

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA
I DEL MEDI NATURAL



**ANÁLISIS QUÍMICO DE MIELES DE
MOZAMBIQUE**

**MÁSTER EN GESTIÓN DE LA SEGURIDAD Y CALIDAD
ALIMENTARIA**

Autor del trabajo: **Fernando Joao Tanleque Alberto**

Tutora: **Dra. Isabel Escriche Roberto¹**

¹Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD)
Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 460022 Valencia

ANALISIS QUIMICO DE MIELES DE MOZAMBIQUE

Fernando Joao Tanleque-Alberto & Isabel Escriche Roberto¹

RESUMEN

Mozambique, localizado en la costa oriental de África, es un país con un gran potencial en términos de disponibilidad de recursos agro-ecológicos y con una gran diversidad en su climatología, orografía y vegetación. De hecho, existe una gran variedad de flora melífera que puede ser aprovechada a lo largo del año mediante la trashumancia. La apicultura en las zonas rurales de Mozambique proporciona alimento para las familias y podría servir para complementar su fuente de ingresos. Existe una ausencia casi total de datos científicos relativos a la miel de Mozambique, por ello el objetivo del presente estudio ha sido evaluar las características físicoquímicas, color, azúcares, y la fracción volátil de mieles de Mozambique procedentes de tres regiones del país (Nampula, Sofala y Zambezia). Los resultados del ANOVA mostraron que las mieles de las tres regiones diferían significativamente en relación al HMF, humedad, conductividad eléctrica, a_w y al color Pfund y que no se diferenciaban en relación al contenido en azúcares mayoritarios (fructosa, glucosa y sacarosa). Con relación a los compuestos volátiles se han observado diferencias significativas entre zonas geográficas para 14 de los 35 compuestos identificados. Un análisis multivariante (PCA), realizado con dichos compuestos, ha permitido distinguir las mieles en función de su origen. Las mieles de Mozambique de las tres zonas estudiadas presentan peculiaridades distintas en relación a la presencia de compuestos volátiles, bien por tener gran abundancia de ellos (como las de Nampula), o por la presencia de algunos específicos, como las de Sofala, especialmente los aldehídos Butanal y Butanal 2-methyl.

Palabras clave: mieles de Mozambique, compuestos volátiles, parámetros físicoquímicos, origen geográfico.

RESUM

Moçambic, localitzat a la costa oriental d'Àfrica, és un país amb un gran potencial en termes de disponibilitat de recursos agro-ecològics i amb una gran diversitat en la seua climatologia, orografia i vegetació. De fet, existeix una gran varietat de flora mel·lífera que pot ser aprofitada al llarg de l'any mitjançant la transhumància. L'apicultura a les zones rurals de Moçambic serveix com a aliment per a les famílies i podria servir per a complementar la seua font d'ingressos. Existeix una absència quasi total de dades científiques relatives a la mel de Moçambic, per això l'objectiu del present estudi ha sigut avaluar les característiques físicoquímiques, color, sucres i la fracció volàtil de mels de Moçambic procedents de tres

regions del país (Nampula, Sofala i Zambezia). Els resultats de l'ANOVA van mostrar que les mels de les tres regions diferien significativament en relació al HMF, humitat, conductivitat elèctrica, a_w i al color Pfund i que no es diferenciaven en relació al contingut en sucres majoritaris (fructosa, glucosa i sacarosa). En relació als compostos volàtils s'han observat diferències significatives entre zones geogràfiques per a 14 dels 35 compostos identificats. Un anàlisi multivariant (PCA), realitzat amb els compostos volàtils, ha permès distingir les mels en funció del seu origen. Les mels de Moçambic de les tres zones geogràfiques estudiades presenten peculiaritats diferents en relació a la presència de compostos volàtils, bé per tindre gran abundància d'ells (com les de Nampula), o per la presència d'alguns específics, com les de Sofala, especialment els aldehids Butanal i Butanal 2-methyl.

Paraules clau: mels de Moçambic, compostos volàtils, paràmetres físic-químics, origen geogràfic.

ABSTRACT

Mozambique, located on the east coast of Africa, is a developing country with great potential in terms of the availability of agro-ecological resources. It has a great diversity of climate, vegetation and geographic regions. This results in a variety of melliferous flora that can be exploited throughout the year by transhumance. Beekeeping in rural areas of Mozambique provides food for families and could serve to complement their income. There is an almost total lack of scientific data concerning the characteristics of honey from Mozambique. Therefore, the objective of this study was to evaluate the physicochemical characteristics, colour, sugar composition and the aromatic fraction of honey from different areas of Mozambique (Nampula, Sofala y Zambezia). The ANOVA results showed that honey from the three regions differed significantly in relation to HMF, moisture, electrical conductivity, a_w and Pfund colour, but not with respect to the content of major sugars (fructose, glucose and sucrose). With regard to the volatile fraction, statistical differences were found between geographic regions for 14 of the 35 compounds identified. A multivariate analysis (PCA) of these compounds permitted differentiation of the honey samples according to their origin. Mozambique honey from the three areas under study have different characteristics in relation to the presence of volatile compounds; either due to an abundance of them (e.g. Nampula), or the presence of some specific compounds, especially aldehydes such as Butanal and Butanal 2-methyl (e.g. Sofala).

Key words: Mozambique honey, volatile compounds, physicochemical characteristics, geographical origin.

1. INTRODUCCIÓN

La miel se consume desde tiempos pre-históricos, incluso en el antiguo testamento se describe la tierra prometida como aquella “en la que mana leche y miel”. La recolección de miel es una actividad que permite el aprovechamiento de los recursos naturales y el respeto al medio ambiente (Zandamela, 2008). La miel, además de consumirse directamente como un alimento, se utiliza en repostería, en la elaboración de bebidas alcohólicas y en la fabricación de productos farmacéuticos, como pomadas para heridas. La importancia de la miel como alimento se debe sobre todo a su elevado contenido de carbohidratos fácilmente absorbibles, minerales, sustancias antioxidantes, sustancias aromáticas, etc. (Beltz y Grosch, 2007).

Mozambique, localizado en la costa oriental de África, es un país en vías de desarrollo. En él la apicultura es una actividad con una larga tradición y de importancia significativa en las zonas rurales, no solo porque sirve de sustento, sino además, como fuente de ingresos para la población. En este país la comercialización de miel puede jugar un importante papel en la sociedad con creación de medios de vida sostenibles ya que puede favorecer el desarrollo de muchos sectores diferentes de la sociedad: vendedores, carpinteros que fabrican las colmenas, elaboradores de vestimentas y guantes protectores, elaboradores de envases.

Aunque no existen datos estadísticos oficiales sobre la producción de miel en Mozambique, se estima en aproximadamente 3.600.000 kg/año (Jooster y Smith 2004). La mayoría de la producción de miel en Mozambique se vende en mercados directamente por los apicultores o en tiendas locales por pequeños comerciantes.

Mozambique es un país con un gran potencial en términos de disponibilidad de recursos agro-ecológicos, con una gran diversidad en su climatología, orografía y vegetación. De hecho, existe una gran variedad de flora melífera que puede ser aprovechada a lo largo del año mediante la trashumancia (Alcobia, 1995).

