



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

Evaluación de la fracción volátiles de mieles de
Mozambique en base a la presencia de compuestos ajenos
al origen botánico

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AUTOR/A: Fito Pelufo, María

Tutor/a: Escriche Roberto, M^a Isabel

Director/a Experimental: PERAL PINTO, ANA MARIA

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escuela Técnica Superior
de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

EVALUACIÓN DE LA FRACCIÓN DE VOLÁTILES DE MIELES DE MOZAMBIQUE EN BASE A LA PRESENCIA DE COMPUESTOS AJENOS AL ORIGEN BOTÁNICO

TRABAJO FIN DE GRADO UNIVERSITARIO EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

ALUMNO/A: MARÍA FITO PELUFO
TUTOR/A ACADÉMICO/A: M^ª ISABEL ESCRICHE ROBERTO
DIRECTOR/A EXPERIMENTAL: ANA MARÍA PERAL PINTO

Curso Académico: 2021-2022
VALENCIA, 2022

TÍTULO: EVALUACIÓN DE LA FRACCIÓN DE VOLÁTILES DE MIELES DE MOZAMBIQUE EN BASE A LA PRESENCIA DE COMPUESTOS AJENOS AL ORIGEN BOTÁNICO

RESUMEN: La mayoría de los compuestos de la fracción volátil de las mieles proceden de los exudados vegetales y del néctar de las flores que recogen las abejas, Éstos contribuyen decisivamente a las características organolépticas que percibimos al consumirla. Sin embargo, en la fracción volátil de la miel también pueden estar presentes otros compuestos que provienen de calentamiento o manipulación (durante el procesamiento y almacenamiento), de acción microbiana o incluso de contaminación ambiental. En este sentido, el objetivo del presente estudio ha sido evaluar la presencia de este tipo de compuestos, ajenos al origen botánico, en mieles de Mozambique. El análisis de la fracción volátil se ha realizado mediante microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a cromatografía de gases y espectrofotometría de masas (GC-MS). Las mieles procedían de 4 regiones de Mozambique (Manica, Sofala, Nampula y Zambezia). En las 63 muestras analizadas, se pudieron diferenciar 187 compuestos volátiles ajenos a su procedencia botánica. La presencia de estos compuestos se ha podido relacionar fundamentalmente, con la actividad veterinaria y agrícola, la contaminación ambiental y con las malas prácticas apícolas por almacenamiento inadecuado o tratamientos térmicos. Además, también se detectaron algunos compuestos de origen desconocidos, que pueden ser motivo de nuevas líneas de investigación para futuros proyectos. Este trabajo, por tanto, muestra que la técnica SPME-CG es adecuada para obtener información detallada sobre la fracción volátil de la miel, y, por tanto, permite aportar información sobre la presencia de tóxicos volátiles en la miel.

PALABRAS CLAVE: Compuestos volátiles; Mozambique; Miel; Origen geográfico; Cromatografía de gases-Masas

TITLE: EVALUATION OF THE VOLATILE FRACTION OF MOZAMBICAN HONEY BASED ON THE PRESENCE OF COMPOUNDS OTHER THAN THOSE OF BOTANICAL ORIGIN.

ABSTRACT: Most of the compounds of the volatile fraction of honey come from plant exudates and the nectar of flowers collected by bees. These contribute decisively to the organoleptic characteristics that we perceive when consuming it. However, other compounds that come from heating or handling (during processing and storage), microbial action or even environmental contamination may also be present in the volatile fraction of honey. In this sense, the objective of this study has been to evaluate the presence of this type of compounds, unrelated to botanical origin, in Mozambican honey. The analysis of the volatile fraction has been carried out by solid phase microextraction (SPME) coupled to gas chromatography and mass spectrophotometry (GC-MS). The honeys came from 4 regions of Mozambique (Manica, Sofala, Nampula and Zambezia). In the 63 samples analyzed, 187 volatile compounds unrelated to their botanical origin can be differentiated. The presence of these compounds has been related from above, with veterinary and agricultural activity, environmental contamination and poor beekeeping practices due to inadequate storage or thermal treatments. In addition, some compounds of unknown origin are also detected, which may be the subject of new lines of research for future projects. This work, therefore, shows that the SPME-CG technique is suitable for obtaining detailed information on the volatile fraction of honey, and, therefore, allows providing information on the presence of toxic volatiles in honey.

KEY WORDS: Volatile compounds; Mozambique; honey; Geographic origins; Gas-Mass Chromatography.

TÍTOL: AVALUACIÓ DE LA FRACCIÓ VOLÀTIL DE MELS DE MOÇAMBIC SOBRE LA BASE DE LA PRESENCIA DE COMPOSTOS DIFERENTS DELS DE L'ORIGEN BOTÀNIC.

RESUM: La majoria dels compostos de la fracció volàtil de les mels procedeixen dels exsudats vegetals i del nèctar de les flors que recullen les abelles. Aquests contribueixen decisivament a les característiques organolèptiques que percebem en consumir-la. No obstant això, a la fracció volàtil de la mel també poden estar presents altres compostos que provenen d'escalfament o manipulació (durant el processament i emmagatzematge), d'acció microbiana o fins i tot de contaminació ambiental. En aquest sentit, l'objectiu del present estudi ha estat avaluar la presència d'aquest tipus de compostos, aliens a l'origen botànic, en mels de Moçambic. L'anàlisi de la fracció volàtil s'ha fet mitjançant Microextracció en fase sòlida (SPME) acoblada a Cromatografia de gasos i Espectrofotometria de masses (GC-MS). Les mels procedien de 4 regions de Moçambic (Manica, Sofala, Nampula i Zambezia). A les 63 mostres analitzades, es poden diferenciar 187 compostos volàtils aliens a la seva procedència botànica. La presència d'aquests compostos s'ha pogut relacionar des de dalt, amb l'activitat veterinària i agrícola, la contaminació ambiental i amb les males pràctiques apícoles per emmagatzematge inadequat o tractaments tèrmics. A més, també es detecten alguns compostos d'origen desconegut, que poden ser motiu de noves línies de recerca per a projectes futurs. Aquest treball, per tant, mostra que la tècnica SPME-CG és adequada per obtenir informació detallada sobre la fracció volàtil de la mel, i, per tant, permet aportar informació sobre la presència de tòxics volàtils a la mel.

PARAULES CLAU: Compostos volàtils; Moçambic; mel; Orígens geogràfics; Cromatografia de Gasos-Mases

AGRADECIMIENTOS:

Quiero dedicar estas palabras a toda la gente que me ha estado apoyando durante esta nueva etapa de mi vida.

Profesionalmente, quería dar las gracias a mi tutora Isabel Escriche, así como a todos los miembros del laboratorio "LABMIEL", por haber estado siempre ahí para hacerme ver que ningún trabajo es imposible y que, aunque al principio pareciese un mundo poco a poco se iba consiguiendo. Quiero hacer una mención especial a Ana Peral, que siempre ha estado ahí para ayudarme a cualquier hora del día.

Personalmente, por otra parte, quiero dar gracias a todas esas personas que han confiado en que sería capaz de esto, no solo de acabar mi proyecto final de grado, sino de poder terminar la carrera y dedicarme a lo que realmente me gusta.

A toda mi familia, y sobre todo a mis padres, que han tenido que aguantar mis lloreras cuando no sabía cómo explicar algo o me bloqueaba en algún punto de este proyecto. Gracias por confiar en mí cuando ni yo misma lo hacía. Sin vosotros este trabajo no podría haber salido adelante. Gracias en especial a ti, mamá, que junto con Minni te has quedado a mi lado despierta hasta las mil de la madrugada ya fuera para acompañarme siempre que he tenido un examen o cualquier otra cosa que me impidiera dormir. Y gracias, como no, a mi abuelo, que siempre me cuida desde donde esté.

A mis amigos, por valorar tanto mi esfuerzo y seguir apoyándome hasta en la distancia, aunque lleven meses sin verme el pelo. En especial, quería daros las gracias a vosotros, mis tres niños, Estela, Manuel y Pablo. El teneros en mi vida es una suerte increíble y ojalá pronto pueda celebrar el fin de esta etapa con vosotros, ya que hemos compartido juntos desde el primer día hasta el último.

Y, por último, pero no por ello menos importante, a mi pareja. Tú has sido el que me ha dado la seguridad que necesitaba para seguir adelante en todo momento. Me has dado fuerzas cuando quería tirar la toalla. Te has leído cien veces este trabajo para darme tu visto bueno, aunque lo tuyo sean los cables como tú bien dices. A tu lado cada línea escrita ha sido una victoria ya que tú me has enseñado a ver el lado bueno de las cosas. Cada paso que dábamos en nuestros respectivos proyectos lo hemos celebrado juntos igual que ante cada fallo nos hemos repuesto juntos. Todo esto hace que este trabajo no sea mío, sino nuestro, ya que no podría haberlo hecho sin ti. Gracias por formar este equipo conmigo, el mejor equipo.

Gracias por todo, hoy y siempre.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Características de la miel.....	1
1.2. Presencia de compuestos volátiles ajenos a la miel.....	5
1.2.1. Actividad veterinaria.....	5
1.2.2. Tratamientos agrícolas	6
1.2.3. Contaminación ambiental.....	7
1.2.4. Malas prácticas de conservación o tratamiento térmico	9
1.3. Técnicas de análisis para la evaluación de la fracción volátil	13
2. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO	16
2.1. Objetivo	16
2.2. Plan de trabajo.....	16
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
3.1. Muestras de miel	17
3.2. Preparación de las mieles para la extracción de compuestos volátiles	17
3.3. Análisis del perfil volátil.....	18
3.4. Análisis de los datos	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1. Identificación de la información apropiada para el estudio	20
4.2. Identificación de compuestos de la fracción volátil ajenos al origen botánico y geográfico de la miel	23
4.2.1. Actividad veterinaria y tratamientos agrícolas	30
4.2.1.1. Pesticidas	30
4.2.1.2. Fungicidas y compuestos antifúngicos.....	30
4.2.1.3. Insecticidas.....	31
4.2.1.4. Herbicidas.....	31
4.2.2. Contaminación ambiental.....	32
4.2.2.1. Contaminantes de agua, aire y suelos	32
4.2.2.2. Derivados del petróleo y combustibles.....	33
4.2.2.3. Feromonas de insectos.....	33
4.2.2.4. Otros contaminantes.....	35
4.2.3. Malas prácticas de conservación y tratamiento térmico	35
4.2.3.1. Plásticos y polímeros.....	35
4.2.3.2. Humo y derivados.....	36
4.2.4. Compuestos volátiles de origen desconocido	36

5. CONCLUSIONES	37
6. BIBLIOGRAFÍA.....	39
7. ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1: Composición de la miel según el RD 1049/2003 del BOE (B.O.E, 2003)
 - Tabla 2: Conjunto de volátiles ajenos a la composición natural de la miel analizados mediante SPME-CG y clasificados en función de la región y el distrito al que pertenecen. Se encuentran ordenados por grupos en función de su aplicación y dentro de cada grupo se disponen según su tiempo de retención. La información proporcionada de cada uno de estos compuestos es el área obtenida en los cromatogramas, la cual, está dispuesta en un rango que incluye la mayor y la menor de cada zona en cuanto a un compuesto concreto. Dichos resultados se expresan en potencias de 4.
 - Tabla 3: Información sobre las muestras de miel analizadas mediante SPME-CG
-

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1: Filtrado de la miel (LA TIENDA DEL APICULTOR S.L.U., s.f.)
 - Figura 2: Procesado industrial de la miel. Desoperculación de los cuadros y extracción de la miel (LA TIENDA DEL APICULTOR S.L.U., s.f.)
 - Figura 3: Aplicación de tratamientos de pesticidas en la agricultura (F.A.O., 2006)
 - Figura 4: Apicultura urbana en Roma como forma de medir la contaminación ambiental (A.F.P. Forum, s.f.)
 - Figura 5: Anatomía interna de una abeja melífera (Corona Apicultores, 2013)
 - Figura 6: Partes de un ahumador de abejas homologado (Agrotendencia, s.f.)
 - Figura 7: Ahumado de abejas para facilitar la extracción o cosecha de la miel (ApiNectar, CASADO GRUPO S.L. 2018)
 - Figura 8: Esquema de la transferencia de sustancias envase - alimento (ENVASES PLÁSTICOS, 2017)
 - Figura 9: Muestras de miel en los viales para el análisis del perfil volátil (Propia)
 - Figura 10: Equipo SPME-GC del laboratorio "LABMIEL" empleado en el análisis de las muestras de mieles (Propia)
 - Figura 11: Comparación entre un verdadero pico cromatográfico (Ciclopropano) y un resultado propio del ruido de fondo (Etanona,2-cloro-1,2-difenilo) (Propia)
 - Figura 12: Comparación entre unas roturas másicas con grandes similitudes y otras que no se corresponden con el resultado provisto por la NIST (Propia)
 - Figura 13: Comparación entre un % Mach de un compuesto con roturas correspondientes a la referencia de la NIST y otro con un % Mach de un compuesto con roturas no correspondientes. (Propia)
-

ÍNDICE DE ECUACIONES

- Ecuación 1: Fórmula del índice de Kovats y leyenda de cada una de sus variables (Hmong, s.f.)

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Características de la miel

La miel es un producto natural derivado de la actividad de las abejas (*Apis mellifera*). Ellas toman, deshidratan y transforman el néctar de las flores en un alimento dulce, de color dorado y con una textura densa (debido a su bajo porcentaje en agua). La Norma de Calidad relativa a la miel la define en el Real Decreto 1049/2003 como “La sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las partes vivas de plantas, que las abejas recolectan, transforman combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure” (Real Decreto-ley 1049/2003).

El proceso de elaboración de la miel es complejo y muy específico. Las abejas, cuentan con una serie de enzimas digestivas que se encargan de romper los enlaces de los polisacáridos del néctar para así obtener azúcares más sencillos, tales como glucosa y fructosa. Esto hace que el producto final se perciba más dulce, ya que el poder edulcorante de los sacáridos sencillos es mucho mayor. Posteriormente, las abejas emplean sus alas para secar el néctar, reduciendo su contenido en agua hasta un 80% y aumentando así su densidad. A continuación, cierran las celdas para madurar el producto, conservarlo y facilitar su unión con las ceras y enzimas necesarias para elaborar la miel. Una vez madurada, los apicultores extraen los cuadros y los transportan hasta las plantas de procesado. En estos recintos, se procede a la desoperculación de los cuadros y a la posterior extracción de la miel, que puede realizarse por centrifugación, por goteo o por presión. Tras la extracción, a la miel se le aplica un proceso de filtrado para eliminar los residuos de ceras y otros elementos indeseables y así se obtiene la miel cruda. Posteriormente, la miel puede someterse a un tratamiento industrial o, por contra, puede comercializarse directamente como miel cruda (Soares y col., 2017).



Figura 1: Filtrado de la miel (LA TIENDA DEL APICULTOR S.L.U., s.f.)

A nivel industrial, es frecuente aplicar un tratamiento térmico a la miel extraída y filtrada, con la finalidad de minimizar la presencia de levaduras y núcleos de cristalización. De esta forma, se evitan posibles cristalizaciones o fermentaciones del producto. Tras todo esto, es conveniente decantar la miel, para así eliminar las burbujas de aire que hayan quedado retenidas en la misma a causa de los procesos anteriores. Así se evita la proliferación de microorganismos aerobios y se mejora su calidad visual de cara a una futura venta. Una vez retirado el aire, es preciso proceder al envasado lo antes posible, para evitar que vuelvan a producirse burbujas en el interior de la miel.

El envasado se realiza en recipientes de vidrio, plástico o cerámica acondicionada y preferiblemente con una apertura ancha que facilite el vertido. A continuación, se etiqueta el producto con la información apropiada y descrita por la legislación vigente y finalmente, se almacena hasta el momento de su expedición. Para ello, conviene disponer de espacios cerrados que eviten el contacto directo con la luz solar, con una temperatura moderada, baja humedad y buenas condiciones higiénicas (Holguín, 2014).



Figura 2: Procesado industrial de la miel. Desoperculación de los cuadros y extracción de la miel (LA TIENDA DEL APICULTOR S.L.U., s.f.)

La miel es un producto muy popular y ampliamente demandado por la sociedad, puesto que se trata de un alimento natural, saludable y con un sabor muy agradable. Sin embargo, no solo es un alimento bueno para la dieta, sino que numerosos estudios como el efectuado por Johnson, 2008, han determinado que también posee grandes cualidades terapéuticas que pueden beneficiar a sus consumidores.

Se ha demostrado que la miel tiene propiedades antibióticas gracias a un compuesto denominado inhibina, el cual, la convierte en un remedio útil en la curación de heridas (tanto de la dermis como de úlceras o llagas) o quemaduras.

La aplicación de miel en las heridas también trae como consecuencia la producción de un medio húmedo (gracias a sus efectos osmóticos) que protege a la herida frente al contacto con otras superficies, pero, que, a su vez, permite la entrada de aire y de elementos nutritivos necesarios para la reparación de tejidos. Esta propiedad se basa en la osmolaridad del alimento y en sus propiedades antibacterianas, que reducen considerablemente el riesgo de maceración y de proliferación bacteriana respectivamente. Además, se le atribuyen propiedades antiinflamatorias y proliferantes del sistema inmune, ya que su presencia estimula la mitosis de los linfocitos encargados de la protección del organismo frente a microorganismos perjudiciales.

Este producto también es beneficioso para la piel, ya que contiene sustancias bactericidas que lo convierten en un cicatrizante natural. Además, es capaz de absorber y eliminar las secreciones cutáneas gracias a su carácter higroscópico. Es por esto que la miel se emplea de forma habitual en la elaboración de cosméticos y cremas.

En cuanto a sus efectos como fármaco, la miel constituye uno de los ingredientes principales en la elaboración de jarabes y medicinas. Esto se debe a su eficacia para paliar o reducir la tos o los espasmos bronquiales y a su tendencia a favorecer la expectoración.

