

CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE MIELES DE ESPLIEGO Y DE TOMILLO COMERCIALIZADAS EN LA COMUNIDAD VALENCIANA

Sanchis Zapater Lara, Juan Borrás Marisol, Escriche Roberto Isabel¹

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo ha sido la caracterización de la fracción volátil de mieles de espliego (también llamada miel de lavanda) y de tomillo comercializadas en la Comunidad Valenciana. Además, todas las muestras fueron organoléptica y melisopalinológicamente evaluadas, este último con la finalidad de conocer su contenido polínico, especialmente de los géneros *Lavandula sp.* y *Thymus sp.*. Se han identificado (mediante purga y trampa, GC-MS) un total de 33 compuestos volátiles (ácidos, alcoholes, aldehídos, hidrocarburos, cetonas, ésteres, furanos, etc.), concretamente 32 en las mieles de espliego y 27 en las de tomillo. En general, se ha observado una relación evidente entre la presencia de 3 compuestos: hexanol, hexanal y especialmente hotrienol, y la clasificación polínica y organoléptica de las mieles de espliego. Al parecer, estos compuestos participan de forma importante en el aroma característico de las mieles de lavanda y pueden ser útiles para su autenticación. Por el contrario, aunque algunas mieles de tomillo han mostrado ciertas peculiaridades en su fracción volátil (alto contenido en algunos alcoholes) y en sus características organolépticas que las diferencian de las de espliego, en la mayoría de ellas no se han apreciado las características organolépticas típicas de esta variedad. De igual manera, no se ha observado una relación evidente entre el perfil volátil y clasificación de las mieles como de tomillo. Es evidente que la enorme variabilidad de especies botánicas presentes en el género *Thymus* favorece la ambigüedad de las características polínicas, organolépticas y de la fracción volátil de las mieles pertenecientes al mismo.

PALABRAS CLAVE: miel de espliego, miel de tomillo, fracción volátil, análisis polínico, evaluación organoléptica.

RESUM

L'objectiu del present treball ha sigut la caracterització de la fracció volàtil de mels d'espígol i de timó comercialitzades a la Comunitat Valenciana. Totes les mostres han sigut organolepticament i melisopalinològicament avaluades, aquest últim amb la finalitat de conèixer el contingut pol·línic, especialment dels generes *Lavandula sp.* i *Thymus sp.*. S'han identificat (mitjançant purga i trampa GC-MS) un total de 33 compostos volàtils (àcids, alcoholes, aldehids, hidrocarburs, cetones, èsters, furans, etc.), concretament 32 en les mels d'espígol i 27 en les de timó. En general, s'ha observat una relació evident entre la presencia de 3 compostos: hexanol, hexanal i

especialment hotrienol, i la classificació pol·línica de les mels d'espígol. Sembla que aquests compostos participen de forma important en l'aroma característica de les mels d'espígol i poden resultar de gran utilitat per a la seua autenticació. Per contra, encara que algunes mels de timó han mostrat certes peculiaritats en la seua fracció volàtil (alt contingut en alguns alcohols) i en les seues característiques organolèptiques que la diferencien de l'espígol, en la majoria d'elles no s'han apreciat les característiques organolèptiques típiques d'esta varietat. D'igual manera, no s'ha observat una relació evident entre el perfil volàtil i classificació de les mels com de timó. És evident que l'enorme variabilitat d'espècies botàniques presents en el gènere *Thymus* afavoreix l'ambigüitat de les característiques pol·líniques, organolèptiques i de la fracció volàtil de les mels pertanyents al mateix.

PARAULES CLAU: mel d'espígol, mel de timó, fracció volàtil, anàlisi pol·línic, avaluació organolèptica.

ABSTRACT

The aim of this paper has been the characterization of the volatile fraction of lavender and thyme honey commercialized in Comunitat Valenciana. All the samples have been sensory and melissopalynological evaluated, that last with the purpose to know the pollen content, especially of *Lavandula Sp.*. It have been identified (With purge and trap GC-MS) a total of 33 volatiles compounds (acids, alcohol, aldehyde, hydrocarbons, ketones, esters, furans, etc.), specifically 32 in the lavender honeys and 27 in thyme honeys. In the main, have been observed a clear relationship between the presence of three compounds: hexanol, hexanal and hotrienol, and the pollen classification of lavender honeys. It seems that, these compounds are significantly involved in the characteristic fragrance of the lavender honey; they may be useful for his authentication. By contrast, although that some thyme honeys showed certain peculiarities in its volatile fraction (high in some alcohols) and organoleptic characteristics that differ from those of lavender, most of them have not showed the typical organoleptic characteristics of this variety. Similarly, there hasn't been observed a clear relationship between the volatile profile and the classification of the thyme honeys . Clearly, the enormous variability of botanical species in the genus *Thymus* favours ambiguity of volatile compounds, organoleptics and pollinic characteristics belonging to the same honeys.

KEY CONCEPTS: Lavender honey, Thyme honey, volatile fraction, pollen analysis, organoleptic evaluation.

¹ Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD), Departamento de Tecnología de Alimentos (DTAL), Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera 14, 46022 Valencia, España.

1. INTRODUCCIÓN

Las mieles de tomillo y de espliego, aunque de producción escasa, son muy apreciadas por sus características organolépticas (Mateu, 2002). Se trata de mieles muy poco estudiadas, especialmente las recolectadas en el mediterráneo español. Las plantas de tomillo (*Thymus bulgaris*) y espliego (*Lavandula latifolia*), ambas pertenecientes a la familia de las Labiadas, crecen en clima mediterráneo donde forman parte de la vegetación silvestre, compartiendo características ambientales y hábitat botánico. Ambos tipos de mieles tienen como característica común un sabor dulce con notas ácidas, aunque pueden presentar notas saladas cuando se cosechan tarde y/o contienen alguna secreción de mielatos. La miel de tomillo tiene un aroma muy intenso y persistente. Su color oscila entre el ámbar extra claro al ámbar con reflejos rojizos. La miel de espliego posee un aroma inconfundible, muy intenso a lavanda. Su color varía entre el ámbar al ámbar extra claro, siendo más clara cuanto más pura es y más oscura cuanto mayor contenido en mielatos de encina posea.

En la actualidad el sector apícola es consciente de la importancia de incrementar la oferta de mieles monoflorales, especialmente si pertenecen a una determinada procedencia geográfica. Con ello se garantiza una autenticidad y calidad diferenciada, lo que permite a las empresas aumentar su oferta en el mercado.

La monofloralidad de una miel, viene determinada por la especie botánica en la que mayoritariamente las abejas pecorean, ya sea libando el néctar de las flores o los mielatos de las secreciones de las plantas. Una miel se considera monofloral de un determinado origen botánico cuando contiene un porcentaje de polen de dicha especie botánica, en relación al contenido total de polen presente en ella. El porcentaje requerido varía en función de la especie botánica de que se trate, oscilando entre un 10% para las mieles de azahar y romero hasta un 70% para las de eucalipto (Rodríguez de la Cruz et al., 2013). Sin embargo, el análisis polínico o melisopalinológico, realizado para conocer los porcentajes de los pólenes presentes en una miel, tiene el inconveniente de ser un procedimiento tedioso que requiere de mano de obra muy especializada. Además, en ocasiones los pólenes pueden estar hipo e hiperrepresentados, lo que ocasiona problemas en la clasificación botánica de las mieles (Persano Oddo and Piro, 2004). Por este motivo, resulta conveniente apoyar los resultados del análisis polínico con otras determinaciones analíticas, entre las que cabe destacar los análisis fisicoquímicos (Bogdanov et al., 2004; Kadar et al., 2011), organolépticos (González-Viñas et al., 2003; Castro-Vázquez et al., 2009) y de determinados compuestos minoritarios entre los que destaca los integrantes de la fracción volátil.

Todas las mieles tienen un flavor/aroma base particular de este alimento, sin embargo, los distintos néctares de las flores o secreciones de plantas confieren, a los diferentes tipos de mieles monoflorales, un aroma y sabor característico que influye decisivamente en sus características diferenciadoras. Si bien, algunos parámetros fisicoquímicos (color, humedad, acidez, etc.) pueden variar significativamente entre tipos de mieles (Serrano

et al., 2004; Kadar et al., 2011), contribuyendo en cierta medida en sus características organolépticas, es evidente que en las mieles monoflorales el patrón más distintivo es su flavor/aroma. De hecho, más de 300 compuestos volátiles, integrantes del perfil volátil han sido identificados en diferentes tipos de mieles, incluyendo entre otros: ácidos, alcoholes, cetonas, aldehídos, terpenos y ésteres. Sin embargo, hay que tener en cuenta que no todos los ellos tienen un impacto significativo en el aroma de la miel. Además, no siempre la contribución de un determinado compuesto al aroma está relacionado con la concentración en la que se encuentra, de hecho, algunos pueden estar presentes en bajas concentraciones y sin embargo, contribuir notablemente al mismo (Christy E. Manyi-Loh et al., 2011).

