

# Determinación de hidroximetilfurfural en mieles como parámetro indicador de la calidad de las mismas

Mercedes Villar Navarro, Pilar Villar Navarro, Santiago Cobo Wajer, M<sup>a</sup> Dolores Rodríguez Bernal, Manuel Serrano

**Resumen**— El objetivo principal de esta investigación es la determinación de la cantidad de hidroximetilfurfural (HMF) en diferentes mieles comerciales mediante el método espectrofotométrico para verificar si pueden ser comercializadas. Además las mieles serán analizadas con el objetivo de determinar la concentración de hidroximetilfurfural después de haber sido expuestas al aire durante diferentes periodos de tiempos y calentadas a distintas temperaturas.

**Palabras Claves**— Espectrofotometría, Hidroximetilfurfural, Miel, Parámetros de Calidad.



## 1. INTRODUCCIÓN

La miel es una sustancia natural dulce producida por la abeja a partir del néctar de las plantas o de excreciones de insectos depositadas en las plantas. Este producto natural juega un papel importante en la dieta; es un alimento que nos aporta una gran variedad de azúcares necesarios, como la fructosa y glucosa y otras sustancias como enzimas y ácidos orgánicos y además tiene un sabor exquisito.

Para que el público pueda disfrutar de una calidad máxima de la miel desde el 2003 en el estado Español y en la Unión Europea se requiere de una previa determinación de unos parámetros de calidad de la misma, entre los que se encuentra el contenido de hidroximetilfurfural (HMF). Mediante Orden de 5 de agosto de 1983, fue aprobada la norma de calidad para la miel destinada al mercado interior, de acuerdo con los requisitos establecidos por la Directiva 74/409/CEE del Consejo, de 22 de julio de 1974, relativa a la armonización de las legislaciones de los Estados miembros sobre la miel, que fijaba las correspondientes definiciones, especificaba las diferentes variedades y denominaciones de miel que podían ser puestas en el mercado y establecía las características de composición, así como las principales indicaciones que deben figurar en el etiquetado[1].

Entre los parámetros que deben analizarse en la miel, se encuentra el HMF, compuesto indicador de la calidad de la misma y que debe mantenerse en unos niveles inferiores a 40 mg de HMF/Kg de miel. Este compuesto, es el objeto de nuestro estudio, pues niveles elevados de HMF indican una pérdida de calidad de la misma.

La finalidad de esta investigación, es la de averiguar de qué manera factores como la temperatura y el tiempo intervienen en la formación del HMF. Para ello se analizarán diferentes muestras de mieles expuestas a distintas temperaturas durante diferentes periodos de tiempo. Los

resultados obtenidos se compararán con los niveles máximos de HMF reflejados en la legislación vigente.

## 2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1. Analizar, mediante espectrofotometría ultravioleta (UV), la formación de HMF al variar factores como tiempo y temperatura.
2. Comparar y definir qué factores influyen más en la formación de HMF en las mieles.

## 3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 3.1. La miel

La miel es un alimento elaborado por las abejas que se puede obtener mediante tres fuentes distintas: el néctar de las flores, las secreciones de partes vivas de las plantas y de excreciones de insectos que se encuentran sobre las plantas. Las abejas se encargan de agregarles enzimas, que ellas mismas segregan y, a continuación la almacenan en sus panales donde madura y se deshidrata, convirtiéndola en una sustancia líquida, rala y alta en carbohidratos.

La evaporación de agua (la deshidratación que sufre) hace posible una alta concentración de azúcares (80-83%) por unidad de volumen. Son estos azúcares los que imparten a la miel sus características principales. La levulosa (fructosa) es el azúcar predominante.

Los minerales más comunes en la miel son: potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro, cobre, manganeso, cloro, fósforo, azufre y la sílica. Además podemos encontrar varias vitaminas, como el ácido ascórbico (vitamina C), tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), ácido nicotínico y piridoxina (vitamina B6)[2].

### 3.2. El Hidroximetilfurfural (HMF)

El hidroximetilfurfural (HMF) se trata de un aldehído y un furano, es uno de los compuestos formado por la de-

gradación de los productos azucarados, en particular por deshidratación de la fructosa (Figura 1).

Ni el néctar ni las mieles frescas contienen HMF, el cual aparece de forma espontánea y natural en la miel debido al pH ácido, al agua y a la composición rica en monosacáridos (fructosa y glucosa), aumentando su concentración con el tiempo y otros factores.

El contenido de HMF en la miel es un indicativo de las condiciones en que la misma fue almacenada, el tratamiento recibido y la edad de la miel[3]. Los niveles de HMF aumentan significativamente cuando la miel es sometida a tratamientos térmicos inadecuados.

