productos apícolas en la Provincia Centro (Departamento de Boyacá)*. Bogotá, Colombia: Trabajo de grado - Maestría. Obtenido de <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/51076?show=full>
- Venir, E., Spaziani, M., & Maltini, E. (2010). Crystallization in "Tarassaco" Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*, 122(2), 410-415. doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.012

- White Jr, J. (1975). Honey: A Comprehensive Survey. En E. Crane, Crane, & Russak (Edits.). Heinemann [for] the Bee Research Association.
- Wright, S. L., Wright, S. L., Holliday, D. L., & Venable, K. L. (2 de 2007). *United States Patente nº US20090047388A1*. Obtenido de <https://patents.google.com/patent/US20090047388A1/en>
- Yao, L., Bhandari, B., Datta, N., Singanusong, R., & D'Arcy, B. (2003). Crystallisation and moisture sorption properties of selected Australian unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(9), 884-888. doi:10.1002/jsfa.1421
- Zamora, M., & Chirife, J. (January de 2006). Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina. *Food Control*, 17(1), 59-64. doi:10.1016/j.foodcont.2004.09.003
- Zamora, M., Chirife, J., & Roldán, D. (August de 2006). On the nature of the relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control*, 17(8), 642-647. doi:10.1016/j.foodcont.2005.04.002