

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA

TESIS

“Estudio de las propiedades físicas y químicas, actividad antioxidante y antimicrobiana de la miel líquida y microencapsulada de *Scaptotrigona pectoralis*”

PARA OPTAR AL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

LN. KARLA ALEJANDRA LEYVA MOGUEL

ASESOR:

DR. LUIS FERNANDO CUEVAS GLORY

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

22 DE FEBRERO DEL 2017



DEPENDENCIA: DIV. DE EST. DE POSG. E INV.
No. DE OFICIO: X-051/2017

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

MÉRIDA, YUCATÁN A 01 DE FEBRERO DE 2017

C. KARLA ALEJANDRA LEYVA MOGUEL
PASANTE DE MAESTRIA EN CIENCIAS DE LOS
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

De acuerdo al fallo emitido por su asesor el Dr. Luis Fernando Cuevas Glory, y la comisión revisora integrada por la Dra. Elizabeth de la Luz Ortiz Vázquez, el Dr. Enrique Sauri Duch, y la Dra. Odri Marina Sosa Moguel, considerando que cubre los requisitos establecidos en el Reglamento de Titulación de los Institutos Tecnológicos le autorizamos la impresión de su trabajo profesional con la TESIS:

"ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE LA MIEL LÍQUIDA Y MICROENCAPSULADA DE *Scaptotrigona pectoralis*"

ATENTAMENTE
IN HOC SIGNO VINCES


DR. DANIEL ARCÁNGEL LÓPEZ SAURI
ENCARGADO DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.p. Archivo
DAIS/fjaa.



S. E. P.
INSTITUTO TECNOLÓGICO
DE MÉRIDA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Dedicatoria

A Dios por siempre dirigir cada paso que doy y por las oportunidades que me ha brindado.

A mis padres Sergio y Lizbeth por su apoyo incondicional, por haberme ofrecido la oportunidad de realizarme como persona. No hay palabras para agradecerles por creer en mi y por tanta comprensión y amor para salir adelante. Los amo.

A mi hermano Daniel por siempre estar a mi lado.

A Rodrigo por siempre ayudarme en cada momento, por su paciencia y amor.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento para el desarrollo de este trabajo.

Al Instituto Tecnológico de Mérida (ITM) a la División de Estudios de Posgrado por la preparación académica a lo largo de la maestría.

A los laboratorios de fermentación y de instrumentación analítica por permitirme trabajar en sus instalaciones para el desarrollo de este trabajo.

A mi director de tesis Dr. Luis Cuevas Glory por permitirme trabajar bajo su dirección y por brindarme su apoyo incondicional.

A la Dra. Elizabeth Ortiz y al Dr. Enrique Sauri por el apoyo brindado y sus conocimientos.

Agradezco de manera especial a la Dra. Odri Marina Sosa Moguel por su paciencia, por su apoyo incondicional, por compartir sus conocimientos y tiempo. Sobre todo por su confianza y amistad.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Abejas sin aguijón	2
2.2 Generalidades de la miel	4
2.2.1 Composición química de la miel	5
2.2.2 Propiedades y usos de la miel.....	6
2.2.3 Compuestos biológicos de la miel	7
2.3 Microencapsulación	8
2.3.1 Métodos de microencapsulación	9
2.3.2 Agentes utilizados para la microencapsulación.....	10
2.3.2.1 Maltodextrinas	11
2.3.2.2 Goma arábica.....	11
2.4 Método de aspersión.....	11
2.4.1 Aplicación del método de secado por aspersión en la miel.....	13
2.5 Propiedades antioxidantes.....	13
2.5.1 Actividad antioxidante de los alimentos.....	15
2.6 Antimicrobiano	16
2.6.1 Métodos para la evaluación antimicrobiana	17
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. OBJETIVOS	20
4.1 Objetivo general.....	20
4.2 Objetivos específicos	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS	21

5.1 Obtención de la materia prima	21
5.2 Estrategia experimental	21
5.3 Análisis físicos y químicos de la miel	22
5.3.1 Color	22
5.3.2 Color CIE Lab	22
5.3.3 Humedad	22
5.3.4 pH	22
5.3.5 Acidez	23
5.3.6 Cenizas	23
5.3.7 HMF	23
5.3.8 Invertasa	24
5.3.9 Azúcares reductores	24
5.3.10 Fracción volátil	24
5.4 Actividad antioxidante de la miel	25
5.4.1 Método de ABTS ^{**}	25
5.4.2 Método de DPPH [*]	26
5.5 Actividad antimicrobiana	26
5.6 Método de secado por aspersion	28
5.7 Análisis del microencapsulado	28
5.7.1 Color	28
5.7.2 Humedad	29
5.7.3 HMF	29
5.7.4 Invertasa	29
5.7.5 Higroscopicidad	29

5.7.6 Solubilidad	29
5.7.7 Densidad aparente	29
5.7.8 Composición de la Fracción volátil	30
5.8 Actividad antioxidante del microencapsulado de miel.....	30
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
6.1 Evaluación de composición de la miel	31
6.1.1 Análisis fisicoquímicos	31
6.1.2 Análisis de la fracción volátil.....	34
6.1.3 Actividad antioxidante.....	37
6.1.4 Actividad antimicrobiana.....	38
6.2 Estudio del microencapsulado	41
6.2.1 Composición de la fracción volátil del microencapsulado de miel de <i>S. pectoralis</i>	44
6.2.2 Actividad antioxidante del microencapsulado de miel <i>S. pectoralis</i>	47
7. CONCLUSIONES.....	48
8. REFERENCIAS	49

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Denominación de las especies de abejas nativas de la Península de Yucatán	3
Tabla 2. Estándares sugeridos para mieles de abeja sin aguijón	6
Tabla 3. Clasificación y características de algunos métodos de encapsulación	9
Tabla 4. Materiales de encapsulación	10
Tabla 5. Clasificación de antioxidantes según su origen	14
Tabla 6. Principales grupos con actividad antimicrobiana	16
Tabla 7. Metodologías para evaluar la actividad antibacteriana	17
Tabla 8. Cepas bacterianas usadas para evaluar la actividad antimicrobiana	27
Tabla 9. Características físicas y químicas de la miel de <i>S. pectoralis</i>	32
Tabla 10. Compuestos volátiles identificados para la miel <i>S. pectoralis</i> por HS-SPME/CG-EM	35
Tabla 11. Características del producto microencapsulado de miel de <i>S. Pectoralis</i> ..	42
Tabla 12. Compuestos volátiles identificados para el microencapsulado de la miel <i>S. pectoralis</i> por HS-SPME/CG-EM	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Scaptotrigona pectoralis</i> (Leyva, 2015).....	4
Figura 2. Estructura general de la microcápsula.....	8
Figura 3. Estrategia experimental del trabajo de investigación.....	21
Figura 4. Equipo secador por aspersión modelo LabPlant SD-05	28
Figura 5. Cromatograma y distribución proporcional de los distintos grupos de compuestos volátiles extraídos por HS-SPME.	34
Figura 6. Actividad antimicrobiana de miel <i>S. pectoralis</i> contra bacterias Gram positivas a) <i>S. aureus</i> y b) <i>E. faecalis</i>	39
Figura 7. Halos de inhibición que demuestran la actividad antimicrobiana de miel <i>S. pectoralis</i> contra bacterias Gram negativas a) <i>V. cholerae</i> , b) <i>P. aeruginosa</i> y c) <i>E. coli</i>	40
Figura 8. Microencapsulado de miel <i>S. pectoralis</i>	41
Figura 9. Cromatograma y distribución proporcional de los distintos grupos de compuestos volátiles del micrencapsulado de miel <i>S. pectoralis</i> extraídos por HS-SPME/CG-EM.46	

RESUMEN

A fin de conocer las características de la miel de *Scaptotrigona pectoralis* de la península de Yucatán y ampliar su intervalo de aplicación, se realizó el análisis físicoquímico de la miel líquida, su encapsulación así como pruebas para determinar su actividad biológica. Esta miel presenta un color ambár (84.33 en la escala mm Pfun), con valores $L = 33.14$, $a^* = 4.91$, $b^* = 13.24$ que establecen a esta como miel oscura. Las propiedades físicoquímicas fueron las siguientes: humedad de 24%, pH de 3.60, acidez de 115.03 meq/kg, contenido de ceniza de 0.25 %, contenido de HMF de 75.88 mg/kg, contenido de invertasa de 21.37 IN y contenido de azúcares reductores de 37.38 %. La fracción volátil de la miel esta constituida por 26 compuestos, de los cuales se destacaron como mayoritarios el ácido acético, etanol, octadecanol y p-anisaldehído. La actividad antioxidante para ABTS^{•+} se ubicó en un rango bajo con 36 ± 1.73 $\mu\text{moles ET}/100\text{g}$ y para DPPH[•] 3.5 ± 0.2887 $\mu\text{moles ET}/100\text{g}$. Se detectó mayor actividad antimicrobiana en las bacterias *S. aureus* (gram positiva) y *V. Cholerae* (gram negativa). Para el producto microencapsulado se obtuvo una medición de color $L = 92.64$, $a^* = 0.24$, $b^* = 7.65$, clasificándolo como un polvo claro, invertasa 7.40 IN, higroscopicidad 21.01 g/100g, solubilidad 264 s y densidad 0.33 g/mL. La composición de la fracción volátil del microencapsulado se mantuvo intacta a excepción de la formación de los compuestos geranilacetona y ácido dodecanoico.

La actividad antioxidante para ABTS^{•+} del polvo reconstituido fue mayor (50 ± 1.03 $\mu\text{mol ET}/100$ g) que en miel líquida.

1. INTRODUCCIÓN

Los meliponini son abejas sin aguijón que han sido cultivadas por los mayas para la obtención de miel y cera, su uso esta destinado primordialmente para la nutrición, curación, comercio y religión. Estos insectos habitan en regiones cálidas, tropicales o subtropicales de todo el mundo, en México existen aproximadamente 46 especies de estas abejas (Ayala, 1999; Quezada, 2005).

En Yucatán aproximadamente se han identificado 16 especies de abejas sin aguijón que pertenecen a la familia *Meliponini* (*Melipona* y *Trigona*) (López *et al.*, 2011). Estas abejas son de menor tamaño que la abeja común y su característica más sobresaliente es como su nombre lo indica la de no poseer aguijón. La miel de melipona ha sido usada desde tiempos prehispánicos, en la medicinal tradicional como agente terapéutico para la curación de heridas, quemaduras, úlceras e inflamaciones, además ha demostrado que posee propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Pichihero *et al.*, 2009). En la actualidad la miel se ha reconocido como un producto que posee propiedades curativas, lo cual a llevado a que se realicen ensayos para comprobar la acción antioxidante y antimicrobiana de la miel de meliponinos (Fallas *et al.*, 2013) donde su bioactividad ha sido atribuida principalmente a la acción de flavonoides naturales, compuestos fenólicos (flavonoides, quercetina, kaempferol, galangina, pinobanksina, pinocembrina, ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos), así como vitaminas (ácido ascórbico, carotenoides, tocoferol) y la catalasa (Rodríguez *et al.*, 2007; Vit *et al.*, 2008).

El secado por aspersion es una técnica para producir materiales alimentarios encapsulados cuya finalidad es mejorar su conservación, transportación, manipulación y alargar su vida útil (Goula *et al.*, 2004; Sáenz *et al.*, 2009). Sin embargo, en los últimos años esta técnica ha sido empleada para la conservación de compuestos bioactivos sensibles a la luz, oxígeno y degradación de radicales libres, tales como antocianinas, ácido gálico, ácidos fenolicos, taninos, flavonoides (quercetina), betalainas y polifenoles (Einbond *et al.*, 2004; Desai *et al.*, 2005; Reynertson *et al.*, 2006, 2008)

2. ANTECEDENTES

2.1 Abejas sin aguijón

Existen aproximadamente 20 000 especies de abejas en el mundo, agrupadas en 7 familias taxonómicas: *Mellitidae*, *Colletidae*, *Andrenidae*, *Halictidae*, *Megachilidae*, *Apidae* y *Stenotritidae*. Las diversas especies varían en tamaño, forma y estilo de vida, la característica común a todas ellas en su dependencia de las flores para el abastecimiento de energía (néctar) y proteína (polen) (González *et al.*, 2007; Michener 2000).

Las abejas se clasifican dentro del orden Hymenoptera y en dos grandes grupos, la tribu Apini, del género *Apis* y la tribu Meliponini del género *Melipona* y *Trigona* las cuales son abejas sin aguijón (Aguilar *et al.*, 1998). En la actualidad se conocen alrededor de 400 especies de abejas sin aguijón, en América tropical se calcula la existencia de 300 especies de abejas sin aguijón, 50 en África, 60 en Asia y 10 especies en Australia (Biesmeijer, 1997; Quezada, 2005). En México, González (2012) (Tabla 1). Las abejas sin aguijón o meliponas son un grupo de insectos sociales que habitan áreas tropicales y subtropicales (Enríquez, *et al.*, 2004; Baquero, *et al.*, 2007). Las abejas que se incluyen en este grupo pertenecen a la familia Apidae dentro de la subfamilia Apinae, se caracteriza por tener palpos maxilares vestigiales, área genal ancha, corbículas en las patas traseras, no poseen placa pigdial y son eusociales (Michener, 2000).

Tabla 1. Denominación de las especies de abejas nativas de la Península de Yucatán

Especie	Nombre maya
<i>M. beecheii</i> Bennett	Xunaan-Kab, Colel-Kab y Pool-Kab
<i>M. yucatanica</i>	Tsets
<i>Cephalotrigona zexmeniae</i>	Tajkab, Ejool
<i>Lestrimelitta niitkib</i>	Niitkib, Limón kab
<i>Partamona bilineata</i>	Chooch, Xnuk
<i>Scaptotrigona pectoralis</i>	Kantsak
<i>Nannotrigona perilampoides</i>	Mehenbol, Bol
<i>Trigona (Frieseomelitta) nigra nigra</i>	Sak Xik, Xic
<i>T. (Trigona) fulviventris</i>	Muul Kab
<i>T. (Trigona) fuscipennis</i>	Kuris-Kab
<i>T. (Trigona) corvina</i>	Kuris kab
<i>Plebeia (Plebeia) frontalis</i>	Us kab, Yaaxich
<i>P. (Plebeia) moureana</i>	Us kab, Yaaxich
<i>P. (Plebeia) parkeri</i>	Us kab, Yaaxich
<i>P. (Plebeia) pulchra</i>	Us kab, Yaaxich
<i>T. (Trigonisca) maya</i>	Puup, Chachem
<i>T. (Trigonisca) pipioli</i>	Puup, Chachem

(González, 2012)

El género *Scaptotrigona* (Figura 1) cuenta con aproximadamente 24 especies (González *et al.*, 1998), de las cuales, en México, se han identificado algunas de ellas, tales como *Scaptotrigona mexicana*, *Scaptotrigona pectoralis* y *Scaptotrigona hellwegeri* (Ayala, 1999). Las colmenas de *S. pectoralis* poseen mayor número de individuos por colmena y son más adaptables al medio en comparación con *Melipona beecheii*, además poseen la capacidad de producción de miel de buen sabor, por lo que se ha propuesto su implementación en la meliponicultura (González *et al.*, 1998; Enríquez *et al.*, 2004). De la biología de estas especies de abejas se tiene muy poca información.

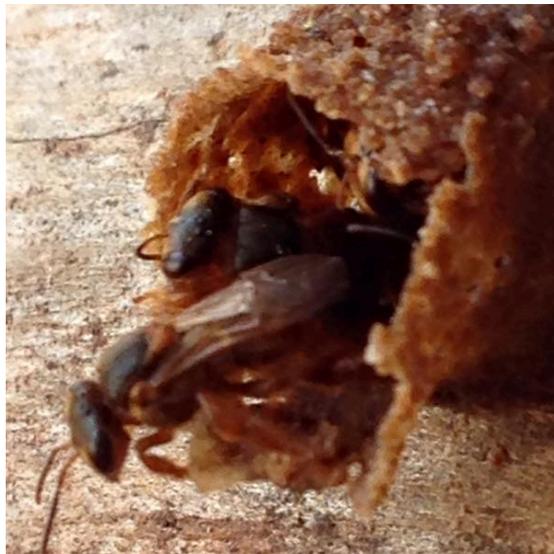


Figura 1. *Scaptotrigona pectoralis* (Leyva, 2015).