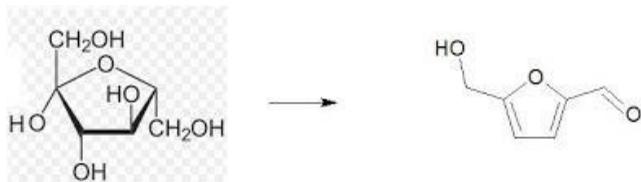


Fig. 1. Descomposición de la fructosa en HMF [4].

### 3.3. Procedimiento de medida de la concentración de HMF en mieles

Para el análisis de HMF se utiliza un método espectrofotométrico en la región ultravioleta[5]. La determinación consta en utilizar dos alícuotas clarificadas de una muestra. Una de ellas, a la que se le adiciona agua, es medida frente a otra (blanco), a la que se le añade igual volumen de bisulfito de sodio, el cual destruye el HMF. La muestra es determinada midiendo las absorbancias a 284 y 336 nm.

Ya que el bisulfito de sodio destruye el HMF, el contenido del primer tubo (muestra con bisulfito) se utiliza como referencia para medir la absorbancia. El contenido del segundo tubo (con agua desionizada) constituirá la solución de muestra a medir.

## 4. MATERIALES Y REACTIVOS

- Espectrofotómetro con cubeta de cuarzo.
- Balanza analítica
- Material usual de laboratorio.
- Solución Carrez I.
- Solución Carrez II.
- Solución de sulfito ácido de sodio ( $\text{NaHSO}_3$ ).

## 5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El método utilizado para la determinación de HMF en mieles es el descrito a continuación:

1. Pesar 5 g de miel en un vaso de precipitado. A continuación, disolver con 25 mL de agua destilada.
2. Transvasar la disolución a un matraz de 50 mL y añadir 0.5 mL de la solución Carrez I y 0.5 mL de la solución Carrez II.

3. Enrasar con agua destilada.
4. Mezclar.
5. Filtrar utilizando papel de filtro y un embudo. Despreciar los primeros 10 mL de filtrado.
6. Pipetear 5 mL de los filtrados en tubos de ensayo.
7. Añadir 5 mL de agua destilada a uno de los tubos (muestra) y 5 mL de sulfito ácido de sodio (referencia) y mezclar suavemente.
8. Determinar la absorbancia de la muestra y de la referencia a 284 nm y a 336 nm.

El contenido de hidroximetilfurfural expresado en mg por 100 g de miel vendrá dado por la fórmula (1):

$$HMF(mg/100g) = \frac{(A1 - A2) \times F \times 5}{P} \quad (1)$$

Donde:

- A1= Absorbancia medida a 284 nm
- A2= Absorbancia medida a 336 nm
- P= Peso de la muestra (en gramos)
- F= 14,97 (para expresarlo en mg HMF/100g de miel)

## 6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 6.1. Análisis de la influencia del tiempo de exposición al aire

Para realizar esta investigación, realizamos en primer lugar una medición comparada entre dos mieles, una recién abierta y otra que estuvo abierta durante un año (a temperatura ambiente).

Las muestras se procesaron por triplicado. Los resultados se presentan en la Tabla 1. Como podemos observar la diferencia entre ambas es mínima, y están por debajo del límite legal de 4 mg/100g. Este resultado nos permite suponer que el tiempo de exposición al aire (a temperatura ambiente), no debe influir en la formación de HMF, el cual ha debido aparecer en las mieles debido al procesamiento de estas con objeto de su comercialización.

### 6.2. Análisis de la influencia de la temperatura y el tiempo de exposición a ésta.

Miel A (recién abierta):	Miel B (abierta hace un año):
2,06 mg HMF/100g de miel	2,10 mg HMF/100g de miel

Las muestras que se estudiaron fueron de la miel A (miel recién abierta) y se variaron las condiciones de temperatura y tiempo, tal y como se indica en la tabla que se presenta a continuación (Tabla 2). Las muestras, al igual que en el apartado anterior, se procesaron por triplicado.

Además de estas muestras había una más, que fue expuesta a 80 °C, pero se caramelizó y no pudo ser analizada.