En relación a los compuestos volátiles hay que destacar que algunos de ellos pueden provenir de otras fuentes distintas al néctar. En este sentido, ciertos aldehídos ramificados y alcoholes pueden proceder del metabolismo microbiano, y algunos derivados del furano (como el furfural), pueden formarse como metabolitos de las reacciones de Maillard o por la deshidratación de azúcares en un medio ácido, por lo que se pueden considerar buenos indicadores del tratamiento térmico y de las condiciones de almacenamiento de la miel (Wootton et al., 1978; Castro-Vazquez et al., 2006; Escriche, et al., 2008; Castro-Vázquez et al., 2009).

La importancia del conocimiento de la composición de la fracción volátil de las mieles se refleja en los numerosos estudios que se han publicado en las tres últimas décadas (llevados a cabo por GC-MS), tanto en mieles de diferentes procedencias botánicas como geográficas (Bouseta et al., 1992; Palá-Paúl et al., 2004; Sanz et al., 2004; De la Fuente et al., 2005; Cuevas-Glory et al., 2007; Alissandrakis et al., 2005 y 2007; Montenegro et al., 2009; Manyi-Loh et al., 2011; Plutowska et al., 2011). Se ha demostrado que algunas mieles poseen ciertos compuestos específicos, considerados por algunos autores como verdaderas “huellas dactilares (fingerprints)” o “marcadores” de las mismas, que pueden ser de gran utilidad en su clasificación botánica (Serra, 1988; Husler y Montag, 1989; Guyot et al., 1998; Radovic et al., 2001; Verzera et al., 2001; Soria et al., 2002; Guyot-Declerck et al., 2002; Alissandrakis, 2003; Serra y Ventura, 2003; Escriche et al., 2008; Kaskoniene et al., 2010; Castro-Vázquez et al., 2014). Entre estos marcadores destaca el antranilato de metilo (o metilantranilato) en las mieles de azahar, ya que este compuesto solo está presente en el néctar de la flor del naranjo (Serra, 1988; Ferreres et al., 1994); el formaldehído y acetaldehído en las mieles de colza y trébol; el deshidrovomifoliol en la miel de brezo y las dicetonas en la miel de eucalipto (Bouseta y Collin, 1995). Sin embargo, la utilización de marcadores en la clasificación de mieles monoflorales aunque resultaría muy ventajosa, presenta el inconveniente de que no siempre existe consenso en los compuestos más apropiados ni en su concentración. Este hecho es más notorio en ciertas mieles monoflorales procedentes de una gran variedad de especies botánicas o incluso de diferentes zonas geográficas, influenciadas además por prácticas apícolas locales (Castro-Vázquez et al., 2009).

Por este motivo, para la diferenciación de mieles de diferentes orígenes florales se aconseja utilizar de forma conjunta los datos obtenidos del

análisis de compuestos volátiles, con la evaluación organoléptica y el análisis polínico (Persano Oddo and Piro, 2004; Mannas et Altug, 2007; Soto Vargas, 2008; Aboud et al., 2011). Numerosos trabajos han sido publicados en relación al estudio polínico de mieles monoflorales, sobretodo en localizaciones geográficas puntuales de diverso interés (Terra et al., 2004; De Sá-Otero et al., 2006). Sin embargo, existen pocos artículos que analicen el espectro polínico de mieles monoflorales comerciales (Sánchez et al., 1996; Seijo y Aira, 1999; De Sá Otero et al., 2011).

En este sentido, el objeto de este trabajo ha sido caracterizar la fracción volátil de mieles españolas de tomillo y espliego comercializadas en la Comunidad Valenciana y relacionar los compuestos de dicha fracción volátil con el contenido polínico y las características organolépticas de dichas mieles.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Muestras de miel.

En este estudio se analizaron 21 muestras crudas de miel monofloral (11 de espliego, *Lavandula latifolia* y 10 de tomillo, *Thymus sp.*) procedentes de diferentes zonas geográficas de la Comunidad Valenciana. Todas las mieles fueron compradas en comercios valencianos, comprobando en el etiquetado su procedencia geográfica y su monofloralidad.

2.2. Análisis de los compuestos volátiles

La extracción de la fracción volátil de las muestras de miel, se llevó a cabo mediante el método conocido como “purga y trampa” (Overton y Manura, 1994; Escriche et al., 2008).

La preparación de las muestras para la posterior extracción se realizó de la misma forma en el total de las muestras, tanto en las mieles de espliego como en las de tomillo. Se pesaban 20 g de miel en un tubo de vidrio con cuello esmerilado, se añadía 100µL de patrón interno (2-pentanol de 10 ppm) y una cierta cantidad de agua bidestilada en función de la humedad de la muestra. Puesto que la humedad de las muestras analizadas oscilaba entre 13,8 y 19,6 %, se decidió unificar la cantidad de agua presente en las muestras a analizar en un 20%, con la finalidad de que todas tuvieran la misma materia seca. Esto, además, facilitó la homogeneización de la miel con el patrón interno que se realizó agitando el tubo de vidrio en el vórtex durante 5 minutos.

Para la extracción de la fracción volátil de la miel se sumergía el tubo con la miel en un baño termostataado a 45°C durante 20 minutos, asegurándose de que el agua cubriera la totalidad de la muestra presente en el tubo. El gas de arrastre, en nuestro caso nitrógeno, circulaba a través de la muestra con un caudal constante de 100mL/min (verificado con caudalímetro). El burbujeo del gas nitrógeno sobre la muestra facilitaba la liberación de los

compuestos volátiles. En el extremo del montaje se colocaba el Tenax, tubo donde queda atrapada la fracción volátil liberada (relleno con 100 mg del material de adsorción, TenaxTA 20-35 mesh). Transcurridos los 20 minutos se procedía a la desorción de los compuestos, retenidos en la matriz de Tenax, mediante desorción térmica (Turbomatrix TD, Perkin Elmer, Wellesley, USA). La desorción se realizaba bajo flujo de helio a 220°C durante 10 min. Los compuestos volátiles retenidos en la trampa fría a -30°C se transferían directamente a la cabeza de la columna por calentamiento de la trampa fría hasta los 250°C (rampa de temperatura 99°C/s). La separación de estos compuestos se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (Trace GC 2000), equipado con una columna capilar DBWax (SGE) de 60 m longitud, 0,35 mm diámetro interno y 1 µm espesor de fase estacionaria. Los compuestos eran arrastrados por el gas portador (Helio a 1mL min⁻¹), a la vez que se realizaba una rampa de temperatura entre 40°C y 240°C.

Una vez separados los compuestos volátiles, éstos pasaban al espectrómetro de masas (Finnigan TRACE MS, software Xcalibur). El impacto electrónico fue de 70 eV con un rango de masas de m/z 33-433. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

2.3. Identificación y cuantificación de los compuestos volátiles

La identificación de los componentes volátiles se llevó a cabo considerando:

1. Patrones puros, cuando se disponía de ellos, comparado los tiempos de retención de los picos obtenidos en los cromatogramas de las muestras con los de las sustancias patrones comerciales (acetic acid; 2-methyl-1-butanol; hexanal; 2-methyl-3-buten-2-ol; 2-methyl-1-propanol; 3-methyl-3-buten-1-ol; octane; 3-hydroxy-2-butanone; furfural; dimethylsulfide).

2. Utilizando la base de datos de la Librería NIST del software que proporciona el software del GC-MS. Para comentar los resultados y con la finalidad de no crear confusión con la terminología utilizada, en este estudio se ha utilizado el nombre en inglés de los compuestos tal y como aparecen en la librería NIST.

3. Calculando los Índices de retención lineal o Índices de Kovats (ecuación 1) y comparando con tablas bibliográficas (Kondjoyan y Berdagué, 1996). Estos índices se obtienen a partir de los tiempos de retención de un conjunto de alcanos específicos C₈-C₂₀ (Fluka Buchs, Schwiez, Switzerland), que se analizan en las mismas condiciones cromatográficas que las muestras.

$$RI = 100 \frac{tR(i) - tR(z)}{tR(z+i) - tR(z)} + 100z \quad (1)$$

donde: IR=Índice de Kovats; IR(i):Índice relativo de retención de la sustancia i; R(i):Tiempo de retención del alcano z; Z:Número de átomos de carbono en el alcano z; R(z):Tiempo de retención del alcano z; R(z+i):Tiempo de retención del alcano.

Los valores de cada compuesto se expresaron en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de miel. Se trata de una cuantificación relativa al patrón interno (o semicuantificación), calculada a partir de la cantidad de patrón interno incorporado a las muestras, el área del pico de cada compuesto y el área del pico del estándar interno resultante de cada cromatograma de muestra. Se asume que el factor de respuesta es igual a 1 (Castro-Vázquez et al., 2009).

