

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



Escuela Técnica Superior
de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA MIEL. INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DEL PROCESADO

TRABAJO FINAL DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS

AUTORA: JOANA MARTÍNEZ MARTÍ

TUTORA: AMPARO QUILES CHULIÁ

Curso académico: 2017/2018
VALÈNCIA, JULIO 2018



Parámetros de calidad en la miel. Influencia de las condiciones del procesado.

Autora: Joana Martínez Martí

Tutora: Amparo Quiles Chuliá

València, julio de 2018

RESUMEN:

La idea de realizar este trabajo surge a partir de una reunión entre el departamento de tecnología de alimentos (DTA) y la empresa Apisol S.A. Así, una parte importante del trabajo recoge una revisión bibliográfica actualizada acerca de los principales parámetros que influyen en la calidad de la miel industrial y de las condiciones del procesado que se pueden controlar o modificar para mejorarla. La otra parte del trabajo, sin embargo, es experimental y muestra los resultados de las determinaciones de hidroximetilfurfural (HMF) que se han realizado en la empresa, sobre varios tipos de mieles sometidas a diversas condiciones. El objetivo de este trabajo es identificar cuáles son los principales parámetros, propiedades fisicoquímicas y condiciones del procesado de la miel que influyen en su calidad, como un primer paso para obtener una miel industrial de elevada/mejorada calidad.

Son varios los factores que influyen en la calidad de la miel, pero algunos de los principales son el contenido en HMF y la tendencia que tiene la miel a la cristalización. La presencia de HMF implica perjuicios para la salud y pérdida de frescura en la miel. El HMF se puede producir por diferentes tipos de reacciones, como por ejemplo por reacciones de Maillard, de caramelización o por deshidratación catalizada por ácidos de hexosas. Los principales factores que influyen en su formación son la humedad de la miel, su pH, la composición en azúcares, la acidez de la miel, el contenido inicial de HMF en la miel y la temperatura de almacenamiento. La miel cristalizada provoca rechazo por parte del consumidor. Los factores que influyen en la velocidad de cristalización son el contenido en azúcares, la humedad de la miel, la temperatura de almacenamiento, la presencia de núcleos de cristalización, la homogenización y el material de envasado. Se conocen distintos métodos para retrasar la cristalización de la miel durante el almacenamiento, como, por ejemplo, la pasteurización de la miel. Este tratamiento térmico que se realiza por regla general a unos 75°C sin embargo podría favorecer la formación de HMF. Encontrar tratamientos capaces de evitar tanto la formación de HMF como la cristalización es un reto actual de gran interés para los investigadores. El empleo de técnicas alternativas e innovadoras como las altas presiones hidrostáticas, los ultrasonidos y las microondas, aunque todavía está en estudio, parece que se plantea como un prometedor futuro.

En cuanto a las determinaciones experimentales de la concentración de HMF de distintas mieles que se han realizado en el departamento de I+D+i de Apisol S.A., cabe destacar que han aportado habilidad en el manejo y gestión del laboratorio y en el trabajo en equipo de un grupo de investigación y desarrollo de una empresa. No obstante, estas determinaciones no se van a discutir de forma científica porque no hay suficientes resultados como para realizar un exhaustivo estudio estadístico.

Palabras clave: miel, calidad, HMF, hidroximetilfurfural, cristalización, procesado.

Paràmetres de qualitat en la mel. Influència de les condicions del processament.

Autora: Joana Martínez Martí

Tutora: Amparo Quiles Chuliá

València, juliol de 2018

RESUM:

La idea de realitzar aquest treball sorgeix a partir d'una reunió entre el departament de tecnologia d'aliments i l'empresa Apisol S.A. Així, una part important del treball recull una actualitzada revisió bibliogràfica sobre els principals paràmetres que influeixen en la qualitat de la mel industrial i de les condicions del processament que es poden controlar o modificar per tal de millorar-la. L'altra part del treball, per contra, és experimental i mostra els resultats de les determinacions d'hidroximetilfurfural (HMF) que s'han realitzat a l'empresa, sobre diversos tipus de mels sotmeses a distintes condicions. L'objectiu d'aquest treball és identificar quines són les principals propietats fisicoquímiques i les condicions del processament de la mel que influeixen en la seua qualitat, com un primer pas per obtindre una mel industrial d'elevada/millorada qualitat.

Són diversos els factors que influeixen en la qualitat de la mel, però alguns dels principals són el contingut d'HMF i la tendència que té la mel a la cristal·lització. La presència d'HMF implica perjudicis per la salut i pèrdua de frescor en la mel. L'HMF es pot produir per reaccions de Maillard, caramel·lització o deshidratació catalitzada per àcids d'hexoses. Els principals factors que influeixen en la seua formació són la humitat de la mel, el seu pH, la composició en sucres, l'acidesa de la mel, el contingut inicial de HMF de la mel i la temperatura d'emmagatzematge. La mel cristal·litzada provoca rebuig per part del consumidor. Els factors que influeixen en la velocitat de cristal·lització són el contingut en sucres, la humitat de la mel, la temperatura d'emmagatzematge, la presència de nuclis de cristal·lització, la homogeneïtzació i el material del recipient en què s'envasa la mel. Es coneixen distints mètodes per tal d'endarrerir la cristal·lització de la mel durant l'emmagatzematge, com per exemple, la pasteurització de la mel. Este tractament tèrmic que es realitza a uns 75°C, no obstant això, podria afavorir la formació de HMF. Trobar tractaments capaços d'evitar tant la formació d'HMF com la cristal·lització és un repte actual de gran interès per als investigadors. L'ús de tècniques alternatives i innovadores com les altes pressions hidrostàtiques, els ultrasons i les microones, malgrat que encara estan en estudi, sembla que es plantegen com un futur prometedor.

En quant a les determinacions experimentals de la concentració d'HMF de distintes mels que s'han realitzat al departament d'R+D+i d'Apisol S.A., cap destacar que han aportat habilitat en l'ús i la gestió del laboratori i en el treball en equip d'un grup de recerca i desenvolupament d'una empresa. No obstant això, aquestes determinacions no es discutiran ja que no hi ha suficients resultats com per a poder realitzar un estudi estadístic.

Paraules clau: mel, qualitat, HMF, hidroximetilfurfural, cristal·lització, processament.

Honey quality parameters. Influence of processing conditions.

Author: Joana Martínez Martí

Tutor: Amparo Quiles Chuliá

València, July 2018

ABSTRACT:

The idea of carrying out this work comes up from a meeting between the food technology department and the company Apisol S.A. Thus, an important part of the work includes an updated bibliographical review about the main parameters that influence the quality of industrial honey and the processing conditions that can be controlled or modified to improve it. However, the other part of the work is experimental and shows the results of determinations of hydroxymethylfurfural (HMF) that have been made in the company, on various types of honeys subject to various conditions. The aim of this work is to identify which are the main physicochemical properties and processing conditions of honey that influence its quality, as a first step to obtain an industrial honey of increased / improved quality.

There are several factors that influence the quality of honey, but some of the main ones are the HMF content and the tendency of honey to crystallize. The presence of HMF implies damage to health and loss of freshness in honey. HMF can be produced by different types of reactions, such as by Maillard reactions, by caramelization or by acid-catalyzed dehydration of hexoses. The main factors that influence its formation are the humidity of the honey, its pH, the composition in sugars, the acidity of the honey, the initial content of HMF in the honey and the storage temperature. The crystallized honey causes rejection by the consumer. The factors that influence the rate of crystallization are the sugar content, the humidity of the honey, the storage temperature, the presence of crystallization nuclei, the homogenization and the material of the container in which the honey is packaged. Different methods are known to delay the crystallization of honey during storage, like the pasteurization of honey. This heat treatment that is carried out at about 75°C, however, could favour the formation of HMF. Finding treatments capable of avoiding both the formation of HMF and crystallization is a current challenge of great interest to researchers. The use of alternative and innovative techniques such as high hydrostatic pressures, ultrasounds and microwaves, although still under study, seems to be a promising future.

Regarding the experimental determinations of the concentration of HMF of different honeys that have been made in the department of R & D of Apisol SA, it is worth noting that they have contributed skill in the use and management of the laboratory and in team work of a research and development group of a company. However, these determinations will not be discussed because there are not enough results to perform a statistical study.

Keywords: honey, quality, HMF, hydroxymethylfurfural, crystallization, processing.

Agradecimientos

Me gustaría aprovechar estas líneas para agradecer a todas aquellas personas que han hecho posible la realización de este trabajo y que lo han hecho un poco más fácil.

A mi tutora, Amparo Quiles, por haber confiado en mí desde el primer momento en que aparecí en su despacho, por haberme orientado y solucionado todas mis dudas y tener siempre una sonrisa y palabras de ánimo.

A la Asociación de Científicos y Tecnólogos de Alimentos de València (ACTA-V) por concederme un premio extraordinario para la realización del trabajo de fin de grado.

A la empresa Apisol S.A. por abrirme las puertas de sus instalaciones y permitirme realizar prácticas empresariales, ampliar mis conocimientos acerca de la miel y adquirir destreza en su laboratorio de I+D+i.

Als meus pares i la meua germana per haver-me animat en tot moment a seguir endavant i haver-me suportat durant aquests quatre anys. A Mila, per haver estat al meu costat en tot aquest camí. I a les meues companyes i companys de classe que s'han acabat convertint en amigues i amics i han fet el viatge més lleuger.

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Proceso de formación de la miel	1
1.2. Clasificación de la miel	2
1.3. Composición de la miel	3
1.3.1. Composición fisicoquímica de la miel	3
1.3.2. Composición nutricional de la miel	4
1.4. Procesado de la miel	5
1.5. Mercado y consumo de miel	5
2. Objetivo y plan de trabajo	6
2.1. Objetivo	6
2.2. Plan de trabajo	6
3. Parámetros que influyen en la calidad de la miel	7
3.1. HMF	8
3.1.1. Reacciones que dan lugar a la formación de HMF	9
3.1.2. Factores que influyen en el contenido de HMF	10
3.1.2.1. Humedad	10
3.1.2.2. pH	11
3.1.2.3. Composición en azúcares	12
3.1.2.4. Acidez	12
3.1.2.5. Contenido inicial de HMF	12
3.1.2.6. Temperatura	13
3.2. Cristalización	14
3.2.1. Factores que influyen en la cristalización	15
3.2.1.1. Azúcares en la miel	15
3.2.1.2. Humedad	16
3.2.1.3. Temperatura	17
3.2.1.4. Presencia de núcleos de cristalización	18
3.2.1.5. Homogenización	18
3.2.1.6. Material del recipiente con el que se envasa la miel	18
3.2.2. Métodos para evitar la cristalización	18
4. Procesado de la miel	19
4.1. Pasteurización de la miel	20
5. Procesos alternativos para mejorar la calidad de la miel	21
5.1. Ultrasonidos	21
5.2. Altas presiones hidrostáticas	21
5.3. Microondas	22
6. Datos experimentales obtenidos en el departamento de I+D+i de Apisol S.A.	24
7. Conclusiones	27
8. Bibliografía	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Anatomía de una abeja recolectora.....	1
Figura 2 Producción de miel de la UE en 2014 y 2015.	5
Figura 3 Estructura de la molécula de HMF	8
Figura 4 Reacciones de formación de HMF	9
Figura 5 Formación de HMF a partir de glucosa	10
Figura 6 El efecto del contenido en humedad en el ratio de formación de HMF en miel de alfalfa calentada a 55°C.....	11
Figura 7 Velocidad de formación de HMF según el pH	12
Figura 8 Variación de la concentración relativa de HMF en función del tiempo y la temperatura aplicados durante el tratamiento térmico	13
Figura 9 Resultados de las medidas de HMF según el tiempo y la temperatura de tratamiento térmico	14
Figura 10 Diagrama de flujo del procesado de la miel	19
Figura 11 Miel de romero.....	24
Figura 12 Miel de Asia	24
Figura 13 Miel de azahar	25
Figura 14 Miel de cantueso	25
Figura 15 Miel de milflores.....	25
Figura 16 Miel de Ucrania.....	26
Figura 17 Miel de Argentina.....	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición fisicoquímica de la miel.....	3
Tabla 2 Composición nutricional de la miel	4

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

HMF: 5-hidroximetilfurfural

HHP: Altas Presiones Hidrostáticas

US: Ultrasonidos

MW: Microondas

n.d.: no disponible

a_w : actividad de agua

FEN: Fundación Española de la Nutrición

F/G: fructosa/glucosa

G/F: glucosa/fructosa

G/H: glucosa/humedad

HTST: *High Temperature / Short Time* (Alta temperatura / corto tiempo)

1. Introducción

La Norma de Calidad relativa a la miel, la define como “la sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las partes vivas de plantas, que las abejas recolectan, transforman combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure” (España, 2003).

Mayoritariamente, la miel está constituida por glucosa y fructosa, pero también contiene otros componentes minoritarios como minerales, compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, enzimas y otros fitoquímicos (Biluca *et al.*, 2014).

1.1. Proceso de formación de la miel

Las abejas recolectoras succionan el néctar de las flores y lo almacenan en una cavidad interna llamada buche melario, en inglés “crop”, “honey sac” o “honey stomach” (figura 1). Al llegar a la colmena, lo regurgitan y lo depositan en las celdas para que este se transforme y madure. La transformación de néctar en miel lo realizan las abejas obreras y tiene lugar en una serie de fases o etapas. Primero se evapora el agua del néctar, con lo que este aumenta su espesor. A continuación, se hidroliza la sacarosa en glucosa y fructosa por los ácidos y las enzimas que van aportando las abejas obreras; parte de la glucosa isomeriza a fructosa. El néctar absorbe proteína de las plantas y de las abejas y también ácidos y enzimas procedentes de las glándulas salivares de las abejas y de sus cavidades. Cuando la humedad de la miel disminuye hasta un 16-19%, las celdas de la colmena que contienen la miel se cubren con una capa de cera y la maduración continúa, principalmente con la hidrólisis de sacarosa y la formación de nuevos azúcares (Belitz *et al.*, 2014).

