

CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DE MIELES COLOMBIANAS

Ricardo Prats Corral, Marisol Juan Borrás, Eva Domenech Antich, Isabel Escriche Roberto¹

RESUMEN

El objetivo de esta investigación ha sido caracterizar la fracción volátil de mieles colombianas recolectadas en diferentes zonas geográficas (Andina, Valle interandino, Caribe y Llanos) y evaluar la influencia de su procedencia en la fracción volátil de las mismas. Se han identificado (por GC-MS) un total 27 compuestos volátiles pertenecientes a diferentes familias químicas: 7: alcoholes, 5 aldehídos, 3 hidrocarburos, 4 cetonas, 1 éster, 2 furanos, 1 nitrilo, 1 compuesto sulfurado y 3 terpenos. El perfil de compuestos volátiles ha permitido distinguir mieles en función de la zona geográfica a la que pertenecen, observándose diferencias significativas entre las distintas zonas para 13 de los 27 compuestos identificados. La zona "Andina" y la del "Valle interandino" fueron muy semejantes desde el punto de vista del perfil volátil, la única excepción fue el compuesto Linalool oxide, más abundante en el "Valle interandino". A su vez, el perfil volátil de ambas zonas andinas ("Andina" y "Valle interandino") también fue similar al del "Caribe", aunque destacó en esta última un mayor contenido de 2-Butanol, Toluene y especialmente de Benzaldehyde. La zona de "Llanos" presentó concentraciones más altas para la mayoría de compuestos analizados, aunque algunos compuestos como 3-Hydroxy-2-butanone y 2-Methyl-propanenitrile no se detectaron en ella. Los resultados obtenidos sugieren que la determinación de la fracción volátil de las mieles colombianas podría ser una herramienta útil para diferenciarlas según su zona de recolección.

Palabras clave: mieles colombianas, compuestos volátiles, origen geográfico.

RESUM

L'objectiu d'esta investigació ha sigut caracteritzar la fracció volàtil de mels colombianes procedents de diferents zones geogràfiques (Andina, Vall

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

transandina, Carib i Plans) i avaluar la influència en la dita fracció en la zona de recol·lecció de les mateixes. S'han identificat (per GC-MS) un total 27 compostos volàtils pertanyents a diferents famílies químiques: 7: alcohols, 5 aldehids, 3 hidrocarburs, 4 cetones, 1 ester, 2 furans, 1 nitril, 1 compost sulfurat i 3 terpens. El perfil de compostos volàtils ha permès distingir mels en funció de la zona geogràfica a què pertanyen, observant-se diferències significatives entre les diferents zones per a 13 dels 27 compostos identificats. La zona "Andina" i la de la "Vall andina" van ser molt semblants des del punt de vista del perfil volàtil, l'única excepció va ser el compost Linalool oxide, més abundant en la "Vall andina". Al seu torn, el perfil volàtil d'ambdós zones andines ("Andina" i "Vall andina") també va ser semblant al del "Carib", encara que destaca en esta última un major contingut de 2-Butanol, Toluene i especialment de Benzaldehyde. La zona de "Plans" presenta concentracions més altes per a la majoria de compostos analitzats, encara que alguns compostos com 3-Hydroxy-2-butanone i 2-Methyl-propanenitrile no es van detectar en ella. Els resultats obtinguts suggereixen que la fracció volàtil de les mels colombianes podria ser una ferramenta útil per a diferenciar-les segons la seua zona de recol·lecció.

Paraules clau: mels colombianes, compostos volàtils, origen geogràfic

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the volatile fraction of Colombian honeys that came from different geographical areas (Andina, Valle interandino, Caribe y Llanos) and to evaluate the influence of this origin in their volatile fraction. 27 total volatile compounds belonging to different chemical families (7: alcohols, 5 aldehydes, 3 hydrocarbons, 4 ketones, 1 ester, 2 furans, 1 nitrile, 1 sulfur compounds and 3 terpenes) were identified. The profile of volatile compounds allowed distinguishing the honeys depending on the geographical origin and a significant difference between the different areas was found for 13 of the 27 compounds identified. The area "Andina" and the "Valle interandino" were very similar from the point of view of the volatile profile. The only exception was the Linalool oxide, which was more abundant in "Valle internadino". Moreover, the volatile profile of both Andina areas ("Andina" y "Valle interandino") was also similar to the "Caribe" area, although the latter had higher content of 2-Butanol, Toluene and specially Benzaldehyde. The "Llanos" area showed higher levels for most compounds tested, although some compounds as 3-Hydroxy-2-butanone and 2-Methyl-propanenitrile were not detected in it. The results suggest that the evaluation of the volatile fraction of Colombian honeys could be a useful tool to differentiate them by harvest area.

Key words: Colombian honey, volatile compounds, geographical origin.

1. INTRODUCCIÓN

Los consumidores aprecian la posibilidad de elegir entre mieles de diferentes orígenes botánicos y geográficos por sus específicas características organolépticas, y en muchos casos por las propiedades organolépticas que se les atribuyen. Esto ofrece a los apicultores, e incluso a la industria la oportunidad de obtener mayores precios por sus productos en comparación con los de las mieles que no tienen una característica específica y que por ello se deben comercializar como milflores.

El perfil aromático es una propiedad esencial de un producto alimenticio, afectando a su calidad organoléptica y a su autenticidad (Careri et al., 1994). En el caso de la miel, tanto el aroma como el sabor dulce son las características organolépticas más importantes. Los compuestos volátiles de las mieles provienen de la generación directa en las plantas y de la acción de abejas y microorganismos (Serra and Ventura, 2003; Bastos & Alves, 2003; Iglesias et al., 2004; Castro-Vázquez et al., 2006). Es por ello que determinados compuestos pueden ser característicos del origen botánico de las mieles. Diferentes autores han demostrado que algunos de estos compuestos se encuentran en la mayoría de las mieles (Verzera et al., 2001; De la Fuente et al., 2005; Radovic et al., 2001; Soria et al., 2002, 2004; Overton & Manura 1999). Sin embargo, a pesar de tener unos compuestos base o característicos del propio alimento, muchas de ellas poseen ciertos compuestos volátiles de las mismas, que les otorgan una diferenciación específica. Por ello, la caracterización del aroma de la miel es un tema de gran interés en el sector de la apicultura, ya que puede aportar un factor de diferenciación al producto.

