(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 688 968**

(21) Número de solicitud: 201800181

(51) Int. CI.:

G01N 21/71 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN CON EXAMEN B2

(22) Fecha de presentación:

03.08.2018

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

07.11.2018

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

26.02.2020

Fecha de concesión:

12.03.2020

(45) Fecha de publicación de la concesión:

19.03.2020

(73) Titular/es:

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID (100.0%)
Sección de Patentes y Contratos (OTRI), Facultad de Medicina (Edif. Entrepabellones 7 y 8)
C/ Dr. Severo Ochoa, 7 Ciudad Universitaria
28040 Madrid (Madrid) ES

(72) Inventor/es:

CACERES GIANNI, Jorge;
PEREZ ARRIBAS, Vicente;
SANZ MANGAS, David;
MANZOOR, Sadia;
ROSALES MARTINEZ, Juan Daniel y
IZQUIERDO HORNILLOS, Roberto

(54) Título: **Detección de adulteración e identificación del origen geográfico de mieles**

(57) Resumen:
Detección de adulteración e identificación del origen geográfico de mieles.
La presente invención describe un método para la detección de adulteración e identificación de denominación de origen protegido de miel. El método se basa en comparar intensidades de emisión de elementos químicos presentes en la miel en espectros de plasma obtenidos por irradiación de muestras de miel con un láser focalizado sobre la superficie. La comparación se realiza empleando un procedimiento matemático que permite diferenciar espectros con alta precisión proporcionando resultados de alta sensibilidad y especificidad con rapidez. El procedimiento se lleva a cabo mediante un equipo portátil que incluye un láser para irradiar la muestra, un espectrómetro - detector y un dispositivo procesador de datos.

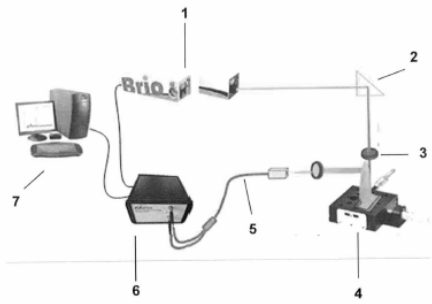

Figura 1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 688 968 B2

DESCRIPCIÓN

Detección de adulteración e identificación del origen geográfico de mieles

SECTOR DE LA TÉCNICA

La invención se enmarca en el campo de control de calidad y seguridad alimentaria en la industria apícola. La invención se refiere, de forma general, a un método para el análisis de mieles, la detección de adulteración y origen mediante un sistema portátil basado en la técnica espectroscopia de plasma inducido por láser (LIBS). En particular, se refiere a un método para detección de adulteraciones de mieles basado en las relaciones de intensidad de líneas de emisión de elementos presentes en miel, incluyendo mieles puras o mezclas de mieles diferentes e identificación del origen, por ejemplo, para la detección de fraudes.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La industria de la miel ha crecido de manera significativa en la última década, por lo que las características de la miel, tales como la variedad, el origen de producción y calidad, deben ser preservados. La miel constituye el tercer alimento más adulterado del mundo [*Parlamento Europeo Resolución del Parlamento Europeo, de 1 de marzo de 2018 "Perspectivas y desafíos para el sector apícola de la Unión" (2017/2115(INI)*]. El fraude, es por lo tanto uno de los aspectos más importantes que debe ser controlado. Este puede aparecer como consecuencia de la adición de jarabes de azucares, (glucosa, maíz, arroz, etc.) más económicos que la miel, o la eliminación de polen la cual se realiza mediante filtración lo que impide el reconocimiento del origen de la miel mediante un estudio melisopalinológico, etc.

Como se ha indicado en el parlamento europeo (*cita anterior*) no existe al día de hoy una técnica ni instrumentación que permita determinar la adulteración de forma fiable, y económica, esto se debe fundamentalmente, a que los adulterantes, (Fructosa, glucosa, jarabes de maíz de alta fructosa, jarabes de arroz, etc.) son compuestos que ya se encuentran en la miel y son principalmente azucares de menor precio. Como se expone más adelante diferentes métodos han sido utilizados y actualmente se encuentran acreditados para determinar la adulteración de la miel (isotopos o resonancia magnética nuclear). Sin embargo, el alto coste de los análisis y sus limitaciones, en cuanto al porcentaje de adulteración, que son capaces de detectar o la dificultad de detectar algún tipo de adulteración, por ejemplo, el jarabe de arroz por la determinación de isotopos de

^{13}C. Todo esto, hace que no exista al día de hoy una técnica confiable, económica y para cualquier tipo de adulteración.