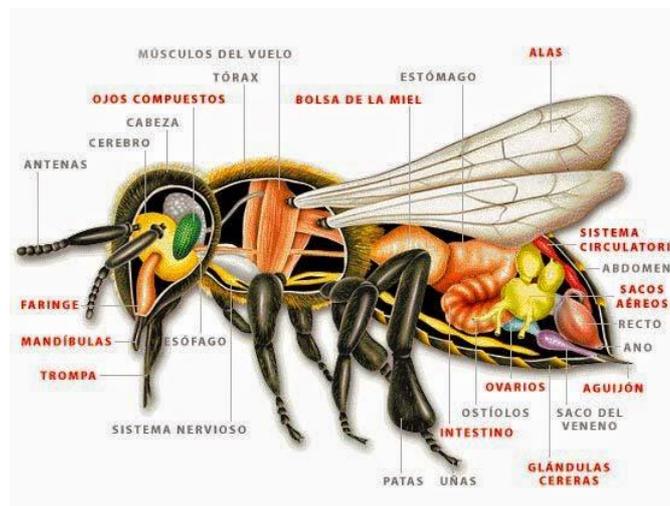


Figura 1 Anatomía de una abeja recolectora

1.2. Clasificación de la miel

La miel se puede clasificar de diferentes formas (Biluca *et al.*, 2014; España, 2003):

- Según su origen:
 - Geográfico.
 - Botánico.
 - ❖ Miel de flores o miel de néctar: es la miel que procede del néctar de las plantas.
 - ❖ Miel de mielada: es la miel que procede en su mayor parte de excreciones de insectos chupadores de plantas (hemípteros) presentes en las partes vivas de las plantas o de secreciones de las partes vivas de las plantas.

- Según su elaboración o su presentación:
 - Miel en panal: es la miel depositada por las abejas en las celdas o alvéolos operculados de panales recientemente construidos por ellas, o en finas hojas de cera en forma de panal realizadas únicamente con cera de abeja, sin larvas y vendida en panales, enteros o no.
 - Miel con trozos de panal o panal cortado en miel: es la miel que contiene uno o más trozos de miel en panal.
 - Miel escurrida: es la miel que se obtiene mediante el escurrido de los panales desoperculados, sin larvas.
 - Miel centrifugada: es la miel que se obtiene mediante la centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.
 - Miel prensada: es la miel obtenida mediante la compresión de los panales, sin larvas, con o sin aplicación de calor moderado, de hasta un máximo de 45°C.
 - Miel filtrada: es la miel que se obtiene eliminando materia orgánica o inorgánica ajena a la miel de manera tal que se genere una importante eliminación de polen.
 - Miel para uso industrial: es la miel apropiada para usos industriales o para su utilización como ingrediente de otros productos alimenticios que se elaboran ulteriormente, que puede: i) presentar un sabor o un olor extraños, ii) haber comenzado a fermentar o haber fermentado, o iii) haberse sobrecalentado.

- Según el tipo de abeja:
 - Apicultura: abejas del género *Apis*. La miel procedente de estas abejas posee beneficios para la salud porque contiene compuestos bioactivos (compuestos fenólicos, flavonoides, vitaminas y minerales) con efectos antioxidantes, antimutagénicos, antitumorales, antimicrobianos, antivirales, antiparasitarios y antiinflamatorios (Chaikham and Prangthip, 2015; Escuredo *et al.*, 2013; Bogdanov, 2008).
 - Meliponicultura: abejas meliponas o sin aguijón. Este tipo de miel tiene un sabor y aroma distintos a la miel procedente de abejas *Apis*, una textura más fluida, debido al mayor contenido en agua y una cristalización más lenta. Su mayor contenido en agua puede derivar en una indeseable fermentación que disminuye su vida útil. La miel resultante de las abejas meliponas tiene propiedades medicinales como antiséptica, antimicrobiana, anticancerígena, antiinflamatoria y cicatrizantes.

1.3. Composición de la miel

La miel es un valioso alimento debido a sus efectos nutricionales y dietéticos beneficiosos (Bušová and Kouřimská, 2018). La miel es una disolución acuosa concentrada de azúcares, principalmente glucosa y fructosa. Además, contiene una compleja mezcla de otros hidratos de carbono, varias enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, ceras, granos de polen, etc. (Belitz *et al.*, 2014). Su composición y propiedades dependen de su origen floral, principalmente. Las condiciones climáticas y la manipulación del apicultor durante su extracción también pueden afectar a su composición (Bath and Singh, 1999; Crane, 1975). A continuación, se recogen valores de los parámetros fisicoquímicos y nutricionales aportados por distintos autores.

1.3.1. Composición fisicoquímica de la miel

En la tabla 1 se presentan algunos valores de la composición fisicoquímica de la miel sin procesar (Escriche *et al.*, 2017; Leyva-Daniel *et al.*, 2017; da Silva *et al.*, 2016; Rodríguez Flores *et al.*, 2015; Kowalski, 2013; Terrab *et al.*, 2002; Pérez-Arquillué *et al.*, 1994; Serra Bonvehí and Granados Tarrés, 1993).

Tabla 1 Composición fisicoquímica de la miel

	Tipo de miel	Humedad (%)	HMF (mg/100g)	Acidez total (mM/kg)	Actividad de agua(a _w)
(Rodríguez Flores <i>et al.</i> , 2015)	Miel de mielada <i>Quercus pireaica</i> (España)	17,4±0,9	0,1±0,2	n.d.	n.d.
(Leyva-Daniel <i>et al.</i> , 2017)	Miel de México	18,4±0,1	6,9±0,1	n.d.	n.d.
(Serra Bonvehí and Granados Tarrés, 1993)	Miel de mielada <i>Calluna vulgaris</i> (España)	17,4±2,05	8,70±2,05	45,50±6,87	0,540±0,009
(Kowalski, 2013)	Miel de mielada (Polonia)	16,8	2,04	43,19	n.d.
	Miel de lima (Polonia)	17,25	33,85	35,5	n.d.
	Miel de acacia (Polonia)	16	22,36	14,36	n.d.
	Miel de trigo sarraceno (Polonia)	17,25	53,77	47,37	n.d.
(Terrab <i>et al.</i> , 2002)	Miel de <i>Eucalyptus</i> (Marruecos)	17,3±1,5	16,1±11,2	28,7±8,83	n.d.
	Miel de <i>Citrus</i> (Marruecos)	16,8±1,9	17,7±12,5	30,1±11,7	n.d.
	Miel de <i>Lythrum</i> (Marruecos)	16,8±0,9	7,92±2,37	36,0±8,79	n.d.
	Miel de Apiaceae (Marruecos)	17,6±1,77	9,98±6,09	42,1±12,9	n.d.
	Miel de mielada (Marruecos)	20,3±3,7	31,7±19,73	96,7±24,0	n.d.
	Miel de milflores (Marruecos)	17,59±1,88	17,5±9,10	41,9±12,4	n.d.
(Pérez-Arquillué <i>et al.</i> , 1994)	Miel de romero (España)	16,8±0,14	3,0±0,7	17,2±0,40	n.d.
(Escriche <i>et al.</i> , 2017)	Miel de Mozambique (Nampula)	22,1±0,3	15,5±5,6	n.d.	0,660±0,10
	Miel de Mozambique (Sofala)	17,7±1,2	37,0±9,9	n.d.	0,599±0,030
	Miel de Mozambique (Zambezia)	20,5±0,2	28,4±4,2	n.d.	0,612±0,010
(da Silva <i>et al.</i> , 2016)	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (España)	15,40-17,38	5,36-15,00	n.d.	n.d.
	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (Túnez)	17,27-19,80	12,07-27,43	n.d.	n.d.
	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (India)	17,20-21,60	n.d.	n.d.	n.d.
	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (Brasil)	17,10-20,50	2,80-7,40	n.d.	n.d.

Como se puede observar (tabla 1) existen diferencias, en los distintos parámetros, entre las diferentes mieles estudiadas. En cuanto al contenido en HMF existe un amplio rango

de concentraciones entre las diferentes mieles. Así, se pueden encontrar concentraciones de HMF que van desde los $0,1\pm 0,2$ mg/100g en la miel de mielada *Quercus pireaica* de España hasta los 53,77 mg/100g en la miel de trigo sarraceno de Polonia. El contenido inicial de HMF en la miel es nulo, por lo que la presencia de HMF en la miel sin procesar puede estar relacionada con la región geográfica procedente de la miel, ya que un clima tropical con temperaturas elevadas como Mozambique puede favorecer la formación de HMF. También estos niveles de HMF en miel sin procesar se pueden relacionar con el tiempo que hace desde que la miel ha sido recolectada y con el resto de características fisicoquímicas y nutricionales intrínsecas de la miel, como la humedad, el pH o el contenido en azúcares, como se verá en apartados posteriores.

Una misma variedad de miel puede presentar diferencias en diferentes parámetros (humedad, contenido de HMF, acidez) según el origen geográfico (Escriche *et al.* (2017); da Silva *et al.*, 2016). Por otra parte, mieles que tienen el mismo origen geográfico, pero diferente procedencia floral, pueden también presentar diferencias en sus parámetros fisicoquímicos (Terrab *et al.*, 2002).

1.3.2. Composición nutricional de la miel

La tabla 2 muestra algunos valores de la composición nutricional de la miel (da Silva *et al.*, 2016; Oroian *et al.*, 2014; Escuredo *et al.*, 2013; FEN, 2013; Procuraduría Federal del Consumidor, 2001; Crane, 1975).

Tabla 2 Composición nutricional de la miel

	Tipo de miel	Energía (kcal/100g)	Agua (%)	Carbohidratos (g/100g)	Fructosa (g/100g)	Glucosa (g/100g)	Proteínas (g/100g)	Lípidos (g/100g)
(Escuredo <i>et al.</i> , 2013)	Miel de castaño (España)	318,6±5,6	18,0±1,0	65,7±6,0	38,0±3,2	25,4±2,6	0,94±0,28	0,02±0,02
	Miel de eucalipto (España)	321,2±5,1	17,4±0,8	66,8±6,1	38,6±3,0	26,2±2,7	0,59±0,09	0,01±0,02
	Miel de brezo (España)	325,0±6,3	17,7±1,0	73,1±5,4	41,8±3,5	28,1±4,0	0,74±0,18	0,01±0,02
	Miel de mora (España)	322,8±4,4	17,2±0,9	68,3±6,0	36,9±4,0	28,3±3,7	0,73±0,22	0,02±0,02
	Miel de milflores (España)	322,3±4,6	17,7±0,9	70,2±5,4	39,2±3,0	27,7±3,1	0,70±0,23	0,01±0,02
	Miel de mielada (España)	317,1±10,4	16,9±0,9	64,9±8,1	35,6±4,3	26,5±3,5	1,00±0,22	0,01±0,01
(PROFECO, 2001)	Miel de México	304	17,1	82,4	38,5	31	0,5	0
(FEN, 2013)	Miel de España	314	21,5	78	n.d.	n.d.	0,5	0
(da Silva <i>et al.</i> , 2016)	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (España)	n.d.	15,40-17,38	n.d.	37,75-41,40	28,80-37,30	n.d.	n.d.
	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (Túnez)	n.d.	17,27-19,80	n.d.	35,78-37,84	31,07-36,58	n.d.	n.d.
	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (India)	n.d.	17,20-21,60	n.d.	43,30-65,50	n.d.	n.d.	n.d.
	Miel de <i>Apis mellifera</i> L. (Brasil)	n.d.	17,10-20,50	n.d.	33,30-38,60	21,00-26,35	n.d.	n.d.
(Crane, 1975)	Miel de Estados Unidos	n.d.	17,2±1,5	n.d.	38,2±2,1	31,3±3,0	n.d.	n.d.
(Oroian <i>et al.</i> , 2014)	Miel de España	n.d.	18±1	82±4	36±4	30±3	1,69±0,06	n.d.

La miel según la Norma de Calidad relativa a la miel (España, 2003) debe de tener un contenido en fructosa y glucosa superior a 60g/100g y un contenido de agua inferior al 20%.

Como se puede observar en la tabla 2, los valores de composición nutricional son bastante parecidos entre las distintas mieles estudiadas. Por ejemplo, en cuanto a la humedad, los valores oscilan entre un 15% en la miel de *Apis mellifera* de España y un 21% en la miel de *Apis mellifera* de la india. Las muestras que superan el límite legal del 20% proceden de países con climas tropicales y cálidos como Brasil e India. Por lo que respecta a la suma del contenido de fructosa y glucosa, todas las muestras analizadas parecen contener más de 60g/100g.

1.4. Procesado de la miel

La miel comercial se suele someter a un tratamiento térmico para (Biluca et al., 2014): i) Prevenir o posponer la cristalización, ii) destruir los microorganismos y iii) reducir la viscosidad y, por tanto, facilitar el llenado de envases. Sin embargo, el tratamiento térmico presenta algunos inconvenientes, como, por ejemplo, la formación de 5-hidroximetilfurfural (HMF) y una consiguiente disminución en el contenido en azúcares.

1.5. Mercado y consumo de miel

Alrededor de 600.000 apicultores en la Unión Europea (UE) y 17 millones de colmenas, producen unas 250.000 toneladas de miel al año, además de cera de abeja, polen, jalea real y propóleo. La UE es la segunda productora de miel en el mundo, tras China, que produce el doble de miel que la UE y por delante de Turquía, que produce algo menos de la mitad. Los principales países productores de miel de la UE son Rumanía, Hungría y Alemania (figura 2), los cuales originan más de 20.000 toneladas de miel cada uno. La UE no genera suficiente miel para cubrir su propio consumo, tan solo cubre el 60% de su demanda. Es por eso que la UE es el mayor importador de miel en el mundo. Importa alrededor de 200.000 toneladas de miel procedentes de China, Ucrania, Argentina y México. Además, la UE exporta alrededor de 20.000 toneladas de miel principalmente a países como Suiza, Arabia Saudí, Japón, Estados Unidos y Canadá (Parlamento Europeo, 2018; Comisión Europea, 2016).