La composición química de la miel depende mayormente del origen floral del néctar recolectado por las abejas (Roberts et al., 2002). Para la determinación botánica del origen de la miel se ha utilizado tradicionalmente el estudio de las propiedades físico-químicas, organolépticas y el estudio del polen (Melisopalinología), siendo este último el más importante, aunque por el contrario se requiere de personal muy cualificado y con alto grado de experiencia, dando en ocasiones resultados no concluyentes. Numerosos autores han propuesto la caracterización de la fracción volátil mediante GC-MS de las mieles como método para complementar la información dada por el polen. Prueba de ello son los numerosos estudios que se han realizado al respecto (Cuevas-Glory et al., 2007).

Hasta la fecha hay muchos trabajos publicados relacionados con la caracterización de mieles de diferente origen botánico y geográfico, sin

embargo, no se ha publicado ningún estudio a este respecto sobre mieles colombianas. Por ello, el objetivo de esta investigación ha sido caracterizar la fracción volátil de mieles colombianas procedentes de diferentes zonas geográficas del país (Andina, Valle interandino, Caribe y Llanos) y evaluar la influencia de su procedencia en la fracción volátil de las mismas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

La información de cada una de las mieles analizadas en el presente trabajo se muestra en la **TABLA 1**. Esta tabla incluye, para cada muestra, la zona geográfica, la zona de vida (clasificación según comportamiento global bioclimático), el departamento, el municipio y origen botánico (información proporcionada por los apicultores). En la **FIGURA 1**, sobre el mapa de Colombia se detalla la ubicación de los municipios y las zonas geográficas de procedencia de las diferentes muestras.

Las cuencas Andinas se ubican a una altitud de entre 1.900 y 2.700 metros. Son zonas de transición entre las especies de la selva del Orinoco y el Amazonas y las de la selva andina y Andina. Las especies botánicas más características de estas zonas son: las Lauráceas, musgos, hepáticas, líquenes y helechos, orquídeas, Bromeliáceas y Ericáceas

La zona de Valle Interandino incluye diferentes regiones: el Alto Magdalena, el Alto Cauca, el cañón del Chicamocha y las cuencas secas de los ríos Dagua y Patía. Estas regiones se suelen encontrar entre 200 y 1500 m, aunque a veces se pueden situar a mayor altura. La temperatura media de esta zona es de 25 °C. Las zonas de vida predominantes son conocidas como “bosque húmedo tropical” y “bosque seco tropical”. La vegetación es bosque, matorrales y sabana.

La zona de Caribe presenta una temperatura media anual de 25 °C. La precipitación se sitúa entre 700 y 2.000 mm, presentando tres o más meses secos al año. Se caracteriza por poseer especies con importantes estrategias adaptativas, como respuesta principalmente a la estacionalidad climática, entre ellas destaca la presencia de especies deciduas caducifolia: Leguminosas, Bignoniaceas, Malvaceas, Apocynaceas y Capparaceas.

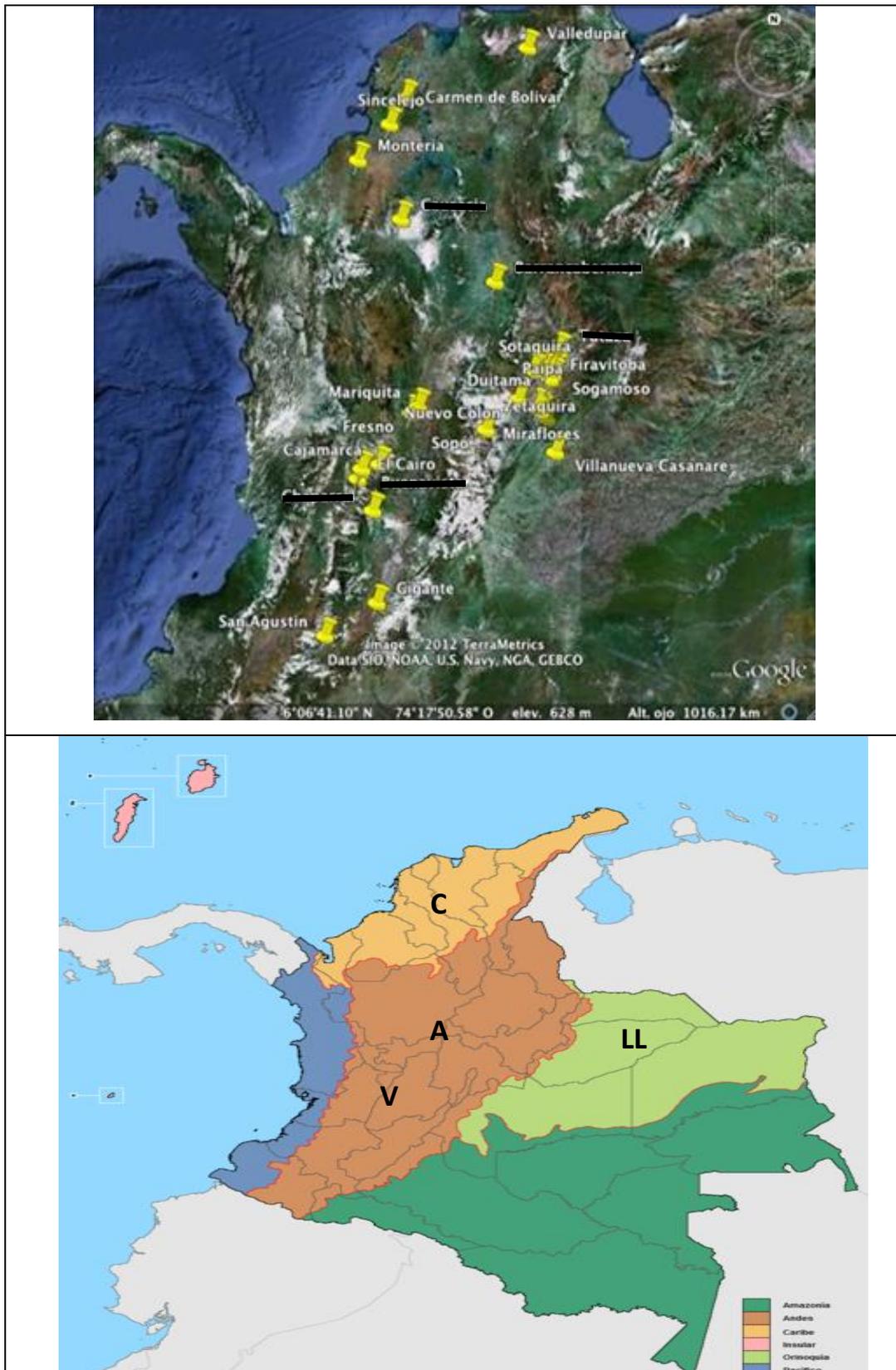


FIGURA 1. Mapa de Colombia con la ubicación de los municipios y las zonas geográficas de las que procedían las mieles.