2.2 Generalidades de la miel

La miel es una de las fuentes más ricas de energía en la naturaleza, las abejas recolectan el néctar de las flores o de su savia, es una mezcla de agua y azúcares (Echazarreta, 2011).

La miel de las meliponas difieren a la miel de *A. mellifera*, en sabor, consistencia y tradicionalmente se le han atribuido propiedades curativas, también difiere en su composición fisicoquímica, ya que estas contienen un elevado contenido de humedad, acidez y baja actividad de diastasa (Tabla 2) (Vit, 2009). Debido a esto se conocen

diversos tipos de miel (*A. mellifera*, *M. beecheii* y *M. solani*), cuya composición química viene determinada por la flor utilizada como fuente de néctar, el tipo de abeja que la produjo y el contenido de los recursos minerales del suelo (Gutiérrez *et al.*, 2008; Vit, 2009; Lavandera, 2011).

2.2.1 Composición química de la miel

La miel es una enorme fuente de energía pues contiene casi 70 % de azúcares simples perfectamente asimilables: fructosa, glucosa, sacarosa y en menor cantidad una mezcla de otros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos orgánicos, vitaminas, hormonas, minerales, sustancias aromáticas, compuestos fenólicos, pigmentos, cera y residuos de polen (González *et al.*, 1998; Gutiérrez *et al.*, 2008; Lavandera, 2011).

La miel contiene todas las vitaminas que los bromatólogos o expertos en nutrición consideran necesarias para la salud: las del grupo B, tiamina, niacina, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina y biotina, además de ácido ascórbico, así como todos los minerales que son esenciales para hombre: hierro, fósforo, aluminio y magnesio. Además, a diferencia de las frutas y verduras, que pierden parte de su contenido vitamínico durante la cosecha, almacenaje y preparación, la miel a menos que se caliente no pierde nunca sus vitaminas (Lavandera, 2011).

La composición química de la miel depende principalmente de las fuentes vegetales de las cuales se deriva, pero también de la influencia de factores externos, como el clima, el manejo de extracción y almacenamiento (Crane, 1990).

La definición de miel, así como los métodos oficiales para su control de calidad se encuentran restringidos para mieles de *A. mellifera* según el Codex Alimentario (Codex stan 12-1981). Los estándares de la miel han sido modificados de acuerdo a su origen botánico pero no de acuerdo al origen de la especie. Por tanto, en la actualidad no existe una norma oficial que incluya los parámetros de calidad para mieles de abeja sin aguijón. Esfuerzos exhaustivos han sido realizados por Vit (2004) quien recopiló la información del análisis de mieles de abeja sin aguijón provenientes de 18 países y poder sugerir ciertos estandartes para estas mieles (Tabla 2).

Tabla 2. Estándares sugeridos para mieles de abeja sin aguijón

Componente	<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona</i>	<i>Scaptotrigona</i>	<i>Trigona</i>
Agua (%)	Max 20.0	Max 30.0	Max 30.0	Max 30.0
Azúcares reductores (%)	Min 65.0	Min 50.0	Min 50.0	Min 50.0
Acidez (meq/kg)	Max 40.0	Max 70.0	Max 85.0	Max 75.0
Ceniza (%)	Max 0.5	Max 0.5	Max 0.5	Max 0.5
HMF (mg/kg)	Max 40.0	Max 40.0	Max 40.0	Max 40.0

(Vit *et al.*, 2004)

2.2.2 Propiedades y usos de la miel

Los antiguos egipcios usaban la miel para conservar los cadáveres y sin saberlo pusieron de manifiesto el poder antiséptico de esta materia altamente azucarada. Asimismo, utilizaban la miel como antibiótico y como ungüento sobre las llagas o heridas, pues se percataron de que aseguraba una cicatrización rápida y esta propiedad, descubierta empíricamente, pone igualmente de manifiesto la actividad antimicrobiana y regeneradora de la miel (Ruano *et al.*, 2007; Lavandera, 2011).

La miel es un alimento con importantes cualidades nutricionales, puede utilizarse como agente terapéutico frente a infecciones, trastornos gastrointestinales, el insomnio, agente antimicrobiano, aumenta el contenido en hemoglobina de la sangre y el vigor muscular, retención de calcio; activa la osificación y la salida de los dientes y su uso tópico ayuda a sanar quemaduras (Al-Mamary *et al.*, 2002; Fattori, 2004; Jean-Prost *et al.*, 2007).

En diferentes partes del mundo como Costa Rica, México, Colombia, Argentina y Guatemala la miel se ha empleado en el tratamiento de enfermedades oculares [conjuntivitis, carnosidad de ojos (pterigios) y cataratas] respiratorias (asma bronquial),

ginecológicas (para aliviar dolores posparto, prevenir hemorragias vaginales y várices), para tratar erupciones en la piel y problemas urinarios (Cepeda *et al.*, 2008).

2.2.3 Compuestos biológicos de la miel

La bioactividad de la miel ha sido atribuida principalmente a su osmolaridad, acidez, contenido de peróxido de hidrógeno (Fallas *et al.*, 2013), a la acción de flavonoides naturales, compuestos fenólicos (flavonoides, quercetina, kaempferol, galangina, pinobanksina, pinocembrina ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos, y aminas), así como vitaminas (ácido ascórbico, carotenoides, tocoferol) y enzimas como la catalasa (Rodríguez *et al.*, 2007; Vit *et al.*, 2008).

De esta forma, Olaitan *et al.* (2007) describieron a la miel como una solución sobresaturada de azúcares de fructosa y glucosa al 84 % que producen una interacción tan fuerte que quedan muy pocas moléculas de agua disponibles para el crecimiento de bacterias. Respecto a esto se ha informado que la miel tiene un efecto inhibitor sobre unas 60 especies de bacterias, incluyendo aerobios y anaerobios, Gram positivos y Gram negativos.

Otros de los componentes bioactivos son el peróxido de hidrógeno y el ácido glucónico, cuya formación es favorecida a grandes cantidades de humedad, su bioactividad es debido a su alto poder antibiótico, el cual también le otorga su poder antimicrobiano (Gaytán, 2009). De esta manera, Fangio *et al.* (2007) observaron que la actividad antimicrobiana de la miel *A. mellifera* de Argentina contra la bacteria *E. coli* se asocian particularmente a los contenidos de peróxido de hidrógeno, como resultado de una mayor actividad de glucoxidasa que de catalasa.

Por otra parte, López *et al.* (2011) observaron la actividad antibacterial de los extractos con flavonoides obtenidos de la miel *M. beecheii* del estado de Yucatán al inhibir las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Por su parte, Bastos *et al.* (2009) observaron una mayor actividad antioxidante

mediante el método DPPH ($IC_{50} = 5.9 \mu\text{g/mL}$) para la miel *Melipona subnitida* de Brasil debido a un mayor contenido de flavonoides (35 %) con respecto a otras mieles de *A. mellifera*. De igual manera, Silva *et al.* (2013) observaron una mayor actividad antioxidante ($IC_{50} = 0.2 \text{ mg/mL}$) a mayor contenido de fenoles totales (34-66 mg GAE /g) utilizando el método ABTS en mieles *M. (Michmelia)* y *S. merrillae*.

2.3 Microencapsulación

La microencapsulación es el proceso por el cual partículas individuales o gotas de un material activo (sólidos, líquidos o gaseosos) son rodeado por una cubierta (Figura 2), la cual es una membrana permeable, esférica, delgada y fuerte que rodea un núcleo semi-sólido/líquido, que puede liberar su producto activo a velocidades controladas bajo las influencias de las condiciones específicas (calor, solvatación, difusión y presión). Cuando las partículas poseen un tamaño inferior a $1 \mu\text{m}$, el producto resultante del proceso de encapsulación recibe la denominación de “nanocápsulas” (Kumar *et al.*, 2007; Lozano, 2009). Los aditivos que son microencapsulados presentan mayor estabilidad a factores ambientales perjudiciales he impiden la interacción con otros ingredientes (Sandoval *et al.*, 2004).

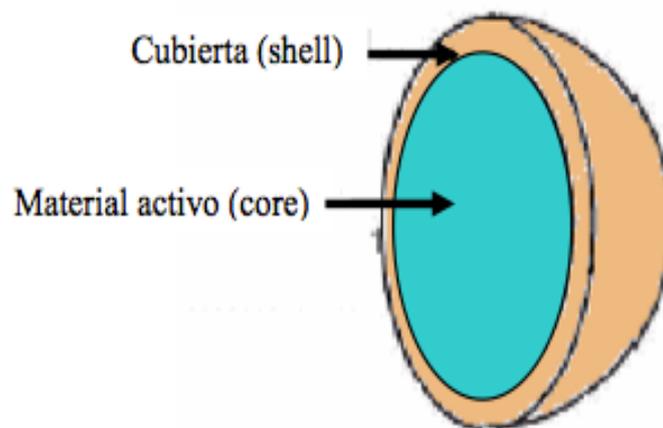


Figura 2. Estructura general de la microcápsula

2.3.1 Métodos de microencapsulación

Los procesos de encapsulación se pueden dividir en dos: procesos químicos y procesos mecánicos (Tabla 3). Los procesos químicos se dividen en las técnicas de coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular; dentro de los procesos mecánicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento y extrusión (Madene *et al.*, 2006; Yañez *et al.*, 2002). El método que se utiliza depende de las propiedades del núcleo, los materiales encapsulantes y los requisitos de la aplicación en alimentos de destino (Sanguansri *et al.*, 2010). Diversos autores, mencionan que los métodos comúnmente utilizados tanto por costos como por aplicación son el secado por atomización y la extrusión (Gouin, 2004; Lakkis, 2007).

Tabla 3. Clasificación y características de algunos métodos de encapsulación

Tipo de Técnica	Método de encapsulación	Tamaño de partícula (μm)
Químicas	Coaservación simple	20-200
	Coaservación compleja	5-200
	Inclusión molecular	5-50
Mecánicas	Secado por atomización	1-50
	Enfriamiento por atomización	20-200
	Extrusión	200-2000
	Fluidización	>100

Medene *et al.* (2006)

2.3.2 Agentes utilizados para la microencapsulación

Los materiales encapsulantes (Tabla 4) son de película, flexible, inodoro, insípido y no higroscópico, deben tener propiedades emulsificantes, ser biodegradable y ser resistentes al tracto gastrointestinal. Materiales tales como la goma arábica y la maltodextrina, mejora el proceso de secado y conduce a un secado eficaz (son generalmente seleccionados de una variedad de proteínas, hidratos de carbono, lípidos y ceras). Estos muestran una solubilidad en medio acuoso o disolvente y capacidad de mostrar una transición de fase, tales como de fusión o de gelificación (Sanguansri, 2010; Parthasarathi *et al.*, 2013).

Tabla 4. Materiales de encapsulación

Carbohidratos	Proteínas	Lípidos
Almidones nativos	Caseinato de sodio	Grasas y aceites vegetales
Almidones modificados	Proteínas del suero	Grasas hidrogenadas
Almidones resistentes	Aislados de proteínas de trigo	Estearina de palma
Maltodextrinas	Aislados de proteínas de soja	Cera de carnauba
Jarabes de glucosa en polvo	Gelatina	Cera de abejas
Goma arábica	Albúmina	Goma laca
Alginatos		Polietilenglicol
Pectinas		
Quitosano		
Materiales celulósicos		
Azúcares y derivados		

(Sanguansri, 2010).

2.3.2.1 Maltodextrinas

Son productos derivados de la hidrólisis del almidón que están constituidos por una mezcla de carbohidratos con diferentes grados de polimerización. Estos presentan diferentes propiedades físicas, químicas y funcionales, por lo que lo vuelve uno de los aditivos más utilizados (Lumdubwong *et al.*, 2001). Cabe señalar que son inodoras, incoloras, bajo costo y tienen baja viscosidad (Parra, 2010).

2.3.2.2 Goma arábica

Es una de las gomas más antiguas y mejor conocidas, la cual es una exudación gomosa, seca, obtenida de varias especies de árboles de acacia. Este polímero natural biodegradable ha sido utilizado como una matriz para encapsular. La goma arábica se ha empleado en productos de panificación, productos lácteos, refrescos, entre otros (Parra, 2010).

2.4 Método de aspersión

Implica la pulverización de formulaciones líquidas como soluciones, emulsión y suspensiones, produciendo un polvo seco (Masters, 2004). Este es el método más común para encapsular ingredientes alimentarios, pues es rápido y sencillo, protege los ingredientes que son sensibles a la luz y al oxígeno, controla el tiempo de liberación de los nutrientes, otorga estabilidad al alimento durante su almacenamiento y la degradación de los radicales libres. La calidad del producto y la eficacia del polvo dependen de las condiciones de entrada y salida de aire, temperatura, velocidad de atomización o la presión (Sandoval *et al.*, 2004; Caliskan *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2013; Parthasarathi *et al.*, 2013).

El secado por aspersión sirve para conservar los principios activos en un producto alimenticio durante el almacenamiento, protegerlo de interacciones indeseables con el alimento, así como protegerlo de las reacciones inducidas por la luz y oxidación (Expósito *et al.*, 2010). Por ejemplo, Mis *et al.* (2012) elaboraron un jugo de melón secado mediante el método de aspersión y maltodextrina como soporte para evaluar sus propiedades nutricionales y físicas. El polvo producido a 170 °C tuvo un mayor

contenido de humedad y conservó un alto de vitamina C y β -caroteno. Carrillo *et al.* (2011) por su parte, estudiaron la microencapsulación del jugo de maracuyá mediante secado por aspersion con goma arábica y mezquite-maltodextrina. Estos soportes fueron eficaces como coloides protectores para el secado de aspersion del jugo y permitieron mejores condiciones de almacenamiento y retención de vitamina C. Por otra lado, Candelas *et al.* (2005) evaluaron el secado por aspersion para el jugo de tomate y su influencia en la humedad y el color, así como la disminución de licopeno en polvo respecto al tomate fresco, lo cual tuvo de resultado una disminución en la concentración de licopeno a 14.49 %.

El secado por aspersion también puede servir para experimentar con nuevos recubrimientos como es en el caso de Medina *et al.* (2013), que trabajaron con el método para producir microcápsulas de ácido gálico, con el uso de un extracto acuoso de mucílago de nopal como agente encapsulante. Este estudio demostró la eficacia de mucílago de nopal cuando se utiliza como pared de biomaterial en microencapsulación.

Por otra parte, el estudio de las condiciones del proceso de secado por aspersion ha sido estudiado. Así, Ferrari *et al.* (2011) estudiaron el efecto de la temperatura del aire de entrada (160 o 180 °C) para el método de aspersion y el uso de diferentes soportes (maltodextrina o goma arábica) en una concentración de 5 % (w/w) para el secado por aspersion de pulpa de zarzamora. Las partículas producidas con la goma arábica presentaron un mayor grado de uniformidad, mientras que el uso de maltodextrina promovió una fuerte adhesión entre las partículas. A pesar de estas diferencias en la microestructura de los polvos, ambos soportes aportaron una buena conservación de antocianinas (>70 %) durante el secado por pulverización. Sin embargo, la aglomeración en los polvos formulados con maltodextrina proporciono una mejor protección de las antocianinas. Las mayores pérdidas de antocianinas se encontraron al operar a 180 °C, debido a la sensibilidad al calor de los pigmentos.

