

INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

BECA DE Estudio **PERIODO** 2015-2016

1. APELLIDO: Salazar

NOMBRES: Valeria Soledad

Dirección Particular:

Localidad: Balcarce **CP:** 7620 **Tel:**

Dirección electrónica (donde desea recibir información): valeriasalazar1988@gmail.com

2. TEMA DE INVESTIGACIÓN (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

"Calidad y tipificación de mieles argentinas mediante espectroscopías vibracionales y cromatografía líquida acoplada a espectroscopía de masas".

3. OTROS DATOS (Completar lo que corresponda)

BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO: Fecha de iniciación: 01/04/2015

2º AÑO: Fecha de iniciación:

BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO: Fecha de iniciación:

2º AÑO: Fecha de iniciación:

4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS

Universidad y/o Centro: Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP)

Facultad: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN)

Departamento: Biología

Cátedra:

Otros: Centro de Investigación en Abejas Sociales (CIAS), Grupo de Investigación de Microbiología Aplicada (GIMA)

Dirección: Calle: Funes N°: 3350

Localidad: Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:** (0223)4752426

5. DIRECTOR DE BECA

Apellido y Nombres: Alonso Salces Rosa María

Dirección Particular: Calle:

Localidad: Necochea **CP:** 7630

Dirección electrónica: rosamaria.alonsosalces@gmail.com

6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO. (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material). Durante el primer año de BECA DE ESTUDIO se llevaron a cabo las siguientes actividades de investigación:

1. Determinación de parámetros fisicoquímicos de la miel: Se emplearon 313 muestras de miel (cosecha 2014-2015), provenientes de las provincias de: Buenos Aires, Chaco, Chubut, Córdoba, Entre Ríos, La Rioja, Rio Negro, Catamarca y Misiones (Argentina). Con el fin de verificar la trazabilidad de las mieles, se registraron las muestras de miel en una base de datos denominada APIDATA, confeccionada por el Grupo de Investigación Microbiología Aplicada GIMA-FCEyN-UNMdP, con las siguientes referencias: Datos de productor, suministrador, cosecha, lote, peso de la muestra, N° de RENAPA, N° de tambor, categoría, origen botánico declarado, origen geográfico/campo, región/provincia/estado, coordenadas geográficas, fecha y tratamiento sanitario realizado en la colmena. Se pusieron a punto y validaron las metodologías a emplear para los análisis físico-químicos de la miel, mediante métodos oficiales establecidos por el Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM). Se efectuaron los siguientes análisis:

Acidez (IRAM 15933), azúcares reductores (IRAM 15934), color (método Pfund) (IRAM 15941-2), contenido de hidroximetilfurfural (IRAM 15937-1), grado de humedad (método de refractometría) (IRAM 15931), pH (IRAM 15938), y conductividad eléctrica (IRAM 15945).

El análisis estadístico de los parámetros físico-químicos obtenidos, demostraron que los valores de acidez total de las mieles fueron inferiores a 40 miliequivalentes/Kg en el 90 % de las muestras analizadas (Máximo permitido por el Código Alimentario Argentino (CAA Art. 783 - Res 2256, 16.12.85). Los valores de conductividad eléctrica, menores de 0.8 mS/cm, indicaron que todas las mieles eran de néctar.

Los valores de pH determinados en mieles diluidas al 10% p/v, oscilaron entre 3.72 y 4.37, correspondientes a mieles de néctar. La colorimetría de las mieles, según la escala de color de Pfund, varió desde tonos ambarinos hasta ámbar oscuro, predominando los tonos ámbar claro y ámbar extra claro. De la relación fructuosa/glucosa, se desprende que el 90% de las mieles analizadas correspondieron a miel de néctar (Relación F/G = 1,14/1), según White (1978 y 1980) el valor medio de la relación F/G es 1,2/1 para miel de néctar. El 90 % de las muestras analizadas presentaron valores de hidroximetilfurfural (HMF) inferiores a 40 mg/kg; el 10 % restante, correspondieron a mieles de temperatura ambiente subtropical-tropical, que no excedieron el valor de 80 mg/Kg de HMF, establecido por el CAA.

La totalidad de las mieles analizadas no superaron el 20% de humedad, ajustándose los valores máximos a los recomendados por el CAA.