La región de “Llanos” (o de la Orinoquía), tiene el ecosistema característico de una planicie. La temperatura media anual es de 27°C. Esta zona tiene un clima intertropical lluvioso de sabana. En las llanuras la flora está constituida por vegetación xerofítica (árboles pequeños, arbustos achaparrados de hojas duras y rígidas, Gramíneas y diferentes especies de Leguminosas adaptadas a la sequedad), aunque también aparecen algunas plantas leñosas. En esta zona es común la presencia de flores tales como orquídeas, campanilla, girasol y la cayera.

Las mieles utilizadas en este estudio procedentes de las distintas zonas geográficas de Colombia fueron: 21 muestras de la zona “Andina” (A), 10 muestras de la zona “Valle Interandino” (V), 12 muestras de la zona “Caribe” (C) y 9 muestras de la zona “Llanos” (LL).

TABLA 1. Zona geográfica, zona de vida, departamento, municipio e información del origen botánico proporcionada por los apicultores

Muestra	Zona geográfica	zona de vida	departamento	municipio	origen botánico
A1	Andina	bmh-MB	Boyacá	Paipa	Roble
A2	Andina	bh-PM	Cundinamarca	Pacho	
A3	Andina	bh-PM	Cundinamarca	Pacho	
A4	Andina	bs-MB	Boyacá	Nuevo Colon	Frutas de hoja-Caduca
A5	Andina	bs-MB	Boyacá	Nuevo Colon	Frutas de hoja-Caduca
A6	Andina	bh-PM	Boyacá	Miraflores	
A7	Andina	bh-PM	Boyacá	Zetaquirá	
A8	Andina	bh-PM	Boyacá	Zetaquirá	
A9	Andina	bs-MB	Cundinamarca	Bogotá	Eucalipto/Carreton
A10	Andina	bs-MB	Cundinamarca	Bogotá	Eucalipto/Carreton
A11	Andina	bs-MB	Cundinamarca	Bogotá	Eucalipto/Carreton
A12	Andina	bs-MB	Boyacá	Sogamoso	Eucalipto/Carreton
A13	Andina	bs-MB	Boyacá	Firavitova	Eucalipto
A14	Andina	bs-MB	Boyacá	Firavitova	Eucalipto
A15	Andina	bs-MB	Boyacá	Paipa	Eucalipto
A16	Andina	bs-MB	Boyacá	Paipa	Eucalipto
A17	Andina	bh-MB	Boyacá	Sotaquirá	
A18	Andina	bh-MB	Boyacá	Sotaquirá	
A19	Andina	bh-PM	Boyacá	Miraflores	
A20	Andina	bh-PM	Boyacá	Miraflores	

A21	Andina	bmh-PM	Huila	San Agustín	
V1	Valle interandino	bh-T	Tolima	Mariquita	Caracoli-Teca-Matarraton
V2	Valle interandino	bh-PM	Tolima	Fresno	
V3	Valle interandino	bh-T	Tolima	Mariquita	Citricos
V4	Valle interandino	bmh-PM	Huila	San Agustín	Multifloral
V5	Valle interandino	bm-T	Huila	Gigante	Multifloral
V6	Valle interandino	bh-T	Tolima	Chaparral	Costillo
V7	Valle interandino	bh-T	Tolima	Chaparral	Costillo
V8	Valle interandino	bh-T	Ataco	Platanillo	Arrayan-Chilco
V9	Valle interandino	bh-PM	Valle del Cauca	El Cairo	Arbol loco/Café
V10	Valle interandino	bh-PM	Huila	Palestina	
C1	Caribe	bs-T	Sucre	Corozal	
C2	Caribe	bms-T	Cesar	Valledupar	Campanita
C3	Caribe	bs-T	Bolivar	Carmen de Bolivar	Campanita
C4	Caribe	bs-T	Bolivar	Carmen de Bolivar	Campanita
C5	Caribe	bs-T	Bolivar	Carmen de Bolivar	
C6	Caribe	bs-T	Bolivar	Carmen de Bolivar	
C7	Caribe	bs-T	Sucre	Sincelejo	
C8	Caribe	bms-T	Bolivar	San Jacinto	
C9	Caribe	bs-T	Córdoba	Montería	
C10	Caribe	bms-T	Bolivar	San Jacinto	
C11	Caribe	bms-T	Cesar	Valledupar	Campanita
C12	Caribe	bms-T	Bolivar	San JAcinto	
LL1	Llanos	bh-T	Casanare	Villanueva	Acacio magnum
LL2	Llanos	bh-T	Casanare	Villanueva	Acacio magnum
LL3	Llanos	bh-T	Casanare	Villanueva	Acacio magnum
LL4	Llanos	bh-T	Casanare	Villanueva	Acacio magnum
LL5	Llanos	bh-T	Casanare	Villanueva	Eucalipto/Pino
LL6	Llanos	bh-T	Casanare	Villanueva	Eucalipto/Pino
LL7	Llanos	bh-T	Arauca	Arauca	
LL8	Llanos	bh-T	Arauca	Arauca	
LL9	Llanos	bh-T	Casanare	Villanueva	Melipona

Las características de las zonas de vida (según el sistema de clasificación de Holdridge) se detallan en la **TABLA 2**. Este sistema clasifica las diferentes áreas terrestres según su comportamiento global bioclimático teniendo en cuenta los efectos biológicos de la temperatura y las precipitaciones en la vegetación (Holdridge, L. R et al., 1971).

TABLA 2. Características de las zonas de vida.