2.4. Análisis polínico

La evaluación organoléptica de las mieles estudiadas y su clasificación mediante el análisis melisopalínológico, o polínico, ha sido realizado por personal experto del laboratorio de Control de Calidad de la miel del Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo de la UPV.

El análisis polínico se llevó a cabo siguiendo el procedimiento recomendado en los métodos de la Comisión Internacional (Von der Ohe et al., 2004). Para ello, se disolvían 10 mg de miel en 20 mL de agua acidulada (H_2SO_4 , 5%), y se realizaba una primera centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos. Tras eliminar el sobrenadante, se añadían otros 10 mL de agua destilada, se agitaba en el vórtex y se procedía a realizar una segunda centrifugación a 3500 rpm durante 5 minutos. Después de eliminar parte del agua, se recogía el polen y se depositaba en un portaobjetos con un capilar. Posteriormente, se secaba en la estufa a 50°C durante aproximadamente 30 minutos. Finalmente, se sellaba con un cubre y una gota de glicerina. Las diferentes estructuras morfológicas presentes en el sedimento se observaron en un microscopio óptico (Zeiss Axio Imager acoplado a una cámara digital DeltaPix), calculándose el porcentaje presente de polen de las especies botánicas *Lavandula latifolia* y *Thymus* sp.. De cada muestra se tomaba nota del porcentaje presente de ambos pólenes, así como de otras especies botánicas si se observaba importante presencia (Gómez-Pajuelo, 2004).

2.5. Evaluación organoléptica

Se realizó una evaluación organoléptica descriptiva de las muestras en base a la intensidad en su percepción de aroma/sabor característico de las variedades de miel objeto de estudio. Esta evaluación se calificó en una escala de 0 a 3. En las Tablas 1 y 2 esta escala se ha representado: 0 (-); 1(+), 2(++) y 3 (+++). Para realizar dicha evaluación, en primer lugar se olía en contenido del frasco que contenía la miel destapándolo ligeramente y acercando la nariz al mismo. Posteriormente, se tomaba una pequeña porción de miel y se colocaba sobre la lengua, diluyéndola con saliva y proyectándola hacia el fondo de la cavidad bucal para apreciar el sabor y los aromas por la vía retronasal. Se tragaba lentamente y se evaluaba, finalmente, el regusto o persistencia. Este procedimiento se siguió de igual forma para todas las muestras (Ciappini, 2002).

2.6. Análisis estadístico

El programa STATGRAPHICS Centurion XV.I (versión 16.1) se utilizó con la finalidad de realizar un análisis de la varianza (ANOVA) ($\alpha=0.05$) para evaluar la existencia de diferencias estadísticamente significativas de cada compuesto entre las muestras de un mismo origen botánico, para ello se consideró como factor el “tipo de muestra”. Mediante el programa Unscrambler version 10 (CAMO 2011) se realizó el análisis de Componentes Principales (PCA) con los valores medios de los compuestos volátiles identificados en las muestras con la finalidad de describir la relación de los compuestos y las muestras evaluadas.

3. RESULTADOS

3.1. Identificación de los compuestos presentes en la fracción volátil de mieles de espliego y tomillo.

Las Tablas 1 y 2 muestran (por orden de sus índices de Kovats, y por lo tanto por orden de tiempos de retención) los compuestos identificados, en la fracción volátil de las mieles de tomillo (27) y espliego (32) analizadas. En ellas se detallan los valores medios de las áreas relativas (con respecto al patrón interno) y la desviación estándar de cada componente identificado para cada muestra analizada. Además para cada compuesto en cada tabla se observa la media y la desviación estándar, así como el valor mínimo y máximo identificado considerando todas las muestras. Las tablas también dan información del ANOVA realizado para cada miel considerando el factor “tipo de muestra”. Es importante destacar, que para un mismo tipo de miel, no todos los compuestos han sido identificados en todas las muestras. Por este motivo, se detalla en una columna el porcentaje de muestras en las que ha sido detectado cada compuesto. La Figura 1, muestra como ejemplo dos cromatogramas, uno de miel de espliego y otro de miel de tomillo. En ellos aparecen numerados todos los compuestos identificados por el mismo orden en el que se muestran en las tablas.

Los siguientes 26 compuestos, agrupados por familias químicas, se han encontrado en la fracción volátil de ambas mieles: 10 alcoholes (isopropyl alcohol; ethanol; 2-butanol; 2-methyl-3-buten-2-ol; 2-methyl-1-propanol; 1-butanol; 2-methyl-1-butanol; 3-methyl-3-buten-1-ol; 2-methyl-2-buten-1-ol; 1-hexanol), 4 cetonas (acetone; 2-butanone; 2,3-butanedione; 3-hydroxy-3-butanone), 3 aldehídos (acetaldehyde; 3-methyl-butanal; hexanal), 3 nitrilos (2-methyl-propanenitrile; acetonitrile; 3-methyl-butanenitrile), 1 ácido (acetic acid), 1 hidrocarburo (octane), 1 furano (furfural), 1 éster (ethy lacetate), 1 compuesto sulfurado (dimethylsulfide) y 1 terpeno (3,7-dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol).

Además de los compuestos anteriores, en una de las muestras de miel de tomillo (M5) se ha encontrado 1 cetona (1-hydroxy-2-propanone) que no aparece en el resto de muestras estudiadas. De igual manera sucede en 2

muestras de miel espliego: en la (M5) aparecen 2 cetonas (3-hepten-2-one; 2,3-pentanedione) y 3 aldehídos (butanal; 2-methyl-butanal; 2-methyl-2-butenal) y en la (M9) 1 cetona (2-pentanone).

En relación a los alcoholes, se han identificado los mismos 10 en los dos tipos de mieles, destacando su presencia en la mayoría de las muestras. El etanol es el alcohol más abundante en ambas mieles. Aunque este alcohol aparece en el 100% de las muestras, es de destacar que es mucho más abundante en las mieles de tomillo, en las que llega a alcanzar valores de 9,7 µg/kg. Otros alcoholes también están presentes en la totalidad de las mieles, concretamente el 2-methyl-3-buten-2-ol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-3-buten-1-ol y el 2-methyl-2-buten-1-ol en las mieles de espliego y el 2-methyl-3-buten-2-ol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-3-buten-1-ol en las mieles de tomillo. Los alcoholes metílicos de 5 átomos de carbono como son el 2-methyl-3-buten-2-ol, el 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-3-buten-1-ol y 2-methyl-2-buten-1-ol, están presentes en los dos tipos de mieles en proporciones semejantes. Al parecer estos alcoholes contribuyen al frescor típico del aroma de este tipo de mieles (Bouseta et al., 1992).

Algunos autores han propuesto al 1-hexanol, entre otros compuestos, como marcador típico de las mieles de lavanda (Christine Guyot-Declerck et al., 2002). De hecho, en el presente estudio el 1-hexanol se ha detectado en el 90,9% de las mieles de espliego y solo en el 30% de las de tomillo. Además, en las muestras de tomillo en las que apareció se encontró en niveles bajos, con la única excepción de la muestra M6. Sin embargo, el análisis polínico de dicha muestra indicó que contenía un 3% de polen de espliego, hecho que puede justificar la presencia del 1-hexanol en esta muestra en niveles más altos que en las demás de tomillo. Estos resultados son coincidentes con el estudio de Christine Guyot-Declerck et al., en 2002.

Respecto a los compuestos pertenecientes a la familia de las cetonas, cuatro de ellos son comunes a los dos tipos de mieles (acetone, 2-butanone, 2,3-butanedione y 3-hydroxy-3-butanone). La acetone está presente en todas las muestras analizadas, siendo más abundante en las mieles de tomillo. Entre las mieles de espliego no hay diferencias significativas en los resultados obtenidos para este compuesto, encontrándose en todas las muestras cercano al 1 µg/kg. Por el contrario, en las de tomillo los valores oscilan desde el 0.8 µg/kg al 5.8 µg/kg, según la muestra analizada. Las diferencias observadas en cuanto al número de cetonas identificadas en los dos tipos de mieles son debidas fundamentalmente a tres muestras concretas, la muestra M5 y M9 de espliego y la M5 de tomillo. En la muestra M5 de espliego se han identificado 2 cetonas (3-hepten-2-one y 2,3-pentanedione) y en la muestra M9 se ha identificado 1 cetona (2-pentanone). De igual modo sucede en la muestra M5 de tomillo, en la que se ha identificado el 1-hydroxy-2-propanone. Estas 4 cetonas no se encontraron en ninguna otra muestra analizada.