2.4.1 Aplicación del método de secado por aspersión en la miel

La miel líquida natural es difícil para la manipulación y su comercialización, ya que es muy densa y viscosa, por lo que el uso de la miel en forma de polvo reduce estos problemas. La miel en polvo puede utilizarse para el consumo directo, se aplica como un aditivo a una gama de productos alimenticios tales como yogures, bebidas, salsas, recubrimientos comestibles, aperitivos, así como suplementos dietéticos, siendo un aditivo donde mejora el sabor, color, aroma, textura y ayuda a mantener la alta calidad de los productos, así como facilitar el transporte la reducción de espacio de almacenamiento y reducción de la complejidad de las operaciones de limpieza (Kuskoski *et al.*, 2005; Samborska *et al.*, 2012).

Algunos autores han reportado trabajos con la aplicación del método de secado por aspersión. Samborska *et al.* (2013) caracterizaron las propiedades físicas y químicas de la miel secada por aspersión y los cambios en estas propiedades durante su almacenamiento. Los polvos resultantes tuvieron propiedades físicas deseables, entre las que destacan: bajo contenido de agua y de actividad, solubilidad completa y baja cohesividad.

Wang *et al.* (2009) indicaron que la miel en polvo que existe en el mercado tiene un máximo de 63 % de maltodextrina que puede causar una alteración en el sabor y la textura que puede ser indeseable para los consumidores.

Kosal (2011) produjo miel de polvo con almidón retrogrado como agente de secado mediante el método de secado por aspersión. El autor mencionó que miel en polvo se puede utilizar como un sustituto de la sacarosa que se añade durante la cocción del pan. El uso de la miel seca en ciertos tipos de dulces, tales como miel, turrone y caramelos esponjas, eliminaría el sabor perjudicial de cocción a alta temperatura que es de otro modo necesario para eliminar el agua en su preparación.

2.5 Propiedades antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que pueden proteger a la célula de los efectos

nocivos de los oxidantes o radicales libres, estos últimos son moléculas que contiene un electrón desapareado en el orbital más extremo de su estructura atómica, debido a esto existe una disminución de los niveles de antioxidantes o una inhibición de las enzimas antioxidantes se desencadena un estrés oxidativo, produciendo daño celular por la oxidación a macromoléculas como proteínas, lípidos y ácido desoxirribonucleico (López *et al.*, 2012; Mateos *et al.*, 2013). Los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no enzimáticos. Estos se clasifican en endógenos (se encuentran en el organismos y son sintetizados por sus células) y exógenos, actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre (Tabla 5), por lo que la reposición de ellos debe ser continua mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen (ingesta a través de la dieta) (Venero, 2002).

Tabla 5. Clasificación de antioxidantes según su origen

Exógenos	Endógenos
Vitaminas	Enzimático
Vitaminas E y C	Superóxidodismutasa (SOD)
	Catalasa
	Glutación peroxidasa
Minerales	No enzimáticos
Cobre, Zinc, Manganeso, Hierro, Selenio	Glutación
	Coenzima Q
	Ácido tióctico
Otros	
Flavonoides, carotenoides, licopeno	

(Molina, 2012)

2.5.1 Actividad antioxidante de los alimentos

La evaluación de antioxidantes se puede realizar en diversos alimentos tales como vegetales, frutas y semillas. Cano *et al.* (2004) estudiaron la actividad antioxidante de jugos de naranja comerciales de distintos tipos y su contenido en vitamina C. Los resultados mostraron que los jugos pasteurizados poseen, en general, menores valores de actividad antioxidante que los refrigerados y que la relación vitamina C/actividad antioxidante puede ser utilizada como indicador del tipo de jugos. De igual forma, existen estudios de antioxidantes en plantas tales como los llevados a cabo por Lukmanul *et al.* (2008) quienes determinaron las propiedades antioxidantes de ocho especies seleccionadas de *Ocimum*. Ellos mencionan que los fitoquímicos que se encuentran en cada extracto son buenos antioxidantes y estos extractos se pueden usar como un conservante eficaz en la industria alimentaria. Padilla *et al.* (2008) estudiaron semillas como *Theobroma cacao* (cacao), *Campsiandra comosa* Benth (chiga), *Sorghum bicolor*, *Melicoccus bijugatus* (mamón) y la relación de entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante. Como resultado obtuvieron que el poder reductor del cacao resulto ser el más alto seguido del de la chiga.

El proceso de secado por aspersion ha sido utilizado como una técnica donde compuestos bioactivos son encapsulados por un biopolímero y así protegerlos del oxígeno, agua, luz u otras condiciones para mejorar su estabilidad (Gharsallaoui *et al.*, 2007). Sin embargo, las condiciones del proceso como los materiales encapsulantes son de gran importancia para la conservación de los mismos. De esta forma, Ersus y Yurdagel (2007) reportaron que la actividad antioxidante de antiocianinas encapsuladas provenientes de zanahoria fue menor al extracto debido a una alta temperatura de entrada del secador por aspersion utilizado. De igual forma, la actividad antioxidante fue afectada por la concentración de maltodextrina y temperatura utilizada en la microencapsulación de jugo de *Momordica cochinchinensis* (Kha *et al.*, 2010). Mientras Parthasarathi *et al.* (2013) determinaron una menor actividad antioxidante en los encapsulados que en el extracto de *Garcinia cowa*, debido a la temperatura de salida (100 °C) utilizada. Sin embargo, el incremento de la actividad antioxidante en alimentos encapsulados ha sido observado. Así, Horuz *et al.* (2012) observaron un incremento

de la capacidad antioxidante en el polvo de jugo de granada al incrementarse la temperatura del secador, esto debido posiblemente a reacciones de Maillard generadas.

Por otra parte, la estabilidad de la vitamina C durante el almacenamiento en jugos de fruta de la grosella de la india microencapsulada ha sido evaluada por medio de su capacidad antioxidante (Bhattacharje *et al.*, 2014).

2.6 Antimicrobiano

Los antimicrobianos se definen como sustancias que destruyen los microorganismos o impiden su multiplicación o desarrollo. Estos se dividen en antibacterianos, antivirales, antimicóticos, antimicrobacterianos, antiparasitarios y antirretrovirales (Girón, 2008).

En la actualidad, los productos naturales son fuentes de información para el descubrimiento de posibles sustancias con importante actividad biológica. Estos proveen oportunidades ilimitadas para el hallazgo de nuevos fármacos con poder antibacteriano, debido a que los microorganismos han mostrado resistencia contra los medicamentos (Ramírez, 2009). Por esta razón, cada vez se descubren más productos que contienen antimicrobianos naturales (Tabla 6). Así por ejemplo, se incluyen compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Lavandera, 2011).

Tabla 6. Principales grupos con actividad antimicrobiana

Grupo	Subgrupo	Ejemplo
Fenoles y polifenoles	Fenoles simples	Timol
	Ácidos fenólicos	Ácido cinámico
	Quinonas	Hipericina

Grupo	Subgrupo	Ejemplo
	Flavonas	Catequinas
	Flavonoides	Glicirricinas
	Flavonoles	
	Taninos	
	Cumarinas	
Aceites esenciales y terpenoides		Mentol
Alcaloides		Piperina, capsaicina
Péptidos		Tioninas, defensinas
Aldehído		Hexanal
Sulfóxidos		Alicina

(Cowan 1999).

2.6.1 Métodos para la evaluación antimicrobiana

Existen diferentes métodos *in vitro* para determinar la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos (Ramírez *et al.*, 2009).

Los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados, en tres grupos principales: métodos de difusión, métodos de dilución y bioautografía (Tabla 7) (Sawai *et al.*, 2002).

Tabla 7. Metodologías para evaluar la actividad antibacteriana

Método	Características
Métodos de difusión en agar	El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa

Método	Características
Métodos de dilución en agar o en caldo	<p>bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia.</p> <p>Es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (MBC) como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento y la concentración mínima inhibitoria (MIC) la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo. La ventaja sobre los métodos de difusión radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, lo cual es importante cuando se trabaja con productos naturales.</p>
Bioautografía	<p>El método consiste en colocar las muestras a evaluar en placas para cromatografía de capa fina, seleccionar la fase móvil con mejor separación. La placa es colocada en forma invertida sobre una caja de Petri previamente inoculada con el microorganismo a evaluar. Se deja de 8 a 12 h en la nevera para facilitar la difusión de los extractos en el medio, luego se retira la placa y se lleva la caja a incubación según los requerimientos del microorganismo; luego se observa el halo de inhibición donde está el compuesto activo.</p>

(Hacek *et al.*, 1999; Isada *et al.*, 2002; McDermott *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2005).

3. JUSTIFICACIÓN

La miel de *Scaptotrigona pectoralis* se le atribuyen propiedades nutritivas y benéficas para el ser humano, entre las que podemos mencionar su actividad antioxidante y antimicrobiana. Por lo que es importante considerar otras alternativas de comercialización o productos de fácil manipulación de la miel. Esto podría lograrse con el empleo de técnicas de microencapsulación mediante secado por aspersión para la obtención de un producto en polvo con mayor vida de anaquel y que además conserve los compuestos bioactivos

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar las características físicas y químicas, así como las actividades antioxidante y antimicrobiana de la miel de *Scaptotrigona pectoralis*, en su forma líquida y microencapsulada.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar las características físicas y químicas (color, humedad, pH, acidez, ceniza, HMF, invertasa, azúcares reductores, análisis de la fracción volátil, higroscopicidad, solubilidad y densidad) de la miel *Scaptotrigona pectoralis* en su forma líquida y microencapsulada.
2. Determinar la actividad antimicrobiana de la miel líquida frente a patógenos Gram positivos y Gram negativos.
3. Determinar la actividad antioxidante *in vitro* de la miel líquida y microencapsulada a través de los ensayos químicos ABTS^{•+} y DPPH[•].

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Obtención de la materia prima

La miel de *Scaptotrigona pectoralis* fue proporcionada por un meliponario ubicado en el municipio de Tekax el cual se localiza entre los paralelos 19° 32" y 20° 19" de latitud norte y los meridianos 89° 09" y 89° 39" de longitud oeste.

5.2 Estrategia experimental

La Figura 3 presenta el procedimiento que se realizó para la parte experimental de la investigación.

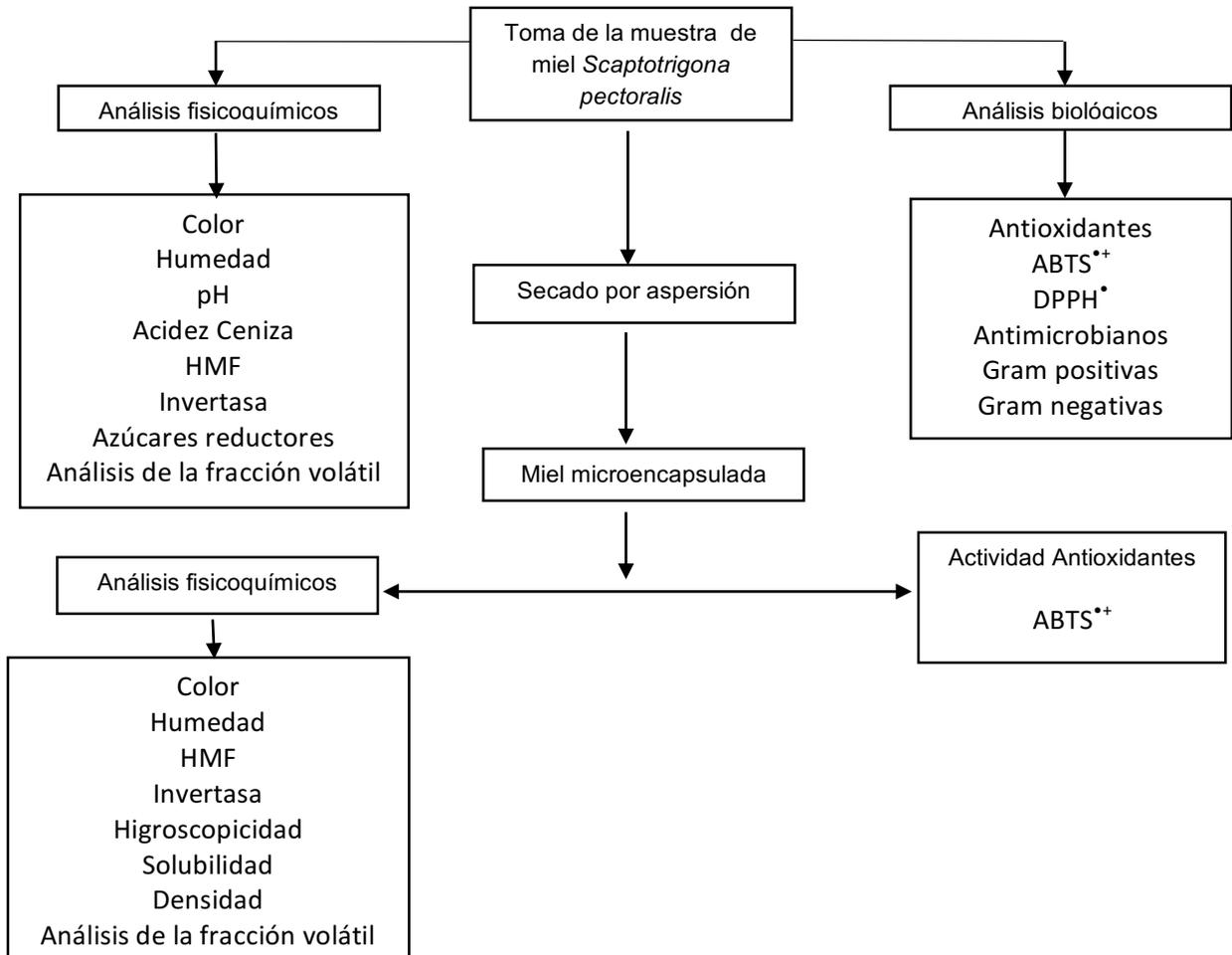


Figura 3. Estrategia experimental del trabajo de investigación

La parte experimental se realizó en el Laboratorio de fermentación y el Laboratorio de analítica, ubicados en el Instituto Tecnológico de Mérida, Yucatán.

5.3 Análisis físicos y químicos de la miel

La composición de la miel depende principalmente de las fuentes vegetales de las cuales se deriva, pero también de la influencia de factores externos, como el clima, el manejo de extracción y almacenamiento. Un mal manejo de la miel puede reducir su calidad; los factores que más influyen en ello son las altas temperaturas, el tiempo de almacenamiento y contenido de humedad (Crane, 1990). Las mieles de Yucatán poseen propiedades físicas, químicas y sensoriales muy apreciadas en el mercado internacional.

5.3.1 Color

El color se determinó de acuerdo a la escala Pfund (Fell, 1978) utilizando un colorímetro Hanna Honey Color 221 (Woonsocket, Rhode Island, EE.UU.). Este equipo se calibró con glicerina y las lecturas de color fueron realizadas a 635 nm.

5.3.2 Color CIE Lab

Las características de color fueron evaluadas por el método CIE Lab (Comisión Internacional Iluminación) de acuerdo a la metodología propuesta por Quek *et al.* (2007) con un medidor de color de esfera portátil modelo SP60 Marca X- Rite (Perfomant Cert, 2008). Para ello la miel fue colocada en un vaso de precipitado (40 mL) colocando 1 g de miel.

5.3.3 Humedad

Se empleó el método refractométrico de Chataway (1932), revisado por Wedmore (1955). Se hizo la lectura directa del índice de refracción de una gota de miel, calibrado el equipo previamente con agua. La humedad se calculó en base a tablas que relacionan el índice de refracción y la humedad, con corrección por temperatura a 20 °C y expresándose los resultados en porcentaje de humedad.

5.3.4 pH

El valor de pH de la miel se obtuvo a través de la medición directa de una disolución de 10 g de muestra en 50 mL de agua destilada en un potenciómetro Hanna Instruments pH211 (Woonsocket, RI, EE.UU.) (AOAC, 2003).