Zona de vida	Siglas	Temperatura media anual (°C)	Precipitación media anual (mm)
Bosque seco tropical	bs-T		700 - 2000
Bosque seco montano bajo	bs-MB	12 - 18	500 - 1000
Bosque muy seco tropical	bms-T	> 24	500 y 1000
Bosque muy húmedo premontano	bmh-PM	18 - 24	2000 y 4000
Bosque muy húmedo montano bajo	bmh-MB	12 - 18	2000 - 4000
Bosque húmedo tropical	bh-T	> 24	2000 y 4000
Bosque húmedo premontano	bh-PM	18 - 24	1100 - 1200
Bosque húmedo montano bajo	bh-MB	> 12	1000 - 2000

2.2. Análisis de los compuestos volátiles

2.2.1. EXTRACCIÓN

La extracción de la fracción volátil de las muestras de miel, se llevó a cabo mediante el método de “purga y trampa” (Overton y Manura, 1994; Escriche et al., 2009; Escriche et al., 2011). Para ello, se pesan 20g de miel en el tubo de vidrio con cuello esmerilado y se añaden 200µL de patrón interno (2-pentanol, 0.01 mg/mL). Se eligió este compuesto como patrón interno, por su miscibilidad con el agua y por lo tanto con la miel, y por no estar presente en las muestras analizadas. Para conseguir la total homogeneización de la miel con el patrón interno se introducía el tubo en un baño de ultrasonidos durante 5 minutos. Posteriormente el tubo con la miel se introducía en un baño termostataado (Grant, Gd 100, Cambrigde, England) a 45°C hasta la altura de la muestra. Se hacía circular nitrógeno a través de la muestra para provocar el arrastre de los compuestos volátiles. El caudal constante de 100mL/min, se verificaba con un caudalímetro (ADM 1000, Agilent; Wilmington, USA). El burbujeo del gas sobre la muestra facilitaba la liberación de los compuestos

volátiles. En el extremo del montaje se colocaba el tubo en el que se atrapaba la fracción volátil liberada (relleno con 150 mg del material de adsorción, Tenax^{TA} 20-35 mesh. Transcurridos 20 minutos se procedía a la desorción de los compuestos retenidos en la matriz de Tenax, utilizando para ello un desorbedor térmico Turbomatrix TD (Perkin Elmer, Wellesley, USA). La desorción se realizaba a 220°C durante 10 minutos. Los compuestos volátiles retenidos en la trampa fría a -30°C se transferían directamente a la cabeza de la columna por calentamiento durante 1 minuto de la trampa fría hasta los 250°C.

2.2.2. ANÁLISIS GS-MS

La separación de los compuestos volátiles se llevaba a cabo en un cromatógrafo de gases (Trace GC 2000), equipado con una columna capilar DBWax (SGE) (60m x 0.35mm; 1 µm). Los compuestos eran arrastrados por el gas portador (Helio, 1mL min⁻¹), a la vez que se realizaba una rampa de temperatura entre 40°C y 240°C. Una vez separados los distintos compuestos, éstos pasaban al espectrómetro de masas (Finnigan TRACE MS, software Xcalibur). El impacto electrónico se realizó a 70eV con un rango de masas de m/z 41-457. Los análisis de todas las muestras de miel se realizaban por triplicado.

Los compuestos volátiles se identificaron de la siguiente forma:

1. Utilizando la base de datos de la Librería NIST (National Institute of Standards and Technology, 2002) proporcionada por el software del GC-MS.
2. Calculando los Índice de Kovats de cada compuesto (Índices de retención relativos) y comparándolos con datos bibliográficos (Kondjoyan y Berdagué, 1996; Radovic et al., 2001; Soria et al. 2004; De la Fuente et al., 2005; Bianchi et al., 2005; Alissandrakis, et al., 2005). Estos índices se obtienen a partir de los tiempos de retención de un conjunto de alcanos específicos C₈-C₂₀ (Fluka Buchs, Schwiez, Switzerland), pinchados en las mismas condiciones cromatográficas que las muestras (1).

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

Siendo:

RI= Índice de Kovats (índice de retención).

RI(i): Índice relativo de retención de la sustancia i.

R(i): Tiempo de retención del alcano z.
Z: Número de átomos de carbono en el alcano z.
R(z): Tiempo de retención del alcano z.
R(z+1): Es el tiempo de retención del alcano.

3. Comparando los tiempos de retención de los compuestos volátiles obtenidos de las muestras con los de patrones puros cuando se disponía de ellos (2-Methyl-1-propanol, 2-Methyl-1-butanol + 3-Methyl-1-butanol, Benzaldehyde, Heptane, Octane, 3-Hydroxy-2-butanone, Furfural, Dimethyl sulfide, D-limonene).

Los resultados se expresaron en μg de compuesto por g de miel, considerando los factores de respuesta de cada compuesto como 1. Para el cálculo se consideró el área relativa de cada compuesto en relación al área del patrón interno.

Los compuestos se muestran en inglés en este estudio tal y como aparecen en la librería NIST.

2.3. Análisis estadístico

El análisis de la varianza (ANOVA) ($\alpha=0.05$) realizado para cada compuesto se llevó a cabo con el programa Statgraphics Centurión XVI versión 16.1.15, considerando como factor la zona geográfica. El análisis de Componentes Principales (PCA) se realizó con el programa Unscrambler versión 10 (CAMO 2011).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Identificación de los compuestos de la fracción volátil

La **TABLA 3.** muestra los 27 compuestos identificados en las muestras de mieles procedentes de las cuatro zonas geográficas anteriormente comentadas, agrupados en las diferentes familias químicas a las que pertenecen: alcoholes (7), aldehídos (5), hidrocarburos (3), cetonas (4) ésteres (1), furanos (2), nitrilos (1), compuestos sulfurados (1), y terpenos (3).

Además, la tabla muestra para cada compuesto el número de pico correspondiente al que aparece en los cromatogramas, el rango de tiempos de retención (TR) (en los que los compuestos aparecen en los diferentes cromatogramas), el rango de los índices de Kovats (IK) (calculados para cada compuesto), así como el procedimiento utilizado para la identificación de todos los compuestos. En la figura **FIGURA 2.** se muestra un ejemplo de cromatograma para cada una de las diferentes zonas geográficas.

TABLA 3. Identificación de compuestos volátiles de las mieles colombianas.