En relación a la familia de los aldehídos, se han encontrado diferencias en el porcentaje de muestras que contienen estos compuestos según el tipo miel. El acetaldehyde está presente en un 70% de las mieles de tomillo, mientras que en las de espliego únicamente aparece en el 36.4%. De igual

modo sucede en la presencia del 3-methyl-butanal, es mucho mayor en las mieles de tomillo. Por el contrario, el hexanal es mucho más abundante en las mieles de espliego. Únicamente se ha identificado este compuesto en dos de las muestras de miel de tomillo (M1 y M9). Si comparamos estos resultados con los obtenidos en el análisis organoléptico y polínico, encontramos una relación muy interesante ya que ambas muestras contienen notas aromáticas propias de las mieles de espliego. Además, en la muestra donde el hexanal se encuentra en mayor proporción (M9), el análisis polínico muestra que contiene un 3% de polen de espliego. Estos resultados destacan la posible relación entre el hexanal y el aroma característico de la miel de espliego. Este hecho fue reportado por otros autores (Christine Guyot-Declerck et al., 2002; González Viñas et al., 2003), destacando a este compuesto como uno de los marcadores típicos de las mieles de lavanda. Otros autores consideran el hexanal como el mayor responsable del flavor característico de la miel de espliego (Bouseta et al., 1992; Christy E. Manyi-Loh et al., 2011).

Al igual que sucede en las cetonas, en la muestra M5 de miel de espliego, se han identificado 3 aldehídos (butanal, 2-methyl-butanal, 2-methyl-e-butanal) que no aparecen en el resto de muestras analizadas.

El acetonitrilo ha sido identificado en la totalidad de las muestras, tanto en las mieles de espliego como en las de tomillo. Los resultados del análisis estadístico indican que no existen diferencias significativas entre las muestras de espliego respecto a este compuesto, así como tampoco existen diferencias entre las de tomillo. Los otros dos nitrilos (2-methyl-propanenitrilo; 2-methyl-butanenitrilo) aparecen en porcentajes bajos respecto al total de muestras, siendo ligeramente más abundantes en las mieles de tomillo.

El único ácido encontrado ha sido el ácido acético, con un contenido mayor en la miel de espliego (90.9%) frente al 40% en las muestras de tomillo. No existieron diferencias significativas entre las muestras pertenecientes al mismo origen botánico.

Se ha identificado en ambas mieles un hidrocarburo, el furfural. Es un compuesto derivado del furano y estos normalmente son indicadores del tratamiento térmico o de las condiciones de almacenamiento y no pueden ser considerados buenos indicadores florales (Wootton et al., 1978; Visser et al., 1988; D'Arcy et al., 1997).

El único compuesto sulfurado encontrado, presente en los dos tipos de mieles, ha sido el dimetilsulfuro, si bien su presencia fue superior en la miel de tomillo.

Finalmente, el último compuesto identificado en el cromatograma ha sido un terpeno, el hotrienol (también denominado 3,7-dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol). Se observan grandes diferencias entre ambos tipos de mieles en relación a este compuesto. En las mieles de espliego aparece en un 81,8% de las muestras mientras que en las de tomillo únicamente se ha identificado en una de ellas. Los resultados estadísticos obtenidos para el hotrienol mostraron que no existen diferencias significativas entre las distintas muestras de miel de espliego analizadas. En este estudio, todas las muestras que contenían polen de espliego (tanto las compradas como

espliego como las de tomillo) se ha visto presencia de hotrienol. Esto hace pensar que existe una posible relación entre el origen botánico de la miel y la presencia de hotrienol en el perfil volátil. Concretamente, en dos de las muestras comercializadas como “miel de espliego” no se ha identificado pero tampoco se ha encontrado polen de *Lavandula latifolia*. De igual modo, únicamente se ha detectado este compuesto en una de las mieles comercializadas como “miel de tomillo”, donde el análisis polínico mostró que además de contener polen de tomillo, también contenía un 3% de polen de espliego. Castro-Vázquez et al., en 2009, observaron que el hotrienol, junto con otros alcoholes y aldehídos de seis átomos de carbono, podía estar presente en mieles de diferentes orígenes. Sin embargo, la concentración en la que aparecía estos compuestos en mieles de lavanda es mucho mayor y por tanto, puede contribuir a la diferenciación de este tipo de miel respecto a otras.

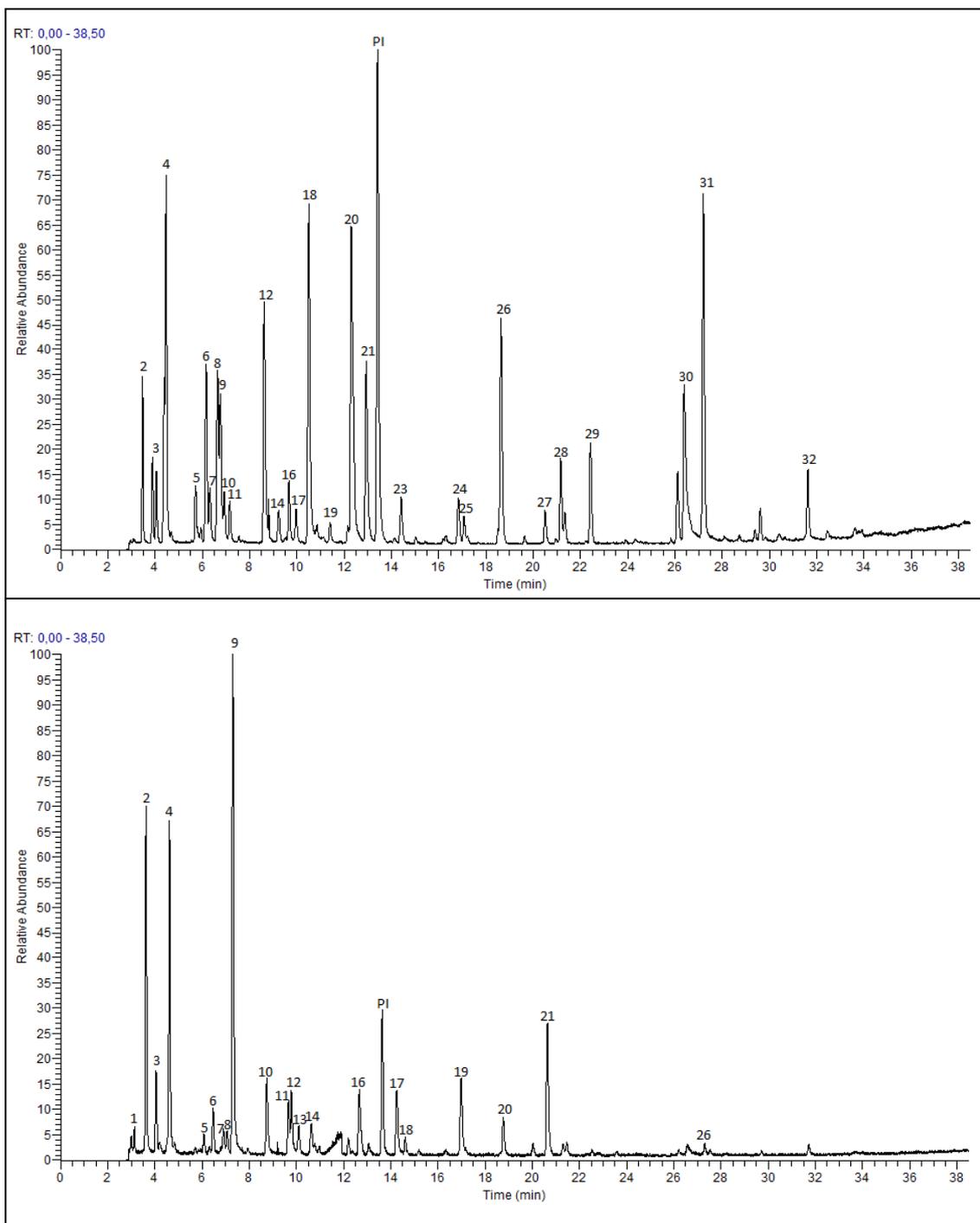


FIGURA 1. Ejemplo de cromatogramas (GC-MS) de los perfiles de compuestos volátiles de mieles de espliego y de tomillo. Los números que aparecen en los picos se corresponden con el orden mostrado para los índices de Kovats de las Tablas 1 y 2.

3.2. Influencia del tipo de miel, contenido polínico y apreciación organoléptica en la fracción volátil

Después de la observación individual de cada compuesto, se ha realizado un análisis PCA considerando conjuntamente la información de todos los compuestos volátiles. Este análisis se ha realizado con la finalidad de evaluar el efecto que, sobre la fracción volátil total, tiene el contenido polínico de los tipos de mieles estudiadas así como su apreciación organoléptica.

La Figura 2 muestra los gráficos del PCA obtenidos: gráfico de las puntuaciones (scores) y el gráfico de cargas (loading). La proximidad de las muestras en el gráfico de scores indica un similar comportamiento en términos de fracción aromática. De la misma manera, la proximidad de los compuestos en el gráfico de loading indica la existencia de un patrón de comportamiento similar entre ellos.