5.3.5 Acidez

La determinación de la acidez libre y total se realizó según la Norma Mexicana NMX-F-036-1997. La acidez libre se evaluó por valoración potenciométrica con una solución de NaOH hasta pH 8.5 y la acidez láctica mediante valoración por retroceso con solución de HCl tras la adición de NaOH hasta pH 8.3. La acidez total se calculó sumando la acidez libre y láctica. Los cálculos se realizaron con las siguientes fórmulas:

$$\text{Acidez libre} \left(\frac{\text{meq}}{\text{kg}} \right) = (V_b - V_o)(N_b)(1000)(P)$$

$$\text{Acidez láctica} \left(\frac{\text{meq}}{\text{kg}} \right) = (10N_b - V_a N_a)(1000)(P)$$

$$\text{Acidez total} \left(\frac{\text{meq}}{\text{kg}} \right) = \text{Acidez libre} + \text{Acidez láctica}$$

Donde V_b : volumen consumido de álcali (mL), V_o : volumen consumido de álcali por 75 mL de agua destilada (mL), V_a : volumen consumido de ácido (mL). N_b : normalidad del álcali, N_a : normalidad del ácido y P : peso de muestra (g). Los resultados fueron expresados en meq/kg de miel.

5.3.6 Cenizas

Se efectuó mediante calcinación de la muestra a 600 °C durante 4 h en una mufla (Muffle furnace) (NOM-110-SSA1-1994), previa carbonización de dicha muestra y por pesado del residuo remanente después de la calcinación. Los resultados se expresaron en porcentaje.

5.3.7 HMF

Se utilizó el método de la AOAC (2000), basado en el método de White (1979). Para ello se realizó un tratamiento de la muestra de miel (1 g) con los reactivos de Carrez y

posterior lectura de la absorbancia a 284 y 336 nm, con un espectrofotómetro Cary 60 UV-VIS (Agilent Technologies, Malasia). Las determinaciones se realizaron por triplicado y se usó como blanco la muestra tratada con una disolución de bisulfito sódico que destruye la absorbancia debida al hidroximetilfurfural (Frías y Hardisson, 1992).

5.3.8 Invertasa

La actividad de la enzima fue determinada de acuerdo al método propuesto por la Comisión Europea de la Miel (Bogdanov *et al.*, 2009). Con 1 g de miel y 5 mL de buffer, este método se basa en el uso de *p*-nitrofenilo- α -D-glucopiranosido usado como sustrato para la determinación del número de sacarosa en la miel se divide en glucosa y *p*-nitrofenol por la acción de la α -glucosidasa (invertasa) que se encuentra en la miel. Una vez transcurrida la reacción, mediante el ajuste del valor de pH a 9.5, la reacción enzimática se detiene y al mismo tiempo el *p*-nitrofenol se transforma en el anión nitrofenolato, el cual corresponde a la cantidad de sustrato convertido y se determina fotométricamente a 400 nm.

5.3.9 Azúcares reductores

Se usó el método modificado de Lane-Eynon, que consiste en la reducción del reactivo de Fehling modificado por Soxhlet, titulando bajo ebullición con azul de metileno como indicador (Bogdanov *et al.*, 2009).

5.3.10 Fracción volátil

Se utilizó la microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME) con una fibra DVB/CAR/PDMS. El procedimiento consistió en mezclar 6 g de miel, 1.2 g de NaCl y 2.4 mL de agua desionizada en viales de 15 mL con tapa de rosca y membrana de silicona recubierta con teflón (Supelco, Bellefonte, PA, EE.UU.). La muestra fue agitada magnéticamente y se utilizó un tiempo de equilibrio de 10 min a 60 °C antes de realizar la extracción. La extracción se hizo a 60 °C durante 40 min. Al final del tiempo de extracción, la fibra para SPME era retirada del vial e insertada en el puerto

de inyección del cromatógrafo de gases para llevar a cabo la desorción térmica de los analitos.

Los análisis por cromatografía de gases fueron realizados en un cromatógrafo de gases modelo AutoSystem XL (Perkin Elmer, Norwalk, EE.UU.), equipado con un detector de ionización de flama. La desorción se hizo durante 4 min en modo *splitless* a 280 °C, con un inserto de 0.75 mm D.I. en el inyector. La separación de los compuestos volátiles fue realizada en una columna cromatográfica RTX-5 (Restek Corp., Norwalk, EE.UU.) de 30 m x 0.25 mm y 0.25 µm de espesor de fase estacionaria. El programa de temperaturas de la columna fue el siguiente: inicio a 50 °C durante 4 min, posteriormente se incrementó hasta 250 °C a una velocidad de 4 °C/min, manteniendo la temperatura final por 8 min (Cuevas *et al.*, 2008).

5.4 Actividad antioxidante de la miel

5.4.1 Método de ABTS^{•+}

La actividad antioxidante se determinó a partir del método de decoloración ABTS^{•+} [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)] de acuerdo al método de Re *et al.* (1999). Se preparó el radical libre ABTS^{•+} (Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.) (7 µmoles) con persulfato de potasio (2.45 µmoles), se mezclaron ambos reactivos y dejaron reposar por 16 h en oscuridad. La absorbancia a 740 nm de la solución ABTS^{•+} se ajustó a 0.7 ± 0.02 , por dilución con etanol al 20 %. Para el análisis se prepararon diluciones de la miel con etanol al 20 % de 0 a 1.5 g/mL. Para cada dilución se colocaron en una microplaca 25 µL de miel en cada pozo y 175 µL de ABTS^{•+}. La absorbancia de cada muestra fue medida en un lector de microplacas Multiskan FC (Thermo Scientific, Waltham, MA, EE.UU.). Se hizo una curva patrón del antioxidante Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Aldrich Chemical, St Louis MO, EE.UU.) con etanol al 20 %, en el intervalo de 0 a 0.35 mM. Los ensayos fueron realizados por triplicado y expresados como µmol ET/100 g de miel.

5.4.2 Método de DPPH'

La actividad antioxidante de la miel fue determinada de acuerdo a su capacidad de captar el radical libre DPPH' (1,1-difenil-2-picril hidracilo). Para la formación del radical libre DPPH' (Aldrich, St Louis, MO, EE.UU.) se preparó una solución al 0.1 mM con metanol, la cual se mantuvo en oscuridad por 30 min hasta su estabilización. Para el análisis de la muestra se preparó una solución madre de 10 g/mL con metanol al 20 %. Se evaluaron diferentes concentraciones de la miel (0 a 4 g/mL). La capacidad de captación del radical DPPH' se determinó al agregar 25 μ L de miel en cada pozo de una microplaca y 175 μ L de DPPH'. La absorbancia de cada muestra fue medida a 540 nm en un lector de microplacas Multiskan FC (Thermo Scientific, Waltham, MA, EE.UU). Se realizó una curva con Trolox a diferentes concentraciones (0 a 0.5 mg/mL). Los ensayos fueron realizados por triplicado y expresados μ mol ET/100 g de miel.

5.5 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se determinó mediante la técnica de difusión en disco (Schwalbe *et al.*, 2007). Se evaluaron cepas Gram negativas y Gram positivas que transmiten enfermedades por alimentos (ETAs) y en algunos casos con resistencia a antibióticos (Tabla 8). Se utilizaron los medios en agar LB (Lennox, Madrid, España) y Mueller Hinton (MH) (Becton Dickinson, México). El inóculo para cada microorganismo se preparó a una concentración de 1×10^8 UFC/mL con una solución salina y ajustada con un espectrofotómetro (Eppendorf, Biophotometer, Alemania) a 600 nm, por último se realizó la dilución correspondiente hasta obtener el inóculo a utilizar de 1×10^6 UFC/mL. Se añadió 40 μ l de una disolución de miel *S. pectoralis* a diferentes concentraciones por disco de celulosa esterilizado y un disco de celulosa esterilizado de 20 μ l con una concentración de 10 mg de antibiótico kanamicina como control positivo, se dejó incubar durante 12 horas a 37 °C. La actividad antimicrobiana se determinó al medir los diámetros de los halos de inhibición.

Tabla 8. Cepas bacterianas usadas para evaluar la actividad antimicrobiana

Gram positiva	Gram negativa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Vibrio choleare</i> ATCC

5.6 Método de secado por aspersión

EL proceso se realizó en un secador por aspersión a escala de laboratorio modelo SD-05 (LabPlant, Huddersfield, Inglaterra) (Figura 5). De acuerdo con Cuevas *et al.*, 2016, se seleccionaron las condiciones de operación siguientes: temperatura del aire de entrada 150 °C, flujo de aire 73 m³/h, flujo de alimentación de la muestra a encapsular, 0.49 L/h, bajo estas conciciones de operación la temperatura de aire de salida 75-85 °C. El secador operó en co-corriente con un atomizador con diámetro de orificio de 0.5 mm. La solución de alimentación consistió en una solución de miel (80 g), maltodextrina 10 DE (IMSA, Guadalajara, México) (98.7 g) y agua destilada (480 g), representó un 23 % p/v de sólidos en la mezcla de alimentación. Esta mezcla se mantuvo con agitación magnética y a 25 °C durante todo el proceso. Las corridas se hicieron por duplicado.



Figura 4. Equipo secador por aspersión modelo LabPlant SD-05

5.7 Análisis del microencapsulado

5.7.1 Color

El color se determinó con los valores de L*, a, b.

Las características de color fueron evaluadas por el método CIE Lab (Comisión Internacional Iluminación) de acuerdo a la metodología propuesta por Quek *et al.* (2007) con un medidor de color de esfera portátil modelo SP60 Marca X- Rite (Perfomant Cert, 2008). Para ello la miel microencapsulada fue colocada en un vaso de precipitado (40 mL) colocando 1 g en 1 mL de agua destilada, las lecturas se realizaron por triplicado.

5.7.2 Humedad

El contenido de humedad se determinó colocando 1 g del microencapsulado en un balanza electrónico de humedad CRODE (Mérida, Yucatán, México).

5.7.3 HMF

Se determinó de la misma manera que en miel líquida (5.3.7), reconstituyendo 1.9 g de miel microencapsulada y tomando 1 mL de agua.

5.7.4 Invertasa

Se determinó de la misma manera que en miel líquida (5.3.8), reconstituyendo 1.9 g de miel microencapsulada y tomando 5 mL de buffer.

5.7.5 Higroscopicidad

La muestra del polvo microencapsulado (1 g) se colocó en un desecador a 25 °C, con una solución saturada de NaCl (75,29 % RH). Después de 48 h, la muestra se pesó y la higroscopicidad se calculó como la humedad adsorbida en 100 g de sólidos secos (g/100 g) (Tonon *et al.*, 2008).

5.7.6 Solubilidad

Se realizó a partir de 1 g de muestra con 25 mL de agua destilada a 25 °C. La mezcla se agitó en un vaso de precipitado de 50 mL con agitación magnética a 890 rpm y con una barra de agitación de 2 mm x 7 mm. El resultado se registró por el tiempo requerido para disolver completamente a la muestra (Goula *et al.*, 2010).

5.7.7 Densidad aparente

La densidad del microencapsulado se midió usando un cilindro graduado mediante la determinación del volumen ocupado por 1 g de polvo utilizando una probeta de 10 mL (Goula *et al.*, 2010). Se calculó como el cociente entre el peso y el volumen, expresando el resultado en g/mL.

5.7.8 Composición de la Fracción volátil

La identificación de la fracción volátil en el microencapsulado se realizó con las mismas condiciones utilizadas en miel (5.3.10), utilizando 3.75 g de miel, 3.5 mL de agua destilada y 0.5 g de NaCl, por otra parte se realizó una referencia con 2 g de miel, 2.25 de maltodextrina, 5.8 mL de agua y 1 g de NaCl en viales de 15 mL con tapa de rosca y membrana de silicona recubierta con teflón (Supelco, Bellefonte, PA, EE.UU.).

5.8 Actividad antioxidante del microencapsulado de miel

Se realizó mediante el método ABTS^{•+} utilizando la misma metodología en miel (5.4.1), utilizando 1.75 g de microencapsulado disolviéndolo en 1 mL de agua, realizando una referencia.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Evaluación de composición de la miel

6.1.1 Análisis fisicoquímicos

En la Tabla 9 se presentan las características físicas y químicas de la miel *S. pectoralis*. De acuerdo al valor obtenido en la escala Pfund (mm) y clasificando con respecto a la Norma IRAM 15941--2: 2007 esta miel se considera como de color ámbar. Por su parte, utilizando los valores obtenidos por el método CIE Lab y el valor de luminosidad propuesto por González *et al.* (2005) esta miel podría considerarse como oscura (mieles oscuras con $L^* < 50$), con tonalidades amarillentas debido a los valores positivos de a y b. Estos valores de color puede ser asociado con el origen floral, el almacenamiento prolongado, la luz, posibles reacciones enzimáticas, la temperatura, así como el contenido de los minerales (Crane, 1985; Pamplona, 1989; Alves *et al.*, 2005; Baltrusaityte *et al.*, 2007).

El contenido de humedad de la miel de *S. pectoralis* se encuentra dentro de los parámetros sugeridos por Vit *et al.* (2004) para abejas sin aguijón (máx 30 %), otros estudios han presentado valores similares como en miel de *Melipona beecheii* (26.0 %) proveniente de Honduras (Mendieta, 2002), de Yucatán (23.2 %) (Lira, 2009) y , pero menor a la miel de melipona ecuatoriana (34.1 %) (Guerrini *et al.*, 2009). La diferencia del contenido de humedad puede depender de varios factores como la temporada de cosecha, el grado de madurez alcanzado y factores climáticos (Finola *et al.*, 2007). Por otra parte, la miel de abejas sin aguijón, se distinguen de las mieles de *Apis Mellifera*, debido a su alto contenido de agua.

Tabla 9. Características físicas y químicas de la miel de *S. pectoralis*

Características	Resultado
Color (mm Pfund)	84.33 (ámbar)
Color CIE LAB	L*: 33.14 a*: 4.91 b*: 13.24
Humedad (% m/m)	24.0
pH	3.60
Acidez (meq/kg)	115.03
Cenizas (% m/m)	0.25
Hidroximetilfurfural (mg/kg)	67.23
Invertasa (IN)	21.37
Azúcares reductores (%)	37.38

El pH de la miel *S. pectoralis* fue similar al pH de *M. beecheii* (3.37) (Mendieta, 2002) y al de *Melipona favosa* (3.86) (Vit *et al.* 2012). El valor de pH entre especies puede estar influido por el pH del néctar, el suelo o las plantas, así como las sustancias mandibulares de las abejas que añaden el néctar a la colmena (Crane, 1985; Evangelista *et al.*, 2005).

La acidez fue mayor a lo establecido (máximo 50 meq/kg) por el CODEX STAN 12-1981 para *A. mellifera*. Un valor similar (123.33 meq/kg) fue observado por Mendieta (2002) en un estudio realizado en miel *Tetragonisca angustula* de Honduras, otro estudio se llevo a cabo por Moo *et al.* (2015) reportando resultados con miel *M. beecheii* de Yucatán (71.3 meq/kg). Las mieles de abejas sin aguijón difieren de la *A. mellifera* (15 a 19 meq/kg) por su alta acidez (Grajales *et al.*, 2013). De acuerdo con Moguel *et al.* (2005) esto podría deberse a que las mieles de abejas sin aguijón permanecen más tiempo en las colmenas. Bruijn *et al.* (1997) mencionan que un pH bajo y una acidez alta, puede causar una excelente resistencia hacia los microorganismos.