2. Optimización y validación de las condiciones experimentales para el análisis de las mieles mediante espectroscopía Raman:

La optimización de los parámetros experimentales Raman, se llevó a cabo utilizando dos tipos de muestras de miel, considerando el estado de cristalización de la miel a temperatura ambiente (RT), i.e, miel líquida y miel sólida. Para la optimización de los parámetros Raman, 5 tubos Raman para cada tipo de miel, fueron acondicionados a las siguientes temperaturas: 40 °C, 4 °C, RT, -18 °C y -80 °C. La potencia del láser fue calibrado a 600, 700 y 800 mW; la posición de la muestra sobre el eje Z, a 100, 110, 120 y 140; la resolución, a 4 u 8 cm⁻¹; y el número de exploraciones, a 8, 16, 32, 64 y 128. En cuanto a la posición de la muestra en el eje Z para la miel líquida, se observa que las señales no evolucionan de la misma manera a lo largo de las diferentes regiones de los espectros Raman: i) En la región de 3000-2800 cm⁻¹, Z tiene una gran influencia: Z aumenta y la intensidad de la señal disminuye; ii) En la región de 1500-1540 cm⁻¹: la intensidad de la señal es la más baja en Z=100, siendo similar

en $Z=110$ y $Z=120$; y finalmente disminuye de nuevo en $Z=140$. Esta tendencia se observa en todas las temperaturas de la muestra estudiada.

En cuanto a la potencia del láser, las intensidades de señal aumentan a medida que aumenta el valor de la potencia. Sin embargo, este parámetro influye de manera diferente sobre las dos regiones del espectro Raman de miel líquida: i) En la región de $3000-2800\text{ cm}^{-1}$, cuando la energía se fija en 700 o 800 mW , los espectros muestran la misma y las más altas intensidades a temperatura ambiente y $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. En contraste, las muestras de temperaturas inferiores muestran la intensidad de señal ligeramente superiores a 800 mW que a 700 mW ; ii) En la región de $1500-1540\text{ cm}^{-1}$, las más altas intensidades de señal se obtienen a 800 mW independientemente de la temperatura de la muestra; potencias de láser de 600 y 700 mW dan las intensidades de señal similares cuando las muestras son RT y $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. En este estudio, la resolución no influye significativamente sobre los espectros Raman de miel líquida a las distintas temperaturas de estudio.

Las condiciones óptimas seleccionadas para la miel líquida fueron: Valor Z : 105 , potencia del láser: 800 mW , resolución: 4 cm^{-1} y el número de exploraciones co-añadido: 128 para cada espectro. Cada espectro se obtuvo en aproximadamente 4 min .

El mismo procedimiento se efectuó para optimizar las condiciones experimentales Raman para la miel sólida. Los espectros obtenidos para la miel sólida a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ fueron similares a los de la miel líquida. Sin embargo, la intensidad de señal para la miel sólida a RT fue menor que para la miel líquida.

Se concluye que las mieles en su estado natural sólidas o líquidas deben ser tratadas experimentalmente bajo las mismas condiciones de medición Raman, a fin de obtener espectros comparables en el análisis de datos, las mieles fueron analizadas en óptimas condiciones de miel líquida (a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$), por lo que todas las mieles deberán presentar el mismo estado cuando sean analizadas.

3. Espectros RAMAN de mieles:

El Espectro FT-Raman de miel presentó una gran banda en las proximidades de la región $3,234\text{ cm}^{-1}$ característico del grupo OH, picos intensos alrededor de $2,941$ y $2,904\text{ cm}^{-1}$, correspondiente a CH y varios picos afilados en los $200-1,500\text{ cm}^{-1}$ (también llamada la región de la huella dactilar) característico de varios grupos químicos (Fernández-Pierna et al., 2011). El Espectro Raman mostró los diferentes compuestos presentes en la miel. Los compuestos principales obtenidos fueron los hidratos de carbono y pequeñas cantidades de proteínas, aminoácidos y ácidos orgánicos, así como también vitaminas y minerales a muy bajo nivel.