En el gráfico de puntuaciones el componente principal 1 (PC1) influye de forma general en la separación de los dos tipos de mieles, localizándose en la parte izquierda del mismo las muestras correspondientes a la miel de espliego y en la parte derecha la mayoría de las mieles de tomillo. En el gráfico de cargas las muestras vienen representadas por códigos. Estos se han especificado de la siguiente manera: Primero figuran las letras correspondientes a la especie botánica de comercialización (E= espliego; T= tomillo), seguida de un número que corresponde al porcentaje de polen presente en esa muestra (de las especies botánicas anteriores). Posteriormente figura la otra especie botánica (E ó T) y su porcentaje polínico. Además, la presencia de otros pólenes (si estuvieran presentes de forma significativa) viene representada por las iniciales de dicha especie. Después de una barra se han apuntado las notas aromáticas destacables. Por ejemplo, la muestra codificada como E3-T0-gi,bre/BRE significa que de espliego (E) contiene un 3% de polen (3), de tomillo(T) contiene un 0% de polen (0), presencia de pólenes de girasol(gi) y de brezo (bre) y notas aromáticas de brezo (BRE).

En el grupo correspondiente a las muestras de espliego se observa la presencia de una muestra comercializada como tomillo (T6-E3/ESP). Esta muestra tiene un 6% de polen de tomillo y un 3% de polen de espliego y con claras notas de aroma a espliego. A pesar de que su contenido en polen de tomillo es mayor, esta muestra tiene un espectro aromático muy característico a espliego tal y como se observa en el análisis organoléptico (ESP) y en su perfil aromático. En el grupo de las mieles de espliego, sorprende la ubicación de la muestra E1-T26/TOM. Esta muestra a pesar de su alto porcentaje de polen de tomillo y sus notas aromáticas características de la miel de esta variedad, se sitúa junto a las de espliego. Este hecho es debido a su alto contenido en los tres compuestos característicos de la miel de espliego: hotrienol, 1-hexanol y hexanal.

También es de destacar la muestra E1-T8-eu, comercializada como miel de espliego, pero con un contenido polínico del 8% de tomillo se sitúa por su perfil aromático en el grupo de las mieles de tomillo. Por tanto, esta muestra

podría haber sido comercializada como tomillo, ya que ni siquiera presenta notas aromáticas de espliego.

Observando el gráfico de loading se aprecia que algunos alcoholes (1-hexanol, 2-methyl-2-buten-1-ol y 3-methyl 3-buten-1-ol) junto con el acetic acid, el hexanal y el hotrienol, están situados en extremo izquierdo del PC1, correspondiente a las muestras de espliego. Igualmente otros compuestos como el 2-methyl-1-propanol, el ethyl acetate, el 2,3-butanedione y el ethanol, entre otros, están situados en el extremo derecho del PC1 y por lo tanto son más abundantes en la mayoría de las muestras de tomillo. En esta zona, concretamente en la parte superior, se encuentra localizada la muestra de tomillo T11-E0 (correspondiente a M6 en la Tabla 2), que claramente se diferencia del resto de las de su grupo por contener valores especialmente altos de los compuestos anteriormente citados, así como de furfural y 1-butanol.

De forma general, los resultados obtenidos del análisis de los compuestos volátiles en la miel de espliego muestran la relación evidente entre la presencia de 3 compuestos (hexanol, hexanal y especialmente hotrienol) y la autenticidad del origen botánico. Otros autores (Ribereau-Gayon et al., 2000; Castro-Vázquez et al., 2009) ya observaron dicha relación e indicaron que estos compuestos participan de forma importante en el aroma característico de las mieles de lavanda y pueden resultar de gran utilidad para su clasificación.

Por el contrario, aunque algunos compuestos (especialmente alcoholes) aparecen de forma más abundante en ciertas mieles de tomillo, los resultados obtenidos no evidencian una clara relación entre el perfil volátil, el análisis polínico y organoléptico y la pertenencia de una miel a esta variedad. Demet Mannas et al., en 2005, también observaron una gran dispersión en el perfil volátil de las mieles de tomillo. Estos autores atribuyeron esto al hecho de que el tomillo es un género formado por alrededor de 350 especies de hierbas aromáticas perennes y arbustos leñosos.

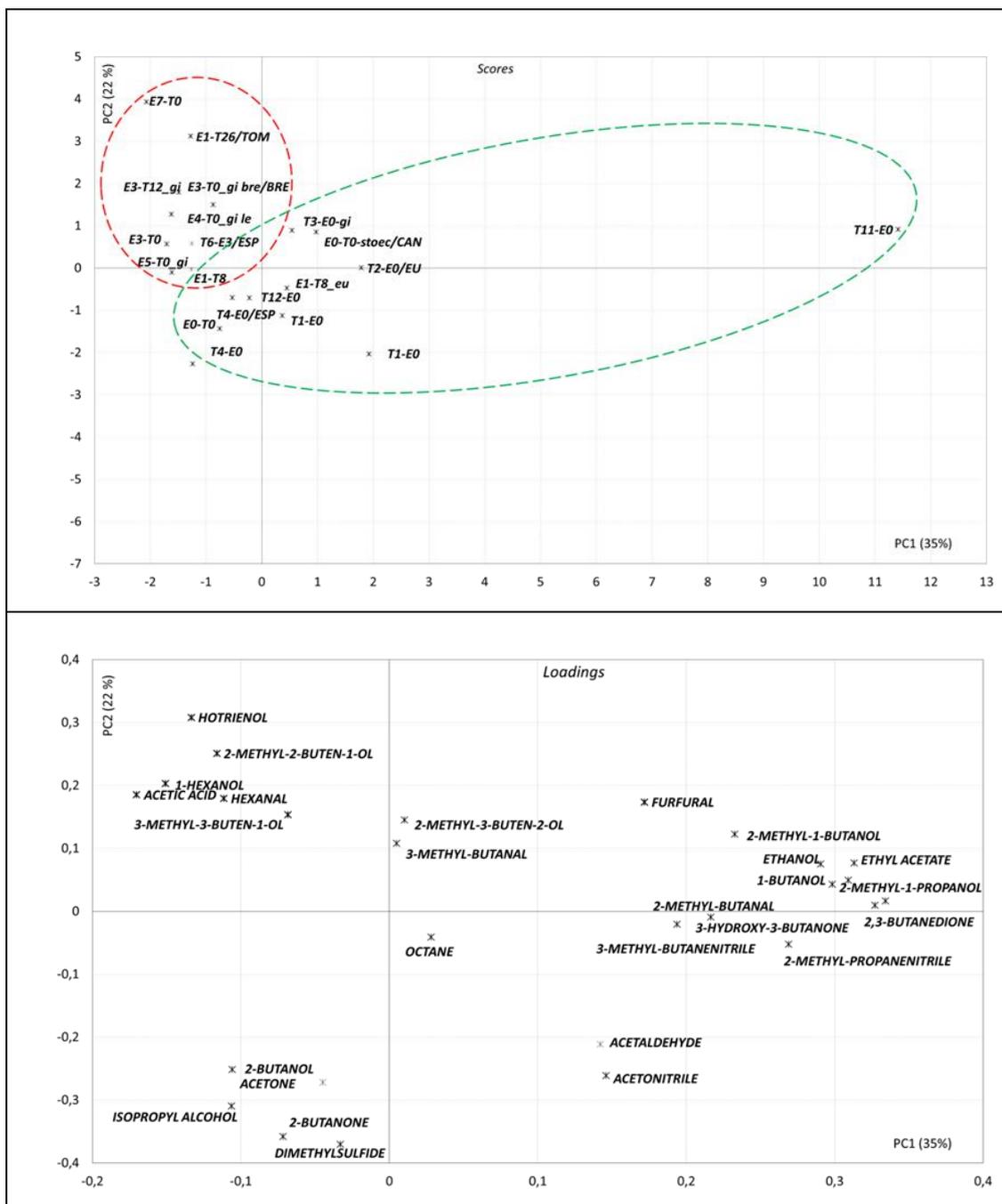


FIGURA 2. Análisis de Componentes Principales realizado sobre los compuestos volátiles identificados. (a) Gráfico de puntuaciones para las distintas muestras (scores); (b) Gráfico de cargas (loadings) para los distintos compuestos. El sistema de codificación de las muestras se encuentra en el texto (pág. 13).

TABLA 1. Compuestos volátiles (µg/kg), organoléptico y polínico para las muestras de miel de espliego.

Semicuantificación de compuestos volátiles asumiendo un factor de respuesta de 1; (1) Porcentaje de muestras en las que ha sido detectado el compuesto; (2) Índices de Kovats calculados; (3) Nivel de significación (α): NS=no significativo; *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; (4) Clasificación del flavor en función de la intensidad.

