



UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE VETERINARIA

Evaluación del uso de las radiaciones ultravioletas de onda corta (UV-C) en diferentes parámetros de calidad de la miel de abeja (*Apis mellifera*)

LUCÍA TORRES GRIMA

MÁSTER DE CALIDAD DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

4 de septiembre de 2017

Informe de los supervisores y tutores del trabajo de investigación

Artur Xavier Roig Sagués, Profesor Titular en el departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos de la Universitat Autònoma de Barcelona,

Ramón Gervilla Fernández, Responsable de Calidad del SPTA e Investigador en el departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos de la Universitat Autònoma de Barcelona,

INFORMAN

Que el trabajo de investigación titulado “Evaluación del uso de las radiaciones ultravioletas de onda corta (UV-C) en diferentes parámetros de calidad de la miel de abeja (*Apis mellifera*)” ha sido realizado bajo nuestra supervisión o tutela dentro del módulo Trabajo Fin de Máster del Máster Oficial de Calidad de Productos de Origen Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Artur Xavier Roig Sagués

Ramón Gervilla Fernández

Facultad de Veterinaria, 4 de septiembre de 2017

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincera gratitud a

Dr Artur Xavier Roig Saguès, profesor e Investigador del Departamento de Ciencia animal y de los Alimentos de la Universitat Autònoma de Barcelona por hacer posible la tesis y ejercer como mi supervisor.

Dr Ramón Gervilla Fernández, Responsable de Calidad del SPTA e Investigador en el departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos de la Universitat Autònoma de Barcelona, por ejercer como mi co-supervisor, ayudarme y aconsejarme

También al personal técnico del departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos de la Universitat Autònoma de Barcelona por ayudarme en todo lo que necesitara.

Índice

Introducción.....	6
Material y métodos	8
Mieles.....	8
Características del equipo UV-C utilizado	8
Tratamientos UV-C aplicados.....	9
Determinación de la concentración de Hidroximetilfurfural (HMF).....	10
Determinación de la actividad diastasa.....	9
Color	12
pH	¡Error! Marcador no definido.
Resultados y Discusión.....	¡Error! Marcador no definido.
Actividad diastasa	13
HMF.....	14
pH.....	15
Color	15
Conclusiones.....	18
Bibliografía.....	19

Abstract

The aim of the present work was to study the changes caused by ultraviolet shortwave (UV-C) treatments on the main quality parameters of three types of honey (Rosemary, Lavender and Oak). It was observed that UV-C treatments caused significant reductions ($p < 0.05$) in two of the parameters contemplated in the legislation: diastase activity and hydroxymethylfurfural concentration (HMF). Changes in diastase activity may affect negatively, by reducing their values below those established to consider honey as suitable for consumption (≥ 8), according to the current legislation. The reduction in the concentration of HMF, however, can be considered as positive, although it is still necessary to establish the type of compounds formed because of their degradation. There were also significant changes in the color of the honeys, although these have little importance since this parameter is not usually considered in the standards of quality currently in force.

Resumen

El presente trabajo tiene como finalidad estudiar los cambios causados por tratamientos con luz ultravioleta de onda corta (UV-C) sobre los principales parámetros de calidad de tres tipos de miel (Romero, Lavanda y Roble). Se observó que el tratamiento UV-C provocaba reducciones significativas ($p < 0.05$) en dos de los parámetros contemplados en la legislación: actividad diastasa y concentración de Hidroximetilfurfural (HMF). Los cambios en la actividad diastasa pueden afectar negativamente, al reducir sus valores por debajo de los establecidos para considerar la miel como apta para el consumo (≥ 8), según la legislación vigente. La reducción en la concentración de HMF, sin embargo, puede considerarse como positiva, aunque falta establecer el tipo de compuestos formados a causa de su degradación. También se observaron cambios significativos en el color de las mieles, aunque estos tienen escasa trascendencia ya que este parámetro no suele considerarse en las normas de calidad actualmente en vigor.

Keywords:

Honey, UV-C, diastase activity, hydroxymethylfurfural

Introducción

Se entiende por miel la sustancia dulce natural producida por abejas (*Apis mellifera*) a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas, o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje (Codex Alimentarius Commission, 2001).

La miel suele considerarse un producto seguro, de larga vida útil y sin necesidad de un almacenamiento especial gracias a su bajo pH y a su alto contenido en azúcares, que no permiten el desarrollo de microorganismos; tan solo algunos microorganismos banales, en su mayoría levaduras y hongos, pueden desarrollarse en determinadas condiciones. También se ha reportado la presencia de esporas de *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum*, que no son capaces de germinar y desarrollarse. No obstante, la miel se ha demostrado como el principal alimento causante de botulismo infantil en niños menores de 1 año que han consumido miel con las esporas que produce la bacteria *Clostridium botulinum* (Rudnicka et al., 2015; Sandford et al., 2013). El origen de la contaminación de la miel con las esporas pueden variar desde el propio néctar o polen, a la manipulación durante la recolección de la miel (Snowdon & Cliver 1996; Iurlina & Fritz 2005; Gomes et al., 2010; Róžańska, 2011; Grigoryan, 2016).