### 6.3. Cálculo de la desviación estándar.

TABLA 2

VARIACIÓN DE VARIACIÓN DE LAS CONDICIONES DE TEMPERATURA EN LA DETERMINACIÓN DE HMF EN LA MIEL "A"

Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Concentración HMF (mg HMF/100 g miel)
Ambiente	0	2,06
40	4	2,78
60	4	4,17
60	24	6,03

La desviación estándar es un índice numérico de la dispersión de un conjunto de datos (o población), es decir, es un promedio de las desviaciones individuales de cada observación con respecto a la media. Mientras mayor es la desviación estándar, mayor es la dispersión de los resultados obtenidos. Para una muestra se calcula con la siguiente fórmula (2):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (2)$$

Siendo  $x_i$  el valor obtenido de cada medida realizada,  $\bar{x}$  la media aritmética de las medidas, y  $n$  el número de medidas realizadas [6].

Como ejemplo de cálculo de la desviación estándar se realizaron el de las muestras A1 y A2, muestras en las que se varía la temperaturas (40 °C y 60 °C) manteniéndose el tiempo de exposición a estas temperaturas constante (4 h). En la Tabla 3 se muestran los resultados:

TABLA 3

CÁLCULO DE LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR (S) EN LAS MUESTRAS A1 Y A2.

Temperatura (°C)	Concentración HMF en cada muestra (mg HMF/100 g miel)	S	Concentración HMF (mg HMF/100 g miel)
A1	2,89	0,10	2,78 ± 0,10
	2,75		
	2,70		
A2	3,30*	0,06	4,17 ± 0,06
	4,21		
	4,12		

\* Valor despreciado en el cálculo de s.

## 7. CONCLUSIONES

Atendiendo a los resultados comprobamos que el tiempo que esté abierta la miel no afecta a la formación de HMF, en consecuencia, pensamos que la formación de HMF en estos casos debe estar relacionada con su elaboración. Sin embargo, cuando se expusieron las muestras de miel a distintas temperaturas se observó que la cantidad de HMF aumentaba progresivamente a medida que aumen-

tábamos la temperatura. Además, si se expone la miel a una temperatura de 60 °C durante 4 horas se sobrepasa el límite legal de HMF.

Por otro lado, el tiempo de exposición a temperaturas elevadas si parece incidir en la concentración de HMF, puesto que hemos observado un aumento en la concentración de este compuesto al exponer las muestras a 60 °C y variar el tiempo de exposición (4 h y 24 h).

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Universidad de Sevilla, a la Facultad de Química y a su Ilma. Sra. Decana Prof. Dra. María Pilar Malet Maenner permitirnos llevar a cabo este trabajo de investigación.

Así mismo, agradecemos a la Coordinadora del Proyecto Jóvenes con Investigadores, Carolina Clavijo Aumont, y a los centros educativos, I.E.S. Ítaca (Tomares, Sevilla), I.E.S. Martín Rivero (Ronda, Sevilla) e I.E.S. Juan Ciudad Duarte (Bormujos, Sevilla), ofrecernos la oportunidad de trabajar en este proyecto piloto.

## REFERENCIAS

- [1] Orden de 5 de agosto de 1983, fue aprobada la norma de calidad para la miel destinada al mercado interior, de acuerdo con los requisitos establecidos por la Directiva 74/409/CEE del Consejo, de 22 de julio de 1974, relativa a la armonización de las legislaciones de los Estados miembros sobre la miel.
- [2] <http://www.inkanatural.com/es/arti.asp?ref=miel-natural-beneficios>
- [3] LeBlanc B.W. et al. "Formation of Hydroxymethylfurfural in Domestic High-Fructose Corn Syrup and Its Toxicity to the Honey Bee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*". 2009, 57 (16), pp 7369-7376.
- [4] <http://quimicaparatodosmuchomas.blogspot.com.es>
- [5] Skoog, D.A. "Principios de análisis instrumental". Ed. Paraninfo. 2009.
- [6] Miller J.; Miller J. "Estadística y quimiometría para química analítica". Pearson Educación. 2002.



**Mercedes Villar Navarro** recibió el título de Licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad de Sevilla en 2005, y de Doctora en Ciencias Químicas en 2008 por la Universidad de Sevilla. Desde 2012 es profesora contratada doctor de la Universidad de Sevilla.

**Pilar Villar Navarro** recibió el título de Licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad de Sevilla en 2000, y de Doctora en Ciencias Químicas en 2004 por la Universidad de Sevilla. Desde 2010 es profesora funcionaria de Educación Secundaria de la Junta de Andalucía. Actualmente imparte docencia en el IES Ítaca de Tomares (Sevilla).

**Santiago Cobo Wajer, M<sup>a</sup> Dolores Rodríguez Bernal y Manuel Serrano** son alumnos de 1º de Bachillerato de los Centros públicos IES Martín Rivero de Ronda (Málaga), IES Ítaca de Tomares (Sevilla) e IES Juan Ciudad Duarte de Bormujos (Sevilla), respectivamente.