Desde el punto de vista de las afecciones cardíacas, la miel, como gran proveedor de glucosa, produce un efecto muy positivo sobre el funcionamiento del aparato circulatorio. Además, se cree que dicho aporte nutricional, a su vez, afecta a la dilatación de los vasos sanguíneos y mejora la circulación. Finalmente, la miel actúa como facilitador del proceso digestivo y como remedio en casos de estreñimiento ya que influye en el movimiento peristáltico del tubo digestivo. (Johnson, 2008)

La miel está compuesta mayoritariamente por carbohidratos simples, los cuales, le aportan, además de una función energética, un gran poder endulzante. La composición de la miel según el RD 1049/2003 del BOE se detalla en la Tabla 1.

COMPOSICIÓN DE LA MIEL (por 100 g)		
Contenido en azúcares		
De los cuales glucosa y fructosa	Miel de flores	No menos de 60 g
	Miel de mielada	No menos de 45 g
De los cuales sacarosa	General	No más de 5 g
	Falsa acacia	No más de 10 g
	Eucalipto rojo	
	Alfalfa	
	Banksia de Menzies	
	Eucryphia lucida	
	Eicryphia milligani	
	Citrus spp	No más de 15 g
	Borraja	
Espilego		
Contenido en agua		
Agua	General	No más del 20%
	Miel de brezo «Calluna» y para uso industrial en general	No más del 23%
	Miel de brezo «Calluna vulgaris» y para uso industrial	No más del 25%
Contenido de sólidos insolubles en agua		
Insolubles	General	No más de 0,1 g
	Miel prensada	No más del 0,5 g
Conductividad eléctrica		
Conductividad eléctrica	Miel de mielada, de castaño y sus mezclas	No menos de 0,8 mS/cm
	Excepciones: Miel de madroño, agaña, eucalipto, tilo, brezo, manuka o jely bush y árbol del té	-
	Miel no incluida en los apartados anteriores	No más de 0,8 mS/cm
Ácidos libres		
Ácidos libres	General	No más de 50 miliequivalentes ácidos por 1000 g
	Miel para uso industrial	No más de 80 miliequivalentes ácidos por 1000 g
Índice diastásico y contenido en hidroximetilfurfural (HMF), determinados después de la elaboración y mezcla		
Índice diastásico (escala de Shcade)	En general, excepto miel para uso industrial	No menos de 8
	Mieles con un bajo contenido natural de enzimas (por ejemplo, mieles de cítricos) y un contenido en HMF no superior a 15 mg/Kg	No menos de 3
Contenido en hidroximetilfurfural (HMF)	En general, excepto miel para uso industrial	No más de 40 mg/Kg (condicionado a lo dispuesto en el apartado anterior)
	Miel de origen declarado procedente de regiones de clima tropical y mezclas de estas mieles	No más de 80 mg/Kg

Tabla 1: Composición de la miel según el RD 1049/2003 del BOE (B.O.E, 2003)

Además de lo descrito en la Tabla 1, este alimento también cuenta con ciertos compuestos minoritarios de gran interés nutricional. La miel, al contrario que los azúcares refinados, además de aportar valor energético y poder edulcorante, posee una serie de componentes minoritarios tales como el calcio, magnesio, manganeso, cobre, zinc, fósforo y potasio, y también ácidos orgánicos y vitaminas B, C, D y E que la hacen más completa desde el punto de vista nutricional. Además, al poseer sacáridos simples como glucosa y fructosa, puede aportar un dulzor similar al del azúcar refinado (sacarosa) con una menor cantidad y por tanto con menor aporte calórico.

En cuanto a la composición en componentes minoritarios de la miel, destaca la presencia de compuestos volátiles relacionados con sus características organolépticas diferenciadoras, que varían en función del origen botánico y geográfico y, por ende, del néctar a partir del que han sido elaboradas.

1.2. Presencia de compuestos volátiles ajenos a la miel

En la miel se han llegado a identificar más de 600 compuestos volátiles pertenecientes a distintos grupos químicos (Montenegro y col., 2009). Estos compuestos, pueden proceder de las plantas o fuentes del néctar y/o de la transformación de compuestos vegetales por la actividad de las abejas. Además de estos volátiles característicos de la miel, según estudios como el realizado por Manyi-Loh y col., 2011, pueden identificarse otros compuestos volátiles ajenos a este origen que pueden llegar a tener efectos adversos en el consumidor.

La contaminación puede deberse a diferentes factores, tales como a la actividad veterinaria y agrícola, a la contaminación ambiental y a las malas prácticas de almacenamiento y/o tratamiento térmico.

1.2.1. Actividad veterinaria

La abeja melífera es un insecto muy sensible al ataque de bacterias, virus, hongos y ácaros parásitos. La exposición de estos insectos polinizadores a condiciones ambientales inapropiadas puede promover, además, la aparición de enfermedades que pongan en peligro la supervivencia de la colmena. Para tratar a las abejas, existen diversos químicos, entre los que pueden distinguirse principalmente los antibióticos y los plaguicidas veterinarios.

Los antibióticos son químicos ampliamente utilizados en la medicina, tanto humana como veterinaria. Son compuestos encargados de prevenir y combatir afecciones graves y su creación supuso una mejora tanto de la salud humana como de la productividad animal. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos antibióticos puede llegar a producir efectos tóxicos y alérgicos en el consumidor y además conducir al desarrollo de cepas resistentes a antibióticos y a una disminución de su efectividad que puede llegar a constituir un verdadero peligro para la salud. Centrándonos en los antibióticos veterinarios, es común, según diversos estudios como el realizado por Zhang y col., 2019, encontrarlos como residuos acumulados en alimentos orientados al consumo humano, como la miel, debido a una aplicación excesiva y negligente. Esto, unido a la aplicación de antibióticos para tratar enfermedades humanas, hace más grave la problemática relativa al desarrollo de cepas resistentes a los antibióticos convencionales y puede desencadenar graves consecuencias para la salud humana (Kim y col., 2021).

Por otra parte, los plaguicidas veterinarios están orientados a la desparasitación, ya que, su función principal radica en controlar las actividades de seres vivos parásitos, ejerciendo un efecto tóxico sobre estos y, evitando así, que lleven a cabo acciones perjudiciales que afecten a otros animales, como las abejas. Al igual que en el caso de los antibióticos, un uso inadecuado de plaguicidas durante el tratamiento de los animales puede generar residuos que pasen a los productos alimentarios que producen, como es el caso de la miel. Estas sustancias residuales, pueden llegar a tener efectos perjudiciales en la salud del consumidor e incluso desembocar en alertas alimentarias graves.

Algunas de las enfermedades más comunes de las abejas son la loque americana, la loque europea, la loque calcárea, la nosema cripaviridae, la varroa, etc., tal y como indica el trabajo realizado por Jin y col., 2017. Todas ellas, poseen un tratamiento veterinario concreto, que debe ser aplicado bajo condiciones muy estrictas para evitar la permanencia de residuos en la miel. En el citado estudio, se detectaron hasta 42 medicamentos veterinarios residuales durante el análisis de diversas muestras de miel y jalea real, por lo que, puede asumirse que los tratamientos se aplicaron de forma negligente o, por contra, no se esperó el tiempo suficiente entre la aplicación del tratamiento y la elaboración y extracción del producto.

Especial mención merece el ácaro *Varroa destructor*, por ser un parásito que transmite una enfermedad denominada “varroosis” o “enfermedad de la varroa”. Se trata de una de las principales plagas que afectan a la apicultura, por lo que la aplicación de tratamientos para prevenir y combatir su presencia es muy necesaria. Sin embargo, si los tratamientos no se aplican de forma adecuada, pueden llegar a detectarse residuos propios de plaguicidas como en el estudio realizado por Ravoet y col., 2015 en el que se identificaron sustancias como el cumafós, el fluvalinato y el bromopropilato, todas ellas, relacionadas con los plaguicidas veterinarios, y más concretamente, con los acaricidas. Por otra parte, el loque, es una enfermedad que afecta a las crías de las abejas. Se trata de una enfermedad producida por dos bacterias formadoras de esporas, *Paenibacillus* en el caso de la loque americana y *Melissococcus plutonius* para la loque europea (Forsgren, 2009). Para el tratamiento de la loque, tanto americana como europea, suelen emplearse antibióticos derivados de la tetraciclina, que inhiben la proteína síntesis de gran número de microorganismos. Uno de los antibióticos más conocidos para llevar a cabo este tratamiento, es la oxitetraciclina (OTC), sin embargo, por su carácter persistente, la Unión Europea prohíbe su uso sobre las abejas, colmenas o miel. Aun así, este compuesto químico ha sido detectado en algunos estudios de mieles, como el realizado por Gonzalez y col., 2019.

1.2.2. Tratamientos agrícolas

Los plaguicidas que pueden llegar a entrar en contacto con los alimentos no son sólo de uso veterinario, sino también son consecuencia de las prácticas agrícolas. Los agricultores, suelen rociar los cultivos con soluciones químicas que pueden llegar a ejercer efectos tóxicos sobre diversos parásitos vegetales, para, de esta forma, controlar y prevenir su actividad. Las plagas no solo repercuten económicamente a los agricultores, sino que, además, pueden llegar a ocasionar graves consecuencias en la salud de los consumidores, dado que, algunos organismos parásitos generan sustancias tóxicas o degradan los frutos de tal forma que su ingesta puede ocasionar daños al organismo.

Con la finalidad de evitar o reducir la presencia de restos de plaguicidas en alimentos, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España estableció una lista con los plaguicidas y químicos aptos para aplicaciones agrarias, así como unos límites máximos para sus residuos en alimentos. De esta forma, se trató de salvaguardar la salud del consumidor, así como de otros seres vivos, y, a su vez, evitar alertas alimentarias. Sin embargo, a lo largo de los años, se han realizado numerosos estudios que demuestran que la presencia de residuos de plaguicidas agrícolas en mieles es una realidad preocupante y que puede llegar a tener graves consecuencias sobre los consumidores. Estos residuos tóxicos, no solo se encuentran en aquellos productos alimentarios derivados del campo, sino que, por transmisión al ambiente, llegan incluso a los producidos en otros sectores primarios.

En el caso de la miel, más concretamente, se han detectado residuos derivados de la actividad agraria en estudios como el llevado a cabo por Midgal y col., 2017, en el que, además, se relacionan estos químicos con sus efectos adversos sobre los insectos. La presencia de estos compuestos en un producto como la miel, se explica por el hecho de que las abejas recogen el néctar de flores de campos cercanos a su colmena. No es de extrañar, por tanto, que las mieles analizadas provengan de un lugar cercano a campos de cultivo y, por ende, las abejas hayan extraído el néctar de flores rociadas con algún tipo de plaguicida agrícola.



Figura 3: Aplicación de tratamientos de pesticidas en la agricultura (Ekepi, 2006)

1.2.3. Contaminación ambiental

Además de los compuestos derivados de la actividad agrícola y veterinaria, existen muchos otros químicos no deseados que puedan haber llegado al ambiente derivados de la actividad humana. Dichos contaminantes también pueden encontrarse en el suelo y en las aguas, y pueden llegar a la miel a través de un contacto directo de las abejas con el contaminante o por un contacto indirecto a partir de algún intermediario. Algunas de estas sustancias son, por ejemplo, los contaminantes de aguas y suelos. También se consideran contaminantes ambientales aquellos productos derivados de la quema de combustibles que generan emisiones indeseables a la atmósfera.

La producción de algunas mieles en núcleos urbanos tiene como finalidad determinar el grado de contaminación del ambiente en el que se producen. Las abejas, al recolectar néctares de zonas próximas a su colmena, realizan un muestreo natural en el que aparecen diversos volátiles propios de la contaminación ambiental. Por tanto, el análisis de estas mieles sirve como un indicador del grado de contaminación de una zona. Esta práctica es muy común en países desarrollados y se ha llevado a cabo en numerosos estudios como el publicado por Bargańska y col., 2015.



Figura 4: Apicultura urbana en Roma como forma de medir la contaminación ambiental (A.F.P. Forum, s.f.)

Además de los derivados de la actividad humana, existen otros volátiles propios del ambiente en el que se producen las mieles, tales como las sustancias relacionadas con la actividad de los insectos. Las secreciones de insectos son compuestos que se encuentran de forma natural en el medio, pero su presencia puede informar de situaciones muy concretas dentro de su entorno (Yew y Chungd, 2015). Por una parte, existen feromonas que los insectos segregan exclusivamente en situaciones de peligro para, de esta forma, avisar a otros insectos de su especie o incluso para confundir a posibles predadores.

Por ejemplo, las abejas, al igual que otros muchos artrópodos, pueden generar veneno y transmitirlo a su atacante, a través de la inyección de su aguijón, para escapar. Este veneno, denominado apitoxina, también es empleado por estos insectos para competir con miembros de su misma especie. Para poder producir e inyectar el veneno, la anatomía de las abejas se modifica, cambiando los ovoposidores (órganos para producir huevos) por un aguijón plenamente funcional para defenderse (César, 2020). Cuando una abeja ataca a un depredador, le introduce veneno a través de su aguijón, el cual, pierde, junto con sus órganos, para así poder escapar rápidamente.

Es por eso por lo que las abejas mueren si atacan a otro ser vivo, ya que, al perder la parte inferior de su cuerpo, provista de órganos importantes, no pueden continuar realizando correctamente sus funciones vitales.

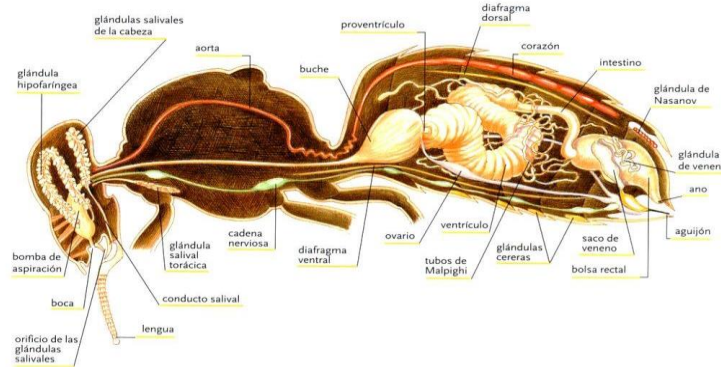


Figura 5: Anatomía interna de una abeja melífera (Corona Apicultores, 2013)

Por otra parte, los insectos también generan feromonas atrayentes de insectos del sexo opuesto para facilitar la reproducción de la especie y aumentar la colonia. Hoy en día, muchos agricultores, emplean este tipo de sustancias para atraer o repeler a cierto tipo de insectos en función de si pretenden usarlos como polinizadores, o si, por el contrario, desean alejarlos para prevenir su acción parasitaria.

1.2.4. Malas prácticas de conservación o tratamiento térmico

Existen otros compuestos que pueden encontrarse en las mieles de forma ajena a su composición natural, tales como aquellos transmitidos a la miel a través de una mala manipulación. Estos contaminantes pueden llegar a las mieles derivados de una mala praxis por parte de los apicultores en alguna de las etapas de procesado. Por ejemplo, las prácticas rudimentarias como el ahumado de las abejas que favorecen el paso de volátiles del humo a las mieles o la migración de compuestos propios de los envases al producto final.

El ahumado es una técnica empleada para controlar a las abejas durante la recolección de la miel y, de esta forma, facilitar su extracción. La forma globalmente aceptada para realizar este proceso consiste en emplear un ahumador homologado, el cual, dispone de una parrilla y una entrada de aire, todo ello recubierto por un cuerpo metálico y por una estructura cónica inclinada por donde se expulsa el humo. Además, el dispositivo consta de un fuelle o impulsor que proporciona el aire necesario para producir la combustión y propulsar el humo.

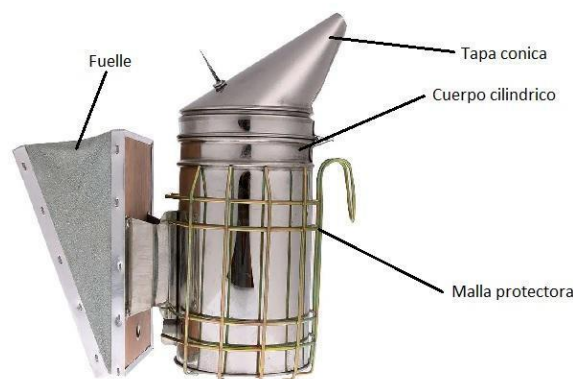


Figura 6: Partes de un ahumador de abejas homologado (Agrotendencia, s.f.)

El ahumado de abejas se produce como forma de eliminar estos insectos de las alzas o panales de la colmena durante la cosecha de la miel. Este tipo de proceso es el más adecuado para el mantenimiento de la calidad de la miel, ya que, gracias a la confusión generada por el humo, las abejas pueden retirarse fácilmente. Sin embargo, se trata de un método muy rudimentario que puede llegar a alterar a la colonia. (Guía Práctica sobre el Manejo Técnico de Colmenas, 2010). A pesar de que se trata de una técnica generalmente aceptada, si no se realiza correctamente o no se emplean los materiales y utensilios adecuados puede comprometer la calidad y seguridad del producto.



Figura 7: Ahumado de abejas para facilitar la extracción o cosecha de la miel (ApiNectar, CASADO GRUPO S.L. 2018)

Si se produce un ahumado excesivo, podrían adherirse restos de humo en la miel, lo cual, puede llegar a afectar al consumidor. Por otra parte, si en lugar de emplear una herramienta homologada se realiza un ahumado primitivo, quemando madera u hojas secas, es posible que parte de los volátiles del humo y de la madera queden retenidos en la miel y pasen a formar parte de esta, pudiendo tener graves consecuencias.

Un calentamiento prolongado durante el tratamiento industrial de las mieles también puede producir variaciones en sus niveles de volátiles, destruyendo aquellos compuestos con carácter termolábil y produciendo, a su vez, otros compuestos indeseables propios de reacciones degradativas catalizadas por el aporte de calor. Según un estudio realizado por Castro-Vazquez, 2008, el calentamiento de la miel puede producir un aumento en la concentración de compuestos como el linalool, los óxidos de linalool y los dien-dioles y, a su vez, una disminución del contenido en terpenos y antranilato de metilo.

Por otra parte, aunque el envasado de la miel debe producirse rápidamente para evitar reacciones indeseables relacionadas con la presencia de oxígeno o con la exposición a microorganismos y levaduras, si el producto se envasa inmediatamente después de haber sido sometido a un tratamiento térmico puede favorecer la migración de materiales plásticos del envase al alimento a causa de las elevadas temperaturas.