		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11					
ANÁLISIS COMPUESTOS VOLÁTILES																	
	% (1)	IK (2)											X (SD)	MIN	MAX	Razón-F (3)	
ACETALDEHYDE	36,4		n.d.	0,08(0,05)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,24(0,12)	0,41(0,15)	0,24(0,07)	0,09(0,15)	-	0,52	9,00***	
DIMETHYLSULFIDE	90,9	675	0,63(0,21)	0,79(0,52)	1,19(0,15)	1,70(0,27)	0,22(0,03)	0,53(0,07)	1,04(0,32)	n.d.	1,20(0,03)	0,73(0,05)	2,34(1,03)	-	3,07	5,44**	
OCTANE	100,0	801	0,55(0,05)	0,20(0,11)	0,39(0,08)	0,18(0,05)	0,14(0,02)	0,17(0,04)	0,18(0,001)	0,10(0,14)	0,26(0,05)	0,18(0,05)	0,26(0,05)	-	0,58	6,79**	
ACETONE	100,0	829	1,79(0,52)	1,06(0,32)	1,20(0,13)	1,07(0,24)	0,83(0,11)	0,76(0,12)	0,89(0,31)	0,58(0,83)	1,11(0,10)	1,02(0,11)	1,03(0,40)	-	2,16	1,37 ^{NS}	
BUTANAL	9,1	893	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,12(0,02)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	0,12	115,02***	
ETHYL ACETATE	63,6	905	n.d.	0,20(0,07)	0,13(0,01)	n.d.	0,36(0,05)	0,28(0,02)	0,24(0,02)	0,03(0,04)	0,02(0,02)	n.d.	n.d.	-	0,4	33,24***	
2-BUTANONE	90,9	917	0,17(0,01)	0,14(0,02)	0,26(0,03)	0,23(0,03)	0,10(0,01)	0,22(0,01)	0,16(0,04)	0,17(0,01)	0,24(0,04)	n.d.	0,23(0,05)	-	0,29	16,24***	
2-METHYL-BUTANAL	9,1	928	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,33(0,04)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	0,33	115,15***	
3-METHYL-BUTANAL	36,4	932	n.d.	0,19(0,13)	0,16(0,05)	n.d.	0,31(0,06)	n.d.	n.d.	n.d.	1,08(0,10)	n.d.	n.d.	-	1,15	69,88***	
ISOPROPYL ALCOHOL	72,7	940	n.d.	n.d.	0,21(0,01)	0,26(0,05)	0,09(0,01)	0,11(0,003)	0,14(0,03)	0,11(0,01)	0,19(0,0004)	n.d.	0,33(0,24)	-	0,49	3,88*	
ETHANOL	100,0	950	1,09(0,20)	2,03(0,65)	2,57(0,17)	1,75(0,37)	0,07(0,01)	3,12(0,51)	3,36(0,47)	1,77(0,53)	1,16(0,20)	4,67(0,80)	1,28(0,34)	0,06	5,23	16,00***	
2,3-BUTANEDIONE	81,8	1000	0,45(0,09)	0,21(0,15)	0,32(0,07)	n.d.	0,53(0,07)	0,31(0,05)	0,26(0,02)	0,21(0,29)	n.d.	0,50(0,07)	0,32(0,01)	-	0,58	4,42*	
2-PENTANONE	9,1	1001	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,13(0,01)	n.d.	n.d.	-	0,13	113400***	
3-HEPTEN-2-ONE	9,1	1015	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,07(0,01)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	0,07	116,12***	
2-METHYL-PROPANENITRILE	18,2	1022	n.d.	n.d.	0,33(0,12)	n.d.	n.d.	0,01(0,01)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	0,42	14,07***	
ACETONITRILE	100,0	1029	0,64(0,38)	0,26(0,13)	0,39(0,07)	0,32(0,10)	0,12(0,02)	0,26(0,01)	0,28(0,03)	0,40(0,21)	0,33(0,001)	0,49(0,07)	0,46(0,23)	0,11	0,91	1,45 ^{NS}	
2-BUTANOL	81,8	1039	n.d.	1,93(1,37)	0,17(0,03)	1,66(0,25)	0,07(0,01)	0,32(0,02)	0,45(0,004)	0,57(0,01)	2,13(0,08)	n.d.	1,45(0,23)	-	2,18	5,17**	
2-METHYL-3-BUTEN-2-OL	100,0	1055	0,25(0,002)	1,32(1,21)	0,22(0,06)	0,98(0,23)	0,77(0,10)	0,66(0,02)	0,55(0,09)	0,26(0,37)	0,42(0,08)	0,51(0,01)	0,36(0,51)	-	2,17	1,15 ^{NS}	
2,3-PENTANEDIONE	9,1	1079	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,04(0,01)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	0,04	115,85***	
HEXANAL	54,5	1091	0,41(0,07)	0,45(0,32)	n.d.	n.d.	0,84(0,11)	0,11(0,16)	n.d.	0,01(0,02)	n.d.	n.d.	0,27(0,39)	-	0,92	4,66*	
2-METHYL-1-PROPANOL	100,0	1113	0,43(0,0001)	0,65(0,02)	0,53(0,03)	0,73(0,04)	0,42(0,06)	1,14(0,09)	0,86(0,05)	0,39(0,01)	0,56(0,04)	0,80(0,04)	0,68(0,05)	0,38	1,2	46,60***	
3-METHYL-BUTANENITRILE	9,1	1158	n.d.	n.d.	0,47(0,06)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	0,52	103,59***	
1-BUTANOL	90,9	1167	0,14(0,01)	0,41(0,01)	0,13(0,02)	n.d.	0,11(0,02)	0,11(0,02)	0,23(0,05)	0,10(0,001)	0,04(0,06)	0,18(0,04)	1,07(0,16)	-	1,18	50,37***	
2-METHYL-1-BUTANOL	100,0	1225	0,29(0,05)	0,84(0,08)	0,78(0,01)	0,95(0,08)	0,22(0,18)	1,62(0,05)	1,37(0,11)	0,61(0,01)	1,15(0,18)	1,01(0,01)	0,82(0,03)	0,1	1,66	40,69***	
2-METHYL-2-BUTENAL	9,1	1227	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,14(0,13)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	0,14	2,54 ^{NS}	
3-METHYL-3-BUTEN-1-OL	100,0	1272	0,19(0,04)	0,36(0,02)	0,35(0,02)	1,13(0,09)	0,69(0,28)	1,02(0,07)	0,64(0,11)	0,65(0,06)	0,72(0,26)	0,52(0,03)	0,36(0,004)	0,16	1,13	8,07**	
3-HYDROXY-3-BUTANONE	100,0	1322	0,25(0,12)	0,17(0,07)	0,96(0,17)	0,43(0,10)	0,06(0,04)	0,41(0,14)	0,27(0,12)	0,49(0,01)	0,28(0,05)	0,15(0,01)	0,13(0,16)	-	1,08	11,10***	
2-METHYL-2-BUTEN-1-OL	100,0	1343	0,08(0,05)	0,10(0,07)	0,12(0,03)	0,27(0,08)	0,25(0,12)	0,89(0,08)	0,33(0,11)	0,32(0,08)	0,31(0,14)	0,23(0,01)	0,07(0,09)	-	0,95	14,34***	
1-HEXANOL	90,9	1383	0,76(0,18)	0,30(0,09)	0,08(0,04)	0,15(0,12)	0,37(0,25)	0,33(0,09)	0,39(0,05)	0,52(0,03)	0,14(0,14)	n.d.	0,12(0,11)	-	0,88	6,46**	
ACETIC ACID	90,9	1481	0,11(0,01)	0,40(0,15)	0,16(0,18)	0,27(0,10)	0,46(0,08)	0,21(0,05)	0,25(0,01)	0,10(0,14)	0,24(0,07)	n.d.	0,28(0,22)	-	0,52	2,52 ^{NS}	
FURFURAL	63,6	1503	n.d.	0,14(0,10)	0,13(0,04)	0,49(0,20)	1,34(0,92)	n.d.	0,16(0,05)	n.d.	n.d.	0,89(0,10)	0,17(0,003)	-	1,99	4,38*	
HOTRIENOL	81,8	1630	0,07(0,06)	0,19(0,14)	0,16(0,06)	0,12(0,15)	0,41(0,39)	0,39(0,11)	0,15(0,04)	0,26(0,10)	0,23(0,19)	n.d.	n.d.	-	0,69	1,79 ^{NS}	
EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA																	
FLAVOR CARACTERÍSTICO (4)			++	+++	-	+	+++	-	-	++	+++	-	-				
Notas aromáticas distintivas de otros tipos de miel			-	-	-	-	-	Tomillo	Brezo	-	-	Cantueso	-				
ANÁLISIS POLÍNICO																	
Presencia del polen del origen botánico (Lavandula latifolia)			SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO				
% polen (Lavandula latifolia)			1%	3%	1%	3%	7%	1%	3%	4%	5%	0%	0%				
% polen de miel de tomillo (Thymus sp.)			8%	12%	8%	-	-	26%	-	-	-	-	-				
Otras presencias destacables			-	Girasol	Eucalipto	-	-	-	Girasol	Brezo	Girasol Leguminosas	Girasol	L.stoechas	-			

TABLA 2. Compuestos volátiles (µg/kg), evaluación organoléptica y análisis polínico de muestras de miel de tomillo.