El contenido de cenizas de la miel *S. pectoralis* fue menor al valor máximo (0.5 %) encontrados por Vit (2004) para diferentes especies de abejas sin aguijón. Sin embargo, un contenido de cenizas más alto (0.68 %) se observó en un estudio realizado en mieles de *Scaptotrigona sp.* (Vit, 2009). Diferencias entre el contenido de cenizas, podría deberse al origen botánico, el origen geográfico y a la composición de metales de los suelos tropicales (Popek, 2002; Rodríguez *et al.*, 2003; Felsner *et al.*, 2004; Bogdanov *et al.*, 2004; Malacalza *et al.*, 2005; Özcan *et al.*, 2006).

El contenido de HMF fue alto a diferencia del reportado en mieles *A. mellifera* (Malacalza *et al.*, 2005) (máximo 40 mg/ kg). Sin embargo, valores similares han sido obserados en un estudio realizado con mieles de Brasil, *M. becheii* (64.8 mg/ kg) y en *M. solani* (78.5 mg/ kg) (Almeida 2008). Estos valores estan dentro del máximo establecido (máx. 80 mg/kg)por la NMX-F-036-1997 para *A. mellifera*. La diferencia de HMF esta relacionada directamente con el tiempo de almacenamiento y la temperatura del ambiente, la humedad, la acidez, el pH, el contenido de agua y minerales (White, 1979; Rego *et al.*, 2002).

La actividad de invertasa para la miel en estudio fue de 21.37 IN. Este resultado se encuentran dentro del valor establecido por *Harmonised methods of the European Honey Commision* (>8) para mieles de *A. mellifera*. La variabilidad en la actividad de la enzima invertasa, en diferentes mieles, posiblemente es debido a factores como: recolección de néctar, abundancia de flujo de néctar y su contenido de azúcar, edad de las abejas (Persano *et al.*, 1999).

En cuanto a los azúcares reductores el resultado obtenido se encuentra por debajo de lo reportado por Vit *et al.* (2004) quien menciona un valor mínimo del 50 % para mieles de Melipona. Así mismo, un estudio realizado en mieles sin aguijón ecuatorianas presenton resultados similares con el 44.5 % de ázucares reductores (Guerrini *et al.*, 2009). La miel puede ser descrita como una solución acuosa altamente concentrada de dos azúcares, glucosa y fructosa, con pequeñas cantidades de otros azúcares más complejos (Zamora y Chirife, 2005). El bajo contenido de azúcares reductores presentes en algunas mieles prodia ser debido a factores como agitación, temperatura

de almacenamiento y presencia de materiales como impurezas, proteínas y otros carbohidratos.

6.1.2 Análisis de la fracción volátil

La fracción volátil de la miel *S. pectoralis* esta conformada por una mezcla de compuestos constituidos principalmente por alcoholes (16 %), ácido carboxílico (15 %), aldehídos (15 %), terpenos (15 %), alcanos (15 %), cetonas (12 %), eter (4 %) y ester (4 %) (Figura 6). Se identificaron 26 compuestos siendo los mayoritarios el ácido acético, etanol, octadecanol y p-anisaldehido (Tabla 10). Un estudio realizado con mieles uniflorales del estado de Yucatán de floración dzidzilché, se encontró que el p-anisaldehido fue un compuesto mayoritario Cuevas *et al.* (2012). El ácido acético otorga un olor fuerte a vinagre, mientras que el p-anisaldehido otorga un olor de almendra, anís o menta a la miel. El ácido acético y el grupo de alcoholes han presentado inhibición en el crecimiento de algunos organismos patógenos (Osamojola *et al.*, 2002; Pubchem. ncbi. nlm. nih. gov, 2016).

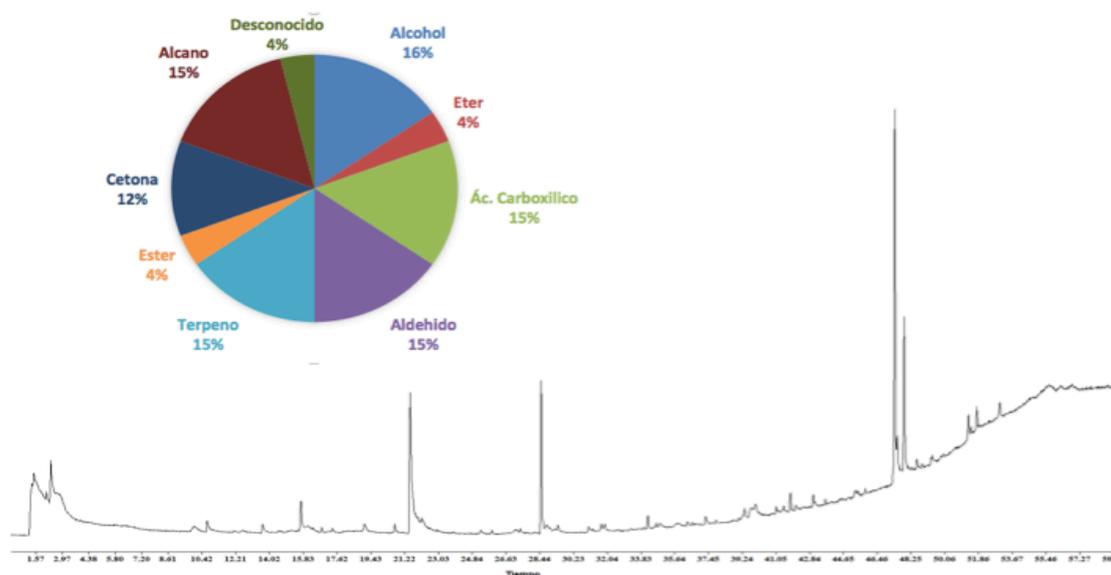


Figura 5. Cromatograma y distribución proporcional de los distintos grupos de compuestos volátiles extraídos por HS-SPME.

Tabla 10. Compuestos volátiles identificados para la miel *S. pectoralis* por HS-SPME/CG-EM

Compuesto	T.R^a min	I.R^b	% Área entre los picos identificados
Alcoholes			
Etanol	1.46	427	22.24
Tetradecanol	39.7	1675	0.66
1-Hexadecanol	42.82	1882	0.59
Octadecanol	47.4	2039	13.5
Éter			
Etil acetato	2.14	605	trc
Ácido carboxílico			
Ácido acético	2.38	677	25.96
Ácido octanoico	19.11	1188	0.60
Ácido decanoico	25.3	1386	0.27
Áido dodecanoico	31.04	1572	0.20
Aldehido			
Benzaldhido	10.7	958	1.07
Benzeneacetaldehido	13.66	1044	0.64
p- Anisaldehído	21.51	1252	11.24

Compuesto	T.R^a min	I.R^b	% Área entre los picos identificados
Tetradecanal	37.3	1617	0.36
Terpeno			
Trans-linalool oxido	14.52	1088	tr
Hotrienol	15.71	1103	1.75
Allocimen	16.82	1127	0.17
Oxido de nerol	17.39	1153	0.21
Ester			
Etilfeilacetato	20.72	1246	0.47
Cetona			
2-Undecanona	22.16	1290	2.83
2-tridecanona	28.53	1489	2.10
2-tetradecanona	34.23	1499	0.56
Alcano			
Hexadecano	36.59	1600	0.07
1-Docoseno	47.53	2194	2.31
Tetracosano	47.9	2315	6.32
Pentacosano	51.79	2400	1.47

Compuesto	T.R ^a min	I.R ^b	% Área entre los picos identificados
Desconocido			
Desconocido	43.05	Tr	0.47

^a T.R: Tiempo de retención

^b I.R: Índice de retención

^c tr: trasas

El aroma de la miel se atribuye a diferentes compuestos químicos de peso molecular bajo. La composición química de la miel se deriva directamente de las flores visitadas por las abeja (Roberts *et al.*, 2002). Otros compuestos, sin embargo, se generan durante el procesamiento de la miel y el almacenamiento (Castro *et al.*, 2007).

6.1.3 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante (AA) de la miel de *S. pectoralis* determinada por el método ABTS⁺, fue de 36 ± 1.73 $\mu\text{mol ET}/100$ g de miel. Un valor similar se observó en un estudio realizado con miel *M. solani* (39.07 $\mu\text{mol ET}/100$ g) mientras que un valor mayor se detectó para *M. beecheii* (87.38 $\mu\text{mol ET}/100$ g) en mieles sin aguijón de Guatemala (Gutiérrez *et al.*, 2009). La actividad antioxidante de la miel en estudio es clasificada como baja de acuerdo al sistema de categorización sugerido para miel de abejas por Vit *et al.* (2008). Vit *et al.* (2008) indican que las propiedades antioxidantes de la miel están relacionadas con su color y contenido de humedad, ya que muchos de los pigmentos que presentan (carotenoides y flavonoides) actividad antioxidante y el contenido de agua de la miel puede determinar el grado de acumulación de compuestos antioxidantes solubles en agua. El contenido de humedad y actividad antioxidante de la miel *S. pectoralis* en este estudio fue similar a la miel *M. solani* con una humedad de 23.75 y AA 39.05 $\mu\text{mol ET}/100$ g y menor que para *M. beecheii* con

un mayor contenido de humedad 27.20 y AA 87.38 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$. Por otra parte, los resultados de color (82.33 mm Pfund) de la miel de *S. pectoralis* estudiada fue mayor al de *M. solani* y *M. beecheii* de Guatemala con 11 y 25.5 mm Pfund respectivamente. Lo cual nos impidió relacionar la actividad antioxidante encontrada para la miel en este estudio, con valores de color de la misma. La menor AA de la miel *S. pectoralis* podría ser atribuible a una baja concentración de compuestos polifenólicos, ácidos fenólicos y enzimas (catalasa y glucosa oxidasa), a quienes generalmente se les atribuye esta propiedad (Rodríguez, 2012).

Por su parte, el valor de la actividad antioxidante de la miel *S. pectoralis* por el método DPPH \cdot fue menor ($3.5 \pm 0.2887\ \mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) a la reportado con el método ABTS \cdot^+ , lo cual, ha sido observado por diversos autores en estudios realizados con miel (Rodríguez 2012; Piljac-Žegarac *et al.*, 2009). Esto demuestra que los valores de ABTS \cdot^+ son más altos respecto a los valores de DPPH \cdot lo cual puede ser debido a la baja selectividad del ABTS \cdot^+ ya que reacciona con cualquier compuesto aromático hidroxilado, independientemente de su potencial antioxidante real (Roginsky *et al.*, 2005). Por otro lado, si la capacidad antioxidante de la miel se debe a la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides y otro tipo de polifenoles (Ahn *et al.*, 2007; Choi *et al.*, 2006; Russo *et al.*, 2004), se debe tener en cuenta que el DPPH \cdot es más selectivo que el ABTS \cdot^+ y, a diferencia de este último, no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo B, ni con ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo (Roginsky *et al.*, 2005).

6.1.4 Actividad antimicrobiana

La miel de *S. pectoralis* logró inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* (Figura 7). La inhibición de *S. aureus* fue directamente proporcional a la concentración de miel añadida. En otros estudios se ha demostrado actividad antimicrobiana de mieles de abejas sin aguijón tales como las variedades *T. angustula* de Colombia (Gamboa *et al.* 2009), *T. carbonaria* de Australia (Boorn *et al.*, 2009), *S. bipunctata* Lepeletier y *S. postica* Latreille de Brasil (Nishio *et al.* 2016) contra *S. aureus*. Se observó que la miel *S. pectoralis* logró la

inhibición de la bacteria *E. faecalis*. Sin embargo, los halos de inhibición no fueron muy visibles (Figura 7b). La inhibición de este patógeno ha sido observado utilizando la miel de abeja sin agujjón *T. carbonaria* (50 % p/v) (Boorn *et al.*, 2009). Otros autores tales como Ng *et al.* (2014) y Khalil *et al.*, (2014) han demostrado que mieles de *A. mellifera* tienen actividad antimicrobiana contra este patógeno.

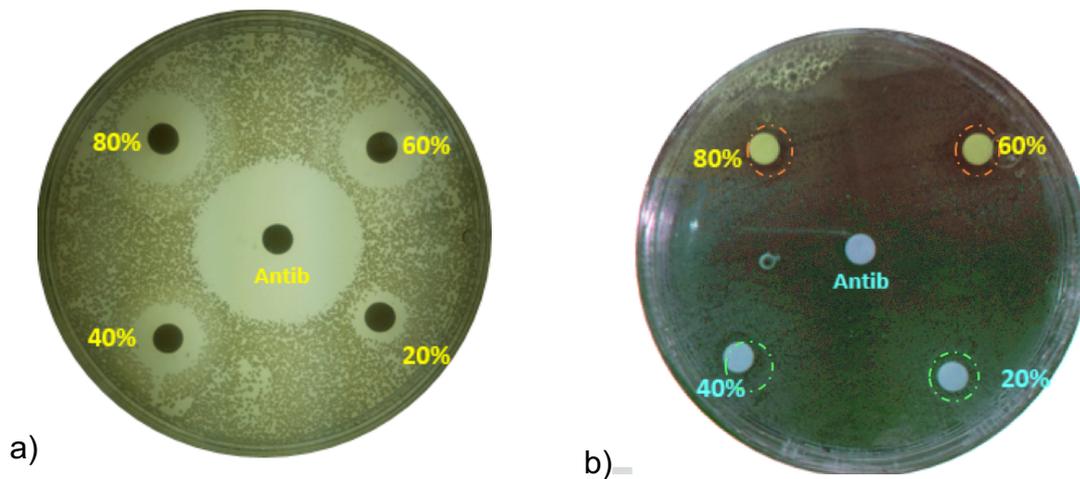


Figura 6. Actividad antimicrobiana de miel *S. pectoralis* contra bacterias Gram positivas a) *S. aureus* y b) *E. faecalis*.

En cuanto a las bacteria Gram negativas evaluadas (Figura 8), *V. cholerae* presentó halos de inhibición en todas las concentraciones de miel evaluadas, los cuales fueron aumentando al incrementar las concentraciones sin lograr superar el halo de inhibición del control positivo. Por su parte Molan (1992) y Montenegro *et al.*, (2009) encontraron actividad antimicrobiana con la miel *A. mellifera* de Chile en esta bacteria.

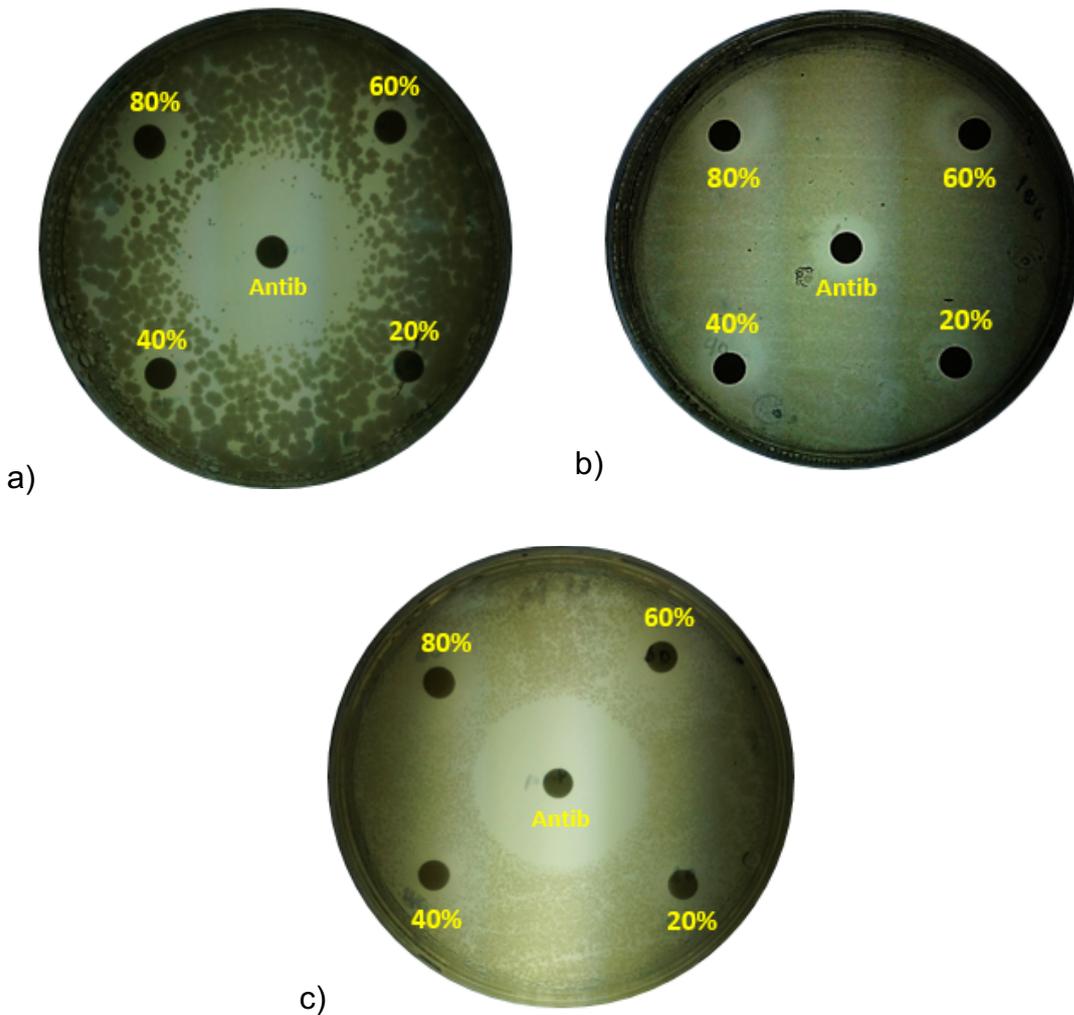


Figura 7. Halos de inhibición que demuestran la actividad antimicrobiana de miel *S. pectoralis* contra bacterias Gram negativas a) *V. cholerae*, b) *P. aeruginosa* y c) *E. coli*.