Los envases más recomendados para el envasado de la miel son aquellos formados por vidrio, ya que es un material que confiere inocuidad y permite al consumidor apreciar la calidad visual del producto. Sin embargo, debido a su fragilidad, el envasado en este tipo de recipientes dificulta considerablemente el transporte del producto terminado y hace más frecuentes las pérdidas por rotura. Además, es más probable que un envase de vidrio se agriete y deje pasar al producto oxígeno, humedad y/o microorganismos capaces de deteriorar la miel.

Una alternativa muy extendida para el envasado de la miel que logra prevenir de los posibles accidentes que pueden acontecer durante el transporte es el tereftalato de polietileno (P.E.T.). El PET es un material con elevada barrera a la humedad y al oxígeno, además de disponer de una buena resistencia química y mecánica sin renunciar a la transparencia propia del vidrio. Por otra parte, el envasado de elevadas cantidades de miel se lleva a cabo en recipientes de gran tamaño compuestos por materiales metálicos. Es necesario aplicar barniz a estos envases a fin de limitar el contacto entre el metal y la miel y de esta forma prevenir posibles contaminaciones. Tras el envasado, la miel debe mantenerse almacenada en espacios con un ambiente fresco y seco, para evitar el calentamiento y/o la humectación de la miel y de esta forma garantizar la calidad del producto. (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, 2010.

A pesar de que el envasado descrito anteriormente es el más recomendable para mantener las propiedades organolépticas de la miel, en ocasiones pueden producirse transferencias del material del recipiente al producto envasado. El calentamiento prolongado y/o excesivo es el principal facilitador de este hecho. Dicho calentamiento, puede deberse a la temperatura del recinto de almacenaje, a la del vehículo de transporte, a un tratamiento industrial o incluso a una exposición prolongada al sol. Esta migración es uno de los puntos críticos de la contaminación de las mieles y otros muchos productos agroalimentarios.



Figura 8: Esquema de la transferencia de sustancias envase - alimento (ENVASES PLÁSTICOS, 2017)

Estudios como el de Peñalver y col., 2021 o el de von Eyken y col., 2021, han identificado residuos de plásticos en mieles y coinciden en que su presencia puede deberse a una exposición a ambientes contaminados con residuos plásticos y/o a una migración de materiales del envase al alimento.

Como forma de controlar la presencia de estos volátiles potencialmente tóxicos, los países desarrollados disponen de un sistema de análisis de peligros y puntos de control críticos y de un sistema de trazabilidad alimentaria. El sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos se basa en la aplicación de controles en los puntos más sensibles de un proceso para garantizar la seguridad y calidad del producto final y de esta forma prevenir posibles alertas agroalimentarias. Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, este sistema se define como “un sistema que identifica los riesgos (o peligros) específicos en materia de higiene que pueden afectar a los productos alimenticios y piensos en cada fase de su producción, distribución, venta etc., y define las medidas específicas para su control.” (Tejedor, 2019).

El Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC) es un documento de índole obligatorio para todas las empresas agroalimentarias de países desarrollados. Este escrito, establece un sistema para, como su propio nombre indica, analizar aquellos puntos de un proceso que pueden resultar críticos para la integridad y seguridad de un producto. De esta forma, el sistema da pie a la creación de protocolos y técnicas de seguridad que reducen considerablemente las posibilidades de contaminación de un alimento (Holgún, 2014). La miel, al ser un producto natural sometido a un procesado industrial muy limitado, requiere un sistema de APPCC que se inicie en el sector primario, es decir, desde el proceso de elaboración de la miel hasta el envasado de esta después de ser filtrada, tratada térmicamente y envasada. Aunque el sistema APPCC en el sector primario no es de obligado cumplimiento para las empresas, se está implementando cada vez más para asegurar la actividad apícola desde uno de los puntos más críticos de la misma.

Entre las medidas higiénicas que describe este documento destaca la colocación de las colmenas en lugares alejados de la contaminación ambiental y de campos sometidos a tratamientos fitosanitarios para limitar el contacto de las abejas con ambientes llenos de volátiles nocivos y con néctares pervertidos por plaguicidas agrarios. También debe garantizarse la ausencia de crías de abeja en los cuadros extraídos por los apicultores. Para ello, se cepillan los cuadros o se aplica aire a presión a los mismos y, de esta forma, se ahuyentan a las abejas cercanas. De esta forma se limita el uso del ahumador para evitar el paso de volátiles del humo o incluso la producción de feromonas de las abejas por verse sometidas a situaciones de estrés o peligro. Por otra parte, se ha de evitar la extracción de la miel de colmenas sometidas recientemente a tratamientos veterinarios o que presenten algún tipo de enfermedad y de aquellas que tengan una edad superior de tres años.

Tras el desoperculado, la miel se extraerá del panal por centrifugación, goteo o presión, evitando el paso de la cera a los bidones de miel. Para reforzar la limpieza de las mieles, éstas se someterán a un proceso de filtrado con utensilios higienizados y adecuados para dicha tarea.

El transporte, a su vez, deberá realizarse en unas buenas condiciones higiénicas, en transportes que no alberguen productos químicos o desechos y en vehículos que circulen por zonas con espacio suficiente para maniobras que no pongan en riesgo la integridad de los envases. Finalmente, se deberá producir un envasado higiénico en recipientes adecuados para la miel con el fin de evitar posibles migraciones. Estos recipientes se almacenarán en lugares limpios, frescos y secos alejados de la incidencia solar y sin contacto directo con el suelo.

1.3. Técnicas de análisis para la evaluación de la fracción volátil

La miel es un alimento complejo de analizar, ya que contiene numerosas sustancias con diferentes estructuras químicas. Destacan, entre ellos, los componentes volátiles, tanto propios de su composición natural como ajenos a esta. Todos ellos, volátiles o no, se encuentran dentro de una matriz sacárida rica en compuestos polares (Manyi-Loh y col., 2011). Para llevar a cabo la separación de estas especies químicas, y facilitar así su posterior identificación, se dispone principalmente de dos técnicas: la cromatografía líquida y la cromatografía de gases.

La cromatografía líquida es una técnica de separación de compuestos químicos de baja o nula volatilidad. Esta separación se basa en la retención de los compuestos en una columna cromatográfica, por la que pasan tras ser inyectados junto con una fase móvil formada por una mezcla de disolventes. Gracias a la interacción entre el analito perteneciente a la muestra con la fase móvil y el relleno de la columna cromatográfica, es posible separar los distintos componentes de una mezcla para realizar identificaciones y detecciones cualitativas posteriores, empleando, para ello, distintos detectores como, por ejemplo, detectores de absorbancia, de fluorescencia o de conductividad, entre otros (Universidad Autónoma de Barcelona, 2016)

La cromatografía de gases, por otra parte, es una técnica separativa que permite diferenciar los distintos compuestos que conforman una mezcla, siempre y cuando, puedan presentar un carácter volátil. En este caso, se emplea un gas inerte como fase móvil y una columna cromatográfica (al igual que en la cromatografía líquida) como fase estacionaria. La separación de los compuestos se produce por interacción entre los analitos de la muestra y la fase estacionaria.

La cromatografía de gases es una técnica ampliamente empleada en la determinación de la fracción volátil de un alimento o compuesto, ya que, para poder producir la separación de los analitos de una mezcla, éstos deben encontrarse en un estado volátil para, de esta forma, ser arrastrados por la fase móvil hasta la fase estacionaria, donde interaccionan.

Dentro de los métodos de extracción de la fracción volátil para el análisis por cromatografía de gases, destacan dos técnicas, tales como la SPME-CG y el método ITEX.

La Extracción en tubo con espacio de cabeza dinámico o In-Tube Extraction Dynamic Headspace (ITEX) es una técnica que se basa en el uso una jeringa con propiedades herméticas para recoger el espacio de cabeza de la muestra y de una trampa llena de material adsorbente, alojada en la aguja del extractor, para atrapar los analitos volátiles. El proceso de recolección del espacio de cabeza se lleva a cabo por la repetición reiterada de la etapa de extracción, con lo que la sensibilidad del método está condicionada por el número de veces que dicha microextracción se realiza. Una vez llevada a cabo la extracción, la trampa donde han quedado retenidos los compuestos se calienta para, de esta forma, liberarlos y transferirlos al cromatógrafo de gases de forma rápida, para garantizar una mayor eficiencia del proceso (Bowerbank y Romano, 2020).

Otra técnica de extracción empleada para el análisis de volátiles es la microextracción en fase sólida (SPME) combinada con un posterior análisis mediante cromatografía de gases (GC) y con el añadido de un espectrómetro de masas (MS) es un procedimiento muy recomendado por su elevada sensibilidad y sus buenos resultados. La principal característica de esta técnica es que no precisa de un disolvente para llevar a cabo la preparación de la muestra, sino que emplea una fibra recubierta por una fase de extracción (sólida o líquida) para concentrar y extraer los volátiles de esta basándose en el principio de adsorción-desorción. Entre los campos en los que puede aplicarse esta técnica, destacan, por ejemplo, los análisis de contaminación ambiental de agua y aire; los análisis de volátiles en alimentos y los análisis toxicológicos de volátiles como los restos de alcohol o drogas en secreciones humanas.

Comparativamente, tanto el SPME como el método ITEX son técnicas de extracción muy fiables. El método ITEX destaca, sobre todo, por su menor coste, ya que no precisa de columnas de extracción. Además, la ausencia de válvulas o puntos críticos de contaminación, la hacen mucho más robusta que otras técnicas. Por otra parte, la técnica SPME es mucho más sensible, dado que concentra los volátiles durante su extracción. En este ámbito, es mejor opción respecto al método ITEX, ya que éste último, al no concentrar la muestra volátil, puede llegar a perder ciertas sustancias que se hallen en la muestra en una baja concentración. Es por esto, que para el proyecto

En cuanto a la aplicación de estas técnicas para la extracción de los volátiles de la miel, la extracción mediante SPME se ha llevado a cabo en estudios como el realizado por Munera, 2021, que consistía en el análisis cromatográfico de la fracción volátil de mieles españolas; el llevado a cabo por Soria y col., 2008, o el publicado bajo la autoría de Piasenzotto y col., 2003. Por otra parte, la técnica ITEX para el mismo fin se ha empleado en proyectos como el realizado por Mazón, 2021, en el que se compararon el método ITEX y el SPME como forma de extraer la fracción volátil de la miel.

Esta gran cantidad de artículos demuestran que la miel en países avanzados es un producto sometido a una gran cantidad de pruebas y estudios y que existe mucha información respecto a este alimento y su composición.

Además, otra de las pruebas que demuestran el gran control al que son sometidas las mieles radica en la existencia de diversos laboratorios especializados en este producto a lo largo de Europa y otros países desarrollados. Uno de los ejemplos más cercanos, es el laboratorio "LABMIEL", situado en la Universidad Politécnica de Valencia y emplazamiento en el que se ha llevado a cabo este estudio. Se trata de un laboratorio acreditado y equipado para el completo y exhaustivo análisis de las mieles con una plantilla de expertos con mucha experiencia en el sector.

Comparativamente, los seguimientos en países en vías de desarrollo son claramente inferiores, debido a la falta de legislación y organismos de control que aboguen por la seguridad alimentaria y la inocuidad de los productos que se comercializan.

En el continente africano, este tipo de investigaciones son muy escasas. Sólo existen algunos estudios como el publicado por Irungu y col. en 2016, sobre residuos de plaguicidas en miel de África. Aunque el uso industrial de compuestos como plaguicidas o fungicidas; combustibles u otros químicos tóxicos esté menos extendido teóricamente, se considera necesario aportar datos respecto a la presencia o ausencia de residuos en mieles y otros alimentos producidos en el territorio, dado que puede suponer un peligro para el consumidor. Además, como se ha explicado anteriormente, a lo largo del continente africano se han detectado numerosos restos de contaminantes ambientales, derivados tanto de las actividades de la población endógena como de la explotación del territorio por parte de países desarrollados. Todo esto, hace mucho más probable la transmisión de parte de estos residuos a alimentos producidos en el país, como las mieles, y crea una necesidad de adquirir información y de esta forma tomar acciones que protejan a los consumidores y prevengan posibles alertas alimentarias.

2. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO

2.1. Objetivo

El objetivo del presente estudio ha sido evaluar la presencia de compuestos volátiles ajenos al origen botánico, en mieles de las cuatro regiones de mayor productividad apícola de Mozambique.

2.2. Plan de trabajo

Para conseguir el objetivo descrito anteriormente se llevó a cabo el siguiente plan de trabajo:

- Preparación de muestras de mieles de Mozambique para llevar a cabo su análisis cromatográfico.
- Familiarización con la técnica SPME-CG, con el programa informático MassHunter (Unknown) y con la base de datos científica NIST.
- Clasificación de los volátiles identificados por el equipo en “propios del origen botánico y/o geográfico” y en “ajenos al origen botánico y geográfico”.
- Búsqueda bibliográfica de los compuestos volátiles ajenos al origen botánico y geográfico de la miel para identificar su procedencia y definir cómo han entrado en contacto con el producto.
- Clasificación de los compuestos atendiendo a su procedencia y relación con la miel.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Muestras de miel

En este proyecto, se analizaron 63 muestras de miel, procedentes de 4 regiones de la nación de Mozambique que fueron recolectadas en 2021. En concreto, se tomaron 11 muestras de Manica, 20 de Zambezia, 12 de Sofala y 20 de Nampula.

Dentro de estas 4 regiones, las muestras se diferencian en los distintos distritos o zonas donde fueron recolectadas. En la provincia de Manica, se recopilieron muestras de Manica central (3), de Susundenga (5) y de Tambara (3). Por otro lado, de la región de Zambezia se extrajeron alícuotas de Mocubela (15) y de Mulevala (5). Del territorio de Sofala se recogieron mieles de Gorongonza (4), de Maringue (3) y de Caia (5). Finalmente, de la extensión de Nampula se analizaron muestras de Angoche (9), de Mogincual (6) y de Mecuburi (5).

En el apartado de Anexos, concretamente en la Tabla 3, se encuentra un registro de todas las mieles empleadas en este estudio, así como su origen, fecha de recepción y número de referencia, el cual, ha sido asignado por el laboratorio “LABMIEL”.

3.2. Preparación de las mieles para la extracción de compuestos volátiles

Para la preparación de la muestra, se introdujeron 8 gramos de miel (pesados en una báscula con 3 decimales de precisión) en un vial de vidrio con forma cilíndrica. A continuación, se añadieron esferas de vidrio por valor de 1 gramo aproximadamente, para facilitar la posterior homogeneización. Finalmente, se añadieron 2 mililitros de agua con sal y 1 mililitro de agua bidestilada para reducir la densidad de la muestra.

Después de preparar las alícuotas, éstas se cerraron con tapones especiales para inyección, es decir, provistos de septos de PTFE/Sil. Las mieles se homogeneizaron en un vortex durante un par de minutos, para conseguir un resultado uniforme. Posteriormente, se cambiaron los tapones para evitar la acumulación de miel y, por ende, la obstrucción del inyector. Para terminar, se colocaron los viales en las gravillas específicas del cromatógrafo de gases empleado en el proyecto y se inició el proceso analítico.



Figura 9: Muestras de miel en los viales para el análisis del perfil volátil (Fuente propia)

3.3. Análisis del perfil volátil

El análisis del perfil volátil de la miel se llevó a cabo mediante un método de extracción basado en la técnica SPME. Este equipo posee una fibra compuesta por divinyl benzene, carboxen y polydimethylsiloxane de unos 30-50 micrómetros de diámetro, la cual, es la encargada de extraer los compuestos volátiles de las muestras. Esta fibra, sufre un proceso de acondicionamiento para eliminar posibles residuos de análisis anteriores. Para ello, es sometida a un calentamiento a 260°C durante 3 minutos.

Una vez acondicionada la fibra, comienza la extracción de la fracción volátil. La muestra a extraer se calienta durante 30 minutos a una temperatura de 50°C con agitación. De esta forma, se facilita la volatilización de los aromas y otros compuestos de interés.

A continuación, comienza el proceso de desorción. Para ello, la muestra se somete a 250°C en el interior del inyector en el modo Splitless. En las técnicas de inyección, el modo Splitless implica un calentamiento de la muestra a una temperatura inferior al punto de ebullición del compuesto más volátil de la alícuota. Además, este modo hace que durante el proceso de inyección la miel pase directamente a la columna.

El sistema de inyección que emplea el instrumento es un sistema automatizado conocido como PAL RSI 120 y el gas encargado del transporte de los componentes de la alícuota es el helio. Se eligen gases como el helio o el nitrógeno para crear una matriz adecuada para el detector y a su vez garantizar que el gas no intervenga o reaccione con alguno de los volátiles de la muestra. El helio fluye a un flujo constante de alrededor de 1 mL/minuto.

Por otra parte, la columna encargada de la separación de compuestos corresponde al modelo DB WAX de 30 m de largo, 0,25 mm de diámetro y 0,25 micrómetros de espesor.

El equipo encargado del análisis es un cromatógrafo de gases Intuvo 9000 GC, el cual, se encuentra combinado con un detector de masas del modelo 7000 GC/TQ. Este detector destaca por su disposición de un triple cuadrupolo y por pertenecer a la prestigiosa marca "Agilent Technologies".



Figura 10: Equipo SPME-GC del laboratorio "LABMIEL" empleado en el análisis de las muestras de mieles (Fuente propia)

Las condiciones para la realización del estudio cromatográfico fueron las siguientes:

- **Rampa 1:** La temperatura del horno al principio del análisis es 35 °C. Dicha temperatura se mantiene constante durante 3 minutos y posteriormente sufre un incremento progresivo de temperatura correspondiente a 5°C por minuto hasta alcanzar los 215 °C.
- **Rampa 2:** A continuación, se aumenta aún más la temperatura, hasta alcanzar 250 °C. Este incremento, al igual que el anterior, es progresivo y se produce a razón de 30°C por minuto.

Esta temperatura se mantiene durante unos 6 minutos y la duración total de la prueba cromatográfica varía entre 40 y 60 minutos.

Por otro lado, la condición principal del detector de masas es el establecimiento de un modo de campo electrónico con una intensidad de 70 electronVoltios (eV) y con un rango de masas con una relación carga-masa de 40-280 m/z.