En general las mieles africanas, por la vegetación y por la influencia de las técnicas de extracción tradicionales tienen unas características muy peculiares entre las que destacan su sabor fuerte e intenso (<http://beehoneyorg.blogspot.com.es/2013/04/miel-de-miombo-ya-podeis-probar-miel.html>)

Existe una ausencia casi total de datos científicos relativos a la miel de Mozambique, ya que son muy escasos los trabajos publicados sobre ella (Zandamela, 2008), incluso en la literatura de carácter divulgativo. En este sentido, es interesante ampliar los conocimientos sobre las características químicas de estas mieles, especialmente aquellas relacionadas con los indicadores de calidad y propiedades organolépticas. Esto permitirá promocional el sector apícola del país y suscitará el interés de organismos oficiales implicados en la normalización de este alimento en Mozambique.

Por todo ello el objetivo del presente estudio ha sido evaluar las características físicoquímicas, color, azúcares, y la fracción volátil de mieles de Mozambique procedentes de tres regiones del país (Nampula, Sofala y Zambezia).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Recogida y preparación de muestras

En este estudio se han utilizado 20 muestras procedentes de las tres provincias de Mozambique de mayor producción de miel: 10 de Nampula (distritos costeros de Moma e Angoche), 5 de Sofala (envasadas por Mozambique honey Company) y 5 de Zambezia (envasadas por la asociación de apicultores de Zambezia).

Las muestras, en recipientes adecuados para su posterior análisis, se llevaron al laboratorio de calidad de la miel y de los Productos apícolas ubicado en el Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IUIAD) en la Universidad Politécnica de Valencia (España).

2.2. Parámetros físicoquímicos

Los análisis físicoquímicos de las muestras se realizaron siguiendo los métodos oficiales españoles para la miel (BOE, 1986) y la International Honey Commission (Bogdanov, 2009). Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

2.2.1. Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica, se midió con un conductímetro de marca Seven Multi (Mettler Toledo, Suiza). Se pesaban 20g de materia seca de la miel, que se aforaban a 100mL con agua destilada. Aproximadamente 75mL de la solución se depositaban en un vaso de precipitado con agitación y temperatura controlada de 25°C. La lectura del valor de la conductancia de la solución se expresaba en mS.cm⁻¹.

2.2.2. Humedad

La determinación del contenido en humedad se realizaba por el método refractométrico basado en la medida de índice de refracción de la miel, utilizando un refractómetro do tipo Abbe con baño termostatzado (Atago Abbe 3T, Japón) a una temperatura de 20°C ±1. A partir de los valores de índice de refracción obtenidos se calculaba la humedad, referida a 20°C, utilizando la equivalencia mediante la tabla de Chataway. El contenido de Humedad se expresaba en g/100g de miel.

2.2.3. Hidroximetilfurfural (HMF)

La determinación de hidroximetilfurfural se basó en el método espectrofotométrico de White leyendo la absorbancia a 284 y 336nm. Se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS de doble haz (Helios alpha, Thermo).

2.2.4. Actividad del agua (a_w)

La actividad de agua fue medida, a 25°C mediante un higrómetro de punto de rocío (Decagon Devices Inc. modelo Aqualab Serie 4TE, Estados Unidos) con una precisión de ± 0.003 .

2.3. Determinación del color

2.3.1. Escala Pfund

Se analizó con colorímetro diseñado específicamente para la miel (HANNA C221, Spain) que mide la transmitancia de luz en la muestra y la compara con la del patrón (glicerol analítico de grado reactivo). La miel se licuaba a 45-50°C (Corbella, 2006). Los valores se expresan en milímetro en escala Pfund.

2.3.2 Coordenadas CIE-L*a*b*

Se midieron en un colorímetro (MINOLTA modelo CM-3600d, Estados Unidos). Las coordenadas triestimulo (X,Y,Z) se obtuvieron utilizando como referencia un observador 2° y un iluminante D65. Las mieles eran introducidas en cubeta de 2cm de paso de luz, realizándose todas las medidas con un fondo blanco y negro, obteniendo posteriormente las coordenadas CIE L*a*b* (CIELAB, 1976).

2.4. Análisis de azúcares

La determinación de los azúcares fructosa, glucosa y sacarosa se llevó a cabo según un procedimiento Interno (PNT) del Laboratorio de Control de Calidad de la miel del IUIAD (UPV). Se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución (Agilent Technologies modelo 1120 Compact LC, Germany), acoplado a un detector Evaporative *Light Scattering* (Agilent Technologies modelo 1200 Series, Germany), con columna Waters Carbohydrate 4.6x250mm, 4 μ m de partícula. La separación de los diferentes azúcares se llevó a cabo en modo isocrático, con agua y acetonitrilo 25/75 y velocidad de flujo de 0.8 mL/min. La elución se completó en 14 minutos. Las condiciones del detector fueron: temperatura 50 °C, presión del gas (N₂) 3.5 bares y ganancia 6. El análisis de los datos resultantes se llevó a cabo con el software EZChrom Elite. El volumen de inyección era 5 μ L.

2.5. Análisis de los compuestos volátiles

La extracción de la fracción volátil de las muestras de miel, se llevó a cabo mediante purga y trampa en corriente de nitrógeno (100mL/min) (Escriche et al., 2009; Kadar et al., 2011). Se atrapaba la fracción volátil liberada en Tenax (TA 20-35 mesh). La desorción de los compuestos retenidos se realizaba en un desorbedor térmico Turbomatrix TD (Perkin Elmer, Wellesley, USA) bajo flujo de Helio 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 de la trampa fría hasta los 250°C (rampa de temperatura 99°C/s). La separación se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (Trace GC 2000), equipado con una columna capilar DBWax (SGE) de 60 m longitud, 0,35 mm diámetro interno y 1 µm espesor de fase estacionaria y detector de masas (Finnigan TRACE MS, software Xcalibur). El impacto electrónico se realizó a 70 eV con un rango de masas de m/z 33-433.

La identificación de los componentes volátiles se ha llevado a cabo: a) utilizando la base de datos de la Librería NIST que proporciona el software del GC-MS; b) Calculado los Índices de retención lineal o Índices de Kovats a partir de los tiempos de retención de un conjunto de alcanos específicos C8-C20 (Fluka Buchs, Schwiez, Switzerland), que se inyectan en las mismas condiciones cromatográficas que las muestras. Los índices calculados se comparaban con tablas bibliográficas (Kondjoyan y Berdagué, 1996) y c) Comparado los tiempos de retención de los picos obtenidos en los cromatogramas de las muestras con los de las sustancias patrones comerciales (Fluka Bushs, Schwies, Switzerland).