La miel consta de dos ingredientes primarios, azúcar (~75%) y agua (~20%). Otros componentes en la miel son vitaminas (1-2%) ácidos orgánicos (< 0,5%), aminoácidos (< 0,1%) y elementos esenciales (<1%) [*Zhilin Gan et al. Journal of Food Engineering 178, 151-158 (2016)*]. Se trata, por lo tanto, de una matriz muy compleja y muy difícil de analizar. Las propiedades organolépticas de la miel son debidas a la presencia de diferentes compuestos aromáticos. La presencia de oligoelementos minerales en la miel está generalmente relacionada con el tipo de miel, específicamente las mieles de mielatos contiene una mayor proporción de estos. Sin embargo, también están asociados a la composición del suelo, el clima, y su origen. Las diferencias entre las cantidades de los minerales presentes en los mismos pueden ser utilizadas para lograr una rápida identificación de adulteraciones en la miel. Los análisis sensoriales o determinaciones analíticas estándar no son adecuados para precisar el origen declarado ni la detección de fraudes.

Algunos métodos analíticos basados en la determinación de 1H por resonancia magnética nuclear (NMR), [*Spiteri, M., E. Jamin, et al. "Fast and global authenticity screening of honey using 1H-NMR profiling." Food Chemistry 189: 60-66. (2015)*] o la autenticación basada en la proporción de isótopos estables de carbono-13 □13C, 13C/12C, han sido utilizados para determinar la adulteración en mieles. Sin embargo, estos metodos tienen aplicabilidad limitada o requieren instrumentación muy costosa y el procedimiento es impreciso. Los métodos analíticos basados en técnicas cromatográficas [*Wang, S. et al. "Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography." Food Chemistry 172: 669-674 (2015)*] requieren operaciones previas de preparacion de muestras que incluyen la separación y extracción, dando lugar a errores, una gran variabilidad en los resultados y no siendo por tanto, eficientes en la detección de adulterantes. Otros métodos basados en la determinación de DNA [*Soares, S. et al. "Botanical authentication of lavender (Lavandula spp.) honey by a novel DNA-barcoding approach coupled to high resolution melting analysis." Food Control 86: 367-373 (2018)*] requieren secuencias genéticas de ADN/aRNA y el uso de costosos consumibles tales como cebadores (primers) para la reacción en cadena polimerasa (PCR). Esta técnica además tiene un alto coste tanto temporal como económico. Finalmente, otras técnicas como la determinación de la

actividad enzimática de beta-fructofuranosidasa y beta/gama-amilaza, detección de colorantes (E150d), detección de enzimas termo-resistentes, marcadores específicos de jarabe de arroz (SM-R), marcadores trazas de jarabe de arroz (TM-R), o la detección de oligosacáridos ajenos a la miel, son una valiosa ayuda, pero estas técnicas por si solas ninguna es concluyente sobre la identificación de adulteraciones, principalmente relacionados con el agregado de distintos tipos de jarabes.

Existen publicaciones anteriores tales como la publicación internacional WO2010146199 que describen el uso de la tecnología LIBS en otros campos, por ejemplo, para la búsqueda de patógenos o contaminantes en alimentos, o la publicación: Zhilin Gan y colaboradores [Journal of Food Engineering 178, 151-158 (2016)]. Sin embargo, no se alcanza una precisión mayor del 87% y ninguna de estas ha resuelto las especificidades que supone el problema anteriormente indicado, es decir, la determinación de adulteraciones por el agregado de jarabes azucarados que implica un manejo diferente de las muestras y el tratamiento de datos, para obtener un nivel de certeza elevado. Por otro parte, hasta la fecha no se había desarrollado un método para la detección de adulterantes de mieles que tuviera un índice de certeza superior al 98%.