3.4. Análisis de los datos

El proceso de identificación de los compuestos de cada muestra se realizó de forma comparativa, observando y cotejando los espectros de masas de las alícuotas con la base de datos propia del equipo. Éste dispone de una librería de referencia, la NIST (National Institute of Standards and Technology), que es una fuente de información muy fiable. Además, también se compararon los datos con otros documentos bibliográficos encontrados a través de portales de búsquedas académicas como “Google Scholar” o el “PoliBuscador” de la Universidad Politécnica de Valencia.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

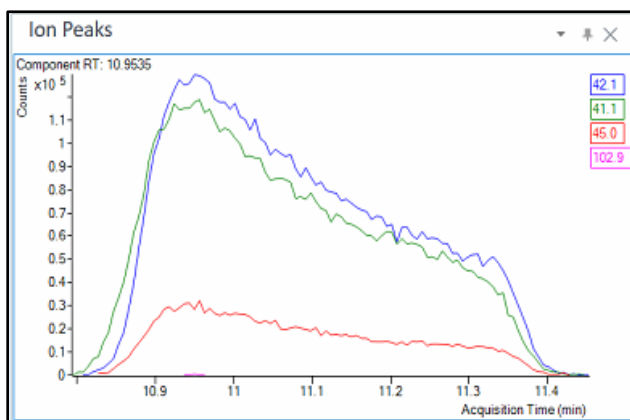
4.1. Identificación de la información apropiada para el estudio

Después de procesar todas las muestras de las mieles objeto de estudio y de obtener los cromatogramas correspondientes, fue necesario realizar un análisis exhaustivo de la información, ya que, todas las señales que da el cromatograma no pueden considerarse por sí solas como picos válidos.

En este sentido, para determinar la validez de un pico cromatográfico, se realizaron una serie de comprobaciones.

Primero, se evaluó el aspecto de cada uno de los picos correspondientes a los 50-60 compuestos determinados en el cromatograma de cada una de las muestras de miel. Para ello, se clasificaron mediante un código de colores, diferenciando entre aquellos compuestos que presentaban un pico de carácter regular y bien definido y aquellos que no seguían una forma natural y cuya apariencia parecía distorsionada. En la figura 10, se puede observar una comparación entre un pico cromatográfico aceptable y una señal no aceptable.

Cyclopropane



Ethanone,2-chloro-1,2-diphenyl

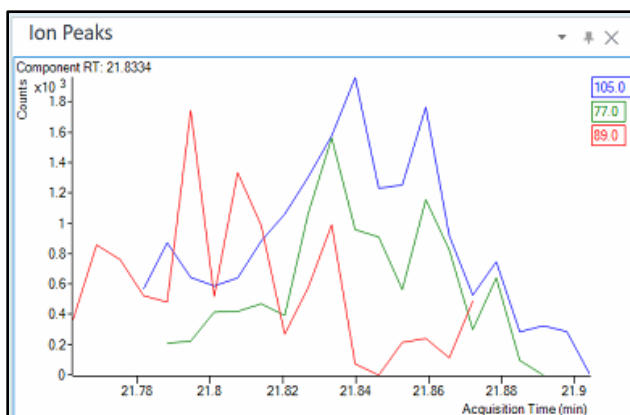
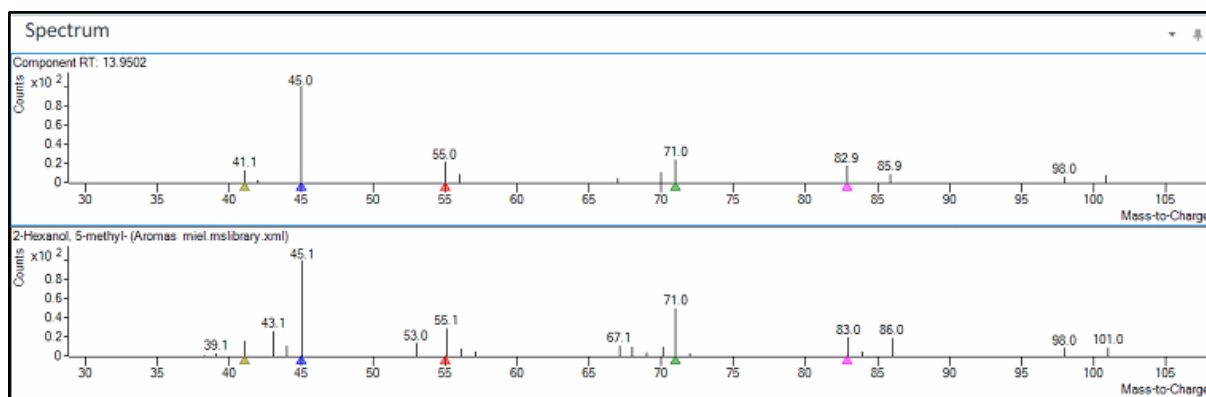
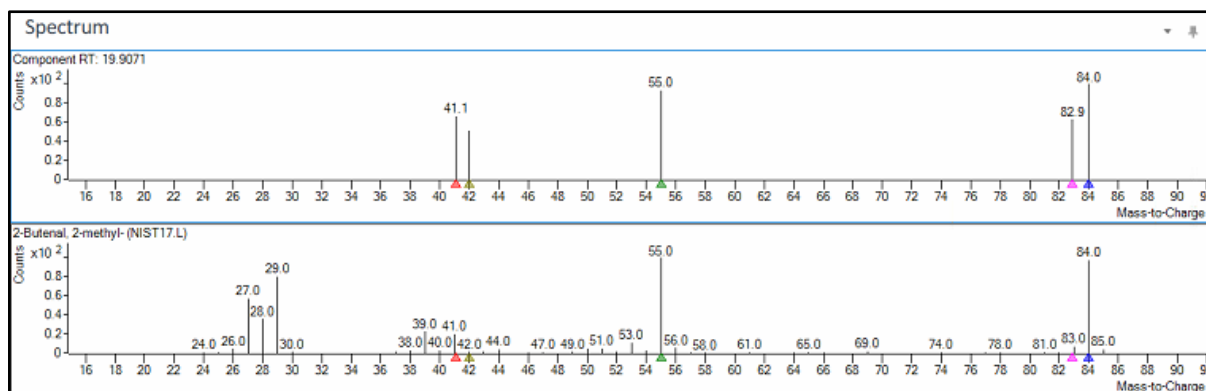


Figura 11: Comparación entre un verdadero pico cromatográfico (Ciclopropano) y un resultado propio del ruido de fondo (Etanona,2-cloro-1,2-difenilo) (Fuente propia)

Después de comprobar el aspecto de todas las señales cromatográficas emitidas por el equipo y de hacer una primera criba entre todos los resultados, a continuación, se verificó la identificación de cada compuesto asociado a una señal. Para identificar el compuesto correspondiente a cada señal cromatográfica, se compararon los espectros de masas obtenidos tras el análisis de las muestras con aquellos almacenados en la base de datos NIST y se obtuvo un resultado, atendiendo al grado de similitud entre la muestra y la referencia. En la figura 11, se puede observar dicha comparación y, a su vez, un ejemplo de espectro cromatográfico con alta y baja correlación respectivamente.



Espectro de masas con roturas con grandes similitudes (El compuesto a identificar se corresponde con el propuesto por la base de datos)



Espectro de masas con roturas sin similitudes (El compuesto no se corresponde con el sugerido por la base de datos)

Figura 12: Comparación entre unas roturas másicas con grandes similitudes y otras que no se corresponden con el resultado provisto por la NIST (Fuente propia)

De esta forma, se estableció una identificación inicial, que asoció cada señal con el nombre de un compuesto. El grado de correlación entre las roturas efectuadas por el espectrómetro de masas durante el análisis de cada sustancia y la información recogida en la base de datos se reflejó mediante el cálculo de un porcentaje de correlación o Match Factor. A mayor Match Factor o factor de correlación, mayor probabilidad de que el compuesto sugerido por el programa fuese, en efecto, el correspondiente a la señal detectada. En la Figura 12, se puede observar la diferencia entre una correlación de roturas alta y una correlación baja.

Component RT	Compound Name	Match Factor
3.9099	Acetic acid, (dodecahydro-7-hydroxy-1,4b,8,...	79.0
4.3373	Dimethyl ether	88.6
4.6696	(2-Azirinylethyl)amine	72.6
5.9818	2-Phenylpyrrolo(2,1-B)benzothiazol	78.0
8.1798	1-Propanol, 2-methyl-	91.2
9.9747	2,4-Dihydroxybenzaldehyde, 2TMS derivative	82.3
10.2521	Furan	74.5
10.5827	Methanesulfonyl chloride	72.7
10.7752	1,2-Bis(4-methoxyphenyl)ethane-1,2-diamine	78.8
10.9434	1-Butanol, 3-methyl-	95.6
10.9535	Cyclopropane	77.5
13.9699	2-Heptanol	74.2
14.8188	1-Hexanol	93.9
14.9490	Alpha-pyrone-6-carboxylic acid	78.3
15.6477	Nonanal	87.5
17.0342	2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- alpha...	85.4
17.4152	Furfural	94.0

Component RT	Compound Name	Match Factor
21.6200	Benzeneacetaldehyde	99.0
21.7612	Fenobucarb	77.0
21.8334	Ethanone, 2-chloro-1,2-diphenyl-	71.1
22.1062	Silanediol, dimethyl-	99.1
22.2275	3-Furanmethanol	84.5
22.8130	Trisiloxane, octamethyl-	77.3
23.6766	Phenyl-1,2-diamine, N,4,5-trimethyl-	75.6
24.6291	Oxime-, methoxy-phenyl-	90.9
24.9082	Benzeneacetic acid, ethyl ester	89.5
26.2593	Furan, 3-phenyl-	83.7
26.4440	Phenol, 2-methoxy-	91.5
26.8438	1,2-Ethanediol, 1,2-diphenyl-, [R-(R*,R*)]-	85.2
27.5663	Phenylethyl Alcohol	98.7
27.7427	Benzene, 1-isociano-3-methyl-	76.6
28.3979	3-Acetyl-2,5-dimethyl furan	73.6
29.3553	p-Cresol	78.2
29.3790	Phenol	92.3

Figura 13: Comparación entre un % Mach de un compuesto con roturas correspondientes a la referencia de la NIST y otro con un % Mach de un compuesto con roturas no correspondientes. (Fuente propia)

En paralelo a todo lo anterior, para corroborar la identificación de cada compuesto, se calculaba el índice de Kovats correspondiente a cada una de estas señales y se compararon los resultados con una base de datos física que el laboratorio “LABMIEL” puso a disposición de este proyecto.

El índice de Kovats es un índice de retención desarrollado por el científico Ervin Kováts que sirve como forma de cuantificar los tiempos de elución de cada uno de los compuestos hallados en un cromatograma realizado por cromatografía de gases. Este sistema sirve para identificar cada uno de los componentes de una mezcla y está estrechamente ligado al tiempo de retención.

$$I_i = 100 \left[n + \frac{\log(t_i - t_0) - \log(t_n - t_0)}{\log(t_{n+1} - t_0) - \log(t_n - t_0)} \right]$$

I_i el índice de retención de Kováts del pico i

n número de carbono del pico n - alcano rumbo pico i

t_i tiempo de retención del compuesto i , minutos

t_0 pico de aire, tiempo de vacío en velocidad media $u = L/t_0$, minutos

Ecuación 1: Fórmula del índice de Kovats y leyenda de cada una de sus variables (Hmong, s.f.)

El índice de Kovats es un valor numérico, que una vez calculado, se compara con la base de datos mencionada anteriormente. Esta librería, dispone de una lista de compuestos y el rango de índices de Kovats que corresponden a cada uno de ellos. De esta forma, se compararon todos los índices calculados con los rangos presentes en la base de datos y se determinó si realmente se trataba del compuesto identificado por el programa MassHunter Unknown o si, por contra, era necesario realizar una búsqueda más profunda para descubrir de qué compuesto se trataba.

En el caso de no encontrar correlación entre el índice de Kovats calculado con el rango asociado al compuesto, se accedió a una de las opciones del programa MassHunter Unknown, donde se indican todas las alternativas al compuesto volátil sugerido, en orden descendente, de mayor a menor Match Factor.

Una vez identificados, de forma inequívoca, los compuestos de cada una de las 63 alícuotas de miel, se realizó una división entre aquellos compuestos volátiles propios de la composición natural de la miel o que pudieran ser diferenciadores de una región o localidad concreta y aquellos ajenos a su origen botánico y geográfico. Para ello, se llevó a cabo un gran trabajo de investigación bibliográfica, en el que se encontraron artículos de carácter científico que respaldaron esta distribución.

Tras este proceso de selección y clasificación, se formaron dos líneas de investigación completamente opuestas en torno a las mieles de Mozambique. Por una parte, se llevó a cabo un proyecto de caracterización del perfil volátil de las mieles de este país, mientras que, por otro, se realizó un estudio sobre la identificación de los compuestos ajenos a la composición natural de la miel y de sus posibles orígenes o procedencias.

Una vez separados los dos trabajos, este proyecto se orientó al análisis de aquellos compuestos volátiles ajenos al origen botánico y geográfico. Se identificaron 187 compuestos recogidos y clasificados en la Tabla 2. Para la realización de la Tabla 2, se llevó a cabo un profundo trabajo bibliográfico e investigativo en base al cual se los compuestos en diversos grupos atendiendo a su posible origen y contacto con la miel, además de a su presencia/ausencia en cada una de las regiones y distritos de Mozambique de los que procedían las muestras.

4.2. Identificación de compuestos de la fracción volátil ajenos al origen botánico y geográfico de la miel

La Tabla 2 recoge todos los compuestos volátiles presentes en las mieles que han resultado ser ajenos a la composición natural o biológica de la miel. Tras su clasificación y una amplia búsqueda de información, se dispusieron estos grupos en los que se dispusieron cada una de las sustancias identificadas. Los compuestos identificados se clasificaron en 4 grupos: provenientes de la actividad veterinaria y/o de tratamientos agrícolas; aquellos derivados de contaminación ambiental; los procedentes de malas prácticas de almacenamiento y/o tratamiento térmico y aquellos cuyo origen no ha sido identificado. Dentro de cada apartado, se diferenciaron, a su vez, distintos subapartados, para clasificar de forma más precisa las sustancias.

Tabla 2: Conjunto de volátiles ajenos a la composición natural de la miel analizados mediante SPME-CG y clasificados en función de la región y el distrito al que pertenecen. Se encuentran ordenados por grupos en función de su aplicación y dentro de cada grupo se disponen según su tiempo de retención. La información proporcionada de cada uno de estos compuestos es el área obtenida en los cromatogramas, la cual, está dispuesta en un rango que incluye la mayor y la menor de cada zona en cuanto a un compuesto concreto. Dichos resultados se expresan en potencias de 4.

COMPUESTOS (Áreas expresadas por 10 ⁴)	Tr	MANICA			ZAMBEZIA				SOFALA			NAMPULA		
		M.	S.	T.	A.M.	G.	Moc.	Mu.	Go.	Ma.	C.	An.	Mog.	Me.
		n = 3	n = 5	n = 3	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 3	n = 5	n = 9	n = 6
ACTIVIDAD VETERINARIA Y TRATAMIENTOS AGRÍCOLAS														
Pesticidas														
Pentane	8,251	ND	ND	ND - 7,08	ND - 11,00	ND	ND	ND	ND	ND - 50,70	ND - 95,80	ND - 19,50	ND	ND
Furan	10,317	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 91,60	ND	ND	ND	ND - 101,00	ND	ND
2-Hydrazinoethanol	14,466	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 234,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4,5-Dipropenyldihydro-furan-2-one	16,622	ND	ND - 16,30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethanone, 1-cyclopropyl	17,049	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 303,00	ND	ND	ND	ND	ND
Succinimide	17,064	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 29,20	ND	ND	ND	ND	ND
Chlorine	18,265	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,04	ND	ND
Propane, 1-isocyanato-2-methyl	18,277	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 3,30	ND	ND
Benzyl chloride	18,607	ND	ND	ND - 0,89	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pyridine-D5	19,910	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,52	ND	ND	ND
(R,Z)-2-Methyl-6-(4-methylcyclohexa-1,4-dien-1-yl)hept-2-en-1-ol	20,233	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 8,25	ND	ND
2-Propanamine	20,401	ND	ND - 9,35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Isophorone	20,583	3,44 - 6,04	3,50 - 3,65	ND	6,99 - 14,40	ND	ND - 121,00	4,74 - 380,00	ND	ND	ND	ND - 3,56	ND - 3,46	ND - 2,79
Safranal	21,769	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,28	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyanogen chloride	22,093	ND	ND	ND	ND - 1,16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyclobutanecarboxylic acid, 1-amino	22,479	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,27	ND	ND
Methyl salicylate	24,589	ND - 0,55	ND	ND	ND - 0,69	ND - 1,19	3,90 - 7,55	ND	ND - 0,50	ND	ND	ND	ND	ND - 4,19
1H-Pyrazole-4-carbonitrile	27,551	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,76	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethene, chloro	29,369	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,68	ND	ND
Probarbital	30,893	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,33	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Phenol, 3,4-dimethyl- II	32,579	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,70	ND	ND - 0,96	ND	ND	ND - 0,55