El sabor y los aromas característicos de la miel se deben a la presencia de compuestos minoritarios que provienen del néctar y de las propias abejas. Estos compuestos suelen ser termolábiles y no estables a largo plazo. La aplicación de tratamientos térmicos puede causar la pérdida de estos compuestos de forma proporcional a la temperatura y a su duración. En consecuencia, este tipo de tratamiento no está aceptado en los estándares actuales de calidad (Lado & Yousef, 2002; Tosi et al., 2004). Un posible calentamiento de la miel se puede probar evaluando los cambios en algunos parámetros, especialmente en la actividad diastasa y en la concentración de hidroximetilfurfural (HMF). Valores altos de HMF, o excesivamente bajos de actividad diastasa, nos puede indicar que la miel ha sufrido unas condiciones de almacenamiento inadecuadas, y/o un posible sobrecalentamiento durante su procesado (Adedayo & Ochigbo, 2015; Ribeiro et al., 2012). El Real Decreto 1049/2003, por el que se aprueba la Norma de Calidad relativa a la miel, establece que la miel en general deberá tener un índice diastásico (en la escala de

Schade) no inferior a 8 y un contenido de HMF no superior a 40 mg/kg para ser considerada apta para el consumo.

La radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) es una radiación no ionizante que incluye las longitudes de onda entre 200 y 280 nm dentro del espectro de la luz ultravioleta (Figura 1) (Lado & Yousef, 2002). Se ha descrito que en este espectro de luz existe un efecto germicida para la mayoría de microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y levaduras (Bintsis et al., 2000; Keyser et al., 2008). El tratamiento con UV-C causa una reestructuración de los ácidos nucleicos que afecta directamente a su reproducibilidad, aunque su acción bactericida depende del tiempo que esté expuesto a la luz UV-C y de la dosis que se aplique (Bintsis et al., 2000; Fredericks et al., 2011).

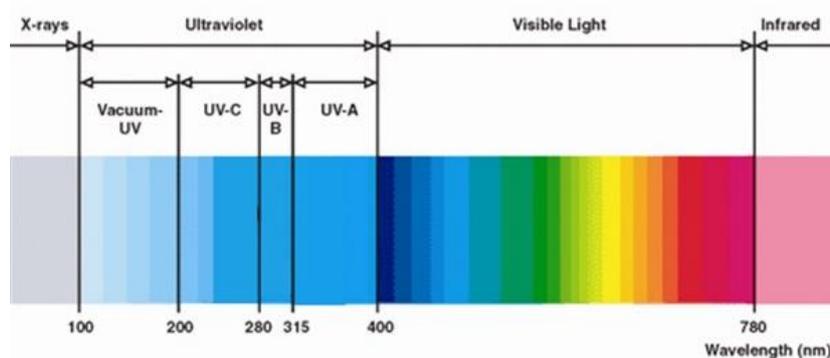


Figura 1: Fracción del espectro de las radiaciones electromagnéticas, incluyendo la radiación Ultravioleta (<http://bestuv.com/wp-content/uploads/2011/07/uv-damage-overview-image.jpg>)

El tratamiento UV-C ha resultado ser muy efectivo en la eliminación de microorganismos patógenos en diversos alimentos. Prueba de ello es la decisión de la Food and Drug Administration, que desde 1999 permite usar tratamientos UV-C en zumos de fruta frescos como alternativa a la pasteurización, ya que resulta un método respetuoso con el medio ambiente, que inactiva un gran espectro de microorganismo sin generar subproductos tóxicos ni eliminar vitaminas, y que apenas modifica el color, el sabor o el pH del zumo (Bintsis et al. 2000; Keyser et al. 2008). Aun así, la eficacia de estos tratamientos es limitada en fluidos turbios debido a la poca penetración de la UV-C en el fluido. Se ha observado que en zumos de fruta turbios, hasta el 90% de radiación es absorbida (Bintsis et al., 2000; Fredericks et al., 2011; Keyser et al., 2008).

Roig-Sagués et al. (2016) estudiaron el efecto de la aplicación de luz UV-C en miel inoculada con *Escherichia coli*, esporas de *Bacillus subtilis* y esporas de *Clostridium sporogenes*, microorganismo de características muy similares a *Clostridium botulinum*.