2.6. Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) ($\alpha=0.05$) a cada una de las variables estudiadas, utilizando el programa Statgraphics Centurión XVI versión 16.1.15, para evaluar la significación de la variabilidad entre "zonas geográficas". Además, a las variables correspondientes a los compuestos volátiles, se aplicó un Análisis de Componentes Principales (PCA) (Unscrambler version 10, CAMO 2011) para evaluar el efecto conjunto de todas ellas en la diferenciación entre zonas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización fisicoquímica, color y contenido en azúcares

La Tabla 1 muestra los valores de los parámetros fisicoquímicos, color y contenido en azúcares obtenidos en las mieles analizadas procedentes de las 3 provincias consideradas (Nampula, Sofala y Zambezia). Para cada parámetro se detalla el valor medio, desviación estándar, máximo y mínimo, así como el resultado del ANOVA para el factor “zona geográfica”.

3.1.1. Humedad

El contenido en agua de la miel es un factor determinante en su calidad, no solo porque influye en sus características organolépticas (viscosidad, condiciones de palatabilidad y sabor), sino además, por ser determinante en su vida útil (Bogdanov et al., 2004). En las mieles con un contenido de humedad por encima del 20% se ve favorecido el crecimiento de levaduras osmófilas, mientras que las mieles con un porcentaje de humedad inferior al 14% son excesivamente viscosas y difíciles de extraer y utilizar (Estupiñán et al., 1998).

En el presente trabajo, con relación a la humedad, el ANOVA (Tabla 1) ha mostrado diferencias significativas entre las tres zonas ($p < 0,001$). La zona de Nampula presentó los mayores contenidos de humedad (con un valor medio de $22,1 \pm 0,3$ g/100g y un rango entre 21,7 a 23,3 g/100g), seguida de la zona de Zambezia (con un valor medio $20,5 \pm 0,2$ g/100g y un rango de 20,3 a 20,6 g/100g). Los contenidos de humedad menores se obtuvieron en las mieles de Sofala (media de $17,7 \pm 1,2$ g/100g y rango de 16,6 a 19,2 g/100g). Teniendo en cuenta los criterios de calidad de la miel (Real Decreto 1049/2003 y Directiva 110/2001) las mieles de las regiones de Sofala y Zambezia se encuentran dentro de rango adecuado, en relación a este parámetro. Sin embargo, solo una muestra de la zona Nampula superó el 23 g/100 g.

Valores de humedad tan elevados en la zona de Nampula pueden estar asociados a unas condiciones de extracción y almacenamiento inadecuado de la miel, ya que la mayoría de los productores no dispone de la formación adecuada. Sin embargo, también pueden estar relacionados con el tipo de clima subtropical húmedo.

Los valores de la humedad obtenidos en el presente estudio son similares a encontrados por Zandamela (2008) (con un rango que osciló entre 15,30 y 21,65 g/100g) y por Serem y Bester (2012) en mieles de Sur África (que reportó valores medios de 18,23 g/100g). En mieles del Norte de África se han obtenido valores de humedad entre 14,64 y 21,8 g/100g, (Malika et al., 2005; Ouchemoukh et al., 2007; Saxena, et al., 2010). En general, en mieles españolas los valores medios de humedad son similares a los del presente estudio, superándose el límite de 20 g/100 g

en muy escasas ocasiones (Escriche et al., 2009.; Kadar et al., 2011; Juan-Borrás et al., 2015).

3.1.2. Hidroximetilfurfural (HMF)

Este compuesto aparece de forma espontánea y natural en la miel, favorecido por su medio ácido (pH 3,9) y su composición rica en monosacáridos (fructosa y glucosa). La velocidad de su formación se ve favorecida por el tiempo y la temperatura de almacenamiento y/o calentamiento (Escriche, et al., 2008).

La tabla 1 muestra la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las tres zonas geográficas ($p < 0,001$), con valores considerablemente mayores en las muestras de Sofala, oscilando entre 26,1 y 47,2 mg/kg. Concretamente 2 de las muestras analizadas en esta región presentaron valores superiores al límite máximo permitido de 40mg/kg (Real Decreto 1049/2003). Sin embargo, es importante destacar que ninguna muestra superó 80mg/kg, límite permitido por el Codex Alimentarius (2001a) para mieles procedentes de regiones de clima tropical, como es el caso de Mozambique. Zandamela, (2008) encontró en mieles de las regiones centro y sur de Mozambique valores medios de HMF similares a los del presente estudio (entre 2,84 y 44,83mg/kg).

En general, las mieles de climas cálidos pueden presentar valores superiores de hidroximetilfurfural en relación a las de zonas frías. Bosch et al., (1986) observaron este hecho en mieles Canarias.

3.1.3. Actividad del agua

La miel es higroscópica debido a su baja actividad de agua (a_w), que se suele encontrar por debajo de 0,600 (Acquarone, 2004). Este valor es considerado por algunos autores como límite para una miel de buena calidad (Belitz y Grosch, 1997). La mayoría de las muestras del presente trabajo mostraron valores superiores a este nivel, no superando en ningún caso el valor de 0,700 considerado como límite de aceptación (Mossel et al., 2003). La Tabla 1 muestra la existencia de diferencias significativa ($p < 0,001$) entre zonas geográficas en lo que respecta a este parámetro. Las a_w más altas correspondían a las mieles de Nampula y Zambezia, con valores comprendidos entre 0,650 y 0,680 para la primera y 0,610 y 0,620, respectivamente. Para Sofala los valores fueron inferiores (entre 0,560 y 0,620). Esto nos indica que las mieles de esta región tienen menor cantidad de agua en estado libre, y que por lo tanto son más estables en lo que respecta al desarrollo de microorganismos, reacciones enzimáticas y reacciones químicas dependientes del agua.

3.1.4. Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica está relacionada con el contenido en minerales de las mieles, por lo que este parámetro varía en función del

origen botánico del que proceden. Las mieles de mielada presentan valores más altos de conductividad eléctrica que las florales. La Directiva europea relativa a la calidad de la miel establece que una miel solo se puede considerar de mielada si el valor de este parámetro es superior a 0,80mS/cm. En el presente estudio el ANOVA mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre zonas en relación a la conductividad eléctrica. El 87% de muestras presentaron valores de este parámetro suficientemente altos como para ser consideradas de mielada, llegando hasta 1.40 mS/cm. Únicamente en la región de Sofala, 2 muestras se pueden considerar de origen floral, ya que en ellas la conductividad eléctrica fue de 0,39 y 0,59 mS/cm.

Los resultados encontrados en el presente trabajo son similares a los reportados en mieles de Mozambique, de las regiones de Manica (0,30 a 1,43 mS/cm), Sofala (0,21 a 2,62 mS/cm) y Inhambane (0,35 a 1,47 mS/cm), y en mieles de otros países africanos como Burkina Faso (0,25 a 1,02 mS/cm) (Zandamela, 2008; Nombré, et al., 2010).

3.1.5. Color

El color de las mieles está relacionado con ciertos pigmentos como carotenos, y xantofilas, así como con el contenido en minerales que se encuentran en el néctar de las flores o en las secreciones de las plantas. Por este motivo, este parámetro está relacionado con el origen botánico de las mieles. En general, cuanto más oscura es una miel mayor es el porcentaje en sales minerales (Visquert, et al., 2014).