Compuestos volátiles	Nº pico	TR	IK cal	Identificación
Alcohols				
2-Propanol	11	4.76-6.37	862-916	MS;KI
Ethanol	12	5.04-6.62	878-926	MS;KI
2-Butanol	15	7.84-9.36	990-1020	MS;KI
2-Methyl-3-buten-2-ol	16	8.32-9.87	1006-1036	MS;KI
2-Methyl-1-propanol	18	10.3-11.92	1067-1106	St;MS;KI
1-Butanol	19	11.41-12.94	1126-1161	MS;KI
2-Methyl-1-butanol + 3-Methyl-1-butanol	21	13.42-15.38	1175-1268	St;MS;KI
Aldehydes				
Acetaldehyde	2	0.56-2.6	715-761	MS;KI
2-Methyl propanal	5	1.93.85	752-794	MS;KI
2-Methyl butanal + 3-Methyl butanal	10	4.38-6.09	840-906	MS;KI
Benzaldehyde	25	20.81-22.69	1450-1516	St;MS;KI
Benzenacetaldehyde	27	24.48-25.65	1567-1634	MS;KI
Hydrocarbon				
Heptane	1	1.23-2.42	736-757	St;MS;KI
Octane	4	1.38-3.36	737-781	St;MS;KI
Toluene	17	8.65-10.04	1017-1042	MS;KI
Ketones				
Acetone	6	2.04-3.97	755-797	MS;KI
2-Butanone	9	4.31-5.72	836-891	MS;KI

2,3-Butanedione o 2-Pentanone	13	6.41-7.92	937-973	MS;KI
3-Hydroxy-2-butanone	22	14.12-15.82	1244-1271	St;MS;KI
Ésters				
Ethyl acetate	7	3.53-5.29	796-868	MS;KI
Furanes				
2-Methyl furan	8	3.72-5.49	802-879	MS;KI
Furfural	24	20.15-22.01	1379-1436	St;MS;KI
Nitriles				
2-Methyl-propanenitrile	14	7.35-8.25	972-1004	MS;KI
Sulphur Compounds				
Dimethyl sulfide	3	0.99-3.01	727-772	St;MS;KI
Terpenes				
D-limonene	20	12.32-13.88	1156-1201	St;MS;KI
Linalool oxide	23	16.78-18.53	1350-1409	MS;KI
3,7-Dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol (Hotrienol)	26	22.26-24.17	1497-1563	MS;KI

TR: tiempo de retención; IK cal: índices de Kovats calculados; MS: Comparación de espectros con los de la librería NIST; IK: Comparación con índices de Kovats; St: Comparación con patrones puros.

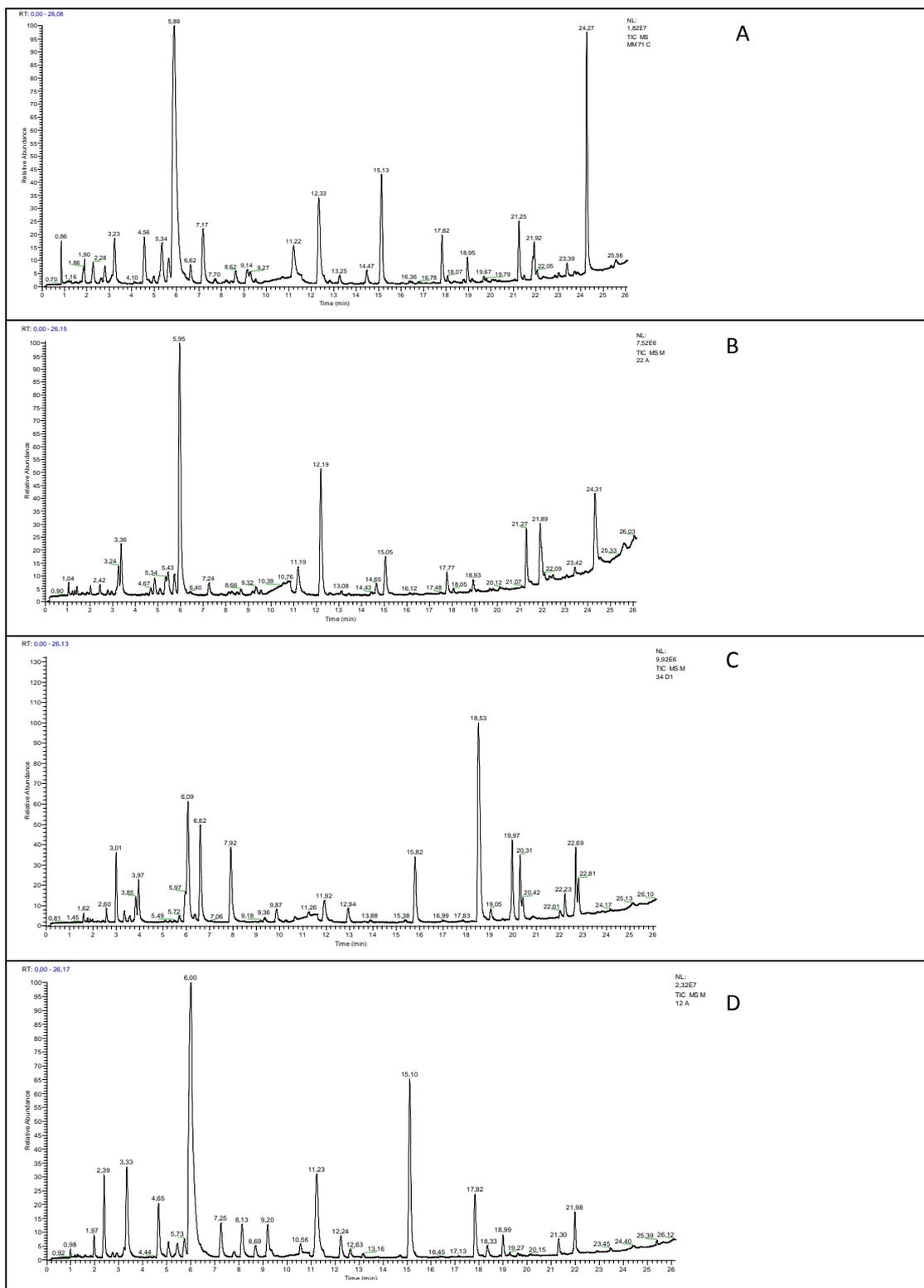


FIGURA 2. Ejemplo de cromatogramas (GC-MS) de los perfiles de compuestos volátiles de mieles colombianas procedentes de las regiones de diferentes regiones geográficas: (A) Andina, (B) Valle Interandino, (C) Llanos y (D) Caribe. Los números que aparecen en los picos se corresponden con los compuestos mostrados en la **TABLA 3**.