Por lo tanto, en vista a todo lo anteriormente mencionado, aún existe una necesidad de un método sencillo, económico y portátil capaz de determinar la presencia de adulterantes, la detección de fraudes de mieles que supere las desventajas indicadas.

La presente invención propone un método y un equipo para llevar cabo un análisis de muestras de mieles que permite detectar adulteración y confirmar al denominación de origen de las mieles con una certeza superior al 98%, siguiendo un método sencillo sin necesidad de preparación previa de la muestra y utilizando un equipo portátil.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCIÓN

El método descrito en la presente invención consiste en el análisis de las líneas de emisión del carbono, hidrógeno y oxígeno (C, H y O) así como otros elementos como calcio, magnesio, sodio y potasio (Ca, Mg, Na, K) obtenidas con la técnica de espectroscopia de plasma inducido por láser (LIBS) combinando un método de tratamiento de datos y un procesamiento matemático con una estructura y arquitectura específicas construido exprofeso para esta aplicación.

El método se basa en que la concentración y proporción relativa de los componentes de la miel dependen de varios factores como el tipo de área geográfica donde se ubica el colmenar y de los procesos físicos, reacciones químicas y vías bioquímicas que participan en su formación dando lugar a un determinado contenido en agua, presencia de elementos como magnesio, calcio o potasio, y el contenido de diferentes tipos de azúcares. Por ello, la emisión óptica del plasma inducido por láser de una muestra de miel contiene información de la miel y proporciona información espectroscópica útil tanto para el análisis cuantitativo como cualitativo de su composición.

Por lo tanto, la adulteración de la miel por modificación de su composición (por ejemplo, por agregado de jarabes) puede ser determinada a partir de la proporción relativa de los elementos presentes en esta y por la intensidad de emisión generada por interacción de un haz láser sobre la superficie de la miel y su posterior análisis matemático. El método desarrollado subyace sobre la identificación instantánea de una muestra de miel usando una característica del proceso de ablación láser que tiene la habilidad de generar una "huella digital" espectral de la muestra (ES 2 356 879). La comparación de las intensidades de emisión y sus relaciones permite la determinación de la adulteración de productos originales por agregado de jarabes.

Para el caso de la miel, las líneas de emisión más importantes observadas en los espectros y que, por tanto, se consideran para comparar y clasificar muestras, corresponden a los elementos C, H, O, Mg, Ca, Na y K (tabla 1). La relación entre estos elementos permite determinar si la miel a la que pertenece una determinada muestra es pura o ha sido adulterada; también proporciona información sobre el entorno geográfico específico del que procede.

El método comprende las siguientes etapas:

(a) Irradiar una muestra de miel con un láser focalizado sobre la superficie de la misma obteniendo un plasma de dicha muestra

(b) Obtener un espectro del plasma de la muestra utilizando un analizador óptico.

(c) Seleccionar intervalos de longitud de onda para los elementos C, H ,O, Mg, Na, Ca, K.

(d) Determinar las intensidades de emisión para cada uno de los elementos anteriores.

(e) Calcular mediante procedimientos matemáticos convencionales de análisis de datos y a partir de las intensidades de emisión de los elementos carbono, hidrogeno y oxígeno para determinar si ha habido adulteración por adicción de azúcares y comparar las intensidades de emisión de los elementos C, H y O de la muestra con las intensidades correspondientes a una muestra sin adulterar mediante procedimientos matemáticos convencionales de análisis de datos para determinar si ha habido adulteración por adicción de azúcares. Un valor superior a 1 en unidades arbitrarias sobre espectros normalizados implica detección de adulteración.

(f) Calcular mediante procedimientos matemáticos convencionales de análisis de datos y a partir de las intensidades de emisión de los elementos C, Mg, Na, Ca y K y comparar dichas intensidades de emisión de los elementos C, Mg, Na, Ca y K de la muestra con las intensidades correspondientes a una muestra de origen conocido para determinar y/o confirmar la denominación de origen.

El dispositivo portátil utilizado para la identificación y caracterización de muestras, mostrado en la Figura 1, se compone de un láser pulsado (1); en este caso particular se ha utilizado un láser de Nd:YAG, aunque en la práctica podría utilizarse cualquier otro tipo de láser tanto de estado sólido o gaseosos (láser de nitrógeno, láser de dióxido de carbono láser de exímeros, láser OPO (Optical Parametric Oscilator), etc.) que permita obtener condiciones de energía suficientes para poder producir un plasma. Por este motivo pueden utilizarse láseres tanto en el ultravioleta, visible o infrarrojo.