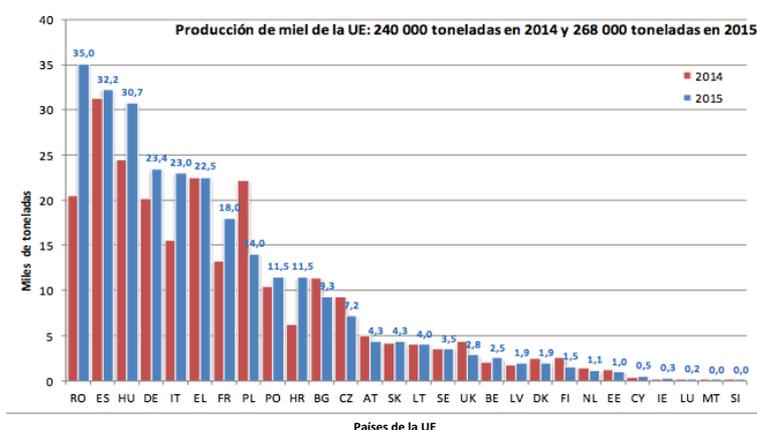


Figura 2 Producción de miel de la UE en 2014 y 2015 (Comisión Europea, 2016). Países de la UE: RO-Rumanía; ES-España; HU-Hungría; DE-Alemania; IT-Italia; EL-Grecia; FR-Francia; PL-Polonia; PO-Portugal; HR-Croacia; BG-Bulgaria; CZ-República Checa; AT-Austria; SK-Eslovaquia; LT-Lituania; SE-Suecia; UK-Reino Unido; BE-Bélgica; LV-Letonia; DK-Dinamarca; FI-Finlandia; NL-Países Bajos; EE-Estonia; CY-Chipre; IE- Irlanda; LU-Luxemburgo; MT-Malta; SI-Eslovenia.

2. Objetivo y plan de trabajo

2.1. Objetivo

Este TFG surge para dar respuesta a una empresa apícola que está interesada en profundizar y ampliar sus conocimientos sobre las propiedades fisicoquímicas de la miel y sobre algunos fenómenos que tienen lugar en la miel y que influyen en su calidad, como son, por ejemplo, la cristalización y la formación de HMF.

El objetivo principal de este trabajo es recopilar, sintetizar y concretar la información y el conocimiento actual que existe sobre la calidad de la miel industrial. Esto permitirá identificar cuáles son los principales parámetros, propiedades fisicoquímicas y condiciones del procesado de la miel que influyen en su calidad, como un primer paso para obtener una miel industrial de elevada/mejorada calidad.

Además, otro objetivo de este trabajo es conocer, adquirir experiencia y habilidad en el manejo de un laboratorio industrial de miel.

2.2. Plan de trabajo

Para cumplir estos objetivos se plantea el siguiente plan de trabajo:

- i) Búsqueda bibliográfica y análisis de la información obtenida.
- ii) Identificación de los parámetros y propiedades fisicoquímicas que determinan la calidad de la miel
- iii) Estudio de los factores que afectan a los parámetros y propiedades fisicoquímicas de la miel.
- i) Identificación de las condiciones del procesado que influyen en la calidad de la miel.
- ii) Estudio la influencia de algunos tratamientos innovadores/alternativos (HHP, US, MW) sobre la calidad de la miel.
- iii) Adquisición de habilidad en el funcionamiento de un laboratorio de I+D+i de una empresa de miel.
- iv) Análisis de los resultados y redacción de informes.

3.

3. Parámetros que influyen en la calidad de la miel

Para que una miel tenga calidad ha de cumplir unos requisitos, que son generalmente comunes en todos los países donde se comercializa. Así, la miel no debe contener sustancias extrañas, ni microorganismos y debe mantener sus características naturales intrínsecas, sin que se admita ningún tipo de adulteración. Estas características se pierden principalmente cuando la miel se somete a procesos de industrialización con tratamientos térmicos excesivos y/o a un almacenamiento demasiado largo.

Son varios los parámetros estudiados que permiten controlar y que influyen en la calidad de la miel. Estos parámetros se pueden clasificar en tres categorías; unos están relacionados con aspectos comerciales de la miel, ejemplos de estos parámetros son el color y la cristalización. Otros, con aspectos sanitarios, como, por ejemplo, la presencia de microorganismos y/o de residuos químicos y los últimos atañen a la frescura de la miel. Ejemplos de parámetros que pertenecen a esta última categoría son la actividad diastásica y el contenido en hidroximetilfurfural (HMF) de la miel (Visquert, 2015).

En cuanto al color, para muchos consumidores, es el factor más determinante a la hora de elegir que miel comprar; también puede llegar a determinar su precio de venta. El color de la miel líquida es característico de su origen floral y varía desde claro y transparente hasta ámbar oscuro o negro. La exposición a elevadas temperaturas y el paso del tiempo pueden afectar el color de la miel, oscureciéndola. La cristalización también afecta al color, haciéndola más clara y luminosa, dependiendo, de la composición de la miel y de su color original. La medida del color es un criterio útil para la clasificación de mieles monoflorales. El color se encuentra relacionado con su sabor, siendo las más oscuras las que tienen un sabor más fuerte (Belay *et al.*, 2015).

Otro de los parámetros de calidad que más rechazo causa en los consumidores, en el momento de la compra, es la presencia de cristales en la miel. Los consumidores suelen asociar la cristalización con una miel de mala calidad. Además, la miel cristalizada puede suponer, para la industria, un problema en el momento del envasado. Sería muy interesante pues dedicar esfuerzos a la investigación de este fenómeno con el objetivo de controlar su aparición. Es por ello, que en apartados posteriores se realizará un análisis actual de los factores que influyen en su desarrollo y los métodos que se conocen para evitarla o retrasarla.

La miel presenta unas condiciones poco favorables para el crecimiento de microorganismos como son un pH ácido, una humedad y actividad de agua bajas, viscosidad elevada, una elevada concentración en azúcares y presión osmótica, etc. Por esta razón, la miel es un alimento muy estable desde el punto de vista microbiológico. De forma natural, la miel contiene compuestos antimicrobianos como el peróxido de hidrógeno, derivado de su actividad enzimática. No obstante, algunos fenómenos como la cristalización, que llevan consigo un incremento en la humedad (por encima del 18%) y en la actividad de agua, favorecen el desarrollo de levaduras osmófilas, causando la fermentación de la miel. Estas levaduras pueden proceder de las propias abejas, del proceso de extracción de la miel de la colmena, del procesado industrial y del propio ambiente (Visquert, 2015).

El origen de los residuos químicos presentes en la miel son los tratamientos veterinarios y agrícolas. Los primeros se utilizan con el objetivo de tratar las enfermedades y los parásitos de las abejas. Estos tratamientos comprenden el uso de acaricidas, sulfamidas, antibióticos, etc. Los tratamientos agrícolas suelen ser principalmente plaguicidas que se aplican sobre las plantas para evitar el desarrollo de plagas. Estos plaguicidas entran en contacto con las abejas cuando recolectan el néctar de las plantas.

Entre ellos se encuentran los neonicotinoides, el uso de los cuales fue prohibido por la Comisión Europea recientemente (CE, 2018a; CE, 2018b; CE, 2018c).

La miel debe llegar al consumidor lo más intacta posible, conservando sus características intrínsecas. Por tanto, se debe de medir la frescura de la miel para evitar de esta forma la venta de miel vieja. El grado de frescura de la miel refleja el posible deterioro de las características que tenía en el momento de su recolección (Visquert, 2015).

Los mejores parámetros indicadores de la frescura y calidad de la miel son la medida de la reducción de la actividad diastasa y la medida del contenido de HMF. Esto se debe a que ambos procesos ocurren de manera simultánea a la degradación de vitaminas, proteínas, enzimas y a la pérdida de sabor y aroma de la miel. Ambos indicadores dan una idea aproximada de cómo han sido las condiciones de procesado y almacenamiento de la miel (Sanz and Sanz, 1994). De estos dos parámetros se suele elegir como indicador de calidad preferente el contenido en HMF frente al índice de diastasas. El motivo es que la determinación de HMF cumple los requisitos que debe tener un buen indicador de frescura en mayor medida que la determinación de la actividad diastasa. Es decir, la cantidad de HMF, i) es fácilmente medible (espectrofotometría UV y HPLC), ii) está ausente en la miel fresca, iii) es sensible de una manera predecible al calor y almacenamiento y iv) es independiente del tipo de miel y de su composición (Fallico et al., 2008; White, 1994).

En la medida de la actividad diastasa también se emplea la espectrofotometría, pero el proceso es más tedioso y largo, debido a la gran cantidad de reactivos que hay que utilizar y al propio método en sí (Huidobro Canales and Simal-Lozano, 1984).

3.1. HMF

Uno de los parámetros de calidad y frescura más importantes de la miel es su contenido en 5-hidroximetilfurfural (HMF). Se trata de un aldehído cíclico producto de la degradación, de azúcares simples, como la fructosa y la glucosa. (Mejía and Serrano, 2018; Juan, 2016; Khalil *et al.*, 2010). La molécula de HMF está formada por un anillo furánico, que contiene un grupo aldehído y un grupo alcohol (figura 3). Su fórmula es $C_6H_6O_3$. El HMF es altamente soluble en agua y tiene aspecto amarillento caramelo (Mejía and Serrano, 2018). Biluca *et al.* (2014) señalan que estudios *in vitro* atribuyen actividad citotóxica, mutagénica, carcinogénica y genotóxica al HMF, por eso se debe de controlar la cantidad presente en alimentos como la miel.

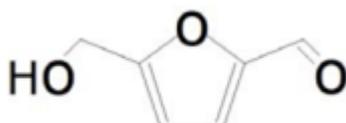


Figura 3 Estructura de la molécula de HMF (Mejía and Serrano, 2018)

La formación de HMF es un proceso lento; se calcula que el aumento de HMF en mieles es de 1 mg/kg por mes en climas suaves con temperaturas máximas de 30°C (Espada, 1982). El proceso de formación está favorecido fundamentalmente por el calor; almacenar la miel durante pocos días a 50°C tiene el mismo efecto sobre el aumento de HMF que almacenarla durante varios meses a 20°C. También el calentamiento producido en la pasteurización de la miel eleva los niveles de HMF (Sanz and Sanz, 1994). El HMF en cantidades excesivas, además de los efectos comentados

anteriormente, provoca el oscurecimiento de la miel porque al interactuar con compuestos aminados y azúcares, polimeriza, tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (Jeuring and Koppers, 1980).

El contenido máximo de HMF en la miel se encuentra regulado por el Real Decreto 1049/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel (España, 2003). En general, el contenido máximo de HMF en la miel es de 40 mg/kg de miel. Para miel de origen declarado procedente de regiones de clima tropical y mezclas de estas mieles, el límite se incrementa hasta 80 mg/kg, debido a que estos climas favorecen de por sí que la cantidad de HMF presente en la miel sea mayor.

3.1.1. Reacciones que dan lugar a la formación de HMF

El HMF se puede formar de manera espontánea por diferentes procesos, por ejemplo por i) reacciones de Maillard, también llamadas reacciones de pardeamiento no enzimático o de pardeamiento químico, ii) reacciones de caramelización (Badui, 2006) (Figura 4) y por iii) deshidratación de hexosas catalizada por ácidos (Turhan *et al.*, 2008; Tosi *et al.*, 2002) (Figura 5). En alimentos muy concentrados en azúcares, como la miel, la reacción más factible es la caramelización (Badui, 2006) aunque al someter a la miel a un procesado también se pueden dar reacciones de Maillard.

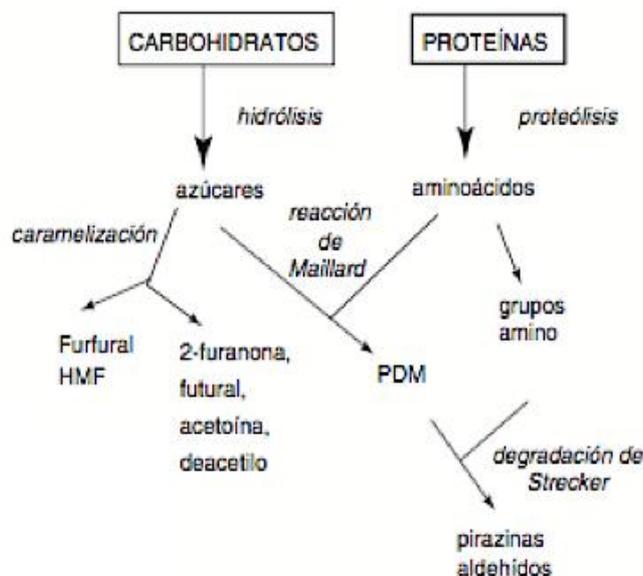


Figura 4 Reacciones de formación de HMF

Las reacciones de Maillard comienzan por la reacción inicial entre un azúcar reductor, como la fructosa o glucosa, y un grupo amino libre, procedente principalmente de un aminoácido o de una proteína. Hay determinadas condiciones que favorecen estas reacciones como por ejemplo un pH alcalino, ya que se ven inhibidas en condiciones muy ácidas. Aunque las temperaturas elevadas no son necesarias, sí que aceleran la reacción. También se ven favorecidas por una humedad intermedia y una actividad del agua entre 0,6 y 0,9, ya que por debajo de este valor se reduce la movilidad de los reactivos y por encima, se produce un efecto de dilución de los reactivos. Otros factores que también influyen son el tipo de aminoácidos que participa en la reacción ya que son más reactivos aquellos de cadena más larga y mayor número de grupos amino, y el tipo de azúcares reductores; son más reactivas las pentosas que las hexosas, las aldosas que las cetosas y los monosacáridos que los disacáridos (Badui, 2006).

La caramelización tiene lugar cuando los azúcares se calientan por encima de su punto de fusión. Es decir, esta reacción requiere de temperaturas elevadas. Se puede dar tanto a pH ácidos como alcalinos y se acelera por la presencia de ácidos carboxílicos y algunas sales ([42]Badui, 2006).

La deshidratación de hexosas catalizada por ácidos tiene lugar a pH 5 o menor (Fennema, *et al.*, 2015). La fructosa en medio ácido da lugar a una molécula de HMF. La glucosa en medio ácido y tras la pérdida de tres moléculas de agua, da lugar a una molécula de HMF. En la figura 5 se muestra la formación de HMF a partir de una aldohexosa como la glucosa.