3.2. Influencia de la zona geográfica en la fracción volátil

Con la finalidad de evaluar el comportamiento de cada compuesto individualmente, en relación a la zona geográfica de procedencia de las mieles, se realizó un ANOVA simple. La **TABLA 4.** muestra los valores medios obtenidos, desviaciones estándar, grupos homogéneos y significación resultante del ANOVA.

Del análisis de los resultados obtenidos se observa que para 14 de los 27 compuestos identificados (2-Propanol; Ethanol; 2-Butanol; 2-Methyl-1-propanol; Acetaldehyde; Benzenacetaldehyde; Heptane; Acetone; 3-Hydroxy-2-butanone; Ethyl acetate; Dimethyl sulfide; Linalool oxide; 3,7-Dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol y 2-Methyl-propanenitrile) no se encontraron diferencias significativas respecto de la zona geográfica. Para el resto de compuestos, sí que se encontraron diferencias significativas entre las diferentes zonas geográficas.

Al analizar los grupos homogéneos del ANOVA se pueden apreciar algunas semejanzas o diferencia en el perfil volátil de determinadas zonas. Es de destacar que en la zona de “Llanos”, en general, la concentración de la mayoría de compuestos es más alta que en las otras tres zonas, destacando una diferencia significativa con ellas en 12 compuestos: 2-Methyl-3-buten-2-ol; 1-Butanol; 2-Methyl-1-butanol + 3-Methyl-1-butanol; 2-Methyl propanal; 2-Methyl butanal + 3-Methyl butanal; Octane; Toluene; 2-Butanone; 2,3-Butanedione; 2-Methyl furan; Furfural; D-limonene. Únicamente dos compuestos (3-Hydroxy-2-butanone y 2-Methyl-propanenitrile) no se detectaron en la zona de “Llanos” y sí en las otras tres.

Las zonas “Andina” y la del “Valle interandino” son muy semejantes desde el punto de vista del perfil volátil ya que prácticamente no hay diferencias significativas entre los compuestos analizados. La única excepción fue el Linalool oxide, más abundante en la del “Valle interandino”.

El perfil volátil de ambas zonas andinas (“Andina” y “Valle interandino”) es relativamente semejante a del “Caribe”, destacando la mayor abundancia significativa en la zona “Caribe” del Benzaldehyde. Algunos compuestos como el 2-Butanol y el Toluene, aunque presentaron una concentración algo mayor en la zona “Caribe”, sin embargo, diferían significativamente de ambas zonas andinas.

TABLA 4. Áreas relativas (medias y desviaciones estándar) de los compuestos volátiles ($\mu\text{g/g}$ miel; considerando factores de respuesta=1) y resultado del ANOVA (grupos homogéneos: letras; F-ratio y significación estadística) según zona geográfica.

Compuestos volátiles	ZONA GEOGRÁFICA				ANOVA F-ratio
	ALTO-ANDINA	VALLE-INTERANDINO	CARIBE	LLANOS	
Alcohols					
2-Propanol	0.29 (0.23) ^{ab}	0.20 (0.13) ^a	0.17 (0.29) ^a	0.64 (0.79) ^b	2.23 ^{ns}
Ethanol	9.19 (6.37) ^a	9.00 (6.29) ^a	9.13 (7.54) ^a	9.69 (11.19) ^a	0.01 ^{ns}
2-Butanol	0.17 (0.16) ^a	0.16 (0.12) ^a	0.23 (0.15) ^{ab}	0.45 (0.45) ^b	2.39 ^{ns}
2-Methyl-3-buten-2-ol	0.42 (0.52) ^a	0.10 (0.07) ^a	0.27 (0.52) ^a	1.46 (1.40) ^b	4.73 ^{**}
2-Methyl-1-propanol	1.29 (1.36) ^a	0.96 (0.69) ^a	1.71 (1.96) ^a	2.81 (2.82) ^a	1.29 ^{ns}
1-Butanol	0.08 (0.07) ^a	0.07 (0.07) ^a	0.08 (0.04) ^a	0.26 (0.06) ^b	3.90 [*]
2-Methyl-1-butanol + 3-Methyl-1-butanol	1.77 (1.48) ^a	1.28 (1.07) ^a	2.49 (2.63) ^a	9.04 (6.40) ^b	10.30 ^{***}
Aldehydes					
Acetaldehyde	0.31 (0.33) ^a	0.18 (0.27) ^a	0.24 (0.22) ^a	0.28 (0.23) ^a	0.23 ^{ns}
2-Methyl propanal	0.13 (0.09) ^a	0.20 (0.11) ^a	0.10 (0.07) ^a	0.50 (0.69) ^b	3.94 [*]
2-Methyl butanal + 3-Methyl butanal	0.51 (0.41) ^a	0.31 (0.35) ^a	0.34 (0.17) ^a	15.81 (13.23) ^b	22.23 ^{***}
Benzaldehyde	0.05 (0.04) ^a	0.11 (0.10) ^{ab}	0.18 (0.13) ^b	0.13 (0.15) ^{ab}	4.49 ^{**}
Benzenacetaldehyde	0.08 (0.08) ^a	0.11 (0.10) ^a	0.16 (0.14) ^a	0.06(0.11) ^a	1.39 ^{ns}
Hydrocarbon					
Heptane	0.06 (0.11) ^a	0.08 (0.12) ^a	0.02 (0.02) ^a	0.04 (0.05) ^a	0.64 ^{ns}
Octane	0.17 (0.18) ^a	0.06 (0.06) ^a	0.04 (0.05) ^a	0.53 (0.51) ^b	5.89 ^{**}