Los resultados obtenidos en el estudio mostraron que cuanto mayor eran los ciclos aplicados y más larga la aplicación de tratamiento UV-C, la letalidad de las esporas de *Cl. sporogenes* era mayor, obteniendo una reducción en la carga de esporas cercana a 4 Log₁₀ UFC/g, suficiente para garantizar una eliminación adecuada de esporas de *Cl. botulinum*. Pero en el mismo estudio se observó que la exposición de la miel a la luz UV-C también provocaba cambios en diversos parámetros físico-químicos, que podían afectar a la calidad de la misma. No obstante, era necesario un estudio más amplio, considerando diferentes tipos de mieles, para poder evaluar las consecuencias reales de los tratamientos UV-C sobre la calidad de la miel.

El objetivo del siguiente trabajo es analizar el efecto de diferentes tratamientos de UV-C sobre los principales parámetros de calidad en tres variedades distintas de miel, y evaluar si la aplicación de estos tratamientos puede afectar su aptitud para el consumo según la legislación vigente.

Material y métodos

Mieles

Para llevar a cabo el ensayo, se utilizaron tres tipos de mieles de diferentes características, que fueron adquiridas directamente del productor (Figura 2):

- Miel de Romero: de color ligeramente ámbar y líquida.
- Miel de Espliego (Lavanda): de color ámbar y consistente.
- Mielato de Roble: procedente de secreciones azucaradas del roble, de color ámbar oscuro casi negro.



Figura 2: Imagen de las tres variedades de miel objeto de este estudio: A Miel de Romero, B Miel de Espliego (Lavanda) y C Mielato de Roble.

Características del equipo UV-C utilizado

El equipo usado para el tratamiento UV-C es el que se describe en la Figura 3. Está compuesto de un tanque de 1-2 L de capacidad, cuyo circuito se alimenta a través de una bomba peristáltica Flowmaster FMT300 (ISMATEC Lab. GmbH, Wertheim-Mondfeld, Germany). El flujo fue regulado para obtener un caudal que proporcionara el tiempo de retención requerido. El reactor de UV-C (UV-THERM, YPSICON, SL, Barcelona, Spain) está formado por dos lámparas con una potencia de 41 mW/ mL (254 nm) cada una y protegidas con un tubo de cuarzo. El reactor tiene una capacidad de aproximadamente 70 mL en cada una de las zonas o cámaras de tratamiento de las lámparas y el espesor de la cámara por donde circula la miel (distancia entre cuarzo y pared de acero inoxidable) es de 1 mm. La temperatura de la muestra durante el procesamiento se puede ajustar a través de un intercambiador de calor a 45 °C.

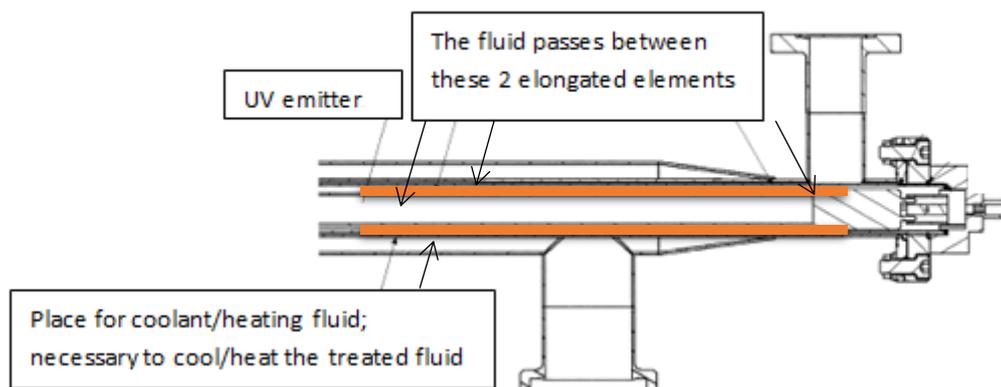


Figura 3: Esquema del equipo de UV-C utilizado en este estudio (Fuente: Gervilla et al., 2016)

Tratamientos UV-C

La miel fue tratada según el esquema mostrado en la Figura 4:

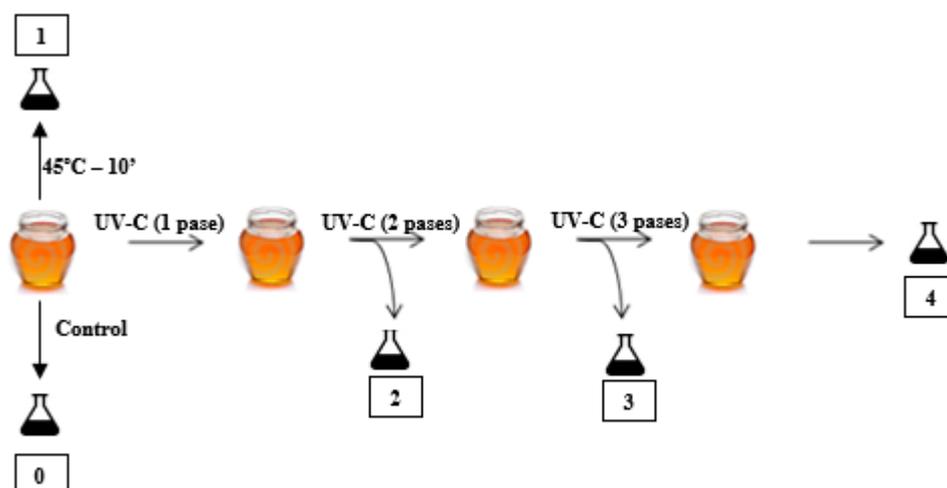


Figura 4: Esquema del procedimiento seguido para el tratamiento de las mieles objeto de este estudio. El esquema muestra los pases realizados por el reactor UV-C y los puntos de toma de muestra: 0, muestra blanco sin calentar; 1, muestra calentada a 45 °C 10 min; 2, muestra tratada a un pase de 60 seg; 3, muestra tratada a dos pases de 60 seg; 4, muestra tratada a tres pases de 60 seg.

En la Tabla 1 se muestran los parámetros de los diferentes tratamientos aplicados a las muestras, correlacionando la duración del tratamiento con la dosis de UV-C recibida. Cabe destacar que el reactor consta de 2 lámparas, con una energía emisión de 41 mW/mL cada una, y que el caudal se ajustó para que la miel tardara 60 seg en atravesar cada una de las cámaras de tratamiento, de un volumen de 70 mL. Para garantizar la fluidez adecuada de la miel, las muestras se precalentaron a 45 °C, temperatura máxima permitida por la normativa vigente, durante un máximo de 10 minutos. El efecto de este acondicionamiento en los parámetros estudiados también fue evaluado.

Tabla 1: Diferentes tratamientos aplicados a las muestras y correlación con la dosis de energía UV-C administrada

Muestras	Acondicionamiento	Nº Pases de 60 seg	Dosis TOTAL mJ/mL	Dosis TOTAL J/mL
0 (Control)	---	---	---	---
1	45 °C / 10 min	---	---	---
2	45 °C / 2 min	1	4920	4.9
3	45 °C / 4 min	2	9840	9.8
4	45 °C / 6 min	3	14760	14.8

Determinación de la concentración de Hidroximetilfurfural (HMF)

Para la determinación de la concentración de HMF se usó el método descrito por la AOAC (2000), utilizando los siguientes reactivos:

- Solución Carrez I: 15g de ferrocianuro de potasio trihidrato ($K_4[Fe(CN)_6]$) disueltos en 100 mL de agua destilada
- Solución Carrez II: 30g de acetato de zinc dihidrato ($ZnC_4H_6O_4$) disueltos en 100 mL de agua destilada
- Solución bisulfito de sodio al 0,2% (p/v)

Para el análisis se pesaron 5 g de miel y se disolvieron en 25 mL de agua destilada. La solución fue transferida a un matraz volumétrico de 50 mL al que se añadieron 0,5 mL de la solución Carrez I y 0,5 mL de la solución Carrez II. Tras mezclarlo, se ajustó el volumen final a 50 mL con agua destilada. Se filtró la solución con un filtro Whatman nº1, descartando los primeros 10 mL, utilizando el resto para el análisis.

Se depositaron 5 mL del filtrado en dos tubos distintos; en uno de los tubos fueron añadidos 5 mL de agua destilada (muestra) y en otro 5 mL de bisulfito de sodio 0.2%. La absorbancia fue medida a 284 nm y 336 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (NanoPhotometer Pearl, Implen, München, Germany). Si la absorbancia obtenida era superior a 0.6, se procedía a diluir la muestra de forma proporcional tanto en el tubo de referencia como en el de la muestra. El contenido de HMF fue calculado según la siguiente fórmula:

$$HMF (mg/100g) = \frac{(A1 - A2) * f * 5}{P}$$

A1 = Absorbancia (media) a 284 nm

A2 = Absorbancia (media) a 336 nm

P = peso de la muestra en gramos

f = 14,97 (factor que expresa HMF en mg /100g)

Determinación de la actividad diastasa

La determinación de la actividad diastasa fue realizada en base al método de Schade et al. (1958) y modificado por Hardon (1961). Este método consiste en medir la velocidad de hidrólisis de una solución de almidón al 2% (p/v) por la enzima diastasa, presente en la miel de forma natural. El procedimiento seguido consiste en las siguientes etapas:

Normalización de la solución de almidón: Se transfirieron 5 mL de una solución de almidón al 2 % (p/v), previamente calentada a 40 °C, a un tubo con 10 mL de agua destilada, también calentada a 40 °C. De esta mezcla se pasó 1 mL a un tubo preparado con 10 mL de una solución de iodo 0.0007 N y 35 mL de agua destilada, leyendo posteriormente la absorbancia de la mezcla a 660 nm. Si el valor de ésta no era de 0.76 (± 0.02), debía ajustarse convenientemente el volumen de agua hasta obtener el valor.