La Tabla 1 muestra el color, de las mieles estudiadas, evaluado con las coordenadas de color CIE $L^*a^*b^*$, y la escala de color Pfund. Con relación al color CIE $L^*a^*b^*$, todas las muestras presentaron valores de luminosidad positiva y sin diferencia significativa entre ellas. Destaca la región de Nampula con valores más elevados y con un rango de variabilidad mayor al de las otras dos regiones (25,17 a 44,63). Por el contrario, la menor luminosidad y menor variabilidad se observó en la región de Zambezia (25,60-25,65).

Todas las muestras presentaron valores positivos de a^* comprendidos en un rango de 1,13 y 10,68, lo que indica que el color de las muestras tenían tonalidades rojizas. Los valores medios para este parámetro fueron de $6.0 \pm 3,9$; $4,5 \pm 0,22$ y $1,4 \pm 0,02$, para Nampula, Sofala y Zambezia, y sin diferencias significativas entre regiones.

La coordena b^* , tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas. Las mieles de Nampula presentaron una gran variabilidad (1,46-24,8), al contrario que Sofala (6,39-7,07) y Zambezia (2,23-2,26). Todas las muestras mostraron tonalidades amarillas, ya que en todos los casos el valor de b^* fue mayor de 0.

Con relación al color medido mediante la escala Pfund, es de destacar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre zonas geográficas ($p < 0,001$). Se observa que el color Pfund es bastante similar en las regiones de Nampula y Zambezia, con valores comprendidos entre 137 y 143 mm Pfund para estas regiones. Sin

embargo, los valores obtenidos para las mieles de Sofala fueron significativamente menores oscilando entre 84 y 125 mm Pfund. Este resultado es coherente con las diferencias observadas entre regiones para los valores de conductividad. En general ambos parámetros están correlacionados entre sí y con el contenido en minerales. Normalmente las mieles claras poseen un contenido mineral muy bajo y una conductividad menor y a las oscuras un contenido mineral muy alto y una mayor conductividad (Al et al., 2009; Juan-Borrás et al., 2014).

3.1.6. Azúcares mayoritarios (fructosa, glucosa y sacarosa)

La concentración de los azúcares mayoritarios (fructosa, glucosa y sacarosa) se muestran en la tabla 1. El ANOVA reflejó que no existían diferencias significativas entre regiones en relación a su contenido. Para la fructosa y glucosa los valores oscilaron entre 38,3 y 42,7 g/100g y 27,8 y 31,9 g/100g, respectivamente. Estos valores se consideran normales en mieles europeas (Juan-Borrás et al. 2014).

En el presente estudio, ninguna muestra superó los valores de 44,3 g/100g para fructosa y 40,8 g/100g para glucosa señalados por Beltz y Grosch (2007) como valores extremos para la miel, en general. Sin embargo, Zandamela (2008) encontró en la región de Sofala valores superiores para la fructosa (28,9-50,8 g/100g).

En la miel el contenido de sacarosa es muy inferior al de glucosa y fructosa. En el presente trabajo, en todos los casos la sacarosa se encontraba en una concentración inferior a 1g/100g. En mieles europeas, se han encontrado valores de sacarosa comprendidos entre 0.3 y 2.2 g/100g (Juan-Borrás et al. 2014). Contenidos de sacarosa altos, en general, puede reflejar que la miel no ha madurado el tiempo suficiente y que todavía el néctar no está totalmente transformado, o bien que ha sido adulterada (Beltz y Grosch, 2007).

Las relaciones fructosa/glucosa (F/G) se suelen utilizar como indicadores de la capacidad de cristalización de una miel. En general, las mieles cristalizan rápidamente con relaciones F/G inferiores a 1,2 ó 1,4; y no cristalizan con valores mayores de 2 (Tosi, 2004). Ninguna de las muestras analizadas presentó una relación F/G inferior a 1,20, lo que muestra su escasa posibilidad de cristalización. Los valores de F/G más dispares los presentó la zona de Nampula, de 1,24 a 1,52; siendo de 1,32 a 1,39 para Sofala y de 1,28 a 1,31 para Zambezia. Sin embargo, este índice no fue significativamente distinto en función de la región considerada, mostrando valores medios muy semejantes $1,34 \pm 0,10$; $1,35 \pm 0,03$ y $1,25 \pm 0,20$, respectivamente.

TABLA 1. Parámetros Físicoquímicos (medias y desviaciones estándar, valores mínimo, máximo, F-ratio y P-valor) obtenidos en mieles de tras Zonas geográficas de Mozambique.

Parámetros Físicoquímico	NAMPULA			SOFALA			ZAMBEZIA			ANOVA
	Media(DS)	Mini	Max	Media(DS)	Min	Max	Media(DS)	Min	Max	F-ratio
Humedad(g/100g)	22,1(0,3) ^a	21,7	23,3	17,7(1,2) ^b	16,6	19,2	20,5(0,2) ^c	20,3	20,60	47,06 ^{***}
HMF(mg/kg)	15,5(5,6) ^b	8,1	24,5	37,0(9,9) ^a	26,1	47,2	28,4(4,2) ^a	25,33	31,28	15,22 ^{***}
a _w	0,660(0,010) ^b	0,650	0,680	0,600(0,030) ^a	0,560	0,620	0,600(0,010) ^a	0,610	0,620	29,54 ^{***}
Conductividad eléctrica(mS/cm)	1,30(0,02) ^a	1,35	1,40	0,87(0,6) ^b	0,39	1,37	1,29(0,00) ^a	1,21	1,21	4,77 [*]
COLOUR CIEL* a*b*										
L	32,4(7,4) ^a	25,2	44,6	29,5(0,9) ^a	28,8	30,0	25,6(0,01) ^a	25,64	25,65	1,16 ^{ns}
a*	6,0(3,9) ^a	1,1	10,7	4,5(0,2) ^a	4,2	4,6	1,4(0,02) ^a	1,4	1,4	1,82 ^{ns}
b*	10,7(8,9) ^a	1,4	24,8	6,7(0,4) ^a	6,4	7,1	2,2(0,02) ^a	2,2	2,3	1,26 ^{ns}
COLOUR P-Fund										
	139,8(1,3) ^a	137,0	142,0	104,0(21,7) ^b	84,0	125,0	141,5(2,1) ^a	140,0	143,0	17,89 ^{***}
Azúcares (g/100g)										
Fructosa	40,8(1,45) ^a	38,3	42,7	41,0 (0,6) ^a	40,4	41,7	40,1(0,1) ^a	40,1	40,2	0,36 ^{ns}
Glucosa	30,4(1,4) ^a	27,8	31,9	30,0(0,7) ^a	29,4	30,9	30,8 (0,4) ^a	30,6	31,1	0,23 ^{ns}
Sacarosa	<1,0			<1,0			<1,0			
Fructosa/Glucosa	1,34(0,10) ^a	1,24	1,52	1,35(0,03) ^a	1,32	1,39	1,25(0,02) ^a	1,28	1,31	0,35 ^{ns}

Idénticas letras en una misma línea indican grupos homogéneos del ANOVA. ns: no hay diferencias significativas; * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001

3.2. Análisis de la fracción volátil de las mieles

La Figura 1 muestra un ejemplo de cromatograma (GC-MS) del perfil volátil de mieles de la zona de Nampula.