P. aeruginosa presentó pequeños halos de inhibición para todas las concentraciones de *S. pectoralis* evaluadas. Otros estudios reportan la susceptibilidad de este microorganismo frente a mieles de abeja sin aguijón de Guatemala (Dardón *et al.*, 2008), Ecuador (Guerrini *et al.*, 2009) y Costa Rica (Zamora *et al.*, 2011; Fallas *et al.*, 2013). Para la bacteria *E. coli* se observa unos pequeños halos de inhibición, Agbagwa *et al.*, (2010) utilizaron miel de *A. mellifera* de Nigeria, la cual presento una baja inhibición contra la *E. coli*.

6.2 Estudio del microencapsulado

A simple vista se obtuvo un polvo deshidratado con tonalidades amarillentas y suave (Figura 8).



Figura 8. Microencapsulado de miel *S. pectoralis*

Los resultados de las mediciones de color para el microencapsulado de miel *S. pectoralis* reconstituido con agua se encuentran en la Tabla 11. El valor de L^* fue alto ($L > 50$), mientras valores positivos de a^* y b^* correspondiente a la región rojo y amarillo fueron observados. Como los dos valores a/b son positivos (+0.03) indica la presencia de colores amarillos (Padrón Pereira *et al.*, 2012). De acuerdo a diversos autores una mayor luminosidad en los microencapsulados reconstituidos es atribuida principalmente a una mayor concentración de maltodextrina utilizada (Grabowski *et al.*, 2006; Kha *et al.*, 2010; Caliskan y Dirim, 2013; Mishra *et al.*, 2014).

El contenido de humedad (5 %) del microencapsulado de la miel en estudio obtenido por secado por aspersion fue similar al reportado por Cuevas *et al.* (2016) en el microencapsulado de miel *M. beecheii* (4.95%) utilizando las mismas condiciones de

operación del equipo. Por otra parte, un menor contenido de humedad (3.1 %) se observó en el microencapsulado (60:40 maltodextrina:miel) de miel *A. mellifera* proveniente de Australia (mini secador por pulverización Büchi B-290) (Shi *et al.*, 2013), esto posiblemente al menor flujo de aire utilizado (36 m³/h) en ese estudio. De acuerdo con Tonon *et al.* (2008) velocidades más altas de atomización implican tiempos más cortos de contacto con el aire caliente, por lo que la transferencia de calor es menos eficiente y resulta una menor evaporación del agua.

Tabla 11. Características del producto microencapsulado de miel de *S. Pectoralis*

Características	Resultado
Color CIE LAB	L*: 92.64 a*: 0.24 b*: 7.75
Humedad (%)	5.00
HMF (mg/kg)	74.30
Invertasa (IN)	7.40
Higroscopicidad (g/100g)	21.01
Solubilidad (s)	264.00
Densidad (g/mL)	0.33

El contenido de HFM del microencapsulado de la miel de *S. pectoralis* reconstituido fue mayor al obtenido para la referencia (miel, maltodextrina y agua) (62.69 mg/kg), lo cual podría deberse a la temperatura de operación utilizadas en el secado por aspersión. Fallico *et al.* (2004) y Tosi *et al.* (2004) mencionan que el aumento del HMF en la miel se debe al incremento de la temperatura.

El valor de invertasa del microencapsulado reconstituido fue menor al establecido para la miel *S. pectoralis*. Karabournioti *et al.* (2001) mencionan que la descomposición de la invertasa es muy rápida y se inicia desde 35 °C. Por lo que se puede asumir que la disminución en el microencapsulado sea debido a la temperatura empleada en el

proceso de secado por aspersión. Ambos resultados se encuentran dentro del parámetros establecido por la *International Honey Commission*.

La higroscopicidad del microencapsulado, fue similar a lo reportado para microencapsulados de *A. mellifera* 25.29 g/100g (Shi *et al.* 2013) y miel *M. beecheii* 19.8 g/100g (Cuevas *et al.* 2016). Esto podría deberse a la misma proporción de miel y maltodextrina (40:60) utilizada en estos estudios. La higroscopicidad podría estar relacionada con el contenido de maltodextrina, ya que esta presenta un peso molecular alto en comparación con azúcares e higroscopicidad relativamente baja. Por lo tanto, la maltodextrina aumenta el peso molecular de la mezcla y disminuye la capacidad de absorción de agua en el polvo (Horuz *et al.*, 2012; Samborska *et al.*, 2015).

El microencapsulado de la miel de *S. pectoralis* fue completamente soluble en agua debido principalmente al contenido de maltodextrina utilizada. La maltodextrina es uno de los agentes más utilizados en el secado por aspersión debido a su alta solubilidad (Cano-Chauca *et al.*, 2005). Un tiempo de solubilidad similar ha sido reportado en el microencapsulado de miel *M. beecheii* de 228 s utilizando las mismas condiciones de operación del proceso de secado (Cuevas *et al.*, 2016). La solubilidad es el paso final de la disolución en polvo y se considera como el determinante clave de la calidad general de reconstitución (Chen y Patel, 2008; Fang *et al.*, 2008).

La densidad del microencapsulado obtenida presentó una relación similar a la observada en un estudio con miel de *A. mellifera* 0.33 g/mL (Samborska *et al.*, 2015). Densidades más altas han sido reportadas en microencapsulados de *A. mellifera* (0.48 y 0.47 g/mL) (Jedlińska *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2013) y *M. beecheii* (0.47 g/mL) (Cuevas *et al.*, 2016). La densidad en los polvos se puede ver afectado por la composición química, tamaño de partícula y contenido de humedad, así como por las condiciones de procesamiento y almacenamiento (Beristain *et al.* 2001; Goula *et al.*, 2004).

6.2.1 Composición de la fracción volátil del microencapsulado de miel de *S. pectoralis*

En la Tabla 12 se presenta los compuestos volátiles identificados en la fracción volátil del microencapsulado de *S. pectoralis* mediante HS-SPME/CG-EM. Un total de 17 compuestos fueron identificados en el polvo reconstituido, a diferencia de los 15 compuestos observados en la referencia (miel, maltodextrina y agua). Así, la composición de volátiles únicamente se observó diferente por la detección de los compuestos geranilacetona y ácido dodecanoico en el microencapsulado de miel.

Tabla 12. Compuestos volátiles identificados para el microencapsulado de la miel *S. pectoralis* por HS-SPME/CG-EM

Compuesto	T.R ^a	T.I ^b	% Área
Alcoholes			
Farnesol	37.85	1753	3.10
Tetradecanol	39.7	1675	5.94
1-Hexadecanol	41.82	2009	5.20
Octadecanol	47.4	20981	31.29
Ácido carboxílico			
Ácido dodecanoico	31.04	1572	4.41
Aldehido			
Benzeneacetaldehido	13.68	1044	0.49
Tetradecanal	37.3	1609	5.42
Terpeno			
Hotrienol	15.73	1103	0.56

Compuesto	T.R^a	T.I^b	% Área
para-anisaldehido	21.58	1270	4.82
Ester			
Ftalato de dibutilo	41.07	1897	8.04
Ácido tetradecnoico, etil ester	41.47	1975	3.36
Cetona			
Geranilacetona	27.23	1453	2.58
2-tridecanona	28.51	1491	4.15
2-tetradecanona	34.23	1584	1.64
Alcano			
Tetracosano	47.9	2400	11.40
Pentacosano	51.79	2600	1.3
Desconocido			
Desconocido	31.31	-	6.23

^a T.R: Tiempo de retención

^b I.R: Índice de retención

^c tr: trasas

La fracción volátil del microencapsulado de miel esta conformada principalmente por alcoholes y cetnonas, seguido de compuesto minoritarios como aldehído, alcanos, éster, terpenos, ácido carboxílico y desconocidos (Figura 9). La retención de compuestos volátiles fue de 77.23 % comprado con la referencia. Este resultado fue mayor que el observado en el microencapsulado de miel *M. beecheii* (70 %) en un estudio realizado por Cuevas *et al.* (2016) con las mismas condiciones del proceso de secado por aspersión. Esto podría ser debido a compuestos volátiles con mayor peso molecular presentes en el polvo de *S. pectoralis*, los cuales tienden a retenerse mejor durante el secado por aspersión (Chin *et al.*, 2010).

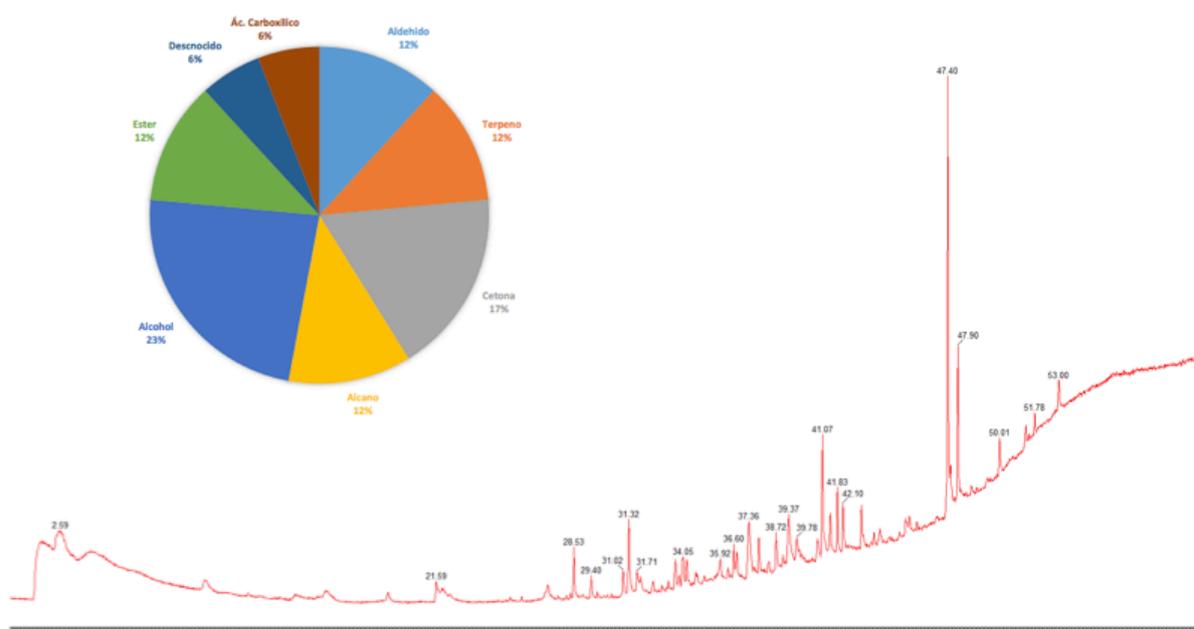


Figura 9. Cromatograma y distribución proporcional de los distintos grupos de compuestos volátiles del micrencapsulado de miel *S. pectoralis* extraídos por HS-SPME/CG-EM.

6.2.2 Actividad antioxidante del microencapsulado de miel *S. pectoralis*

La actividad antioxidante del microencapsulado reconstituido junto con su referencia (miel, maltodextrina y agua) se evaluó por el método de ABTS⁺. Una mayor actividad antioxidante se observó en el polvo reconstituido ($50 \pm 1.03 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$) comparado con la referencia ($39 \pm 1.25 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$). Generalmente un tratamiento con altas temperaturas afecta adversamente la estructura de compuestos fenólicos o compuestos que otorgan la actividad antioxidante, causando la descomposición en diferentes formas (Mishra *et al.*, 2014). Sin embargo, Horuz *et al.* (2012) hace referencia a una mayor capacidad antioxidante en el microencapsulado de jugo de granada al incrementarse la temperatura. Esto posiblemente por la producción de reacciones de pardeamiento no enzimático, tales como la reacción de Maillard, la cual la han asociado con la formación de compuestos con capacidad antioxidante, la oxidación enzimática o química de los polifenoles son generalmente responsables de una pérdida en su capacidad antioxidante; Sin embargo, observaciones recientes sugieren que los polifenoles parcialmente oxidados pueden exhibir mayor actividad antioxidante que la de los fenoles no oxidado (Cai *et al.*, 2008; Tezcan *et al.*, 2009).

Por otra parte, hay que tener en cuenta que los polifenoles, ácido ascórbico y otros compuestos de carbonilo, incluso si se forman durante las reacciones oxidativas puede tomar parte en la reacción de Maillard (Bhandari *et al.*, 1997; Goula *et al.*, 2008). La contribución de estos compuestos para la formación de antioxidantes inducidas por el calor es aún desconocido.

7. CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos de la miel de *Scaptotrigona pectoralis* se encuentran dentro de los parámetros sugeridos por Vit *et al.* (2008) para mieles de abejas sin aguijón.

La fracción volátil de la miel *S. pectoralis* está constituida por 26 compuestos, considerándose como mayoritarios ácido acético, etanol, octadecanol y p-anisaldehído.

La miel *S. pectoralis* presentó una mayor actividad antioxidante con el método ABTS⁺ ($36.00 \pm 1.73 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$) y mayor inhibición contra las bacterias *S. aureus* y *V. cholerae*.

El microencapsulado de la miel *S. pectoralis* presentó buenas características físicas como bajo contenido de humedad, higroscopicidad y alta solubilidad.

El proceso de secado por aspersión no modificó la fracción volátil del microencapsulado de la miel *S. pectoralis* y mejoró la actividad antioxidante ($50 \pm 1.03 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$) por lo que se puede utilizar como un alimento de valor agregado.