Preparación de la solución de miel: Se pesaron 10 g de miel en un vaso de precipitado y se disolvieron en 20 mL de agua destilada. Se añadieron 5 mL de una solución amortiguadora de acetato (1.59 N) y 3 mL de cloruro de sodio 0.5 M. La mezcla fue transferida a un matraz aforado de 50 mL, ajustando el volumen con agua destilada.

Se añadieron 10 mL de la solución de miel a dos tubos de ensayo, uno conteniendo previamente 5 mL de agua destilada (blanco) y otro con 5 mL de la solución de almidón (muestra). Los tubos deben permanecer siempre en un baño de agua ajustado a 40 °C. Una vez mezcladas las soluciones, se transfirió 1 mL del tubo “blanco” a un tubo previamente preparado con 10 mL de la solución de iodo 0.0007 N y el volumen final de agua determinado en la normalización del blanco. La misma operación se realizó con el contenido del tubo “muestra”. La absorbancia de las soluciones fue determinada utilizando un espectrofotómetro de doble haz UV 2310 (Dinko Instruments, Barcelona, Spain) a una longitud de onda de 660 nm. Este procedimiento se repitió cada 5 minutos hasta llegar a un valor 0.235 o inferior. La actividad diastasa fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de diastasa} = \frac{300}{T}$$

T: tiempo en minutos en que la muestra alcanza una absorbancia de 0.235

ID: Índice de diastasa de la escala Gothe/Schade (actividad de la diastasa en mL de solución de almidón al 2% (p/v) hidrolizada por la enzima contenida en 1 g de miel, en 1h a 40 °C).

Color

La determinación de los parámetros relacionados con el color, como luminosidad (L^*), a^* , b^* fueron calculados mediante el colorímetro HunterLab MiniScanTM XE (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA). Los valores obtenidos fueron usados para valorar las muestras como un espacio de color uniforme. Se calculó la diferencia total de color (ΔE) de cada muestra aplicando la siguiente fórmula:

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$$

Para minimizar la espuma resultante del tratamiento UV-C en la miel, se introdujeron las muestras en un baño por ultrasonidos. La espuma restante se retiró manualmente.

pH

El pH fue determinado mediante un pH-metro Micro pH 2000 (CRISON Instruments SA, Alella, Barcelona, Spain), emplazando directamente el electrodo en una solución de miel con agua destilada del 20% (p/v).

Resultados y discusión

Los coeficientes de absorción para las tres mieles a 254nm fueron:

- Miel de romero: $11.59 \pm 0.51 \text{ cm}^{-1}$
- Miel de espliego (lavanda): $35.03 \pm 0.42 \text{ cm}^{-1}$
- Miel de roble: $65.58 \pm 0.62 \text{ cm}^{-1}$

Actividad diastasa

La actividad diastasa es un parámetro analítico que contempla la legislación como indicador de frescura de la miel. Se mide en la escala Schade, y según la DIRECTIVA 2001/110/CE DEL CONSEJO de 20 de diciembre de 2001 relativa a la miel, y transpuesto en el Real Decreto 1049/2003, los valores para comercializar la miel deben ser ≥ 8 unidades Schade, y en caso de ser mieles con bajo contenido enzimático (ej: mieles de cítricos), mayor o igual a 3 unidades Schade y una concentración de HMF no superior a 15 mg/kg.

Tabla 2: Índice de diastasa, concentración de HMF y valores pH de las muestras de miel de Romero

Muestras	Índice de diastasa	HMF (mg/kg)	pH
0 (Control)	16.14 ± 0.01 ^a	3.77 ± 0.00 ^a	4.07 ± 0.01 ^a
1	13.92 ± 0.12 ^b	3.00 ± 0.11 ^b	4.02 ± 0.02 ^a
2	6.94 ± 0.02 ^c	2.58 ± 0.08 ^c	4.02 ± 0.01 ^a
3	3.10 ± 0.08 ^d	2.52 ± 0.01 ^c	4.01 ± 0.01 ^a
4	1.22 ± 0.00 ^e	2.25 ± 0.31 ^d	4.07 ± 0.02 ^a

Las Tablas 2, 3 y 4 muestran los valores de los índices de diastasa (ID) para las mieles de Romero, Lavanda y Roble, respectivamente. Las muestras tratadas con UV-C difieren de la muestra control de manera estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en los tres casos. En todas ellas se puede observar como a mayor número de ciclos aplicados, y por tanto de dosis de UV-C recibida, menor es el índice de diastasa.