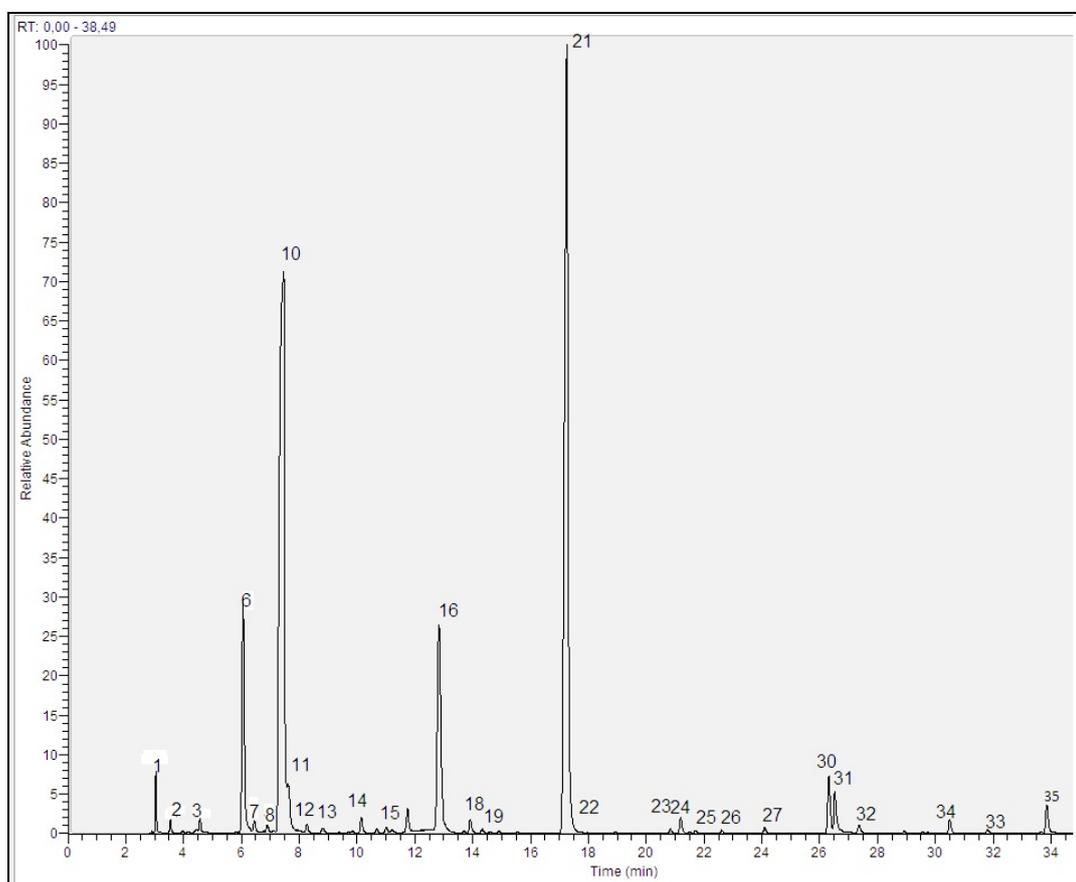


FIGURA 1. Ejemplo de cromatograma (GC-MS) del perfil volátil de mieles de la zona de Nampula. Los números de los picos se corresponden con los de los compuestos mostrados en la Tablas 1

La Tabla 2 muestra los compuestos volátiles identificados en la fracción volátil de las mieles procedentes de tres regiones de Mozambique: Nampula, Sofala y Zambezia. Los números (NP) corresponden a los de los picos del cromatograma de la Figura 1. Para cada compuesto y para cada región, en la Tabla 2 también se muestra: el valor medio (de las áreas relativas con respecto al patrón interno) y su correspondiente desviación estándar, el valor mínimo y máximo, grupos homogéneos y significación resultante del ANOVA. El ANOVA se ha realizado con la finalidad de evaluar la significación estadística de cada compuesto individualmente, en relación a la “zona geográfica”.

Se han identificado 35 compuestos agrupados por familias químicas: 11 alcoholes, 5 aldehídos, 4 cetonas, 1 ácido, 10 ésteres, 1 furano, 1 compuesto sulfurado, 1 hidrocarburo y 1 nitrilo.

Del análisis de los resultados obtenidos se observa que existen diferencias estadísticamente significativas con respecto de la zona geográfica para 14 (1-Butanol; Pentanol-1; Propanol-2; 1-Propanol -2-methyl; Ethanol; Butanal-2-methyl; Butanal; 8-Oxo-Nonenal-2; Butanoic acid, 3- methyl-etil ester; Ethylacetate; Propanoic acid, 2-methyl,-ethyl ester; Butanoic acid, 2- methyl,-etil ester; Propanoic Acid 2,2 dimethyl,-ethyl ester; Dimethylsulfide) de los 35 compuestos identificados. Para el resto de compuestos, no se encontraron diferencias significativas entre las tres regiones consideradas.

Al analizar los grupos homogéneos del ANOVA se pueden apreciar algunas peculiaridades en el perfil volátil. Es de destacar que la miel procedente de la zona de Nampula, es en la que mayor número de compuestos volátiles se han identificado (33 de los 35 totales). Además, en esta zona la concentración de la mayoría de compuestos fue más alta que las de Sofala y Zambezia. Los compuestos más abundantes en las mieles de Nampula fueron 1-Pentanol, el Ethanol y el 1-Propanol-2-methyl, con concentraciones medias de: 133,40 79,70 y 27,04 $\mu\text{g}/100\text{g}$, respectivamente. El mayor contenido en alcoholes metílicos de 5 átomos de carbono de las mieles de esta región puede contribuir al frescor típico su aroma (Bouseta et al., 1992).

Las zonas de “Sofala” y “Zambezia” son más semejantes desde el punto de vista del perfil volátil, en comparación con Nampula, ya que coinciden en el mismo grupo homogéneo del ANOVA para 29 de los 35 compuestos. Concretamente, en Sofala se han identificado 19 compuestos (5 alcoholes, 3 aldehídos, 3 cetonas, 1 ácido, 3 ésteres, 1 compuesto sulfurado, 1 furano, 1 hidrocarburo y 1 nitrilo) y en Zambezia 17 compuestos (6 alcoholes, 0 aldehídos, 3 cetonas, 1 ácido, 5 ésteres, 1 compuesto sulfurado, 1 furano, 0 hidrocarburos y 0 nitrilos). La principal diferencia entre las mieles de ambas zonas está en el hecho de que en las de Zambezia no se ha identificado ningún aldehído. Por otra parte, 2 de los 3 aldehídos identificados en Sofala (Butanal y Butanal 2-methyl) solo se detectaron en esta región por lo que se podrían considerar característicos de las mieles de Sofala. Solo el Butanal 3-methyl está presente en Nampula y Sofala. También es de destacar en Sofala la abundancia del 8-Oxo-Nonenal 2, que se encuentra en una concentración de 2,3 $\mu\text{g}/100\text{g}$ en comparación con los aproximadamente 0,7 de Nampula y Sofala.