COMPUESTOS (Áreas expresadas por 10 ⁴)	Tr	MANICA			ZAMBEZIA				SOFALA			NAMPUA		
		M.	S.	T.	A.M.	G.	Moc.	Mu.	Go.	Ma.	C.	An.	Mog.	Me.
		n = 3	n = 5	n = 3	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 3	n = 5	n = 9	n = 6	n = 5
Fungicidas y compuestos antifúngicos														
.alpha.-Phellandrene II	11,543	ND	ND	ND	ND - 20,10	ND - 43,80	ND - 151,00	ND	ND	ND - 79,30	ND	ND	ND	ND
4-Chlorobutyric acid, 4-isopropylphenyl ester	11,588	ND	ND	ND	ND - 2,14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Decanal	18,317	ND	ND - 8,41	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,7,7-Trimethylbicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-one	18,581	ND	ND	ND	ND	ND - 4,20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethanone,2-(formyloxy)-1-phenyl	21,846	ND - 1,17	ND - 0,98	ND - 0,60	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzene, 1,2-dimethoxy	23,584	ND	ND	ND	ND - 2,05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethanone, 1-(3-hydroxyphenyl)	23,062	ND	ND - 0,66	ND - 0,32	ND	ND	ND	ND	ND - 0,53	ND	ND - 0,82	ND	ND	ND - 0,65
N-Benzyl-N-methyl-2-oxo-2-phenylacetamide	25,532	ND	ND	ND	ND	ND - 29,70	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quinoline	27,995	ND - 1,16	ND	ND - 2,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,89	ND - 1,10	ND	ND	ND
Phenol, 2,3,5-trimethyl	35,930	ND - 1,18	ND - 1,95	ND	ND	ND	ND - 11,50	ND - 34,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Insecticidas														
Cyclopropane	10,954	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1870,00	ND	ND
1,3-Benzenediol, monobenzoate	12,846	ND	ND	ND	ND	ND - 9,57	ND - 11,80	ND - 6,41	ND	ND	ND	ND - 2,46	ND	ND - 1,09
Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (L)	14,458	ND	ND	ND	ND - 34,10	ND - 22,30	152,00 - 252,00	ND - 13,70	ND	ND - 29,50	ND - 29,20	ND	ND	ND
Acetone	14,834	ND	ND - 13,90	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyanic acid, ethyl ester	15,647	ND	ND - 5,96	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acetic acid	17,212	ND - 1,70	ND	ND - 3,84	ND - 3,01	ND	ND - 5,31	ND - 5,14	ND - 2,65	ND	ND - 3,86	ND - 3,82	ND - 6,45	3,09 - 6,72
l-Menthone	17,398	ND	ND	ND	ND	ND - 13,50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Anethole	22,306	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 5,89
Camphor	18,680	ND - 2,84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethane, 1,2-dibromo	18,796	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,85	ND	ND	ND
Isophorone	20,583	3,44 - 6,04	3,50 - 3,65	ND	6,99 - 14,40	ND	ND - 121,00	4,74 - 380,00	ND	ND	ND	ND - 3,56	ND - 3,46	ND - 2,79
Formamide, N-methyl	22,208	ND	ND - 1,05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,88
.alpha.-Terpineol	23,053	ND	ND	ND	ND - 1,20	ND	2,47 - 2,91	ND - 2,48	ND - 0,50	ND - 0,62	ND	ND	ND	ND
Naphthalene	23,756	ND - 6,57	ND - 2,44	ND	ND	ND - 0,96	2,56 - 4,36	ND - 2,04	ND - 1,68	ND	0,91 - 2,08	ND - 2,06	ND - 2,07	ND - 1,75
1,7-Octadiene, 2-methyl-6-methylene	25,941	ND	ND - 2,97	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8-Hydroxymethyl-trans-bicyclo[4.3.0]non-3-ene	29,266	ND	ND - 3,30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethanol, 2-phenoxy	32,006	ND	ND	ND	ND	ND - 0,90	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Herbicidas														
Phenylacetic acid, 2,3-dichlorophenyl ester	16,747	ND	ND	ND	ND	ND - 46,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Maleic hydrazide	18,278	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,74	ND	ND
2-Propanamine	20,401	ND	ND - 9,35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2-Propanone, ethylhydrazone	20,912	ND	ND - 1,12	ND	ND - 1,29	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2-Imidazolidinone	21,332	ND	ND	ND	ND - 0,59	ND	ND - 1,79	ND - 1,27	ND - 0,92	ND	ND - 0,97	ND - 0,69	ND - 0,73	ND - 1,00
3',5'-Dihydroxyacetophenone	22,848	ND	ND	ND - 0,93	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,81	ND	ND - 0,45
Quinoline	27,995	ND - 1,16	ND	ND - 2,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,89	ND - 1,10	ND	ND	ND

COMPUESTOS (Áreas expresadas por 10 ⁴)	Tr	MANICA			ZAMBEZIA				SOFALA			NAMPULA		
		M.	S.	T.	A.M.	G.	Moc.	Mu.	Go.	Ma.	C.	An.	Mog.	Me.
		n = 3	n = 5	n = 3	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 3	n = 5	n = 9	n = 6
CONTAMINACIÓN AMBIENTAL														
Derivados del petróleo y combustibles														
Butane, 1-methoxy	13,95	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 16,00	ND - 13,20	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethane, isocyanato	13,979	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,42	ND
Methylal I	14,491	ND	ND - 7,73	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 7,08	ND
Hexane, 2,2-dimethyl	15,653	ND - 1,64	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5-vinyl-1H-tetrazole	15,797	ND	ND - 29,10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1-Methyl-1H-1,2,4-triazole	18,285	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,68	ND	ND	ND	ND	ND - 1,51	ND
Benzofuran	18,388	ND - 1,62	ND - 1,47	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,81	ND - 1,77	ND - 1,60	ND
Cyclopentane, 1,2,3,4,5-pentamethyl	19,911	ND	ND - 0,78	ND	ND	ND	ND - 0,43	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acetic acid, dimethoxy-, methyl ester	20,409	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 10,90	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Methylal II	22,109	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 8,22	ND	ND	ND	ND	ND
Naphthalene	23,756	ND - 6,57	ND - 2,44	ND	ND	ND - 0,96	2,56 - 4,36	ND - 2,04	ND - 1,68	ND	0,91 - 2,08	ND - 2,06	ND - 2,07	ND - 1,75
Toluene	25,755	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,40	ND - 0,85	ND
Contaminantes de suelo														
Hexanal, 2,2-dimethyl	18,291	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,20
Benzenecarbothioic acid, S-methyl ester	18,808	ND	ND	ND	ND - 8,56	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3-Dimethyl-1-hexene	18,996	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,48	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2-Picoline, 6-nitro	21,616	ND	ND - 8,82	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3-Dimethylhex-1-ene	22,285	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,12	ND	ND	ND	ND	ND
Contaminantes ambientales														
(1H)Pyrrole-3-carbonitrile, 2-methyl	18,82	ND - 7,57	ND	ND	ND	ND - 6,72	ND	ND	ND - 17,20	ND - 9,01	ND	ND	ND	ND
Benzaldehyde, 2,5-dimethyl	23,794	ND	ND - 0,62	ND	ND - 0,50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,84	ND - 0,62	ND - 0,57
Phenol, 3,4-dimethyl I	27,456	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,54	ND - 0,59	ND	ND	ND - 0,75
Relacionados con el tratamiento o la contaminación de aguas														
Hydrazine, methyl	4,3557	ND	ND	ND	ND	ND - 2540,00	ND	ND - 1750,00	ND	ND	ND - 463,00	ND	ND	ND
trans-(2-Chlorovinyl)dimethylethoxysilane	10,996	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,15	ND	ND	ND	ND	ND
Feromonas y secreciones de insectos														
Undecane	7,4665	ND	ND - 9,27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acetic acid, 2-(methylaminoethyl) ester	7,9619	ND - 18,50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 18,50	ND	ND	ND	ND	ND
Butanoic acid, 2-hydroxy-3-methyl-, ethyl ester	16,603	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,94	ND	ND	ND	ND	ND - 30,9	ND	ND
2',4',5'-Trimethoxyacetophenone	18,763	ND	ND	ND - 0,64	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2-Nonanol	19,009	ND	ND - 3,22	ND	ND - 3,15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,65	ND - 2,31	ND - 4,67
Decanoic acid, ethyl ester	21,71	ND	ND	ND	ND	ND - 8,45	ND - 0,92	ND	ND	ND	ND	ND - 3,36	ND	ND
Ethyl cyclohexanepropionate	21,986	ND	ND	ND	ND	ND - 6,23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2-Hydroxy-3,5,5-trimethyl-cyclohex-2-enone	22,214	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 25,60	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyanogen bromide	26,849	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,17	ND	ND	ND

COMPUESTOS (Áreas expresadas por 10 ⁴)	Tr	MANICA			ZAMBEZIA				SOFALA			NAMPULA		
		M.	S.	T.	A.M.	G.	Moc.	Mu.	Go.	Ma.	C.	An.	Mog.	Me.
		n = 3	n = 5	n = 3	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 3	n = 5	n = 9	n = 6
Otros (disolventes, drogas recreativas, retardantes de llama, etc)														
Methyl glyoxal	8,169	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,24	ND	ND	ND	ND	ND
3,4-Dimethyldihydrofuran-2,5-dione	9,3238	ND - 1,47	ND	ND - 7,19	ND - 19,40	ND - 20,60	ND - 28,50	ND - 21,60	ND	ND - 15,80	ND - 7,10	ND - 4,12	ND	ND - 9,26
1-Oxa-3,4-diazacyclopentadiene	10,959	ND	ND	ND	ND - 57,40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1-Pentanol, 4-methyl	13,803	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 102,00	ND	ND
2-Propenoic acid, anhydride	13,943	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,99	ND	ND	ND - 1,53	ND - 1,06	ND
Cyclohexane, methyl	13,967	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,05	ND	ND
Aziridine, 1-methyl	14,829	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 3,03	ND	ND	ND	ND
Nitrous acid, cyclohexyl ester	15,657	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,85	ND	ND
7-Azabicyclo[4,2,0]octan-8-one	15,66	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 4,55	ND	ND	ND	ND	ND
Decane, 3,8-dimethyl	15,848	ND	ND	ND	ND	ND - 6,09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Deprenyl	17,411	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 18,10	ND	ND
Methyl pentyl methylphosphonate	17,052	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,12	ND	ND
Benzene, 1-propynyl	17,833	ND - 2,42	ND	ND	ND	ND	ND - 1,55	ND - 0,50	ND	ND	ND	ND - 0,52	ND	ND
p-tert.-Butylcatechol	17,985	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 4,02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mequinol	18,309	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,73
Methanone, (2,3-dihydro-5-benzofuryl)(4-morpholyl)	18,918	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 10,20	ND
Furoylglycine	19,267	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 5,31	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2-Azetidinone, 3,3,4,4-tetramethyl	19,923	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,49	ND	ND
Benzaldehyde, 2-hydroxy-5-methoxy	20,005	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 36,50	ND - 125,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Furan, 2-ethyl-5-methyl	20,191	ND	ND	ND	ND	ND - 3,04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylpropyl)	21,331	ND	ND - 4,39	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl)	21,566	ND	ND - 8,52	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5-Diazo-1,3-cyclopentadiene	22,111	ND	ND	ND - 0,93	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
m-Ethylacetophenone	22,443	ND	ND - 4,08	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzofuran, 4,7-dimethyl	23,033	ND	ND - 2,95	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Oxirane, (methoxymethyl)	24,993	ND	ND - 2,43	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Toluene	25,755	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,40	ND - 0,85	ND
Propane, 1-isocyanato	25,884	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,50	ND - 1,53	ND
Furan, 3-phenyl	26,245	ND - 1,16	ND - 0,62	1,09 - 1,45	ND - 0,96	ND	ND	ND - 0,88	ND - 0,54	ND - 0,56	ND - 0,63	0,52 - 1,65	1,26 - 1,57	ND - 1,23
Ethyl mandelate	26,835	ND	ND - 1,72	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Phosphoryl fluoride	27,588	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,11	ND
2,5-Furandicarboxaldehyde	28,775	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3,69 - 5,15	ND	ND - 6,55	ND	ND	ND - 6,35
Difluorochloromethane	29,394	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,99	ND	ND
Flavoxate	31,916	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 10,90	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Phenol, 3,4-dimethyl- II	32,579	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

COMPUESTOS (Áreas expresadas por 10 ⁴)	Tr	MANICA			ZAMBEZIA				SOFALA			NAMPULA			
		M.	S.	T.	A.M.	G.	Moc.	Mu.	Go.	Ma.	C.	An.	Mog.	Me.	
		n = 3	n = 5	n = 3	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 3	n = 5	n = 9	n = 6	n = 5
MALAS PRÁCTICAS DE CONSERVACIÓN Y TRATAMIENTO TÉRMICO															
Plásticos y polímeros															
2-Oxetanone, 4-methyl	8,1385	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 24,30	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Glycidol	8,2672	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 4,68	ND
Acetonitrile, dichlorofluoro	10,013	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,23	ND
Butane, 2-methyl	10,935	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 60,80	ND	ND
Methyl vinyl ketone	10,956	ND	ND	ND	ND - 60,30	ND - 191,00	ND - 243,00	ND - 248,00	ND - 25,80	ND - 191,00	ND	ND	ND - 3460,00	ND	ND - 105,00
1,8-Octanediol	15,652	ND - 1,77	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,78
2-Propenoic acid, 2-methyl-, 2-propenyl ester	15,69	ND	ND - 2,12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,92	ND	ND - 0,45
Benzene, 4-ethenyl-1,2-dimethyl	16,689	ND	ND - 1,37	ND	ND - 1,85	ND	ND - 2,02	ND	ND	1,53 - 4,60	ND - 4,83	ND	ND - 0,77	ND - 1,73	ND
Propiolonitrile	17,413	ND	ND - 2,49	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1-Hexanol, 2-ethyl	18,278	ND	ND - 4,33	ND	ND	ND	ND - 15,10	ND - 1,98	ND - 2,35	ND - 2,96	ND - 4,53	ND - 6,16	ND - 1,94	ND	ND
Cyclobutanecarboxylic acid, 4-nitrophenyl ester	19,622	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,83	ND	ND	ND
1-Buten-3-yne	20,073	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,38	ND	ND
3,5-Dihydroxybenzaldehyde	20,195	ND	ND	ND	ND	ND - 1,80	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,5-Dimethylpyrazole-1-carboxamide	20,272	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,59	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Methyl propyl methylphosphonate	20,879	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,43	ND	ND	ND
(S)-4-Ethyl-2-oxazolidone	21,328	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,67	ND	ND	ND
Acetophenone	21,827	ND	ND	ND	ND - 1,19	ND	ND	ND - 0,60	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyclobutane, 1,1,2,3,3-pentamethyl	22,227	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,76	ND	ND
Ethanone, 1,2-di-2-furanyl-2-hydroxy	22,227	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,01
Cyclopentane, 1,1,3,4-tetramethyl-, cis	22,2854	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,10	ND	ND - 1,75	ND	ND	ND	ND
1-Pentanol, 3,4-dimethyl	22,288	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,93
Cyclohexane, 1,1,3-trimethyl	22,292	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,50	ND	ND	ND	ND - 1,11
Naphthalene	23,756	ND - 6,57	ND - 2,44	ND	ND	ND - 0,96	2,56 - 4,36	ND - 2,04	ND - 1,68	ND	0,91 - 2,08	ND - 2,06	ND - 2,07	ND - 1,75	ND
Phenol, 4-ethyl-2-methyl	26,282	ND	ND	ND	ND	ND - 1,41	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Vinyl bromide	26,84	ND	ND	ND	ND	ND - 2,83	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Phenol, 3,5-dimethyl	27,454	ND - 0,56	ND - 0,47	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Humo y derivados															
Hydrogen isocyanate	4,1954	ND	ND	ND	ND	ND - 172,00	ND - 338,00	ND	ND	ND - 57,20	ND - 95,80	ND	ND	ND	ND
Acetone	14,834	ND	ND - 13,90	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Phenol, 4-propoxy	17,739	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,73	ND	ND	ND
1-Hydroxy-2-butanone	18,278	ND	ND - 1,84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Naphthalene	23,756	ND - 6,57	ND - 2,44	ND	ND	ND - 0,96	2,56 - 4,36	ND - 2,04	ND - 1,68	ND	0,91 - 2,08	ND - 2,06	ND - 2,07	ND - 1,75	ND
Resorcinol, 2-acetyl	29,833	ND	ND	ND - 0,59	ND - 0,60	ND	ND - 1,81	ND - 0,76	ND - 0,76	ND - 1,98	ND - 0,80	ND	ND	ND - 2,17	ND
3-Phenylpropanol	30,206	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,16	ND	ND	ND

COMPUESTOS (Áreas expresadas por 10 ⁴)	Tr	MANICA			ZAMBEZIA				SOFALA			NAMFULA		
		M.	S.	T.	A.M.	G.	Moc.	Mu.	Go.	Ma.	C.	An.	Mog.	Me.
		n = 3	n = 5	n = 3	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 3	n = 5	n = 9	n = 6
SIN IDENTIFICAR														
Spiro[2.4]heptane, 1,5-dimethyl-6-methylene	10,214	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 101	ND	ND
2-Propen-1-amine	10,913	ND - 112,00	ND - 43,50	ND	ND	ND - 178,00	ND - 208,00	ND - 219,00	ND	ND - 181,00	ND - 21,40	ND	ND - 82,50	ND - 73,40
Propane, 2-ethoxy	14,409	ND	ND - 6,65	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 7,05	ND
Alpha-pyrone-6-carboxylic acid	14,943	ND	ND	ND	ND	ND - 5,26	13,30 - 21,30	ND - 4,05	ND	ND - 0,72	ND	ND - 0,82	ND - 0,90	ND
4-Hexen-1-ol, trifluoroacetate	15,593	ND	ND	ND	ND	ND - 9,49	ND	ND	ND	ND - 4,34	ND	ND	ND	ND
1,1'-Bicyclobutyl	15,66	ND	ND	ND - 2,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1-Imidazol-1-yl-3-methylbut-2-en-1-one	15,86	ND	ND	ND	ND	ND - 2,72	ND	ND	ND	ND - 1,01	ND	ND	ND	ND
Ethanone, 1-(1H-pyrazol-4-yl)	17,615	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,86	ND	ND	ND	ND	ND - 0,75	ND	ND
1,2-Benzenedimethanamine, N,N'-diphenyl	18,763	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,72	ND	ND	ND	ND	ND
Anthracen-9-one, 10-heptyl-10-hydroxy	18,769	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 2,74	ND
Methyltetrafluorophosphorane	18,806	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,90	ND	ND	ND	ND
Benzoyl Isothiocyanate	18,813	ND	ND - 125,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 15,50	ND	ND
N-Methoxy-N-methylbenzamide	18,819	ND	ND	ND	ND - 4,52	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
p-Nitrophenyl 1-azetidincarboxylate	19,93	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,90	ND
(R)-3,5,5-Trimethylcyclohex-3-en-1-ol	20,888	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 8,42	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,4-Triazolo[4,3-b]pyridazine	21,625	ND	ND	ND	ND - 4,06	ND	ND	ND	ND	ND - 7,67	ND	ND - 25,90	ND - 26,30	ND
Benzene, 1-ethoxy-4-ethyl	21,768	ND	ND	ND	ND - 1,09	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,51	ND	ND	ND - 0,74
Carbonic acid, 2-chloroethyl 2-methoxyethyl ester	22,206	ND	ND - 1,24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thiophene, 3-methyl	22,222	ND - 0,50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cyclobutanecarboxylic acid, 3-methylbut-2-enyl ester	22,285	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,39	ND	ND	ND	ND	ND
1-(2-Hydroxyethyl)-1,2,4-triazole	22,286	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,07	ND	ND
Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 5-methylene	23,668	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 5,41	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzeneethanamine, N-(2-phenylethyl)	23,783	ND	ND	ND	ND - 0,09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,62	ND	ND
L-Leucine, N-ethoxycarbonyl-N-methyl-, hexadecyl ester	23,911	ND	ND	ND	ND	ND - 1,25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pipecolic acid, N-propargyloxycarbonyl-, propargyl ester	24,035	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,38	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pyrolo[3,2-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dione	24,638	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 0,66	ND	ND
3-Fluorobenzylamine, N-decyl-N-methyl	25,356	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,13
1,7-Dimethyl-4-oxa-tricyclo[5.2.1.0(2,6)]decane-3,5,8-trione	25,494	ND	ND - 13,50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2-Acetyl-7-hydroxybenzofuran	26,136	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,08	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzene, 1,3-diethyl-5-methyl	26,958	ND	ND - 2,27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,4-Dimethylphenethyl alcohol	29,668	ND	ND - 1,32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3-Methoxybenzylamine, N-decyl-N-methyl	32,407	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND - 1,31	ND	ND	ND
(2S,6R,7S,8E)-(+)-2,7-Epoxy-4,8-megastigmadiene	32,573	ND	ND	ND	ND - 1,38	ND	ND	ND - 0,64	ND	ND - 0,497	ND - 0,830	ND	ND	ND

ND = No detectado; Tr = Tiempo de retención; n = Número de muestras; M. = Manica; S. = Sussundenga; T. = Tambara; A.M. = Alto Molocue; G. = Gile; Moc. = Mocubela;

Mu = Mulevala; Go. = Gorongoza; Ma. = Maringue; C. = Caia; An. = Angoche; Mog. = Mogincual; Me. = Mecuburi

4.2.1. Actividad veterinaria y tratamientos agrícolas

Se determinaron 55 compuestos derivados de la aplicación de químicos con fines veterinarios y procedentes de tratamientos agrarios para la prevención o eliminación de parásitos animales o vegetales. Dentro de este grupo, se diferenciaron cuatro subgrupos en función de la utilidad concreta de cada compuesto: pesticidas de uso general; fungicidas y compuestos antifúngicos; insecticidas y herbicidas.