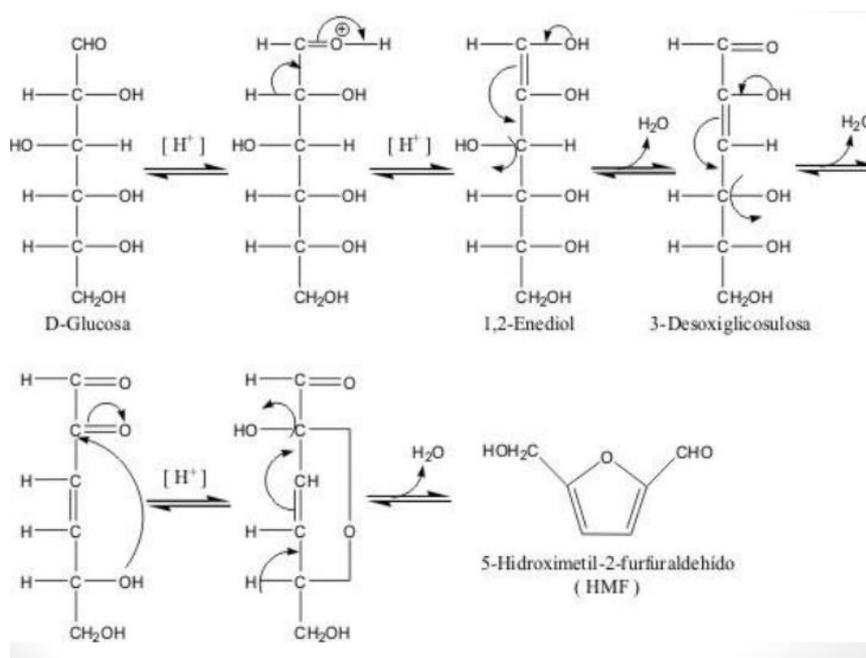


Figura 5 Formación de HMF a partir de glucosa

3.1.2. Factores que influyen en el contenido de HMF

El contenido en HMF se ve influenciado por factores tanto intrínsecos como extrínsecos a la miel. Algunos de los más importantes son: la humedad de la miel, el pH de la miel, el contenido inicial de HMF en la miel, tipo y concentración de azúcares, la acidez de la miel y la temperatura de almacenamiento.

3.1.2.1. Humedad

La humedad característica de la miel varía entre el 12% y el 24% según la variedad (Bulut and Kilic, 2009). Se han realizado diversos estudios acerca de cómo la humedad afecta a la cantidad de HMF en la miel. Unos afirman que una mayor humedad en la miel favorece la formación de HMF durante el calentamiento (Schade *et al.*, 1958). Esta tendencia se ve reflejada en la figura 6, en la que se observa cómo influye el contenido en humedad sobre la velocidad de formación de HMF en miel de alfalfa tratada a 55°C durante 1, 2 y 6 días. Cuanto mayor es la humedad y mayor es el tiempo de calentamiento, mayor es la velocidad de formación de HMF en la miel. El efecto de la humedad, sin embargo, no parece ser significativo cuando el tiempo de tratamiento es corto (1 día).

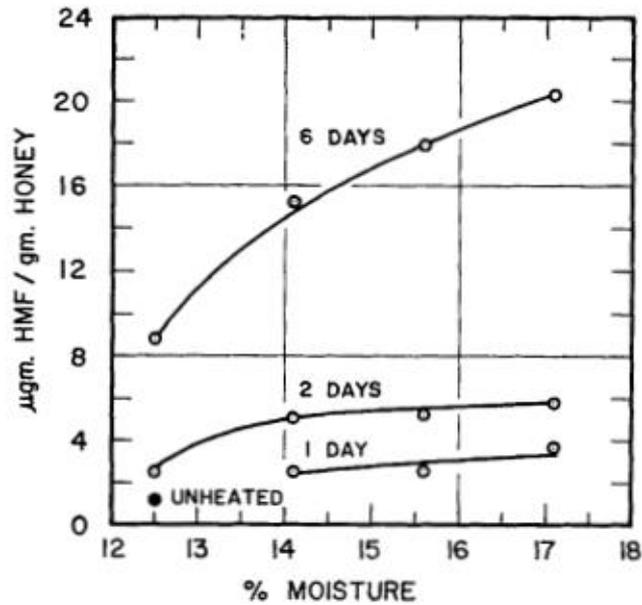


Figura 6 El efecto del contenido en humedad en el ratio de formación de HMF en miel de alfalfa calentada a 55°C (Schade et al., 1958)

Bulut and Kilic (2009) afirman que el efecto de la humedad sobre el contenido en HMF está condicionado por la temperatura a la que se encuentra almacenada la miel. A temperatura ambiente (entre 20°C y 30°C), una menor humedad, dentro de un rango de humedades entre 15% y 22%, favorece la formación de HMF. En cambio, a temperaturas cercanas a los 40°C, la humedad no es un factor a tener en cuenta, ya que la propia temperatura tiene un mayor efecto sobre el contenido en HMF que la humedad. Esto se podría deber a que una alta temperatura de almacenamiento compensa el efecto que la falta de agua puede tener sobre las reacciones de formación de HMF.

3.1.2.2. pH

El pH de la miel se encuentra en el rango entre 3,4 y 6,1. Según unos autores su valor promedio es de 3,9 (White, 1978) y según otros (Simal-Lozano and Huidobro, 1984) de 4,1.

Diversos estudios afirman que las mieles con un menor pH, es decir, más ácidas experimentan una mayor formación de HMF con el tiempo (Fallico *et al.*, 2008; Subovsky *et al.*, 2004; Singh and Bath, 1997). Esto se debe a que, a un menor pH, la sacarosa se invierte en azúcares simples e incrementa la cantidad de fructosa que se deshidrata, facilitando la formación de HMF (Ghaderi *et al.*, 2015). A los pH a los que se encuentra la miel puede tener lugar la formación de HMF tanto por reacciones de Maillard como por caramelización de los azúcares (figura 7) (Scribd, 2009).

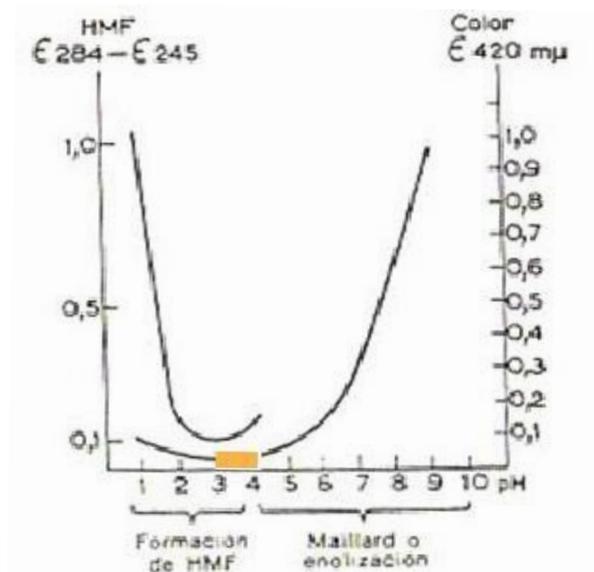


Figura 7 Velocidad de formación de HMF según el pH

En conclusión, cuando el pH de la miel es menor y, por tanto, es más ácida, la velocidad de formación de HMF es elevada. Además, la miel tiene un pH promedio en el que se dan las condiciones ideales para que tengan lugar las reacciones que producen HMF (caramelización y reacciones de Maillard).

3.1.2.3. Composición en azúcares

La composición de la miel tiene influencia sobre la cinética de formación de HMF (Turhan *et al.*, 2008), debido a que las principales fuentes de HMF son los azúcares, principalmente la fructosa y la glucosa (Kowalski *et al.*, 2013). Ambos pueden estar presentes de forma natural en la miel o pueden ser obtenidos a través de la hidrólisis ácida de oligosacáridos como la sacarosa (Khalil *et al.*, 2010; Gidamis *et al.*, 2004; Singh and Bath, 1997). Por tanto, cuanto mayor sea el porcentaje de fructosa y glucosa respecto a los azúcares totales de la miel, mayor será la cantidad de HMF que se podrá formar.

El ratio fructosa/glucosa también tiene influencia en la formación de HMF. La fructosa enoliza más rápidamente que la glucosa. Por tanto, cuanto mayor sea el ratio fructosa/glucosa, mayor será la formación de HMF en la miel (Khalil *et al.*, 2010; Gidamis *et al.*, 2004; Singh and Bath, 1997).

3.1.2.4. Acidez

La mayoría de los polisacáridos son sensibles a los ácidos y pueden ser hidrolizados en azúcares simples. De esta forma, una vez hidrolizados pueden actuar como sustratos para iniciar la formación de HMF. Por tanto, los ácidos pueden actuar como catalizadores de la hidrólisis (Kowalski *et al.*, 2013; Resnik and Chirife 1979). Cuanto mayor sea la cantidad de ácidos en la miel, mayor será la cantidad de HMF que se forma en la muestra.

3.1.2.5. Contenido inicial de HMF

Existen investigaciones (Schade *et al.*, 1958) que indican que el contenido inicial en HMF de la miel influye en la velocidad de formación de HMF. Sin embargo, hay autores (Kowalski *et al.*, 2013; Subramanian *et al.*, 2007; Tosi *et al.*, 2002) que afirman que la

cantidad inicial de HMF presente en la miel antes de iniciar su procesado no influye en la cinética de formación de HMF. En este sentido, Tosi *et al.* (2002) realizaron un estudio de los efectos del tratamiento térmico de la miel sobre el contenido de HMF, utilizando dos muestras con distintas concentraciones iniciales de HMF, 3.9 y 26.6 mg HMF/kg miel y concluyeron que la concentración inicial de HMF no afecta a su cinética de formación.

3.1.2.6. Temperatura

La temperatura a la que se somete la miel durante el tratamiento térmico o el almacenamiento tiene mucha importancia sobre el contenido en HMF de la miel.

Pero este factor debe estudiarse en relación con el tiempo, ya que se ha demostrado que tratamientos a 130°C durante 90 s pueden llegar a producir el mismo incremento de HMF que tratamientos a 150°C durante 30 s (Tosi *et al.*, 2002), como se puede observar en la figura 8.

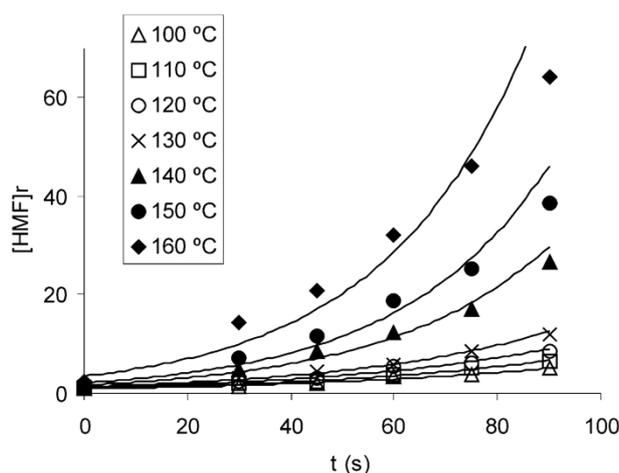


Figura 8 Variación de la concentración relativa de HMF en función del tiempo y la temperatura aplicados durante el tratamiento térmico

Por tanto, los tratamientos deben de ser tan cortos como sea posible para evitar un incremento de HMF por encima de los estándares de calidad. Si un tratamiento supera la temperatura de 130°C, aún durante un periodo corto de tiempo, el contenido de HMF tendrá niveles inaceptables (Tosi *et al.*, 2002).

Turhan *et al.* (2008) estudiaron el tratamiento térmico a 75°C, 90°C y 100°C durante 15, 30, 45, 60, 75 y 90 min sobre miel de origen floral y miel de mielada. A 75°C ninguna muestra superó los 40mg/kg. A 90°C, la miel floral no los superó mientras que la miel de mielada superó el límite a los 75 min de tratamiento. A 100°C ambas muestras superaron el límite, aunque en tiempos distintos, 15 min para la miel de mielada y 75 min para la miel de origen floral, siendo el valor final de esta última mucho menor que el de la primera. Por tanto, al efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de HMF, se le añade el efecto del origen botánico de la miel, ya que la miel floral tiene menor cantidad de HMF que la miel de mielada para un mismo tratamiento térmico.

Escriche *et al.* (2008) estudiaron el efecto de las condiciones térmicas previas a la pasteurización sobre el contenido de HMF de cuatro variedades de miel. Las muestras fueron sometidas a 35, 45, 55 y 65°C durante un periodo de tiempo entre 3 h y 28 días. El contenido de HMF se incrementó al hacerlo tanto la temperatura como el tiempo. Del estudio, se pudo destacar que incluso a la menor temperatura estudiada, 35°C, el contenido de HMF puede superar el límite legal de 40mg HMF/kg, si el tiempo de

tratamiento es lo suficientemente largo. A la mayor temperatura estudiada, 65°C, el contenido de HMF superó el límite de 40mg/ kg en tan solo 48 horas. También se observó distinta evolución según el origen botánico de la miel.

Ribeiro *et al.* (2012) sometieron 120 muestras de miel procedente de Brasil a 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100°C durante 30, 45, 60, 180 y 720 min para evaluar la evolución del contenido de HMF en miel fresca. Comprobaron que el aumento de temperatura y del tiempo de tratamiento aumentaba el contenido de HMF significativamente, alcanzando su contenido máximo en el tratamiento a 100°C durante 720 min. A partir de 70°C, el incremento del contenido de HMF es mucho más rápido que a temperaturas inferiores. Ninguna de las muestras calentadas durante 30, 45 y 60 min superó el límite de la legislación de Brasil, 60 mg/kg, independientemente de la temperatura utilizada. Para el tiempo de 180 min, el límite legal se superó cuando la temperatura superaba los 80°C, mientras que, para el tiempo de 720 min, se superó al superar los 60°C. Los resultados se pueden observar en la figura 9.