Es importante citar la presencia del 2-Furamethanol,5-ethenyltetrahydroxy de forma abundante en algunas mieles de Nampula (en las que llegó a alcanzar 10,06 $\mu\text{g}/100\text{g}$). Este compuesto es un derivado del furano y por lo tanto se puede considerar como indicador del tratamiento térmico o de inadecuadas condiciones de almacenamiento (Wootton et al., 1978; D’Arcy et al., 1997; Kadar et al., 2011).

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 2 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 y el PC2

representan el 55% de la variabilidad de los datos. El eje 1 (40%), influye decisivamente en la separación de las mieles de las tres zonas geográficas, Nampula (N) se sitúa a la derecha del gráfico y Sofala (S) y Zambezia (Z) a la izquierda. El eje 2 (15%) permite la separación de éstas dos últimas zonas. Esta mayor diferenciación de las mieles procedentes de la zona de Nampula, se corresponde con lo observado anteriormente en el estudio individual de cada compuesto.

Observando el gráfico de loading, en el que se representan las variables (compuestos identificados), se aprecia que las mieles de Nampula, en general, son más abundantes compuestos volátiles y por lo tanto son más aromáticas. Las mieles de Sofala destacan especialmente por su abundancia en Butanal y Butanal 2-methyl ya que estos compuestos solo están presentes en las mieles de esta región. Las mieles de esta región también destacan por su abundancia en Acetic acid-ethyl ester, 8-oxo-nonenal-2 y 1-Butanol.

TABLA 2. Áreas relativas (medias y desviaciones estándar) de los compuestos volátiles ($\mu\text{g}/100\text{g}$ miel) considerando factores de respuesta=1. Resultado del ANOVA: F-ratio, significación estadística según zona geográfica y grupos homogéneos

			NAMPULA			SOFALA			ZAMBEZIA			F-ratio
	KI	NP	Media(DS)	Min	Max	Media(DS)	Min	Max	Media(DS)	Min	Max	
ALCOHOLS												
1-Propeno-1-diol	<800	29	0,06 (0,13) ^a	0,00	0,35	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,59 ^{ns}
1-Butanol	1188	20	0,34 (0,16) ^a	0,18	0,64	0,96(0,6) ^b	0,44	1,87	0,34(0,14) ^a	0,25	0,45	4,58*
1-Pentanol	1226	21	133,4(52,9) ^b	78,03	235,4	3,19(1,8) ^a	1,63	5,54	5,87(2,33) ^a	4,18	7,47	16,2***
4-Methyl-1-pentanol	1272,35	24	1,74(1,12) ^a	0,91	4,72	0,85(0,4) ^a	0,43	1,34	0,18(0,06) ^a	0,14	0,22	2,87 ^{ns}
3-Methyl-1-pentanol	1279,55	25	0,34(0,35) ^a	0,00	1,23	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	2,56 ^{ns}
4-Methyl-3-pentanol-1-ol	1421,65	27	0,18(0,18) ^a	0,00	0,43	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	2,62 ^{ns}
3-Methyl-1-butanol	1167,24	22	0,06(0,15) ^a	0,00	0,44	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,55 ^{ns}
2-Propanol	1073,44	14	0,31(0,23) ^a	0,00	0,81	0(0,00) ^b	0,00	0,00	0(0,00) ^b	0,00	0,00	4,88*
2-Butanol	1063,13	13	0,58(0,49) ^a	0,00	1,29	0,0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,34(0,14) ^a	0,24	0,45	2,89 ^{ns}
2-Methyl-1-propanol	1137,47	16	27,04(10,69) ^a	11,53	41,17	2,38(1,1) ^b	1,23	3,64	5,33(2,28) ^b	3,70	6,92	13,2***
Ethanol	968,15	10	79,70(31,67) ^a	36,85	133,1	21,90(9,5) ^b	11,04	31,11	33,65(1,33) ^b	32,73	34,8	7,73**
ALDEHYDES												
Acetaldehyde	<800	1	1,19(1,1) ^a	0,00	3,28	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,22(0,1) ^a	0,00	0,00	2,35 ^{ns}
3-Methyl butanal	943,04	8	1,47(1,4) ^a	0,16	4,47	1,47(1,3) ^a	0,52	3,42	0(0,00) ^a	0,00	0,00	1,05 ^{ns}
2-Methyl butanal	952,69	9	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,3(0,2) ^b	0,00	0,50	0(0,00) ^a	0,00	0,00	4,83*
Butanal	881,18	5	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,49(0,3) ^b	0,28	1,01	0(0,0) ^a	0,00	0,00	13,3***
2,4,5-Trimethyl-1,3-doxalane	977,73	11	1,64(1,5) ^a	0,02	4,72	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	3,11 ^{ns}

TABLA 2.(Continuación)

KETONES												
8-Oxo-nonanal-2	1610,87	32	0,78(0,4) ^a	0,27	1,68	2,3(0,6) ^b	1,5 ^c	2,86	0,73(0,30) ^a	0,62	0,96	10,8 ^{**}
Acetone	860,23	3	0,26(0,3) ^a	0,00	0,72	0,28(0,4) ^a	0,00	0,78	0,48(0,21) ^a	0,32	0,82	0,42 ^{ns}
3-Hydroxy butan-2-one	1267,16	23	0,66(0,4) ^a	0,30	1,40	0,87(0,4) ^a	0,46	1,21	0,15(0,07) ^a	0,11	0,21	2,05 ^{ns}
Butan-2-one	920,90	7	0,247(0,3) ^a	0,00	0,74	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	2,34 ^{ns}
ACIDS												
2-Hidroxy-4-methyl pentanoic acid	1586,86	33	0,05(0,12) ^a	0,00	0,31	0,09(0,10) ^a	0,00	0,17	0,13(0,04) ^a	0,16	0,20	1,03 ^{ns}
ESTERS												
Acetic acid methyl ester	814,80	4	0,02(0,01) ^a	0,00	0,11	0,17(0,2) ^a	0,00	0,42	0(0,00) ^a	0,00	0,00	3,13 ^{ns}
3-Methyl butanoic acid ethyl ester	1108,29	17	2,26(1,1) ^a	1,05	4,86	0(0,00) ^b	0,00	0,00	0,42(0,08) ^a	0,36	0,48	10,1 ^{**}
Ethylacetate	914,11	6	18,63(9,02) ^a	7,67	34,66	0,9(0,7) ^a	0,48	1,90	6,74(3,73) ^a	4,07	9,36	6,64 ^{**}
2-Methyl propanoic acid ethyl ester	1001,72	12	0,88(0,47) ^a	0,32	1,70	0(0,00) ^b	0,00	0,00	0(0,00) ^b	0,00	0,00	7,85 ^{**}
2-Methyl butanoic Acid ethyl ester	1091,87	16	0,37(0,16) ^a	0,16	0,72	0(0,00) ^b	0,00	0,00	0(0,00) ^b	0,00	0,00	12,1 ^{***}
Ethyl ester	1468,09	28	0,164(0,27) ^a	0,00	0,86	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,89 ^{ns}
2-Hydroxy pentanoic acid,ethyl ester	1291,09	26	0,42(0,36) ^a	0,00	1,24	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,36(0,16) ^a	0,24	0,46	2,5 ^{ns}
Acetic acid ethyl ester	1486,79	3 ^c	3,43(1,94) ^a	0,84	7,36	2,6(1,9) ^a	0,58	4,39	2,69(0,62) ^a	2,26	3,00	0,4 ^{ns}
2,2Dimethylpropanoic acid ethyl ester	1605,91	34	1,26(0,79) ^a	0,34	3,23	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0,26(0,17) ^a	0,14	0,38	6,1 [*]
Benzoacetic acid ethyl ester	1849,83	36	0,29(0,28) ^a	0,00	0,84	0(0,00) ^a	0,00	0,00	0(0,00) ^a	0,00	0,00	1,99 ^{ns}
FURANES												
2-Furamethanol-5-ethenyltetrahydroxy	1477,69	30	3,49(3,06) ^a	0,00	10,06	0,29(0,36) ^a	0,00	0,63	1,48(0,69) ^a	0,97	1,94	2,31 ^{ns}
SULFUR COMPOUNDS												
Dimethylsulfide	<800	2	0,49(0,36) ^a	0,00	1,12	0,44(0,16) ^a	0,34	0,66	1,49(0,63) ^b	1,06	1,94	6,91 [*]
HYDROCARBONS												
Toluene	1093,66	19	0,26(0,25) ^a	0,00	0,71	0,10(0,2) ^a	0,00	0,39	0(0,00) ^a	0,00	0,00	1,07 ^{ns}
NITRILES												
3-Methylbutanenitrile	1176,68	18	0,30(0,2) ^a	0,00	0,67	0,46(0,3) ^a	0,14	0,96	0(0,00) ^a	0,00	0,00	2,38 ^{ns}