8. REFERENCIAS

- Agbagwa, O.; Frank-Peterside, N. (2010) Effect of raw commercial honeys from Nigeria on selected pathogenic bacteria. *African Journal of Microbiology Research*. 4, 1801-1803.
- Aguiar, A.; Peniche, N. (1998). De la miel y las abejas. Gobierno del Estado de Yucatán. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- Ahn, M.; Kumazawa, S.; Usui, Y.; Nakamura, J.; Matsuka, M.; Zhu, F. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*. 1.
- Al-mamary, M.; Al-Meer, A.; Al-Habori M., (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Elsevier Science Inc*. 22. 1041-1047
- Alissandrakis, E.; Tarantilis, P.; Harizanis, P.; Polissiou, M. (2005). Evaluation of four isolation techniques for honey aroma compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85, 91-97.
- Alissandrakis, E.; Tarantilis, P.; Harizanis, P.; Polissiou, M. (2007). Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic–mass spectrometric analysis. *Food Chemistry*. 100, 396-404.
- Aljadi, A.; Kamaruddin, M. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*. 85, 513-518.
- Almeida, B. (2008). Caracterização físico-química e qualidade microbiológica de amostras de mel de abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) do Estado da Bahia, com ênfase em *Melipona* Illiger, 1806. Tesis de doctorado. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" .
- Almeida, I.; Sarmiento, T.; Amorim, C.; Queiroz, N.; Magnani, M.; Nocais, J.; Bastos, L.; Oliveira, E.; Souza, A.; Gouveina, A. (2013). Phenolic profile, antioxidant

-
- activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. *Journal Food Chemistry*. 141, 3552-3558.
- Álvarez, J.; Tulipani, S.; Díaz, D.; Estevez, Y.; Romandini, S.; Giampieri, F.; Damiani, E.; Astolfi, P.; Bompadre, S.; Battino, M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chemical Toxicology*. 48, 2490-2499.
- Anacleto, D.; Souza, B.; Marchini, L.; Moreti, A. (2009). Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille, 1811). *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Campinas)*. 29 (3), 535-541.
- Andrade, P.; Ferreres, F.; Amaral, M.T. (1997). Analysis of honey phenolic acids by HPLC, it's application to honey botanical characterization. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 20, 2281-2288.
- Antony S.; Rieck J.R.; Acton J.; Han I.Y.; Halpin E.L.; Dawson P.L. (2006). Effect of dry honey on the shelf life of packaged turkey slices. *Poultry Science*. 85, 1811-1820.
- AOAC (2003). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th ed., Vol. II, Horwitz, W. (Ed.), Gaithersburg, Maryland, EE.UU.
- Ayala, R. (1999). Revisión de las abejas sin aguijón de México (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Folia Entomológica*. 106, 1-123.
- Bachmann, H. (2007). Estudios preliminares de caracterización de miel de abeja: determinación de carbohidratos por GC/MS y análisis enzimáticos. Tesis de Licenciatura. Universidad Austral de Chile.
- Baltrusaityte, V.; Petras, P.; Ceksteryte, V. (2007). Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chemistry*. 101, 502-514.
-

-
- Baquero, L.; Stamatti, G. (2007). *Cría y Manejo de Abejas sin Aguijón*. Ediciones del Subtrópico. Tucumán, Argentina.
- Bastos, D.; dos Santos, M.; Mendonça, S.; Torres, E. (2009). Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Stingless Bee Honey from Amazon in Comparison to Apis Bee Honey. Nutrition Department, School of Public Health, São Paulo University. 483-486.
- Beghe, W.; Kline, R. (1972). The use of tetrazolium salts in bioautography procedures. *Journal of Chromatography*. 64 (1), 182-184.
- Beristain, C.; Garcia, H.; Vernon-Carter, E. (2001) Spray-dried encapsulation of cardamom (*elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*prosopis juliflora*) gum. *LWT– Food Science and Technology*. 34 (6), 398-401.
- Bhandari, B.R.; Datta, N.; Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology*. 15 (2), 671-684.
- Bhattacharjee, A.; Tandon, D.; Dikshit, A. (20012). Antioxidant activity and quality of spray dried aonla powder as affected by storage behavior of juice. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 73, 607-612.
- Biesmeijer, J. (1997). *Abejas sin aguijón. Su biología y organización de la colmena*. Elinkwijk BV, Utrecht. The Netherlands. 77
- Bogdanov, S. (2009). *Harmonised Methods of the International Honey Commission: Introduction and General Comments on the Methods*, Switzerland.
- Bogdanov, S.; Ruoff, K.; Persano O. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie* 35 (1), S4-S17.
- Boorn. K.; Khor, Y.; Sweetman, E.; Tan, F.; Herd, T.; Hammer, K. (2009). Antimicrobial activity of honey from the stingless bee *Trigona carbonaria* determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology. *Journal of applied microbiology*. 108, 1534-1543.
-

-
- Brudzynski, K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian journal of microbiology*. 52 (12), 1228-1237.
- Cai, Y.; Corke, H. (2008). Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Food Science*. 65 (6), 1248-1252.
- Caliskan, G.; Dirim, S. (2013). The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food and Bioproducts Processing*. 9 (1), 539-548.
- Candelas, M.; Alanís, M.; Bautista, M.; Del Río, F.; García, G. (2005). Lycopene content in spray-dried tomato juice. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 4, 299-307.
- Cano, A.; Arnao, M. (2004). Actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica y contenido en vitamina C de zumos de naranja comerciales: relación con sus características organolépticas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 4 (3), 185-189.
- Carrillo, H.; González, D.; Cruz, J.; Barrera, J.; Román, A.; Pérez, C. (2011). Storage stability and physicochemical properties of passion fruit juice microcapsules by spray-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10 (3), 421-430.
- Castro, L., Díaz-Maroto, C., Pérez, M. (2007). Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. *Food Chemistry*. 103 (2), 601-606.
- Codex Alimentarius Commission: Codex standard 12-1981, Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods. Rome: FAO/WHO. 2001; 2-9.
- Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4), 564-582.
- Crane E. (1980). *A book of honey*. Oxford Univ Press
- Crane, E. (1985). *O Livro do Mel*. 2a edição. São Paulo: Nobel, p. 226.
- Crane, E. (1990). *Bees and Beekeeping: Science, Practice and World Resources*.
-

Oxford, UK: Heinemann Newnes.

- Cuevas, L.; Ortiz, E.; Centurión, A.; Pino, J.; Sauri, E. (2008). Solid-phase micro extraction method development for headspace analysis of volatile compounds in honeys from Yucatan. *Técnica Pecuaria México*. 46 (4), 387-395
- Cuevas, L.; Ortiz, E.; Pino, J.; Sauri, E. (2012). Floral classification of Yucatan Peninsula honeys by PCA & HS-SPME/GC-MS of volatile compounds. *International Journal of Food Science & Technology*. 47, 1378-1383
- Cuevas, L.; Pino, J.; Sosa, O.; Sauri, E.; Bringas, M. (2016). Optimization of the Spray-Drying Process for Developing Stingless Bee Honey Powder. *International Journal of Food Engineering*.
- Chin, S.; Hamid, A.; Quek, S.; Che, Y.; Abdul, R.; Mat, D. (2010). Effect of thermal processing and storage condition on the flavour stability of spray-dried durian powder. *Food Science and Technology*. 43, 856-861.
- Choi, Y.; Noh, D.; Cho, S.; Suh, H.; Kim, K.; Kim, J. (2006) Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT Food Science Technology*. 39 (7), 756-761.
- Dardón, M.; Enríquez, E. (2008). Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. *Interciencia*. 33 (12), 916-922.
- Delmoro, J.; Muñoz, D.; Nadal, V.; Clementz, A.; Pranzetti, V. (2010). El color en los alimentos: determinación de color en mieles. *INVENIO*. 13 (25), 145-152.
- Desai, K.; Park, H.; (2005). Recent development in microencapsulation of foods ingredients. *Drying Technology*, 23 (7), 1361-1394.
- Einbond, L.; Reynertson, K.; Luo, X.; Basile, M.; Kennelly, E. (2004). Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*. 84 (1), 23-28.

-
- Enríquez, E.; Yurrita, C.; Aldana, H.; Ocheíta, J.; Jáuregui, R.; Chau, P. (2004). Desarrollo de la Crianza de Abejas sin Agujón Meliponicultura para el Aprovechamiento y Comercialización de sus Productos, como una Alternativa Económica Sustentable en el Área de El Trifinio, Chiquimula. Proyecto AGROCYT 037-2002.
- Evangelista, A.; Silva, E.; Bezerra, E.; Rodrigues M. (2005). Análises físico-químicas de méis de abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris*. *Ciencia Rural*. 35 (5), 1166- 1171.
- Expósito, I.; Pino, J. (2010). Secado de aromas de alimentos por aspersion. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 20 (1), 62-72.
- Fallas, N.; Solórzano, R.; Zamora, L.; Arias, L.; Umaña, E.; Aguilar, I. (2013). Propiedades medicinales de la miel de abejas sin agujón, de Costa Rica. Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar, Universidad Nacional, San José, Costa Rica.
- Fallico, B.; Zappalá, M.; Arena, E.; Verzera, A. (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*. 85, 305-313.
- Fangio, M.; Iurlina, M.; Fritz, R. (2007). Actividad antimicrobiana de mieles del sudeste de la provincia de Buenos Aires frente a *Escherichia coli*. *Revista Argentina Microbiología*. 39, 120-123.
- Fattori, S. (2004). La miel: propiedades, composición y análisis fisicoquímico. Apimondia
- Felsner, M.; Cano, C.; Bruns, R.; Watanabe, H.; Almeida, L.; Matos, J. (2004). Characterization of monofloral honeys by ash contents through a hierarchical design. *Journal of Food Composition and Analysis* 17 (6), 737-747.
- Fell R.D. (1978). The color grading of honey, *Am. Bee J.* 18, 782-789.
- Ferrari, C.; Pereira, C.; Liserre, A.; Moreno, I.; Marconi, S.; Aguirre, J. (2011). Spray
-

-
- drying of blackberry juice using maltodextrin or gum arabic as carrier agents. 2011 CIGR Section VI International Symposium on towards Sustainable Food Chain Food Process, Bioprocessing and Food Quality Management. Nantes, Francia, 18-20 Abril 2011.
- Finola, M.; Lasagno, M.; Marioli, J. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*. 100 (4), 1649-1653.
- Fonte, L. 2012. Potencialidad antimicrobiana de flores de *Gliricidia sepium* y miel de *Melipona beecheii*. *Pastos y Forrajes*. 36 (3), 345-349.
- Frankel, S.; Robinson, G.; Berenbaum, M. (1998). Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research*. 37 (1), 27-31
- Frías, I.; Hardison, A. (1992). Estudio de los parámetros analíticos de interés en la miel: humedad, acidez e índice de formol, hidroximetilfurfural e índice de diastasas. *Alimentaria*. (232), 71-74.
- Gamboa, M.; Figueroa, J. (2009). Antibacterial power of honeys from *Tetragonisca angustula* assessed by minimum inhibitory concentration. *Acta Biológica Colombiana*. 14 (2), 97-106.
- Gaytan, E. (2009). La altamente efectiva miel de las meliponas. *El Cenzontle*, 18-19.
- Gharsallaoui, A.; Roudaut, G.; Chambin, O.; Voilley, A.; Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International*. 40. 1107-1121.
- Gheldof, N.; Wang, X.; Engeseth, N. (2002). Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (21), 5870-5877.
-

-
- Gianelli, M.; Ponce, M.; Venegas, C. (2010). Volatile compounds in honey produced in the central valley of Ñuble province, Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 70 (1), 75-84.
- Girón, W. (2008). Artículo de revisión: Antimicrobianos. *Revista Facultad de Ciencias Médicas* 5 (2), 70-77.
- González, A.; Estupiñan, S.; Sanjuan, E.; Millan, R. (1998). Parámetros de calidad de la miel: II. Composición química. *Alimentaria*. (297), 117-122.
- González, J.; Quezada, J. (2007). Producción tradicional de miel: abejas nativas sin aguijón (trigonas y meliponas). *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. Uso de Flora y Fauna Silvestre*.
- González, M.; Terrab, A.; Hernanz, D.; Fernández M.; Heredia, F. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and their botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 2574-2580.
- Goula, A.; Adamopoulos, K. (2005). Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder proprieties. *Journal of food engineering*. 66, 35-42.
- Goula, A.; Adamopoulos, K.; Kazakis, N. (2004) Influence of spray drying conditions on tomato powder properties. *Drying Technology*. 22 (5), 1129-1151.
- Goula, M.; Adamopoulo, K. (2010). A new technique for spray drying orange juice concentrate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11, 342-351.
- Grajales, J.; Velázquez, J.; Rincón, M.; Sánchez, D. (2013). Physico-chemical characteriza on of honeys of *Apis mellifera* in three forest landscapes of Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas*. 8 (2), 12-17.
- Guerrini, R.; Bruni, S.; Maietti, F.; Poli, D.; Rossi, G.; Paganetto, M.; Muzzoli, L.; Scalvenzi, G.; Sacchetti, G. (2009). Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. *Food Chemistry*. 114, 1413-1420.
-

-
- Gutiérrez, M.; Rodríguez, A. (2008). Miel de abejas: una fuente de antioxidantes. Departamento Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 12 (1), 39-44.
- Hacek, D.; Dressel, D.; Peterson, L. (1999). Highly reproducible bactericidal activity test results by using a modified national committee for clinical laboratory standards broth macrodilution technique. *Journal of Clinical Microbiology*. 37 (6), 1881-1884.
- Horuz, E.; Altan, A.; Maskan, M. (2012). Spray drying and process optimization of unclarified pomegranate (*Punica granatum*) juice. *Drying Technology*. 30, 787-798.
- https://books.google.com.mx/books?id=bu_1gmY13FIC&printsec=frontcover&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false.
- Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (6), 1841-1856.
- Isada, C.; Bernard, M.; Goldman, M.; Gray, L.; Aber, J. (2002). Infectious diseases handbook including antimicrobial therapy & diagnostic Test/Procedures. Lexi Comp's, Hudson, Ohio, EE.UU.
- Jean- Prost, P.; Le Conte, Y. (2007). Apicultura, Conocimiento de la Abeja. Manejo de la Colmena. Ediciones Mundi Prensa. España.
- Jedlińska A.; Samborska K.; Witrowa-Rajchert D. (2012). Properties of powders received by spray drying and freeze drying of solutions of honey (in Polish). *Acta Agrophysica*. 19 (3), 563-574.
- Karabournioti, S.; Zervalaki, P. (2001). Efecto del calentamiento en el HMF y la invertasa de la miel. *Apiacta*. 36, 177-181.
- Kha, T.; Nguyen, M.; Roach, P. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril poder. *Journal of Food Engineering*. 385-392.
-

-
- Khalil, A.; Khan, I.; Ahmad, K.; Khan, Y.; Khan, J.; Shinwari, Z. (2014). Antibacterial activity of honey in northwest Pakistan against select human pathogens. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 34 (1), 86-89.
- Kosal, A. (2011). Production of spray-dried honey powder and its application in bread. Tesis de Maestría. Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Kumar, A.; Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*. 18, 240-251.
- Kumazawa, S.; Hamasaka, T.; Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*. 84 (3), 329-339.
- Kuskoski, E.; Asuero, A.; Troncoso, J.; Mancini-filho, J.; Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Campinas)*. 25 (4), 726-732.
- Lakkis, J. (2007). Encapsulation and controlled release technologies in food systems. Blackwell Publish. Iowa, EE. UU. 3-9
- Lavandera, I. (2011). Curación de heridas sépticas con miel de abejas wounds. *Revista Cubana de Cirugía*. 50 (2), 187-196.
- Lira, J. D. (2009). Determinación de atributos relevantes de la miel de abeja *Melipona beecheii* de la península de Yucatán. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Mérida, Yucatán.
- López, A.; Lazarova, Z.; Bañuelos, V.; Sánchez, S. (2012). Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. *Revista ANACEM*. 6, 48-53.
- López, M. (2014). Influencia de los factores climáticos sobre el color y el perfil de antioxidantes en las mieles tabasqueñas. Tesis de maestría. Colegio de postgraduados
-

- López, P.; Sierra, R.; Cevallos, T.; Chan, D.; Cuevas, L., Moguel, F.; Ortiz, E. (2011). Propiedades bioquímicas y antimicrobianas de la miel de Melipona del estado de Yucatán.
- Lozano, M. (2009). Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de *opuntia stricta* mediante secado por atomización. Tesis de Licenciatura. Universidad politécnica de Cartagena.
- Lukmanul, F.; Arivazhagan G.; Boopathy, R. (2008). Antioxidant property of selected *Ocimum* species and their secondary metabolite content. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2 (9), 250-257.
- Lumdubwong, N.; Seib, P. (2001). Low and medium-DE maltodextrins from waxy wheat starch: Preparation and properties. *Starch/Stärke*. 53 (10), 570-576.
- Madene, A.; Scher, J.; Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology* 4 (1), 1-21.
- Malacalza, N.; Caccavari, M.; Fagúndez, G.; Lupano, C. (2005). Unifloral honeys of the province of Buenos Aires, Argentine. *Science Food Agriculture*. 85, 1389-1396.
- Malacalza, N.; Caccavari, M.; Fagúndez, G.; Lupano, C. (2005). Unifloral honeys of the province of Buenos Aires, Argentine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85 (8), 1389-1396.
- Manzocco, L.; Calligaris, S.; Masrocola, D.; Nicoli, M.; Lerici, C. (2001). Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science & Technology*. 11, 340-346.
- Martin, K. (2011). Composição e Qualidade de Méis de Abelha Jandaira (*Melipona subnitida*), Efeitos de Estocagem e Comparação com Méis de *Apis mellifera*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciências Farmacêuticas Programa de Pós-

Graduação em Ciência dos Alimentos Área de Bromatologia.