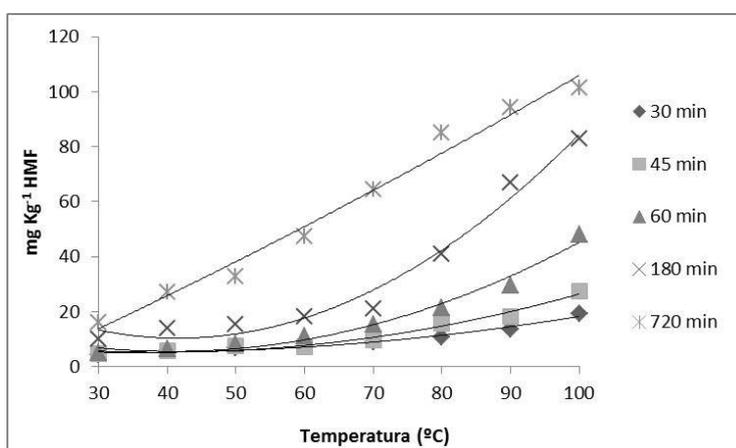


Figura 9 Resultados de las medidas de HMF según el tiempo y la temperatura de tratamiento térmico

En conclusión, se puede decir que el parámetro temperatura va estrechamente unido al tiempo de tratamiento en cuanto a formación de HMF se refiere. Así, para una misma temperatura de tratamiento, la formación de HMF será, en general, mayor en aquella miel sometida durante más tiempo al tratamiento.

3.2. Cristalización

La cristalización de la miel es el proceso de formación de cristales de azúcar, principalmente de glucosa, tras una liberación de agua. La cristalización tiene como resultado una separación de fases en la miel, así aparece una fase cristalina en la parte inferior del recipiente que contiene la miel y una fase líquida, sobrenadante, de color más oscuro, en la parte superior (Costa *et al.*, 2015). La miel no suele cristalizar en la colmena debido a que esta le proporciona un ambiente protegido de la humedad, el polvo y otros contaminantes (Bhandari *et al.*, 1999).

La cristalización tiene como principal consecuencia un incremento de la disponibilidad de agua o actividad de agua (a_w) (Lazaridou *et al.*, 2004) que puede llegar a superar el valor de 0,60, límite crítico para la estabilidad microbiana. A partir de este valor, se puede dar el crecimiento de levaduras osmófilas, capaces de crecer en medios con una gran concentración de azúcares y causar la fermentación de la miel (Venir *et al.*, 2010).

Además del riesgo microbiológico y de los problemas de conservación que conlleva la cristalización de la miel, también es indeseable para el manejo y procesado de la miel y

para su comercialización. Una miel cristalizada es menos atractiva para el consumidor, porque adopta una apariencia turbia y menos apetecible (Belay *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2015; Conforti *et al.*, 2006; Bhandari *et al.*, 1999).

3.2.1. Factores que influyen en la cristalización

La cristalización está influenciada por distintos factores, por ejemplo, por las proporciones o ratios de azúcares, concretamente el ratio Fructosa/Glucosa (F/G) o el ratio Glucosa/Humedad (G/H), por la humedad de la miel y la temperatura de almacenamiento y por la presencia de partículas insolubles, entre otros. Cada variedad de miel puede cristalizar de forma diferente, ya que cada una tiene una composición diferente y puede estar sometida a unas condiciones de almacenamiento distintas (Bhandari *et al.*, 1999).

Según Belay *et al.* (2015), la velocidad de cristalización de la miel depende principalmente de la proporción y el contenido en carbohidratos de la miel. Otros autores como Conforti *et al.* (2006) y Bhandari *et al.*, (1999), afirman que además de la composición otro factor importante, que influye en la velocidad de cristalización, es la temperatura a la que esta se almacena.

3.2.1.1. Azúcares en la miel

La miel se compone principalmente de azúcares, además de vitaminas, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, aminoácidos, enzimas, etc. Los monosacáridos glucosa y fructosa son los azúcares mayoritarios y representan entre el 70% y el 85% de la materia seca de la miel. La sacarosa y la maltosa se encuentran en pequeñas cantidades. (Ma *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2015). La glucosa tiene menor solubilidad en agua que la fructosa y es por tanto el azúcar de la miel que tiene mayor tendencia a cristalizar (Ma *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2015; Escuredo *et al.*, 2014; Conforti *et al.*, 2006).

La glucosa puede cristalizar de distintas formas según la temperatura a la que se almacena (Ma *et al.*, 2016; Conforti *et al.*, 2006):

- Si se almacena a temperaturas por debajo de 50°C cristaliza mayoritariamente en forma de α -D-glucosa monohidrato.
- Si se almacena a temperaturas entre 50-80°C cristaliza mayoritariamente en forma de α -D-glucosa anhidra.
- Y si se almacena a temperaturas superiores a 80°C cristaliza principalmente en forma de β -D-glucosa anhidra.

Además, los cristales pueden tener distinta morfología (Bhandari *et al.*, 1999):

- Forma de aguja.
- Forma aplanada: estos cristales indican una buena o fina cristalización, que aporta una sensación suave al paladar.
- Forma de estrella: estos cristales indican una cristalización lenta. A partir de cada cristal que se forma, crecen muchos cristales. Así, se forma una gran masa de cristales con forma de estrella que aportan una textura arenosa, típica de los recipientes que se encuentran cristalizados en los estantes de los supermercados.

Las proporciones de glucosa y fructosa en la miel parecen guardar una estrecha relación con el proceso de cristalización. Según Escuredo *et al.* (2014) a mayor cantidad de fructosa y de glucosa mayor probabilidad de cristalización de la miel. Además, cuando el porcentaje de glucosa es menor del 30% se favorece la cristalización lenta. Assil *et al.* (1991) añaden a las afirmaciones anteriores que un porcentaje de glucosa superior

al 37% favorece la cristalización y que un mayor porcentaje de fructosa que de glucosa en la miel conduce a una menor cristalización y a que la miel permanezca líquida durante más tiempo.

Ma *et al.* (2016) analizaron diversas muestras de miel procedentes de China con contenidos en glucosa que variaban entre el 26,4% y el 43,3% y en fructosa que variaban entre el 18,4% y el 27,2% y se encontraron que las muestras cristalizadas eran las que tenían el mayor contenido en glucosa y el menor contenido en fructosa. En cambio, las muestras que permanecieron líquidas fueron las que tenían el menor contenido en glucosa y el mayor contenido en fructosa.

Como resultado de algunos estudios, se han obtenido algunos valores de ratios Fructosa/Glucosa (F/G) que son capaces de predecir la velocidad de cristalización de la miel. Por una parte, mientras que Ma *et al.* (2016) y Escuredo *et al.* (2014) afirman que valores del ratio F/G inferiores a 1,1 son característicos de mieles que cristalizan rápidamente y que valores superiores a 1,3 son característicos de mieles que no tiene tendencia a cristalizar o que cristalizan lentamente, Venir *et al.* (2010) confirman que valores por debajo de 1,14 corresponden a mieles que tienden a una cristalización rápida y por encima de 1,58 a mieles que no tienen tendencia a cristalizar.

La proporción entre la glucosa y la fructosa también se ha expresado como ratio glucosa/fructosa (G/F) por autores como Ma *et al.* (2016), con el objetivo de caracterizar la miel líquida, mixta y cristalizada. Una ratio G/F de 1:1 corresponde con una miel líquida, de 2:1 a una miel mixta y de 2,5:1 a una miel cristalizada. Es decir, el ratio G/F 2,5:1 sería crítico para la cristalización de la miel y en estas muestras se daría una formación de cristales más rápida que en el resto de mieles, además de conseguir una cristalización más estable.

Por otra parte, el ratio glucosa/humedad (G/H) también permite determinar si la cristalización se producirá rápida o lentamente. Bhandari *et al.* (1999) afirmaron que este valor es el más fiable para predecir una posible cristalización. Se han realizado varios estudios con el objetivo de proporcionar valores concretos del ratio G/H para poder predecir la tendencia a la cristalización de una miel. Mediante el estudio y análisis de 136 muestras diferentes de miel del noroeste de España y Rumanía, Escuredo *et al.* (2014) determinaron que un ratio G/H inferior a 1,7 indicaba una cristalización lenta o nula, mientras que un ratio G/H superior a 2,0 era característico de una miel que va a cristalizar rápidamente. Otro estudio realizado por Assil *et al.* (1991), donde 41 muestras procedentes de Canadá fueron analizadas, pudo concluir que, valores del ratio G/H inferiores a 1,7 son característicos de mieles con poca tendencia a cristalizar, es decir de mieles que permanecen líquidas durante mucho tiempo. Por el contrario, valores del ratio G/H superiores a 2,1 indican una cristalización rápida. Estos mismos valores fueron confirmados por Venir *et al.* (2010) y Lupano (1997). Bhandari *et al.* (1999) aportaron dos valores de referencia para el ratio G/H. Valores inferiores a 1,7 parecen indicar que se trata de una miel que no cristaliza con facilidad, mientras que valores superiores a 2,2 son característicos de mieles que cristalizan rápidamente.

3.2.1.2. Humedad

La humedad de la miel es un factor importante a tener en cuenta en su deterioro. Un incremento de esta puede dar lugar a una fermentación no deseada por parte de las levaduras osmófilas (Oh and Yoo, 2011). El contenido medio de humedad en la miel es de 18,8% (Costa *et al.*, 2015). La humedad de una miel depende de la estación en la que se produce y de las condiciones meteorológicas del área donde se produce (Escuredo *et al.*, 2014).

Conforti *et al.*, 2006 afirman que, a temperatura ambiente, una menor humedad de la miel favorece la cristalización.

3.2.1.3. Temperatura

En general, los parámetros que afectan a la cristalización de la miel tienen un efecto diferente según la temperatura a la que se encuentra la muestra.

Hay dos temperaturas que se deben tener muy en cuenta cuando se habla de cristalización: la temperatura de llenado de los recipientes y la temperatura de almacenamiento de las muestras.

Assil *et al.* (1991) realizaron un estudio en 41 muestras de miel procedentes de Canadá y fueron sometidas a un tratamiento de pasteurización a 85-88°C. Posteriormente, fueron filtradas y enfriadas hasta 60-63°C y almacenadas en un gran tanque hasta el momento de depositarla en los recipientes finales. Dependiendo de cómo de rápido se envasaba la miel, su temperatura de envasado variaba entre 60°C y 30°C. Tras su almacenamiento durante seis meses, se observó que la temperatura a la que se habían llenado los recipientes tenía una repercusión sobre la cristalización. Las mieles que fueron envasadas a temperaturas por debajo de 40°C cristalizaron más que las envasadas a temperaturas superiores. Esto probablemente ocurre porque durante el llenado a temperaturas inferiores a 40°C se forman burbujas de aire que actúan como núcleos de cristalización. En cambio, si se envasa la miel a temperaturas superiores a 45°C, ya no se forman burbujas de aire y, por tanto, la cristalización se retrasa.

La temperatura óptima de almacenamiento para la cristalización se puede definir como aquella en la cual el ratio de nucleación es máximo con formación de cristales pequeños. La temperatura óptima de cristalización depende de muchos factores como la composición del producto, la tasa de enfriamiento o el nivel de agitación al que se somete la muestra, previa al almacenamiento. Los investigadores parecen coincidir en que la temperatura óptima de almacenamiento para la cristalización de la miel es de 15°C (Costa *et al.*, 2015; Venir *et al.*, 2010; Assil *et al.*, 1991). Es decir, una miel almacenada a esta temperatura tiene muchas probabilidades de cristalizar y, por tanto, de ser rechazada por el consumidor.

Costa *et al.* (2015) realizaron un estudio con 9 muestras de miel procedentes de Brasil y sometidas a un tratamiento de homogenización y compararon dos temperaturas de almacenamiento, 15°C y 25°C. El resultado fue que todas las muestras almacenadas a 15°C cristalizaron, independientemente de la agitación aplicada durante la homogenización, mientras que de las que se encontraban a 25°C solamente cristalizó aquella que había sido sometida a una mayor agitación. Además, encontraron que los cristales de las muestras almacenadas a 15°C eran de menor tamaño que los de las almacenadas a 25°C. En relación con el tamaño de los cristales formados, concluyeron que la formación de un sobrenadante también es dependiente de la temperatura. A 15°C no se formó sobrenadante, mientras que a 25°C sí que se formó. Este hecho podría ser debido a que a 15°C, al formarse cristales más pequeños, se dispone de una mayor superficie de contacto que interactúa con una mayor cantidad de moléculas de agua, evitando la formación del sobrenadante. En cambio, a 25°C el mayor tamaño de los cristales no impide su formación.

Venir *et al.* (2010) analizaron como afectaba la temperatura a muestras de miel italiana tras 222 días de almacenamiento. Obtuvieron como resultado que aquellas muestras almacenadas a 15°C fueron las que sufrieron un mayor proceso de cristalización, alcanzando la cantidad de 32g cristales/100g de miel. También determinaron que la temperatura óptima para evitar la cristalización en su caso era de 25°C. No obstante,

esta elevada temperatura de almacenamiento podría favorecer otros procesos indeseables en la miel como el pardeamiento no enzimático, reacciones enzimáticas o pérdida de vitaminas.

3.2.1.4. Presencia de núcleos de cristalización

La cristalización se ve favorecida por la presencia de núcleos de cristalización como pueden ser cristales de glucosa no disueltos, burbujas de aire formadas durante el envasado de la miel a temperaturas menores de 40°C, granos de polen o cualquier otra partícula insoluble en agua (Belay *et al.*, 2015). También influyen en la nucleación de la miel, la presencia de impurezas como el polvo u otro tipo de suciedad, partículas de cera y el contacto con las paredes del recipiente (Bhandari *et al.*, 1999).

3.2.1.5. Homogenización

La homogenización forma parte del tratamiento que normalmente se le aplica a la miel antes de envasarla, junto a la pasteurización y a la filtración. Homogenizar la miel antes del almacenamiento distribuye las partículas de impurezas por toda la miel. Estas sirven como núcleos de cristalización. Por tanto, tendrá un efecto sobre el número y tamaño de los cristales. Es decir, al aumentar la velocidad de homogenización, aumenta el número de cristales que se forman y disminuye su tamaño (Costa *et al.*, 2015).

3.2.1.6. Material del recipiente con el que se envasa la miel

El uso de recipientes plásticos puede producir pérdidas de humedad en la miel debido a su permeabilidad, lo que podría contribuir a su cristalización (Assil *et al.*, 1991).

3.2.2. Métodos para evitar la cristalización

Existen importantes trabajos de investigación que intentan arrojar luz sobre el proceso de la cristalización a la vez que encontrar metodologías y procesos para evitarla o al menos, retrasarla.