El láser de Nd:YAG utilizado trabaja a una frecuencia de 1 a 20 Hertz a una longitud de onda fija de 1064 nm respectivamente. Esta longitud de onda no es limitante ya que este láser también puede emitir a otras longitudes de onda como 266, 355 ó 532 nm (u otras longitudes de onda producidas por cualquier otro tipo de láser que permita obtener condiciones energéticas suficientes para poder producir un plasma). Dicho láser puede proporcionar hasta 180 mJ/pulso de energía de salida. La duración del pulso es de 4 ns. Se han utilizado espejos (2) y lentes (3) adecuados a fin de focalizar el haz del láser sobre la muestra (4). A fin de prevenir la radiación de cuerpo negro generada en los primeros momentos del plasma se utilizó como tiempo óptimo un retraso de 1 µs entre el pulso láser y la obtención del espectro en la evolución del plasma. La emisión del plasma es recogida utilizando una fibra óptica (5) acoplada al espectrómetro (6), que a

su vez es activado por el pulso láser. El detector es un sensor óptico CCD (Charge-Coupled Detector) que proporciona 6991 puntos espectrales en un rango de 180 a 960 nm. La señal obtenida del detector es posteriormente analizada en un ordenador personal o Tablet (7) para evaluar la similitud de espectros desconocidos (determinación de origen) y gráficas de intensidad de emisión de cada compuesto y relación de intensidades de diferentes elementos (determinación de adulteración).

El método de análisis se basa en un análisis de un único pulso láser que produce un proceso de vaporización y posterior formación de un plasma de la superficie de la muestra, la obtención del espectro de emisión de este plasma en el orden de unos pocos microsegundos y el posterior análisis espectral de las relaciones de intensidad (adulteración) o la comparación con una base de datos dinámica para la determinación de la indicación geográfica protegida (IGP) y Denominación de Origen Protegida (DOP). La base de datos es dinámica porque los resultados obtenidos se van añadiendo a dicha base de datos de forma que cada vez se hace más precisa la determinación.

Los resultados obtenidos demuestran que, aunque no hay una variación significativa en los espectros LIBS de las muestras de miel a partir de las cuales el origen o las adulteraciones puedan ser fácilmente discriminadas, hay, sin embargo, desde un punto de vista matemático, variaciones a partir de las cuales cada muestra de miel puede ser discriminada o la adulteración detectada, basándose en su huella digital ("huella digital" es un espectro LIBS de la muestra, el cual proviene exclusivamente de ésta y por lo tanto depende de su matriz. Además, debido a la naturaleza del espectro de emisión, el cual está dominado por líneas iónicas, que a menudo se ven inhibidas en su relación directa entre la concentración elemental en la muestra y sus intensidades, proporciona un espectro único y solo perteneciente a la muestra bajo análisis). Esta diferencia entre huellas digitales puede ser tan pequeña que no permite detectar adulteración o confirmar denominación de su origen pero, para ello, en esta invención se ha desarrollado un método matemático basado en redes neuronales que permite apreciar estas pequeñas diferencias con alto grado de fiabilidad comparando huellas digitales de muestras de mieles con las huellas digitales de mieles en la base de datos dinámica.

El método matemático consiste en la obtención de métricas de valoración de los espectros obtenidos siguiendo un proceso de clasificación, como verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos o falsos negativos. Por otra parte, un área del

pico mayor a 1 en unidades arbitrarias, sobre los espectros normalizados denota falsificación, siendo posible cuantificar el grado de adulteración. De esta forma, la conjunción de las dos metodologías (clasificación y área de carbono) permiten determinar la falsificación por agregado de jarabes y la determinación del origen geográfico.