4. Análisis de los datos:

Diferentes métodos quimiométricos se aplicaron con el fin de extraer la máxima información de las mieles analizadas. El análisis multivariado de los datos para construir modelos de clasificación de las mieles en función de su origen geográfico se realizó mediante técnicas de reconocimiento de pautas, descriptos en bibliografía (Berrueta et al., 2007): no supervisadas, como el análisis de componentes principales (PCA); y supervisadas, como el análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) y Vectores Soporte (SVM). Además, la regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) se utilizó para crear modelos de calibración para correlacionar los espectros Raman con los parámetros físico-químicos de las mieles. El análisis estadístico y quimiométrico de los datos se efectuó por medio de los paquetes estadísticos software Statistica 6.1 (Statsoft Inc, Tulsa, OK, Estados Unidos, 1984-2004), Unscrambler 9.7 (Camo AS, Oslo, Noruega, 2007), SPSS para Windows (SPSS Inc., 1989-1999); y programas desarrollados en Matlab v.7.0. (The MathWorks, Inc., Natick, MA, EE.UU.).

Bibliografía:

- Berrueta, L. A.; Alonso-Salces, R. M.; Héberger, K., 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 1158, 196-214.
- Fernández-Pierna, J. A.; Abbas, O.; Dardenne, P.; Baeten, V. 2011. Discrimination of Corsican honey by FT-Raman spectroscopy and chemometrics. *Discrimination du miel de corse par spectroscopie FT-Raman et chimie métrique*, 15, 75-84.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.

7.1. PUBLICACIONES. Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA. (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

7.5. COMUNICACIONES. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN. (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)

8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS. (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

8.1. DOCENCIA

8.2. DIVULGACIÓN

8.3. OTROS

9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS. (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

-Presentación en formato póster. Geographical characterization of Argentinean honeys by Raman spectroscopy. Alonso-Salces RM., Fernández-Pierna JA., Abbas O., Salazar V.,

Iglesias Orellano V., Medici S., Baeten V., Fuselli SR. Congreso RAFA 2015. 3-6 de Noviembre de 2015. Praga, República Checa.

-Presentación en formato póster. Método rápido para el análisis de miel por espectroscopía Raman. Salazar V., Alonso Salces RM., Fuselli SR. 2º Congreso Internacional Científico y Tecnológico CIC. 1 de octubre de 2015, La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina.

10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

-Curso "Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)". 9 al 11 de septiembre de 2015. Dictado en conjunto por la Universidad Nacional de Mar del Plata y D' Amico Sistemas S.A. FCEyN-UNMdP.

- Curso "Semi-químicos II. Potenciales aplicaciones en el control de plagas". Dictado por C. Rossini y Dr. A. Gonzalez (Uruguay). 30 de marzo al 1 de abril de 2015. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata.

11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO

12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

Docente adscripta "ad honorem" en la Cátedra "Microbiología de Alimentos" y "Microbiología General". Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias. Primer y Segundo cuatrimestre año 2015 (10 horas semanales).

13. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TÍTULOS ANTERIORES (Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período)

He participado como evaluador entrenado en los paneles de evaluación sensorial de mieles, en el marco del proyecto de investigación: "Calidad y trazabilidad de mieles argentinas", bajo la dirección de la Ing. M. R. Casales / Dra. R. M Alonso Salces/ Dra. S. Fuselli (Marzo 2014 a Diciembre 2015).

14. TÍTULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)

Durante el 2do año de Beca de Estudio se continuará con el desarrollo de métodos rápidos de análisis para la determinación de parámetros fisicoquímicos en miel mediante técnicas espectroscópicas vibracionales, tales como las espectroscopías Raman y de infrarrojo (IR). Y se llevarán a cabo los análisis físico-químicos de mieles correspondiente a la cosecha 2016-2017, a fin de validar las nuevas metodologías de análisis. Asimismo, se iniciarán los estudios sobre autenticación de las mieles argentinas según sus orígenes botánico y/o geográfico, mediante la caracterización de los perfiles polifenólicos de las mieles determinados por cromatografía líquida ultrarrápida acoplada a la espectrofotometría UV-visible y la espectrometría de masas, y mediante técnicas espectroscópicas vibracionales, tales como las espectroscopías Raman y de infrarrojo medio (MIR), y quimiometría. Estas estrategias se utilizarán para evaluar la calidad de mieles argentinas y autenticar sus orígenes botánico y/o geográfico.

Condiciones de Presentación

A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Becario, la que deberá incluir:

- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
- b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
- c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).

Nota: El Becario que desee ser considerado a los fines de una prórroga, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.

.....
Firma del Director

.....
Firma del Becario