En este sentido, Bhandari *et al.* (1999) han sido unos de los primeros en describir estrategias para evitar la cristalización. Uno de los métodos más comunes para controlar la cristalización es el tratamiento térmico para disolver los cristales y los núcleos de cristalización ya presentes en la miel o la mezcla de varias mieles. El calentamiento retrasa la cristalización, pero esta será inevitable si la miel ya contiene núcleos de cristalización y el tratamiento no es suficientemente fuerte como para disolverlos. Por ejemplo, calentar la miel durante 5 o 10 min a 70-75°C, resulta en la fusión de los cristales de glucosa y de esta forma permanecerá líquida durante meses. En cambio, calentarla por debajo de 55°C no es efectivo para derretir algunos núcleos de cristalización microscópicos por lo que más pronto que tarde cristalizará. Otras posibilidades para retrasar la cristalización son el almacenamiento de la miel a temperaturas de congelación (-40°C), la eliminación de burbujas de aire, polvo y polen por filtración, el llenado de recipientes a elevadas temperaturas, superiores a 45°C, para evitar la incorporación de burbujas de aire, el ajuste de los ratios de glucosa y fructosa o de la humedad hacia arriba y la adición de inhibidores de la cristalización como el ácido sórbico e isobutírico, lo cual está prohibido. Todos estos métodos también fueron estudiados por otros autores como Costa *et al.* (2015), aunque a los inhibidores de la cristalización, añadieron el ácido ascórbico.

4. Procesado de la miel

Después de extraer la miel de la colmena, se transporta hasta la empresa apícola y se somete a un procesado (figura 10) para asegurar la calidad y seguridad del producto y ofrecer al consumidor un producto homogéneo y estable, manteniendo en la medida de lo posible sus características originales.

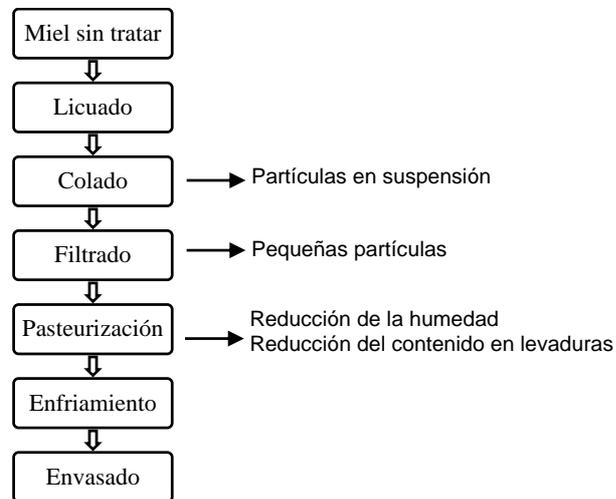


Figura 10 Diagrama de flujo del procesado de la miel (Subramanian et al., 2007)

En general, durante su procesado, la miel se somete a etapas de licuado, colado, filtrado, pasteurización, envasado y almacenamiento. Finalmente, esta miel se distribuye para su venta.

El licuado es una operación que se lleva a cabo para facilitar el manejo de la miel. Para ello se calienta la miel a una temperatura entre 40 y 55°C durante un tiempo que varía entre 2 y 4 días (Visquert, 2015).

El colado es una técnica que persigue eliminar los fragmentos de cera de abejas y otras impurezas que proceden del proceso de extracción.

El filtrado consiste en limpiar físicamente la miel, al igual que el colado y la sedimentación. Para ello se pasa la miel por filtros de nylon, de manera que se eliminan las impurezas físicas presentes en la miel, sin afectar a su contenido natural de polen (Casadelamiel.org, 2014).

La pasteurización se lleva a cabo por dos motivos: retrasar o modificar la tendencia a la cristalización de la miel y destruir los posibles microorganismos que estén presentes en ella. (Turkmen et al., 2006). Esta etapa puede que sea la más importante y la que más se controla, debido a que el uso de elevadas temperaturas favorece la formación de HMF en la miel y controla la velocidad de cristalización de la miel. La temperatura es por tanto, objeto importante de estudio cuando se pretende actuar sobre la calidad de la miel.

El envasado también es otro de los puntos clave como se ha comentado en apartados anteriores, y está muy relacionado con la temperatura pues es importante que la temperatura a la que se envasa la miel además de facilitar el envasado sea lo suficientemente elevada para que no se incorporen burbujas de aire que actúen posteriormente como núcleos de cristalización. Debe realizarse, en la medida de lo posible, a una temperatura cercana a los 20°C (a esta temperatura la miel presenta una buena conservación de sus propiedades fisicoquímicas debido a que los procesos

enzimáticos se reducen al mínimo), es decir, una temperatura que no sea la óptima ni para que tenga lugar la cristalización ni para favorecer la formación de HMF. Además la humedad relativa no debe ser superior al 60%, ya que se podría dar una absorción de agua por parte de la miel que favorecería el crecimiento de levaduras y la consecuente fermentación de esta (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación de México, n.d.).

4.1. Pasteurización de la miel

Como ya se ha comentado en el apartado anterior, la miel es sometida a un tratamiento de pasteurización para retrasar la cristalización y destruir los microorganismos que la contaminan (Visquert, 2015; Turkmen *et al.*, 2006). El tratamiento más común es a la temperatura de 75°C durante varios minutos.

A pesar de que la pasteurización puede aportar mayor estabilidad a la miel, sobre todo, en vistas a su almacenamiento, se deben controlar las condiciones a las que se lleva a cabo ya que también tiene efectos negativos sobre sus características originales. Durante el tratamiento, se producen una serie de reacciones que deterioran su calidad produciendo el pardeamiento y oscurecimiento de la miel y la pérdida de textura y aromas. Se pueden dar reacciones de desnaturalización de proteínas y desactivación de enzimas. Además, se puede producir un incremento del contenido de HMF de la miel, por encima del que se hubiera producido de forma natural si no se hubiera sometido a un tratamiento térmico (Önür *et al.*, 2018; Janghu *et al.*, 2017).

Subramanian *et al.* (2007) comprobaron que el tratamiento de la miel a 63°C, 65°C y 68°C durante 35, 25 y 7,5 min, respectivamente, puede destruir completamente las levaduras presentes. También que el tratamiento a alta temperatura/corto tiempo, concretamente, a 80°C durante 60 s es capaz de destruir todos los microorganismos, como las levaduras, responsables de su pérdida de calidad sin deteriorarla. Además, el uso de temperaturas entre 80°C y 140°C durante tiempos muy cortos no parece causar efectos dañinos sobre la miel, como se comprueba tanto mediante el estudio del contenido en HMF como en la actividad diastásica.

Ribeiro *et al.* (2012) concluyeron que para eliminar los núcleos de cristalización, la miel con un bajo contenido de HMF, puede ser sometida a temperaturas superiores a 90°C durante un tiempo superior a 1 h, pero si el tiempo de tratamiento es de más de 180 min no debe superar los 70°C. Dado que no es necesario un sobrecalentamiento de la miel para conseguir una miel fluida y sin núcleos de cristalización, se pueden utilizar temperaturas suaves para disminuir la viscosidad y prevenir la cristalización, sin causar un incremento significativo del contenido de HMF.

Visquert (2015) estudió el efecto de temperaturas de pasteurización de 75°C, 80°C y 85°C durante 2, 4 y 6 min sobre el contenido de HMF, actividad diastásica, color y carga microbiana. Los resultados fueron que el contenido de HMF en ningún caso alcanzó el límite máximo permitido de 40 mg/kg de miel.

Nanda *et al.* (2005) estudiaron el efecto de la temperatura, el tiempo y el pH sobre el contenido de HMF y la actividad diastásica de miel de girasol, y concluyeron que las condiciones óptimas de procesado son 47,5°C durante 9,5 min a un pH de 5,2.

5. Procesos alternativos para mejorar la calidad de la miel

A raíz de que los consumidores tienen cada vez más conciencia de la relación que existe entre la salud y la dieta que siguen, se tiende, tanto a nivel industrial como investigador a aplicar y desarrollar novedosas técnicas de conservación. Se pretende que estas técnicas alternativas e innovadoras tengan un mínimo impacto en las propiedades organolépticas, nutricionales y funcionales de los alimentos, y que sean capaces de inactivar los microorganismos patógenos (Janghu *et al.*, 2017; Leyva-Daniel *et al.*, 2017). En el caso de la miel, se pretende aplicar estas técnicas para evitar un incremento elevado del contenido en HMF a la vez que ralentizar el proceso de cristalización (Tosi *et al.*, 2002) y consecuentemente mantener la calidad natural de la miel. Entre las tecnologías que se han estudiado con este fin, se encuentran los ultrasonidos, las altas presiones hidrostáticas y las microondas.

5.1. Ultrasonidos

Los ultrasonidos (US) son ondas de alta frecuencia que, al ser transmitidas a través de un medio líquido, como la miel, causan cambios mecánicos y térmicos y pueden inducir cambios en organismos unicelulares. Se trata de un método empleado con el objetivo principal de realizar la licuación de la miel, es decir, eliminar los núcleos de cristalización y, de esta forma, retrasarla (Subramanian *et al.*, 2007). Esta técnica se ha clasificado como ecológica en la industria alimentaria, puede cumplir diversas funciones y presenta ventajas. Por ejemplo, hace que el mezclado sea más efectivo, que la transferencia de energía y masa sea más rápida, y en general que el tiempo de procesado, el consumo de energía y la producción de residuos sea menor (Janghu *et al.*, 2017).

Subramanian *et al.* (2007) y Thrasyvoulou *et al.* (1994) compararon la aplicación de US con el calentamiento convencional (pasteurización) y afirmaron que la aplicación de US disminuye significativamente el incremento del contenido de HMF.

Janghu *et al.* (2017) afirmaron que la aplicación de US durante 8 min con una amplitud del 60% sobre un volumen de 60 mL es la combinación óptima para minimizar el contenido de HMF de la miel. Tras comparar la aplicación de US con el calentamiento convencional, el pH, la humedad, la actividad diastásica, el contenido de HMF y el color se ven menos afectados con la primera técnica. Además, se consigue una menor carga microbiana y la destrucción total de microorganismos coliformes, levaduras y mohos.

Chaikham and Prangthip (2015) afirmaron que, al aumentar la amplitud de onda y el tiempo de aplicación de los US, aumenta el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y la actividad antioxidante. Por el contrario, si la aplicación de US es a baja amplitud de onda (40%) se preserva la calidad de la miel al mantener el color, el pH, el contenido de HMF y se mejoran los niveles de compuestos fenólicos, flavonoides y la actividad antioxidante, además de producir una reducción significativa de la carga microbiana.

Önür *et al.* (2018) recomendaron el uso de los ultrasonidos debido a que permiten tiempos de tratamiento cortos e implican una menor pérdida de calidad.

5.2. Altas presiones hidrostáticas

La técnica de altas presiones hidrostáticas (HHP) se usa en el procesado de alimentos para mantener las características típicas de los alimentos frescos y mejorar su funcionalidad (Leyva-Daniel *et al.*, 2017; Fauzi and Farid, 2016; Fauzi *et al.*, 2013).

Leyva-Daniel *et al.* (2017) estudiaron el efecto de las HHP sobre miel procedente de México. Los resultados mostraron que el tratamiento por HHP a 600 MPa durante 15 min y a 35°C mantiene constante el contenido en HMF de la miel, mientras que el contenido de microorganismos viables se reduce por debajo del límite de detección. Con tan solo 2 min de tratamiento, el contenido en compuestos fenólicos aumenta y la actividad antioxidante se incrementa en un 30%, además el contenido en vitamina C, fructosa, glucosa, maltosa y carotenoides se mantiene tras 2 min de tratamiento. Según este estudio, la combinación 600 MPa y 2 min parece ser la mejor combinación de presión y tiempo para aumentar la actividad antioxidante y disminuir la carga microbiana, manteniendo las características de calidad en la miel.

Fauzi and Farid (2014) al aplicar HHP sobre miel de Manuka observaron que no hay variación en el contenido de HMF, que la inhibición de microorganismos es del 84% y que se produce un aumento de la pigmentación marrón. Afirmaron que la aplicación de HHP no tiene efectos adversos en la calidad de la miel. Fauzi and Farid (2016) también comprobaron que, tras el procesado de la miel por HHP y el almacenamiento durante un año, el contenido de compuestos fenólicos, la actividad antioxidante, la pigmentación marrón y la actividad antibacteriana aumentan y que el contenido de HMF se sigue manteniendo constante. Algunas propiedades fisicoquímicas como el pH, la humedad y la conductividad eléctrica no sufren cambios, igual que las propiedades reológicas y la viscosidad de la miel. Por tanto, el efecto de la aplicación de las HHP no es temporal sobre estas propiedades. Fauzi *et al.* (2013) comprobaron que la combinación de 600 MPa durante 10 min a temperatura ambiente consigue un aumento del 30% en la actividad antioxidante de la miel sin que tenga lugar un cambio de color de esta.

Chaikham and Prangthip (2015) afirmaron que la aplicación de 500 MPa durante 20 min sobre miel de longan es la combinación de presión y tiempo que más aumenta el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y la actividad antioxidante. El incremento de la actividad antioxidante puede ser debida a la desintegración del polen durante el tratamiento, que liberaría compuestos antioxidantes. Además, la aplicación de HHP no afecta a la composición nutricional.

Önür *et al.* (2018) recomendaron la aplicación de HHP por el menor tiempo de tratamiento y por la menor formación de HMF que produce esta técnica si se compara con la pasteurización.

5.3. Microondas

Las microondas son usadas en tecnología de alimentos para calentar, descongelar y conservar. Se ha estudiado en muchas ocasiones, como afecta esta técnica a diferentes parámetros de calidad de la miel y se han comparado los resultados con los de un tratamiento térmico convencional como la pasteurización.

Kowalski (2013) estudió el efecto del tratamiento térmico convencional y las microondas sobre el contenido de HMF y la actividad antioxidante de la miel. Encontró que la formación de HMF es más rápida en el tratamiento con microondas que en el convencional, aunque lo encontró más adecuado por el menor tiempo de exposición de la miel a elevadas temperaturas. La actividad antioxidante no se vio disminuida en ninguno de los tratamientos.