Toluene	0.07 (0.07) ^a	0.08 (0.04) ^a	0.14 (0.12) ^{ab}	0.24 (0.26) ^b	3.43 [*]
Ketones					
Acetone	0.95 (0.84) ^a	0.39 (0.29) ^a	0.76 (1.52) ^a	0.84 (1.16) ^a	0.75 ^{ns}
2-Butanone	0.09 (0.08) ^a	0.05 (0.02) ^a	0.16 (0.20) ^a	0.60 (0.68) ^b	7.08 ^{***}
2,3-Butanedione ó 2-Pentanone	1.69 (2.20) ^a	0.70 (0.47) ^a	0.49 (0.53) ^a	4.306 (1.80) ^b	4.17 [*]
3-Hydroxy-2-butanone	1.66 (2.409) ^a	0.61 (0.53) ^a	0.61 (0.86) ^a	<0.00	1.38 ^{ns}
Ésters					
Ethyl acetate	1.15 (1.44) ^a	0.71 (0.69) ^a	1.41 (1.28) ^a	0.38 (0.59) ^a	0.76 ^{ns}
Furanes					
2-Methyl furan	0.02 (0.02) ^a	0.09 (0.60) ^{ac}	0.03 (0.05) ^{ab}	0.17 (0.24) ^c	5.48 ^{**}
Furfural	0.44 (0.38) ^a	0.63 (0.63) ^a	0.44 (0.36) ^a	5.36 (3.31) ^b	27.06 ^{***}
Nitriles					
2-Methyl-propanenitrile	0.03 (0.06) ^b	0.15 (0.15) ^b	0.25 (0.56) ^b	<0.001	1.72 ^{ns}
Sulphur Compounds					
Dimethyl sulfide	0.91 (1.20) ^a	0.95 (1.35) ^a	0.46 (0.97) ^a	1.04 (1.78) ^a	0.29 ^{ns}
Terpenes					
D-limonene	0.13 (0.10) ^a	0.12 (0.09) ^a	0.11 (0.06) ^a	0.43 (0.33) ^b	6.20 ^{**}
Linalool oxide	0.23 (0.19) ^a	1.22 (1.89) ^b	0.62 (0.15) ^{ab}	0.96 (0.63) ^{ab}	2.67 ^{ns}
3,7-Dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol (Hotrienol)	0.40 (0.77) ^a	0.37 (0.27) ^a	0.97 (1.55) ^a	0.23 (0.22) ^a	0.94 ^{ns}

nd: <0.001; ns: no hay diferencias significativas; * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Después de la observación individual de cada compuesto, se ha realizado un análisis PCA con la finalidad de evaluar el efecto global que, sobre la fracción volátil total, tienen las zonas geográficas objeto de estudio. La **FIGURA 3.** muestra los gráficos del PCA obtenidos: gráfico de las puntuaciones (scores) y el gráfico de cargas (loading).

En el gráfico de puntuaciones la proximidad entre muestras implica un similar comportamiento en el perfil volátil. En este gráfico el PC1 representa el 43% de la variabilidad de los datos. Este eje influye decisivamente en la separación de las mieles de la zona andina del resto. Sin embargo, no se observa distinción entre las mieles “Andinas” (A) y las del “Valle interandino” (V). Este hecho se corresponde con lo observado anteriormente en el estudio individual de cada compuesto. Es de destacar que 4 de las muestras de “Caribe” (C3, C4, C5 y C6) están separadas del resto de las de su zona, encontrándose situadas junto a las andinas de bosque seco (A9 a A16). De la misma forma, las muestras andinas A4 y A5 (de bosque seco) están próximas al grupo de “Caribe” de bosque muy seco. Este hecho refleja una cierta influencia del clima en la ubicación de las muestras. El PC2 (con un 17% de la variabilidad de los datos) diferencia las mieles del “caribe”(C) de las de los “Llanos” (LL).

Observando el gráfico de loading, en el que se representan las variables, se aprecia que las mieles andinas son menos ricas en la práctica totalidad de los compuestos volátiles identificados, ya que éstos con la única excepción del 3,7-dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol (hotrienol) se encuentran situados en el cuadrante derecho, opuesto a la ubicación de éstas muestras. Sin embargo, la observación de la concentración de este compuesto en cada una de las diferentes muestras de “Caribe” analizadas nos indica que la ubicación del mismo en el cuadrante izquierdo se debe fundamentalmente a que el hotrienol es muy abundante únicamente en determinadas mieles de esta zona: C3, C4, C5 y C6.

Algunos compuestos como Benzaldehyde, 2-Butanol y Toluene, entre otros situados en el cuadrante superior derecho, contribuyen en la separación de las mieles de “Caribe”. De la misma forma, los compuestos situados en el cuadrante inferior derecho contribuyen fundamentalmente en la separación de las mieles de “Llano”, por su especial abundancia en ellas.