4.2.1.1. Pesticidas

Se identificaron 21 pesticidas de uso general en las muestras de miel de Mozambique. Entre ellos, destacan el cloro y la isoforona. El cloro es un compuesto que ya ha sido detectado en estudios de mieles anteriores, tales como el realizado por Trispi y col., 1999. La presencia de cloro refuerza la idea de que en las mieles se han localizado restos de pesticidas, ya que, la mayoría de estas sustancias suelen estar formadas por compuestos organoclorados. También es remarcable la presencia de la isoforona, un compuesto químico propio de la composición de pesticidas, que ha sido detectado en numerosos alimentos. Esto se observa más en profundidad en el trabajo realizado por Sasaki y col., 2004, donde se analizaron las concentraciones de isoforona en distintos tipos de alimentos como el arroz o la soja.

La presencia de estos pesticidas se mantuvo más o menos constante en todas las regiones de Mozambique, sin embargo, abundan especialmente las muestras contaminadas por estos químicos provenientes de las regiones de Nampula y Zambezia.

4.2.1.2. Fungicidas y compuestos antifúngicos

Se identificaron 10 compuestos con actividad antifúngica. Entre estos compuestos, cuya principal función es prevenir y limitar el crecimiento de hongos y mohos, destacan la quinoleína, el decanal, el felandreno y el dehidroalcanfor (1,7,7-trimetilbicyclo [2.2.1]hept-5-en-2-ona).

La quinoleína es un compuesto muy versátil que ha sido empleado para crear numerosos derivados con actividad antifúngica. Los resultados de esta síntesis se recabaron en el proyecto realizado por Guan-Zhou y col., 2019, en el que se concluyó que muchos compuestos formados a partir de la quinoleína resultaban efectivos para eliminar o combatir plagas fúngicas. Por otra parte, el decanal es un compuesto antifúngico empleado en el tratamiento de maderas para prevenir y evitar la aparición de mohos y hongos. Sus efectos, así como las condiciones de trabajo más apropiadas para este tipo de fungicidas, fueron evaluadas en el proyecto realizado por Lucas y col., 2006.

Finalmente, el felandreno y el dehidroalcanfor son compuestos con actividad antifúngica que provienen de extractos vegetales. Tanto el felandreno como el dehidroalcanfor, fueron detectados en el estudio sobre la actividad antifúngica de las plantas, realizado por Razzaghi-Abyaneh y Rai, 2013, publicado por la editorial Verlag en Heidelberg, Berlín.

La presencia de fungicidas en Mozambique se hizo notoria en todas y cada una de sus regiones. Destacan, sin embargo, dos distritos de la región de Nampula que no presentaron indicios de compuestos antifúngicos en ninguna de sus muestras, dichos distritos son Angoche y Mogincual.

4.2.1.3. Insecticidas

Se identificaron 17 insecticidas empleados para fines agrícolas y veterinarios. Entre todos ellos, cabe destacar el ciclopropano, el 1,3-bencenodiol y el ácido acético. El ciclopropano es un piretroide cuyos derivados ácidos intervienen en la producción de insecticidas de elevada efectividad y que han demostrado tener efectos adversos sobre los insectos polinizadores. Esto se refleja en el estudio realizado por Gulshan Ara y Redwan Haque, 2021. Por otra parte, el 1,3-bencenodiol, monobenzoato es un extracto natural de plantas como la Tuera (*Citrullus colocynthis*), la Marihuana Indica (*Citrullus colocynthis*) y la Artemisa china (*Artemisia argyi*), todas ellas abundantes en el continente africano con propiedades insecticidas. La actividad insecticida de estos vegetales se evaluó en el proyecto realizado por Ahmed y col., 2020. Finalmente, el ácido acético es un compuesto que suele emplearse como acaricida para el tratamiento frente a la varroa de las abejas melíferas. Esta fumigación con ácido acético para evitar la Varroosis se documentó en el proyecto llevado a cabo por van Engelsdorp y col., 2007.

La presencia de estos compuestos se extiende por todo Mozambique, puesto que los insecticidas se han detectado en muestras de todas las regiones y distritos en una proporción similar.

4.2.1.4. Herbicidas

Se encontraron 7 herbicidas a modo de residuo en las mieles analizadas. Entre los compuestos identificados, destacan la hidrazida maleica y el ácido 2-[(2,3-Diclorofenil) amino] fenilacético. La hidrazida maleica, es un herbicida que ha demostrado tener efectos carcinogénicos sobre el ser humano. Este herbicida se ha detectado en algunos alimentos hortícolas, como es el caso del estudio realizado por Wan-Chen y col., 2001, en el que se identificó este compuesto en patatas. Por otra parte, el ácido 2-[(2,3-Diclorofenil) amino] fenilacético es un regulador del crecimiento vegetal que actúa por alteración hormonal. Esta propiedad se reportó en el proyecto realizado por Kemp y Wain, 1975.

La contaminación por pesticidas de acuerdo con los resultados extraídos puede considerarse un fenómeno más o menos común en todas las regiones de Mozambique que han sido sometidas a estudio.

En resumen, la presencia de estos residuos de procedencia agrícola o veterinaria en las mieles puede deberse a dos motivos principalmente. Por una parte, los compuestos derivados de la actividad agraria han podido entrar en contacto con las abejas en el momento que éstas hayan recogido el néctar de flores sometidas a algún tipo de tratamiento para combatir la actividad parasitaria de animales y vegetales.

Además, dado que estos compuestos volátiles pasan fácilmente al ambiente y se dispersan grandes distancias, es posible que la miel se haya contaminado si las colmenas en las que ha sido producidas se encuentran en zonas cercanas a campos de cultivo. Por otra parte, algunos insecticidas detectados, como es el caso del acaricida empleado en el tratamiento de la varroosis han podido llegar a la miel por un contacto directo con las abejas, que podrían haber estado sometidas a un tratamiento antiparasitario.

4.2.2. Contaminación ambiental

Se identificaron 66 compuestos que se relacionan con la contaminación ambiental. Dentro de este grupo, se incluyen aquellos contaminantes presentes en agua, suelos y aire, así como los derivados del petróleo y las feromonas de insectos que han entrado en contacto con el néctar, con las abejas o con la propia miel. Finalmente, también se encuentran en este grupo otros contaminantes de diversa procedencia.

4.2.2.1. Contaminantes de agua, aire y suelos

Se contabilizaron un total de 10 compuestos contaminantes entre los propios de agua (2), aire (3) y suelo (5).

Como ejemplo de contaminante de aguas, destaca la metilhidrazina. La metilhidrazina es un contaminante ambiental derivado de la producción de fármacos, de combustibles para cohetes o de reguladores del crecimiento vegetal que ha sido hallado en aguas contaminadas en los análisis realizados por Timchenko y col., 2021.

Aunque la variedad de compuestos relacionados con la contaminación de aguas es escasa, cabe destacar que estos volátiles tóxicos se detectaron exclusivamente en las zonas de Sofala y Zambezia.

Por otra parte, algunos de los compuestos propios de la contaminación ambiental son el 2-metil-1H-pirrol-3-carbonitrilo y el benzaldehído, 2,5-dimetil. El 2-metil-1H-pirrol-3-carbonitrilo es un compuesto que afecta negativamente a la salud de las abejas y que se encuentra en ambientes contaminados. Este hecho, se concluyó tras el estudio realizado por Mayack y col., 2022. Por otra parte, el benzaldehído, 2,5-dimetil que es un volátil derivado de los humos de vehículos que tiene efectos adversos en seres vivos. El estudio llevado a cabo por Xu y col., 2017, es un claro ejemplo de cómo estas emisiones llegan al ambiente y, por ende, a las mieles.

La presencia de contaminantes ambientales está bastante generalizada en todas las regiones de Mozambique, sin embargo, existen algunos distritos en los que no se han localizado este tipo de compuestos, dichos lugares son Tambara, Mocubela y Mulevala.

Algunos de los contaminantes de suelo detectados fueron el 2,3-dimetilhex-1-eno y el 2,2-dimetilhexanal. El 2,3-dimetilhex-1-eno, es un compuesto residual proveniente de desguaces automovilísticos, tal y como se explica en el estudio sobre los volátiles cercanos a estas zonas de desecho realizado por Yang y Chen, 2020, y el 2,2-dimetilhexanal, que es un fitotóxico orgánico hallado, como en el caso del trabajo efectuado por Sharma y Kumar, 2021, en exteriores cercanos a restos arquitectónicos antiguos o a vertederos de cielo abierto.

La contaminación de suelos se hizo presente tan solo en mieles de algunos distritos, no en regiones completas. Los distritos que presentaron contaminantes de suelo fueron Sussundenga (Manica), Alto Molocue y Mulevala (Zambezia), Gorongoza (Sofala) y Megincual (Nampula).

4.2.2.2. Derivados del petróleo y combustibles

Se lograron identificar 12 compuestos derivados del petróleo y/o que forman parte de la composición del combustible.

Entre los compuestos encontrados en las mieles de Mozambique que corresponden al grupo de combustibles y derivados del petróleo cabe remarcar el 1-metil-1H-1,2,4-triazol, el naftaleno, el benzofurano y el ciclopentano, 1,2,3,4,5-pentametil.

El 1-metil-1H-1,2,4-triazol es uno de los componentes del combustible para cohetes cuya presencia es habitual en suelos contaminados, según concluye el estudio realizado por Zhubatov y col., 2016. Por otra parte, el naftaleno es un hidrocarburo aromático policíclico (HAP) relacionado con la degradación de la gasolina y cuya presencia es indicativo de contaminación de aguas y suelos y que, según la investigación realizada por Moles y col., 2011, puede tener graves consecuencias en el crecimiento a corto plazo de seres vivos como el salmón del pacífico. El benzofurano es también un hidrocarburo, cuya síntesis es resultante de la transformación del carbón en aceites minerales y de otras reacciones del carbón y/o del petróleo. Esta transformación se explica en el proyecto llevado a cabo por Runnebaum y col., 2012. Finalmente, el ciclopentano, 1,2,3,4,5-pentametil es un componente empleado para aumentar el número de cetonas del diésel, tal y como indica el trabajo realizado por Kumar y col., 2013 y de esta forma evitar que este químico presente posibles problemas de combustión.

Por tanto, de este análisis se extrae la idea de que algunas de las mieles se han visto contaminadas por derivados del petróleo y otros combustibles fósiles. Este hecho es especialmente preocupante en las regiones de Manica (excluyendo el distrito de Tambara), Nampula y, en menor medida, Zambezia. Comparativamente, Sofala es la región que menor índice de contaminación por combustibles presenta en sus distritos.

4.2.2.3. Feromonas de insectos

Se encontraron 9 sustancias propias de secreciones de insectos de distinta índole. Por una parte, se identificaron hormonas que los insectos segregan en situaciones de peligro. Por otro lado, también se localizaron hormonas atrayentes de insectos, tanto de índole reproductiva como para formar colonias. Finalmente, se encontraron volátiles propios del veneno de abejas.

Entre las feromonas segregadas en respuesta al ataque de depredadores destacan el ácido acético, 2-(metilaminoetilo) éster, el decanoato de etilo, el undecano y el 2-nonanol.

El ácido acético, 2-(metilaminoetilo) éster, según el trabajo realizado por Reinhold y col., 1994, es un compuesto hormonal irritante proveniente de la mariposa Atlas (*Attacus atlas*), un lepidóptero de gran tamaño que habita en zonas cálidas y húmedas. Pese a ser endógena de Asia y Oceanía, también se han encontrado ejemplares en bosques lluviosos de África.

El decanoato de etilo además de ser un indicador de peligro sirve como diferenciador químico de especies de escarabajos. La capacidad defensiva de esta secreción junto con su capacidad diferenciadora de especies se estudió en profundidad en el proyecto llevado a cabo por Ganasunderam y col., 1981. Por otra parte, el undecano es un compuesto hormonal de alarma segregado por las hormigas. Esto se determinó en un estudio realizado por Lenz y col., 2012. Finalmente, el 2-nonanol es una feromona de alarma perteneciente a las abejas y otros muchos insectos, tal y como se explica en el trabajo realizado por Wager y col., 2000.

Las feromonas atrayentes de insectos encontradas en la miel son, por ejemplo, el ácido butanoico, 2-hidroxi-3-metil-, éster etílico y el 2',4',5'-trimetoxiacetofenona. El ácido butanoico, 2-hidroxi-3-metil-, éster etílico es una hormona sexual del parásito agrícola conocido como Cochinilla Citrophilus (*Pseudococcus calceolariae*) que se alimenta de salvia vegetal y genera una melaza que favorece la aparición de mohos y reduce el contacto fotosintético de la planta con el sol. El funcionamiento de esta hormona sexual se explica en profundidad en el proyecto redactado por Unelius y col., 2011.

También comparte la misma función atrayente el 2',4',5'-trimetoxiacetofenona es un atrayente de moscas de la fruta, tal y como demuestra el estudio llevado a cabo por Chuah y col., 1997. Se trata de una hormona ampliamente empleada en agricultura para alejar a las moscas de los campos y prevenir los daños físicos que efectúa sobre éstos.

Las hormonas de insectos también pueden emplearse como forma de atraer otros miembros de una misma especie y de esta forma crear nuevas colonias para parasitar animales o vegetales. El 2-hidroxi-3,5,5-trimetilciclohex-2-en-1-ona es un ejemplo de este tipo de feromonas. Su secreción atrae picudos (*Curculionidae*), cuya agrupación constituye una de las plagas más determinante para la proliferación de la actividad agrícola según el trabajo realizado por Montes y col., 2019.

Por último, también se encontraron sustancias como el etil ciclohexanopropionato o el bromuro de cianógeno. Ambos son volátiles propios del veneno de abejas. El primero, según el estudio de Chettibi y Lawrence, 1989, es un péptido que compone el veneno, mientras que el segundo es una sustancia alergénica para seres humanos sensibles a las picaduras de abeja, tal y como indica el trabajo realizado por King y col., 1976.

Los residuos de feromonas en las mieles de Mozambique se detectaron especialmente en Nampula y Zambezia, lo que permite concluir que se trata de zonas con una fauna de insectos más rica que otros distritos del país.

4.2.2.4. Otros contaminantes

Entre los compuestos clasificados en este apartado se encuentran los disolventes, las drogas recreativas, los retardantes de llama, los residuos farmacológicos, etc. Todos ellos, residuos contaminantes que, dada su pluralidad no podían ser clasificados individualmente. En total se clasificaron 35 compuestos bajo este apartado.

Algunos de estos compuestos son, por ejemplo, el 2-hidroxi-5-metoxibenzaldehído, el fluoruro de fosforilo y el flavoxato. El 2-hidroxi-5-metoxibenzaldehído es un compuesto que se emplea para separar restos de abejas de las alzas de la miel. Esta aplicación se debe a sus propiedades estructurales y espectroscópicas, descritas en el proyecto realizado por Kumar y col., 2019. Por otra parte, el fluoruro de fosforilo es un compuesto volátil emitido por baterías de iones de litio en combustión. Esta y otras emisiones fueron identificadas en el estudio llevado a cabo por Larsson y col., 2017. Por último, el flavoxato, es un metabolito procedente de la planta africana *Tagetes* (*Tagetes erecta L*) que se emplea como fármaco para corregir la incontinencia urinaria. Esta y otras propiedades de los metabolitos del vegetal se estudiaron en un trabajo realizado por Rajvanshi y Dwivedi, 2017.

En conclusión, la presencia de contaminantes ambientales en las mieles (tanto los habituales como los recogidos en el apartado de otros) se debe a un contacto directo o indirecto de las abejas o de la miel con ambientes con elevada contaminación. La presencia de feromonas, por otra parte, tiene una explicación más específica.