La reducción fue especialmente remarcable en la miel de romero, donde la muestra alcanzó un valor de Índice de diastasa de sólo 1.22 tras recibir una dosis de UV-C de 14.8 J/mL, resultando no apta según la legislación vigente. En la miel de espliego, sin embargo, la reducción fue mucho menor, aunque también aumentó con el incremento de la dosis aplicada, aunque en ningún caso se superó el valor mínimo permitido por la legislación vigente. En la miel de roble, las modificaciones en el índice diastasa no siguieron un patrón específico. Las diferencias observadas en el comportamiento pueden ser debidas a las diferentes características de cada miel, siendo las mieles más oscuras aquellas donde la UV-C tuvo una menor incidencia en la actividad diastasa. El

Tabla 3: Índice de diastasa, concentración de HMF y valores pH de las muestras de miel de Roble

Muestras	Índice de diastasa	HMF (mg/kg)	pH
0 (Control)	36.29 ± 0.24 ^a	8.72 ± 0.16 ^a	4.47 ± 0.05 ^a
1	36.24 ± 0.00 ^a	8.87 ± 0.11 ^{ab}	4.48 ± 0.01 ^a
2	26.87 ± 0.84 ^b	7.39 ± 0.29 ^{bc}	4.26 ± 0.14 ^a
3	24.14 ± 0.21 ^c	6.73 ± 0.03 ^c	4.51 ± 0.01 ^a
4	20.75 ± 0.34 ^d	5.99 ± 0.00 ^c	4.52 ± 0.01 ^a

acondicionamiento térmico de las muestras no causó, en cambio, solo tratadas térmicamente no distan significativamente del control ($p>0.05$), excepto en la miel de romero, en la cual se puede observar una ligera disminución del ID. Se ha descrito que la actividad de la enzima diastasa está negativamente influida por la aplicación de elevadas temperaturas a la miel durante tiempos prolongados (Tosi et al. 2004), pero son pocas las referencias sobre el efecto de otros tratamientos en este parámetro. Los resultados obtenidos, no obstante, coinciden en cuanto a la tendencia con lo reflejado es en el estudio de Pixner (2016), realizado con mieles multiflorales comerciales, aunque los valores de partida del ID estaban ya muy por debajo de 8.

HMF

En mieles frescas, la concentración de HMF tiene que presentar valores muy bajos, ya que tiende a aumentar cuando las condiciones de almacenamiento o manipulación son inadecuadas (Tosi et al., 2004), siendo utilizado como un parámetro de calidad cuyos valores no pueden superar los 40 mg/kg según la normativa vigente (Bogdanov et al., 1997; Parlamento Europeo, 2002).

Las Tablas 2, 3 y 4 muestran los valores de HMF obtenidos en los tres tipos de miel estudiados. En ellas se pueden observar que los valores de partida en todos los casos son inferiores a 40 mg/kg, siendo la de mielato de roble la que presentaba una concentración más elevada de HMF, seguido de la miel de lavanda y por último la miel de romero.

En los tres tipos de miel, la aplicación de los tratamientos de UV-C causó una reducción significativa ($p<0.05$) de la concentración de HMF, aunque la tendencia fue mucho más clara en la miel de espliego, donde la reducción fue proporcional a la intensidad del

Tabla 4: Índice de diastasa, concentración de HMF y valores pH de las muestras de miel de Espliego

Muestras	Índice de diastasa	HMF (mg/kg)	pH
0 (Control)	24.24 ± 0.22^a	8.85 ± 0.06^a	5.07 ± 0.03^a
1	23.99 ± 0.00^a	8.39 ± 0.01^a	5.05 ± 0.02^a
2	22.80 ± 0.16^b	7.88 ± 0.25^b	5.06 ± 0.01^a
3	36.36 ± 0.21^c	7.34 ± 0.25^c	5.10 ± 0.00^a
4	28.55 ± 0.45^d	7.33 ± 0.01^d	5.09 ± 0.01^a

tratamiento, y mucho menos marcado en la miel de roble. En la miel de romero, que presentó los valores de HMF iniciales más bajos, los tratamientos 2 y 3 no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) entre ellos, pero sí el 4, con una concentración final de 2.25 ± 0.31 mg/kg. El mielato de roble, aun presentando una reducción de la concentración de HMF respecto al control, el número de ciclos aplicados en el tratamiento UV-C no causó diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p>0.05$). En este caso el tratamiento UV-C no afecta negativamente a la calidad de la miel, sino que lo hace de manera positiva. Aun así, se necesitarían más estudios para determinar qué compuesto en el que se degrada el HMF, y si éste es seguro o causa un impacto en las características sensoriales de la miel. Aunque como sucede con la diastasa, el efecto de los tratamientos térmicos sobre el HMF está bien documentado, no existen muchas referencias previas sobre el efecto de otros tipos de tratamiento. En el trabajo previo de Pixner (2016) también se reportó un descenso significativo de la concentración de HMF tras aplicar diversos tratamiento de UV-C. Bera et al. (2009) también reportaron un efecto decreciente sobre el HMF cuando muestras de miel de diferentes orígenes fueron sometidas a irradiación gamma (10 kGy).

pH

Según la FAO, el pH de la miel puede variar según sus orígenes. Aun así, los valores suelen estar entre 3.42 – 6.10. Ninguna de las muestras tratadas con UV-C en los tres tipos de miel ha presentado diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) respecto al control (Tablas 2, 3 y 4).