Semicuantificación de compuestos volátiles asumiendo un factor de respuesta de 1; (1) Porcentaje de muestras en las que ha sido detectado el compuesto; (2) Índices de Kovats calculados; (3) Nivel de significación (α): NS=no significativo; *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; (4) Clasificación del flavor en función de la intensidad.

		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10						
ANÁLISIS COMPUESTOS VOLÁTILES														X (SD)	MIN	MAX	Razón-F ⁽³⁾
	% ⁽¹⁾	IK ⁽²⁾															
ACETALDEHYDE	70,0		0,25(0,06)	n.d.	n.d.	0,31(0,22)	n.d.	0,36(0,01)	0,25(0,06)	0,19(0,27)	0,18(0,13)	0,41(0,21)	0,17(0,17)	-	0,55	2,39 ^{NS}	
DIMETHYLSULFIDE	100,0	675	0,52(0,12)	0,94(0,08)	1,66(1,17)	2,09(0,32)	1,30(0,38)	0,64(0,14)	1,48(0,02)	0,92(0,04)	0,70(0,19)	10,23(6,02)	1,96(3,19)	-	14,48	4,55*	
OCTANE	90,0	801	0,19(0,01)	0,35(0,10)	0,49(0,18)	0,27(0,03)	0,27(0,06)	0,20(0,02)	0,48(0,009)	0,30(0,04)	0,21(0,04)	n.d.	0,28(0,15)	-	0,62	8,16**	
ACETONE	100,0	829	1,10(0,15)	5,18(0,81)	1,82(0,09)	2,54(0,22)	0,85(0,002)	1,00(0,28)	1,66(0,06)	0,94(0,07)	1,99(0,44)	2,60(1,12)	1,97(1,31)	0,8	5,75	14,87***	
ETHYL ACETATE	30,0	905	0,28(0,02)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,10(1,15)	0,18(0,04)	n.d.	n.d.	n.d.	0,46(1,28)	-	4,91	24,82***	
2-BUTANONE	80,0	917	0,22(0,03)	0,51(0,11)	0,33(0,03)	0,22(0,16)	n.d.	0,14(0,004)	0,35(0,02)	n.d.	0,22(0,001)	0,66(0,10)	0,25(0,21)	-	0,72	18,39***	
3-METHYL-BUTANAL	70,0	932	n.d.	0,69(0,19)	0,27(0,28)	0,32(0,23)	0,49(0,29)	0,64(0,13)	0,21(0,05)	0,26(0,06)	n.d.	n.d.	0,27(0,28)	-	0,82	4,83*	
ISOPROPYL ALCOHOL	60,0	940	0,11(0,01)	0,26(0,19)	n.d.	0,26(0,18)	n.d.	n.d.	0,22(0,07)	n.d.	0,20(0,29)	0,46(0,15)	0,12(0,17)	-	0,56	2,36 ^{NS}	
ETHANOL	100,0	950	2,60(0,10)	0,48(0,13)	3,75(0,21)	5,00(0,80)	4,82(0,37)	9,70(0,30)	3,15(0,12)	6,84(0,58)	2,26(0,66)	0,84(0,25)	3,94(2,74)	0,39	9,91	87,08***	
2,3-BUTANEDIONE	100,0	1001	0,25(0,01)	0,56(0,12)	0,74(0,08)	0,30(0,01)	1,09(0,20)	2,94(0,768)	0,62(0,04)	0,71(0,01)	0,18	0,50(0,01)	0,82(0,81)	0,18	3,48	17,15***	
2-METHYL-PROPANENITRILE	30,0	1022,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,32(0,02)	1,52(0,37)	0,36(0,01)	n.d.	n.d.	n.d.	0,22(0,47)	-	1,79	32,77***	
ACETONITRILE	100,0	1029,3	0,67(0,15)	0,33(0,09)	0,51(0,19)	0,44(0,12)	0,71(0,05)	0,61(0,15)	0,41(0,04)	0,43(0,07)	0,29(0,01)	0,68(0,22)	0,51(0,17)	0,27	0,84	2,9 ^{NS}	
2-BUTANOL	70,0	1039,5	0,47(0,04)	n.d.	0,36(0,02)	0,75(0,03)	n.d.	n.d.	0,24(0,02)	0,21(0,01)	0,68(0,48)	4,10(0,33)	0,65(1,21)	-	4,34	88,38***	
2-METHYL-3-BUTEN-2-OL	100,0	1055,5	0,31(0,03)	0,37(0,005)	0,56(0,05)	0,87(0,01)	0,44(0,01)	0,74(0,06)	0,37(0,02)	0,62(0,02)	0,67(0,15)	0,58(0,10)	0,55(0,18)	0,29	0,88	15,92***	
HEXANAL	20,0	1090,5	0,35(0,03)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,73(0,51)	n.d.	0,07(0,19)	-	0,73	1,69 ^{NS}	
2-METHYL-1-PROPANOL	100,0	1113,4	0,76(0,09)	0,32(0,03)	0,57(0,03)	1,47(0,03)	0,48(0,01)	4,02(0,77)	0,61(0,01)	0,59(0,10)	0,45(0,032)	0,66(0,05)	0,99(1,09)	0,29	4,56	39,84***	
3-METHYL-BUTANENITRILE	30,0	1157,6	n.d.	0,14(0,20)	n.d.	n.d.	n.d.	0,72(0,10)	0,55(0,014)	n.d.	n.d.	n.d.	0,14(0,27)	-	0,79	27,29***	
1-BUTANOL	50,0	1167,2	n.d.	0,10(0,14)	n.d.	0,31(0,04)	n.d.	3,27(0,38)	0,14(0,03)	n.d.	0,24(0,01)	n.d.	0,41(0,99)	-	3,54	126,42***	
2-METHYL-1-BUTANOL	100,0	1225,5	0,73(0,03)	0,32(0,02)	0,45(0,06)	0,94(0,07)	0,38(0,03)	2,47(0,16)	0,75(0,04)	0,66(0,01)	0,49(0,03)	0,48(0,03)	0,77(0,61)	0,31	2,59	190,34***	
3-METHYL-3-BUTEN-1-OL	100,0	1272,2	0,20(0,03)	0,50(0,03)	0,65(0,08)	0,83(0,001)	0,33(0,01)	0,42(0,05)	0,41(0,01)	1,06(0,04)	0,55(0,04)	0,47(0,03)	0,54(0,25)	0,18	1,09	78,91***	
3-HYDROXY-3-BUTANONE	80,0	1321,9	0,29(0,19)	n.d.	n.d.	0,21(0,02)	0,31(0,15)	1,24(0,98)	1,36(0,12)	0,22(0,03)	0,57(0,003)	0,20(0,09)	0,44(0,52)	-	1,89	4,33*	
1-HYDROXY-2-PROPANONE	10,0	1335,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,20(0,11)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,02(0,06)	-	0,20	6,75**	
2-METHYL-2-BUTEN-1-OL	60,0	1343,1	0,10(0,03)	0,15(0,01)	0,31(0,06)	0,23(0,03)	n.d.	n.d.	n.d.	0,38(0,020)	0,23(0,01)	n.d.	0,14(0,14)	-	0,39	63,73***	
1-HEXANOL	30,0	1382,6	0,11(0,05)	0,16(0,11)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,38(0,04)	n.d.	0,06(0,12)	-	0,41	17,84***	
ACETIC ACID	40,0	1481	0,34(0,25)	0,26(0,18)	n.d.	0,14(0,10)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,19(0,13)	n.d.	0,06(0,13)	-	0,52	1,86 ^{NS}	
FURFURAL	60,0	1502,9	n.d.	n.d.	0,14(0,06)	0,15(0,01)	1,27(0,16)	1,13(0,67)	0,17(0,04)	0,19(0,02)	n.d.	n.d.	0,31(0,49)	-	1,61	9,52***	
HOTRIENOL	10,0	1630,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,15(0,03)	n.d.	0,02(0,05)	-	0,17	53,07***	
EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA																	
FLAVOR CARACTERÍSTICO ⁽⁴⁾			-	++	+	+	-	-	-	-	-	-	+				
Notas aromáticas distintivas de otros tipos de miel			Espliego	-	-	-	Eucalipto	-	-	-	-	Espliego	-				
ANÁLISIS POLÍNICO																	
Presencia del polen del origen botánico (Thymus sp.)			SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI				
% polen (Thymus sp.)			4%	4%	12%	1%	2%	11%	1%	3%	6%	3%					
% polen de miel de espliego (Lavandula latifolia)			-	-	-	-	-	-	-	-	3%	-					
Otras presencias destacables			-	-	-	-	-	-	-	Girasol	-	-					

4. CONCLUSIONES

El perfil de compuestos volátiles identificados junto con la evaluación organoléptica y el análisis polínico, ha permitido caracterizar las mieles de espliego estudiadas. En ellas se ha visto una relación evidente entre la presencia de 3 compuestos (hexanol, hexanal y especialmente hotrienol), y la pertenencia de las mismas a este origen botánico. Al parecer, estos compuestos participan de forma importante en el aroma característico de las mieles de lavanda y pueden resultar de gran utilidad para su autenticación. Por el contrario, los resultados obtenidos de las muestras de miel de tomillo no evidencian una clara relación entre el perfil volátil y la pertenencia de una miel a esta variedad, posiblemente debido a la enorme variabilidad de especies botánicas presentes en este género.