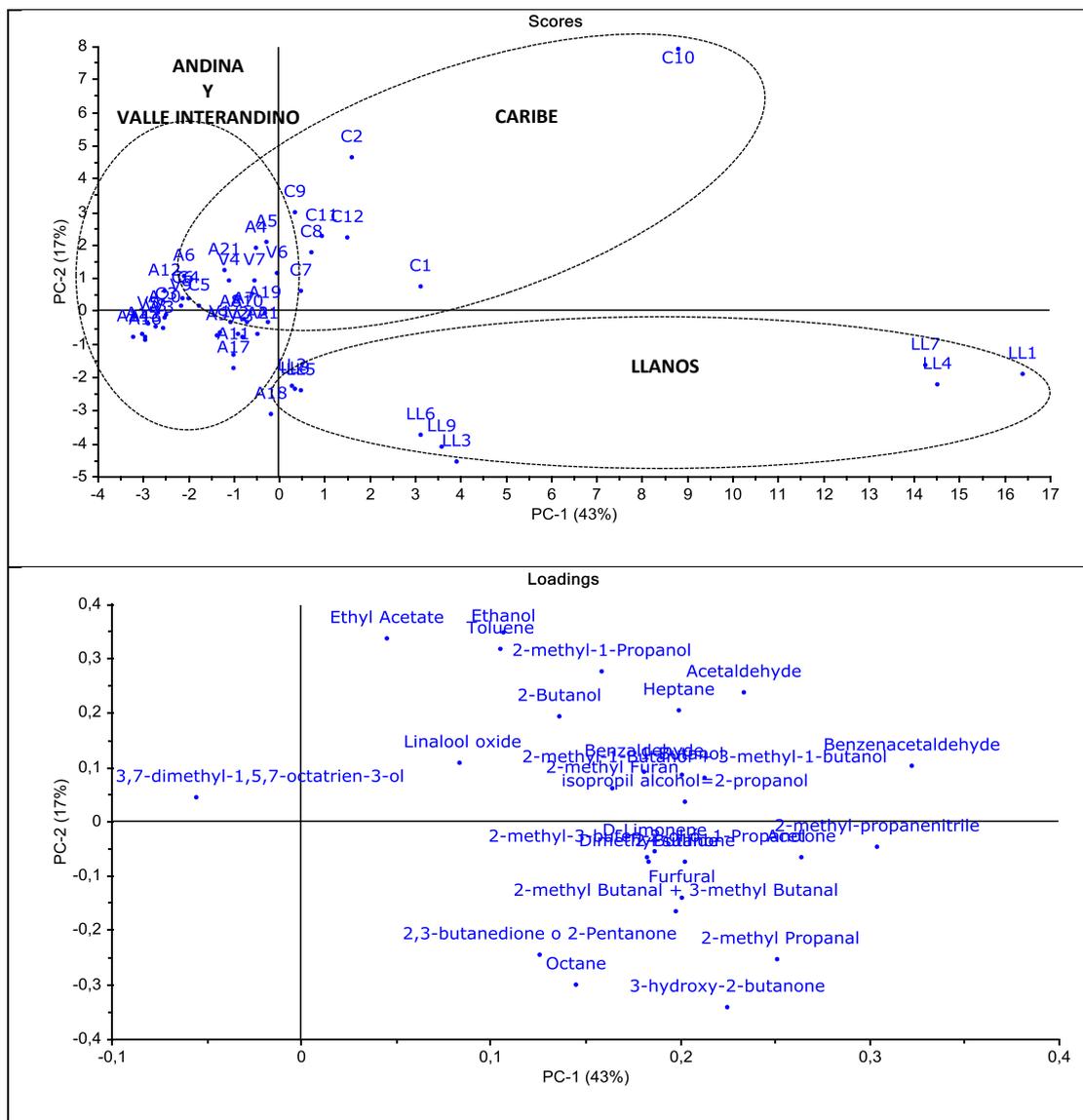


FIGURA 3. Análisis de Componentes Principales realizado sobre los compuestos volátiles identificados. (a) gráfico de puntuaciones para las distintas zonas geográficas (scores); (b) gráfico de cargas (loadings). para los compuestos.

4. CONCLUSIONES

En mieles colombianas procedentes de cuatro zonas geográficas (Andina, Valle interandino, Caribe y Llanos) se han identificado por GC-MS 27 compuestos volátiles: 7 alcoholes, 5 aldehídos, 3 hidrocarburos, 4 cetonas, 1 éster, 2 furanos, 1 nitrilo, 1 compuesto sulfurado y 3 terpenos.

El perfil de compuestos volátiles ha permitido distinguir mieles en función de la zona geográfica a la que pertenecen, observándose diferencias significativas entre las diferentes zonas geográficas para 13 de los 27 compuestos identificados.

Las zonas “Andina” y la del “Valle interandino” son muy semejantes desde el punto de vista del perfil volátil, la única excepción fue el compuesto Linalool oxide, más abundante en el “Valle interandino”.

El perfil volátil de ambas zonas andinas (“Andina” y “Valle interandino”) es relativamente semejante a la del “Caribe”, aunque destaca en esta última un mayor contenido de 2-Butanol, Toluene, y especialmente de Benzaldehído.

La zona de “Llanos” presenta concentraciones más altas para la mayoría de compuestos analizados, aunque algunos compuestos como 3-Hydroxy-2-butanone y 2-Methyl-propanenitrile no se detectaron en ella.

5. REFERENCIAS

- Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., Harizanis, P. C., & Polissiou, M. (2005). Evaluation of four isolation techniques for honey aroma compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 91–97.
- Bastos, C., and R. Alves. 2003. Compostos voláteis em méis florais. *Quim. Nova* 26:90-96.7.
- Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., Parolari, G., et al. (1994). Sensory property relationship to chemical data italian-type dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 27(5), 491–495.
- Castro-Vázquez, L., M.C. Díaz-Maroto, and M.S. Pérez Coello. 2006a. Volatile composition and contribution to the aroma of Spanish honeydew honeys. Identification Of a new chemical marker. *J. Agric. Food Chem.* 54:4809-4813.
- Cuevas-Glory, L.F.; Pino, J.A.; Santiago, L.S.; Sauri-Duch, E. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry* 103 (2007) 1032–1043
- De la Fuente E., Martínez-Castro I., Sanz J. (2005)– Characterization of Spanish unifloral honeys by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*. 28, 1093 – 1100.
- Escriche, I., Kadar, M., Juan-Borrás, M., & Domenech, E. (2011). Using flavonoids, phenolic compounds and headspace volatile profile for botanical authentication of lemon and orange honeys. *Food Research International*, 44 (5), 1504-1513.

- Escriche, I., Visquert, M., Juan-Borrás, M., & Fito, P. (2009). Influence of simulated industrial thermal treatments on the volatile fractions of different varieties of honey. *Food Chemistry*, 112(2), 329–338.
- Holdridge, L. R.; Grenke, W.; Hatheway, W.H.; Liang, T.; Tosi, J.A. 1971. «Forest Environments in Tropical Life Zones: A Pilot Study». Pergamon Press, Oxford.
- Iglesias, M.T., C. De Lorenzo, M. Polo, P.J. Martín Alvares, and E. Pueyo. 2004. Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area. *J. Agric. Food Chem.* 52:84-89.
- Overton, S., & Manura, J. (1994). Flavor and aroma in commercial bee honey. A purge-and-trap thermal desorption technique for the identification and quantification of volatiles and semivolatiles in honey. *American Laboratory* 26, 45,47–53.
- Overton S.V., Manura J.J. (1999)– Flavor and aroma in natural bee honey. Scientific Instrument Services, Inc., Application Note 25.
- Radovic B. S., Careri M., Mangia A., Musci M., Gerboles M., Anklam E. (2001)– Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry*. 72, 511 – 520.
- Roberts, T. A., Aureli, P., Flamini, C., & Yndestad, M. (2002). Honey and microbiological hazards. In *Proceedings of the scientific committee on veterinary measures relating to public health*.
- Serra, J., and F. Ventura. 2003. Flavour index and aroma profiles of fresh and processed honeys. *J. Sci. Food Agric.* 83:275-282.
- Soria A.C., Gonzalez M., de Lorenzo C., Martinez-Castro I., Sanz J. (2004)– Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. *Food Chemistry*. 85, 121 – 130.
- Soria A.C., Martinez-Castro I., Sanz J. (2002)– Analysis of volatile composition of honey by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*. 26, 793 – 801.
- Verzera A., Campisi S., Zappala M., Bonnacorsi I. (2001)– SPME-GC-MS analysis of honey volatile components for the characterization of different floral origin. *American Laboratory*.7,18–21.