Color

Dentro de la composición química contemplada en la directiva de la UE y nacional para definir los parámetros de calidad de la miel, el color no tiene establecidos valores límite.

Tabla 5: Parámetros de color de las muestras de miel de espliego tratadas por UV-C

Muestras	L*	a*	b*	ΔE (n=7)
0 (Control)	27.19 ± 0.44^a	18.46 ± 0.07^a	34.49 ± 1.68^a	0^a
1	29.90 ± 0.21^{ab}	21.24 ± 0.23^b	46.37 ± 0.69^b	12.51 ± 2.23^b
2	33.01 ± 0.66^b	20 ± 0.18^c	52.47 ± 1.17^{cd}	18.97 ± 2.75^{bc}
3	32.66 ± 0.37^b	17.17 ± 0.37^d	50.76 ± 0.54^{bc}	17.22 ± 1.04^b
4	37.31 ± 1.80^c	14.92 ± 0.25^e	56.45 ± 1.92^d	24.48 ± 1.17^{cd}

Éste depende del origen floral de la miel, y puede variar desde colores claros y pálidos hasta tonalidades marrones y oscuras. En las Tablas 5, 6 y 7, se muestran los valores calculados en los tres tipos de miel, además de la diferencia de color respecto la muestra 0 (Control). Tal y como se puede observar, las muestras tratadas con UV-C tienden a cambiar su color. A mayor duración del tratamiento, mayor es la diferencia respecto al control. El valor b^* , establecido para tonalidades amarillas-azules, no presenta diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) en ninguna de las muestras. En las mieles de romero y lavanda, en cambio, sí que hay variaciones en las muestras tratadas con UV-C respecto al control, tendiendo a adquirir tonalidades más amarillentas. Todo lo contrario pasa con el valor a^* , que indica tonalidades rojas-verdes, donde todas las mieles tratadas con UV-C presentan diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) en relación a las muestras control, y teniendo una tendencia a disminuir y adquirir tonalidades verdosas.

Tabla 6: Parámetros de color de las muestras de miel de romero tratadas por UV-C

Muestras	L^*	a^*	b^*	ΔE (n=7)
0 (Control)	52.70 ± 0.24^{ab}	1.87 ± 0.05^a	33.84 ± 0.12	0^a
1	51.11 ± 0.18^b	2.07 ± 0.11^a	34.60 ± 0.13	1.77 ± 0.05^b
2	53.00 ± 0.04^a	0.65 ± 0.23^b	35.36 ± 0.23	1.99 ± 0.19^b
3	54.11 ± 0.90^a	-1.31 ± 0.11^c	38.35 ± 0.42	5.72 ± 0.23^c
4	48.22 ± 0.06^c	-1.37 ± 0.11^c	37.32 ± 0.07	6.53 ± 0.21^d

También se puede observar como las diferencias (ΔE) de control son estadísticamente significativas ($p < 0.05$), estableciendo valores más elevados que 2.5-3, y a partir de los cuales el ojo humano no adiestrado podría apreciar diferencias (AENOR, 2016), aunque otros estudios sitúan ese valor en 5 (Stokes et al., 1992). Pixner (2016) también observó cambios similares en mieles multiflorales comerciales sometidas a tratamientos UV-C.

Entre los factores que han podido afectar al color están la Reacción de Maillard, el aire, etc. En éste último, ha derivado en la generación de espuma fundamentalmente por el sistema de bombeo que dispone el reactor UV-C, que se trata de una bomba peristáltica. Seguramente no es el mejor sistema de impulsión para este tipo de fluidos tan viscosos y habría que sustituirlo, por ejemplo, por una bomba positiva de pistones que evita la incorporación de aire. Sólo en el mielato de roble no se observó este fenómeno, probablemente por tener una composición diferente a las mieles de romero y lavanda, siendo el mielato de roble más fluido. El baño con ultrasonidos ayudó a la minimización de espuma.