En el caso de las abejas, sus hormonas pueden pasar a la miel a través de cualquier etapa del proceso de producción de ésta. En concreto, el veneno de abeja encontrado pudo pasar a la miel a causa de haber sometido a las abejas a una situación de tensión, por ejemplo, a causa de un ahumado excesivo y mal realizado. Por otra parte, la presencia del resto de feromonas de otros insectos se explica por un contacto de los insectos con las flores y/o el néctar que posteriormente fue recogido por las abejas para producir las alícuotas de miel analizadas en este proyecto.

4.2.3. Malas prácticas de conservación y tratamiento térmico

En este proyecto se identificaron cromatográficamente 33 compuestos derivados de malas prácticas de conservación y de tratamientos térmicos excesivos. En este grupo se incluyen aquellas sustancias propias de plásticos y polímeros y los volátiles derivados del humo y la quema de maderas.

4.2.3.1. Plásticos y polímeros

Entre plásticos y polímeros, se detectaron 26 compuestos en las mieles analizadas. Entre estos compuestos, destacan el naftaleno y el 2-etilhexanol. El naftaleno es una sustancia precursora del PVC. Además, según el estudio llevado a cabo por Carrero-Carralero y col., 2019, se trata de una sustancia tóxica que ha sido detectada en simulantes de alimentos a causa de la migración desde los envases a los alimentos.

Y, por otra parte, el 2-etilhexanol es un plastificante cuyo carácter migratorio y efecto tóxico se evaluó en el proyecto realizado por Bustamante, 2001, concluyendo que se trata de un compuesto que se mezcla con los plásticos para conferir propiedades plastificantes y que puede migrar en dosis altas a los alimentos o productos que envuelve, pudiendo desencadenar efectos adversos.

La presencia de estos residuos de plásticos es generalizada en todas las regiones, siendo mayor en Nampula y Zambezia, zonas donde la mala praxis es especialmente preocupante.

4.2.3.2. Humo y derivados

Se identificaron 7 compuestos derivados del humo en las alícuotas de mieles de Mozambique estudiadas. Entre ellos, destacan algunos propios de la quema de maderas como el naftaleno y otros propios del tabaco y de los cigarrillos como son el ácido isociánico y la acetona. Según el estudio realizado por Jia y Batterman, 2010, el naftaleno es un compuesto volátil que suele pasar al aire a causa de una combustión y puede tener efectos adversos en la salud. A su vez, el ácido isociánico es un compuesto propio del tabaco que se ha detectado en los últimos años como componente residual de la atmósfera, tal y como describe el artículo realizado por Roberts y col., 2011.

Finalmente, la acetona es otro de los volátiles emitidos durante la quema de tabaco y en concreto, de cigarrillos. La formación de acetona se explicó en el estudio llevado a cabo por Yip y col., 2010.

La presencia de estos derivados de la quema de maderas y compuestos propios del humo es especialmente preocupante en referencia a las mieles de Sofala y Zambezia, ya que la presencia de estos compuestos es mayor que en otras zonas geográficas del país.

En resumen, los compuestos derivados de malas prácticas de almacenamiento y tratamiento térmico cuyos residuos han entrado en contacto con las mieles de forma directa o indirecta, a través del néctar que las forma. Por una parte, los plásticos y polímeros posiblemente habrán llegado al producto debido a una migración fomentada, en ocasiones, por la exposición a elevadas temperaturas. Además, este hecho cobra fuerza si se tiene en cuenta que las alícuotas llegaron al laboratorio en botellas de plástico reutilizadas sin haber sido sometidas a las etapas de desinfección pertinentes.

Por otro lado, la presencia de humo y derivados de éste se puede explicar por la aplicación de un ahumado rudimentario, en el que, en lugar de emplear el gas apropiado, se ha usado el humo propio de la quema de árboles cercanos, entre ellos, alguna planta de tabaco.

4.2.4. Compuestos volátiles de origen desconocido

En el análisis de las mieles de Mozambique también se identificaron 33 compuestos cuyo origen y conexión con la miel resulta actualmente desconocido. Estos volátiles, por tanto, abren nuevas líneas de investigación tanto desde el punto de vista de la seguridad alimentaria como de la contaminación ambiental y de cómo ciertos volátiles tóxicos pueden llegar al ser humano y producir efectos adversos en este.

5. CONCLUSIONES

En las 63 muestras de miel analizadas mediante SPME-CG/MS, pertenecientes a 4 regiones de Mozambique (Nampula, Manica, Sofala y Zambezia) se han podido diferenciar 187 compuestos volátiles ajenos a su procedencia botánica.

La presencia de estos compuestos se ha podido relacionar, fundamentalmente, con la actividad veterinaria y agrícola, la contaminación ambiental y a las malas prácticas apícolas por almacenamiento o tratamientos térmicos. También se han detectado algunos compuestos cuyo origen sigue siendo desconocido, y que, por tanto, abren nuevas líneas de investigación para futuros proyectos.

Este trabajo, por tanto, muestra que la técnica SPME-CG es adecuada para obtener información detallada sobre la fracción volátil de la miel y, por tanto, permite aportar información sobre la presencia de tóxicos volátiles en la miel.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el programa ADSIDEO 2020 del Centro de Cooperación al Desarrollo de la Universitat Politècnica de Valencia a través de Proyecto titulado: “Análisis de Riesgos en productos apícolas de Mozambique. Oportunidad Social y Económica de las poblaciones rurales”.

6. BIBLIOGRAFÍA

REAL DECRETO 1049/2003, de 1 de agosto, *por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel* (2003). Boletín Oficial del Estado, 5 de agosto de 2003, núm. 186, pp. 30181-30183. Disponible en:

<https://www.boe.es/boe/dias/2003/08/05/pdfs/A30181-30183.pdf>

Soares, S.; Amaral, J.; Oliveira, M.B. ; Mafra. A Comprehensive Review on the Main Honey Authentication Issues: Production and Origin (2017). *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Disponible en:

<https://sci-hub.hkvisa.net/10.1111/1541-4337.12278#>

[LA TIENDA DEL APICULTOR S.L.U.] (s.f.) El filtrado de la miel: Particularidades e implicaciones legales. Consultado el 2 de febrero de 2022. Disponible en:

<https://www.latiendadelapicultor.com/blog/filtrado-de-la-miel/>

Holguín, S. (2014). Sistema APPCC en una industria apícola [Grado en Ingeniería Química, Escuela de Ingenierías Industriales, Universidad de Valladolid, España] Disponible en:

<https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/12966/Sistema%20APPCC%20en%20una%20industria%20ap%EDcola.pdf;jsessionid=6E0405938B0BD59489894AD55F44F411?sequence=1>

[LA TIENDA DEL APICULTOR S.L.U.] (s.f.) Las líneas de extracción de miel: Tipos, configuraciones. Consultado el 2 de febrero de 2022. Disponible en:

<https://www.latiendadelapicultor.com/blog/las-lineas-de-extraccion-de-miel-tipos-configuraciones/>

Diapositivas Johnson, J. (2008, octubre). La miel y su uso farmacológico [Presentación de diapositivas]. Disponible en: <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENL01J67.pdf>

REAL DECRETO 1049/2003, de 1 de agosto, *por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel* (2003). Boletín Oficial del Estado, 5 de agosto de 2003, núm. 186, pp. 30181-30183. Disponible en:

<https://www.boe.es/boe/dias/2003/08/05/pdfs/A30181-30183.pdf>

Montenegro, G.; Gómez, M.; Casaubon, G.; Belancic, A.; Mujica, A.M.; Peña, R.C. Analysis of volatile compounds in three unifloral native Chilean honeys. (2009). *International Journal of Experimental Botany*. Fundación Rómulo Raggio. Disponible en:

<http://www.scielo.org.ar/pdf/phyton/v78n1/v78n1a11.pdf>

Manyi-Loh, C.; Ndip, R.; Clarke, A. Volatile Compounds in Honey: A Review on Their Involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities. (2011). *International Journal of Molecular Sciences*. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/12/12/9514/htm>

Zhang, C.; Deng, Y.; Zheng, J.; Zhang, Y.; Yang, L.; Liao, C.; Su, L.; Zhou, Y.; Gong, D.; Chen, L.; Luo, A. The application of the QuEChERS methodology in the determination of antibiotics in food: A review. (2018). ELSEVIER, Volume 118, September 2019, Pages 517-537, ISSN 0165-9936. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0165993618306642?token=AB8F5344BA343FF8902E75EF04B4A8FD495C37953A1253896F09ECC54E3B3DB0CFA17206F160AB5F0FFF069095D959A5&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220623202925>

Kim, D.; Song, N.; Gyu Nam, T.; Sung Jung, Y.; Yoo, M. Investigation and human health risk assessment of multi-class veterinary antibiotics in honey from South Korea. (2021). ELSEVIER, Volume 102, September 2021, 104040, ISSN 0889-1575. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0889157521002404?token=8D795EC18C0162F205264D4F13739A8457941E5BF7A7121B70D2A1FB23BF05EA2ADC824D1C93609EE5A1AF5924E9973A&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624083204>

Jin, Y.; Zhang, J.; Zhao, W.; Zhang, W.; Wang, L.; Zhou, J.; Li, Y. Development and validation of a multiclass method for the quantification of veterinary drug residues in honey and royal jelly by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. (2017). ELSEVIER, Volume 221, 15 April 2017, Pages 1298-1307, ISSN 0308-8146. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0308814616318490?token=7AAF0234B50EB0B77CDAFA61ED56A203FF1ED4190C491D56C92206FFD529E77DF59B97A884AB47AF65FF3A4CF7BA6DB9&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624085319>

Ravoet, J.; Reybroeck, W.; de Graaf, D.C. Pesticides for Apicultural and/or Agricultural Application Found in Belgian Honeybee Wax Combs. (2015). Bull Environ Contam Toxicol 94:543–548. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00128-015-1511-y.pdf>

Forsgren, E. European foulbrood in honeybees. (2010). ELSEVIER, Volume 103, January 2010, Pages S5-S9, ISSN 0022-2011. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0022201109001876?token=83D5E6E6188C216F7E9BE3FA50B5DC192219291ACBA18A902117713873AB17AA7A71D4D71C2211605763A0195805B85D&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624090432>

González, A.; Pignanelli, F.; López-Corral, I.; Faccio, R.; Juan, A.; Di Nezio, M.S. Detection of oxytetracycline in honey using SERS on silver nanoparticles. (2019). ELSEVIER, Volume 121, December 2019, 115673, ISSN 0165-9936. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0165993619304546?token=29EEBDA89EC698380CE4DF0182F26962F1B1A2711221E3973F188CCB872FB899CE396DD94D8B6896FBD891A27CE59CA3&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624091206>

Migdał, P.; Roman, A.; Popiela-Pleban, E.; Kowalska-Góralaska, M.; Opaliński, S. The Impact of Selected Pesticides on Honeybees. (2018). Pol. J. Environ. Stud. Volume 27, N° 2, 787-792. Disponible en:

<http://www.pjoes.com/pdf-74154-24298?filename=The%20Impact%20of%20Selected.pdf>

Ekepi, P. (2006). 24629_0034ff.jpg. Imagen de un trabajador que rocía pesticidas en cultivos en la granja de Buruku, Nigeria. F.A.O. Proyecto UTF/NIR/047/NIR. Disponible en: https://mediabase.fao.org/stock-photo/12-february-2006-buruku-nigeria-a-worker-spraying-pesticide-on-crops-at/search/detail-0_00067444.html

Bargańska, Ż; Ślebioda, M.; Namieśnik, J. Honey bees and their products - bioindicators of environmental contamination. (2015). Disponible en: <https://sci-hub.hkvisa.net/10.1080/10643389.2015.1078220>

Autor desconocido (s.f.) Un apicultor controla las abejas de una colmena en el centro de Roma. A.F.P. Forum. Consultado el 10 de febrero. Disponible en: <https://andina.pe/agencia/noticia-en-roma-las-abejas-ayudan-a-medir-contaminacion-del-aire-719069.aspx>

Yew, J.; Chungd, H. Insect pheromones: An overview of function, form, and discovery. (2015). ELSEVIER, Volume 59, July 2015, Pages 88-105, ISSN 0163-7827. Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0163782715000272?token=7AEB1200083F14DE4A9048218DB89CBBFD4C8D0894B74C5A79D3E4D82D633A236935DE94489E6FC47E3E06AFB2029956&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624094557>

Dr. Díaz, J. La Apitoxina. (2020). Consultado el 12 de febrero Disponible en: <https://apiterapiadoctordiaz.com.ar/wp-content/uploads/2020/07/Librito-Apitoxina.pdf>

Corona Apicultores (2013). Anatomía de la abeja. Corona Apicultores. Blog. Consultado el 14 de febrero. Disponible en: <http://coronaapicultores.blogspot.com/2013/09/principales-organos-de-una-abeja-obrera.html>

Agrotendencia Apicultura (s.f.). Partes de un ahumador. Agrotendencia. Consultado el 14 de febrero. Disponible en: <http://coronaapicultores.blogspot.com/2013/09/principales-organos-de-una-abeja-obrera.html>

CASADO GRUPO S.L. (2018) Abeja. ApiNectar. Consultado el 16 de febrero. Disponible en: <https://apineectar.es/ahumador-para-las-abejas-ahumador-apicultor/>

Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M.C.; González-Viñas, M.A.; De la Fuente, E.; Pérez-Coello, M.S. Influence of Storage Conditions on Chemical Composition and Sensory Properties of Citrus Honey. (2008). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2008, 56, 1999–2006 1999. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf072227k>

Guía Práctica sobre el Manejo Técnico de Colmenas. (2010) Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana. Guía práctica sobre el Manejo Técnico de Colmenas. Disponible en: https://www.mieldemalaga.com/data/manual_basico_apicultura.mex.pdf

Autor desconocido (2017). Migración de sustancias envase-alimento. Envases Plásticos. Consultado el 20 de febrero. Disponible en:

<http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/fisicoquimica/wp-content/uploads/2017/07/Envases.pdf>

Peñalver, R.; Arroyo-Manzanares, N.; Campillo, N.; Viñas, P. Targeted and untargeted gas chromatography-mass spectrometry analysis of honey samples for determination of migrants from plastic packages. (2021). ELSEVIER, Volume 334, 1 January 2021, 127547, ISSN 0308-8146. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0308814620314096?token=1C3251761490F3FDEC0E6926B383B4602BA155FBCCEF9621AA45C68192D7D8BF81BF0916D0DDB57A18A2E30E826C99A1&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624103306>

von Eyken, A.; Ramachandran, S.; Bayen, S. Targeted and untargeted gas chromatography-mass spectrometry analysis of honey samples for determination of migrants from plastic packages. (2021). ELSEVIER, Volume 334, 1 January 2021, 127547, ISSN 0308-8146. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0308814620314096?token=1C3251761490F3FDEC0E6926B383B4602BA155FBCCEF9621AA45C68192D7D8BF81BF0916D0DDB57A18A2E30E826C99A1&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624103306>

Tejedor, F.J. Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC). Validación y Control Oficial. (2019). Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Disponible en:

https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/alimentacion-animal/appcc-javiertejedor_tcm30-514656.pdf

Holguín, S. Sistema APPCC en una industria apícola. (2014). Universidad de Valladolid. Consultado el 4 de marzo. Disponible en:

<https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/12966/Sistema%20APPCC%20en%20una%20industria%20ap%EDcola.pdf;jsessionid=6E0405938B0BD59489894AD55F44F411?sequence=1>

Manyi-Loh, C.; Ndip, R.; Clarke, A. Volatile Compounds in Honey: A Review on Their Involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities. (2011). International Journal of Molecular Sciences. 2011; 12(12):9514-9532. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/12/12/9514/htm>

Universidad Autónoma de Barcelona (2016). Cromatografía Líquida. Consultado el 10 de marzo. Disponible en: <https://sct.uab.cat/saq/es/content/cromatografia-liquida>

Bowerbank, S.; Romano, A. In-Tube Extraction Dynamic Headspace (ITEX-DHS) sampling technique coupled to GC-MS for sensitive determination of odorants in water. (2020) Thermo Scientific. Disponible en:

<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/an-73471-gc-ms-itex-dhs-odorants-water-an73471-en.pdf>

Munera, G. Análisis de la fracción volátil de mieles españolas aplicando microextracción en fase sólida. (2021). Universidad Politécnica de Valencia. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/174294/Munera%20-%20Análisis%20de%20la%20fracción%20volátil%20de%20mieles%20españolas%20aplicando%20microextracción%20en%20fase%20so....pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Soria, A.C.; Sanz, J.; Martínez-Castro, I. SPME followed by GC–MS: a powerful technique for qualitative analysis of honey volatiles. (2009). *European Food Research and Technology* (2009) 228:579–590. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00217-008-0966-z.pdf>

Piasenzotto, L.; Gracco, L.; Conte, L. Solid phase microextraction (SPME) applied to honey quality control. (2003). *Journal of the Science of Food and Agriculture. Science of Food and Agriculture* 83:1037 – 104. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jsfa.1502?saml_referrer

Mazón, M. Comparación de la microextracción en fase sólida y del espacio de cabeza dinámico como técnicas de extracción de la fracción volátil de mieles. (2021). Universidad Politécnica de Valencia. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/174293>

Irungu, J.; Raina, S.; Torto, B. Determination of pesticide residues in honey: a preliminary study from two of Africa's largest honey producers (2016). *International Journal of Food Contamination* (2016) 3:14 . Disponible en: <https://foodcontaminationjournal.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s40550-016-0036-4.pdf>

Hmong. Índice de retención de Kovats. (s.f.). Hmong. Consultado el 23 de mayo. Disponible en: https://hmong.es/wiki/Kovats_retention_index

Tsipi, D.; Triantafylloub, M.; Hiskia, A. Determination of organochlorine pesticide residues in honey, applying solid phase extraction with RP-C18 material. (1999). *The Analyst*. Disponible en: <https://sci-hub.hkvisa.net/10.1039/a809724k>

Sasaki, K.; Tagata, H.; Kawakami, H.; Nagashaki, T.; Nemoto, S.; Maitani, T. Determination of Isophorone in Foods. (2004). Volume 46, Nº 1. 28 - 32. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/shokueishi/46/1/46_1_28/pdf-char/ja