Masters, K. (2004). Applying spray drying to customized powder manufacture. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 12 (6), 744-749.

Mateos, M. (2013). Relación estructura/ Actividad de Proantocianidas procedentes de fuentes naturales de origen vegetal. Tesis de Doctorado. Universidad de Barcelona.

McDermott, D.; Bodeis-Jones, S.; Fritsche, T.; Jones, R.; Walker, R. (2005). Broth microdilution susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and the determination of quality control ranges for fourteen antimicrobial agents. *Clinical Microbiology and Infection*. 43 (12), 6136- 6138.

Medina, L.; García, E.; Calderas, F.; González, R.; Sánchez, E.; Gallegos, J.; Rocha, N.; Rodríguez, J. (2013). Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). *Food Science and Technology*. 50 (2), 642-650.

Mendieta, J. (2002). Comparación de la composición química de la miel de tres especies de abejas (*Apis mellifera*, *Tetragonisca angustula* y *Melipona beecheii*) de El Paraíso, Honduras. Tesis de licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Michener, C. (2000). *The Bees of the World* (Vol. 1). The Johns Hopkins University Press, EE.UU. Acceso en:

Mis, K.; Sundararajan, S.; Alfaro, L.; Sathivel, S. (2012). Development of cantaloupe juice powders using spray drying technology. *Food Science and Technology*. (46), 287-293

Mishra, P.; Mishrab, S.; Lata, C. (2014). Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Embllica officinalis*) juice powder. *Food and Bioproducts Processing*. 92,

252-258.

- Moguel, Y.; Echazarreta, C.; Mora, R. (2005). Physicochemical quality of honey from honeybees *Apis mellifera* produced in the State of Yucatan during different stages of the production process and blossoms. *Revista Técnica Pecuaria en México*. 43 (3), 323-334.
- Molan, P. (1992). The antibacterial nature of honey. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*. 73, 5-28.
- Molina, E. (2012). El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento. *Revisión en Nutrición Clínica*. 6 (3), 1109-1119.
- Montenegro, G.; Salas, F.; Peña, R.; Pizarro, R. (2009). Actividad antibacteriana y antifúngica de mieles mono orales de Quillaja saponaria, especie endémica de Chile. *Revista internacional de Botánica Experimental*. 78, 141-146.
- Moo, V.; González, G.; Lira, J.; Pérez, E.; Estrada, R.; Moo, M.; Sauri, E. (2015). Physicochemical Properties of Melipona beecheii Honey of the Yucatan Peninsula. *Journal of Food Research*. 4 (5).
- Morales, F.; Jimenez-Perez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to color and fluorescence. *Food Science*. 72, 119-125.
- Muñoz, A.; Alvarado, J.; Blanco, T.; Castañeda, B.; Ruíz, J.; Alvarado, Á. (2014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 80 (4), 287-297.
- Ndip, R.; Malange, A.; Echakachi, C.; Malongue, A.; Akoachere, J.; Ndip, L.; Luma, H. (2007). *In-vitro* la actividad antimicrobiana de mieles seleccionadas en aislamientos clínicos de *Helicobacter pylori*. *African Health Sciences*. 7 (4), 228-231.

-
- Ng, W.; Ken, K.; Kumar, R.; Gunasagaran, H.; Chandramogan, V.; Lee, Y. (2014). In-vitro screening of Malaysian honey from different floral sources for antibacterial activity on human pathogenic bacteria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 11(2), 315-318.
- Nishio, E.; Oliveira, A.; Andrade, C.; Proni, E.; Kobayashi, R.; Nakazato, G. (2016). Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836, and *S. postica* Latreille, 1807. *Scientific reports*. 6, 1-8.
- Norma IRAM 15941-2: 2007. Miel. Determinación del color. Parte 2: Método Pfund. Buenos Aires, Editado por Instituto Argentino de Normalización.
- Olaitan, P.; Adeleke, O.; Ola, I. (2007) Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*. 7 (3), 159-165.
- Osmojasola, P. (2002). The antibacterial effect of honey on bacteria isolated from infected wound in Ilorin Nigeria. *Niger. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 2,109-112.
- Özcan, M.; Arslan, D.; Ceylan, D. (2006). Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chemistry*. 99 (1), 24-29.
- Padilla, F.; Rincón, A.; Bou-Rached, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 58 (3), 303-308.
- Padrón, C.; Padrón, G.; Montes, A.; Operaza, R. (2012). Determinación del color en epicarpio de tomates (*Lycopersicum esculentum* Mill.) con sistema de visión computarizada durante la maduración. *Agronomía Costarricense*. 36 (1).
- Pamplona, B. (1989). Exame dos elementos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de *Apis mellifera* e suas relações físico-biológicas. São Paulo. Dissertação (Mestrado)-Instituto de Biologia, Universidade de São Paulo.
-

-
- Parra, R. (2010). Revisión: microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía (Medellín)*. 63 (2), 5669-5684.
- Parthasarathi, S.; Ezhilarasi, P.; Jena, B. Anandharamakrishnan, C. (2013). A comparative study on conventional and microwave-assisted extraction for microencapsulation of *Garcinia* fruit extract. *Food and Bioproducts Processing*. 91 (2), 103-110.
- Persano, L.; Gioia, M.; Pulcini, P. (1999). Invertase activity in honey. *Apidologie*. 30, 57-65.
- Persano, L.; Heard, T.; Rodríguez, A.; Pérez, R.; Fernández, M.; Sancho, M.; Sesta, G.; Lusco, L.; Vit, P. (2008). Short Communication Composition and Antioxidant Activity of *Trigona carbonaria* Honey from Australia. *Journal of Medicinal Food*. 11 (4), 789-794.
- Pichihero, E.; Canuti, L.; Canini, A. (2009). Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 89, 609-616.
- Piljac-Žegarac, J.; Stipčević, T.; Belščak, A. (2009). Antioxidant properties and phenolic content of different floral origin honey. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 1 (2), 43-50.
- Popek, S. (2002). A procedure to identify a honey type. *Food Chemistry*. 79 (3), 401-406.
- Poshadri, A.; Kuna, A. (2010). Microencapsulation technology. A Review. *Journal of Research Angraui*. 38 (1), 86-102.
- Pubchem. ncbi. nlm. nih. gov. (2016). Ethanol CH₃CH₂OH-PubChem. [online] Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702#section=Top> [Acceso 26 sep. 2016].
-

-
- Quek, S.; King, N.; Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing*. 46, 386-392.
- Quezada, J. (2005). Biología y uso de las abejas sin aguijón de la península de Yucatán, México (Hymenoptera: *Meliponini*). Editorial en la Universidad Autónoma de Yucatán.
- Rai, S.; Pechhacker, H.; William, A.; Von Der, W. (2000). Physico-chemical characteristics of *Apis dorsata*, *A. cerana* and *A. mellifera* honey from Chitwan district, central Nepal. *Sciences*. 31, 367-375.
- Rámirez, L.; Marin, D. (2009). Methodologies for evaluating the In vitro antibacterial activity of natural compounds of plant origin. *Scientia et Technic*. (42), 263-268.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Riceevans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26, 1231-1237.
- Rego, J.; Ximenes, R.; Carneiro, J. (2002). Qualidade de méis de *Apis mellifera* através de parâmetros físico-químicos. V Encontro Sobre Abelhas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP. 284.
- Reynertson, K.; Wallace, A.; Adachi, S.; Gil, R.; Yang, H.; Basile, M. (2006). Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *Journal of Natural Products*. 69 (8), 1228-1230.
- Reynertson, K.; Yang, H.; Jiang, B.; Basile, M.; Kennelly, E.J. (2008). Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*. 109 (4), 883-890.
- Rivas, C. (2010). Microencapsulación y estabilización enzimática del jugo de chirimoya. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional.
- Rodríguez, A.; Pérez, E.; Vit, P. (2007). Capacidad antioxidante de mieles venezolanas de los géneros *Apis*, *Melipona* y *Tetragonisca*, evaluada por tres métodos.
-

Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel. 38 (2), 13-18.

- Rodríguez, B. (2012). Caracterización química y evaluación de las actividades antioxidante y antimicrobiana de mieles florales: Naranja, Cactáceas y Campanilla . Tesis doctoral . Universidad Autónoma de Querétaro.
- Rodríguez, D. (2003). Estudio aeropalínológico de la ciudad de Salamanca durante el año 2000. Tesis de Licenciatura. Universidad de Salamanca. Facultad de Biología. Salamanca, España. 124.
- Roginsky, V.; Lissi, E. (2005) Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92 (2), 235-254.
- Ruano, C.; Hernández, M. (2007). Resultados preliminares de la caracterización y ubicación geográfica de productores de abejas nativas sin aguijón (*Apidae: meliponinae*) de El Salvador. *Minerva revista en línea CIC-UES*. (1).
- Russo, A.; Cardile, V.; Sánchez, F.; Troncoso, N.; Vanella, A.; Garbarino, J. (2004). Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. *Life Sciences*. 76 (5), 545-558.
- S. National Committee for Clinical Laboratory, Methodology for the serum bactericidal test. Approved Guideline. Document M21-A, en press. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.
- Salgueiro, F.; Lira, A.; Rumjanek, M.; Castro, R. (2014). Phenolic composition and antioxidant properties of brazilian honeys. *Química Nova* 37 (5), 821-826.
- Samborska, K.; Bieńkowska, B. (2013). Physicochemical properties of spray dried honey preparations. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*. 575, 91-105.
- Samborska, K.; Gajek, P.; Kamińska, A. (2015). Spray Drying of Honey: The Effect of Drying Agents on Powder Properties. *Journal Food Nutrition Sciences*. 65 (2), 109-118.

-
- Sandoval, A.; Rodríguez, E.; Ayala, A. (2004). Encapsulación de aditivos para la industria de alimentos. Universidad del valle, Santiago de Cali, Colombia.
- Sanguansri, L.; Augustin, M. (2010). Microencapsulation in functional food product development. En: Functional Food Product Development. Smith J., Charter E. (Eds.). Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Sawai, J.; Doi, R.; Maekawa, Y.; Yoshikawa T.; Kojima, H. (2002). Indirect conductimetric assay of antibacterial activities. Journal of Industrial Microbiology and Technology. 29, 296-298.
- Schlesier, K.; Harwat, M.; Böhm, V.; Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. Health Sciences. 36 (2), 177-187.
- Schwalbe, R., Steele-Moore, L., Goodwin, A. (2007). Antimicrobial susceptibility protocols. Crc Press.
- Shi, Q.; Fang, Z.; Bhandari, B. (2013). Effect of Addition of Whey Protein Isolate on Spray- Drying Behavior of Honey with Maltodextrin as a Carrier Material. Drying Technology. 31, 1681-1692.
- Silva, M.; Simas, S.; Batista, T.; Cardarelli, P.; Tomassini, T. (2005). Studies on antimicrobial activity, in-vitro, of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 100 (7), 779-782.
- Silva, P.; Stringheta, P.; Teófilo, R.; Rebouças, I.; Oliveira, N. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. Journal of Food Engineering. 117, 538-544.
- Sodré, G.; Marchini, L.; Moreti, A.; Carvalho, C. (2003). Análises multivariadas com base nas características físico-químicas de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) da região litoral norte do Estado da Bahia. Archivos
-

-
- Latinoamericanos de Producción Animal. 11 (3), 129-137.
- Souza, B.; Roubik, D.; Barth, O.; Heard, T.; Enríquez, E.; Carvalho, C.; Villa-Bôas, J.; Marchini, L.; Locatelli, J.; Persano-Oddo, L.; Almeida-Muradian, L.; Bogdanov, S.; Vit, P. (2006). Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia*. 31 (12), 867-875.
- Tezcan, F.; Özgüven, M.; Diken, T.; Özcelik, B.; Erim, F. (2009). Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry*. 115, 873-877.
- Tonon, R.; Brabet, C.; Hubinger, M. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*. 88, 411-418.
- 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, 669-678.
- Türkmen, N.; Sari, F.; Velioglu, S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*. 93, 713-718.
- Vattoune, M.; Quiroga, E.; Sgariglia, M.; Soberón, J.; Jaima, G.; Martínez, M.; Sampietro, D. (2007). Compuestos fenólicos totales, flavonoides, prolina y capacidad captadora de radicales libres de mieles de *Tetragonisca angustula* Fiebrigi (Schwarz, 1938) y de *Pleibeia wittimanni*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 6 (5), 299-300.
- Vit, P (2008). LA miel precolombina de abejas sin aguijón (MELIPONINI), aún no tiene normas de calidad. *Boletín del centro de investigaciones biológicas*. Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. 42 (3), 415-423.
- Vit, P. (2009). Physicochemical characterization of stingless bee (Meliponini) honey
-

- from Venezuela. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*. 40 (2), 7-12.
- Vit, P.; Bogdanov, S.; Kilchenmann, V. (1994). Composition of Venezuelan honeys from stingless bees (Apidae: Meliponinae) and *Apis mellifera* L. *Apidologie*. 25, 278-288.
- Vit, P.; Gutiérrez, M.; Titera, D.; Bednar, M.; Rodríguez, A. (2008). Mieles checas categorizadas según su actividad antioxidante. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 42 (2), 237-244.
- Vit, P.; Medina M.; Enríquez, E. (2004). Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, México and Venezuela. *Bee World*. 85 (1), 2-5.
- Vit, P.; Mejías, A.; Rial, L.; Ruiz, J.; Peña, S.; González, A.; Rodríguez, A.; Arraéz, M.; Gutiérrez, C.; Zambrano, A.; Ortrud, M. (2012). Knowing the melipona favosa honey from Paraguaná Peninsula, Falcon state, Venezuela. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*. 43 (1), 15-19.
- Wang, S.; Langrish, T. (2009). A review of process simulations and the use of additives in spray drying. *Food Research International*. 42, 13-25.
- White, J. (1975). Composition of honey. En: *Honey: A Comprehensive Survey*. Crane, E. (Ed.), Heinemann, London. 180-194.
- White, J. (1979). Methods for determining carbohydrates, hydroxymetilfurfural and proline in honey; collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 62 (3), 515-526.
- Yañez, J.; Salazar, J.; Chaires, I.; Jimenez, J.; Marquez, M.; Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista Avance y Perspectiva* 21, 313-319.
- Zamora, L.; Arias, M. (2011). Calidas microbiológica y actividd antimicrobiana de la

miel de abejas sin aguijón. *Revista Biomédica*. 22 (2), 59-66.

Zuidam, N.; Shimoni, E. (2009). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. En: *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. Zuidam N.J., Nedovi V.A. (Eds.), Springer, Dordrecht, The Netherlands. 3-30.