Tabla 7: Parámetros de color de las muestras de miel de mielada de roble tratadas por UV-C

Muestras	L*	a*	b*	ΔE (n=7)
0 (Control)	6.12 ± 1.60^a	16.31 ± 0.95^a	7.39 ± 2.20^a	0^a
1	4.43 ± 0.04^a	10.04 ± 0.16^{bc}	5.00 ± 0.79^a	7.20 ± 2.05^b
2	4.83 ± 0.11^a	11.94 ± 0.91^b	6.76 ± 0.33^a	3.86 ± 0.91^b
3	5.12 ± 0.09^a	9.74 ± 0.04^{bc}	6.75 ± 0.77^a	4.44 ± 2.12^b
4	7.33 ± 1.38^a	7.89 ± 0.30^c	7.33 ± 0.32^a	5.90 ± 3.33^b

Conclusiones

Se ha observado que el tratamiento UVC puede llegar a modificar los valores de parámetros como son la actividad diastasa y la concentración de HMF produciendo reducciones significativas ($p < 0.05$).

Reducir la concentración de HMF sería positivo para el producto porque valores altos pueden ser perjudiciales para el consumidor, pero en el caso de la actividad diastasa sería negativo, ya que la regulación determina valores más altos de 8 en la escala de Schade.

La composición de los tres tipos de miel y su coeficiente de absorción en el tratamiento UV-C han podido afectar en los resultados finales.

Se observaron cambios significativos respecto al control al analizar el color en las tres mieles. Este parámetro no está contemplado en la legislación, pero sí puede ser determinante en la decisión del consumidor.

Bibliografía

- AENOR. (2016). Norma UNE-ISO 12647-2:2016 - Tecnología gráfica. Control del proceso para la elaboración de separaciones de color, pruebas e impresos tramados. Parte 2: Procesos litográficos offset. [Http://www.aenor.es/](http://www.aenor.es/). Retrieved from <http://www.aenor.es/aenor/normas/normas/fichanorma.asp?tipo=N&codigo=N0056069#.Waf4ishJbIU>
- Bera, A., Almeida-Muradian L.B. & Sabato, S.F. (2009). Effect of gamma radiation on honey quality control. *Radiation Physics and Chemistry*, 78, 583–584.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Robinson, R. (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry—a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(January), 637–645.
- Bogdanov, S., Martin, P., Lüllmann, C. (1997). Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*, 28, 1–59.
- Codex Alimentarius Commission. (2001). Codex Alimentarius standard for honey. *Codex Stan 12-1981*, 1–8.
- Fredericks, I. N., du Toit, M., & Krügel, M. (2011). Efficacy of ultraviolet radiation as an alternative technology to inactivate microorganisms in grape juices and wines. *Food Microbiology*, 28(3), 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.10.018>
- Gervilla, R. (UAB). (2016). System and method for sterilizing a fluid; EP 2 965 766 A1. European patent office.
- Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L. L., Rodrigues, P., & Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 544–548. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.029>
- Grigoryan, K. (2016). Safety of honey. In P. Vishweshwaraiah, O. Martín-Belloso, L. Keener, S. Astley, S. Braun, H. Mc Maahon, & H. Lelieveld (Eds.), *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods* (pp. 217–246). Elsevier.
- Iurlina, M. O., & Fritz, R. (2005). Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.017>

- Keyser, M., Muller, I. A., Cilliers, F. P., Nel, W., & Gouws, P. A. (2008). Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(3), 348–354. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.09.002>
- Lado, B. H., & Yousef, A. E. (2002). Alternative food-preservation technologies: Efficacy and mechanisms. *Microbes and Infection*, 4(4), 433–440. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01557-5](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01557-5)
- Mateo, R., & Bosch-Reig, F. (1997). Sugar profiles of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 60(1), 33–41. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00297-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00297-X)
- Parlamento Europeo. (2002). DIRECTIVA 2001/110/CE DEL CONSEJO de 20 de diciembre de 2001 relativa a la miel. *Diario Oficial de La Unión Europea*, L10, 47–52.
- Pixner, S. (2016). Effect of the lethality on *Clostridium sporogenes* spores inoculated in honey through ultraviolet-C treatments. Dissertation for obtaining a Master's Degree in EMFOL – Erasmus Mundus Food of Life, UAB.
- Róžańska, H. (2011). Microbiological Quality of Polish Honey. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 443–445.
- Rudnicka, K., Kwiatkowska, P., Gajewski, A., & Chmiela, M. (2015). Honey as a reservoir of *C. botulinum* and a risk factor for infant botulism, (42), 184–194.
- Sandford, M. T., Atkinson, E., Klopchin, J., & Ellis, J. (2013). Infant Botulism and Honey. *Edis.ifas.ufl.edu*, 1–2.
- Snowdon, J. A., & Cliver, D. O. (1996). Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31(1–3), 1–26. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)00970-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)00970-1)
- Stokes, M., Fairchild, M. D., & Berns, R. S. (1992). Colorimetric quantified visual tolerances for pictorial images; Comparison of Color Images Presented in Different Media.
- Tosi, E. A., Ré, E., Lucero, H., & Bulacio, L. (2004). Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT - Food Science and Technology*, 37(6), 669–678.