Del presente estudio se concluye que las mieles monoflorales de espliego y tomillo que se comercializan no siempre tienen las características típicas que se esperaría de ellas para poder ser definidas como tal. Esto hace pensar que en la Comunidad Valenciana deberían redactarse otros reglamentos de Marcas de Calidad "CV", de igual modo a los ya existentes para la miel de romero y naranjo (DOGV nº3273, de 26/6/98). Esto implicaría una enorme ventaja para las empresas del sector por el importante valor añadido que se conseguiría para las mieles de nuestra comunidad.

5. REFERENCIAS

- Aboud, F.; De Pasquale, C.; Sinacori, A.; Massi, S.; Conte, P.; Alonzo, G. (2011). Palynological, physico-chemical and aroma characterization of Sicilian honeys. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(4), 164-173.
- Alissandrakis, E.; Daferera, D.; Tarantilis, P.A.; Polissiou, M.; Harizanis, P.C. (2003). Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chemistry*, 82, 575-582.
- Alissandrakis, E.; Tarantilis, P.A.; Harizanis, P.C.; 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.A.; Harizanis, P.C.; Polissiou, M. (2007). Comparison of the Volatile Composition in Thyme Honeys from Several Origins in Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8152-8157.
- Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63(4), 549-562.
- Bogdanov, S.; Ruoff, K.; Persano Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35, 4-17.
- Bouseta, A.; Collins, S.; Dufour, J.P. (1992). Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with dynamic headspace GC-MS system. *Journal of Apicultural Research*, 31, 96-109.
- Bouseta, A.; Collin, S. (1995). Optimized Likens-Nickerson methodology for quantifying honey flavors. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 43, 1890-1897.
- Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M.C.; Pérez Coello, M.S. (2006). Volatile composition and contribution to the aroma of Spanish honeydew honeys. Identification Of a new chemical marker. *Food Chemistry*, 54, 4809-4813.
- Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M.C.; González-Viñas, M.A.; Pérez Coello, M.S. (2009). Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather

- honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. *Food Chemistry*, 112, 1022-1030.
- Castro-Vázquez, L.; Leon-Ruiz, V.; Alañon, M.E.; Pérez-Coello, M.S.; González-Porto, A.V. (2014). Floral origin markers for authenticating Lavandin honey (*Lavandula angustifolia* x *latifolia*). Discrimination from Lavender honey (*Lavandula latifolia*). *Food Control*, 37, 362-370.
- Ciappini, M.C. (2002). Identificación y selección de descriptores para establecer el perfil completo de mieles. *Alimentaria*, octubre 02, 141-146.
- Cuevas Glory, L.F.; Pino, J.A.; Santiago, L.S.; Sauri-Duch, E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 1032-1043.
- Decreto 91/1998, de 16 de junio, del Gobierno Valenciano, por el que se aprueba el Reglamento de la Marca de Calidad "CV" para Productos Agrarios y alimentarios. (DOGV nº 3273, de 26/6/98).
- De la Fuente, E.; Martínez-Castro, I; Sanz, J. (2005). Characterization of Spanish unifloral honeys by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 28,1093-1100.
- Escriche, I.;Visquert, M.; Juan-Borrás, M.; Fito, P. (2008) Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. *Food Chemistry*, 112, 329-338.
- Ferreres, F.; Giuer, J.M.; Tomás-Barberán, F.A.(1994)."A comparison study of hesperetin and methyl anthranilate as markers of the floral origin of citrus honey", *Journal Food Agriculture*, 65, 371-372.
- Gómez-Pajuelo, A. (2004). Miel de España y Portugal, ed. by Montagud Barcelona, España.
- González Paramás, A.M.; Sánchez Sánchez, J. (2008). Caracterización botánica y/o geográfica de mieles. 15º congreso internacional de actualización apícola. 28-31pp.
- González-Viñas, M.A.; Moya, A.; Cabezudo, M.A. (2003).Description of the sensory characteristics of spanish unifloral honeys by free choice profiling. *Journal of Sensory Studies*, 18,103-113.
- Guyot-Declerck, C.; Renson, S.; Bouseta, A.; Collin, S.(2002).Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*,*Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia* x *Latifolia* honey. *Food Chemistry* 79,453-459.
- Kadar, M.; Juan-Borrás, M.; Carot, J.M.; Domenech, E.; Escriche, I. (2011).Volatile fraction composition and physicochemical parameters as tools for the differentiation of lemon blossom honeys and orange blossom honey.
- Kaskoniene, V.; Venskutonis, P.R. (2010).Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographic Origins: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 620-634.
- Mannas, D.; Altug, T. (2007). SPME/GC/MS and sensory flavour profile analysis for estimation of authenticity of thyme honey. *International Journal of Food Science and Technology* 2007,42, 133–138.
- Manyi-Loh, C.E.; Roland, N.; Clarke, A.M. (2011). Volatile Compounds in Honey: A Review on Their Involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities. *International Journal of Molecular Sciences*,12, 9514-9532.
- Manyi-Loh, C.E.; Clarke, A.M.; Roland, N. (2011).Identification of volatile compounds in solvent extracts of honeys produced in South Africa. *African Journal of Agricultural Research* ,6(18), 4327-4334.
- Mateu, I. (2002). Flora valenciana de interés apícola. *Mètode* 33,45-50.
- Manyi-Loh, C.E.; Clarke, A.M.; Roland, N. (2011). Identification of volatile compounds in solvent extracts of honeys produced in South Africa. *African Journal of Agricultural Research*,6(18), 4327-4334.
- Montenegro, G.; Gómez, M.; Casaubon, G.; Belancic, A.; Mujica, A.M.; Peña, R.C. (2009). Analysis of volatile compounds in three unifloral native Chilean honeys. *International Journal of Experimental Botany*, 78, 61-65.
- Overton, S.; Manura, J. (1994). Flavour and aroma in commercial bee honey. A purgeand-trap thermal desorption technique for the identification and quantification of volatiles and semivolatiles in honey. *American laboratory*. 45, 45-53.

- Palá-Paúl, J.; Brophy, J.J.; Goldsack, R.J.; Fontaniella, B. (2004). Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Islands endemic species, growing in Australia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 55–62.
- Persano Oddo, L.; Piro, R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* 35(1), 38-81.
- Plutowska, B.; Chmiel, T.; Dymerski, T.; Wardencki, W. (2011). A headspace solid-phase microextraction method development and its application in the determination of volatiles in honeys by gas chromatography. *Food Chemistry*, 126, 1288-1298.
- Radovic BS, Careri M, Mangia A, Musci M, Gerboles M, and Anklam E, Contribution of dynamic headspace GC–MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry* 72:511–520 (2001).
- Rodríguez de la Cruz, D.; Sánchez Reyes, E.; Sánchez Durán, S. & Sánchez Sánchez, J. (2013). Análisis palinológico de mieles comerciales monoflorales. *Botanica Complutensis*, 37, 171-180.
- Sanz, J.; Soria, A.C.; García-Vallejo, M.C. (2004). Analysis of volatile components of *Lavandula luisieri* L. by direct thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1024, 139–146.
- Serra Bonvehí, J. (1988). Determinación de antranilato de metilo en la miel de cítricos (*Citrus* sp.) del Levante Español, y su influencia en la actividad diastásica de la miel. *Alimentaria*, 197, 37-40.
- Serra-Bonvehí, J.; Ventura-Coll, F. (2003). Flavour index and aroma profiles of fresh and processed honeys. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 83, 275-282.
- Serrano, S.; Villarejo, M.; Espejo, R.; Jodral, M. (2004). Chemical and physical parameters of Andalusian honey: Classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. *Food Chemistry*, 87, 619-625.
- Soria, A.C.; González, M.M.; Sans, J. (2002). "Los componentes volátiles y el aroma". *La miel de Madrid*, 121-136.
- Soto Vargas, C.E. (2008). Estudio de mieles monoflorales a través de análisis palinológico, físico, químico y sensorial. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. 152 pp.
- Verzera, A.; Campisi, S.; Zappalá, M.; Bonaccorsi, I. (2001). SPME-GC-MS analysis of honey volatile components for the characterization of different floral origin. *American Laboratory News*, 18-21.
- Von Der Ohe, W., Persano, L., Piana, M. L., Morlot, M.; Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, 18-25.
- Wootton, M.; Edwards, R. A.; Faraji-Haremi, R. (1978). Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian honeys. *Journal of Apicultural Research*, 17(3) 167-172.