Guan-Zhou, Y.; Jia-Kai, Z.; Xiao-Dan, D.; Yin-Fang, Y.; Yu-Ling, W.; Xiao-Fei, S.; Ying-Qian, L.; Zhong-Min, Z.; Jing-Wen, P.; Hua, L. Design, Synthesis, and Antifungal Evaluation of Novel Quinoline Derivatives Inspired from Natural Quinine Alkaloids. (2019). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67, 11340–11353. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jafc.9b04224>

Lucas, S.; González, E.; Calvo, M.P.; Palencia, C.; Alonso, E.; Cocero, M.J. Supercritical CO₂ impregnation of Radiata pine with organic fungicides Effect of operating conditions and two-parameters modeling. (2007). ELSEVIER, Volume 40, Issue 3, April 2007, Pages 462-469, ISSN 0896-8446. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0896844606002166?token=50775627B7F6D406C995B7C0EE758FEF0DB097CD47EFAF642BC3F6CBE137E8CE2407C3B42E3EFB05AD505A33E8820A6C&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624142352>

Razzaghi-Abyaneh, M.; Rai, M. Antifungal Metabolites from Plants. (2013). Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013. ISBN 978-3-642-38075-4, ISBN 978-3-642-38076-1 (eBook). Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-642-38076-1.pdf>

Ara Gulshan, Z.; Redwan Haque, A. A Comprehensive Review on Synthetic Insecticides: Toxicity to Pollinators, Associated Risk to Food Security, and Management Approaches. (2021). Journal of Biosystems Engineering (2021) 46:254–272, ISSN 2234-1862. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s42853-021-00104-y.pdf>

Ahmed, M.; Peiwen, Q.; Gu, Z.; Liu, Y.; Sikandar, A.; Hussain, D.; Javeed, A.; Shaf, J.; Iqbal, M.F.; An, R.; Guo, H.; Du, Y.; Wang, W.; Zhang, Y.; Ji, M. Insecticidal activity and biochemical composition of Citrullus colocynthis, Cannabis indica and Artemisia argyi extracts against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). (2020). Scientific Reports. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-57092-5.pdf>

vanEngelsdorp, D.; Underwood, R.; Cox-foster, D. Short-Term Fumigation of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies with Formic and Acetic Acids for the Control of Varroa destructor (Acari: Varroidae). (2007). Journal of Economic Entomology, 101(2):256-264. Disponible en: [https://sci-hub.hkvisa.net/10.1603/0022-0493\(2008\)101%5B256:sfohbh%5D2.0.co;2](https://sci-hub.hkvisa.net/10.1603/0022-0493(2008)101%5B256:sfohbh%5D2.0.co;2)

Lee, W.; Li, T.; Chang, P.; Chou, S. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Maleic Hydrazide Residue in Potatoes. (2001). Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 9, No. 3, 2001, Pages 167-172. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Tsung-Lin-Li/publication/215874545_High_performance_liquid_chromatographic_detemination_of_malic_hydrazide_residue_in_potatoes/links/0912f50c13f1676cdd000000/High-performance-liquid-chromatographic-detemination-of-maleic-hydrazide-residue-in-potatoes.pdf

Kemp, S.; Wain, L. Studies on plant growth -regulating substances. XL. 2-Chloro-3-phenylpropionitriles. (1975). Ann. appl. Biol. (1976), 82, 597-603. Disponible en: <https://sci-hub.hkvisa.net/10.1111/j.1744-7348.1976.tb00595.x>

Timchenkoa, Yu.V.; Apenkinaa, A.V.; Smolenkova, A.D.; Pirogova, A.V.; Shpiguna, O.A. Simultaneous Determination of Hydrazine, Methylhydrazine and 1,1-Dimethylhydrazine in Waters by HPLC with Spectrophotometric Detection Using Catalysis to Obtain Derivatives. (2021). Journal of Analytical Chemistry, 2021, Vol. 76, No. 10, pp. 1163–1171, ISSN 1061-9348. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1134/S1061934821100117.pdf>

Mayack, C.; Macherone, A.; Gbaffari, A.; Filiztekin, E.; Özkazanç, B.; Koperly, Y.; Schick, S.; Eppley, E.; Deb, M.; Ambiel, N.; Schafsnitz, A.; Broadrup, R. Environmental exposures associated with honeybee health. (2022). ELSEVIER, Volume 286, Part 3, January 2022, 131948, ISSN 0045-6535. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0045653521024206?token=106CA77084EBD4C5203A17DAC892AC8B727F5415198605B0884DF3384B0BD6BEA0A30EDB9290BA8DB33056E8D3F6A174&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624210610>

Xu, H.; Zhang, Q.; Song, N.; Guo, M.; Zhang, S.; Ji, G.; Shi, L. Personal exposure and health risk assessment of carbonyls in family cars and public transports—a comparative study in Nanjing, China. (2017). Environment Science and Pollution Research (2017) 24:26111–26119. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11356-017-0150-8.pdf>

Yang, B.; Chen, M. Py–FTIR–GC/MS Analysis of Volatile Products of Automobile Shredder Residue Pyrolysis. (2020). School of Mechanical Engineering. MDPI. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/2073-4360/12/11/2734/htm>

Sharma, P.; Kumar, S. Characterization and phytotoxicity assessment of organic pollutants in old and fresh municipal solid wastes at open dump site: A case study. (2021). ELSEVIER, Volume 24, November 2021, 101938, ISSN 2352-1864. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2352186421005861?token=EB09105C556CC188CE5FC12090EC9C564A3EE726137D52FB23F2FDF862DA6CF66DB67E1B09C02B9301DB90A472731A58&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624211950>

Zhubatov, Z.; Kenessov, B.; Bakaikina, N.; Bimaganbetova, O.; Akynbayev, N.; Bakhytkyzy, I. Fast Determination of 1-Methyl-1H-1,2,4-triazole in Soils Contaminated by Rocket Fuel Using Solvent Extraction, Isotope Dilution and GC–MS. (2016). Chromatographia (2016) 79:491–499. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10337-016-3054-8.pdf>

Moles, A.; Bates, S.; Rice, S.; Korn, S. Reduced Growth of Coho Salmon Fry Exposed to Two Petroleum Components, Toluene and Naphthalene, in Fresh Water. (2011). 110:3, 430-436. Disponible en:

[https://sci-hub.hkvisa.net/https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1577/1548-8659\(1981\)110%3C430%3ARGOCSF%3E2.0.CO%3B2](https://sci-hub.hkvisa.net/https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1577/1548-8659(1981)110%3C430%3ARGOCSF%3E2.0.CO%3B2)

Runnebaum, R.; Nimmanwudipong, T.; Doan, J.; Block, D.; Gates, B. Catalytic Conversion of Furan to Gasoline-Range Aliphatic Hydrocarbons via Ring Opening and Decarbonylation Reactions Catalyzed by Pt/c-Al₂O₃. Catal Lett (2012) 142:664–666. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10562-012-0816-2.pdf>

Kumara, N.; MäkiArvelaa, P.; Musakka, N.; Kubickaa, D.; Kangasa, M.; Tiittab, M.; Österholmb, H.; Leinoc, A.R.; Kordásc, K.; Heikkiläd, T.; Salmia, T.; Murzin, D. On the Way to Improve Cetane Number in Diesel Fuels: Ring Opening of Decalin Over IrModified Embedded Mesoporous Materials. (2012). Catalysis in Industry, 2013, Vol. 5, No. 2, pp. 105–122, ISSN 20700504. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1134/S2070050413020074.pdf>

Gnanasunderam, C.; Young, H.; Butcher, C.F.; Hutchins, R.F.N. Ethyl decanoate as a major component in the defensive secretion of two New Zealand aleocharine (Staphylindae) Beetles - *Tramiathaea cornigera* (Broun) and *Thamiaraea fuscicornis* (Broun). (1981). *Journal of Chemical Ecology*, Volume 7, N° 1. Disponible en:

<https://sci-hub.hkvisa.net/10.1007/bf00988647>

Lenz, E.; Krasnec, M.; Breed, M. Identification of Undecane as an Alarm Pheromone of the Ant *Formica argentea*. (2012). *J Insect Behav* (2013) 26:101–108. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10905-012-9337-5.pdf>

Wager, B.; Breed, M. Does Honey Bee Sting Alarm Pheromone Give Orientation Information to Defensive Bees? (2000). *Annals of the Entomological Society of America*, volume 93, N° 6, 1329–1332. Disponible en:

<https://academic.oup.com/aesa/article/93/6/1329/161481?login=false>

Unelius, R.; El-Sayed, A.; Twidle, A.; Bunn, B.;Zaviezo, T.; Flores, F.; Bell, V.; Bergmann, J. The Absolute Configuration of the Sex Pheromone of the Citrophilous Mealybug, *Pseudococcus calceolariae*. (2011). *Journal of Chemical Ecology* 37:166–172. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10886-010-9904-1.pdf>

Chuah, C.H.; Yong, H.S.; Goth, S.H. C. H. Methyl Eugenol, a Fruit-fly Attractant, from the Browning Leaves of *Proiphys amboinensis* (Amaryllidaceae). (1997). *Biochemical Systematics and Ecology*, Volume 25, N° 5, pp. 391-393. Disponible en: <https://sci-hub.hkvisa.net/https://sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197897000975>

Montes, D.; Barbosa, M.A.; Arjuano, M.D.; Gorgatti, P.H. Isophorone derivatives as a new structural motif of aggregation pheromones in Curculionidae. (2018). *Scientific Reports*. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-37156-8.pdf>

Chettibi, S.; Lawrence, A. High resolution of honey bee (*Apis mellifera*) venom peptides by propionic acid/urea polyacrylamide gel electrophoresis after ethanol precipitation. (1989). *Toxicon*. 1989;27(7):781-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2781578/>

King, T.P.; Sobotka, A.; Kochoumian, L.; Lichtenstein, M. Allergens of Honey Bee Venom. (1976). *Archives of Biochemistry and Biophysics* 172, 661-671. Disponible en:

<https://sci-hub.hkvisa.net/https://sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003986176901211>

Kumar, A.; Nithya, V.; Rajeshkumar, S.; Gunasekaran, S.; Kumaresan, S.; Selvaraj, S.; Selvam, K.A.; Devanatham, J. An experimental and theoretical evidence for structural and spectroscopic properties of 2-hydroxy-5-methoxybenzaldehyde. (2019). *The International journal of analytical and experimental modal analysis* Volume 11, Issue 11, ISSN 0886-9367. Disponible en: <http://www.ijaema.com/gallery/222-november-2922.pdf>

Larsson, F.; Andersson, P.; Blomqvist, P.; Mellander, B. Toxic fluoride gas emissions from lithium-ion battery fires. (2017). *Scientific Reports*. Disponible en:

<https://www.nature.com/articles/s41598-017-09784-z.pdf>

Rajvanshi, S.K. Dwivedi, D.H. Screening of secondary phytometabolite of hydro-distilled essential oil from fresh flowers and leaves of African marigold (*Tagetes erecta* L.). (2017). *International Journal of Minor Fruits, Medicinal and Aromatic Plants*. Volume 3 (2): 01-07. Disponible en: https://www.ijmfmap.in/pdf_vol3_2/vol_3_2_1.pdf

Carrero-Carralero, C.; Escobar-Arnanz, J.; Ros, M.; Jiménez-Falcao, S.; Sanz, L.; Ramos, L. An untargeted evaluation of the volatile and semi-volatile compounds migrating into food simulants from polypropylene food containers by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. (2019). Volume 195, Pages 800-806, ISSN 0039-9140. Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0039914018312785?token=149682366CFB1F59506731B80D97EC896198E8F761489E4BDA1CE1EE4DE93132D9A544D97029AC96582CA35349190473&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220624223025>

Bustamante, P.; Lizana, B.; Olaíz, G.; Vázquez, F. Ftalatos y efectos en la salud. (2011). *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 17(4), 205–215. Disponible en:

<https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/25362>

Jia, C.; Batterman, S. A Critical Review of Naphthalene Sources and Exposures Relevant to Indoor and Outdoor Air. (2010). *International Journal Environment Research Public Health* 2010, 7, 2903-2939, ISSN 1660-4601. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/1660-4601/7/7/2903/htm>

Robertson, J.; Veres, P.; Cochran, A.; Warneke, C.; Burling, I.; Yokelson, R.; Lerner, B.; Gilman, J.; Kuster, W.; Fall, R.; Gouw, J. Isocyanic acid in the atmosphere and its possible link to smoke-related health effects. (2011). Volume 108, Nº 22. Disponible en:

<https://www.pnas.org/doi/epdf/10.1073/pnas.1103352108>

Yip, S.; Taylor, L.; Ashraf-Khorassi, M.; Yu, J.; Borgerding, M.; Coleman III, W.; Bodnar, A. HPLC-MS Determination of Acrolein and Acetone Generated from ¹³C₃ -Labeled Glycerol Added to Cigarette Tobacco Using Two Machine-Smoking Regimes. (2010). *Beiträge zur Tabakforschung International*. Volume 24, Nº 2. Disponible en:

<https://sciencedirect.com/downloadpdf/journals/cttr/24/2/article-p48.xml>

7. ANEXOS

Tabla 3: Información sobre las muestras de miel analizadas mediante SPME-CG

Referencia	Fecha de recepción	Tipo de muestra	Origen (País)	Origen (Región)	Origen (Localización concreta)	Apicultor	Comentario
I-21170	09/09/2021	Miel	Mozambique	MANICA	Manica	Pedro II	MM01
I-21171	09/09/2021	Miel	Mozambique		Manica	Tequimo	MM02
I-21172	09/09/2021	Miel	Mozambique		Manica	Alek	MM03
I-21173	09/09/2021	Miel	Mozambique		Sussundenga	MHC-Macadamia	MS01
I-21174	09/09/2021	Miel	Mozambique		Sussundenga	MHC-Litch	MS02
I-21175	09/09/2021	Miel	Mozambique		Sussundenga	MCH	MS03
I-21176	09/09/2021	Miel	Mozambique		Sussundenga	Rosa	MS04
I-21177	09/09/2021	Miel	Mozambique		Sussundenga	Faral	MS05
I-21178	09/09/2021	Miel	Mozambique		Tambara	Paulo 1	MT01
I-21179	09/09/2021	Miel	Mozambique		Tambara	Paulo 2	MT02
I-21180	09/09/2021	Miel	Mozambique	Tambara	Pedro 1	MT03	
I-21181	09/09/2021	Miel	Mozambique	ZAMBEZIA	Alto Molocue	Misse Oliveira Rofino	ZAM01
I-21182	09/09/2021	Miel	Mozambique		Alto Molocue	Manuel Duarte Maleleca	ZAM02
I-21183	09/09/2021	Miel	Mozambique		Alto Molocue	Gonçalves Morais Mucanco	ZAM03
I-21184	09/09/2021	Miel	Mozambique		Alto Molocue	Fernando Joao Maricoa	ZAM04
I-21185	09/09/2021	Miel	Mozambique		Alto Molocue	Inacio Fernando	ZAM05
I-21186	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gile	Nelson Benjamin	ZG01
I-21187	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gile	JoséLourenço	ZG02
I-21188	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gile	Eudacio Miguel	ZG03
I-21189	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gile	Baptista Pedro	ZG04
I-21190	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gile	Castianolohalequina	ZG05
I-21191	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mocubela	Assama Domingos	ZMO01
I-21192	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mocubela	João Mebeue	ZMO02
I-21193	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mocubela	José A. Manuel	ZMO03
I-21194	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mocubela	Laurindo Calisto	ZMO04
I-21195	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mocubela	Vasco Pascoal	ZMO05
I-21196	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mulevala	SecinioAbrao	ZMU01
I-21197	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mulevala	Mauricio Francisco	ZMU02
I-21198	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mulevala	Felizardo João	ZMU03
I-21199	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mulevala	Afonso Pedro	ZMU04
I-21200	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mulevala	Isac António	ZMU05
I-21201	09/09/2021	Miel	Mozambique	SOFALA	Gorongozza	PNG	SG01
I-21202	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gorongozza	PNG	SG02
I-21203	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gorongozza	PNG	SG03
I-21204	09/09/2021	Miel	Mozambique		Gorongozza	PNG	SG04
I-21205	09/09/2021	Miel	Mozambique		Maringue	Apicultor1 Jorge	SM01
I-21206	09/09/2021	Miel	Mozambique		Maringue	Apicultor 2 Amarildo	SM02
I-21207	09/09/2021	Miel	Mozambique		Maringue	Apicultor 3 Joseph	SM03
I-21208	09/09/2021	Miel	Mozambique		Caia	Molevaleha	SC01
I-21209	09/09/2021	Miel	Mozambique		Caia	Antonio	SC02
I-21210	09/09/2021	Miel	Mozambique		Caia	Marcos Jose	SC03
I-21211	09/09/2021	Miel	Mozambique	Caia	Caiardo	SC04	
I-21212	09/09/2021	Miel	Mozambique	Caia	Mussequese	SC05	
I-21213	09/09/2021	Miel	Mozambique	NAMPULA	Angoche	Momade Papu	NA01
I-21214	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	Marques	NA02
I-21215	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	Momade Muleque	NA03
I-21216	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	AssumaneAbudo	NA04
I-21217	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	Mussa Momade	NA05
I-21218	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	Dinis	NA06
I-21219	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	Alves Pedro	NA07
I-21220	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	Cassimo	NA08
I-21221	09/09/2021	Miel	Mozambique		Angoche	Juma Abacar	NA09
I-21222	09/09/2021	Miel	Mozambique		Mogincual	OssufoMusafir	NM01
I-21223	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mogincual	Assane	NM02	
I-21224	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mogincual	Momade Omar	NM03	
I-21225	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mogincual	Abel Celestino	NM04	
I-21226	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mogincual	Momade Mupana	NM05	
I-21227	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mogincual	AssociacaoOphentana	NM06	
I-21228	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mecuburi	Mario Quatieque	NME01	
I-21229	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mecuburi	Patricio Paqueleque	NME02	
I-21230	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mecuburi	Luisa Acacio	NME03	
I-21231	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mecuburi	Silva Muasamisa	NME04	
I-21232	09/09/2021	Miel	Mozambique	Mecuburi	IsacEstevao	NME05	