Kowalski and Lukasiewicz (2016) estudiaron el efecto del tratamiento con microondas y convencional sobre la formación de HMF. El resultado del tratamiento convencional a 60°C durante 60 min fue la formación de HMF. Por su parte, el tratamiento con microondas tiene una ventaja, el menor tiempo de exposición a elevadas temperaturas,

y un inconveniente, el efecto destructivo sobre las enzimas de la miel.

Bucekova *et al.* (2018) estudiaron el efecto del tratamiento con microondas sobre la actividad antibacteriana de la miel, la cual se vio reducida significativamente tras el tratamiento.

6. Datos experimentales obtenidos en el departamento de I+D+i de Apisol S.A.

En cuanto a la parte experimental de este trabajo, durante los meses de febrero, marzo y abril, se realizaron las determinaciones del contenido de HMF en distintas mieles de distintos orígenes almacenadas a distintas temperaturas. A continuación, se presentan los resultados (figuras 11-17) obtenidos en el departamento de I+D+i de la empresa Apisol S.A.

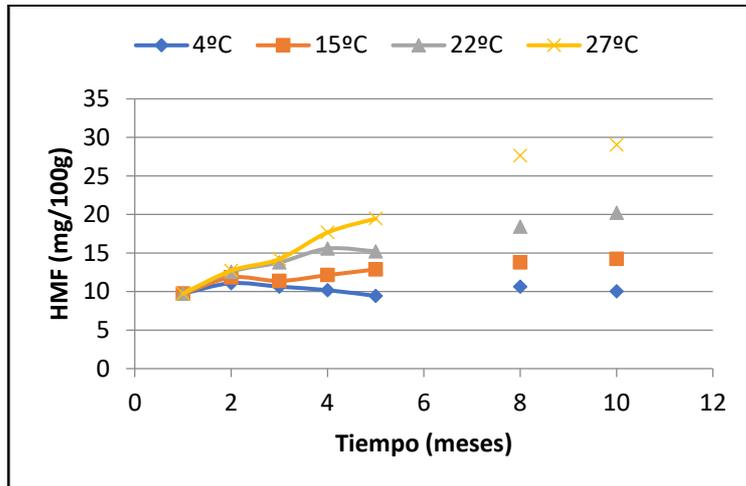


Figura 11 Miel de romero

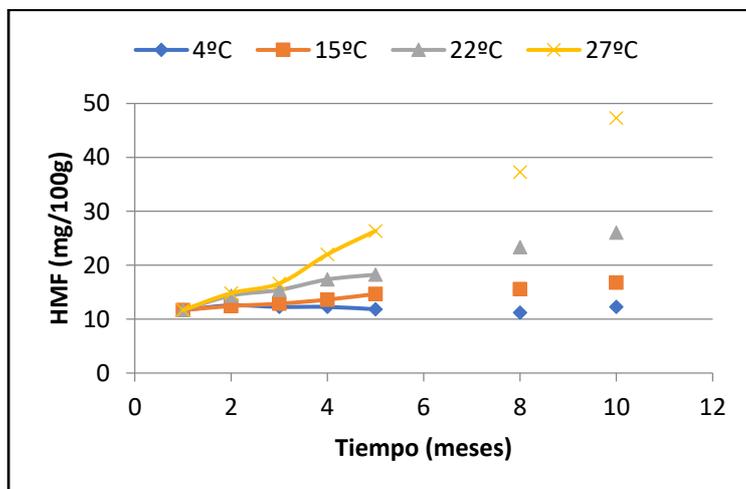


Figura 12 Miel de Asia

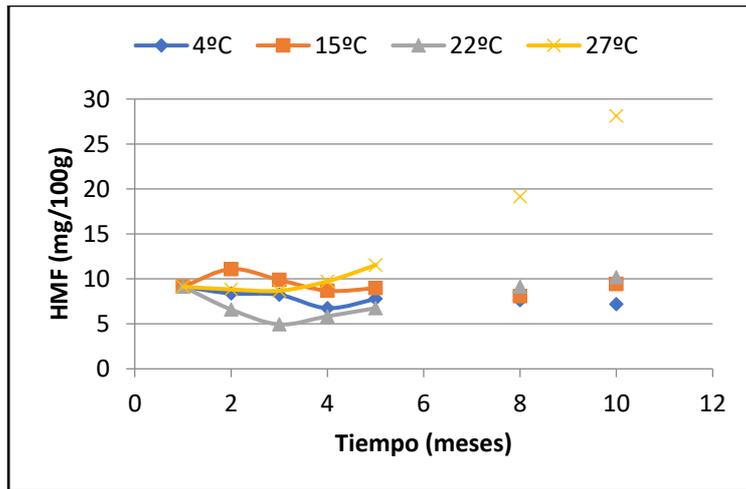


Figura 13 Miel de azahar

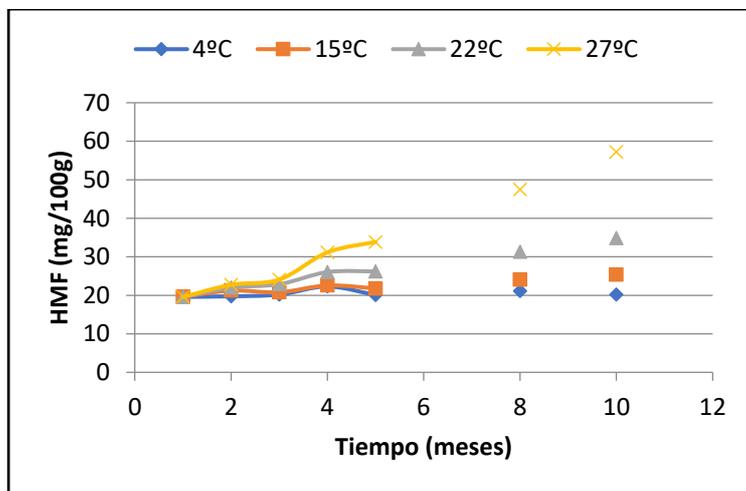


Figura 14 Miel de cantueso

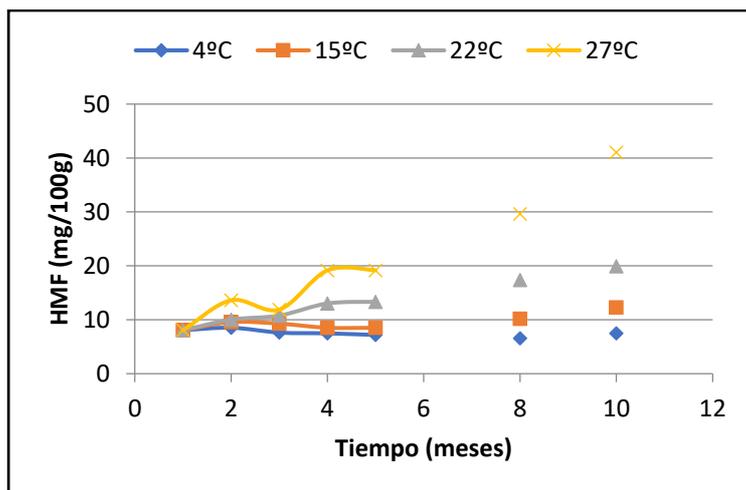


Figura 15 Miel de milflores

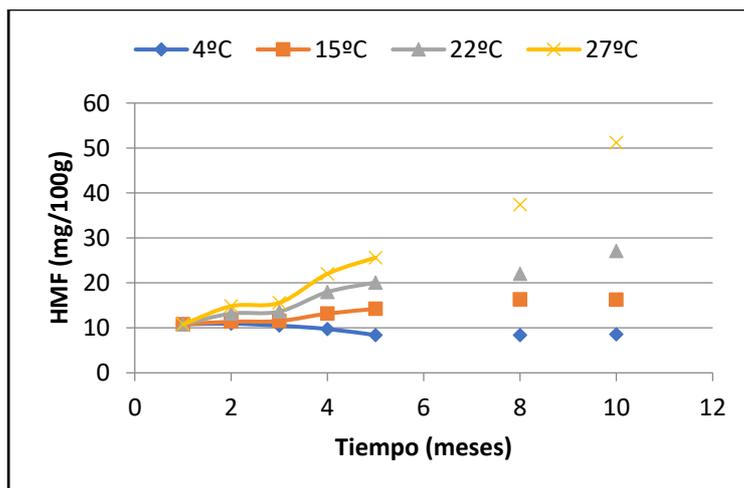


Figura 16 Miel de Ucrania

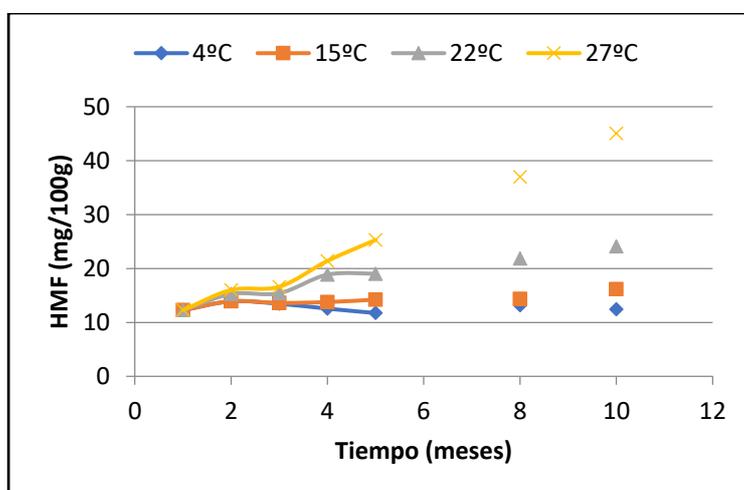


Figura 17 Miel de Argentina

Aunque estas determinaciones no se pueden discutir con rigurosidad porque no existen repeticiones y por lo tanto no existen suficientes datos como para realizar un análisis y estudio estadístico de los resultados, sí se pueden intuir algunas tendencias generales que en ningún caso pretenden ser resultados científicos. Como se puede observar todas las mieles estudiadas presentan un contenido inicial en HMF a pesar de que la miel sin tratar no debe de contener nada de este compuesto. Esto puede indicar que o bien la miel procede de climas cálidos o bien se ha sometido a temperaturas elevadas antes de su procesado o bien ha estado almacenada durante cierto tiempo antes de su llegada a fábrica. Para un mismo tipo de miel, en todas las mieles estudiadas, el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el contenido en HMF empieza a tener importancia a partir de los 4 meses de almacenamiento. Así, en general, a partir de los 4 meses de almacenamiento el contenido en HMF aumenta de forma notable cuanto mayor es la temperatura de almacenamiento.

Es importante destacar también que la realización de estas determinaciones han aportado habilidad en el manejo del laboratorio y en el trabajo en equipo en un grupo de investigación y desarrollo de una empresa de miel.

7. Conclusiones

Los parámetros de calidad de la miel que más se tienen en cuenta en la industria apícola son el contenido de HMF y la velocidad de cristalización de la miel.

El HMF puede causar perjuicios para la salud en concentraciones por encima de los límites legales de 40mg/kg de miel, por tanto, es importante controlar los factores que favorecen su formación. Su velocidad de formación está influenciada, principalmente, por el aumento de temperatura y del tiempo de tratamiento y de almacenamiento de la miel. El aumento de la humedad en la miel, la disminución del pH, y un elevado contenido en fructosa son propiedades fisicoquímicas que también favorecen su formación. Sin embargo, el contenido inicial en HMF no parece tener relevancia en su velocidad de formación.

La cristalización se ve favorecida cuando la proporción de glucosa en la miel es mayor que la de fructosa y cuando mayor es el ratio glucosa/ agua. Una disminución de la humedad, la presencia de núcleos de cristalización ya sea por la homogeneización de la miel o por el envasado también aumentan la formación de cristales en la miel. Sin embargo se puede ralentizar el proceso de cristalización envasando la miel a temperaturas superiores a 40°C y evitando su almacenamiento a 15°C. Temperaturas de almacenamiento de 25°C son adecuadas para evitar la cristalización.

El estudio de técnicas alternativas a la pasteurización como tratamientos que mantienen la calidad de la miel y permiten retrasar la cristalización y evitar la formación de HMF ha encontrado que el uso de técnicas innovadoras como los ultrasonidos, las altas presiones hidrostáticas y las microondas puede ser la solución a los problemas de calidad presentes en la miel.

8. Bibliografía

- ASSIL, H., STERLING, R. and SPORNS, P. (1991). Crystal Control in Processed Liquid Honey. *Journal of Food Science*, 56(4), pp.1034-1034.
- BADUI, S. (2006). *Química De Los Alimentos*. 4th ed. Pearson Educación de México, SA de CV, pp.22; 59-62; 480.
- BATH, P. AND SINGH, N. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67(4), pp.389-397.
- BELAY, A., SOLOMON, W., BULTOSSA, G., ADGABA, N. and MELAKU, S. (2015). Botanical origin, colour, granulation, and sensory properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 167, pp.213-219.
- BELITZ, H., GROSCH, W. AND SCHIEBERLE, P. (2014). *Food chemistry*. 4th ed. Berlin: Springer-Verlag.
- BHANDARI, B., D'ARCY, B. and KELLY, C. (1999). Rheology and crystallization kinetics of honey: Present status. *International Journal of Food Properties*, 2(3), pp.217-226.
- BILUCA, F., DELLA BETTA, F., DE OLIVEIRA, G., PEREIRA, L., GONZAGA, L., COSTA, A. and FETT, R. (2014). 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. *Food Chemistry*, 159, pp.244-249.
- BOGDANOV, S., JURENDIC, T., SIEBER, R. AND GALLMANN, P. (2008). Honey for Nutrition and Health: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), pp.677-689.
- BUCEKOVA, M., JURICOVA, V., MONTON, E., MARTINOTTI, S., RANZATO, E. AND MAJTAN, J. (2018). Microwave processing of honey negatively affects honey antibacterial activity by inactivation of bee-derived glucose oxidase and defensin-1. *Food Chemistry*, 240, pp.1131-1136.
- BULUT, L. and KILIC, M. (2009). Kinetics of hydroxymethylfurfural accumulation and color change in honey during storage in relation to moisture content. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(1), pp.22-32.
- BUŠOVÁ, M. AND KOUŘIMSKÁ, L. (2018). Comparing the quality of honey from beekeepers and honey from the market chain. *Potravinárstvo*, 12(1).
- CASADELAMIEL.ORG. (2014). *Filtrado de la miel | Casa de la miel*. [online] Available at: <http://www.casadelamiel.org/es/filtrado-de-la-miel> [Accessed 23 June 2018].
- CHAIKHAM, P., KEMSAWASD, V. AND APICHARTSRANGKOON, A. (2016). Effects of conventional and ultrasound treatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of floral honeys from Northern Thailand. *Food Bioscience*, 15, pp.19-26.
- CHAIKHAM, P. AND PRANGTHIP, P. (2015). Alteration of antioxidative properties of longan flower-honey after high pressure, ultra-sonic and thermal processing. *Food Bioscience*, 10, pp.1-7.
- COMISIÓN EUROPEA (CE)a. Reglamento de ejecución (UE) 2018/783 de la Comisión de 29 de mayo de 2018 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) n.o

540/2011 en lo que respecta a las condiciones de aprobación de la sustancia activa imidacloprid. DOUE, 30 de Mayo de 2018, L 132.