Idénticas letras en una línea indica grupos homogéneos; ns: no hay diferencias significativas; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

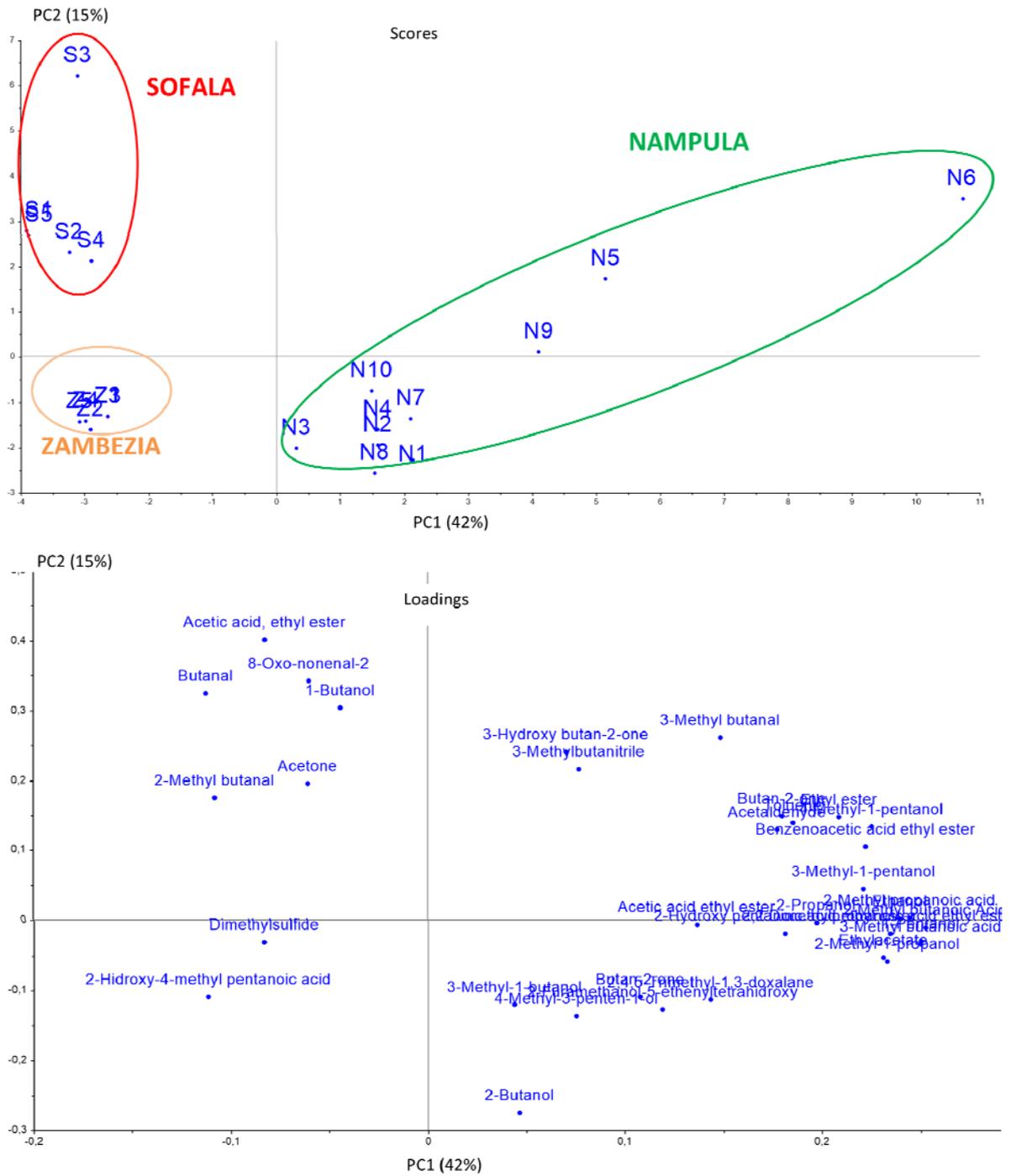


FIGURA 2. Análisis de Componentes Principales (PCA) realizado a partir de los compuestos volátiles identificados. Gráfico de puntuaciones para las distintas zonas geográficas (score) y gráfico de cargas (loadings) para los compuestos.

4. CONCLUSIÓN

Las mieles de las provincias de Mozambique estudiadas (Nampula, Sofala y Zambezia) presentaron para los parámetros fisicoquímicos (humedad, HMF, a_w , conductividad eléctrica), color y contenido en azúcares niveles que se encuentra dentro de los límites exigidos por la normativa internacional. La única excepción fue la humedad ya que alguna muestra de Nampula excedió el valor máximo recomendable, aunque dentro lo habitual observado en mieles de otros países africanos y europeos. Este hecho se puede atribuir a inadecuadas prácticas apícolas o a las condiciones climáticas propias del clima tropical húmedo de este país.

El perfil de compuestos volátiles ha permitido diferenciar mieles de Mozambique según la zona geográfica a la que pertenecen, observándose diferencias significativas para 14 de los 35 compuestos identificados. Las mieles de Nampula destacan por su abundancia en compuestos volátiles y las de Sofala por la presencia de algunos compuestos específicos como el Butanal y el Butanal 2-methyl.

5. AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios todopoderoso.

A la Profesora Doctora Isabel Escriche, por todo su apoyo, dirección, tutoría y sobre todo por aceptarme y motivarme a trabajar.

A Marisol Juan-Borrás y Angela Periche, por su asistencia técnica y generosa ayuda.

Al Proyecto ANGLE (programa Erasmus Mundus para países ACP) por concederme la beca.

A la Universidade Pedagógica de Moçambique-Delegación de Nampula por permitir continuar con mis estudios.

A todos los que directa o indirectamente han contribuido para que este trabajo fuese posible.

6. REFERENCIAS

Acquarone, C.A. 2004. Parámetros fisicoquímicos de mieles, relación entre los mismos y su aplicación potencial para la determinación origen botánico y/o geográfico de mieles argentinas. Las tesis de Belgrado.Universidad de Belgrado.56pp.

Al, M. L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., Bogdanov, S. 2009. Physiochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112,

Alcobia, J.J.F.1995.Apicultura. Cooperativas de apicultores de Maputo. *Nashua copy print. Johannesburg-SA*.PP:15-98.

B.O.E. 1986. Orden ministerial de 12 de junio de 1986 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis para la miel, continúan vigentes (B.O.E.,nº145). Publicada en 18 de junio 1986; 22195-22202.

Belitz,H.D; Grosch, W. 2007.Química de los alimentos. 2ª Ed. *Acribia S.A., Zaragoza* (España).

- Bosch, J.; Serra, J. 1986. Evolución del contenido en hidroximetilfurfural en las mieles procesadas y situadas en el Mercado Español. *Alimentaria*, 23 (175) 59-6.
- Bogdanov, S.; Ruoff, K.; Persano Oddo, L. 2004. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35, 4-17
- Bogdanov, S. 2009. Harmonised Methods of International Honey Commission: Introduction and General Comments on the Methods, *Switzerland*. Bouseta, A.; Collins, S.; Dufour, J.P. 1992 Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with dynamic headspace GC-MS system. *Journal of Apicultural Research*, 31, 96-109.
- CIELAB 1976. Comunittee TC.1.3.CIE. Proposal for study of color spaces and color diferente equations. *Journal of Optical Society of America* (64), 896-897.
- Codex Alimentarius 2001a. Revised Codex Standard for Honey. Codex Stan 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 Codex Alimentarius Roma.
- Corbella, E.; Cozzolino, D. 2006. Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. *LWT Food Sciece and Technology* 39: 534-539.
- D'Arcy, B.R.; Rintoul; G.B.; Rowland, C. Y., Blackman, A.J. 1997. Composition of Australian honey extractives: 1. Norisoprenoids, monoterpenes and other natural volatile from blue gum (*Eucalyptus leucoxylon*) and yellow box (*Eucalyptus melliodora*) honeys. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 1834-1843.
- Dirección URL <<http://beehoneyorg.blogspot.com.es/2013/04/miel-de-miombo-ya-podeis-probar-miel.html>>[Consulta: 10 de Junio 2015]
- Directiva 2001/110/CE del consejo de 20 de Diciembre de 2001 relativa a la miel. Publicación 12.1.2002, L 10/47.
- Escriche, I, Visquert, M. Carot, J.M., Doménech, E. Fito. Effect of honey thermal conditions on hydroxymethylfurfural content prior to pasteurization. *Food Science and Technology International*, Vol 14. 29-36. 2008.
- Escriche, I.; Visquert, M.; Juan-Borrás M.; Fito P. 2009. Influence of simulated Industrial thermal treatments on volatile fractions of different varieties of honey. *Food Chemistry* 112: 329-338.
- Estupiñán, S.; Sanjuán, E.; Millán, R.; González-Cortés. 1998. Parámetros de calidad de la miel II. Composición química. *Revisión limentaria*, 297, 117-122.
- Jooste, A.; Smith. 2004. Report on Honey. External Market Study nº.3. *Ministerio de Industria e Comercio*. Mozambique. 3:2-3.
- Juan-Borrás, M.; Escriche I. Hellebrandova, M.; Domenech, E. 2014. Effect of country origin on physicochemical, sugar and volatile composition of acacia, sunflower and tilia honeys. *Food Research International*, 60, 86-9.
- Juan-Borrás, M.; E. Domenech; Andrea C.; I. Escriche, I. 2015. Physicochemical, quality parameters at the of the honey packaging process: Influence of type of honey, year of harvest and beekeeper. *Journal of Chemistry* <http://dx.doi.org/10.1155/2015/929658>
- Kadar, M.A.; Escriche I.; Juan-Borrás M.; Carot J.M.; Domenech E. 2011. Volatiles fraction composition and physicochemical as tools for differential of lemon blossom honey and orange blossom honey. *Journal of the Science Food and Agriculture* 91: 2768-2776.
- Kondjoyan, N.; Berdague, J. L. 1996. A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatics compounds. *Laboratoire Flaveur*, France
- Malika, N.; Mohamed, F.; Chakib, E.A. 2005. Microbiological and physicochemical properties of Moroccan honey. *International Journal of Agricultural Biology*, 5, 773-776.
- Mossel, D. A. A.; Moreno, B.; Struijk, C. B. 2003. Microbiología de los alimentos. Fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la integridad (inocuidad y calidad) microbiológica de los alimentos. Editorial Acribia S.A., Zaragoza pp. 248-251.
- Nombré I.; Schweitzer P.; Boussim J. I. Rasolodimby J. M. 2010. Impacts of storage conditions on physicochemical characteristics of honey samples from Burkina Faso. *African Journal of Food Science*, Vol. 4(7), pp. 458-463.
- Ouchemoukh, S.; Louaileche, H.; Schweitzer, P. 2007. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18, 52-58
- Real Decreto 1049/2003 de 1 de Agosto de 2003 por el que se aprueba la Norma de Calidad relativa a la miel nº 186.30181-30183. Imprenta Nacional del Boletín Oficial del Estado, Madrid, Spain.
- Saxena, S.; Gautam, S.; Sharma, A. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118, 391-397.

Serem, J.C.; Bester, M.J. 2012. Physicochemical properties, antioxidant activity and cellular protective effects of honeys from southern Africa. *Food Chemistry* 133 1544–1550.

Tosi, E.A.; Ré, E.; Lucero, H.; Bulacio, L. 2004. Effect of honey high-temperature short time heating on parameters related to quality, crystallization phenomena and fungal inhibition. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 37, 669–678.

Visquert, M.; Vargas, M.; Escriche, I. 2014. Effect of postharvest storage conditions on the colour and freshness parameters of raw honey. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 181–187863–867.

Wootton, M.; Edwards, R. A.; Faraji-Haremi, R. 1978. Effect of accelerated storage conditions on the chemical composition and properties of Australian honeys. *Journal of Apicultural Research*, 17(3) 167-172.

Zandamela, Mungoi, E.M.F 2008.:Caracterizacion Fisico-Quimica y Evaluacion Sanitaria de la miel de Mozambique. Tesis Doctoral Bellatera Universitat Autonoma de Barcelona (*Cerdanyola Del Valles*).