COMISIÓN EUROPEA (CE)b. REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2018/784 DE LA COMISIÓN de 29 de mayo de 2018 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) n.o 540/2011 en lo que respecta a las condiciones de aprobación de la sustancia activa clotianidina. DOUE, 30 de Mayo de 2018, L 132.

COMISIÓN EUROPEA (CE)c. REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2018/785 DE LA COMISIÓN de 29 de mayo de 2018 por el que se modifica el Reglamento de Ejecución (UE) n.o 540/2011 en lo que respecta a las condiciones de aprobación de la sustancia activa tiametoxam. DOUE, 30 de Mayo de 2018, L 132.

COMISIÓN EUROPEA (CE) (2016). *INFORME DE LA COMISIÓN AL PARLAMENTO EUROPEO Y AL CONSEJO sobre la aplicación de las medidas relativas al sector apícola del Reglamento (UE) n.º 1308/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo por el que se crea la organización común de mercados de los productos agrarios*. Bruselas: Comisión Europea.

CONFORTI, P., LUPANO, C., MALACALZA, N., ARIAS, V. and CASTELLS, C. (2006). Crystallization of Honey at -20°C . *International Journal of Food Properties*, 9(1), pp.99-107.

COSTA, L., KASPCCHAK, E., QUEIROZ, M., ALMEIDA, M., QUAST, E. and QUAST, L. (2015). Influence of temperature and homogenization on honey crystallization. *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(2), pp.155-161.

CRANE, E. (1975). *Honey: a comprehensive survey*. London: Heinemann, pp.157-206. White, J. W. Jr (1979). Composition of honey. In E. Crane (Ed.), *Honey. A comprehensive survey* (pp. 157-206). London: Heinemann.

DA SILVA, P., GAUCHE, C., GONZAGA, L., COSTA, A. AND FETT, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, pp.309-323.

ESCRICHE, I., TANLEQUE-ALBERTO, F., VISQUERT, M. AND OROIAN, M. (2017). Physicochemical and rheological characterization of honey from Mozambique. *LWT*, 86, pp.108-115.

ESCRICHE, I., VISQUERT, M., CAROT, J., DOMENECH, E. AND FITO, P. (2008). Effect of Honey Thermal Conditions on Hydroxymethylfurfural Content Prior to Pasteurization. *Food Science and Technology International*, 14(5_suppl), pp.29-35.

ESCUREDO, O., DOBRE, I., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M. AND SEIJO, M. (2014). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry*, 149, pp.84-90.

ESCUREDO, O., MÍGUEZ, M., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M. AND CARMEN SEIJO, M. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138(2-3), pp.851-856.

ESPADA, T. (1982). El hidroximetilfurfural y el oscurecimiento de la miel. *Vida Apícola*, 3, pp.15-17.

ESPAÑA. "Real Decreto 1049/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel", *Boletín Oficial del Estado*, 5 de agosto de 2003 (186), pp. 30181-39183

- FALLICO, B., ARENA, E. and ZAPPALA, M. (2009). Prediction of honey shelf life. *Journal of Food Quality*, 32(3), pp.352-368.
- FAUZI, N. AND FARID, M. (2016). High Pressure Processed Manuka Honey: Change in Nutritional and Rheological Properties over 1-Year Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4), p.e13085.
- FAUZI, N. AND FARID, M. (2014). High-pressure processing of Manuka honey: brown pigment formation, improvement of antibacterial activity and hydroxymethylfurfural content. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(1), pp.178-185.
- FAUZI, N., FARID, M. AND SILVA, F. (2013). High-Pressure Processing of Manuka Honey: Improvement of Antioxidant Activity, Preservation of Colour and Flow Behaviour. *Food and Bioprocess Technology*, 7(8), pp.2299-2307.
- FEN (Fundación Española de la Nutrición). (2013). *Mercado de los alimentos*. [online] Available at: <http://www.fen.org.es/> [Accessed 3 Jul. 2018].
- FENNEMA, O., DAMODARAN, S. and PARKIN, K. (2015). *Fennema química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- GHADERI, F., SIAHI SHADBAD, M. and HOSSEIN ZADEH, M. (2015). Effect of pH and storage temperature on 5-(Hydroxymethyl) furfural (5HMF) formation in USP syrup preparation. *Pharmaceutical Sciences*, 21(1), pp.1-5.
- GIDAMIS, A., CHOVE, B., SHAYO, N., NNKO, S. and BANGU, N. (2004). Quality Evaluation of Honey Harvested from Selected Areas in Tanzania With Special Emphasis on Hydroxymethyl Furfural (HMF) Levels. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(3), pp.129-132.
- HADORN, H. (1961). Zur Problematik der quantitativen Diastasebestimmung in Honig. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. u. Hyg.*, 52, pp.67-103.
- HUIDOBRO CANALES, J. and SIMAL-LOZANO, J. (1984). Parámetros de calidad de la miel V. Índice de diastasas. *Offarm*, 3(11), pp.705-713.
- JANGHU, S., BERA, M., NANDA, V. AND RAWSON, A. (2017). Studies on Power Ultrasound Process Optimization and Its Comparative Analysis with Conventional Thermal Processing for Treatment of Raw Honey. *Food Technology and Biotechnology*, 55(4).
- JEURING, J. AND KUPPERS, M. (1980). Effect of storage on carbohydrates, acidity and diastase content of honey. *Journal of Food Science*, 254, pp.63-71.
- JUAN, M. (2016). *Herramientas Analíticas en la Clasificación de Mieles en Base a Criterios de Calidad e Inocuidad*. Universitat Politècnica de València.
- KHALIL, M., SULAIMAN, S. and GAN, S. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), pp.2388-2392.
- KOWALSKI, S. AND LUKASIEWICZ, M. (2016). Diastase and Invertase Activity Changes and 5-Hydroxymethyl-2-Furfural Formation in Honeys Under Influence of Microwave Irradiation. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), p.e12410.

KOWALSKI, S., LUKASIEWICZ, M., DUDA-CHODAK, A. and ZIĘĆ, G. (2013). 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF) – Heat-Induced Formation, Occurrence in Food and Biotransformation – a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(4).

KOWALSKI, S. (2013). Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chemistry*, 141(2), pp.1378-1382.

LAMPITT, G. AND DYCE, E. (1929). Evolution of some physicochemical properties of honey during the storage. *Cornell Univ. Agric. Exp. Station Ithaca N.Y. Bull*, 528, pp.124-132.

LAOS, K., KIRS, E., PALL, R. AND MARTVERK, K. (2011). The crystallization behaviour of Estonian honeys. *Agronomy Research*, 9(II), pp.427-432.

LAZARIDOU, A., BILIADERIS, C., BACANDRITSOS, N. and SABATINI, A. (2004). Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering*, 64(1), pp.9-21.

LEYVA-DANIEL, D., ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z., VILLALOBOS-CASTILLEJOS, F., ALAMILLA-BELTRÁN, L. AND WELTI-CHANES, J. (2017). Effect of high hydrostatic pressure applied to a Mexican honey to increase its microbiological and functional quality. *Food and Bioproducts Processing*, 102, pp.299-306.

LUPANO, C. (1997). DSC study of honey granulation stored at various temperatures. *Food Research International*, 30(9), pp.683-688.

MA, Y., ZHANG, B., LI, H., LI, Y., HU, J., LI, J., WANG, H. and DENG, Z. (2016). Chemical and molecular dynamics analysis of crystallization properties of honey. *International Journal of Food Properties*, 20(4), pp.725-733.

MACHADO DE-MELO, A., ALMEDIA-MURADIAN, L., SANCHO, M. and PASCUAL-MATÉ, A. (2017). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), pp.5-37.

MEJÍA, W. and SERRANO, J. (2018). *Obtención del 5-hidroximetilfurfural a partir de fructosa*. Universidad de Cuenca

NANDA, V., BERA, M. AND BAKHSHI, A. (2005). Optimization of the process parameters to establish the quality attributes of hydroxymethylfurfural content and diastatic activity of sunflower (*Helianthus annuus*) honey using response surface methodology. *European Food Research and Technology*, 222(1-2), pp.64-70.

OH, J. AND YOO, B. (2011). Effect of temperature on the relationship between moisture content and dynamic rheological properties of Korean honey. *Food Science and Biotechnology*, 20(1), pp.261-265.

ÖNÜR, İ., MISRA, N., BARBA, F., PUTNIK, P., LORENZO, J., GÖKMEN, V. AND ALPAS, H. (2018). Effects of ultrasound and high pressure on physicochemical properties and HMF formation in Turkish honey types. *Journal of Food Engineering*, 219, pp.129-136.

OROIAN, M., AMARIEI, S., ESCRICHE, I., LEAHU, A., DAMIAN, C. AND GUTT, G. (2014). Chemical Composition and Temperature Influence on the Rheological Behaviour of Honeys. *International Journal of Food Properties*, 17(10), pp.2228-2240.

PARLAMENTO EUROPEO (2018). *El mercado de la miel en Europa (infografía)*. [online] Available at: <http://www.europarl.europa.eu/news/es/headlines/economy/20180222STO98435/el-mercado-de-la-miel-en-europa-infografia> [Accessed 3 Jul. 2018].

PÉREZ-ARQUILLUÉ, C., CONCHELLO, P., ARINO, A., JUAN, T. and HERRERA, A. (1994). Quality evaluation of Spanish rosemary (*Rosmarinus officinalis*) honey. *Food Chemistry*, 51(2), pp.207-210.

PROFECO (PROCURADURÍA FEDERAL DEL CONSUMIDOR). (2001). *Revista del Consumidor No. 287, enero 2001*. [online] Available at: https://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_01/miel.pdf [Accessed 26 June 2018].

RESNIK, S. and CHIRIFE, J. (1979). Effect of moisture content and temperature on some aspects of nonenzymatic browning in dehydrated apple. *Journal of Food Science*, 44(2), pp.601-605.

RIBEIRO, R., CARNEIRO, C., MÁRSICO, E., CUNHA, F., CONTE JUNIOR, C. AND MANO, S. (2012). Influence of the time/temperature binomial on the hydroxymethylfurfural content of floral honeys subjected to heat treatment. *Ciência e Agrotecnologia*, 36(2), pp.204-209.

RODRÍGUEZ FLORES, M., ESCUREDO, O. AND CARMEN SEIJO, M. (2015). Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food Chemistry*, 166, pp.101-106.

SANZ, S. and SANZ, M. (1994). Índice de diastasas y contenido en hidroximetilfurfural en las mieles de La Rioja. *Zubía*, 12, pp.181-191.

SCHADE, J., MARSH, G. and ECKERT, J. (1958). Diastase activity and HMF in honey and their usefulness in detecting heat alteration. *Journal of Food Science*, 23(5), pp.446-463.

SCRIBD. (2009). *Parámetro indicador de la calidad en Miel - HMF 2009*. [online] Available at: <https://es.scribd.com/doc/22279823/Parametro-indicador-de-la-calidad-en-Miel-HMF-2009> [Accessed 23 June 2018].

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN DE MÉXICO (n.d.). *Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Miel*. Gobierno de México.

SERRA BONVEHÍ, J. AND GRANADOS TARRÉS, E. (1993). Physicochemical properties, composition and pollen spectrum of ling heather (*Calluna vulgaris* (L) Hull) honey produced in Spain. *Apidologie*, 24(6), pp.586-596.

SIMAL-LOZANO, J. and HUIDOBRO, J. (1984). Parámetros de calidad de la miel: III. pH, acidez total, acidez láctica, total; relaciones e índice de formol. *OFFARM*, 3(9), pp.523-532.

SINGH, N. and BATH, P. (1997). Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58(1-2), pp.129-133.

SUBOVSKY, M., SOSA, Á., CASTILLO, A. and CANO, N. (2004). Evaluación del contenido de HMF en mieles del nordeste argentino. *Agrotecnia*, 12, pp.32-33.

SUBRAMANIAN, R., UMESH HEBBAR, H. AND RASTOGI, N. (2007). Processing of Honey: A Review. *International Journal of Food Properties*, 10(1), pp.127-143.

- TERRAB, A., DÍEZ, M. AND HEREDIA, F. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79(3), pp.373-379.
- THRASYVOULOU, A., MANIKIS, J. AND TSELIOS, D. (1994). Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves. *Apidologie*, 25(3), pp.297-302.
- TOSI, E., CIAPPINI, M., RÉ, E. and LUCERO, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77(1), pp.71-74.
- TURHAN, I., TETIK, N., KARHAN, M., GUREL, F. and REYHAN TAVUKCUOGLU, H. (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), pp.1396-1399.
- TURKMEN, N., SARI, F., POYRAZOGLU, E. AND VELIOGLU, Y. (2006). Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*, 95(4), pp.653-657
- VENIR, E., SPAZIANI, M. and MALTINI, E. (2010). Crystallization in "Tarassaco" Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*, 122(2), pp.410-415.
- VISQUERT, M. (2015). *Influencia de las condiciones térmicas en la calidad de la miel*. Ph.D. Universitat Politècnica de València (UPV).
- WHITE, J.W. Jr. (1978). Honey. *Advances in Food Research*. 24, pp.287-374.
- WHITE, J. (1994). The Role of HMF and Diastase Assays in Honey Quality Evaluation. *Bee World*, 75(3), pp.104-117.