La **precisión** es la principal característica de un procedimiento de reconocimiento como recurso para la toma de decisión, motivo por el cual, las métricas para evaluar procesos de detección tienen una importancia significativa e involucran la frecuencia relativa de los reconocimientos correctos e incorrectos que hace un observador a partir de los resultados obtenidos. Las medidas básicas son el número de positivos (P) y negativos (N), (verdaderos y falsos, VP, VN, FP, FN), a partir de los cuales se calculan la **sensibilidad** (S), **especificidad** (Es) y **exactitud** (E) de los procesos de detección.

Un verdadero positivo (VP) corresponde a la detección correcta de una sustancia, compuesto o característica en una muestra, cuando está realmente existe. Un verdadero negativo (VN) corresponde a la detección negativa de una sustancia, compuesto o característica en una muestra cuando efectivamente esta no existe. Las detecciones falsas (FP, FN) corresponden a los casos en los que la detección no corresponde con la realidad de la muestra.

S y Es son dos métricas del desempeño de un proceso de detección que se construyen a partir del número de VP, FP, VN y FN en una muestra de validación. La sensibilidad de un proceso de detección se refiere a la probabilidad de que una sustancia, compuesto o característica sea detectada cuando realmente existe. La sensibilidad se especifica como una fracción entre 0 y 1.

La suma de VP y FN corresponde al total de positivos en el proceso de detección así S de un sistema de detección se puede calcular como:

$$S = VP/(VP+FN) \qquad (8)$$

Una S=1 indica que todas las sustancias, compuestos o características son detectados. S también se denomina Fracción de Verdaderos Positivos (FVP). La métrica que complementa a la sensibilidad es la especificidad la cual mide la probabilidad de que un

proceso de detección reporte correctamente la no existencia de una sustancia, compuesto o característica cuando efectivamente no existe. La suma de VN y FP corresponde al total de falsos en el proceso de detección así E en un sistema de detección se puede calcular como:

$$Es = VN/(VN+FP) \qquad (9)$$

Un valor de Es=1 indica que nunca se reporta la existencia de una sustancia, compuesto o característica cuando éste no existe. La Fracción de Falsos Positivos (FFP) está definida como (1-Es) y es la fracción de muestras que se reportan equivocadamente.

Para evaluar un proceso de detección es necesario tener los valores de sus dos métricas: (S y Es), ya que una sola métrica no puede evaluar correctamente el proceso. Esto debido a que se puede forzar a S=1 si nuestro sistema de detección reporta todos los casos como positivos (a lo que corresponde a Es=0) y también se puede forzar a Es=1 si nuestro sistema reporta todos los casos como negativos (a esto corresponde S=0).

La exactitud (E) es el principal parámetro de reconocimiento en un proceso de toma de decisión, y la razón por la cual las métricas para evaluar el proceso de detección son tan importantes. Esta incluye la frecuencia relativa de la identificación correcta e incorrecta de los resultados obtenidos y se puede calcular de acuerdo como:

$$E = VP+VN/(VP+VN+FP+FN) \qquad (10)$$

La exactitud porcentual (E x 100), definida en esta patente y de aquí y en adelante como "INDICE DE CORRELACIÓN ESPECTRAL (ICE)" puede utilizarse, por lo tanto, como una métrica adecuada en la toma de decisión de la clasificación obtenida. Esto es cuanto más próximo a 100 se encuentre el ICE, más parecido será el espectro de la muestra a la base espectral de una determinada DOP, lo que permite asegurar que la muestra corresponde a esa DOP. Por otra parte, el ICE también proporciona información acerca de la adulteración de la muestra de miel. Con el método de la invención se consigue obtener un ICE superior al 98% en caso de adulteración o en confirmación de DOP. Además, de acuerdo con los ensayos realizados, la asignación no produce ningún falso positivo ni falso, siendo todas las asignaciones correctas como verdaderos positivos o

verdaderos negativos.

Un valor mayor o igual a 90% es utilizado como criterio para indicar la pertenencia o no de una determinada muestra de miel a una DOP. Como se muestra en la tabla 3, el procedimiento de identificación permite la clasificación y por lo tanto su identificación de la miel con un ICE mayor al 97% en todos los casos evaluados. La tabla 4 muestra los resultados de la clasificación de mieles nacionales e internacionales y mezclas de mieles, con y sin DOP. La nueva metodología permite la identificación de las muestras de miel sin preparación de la muestra, siendo posible la identificación incluso con un solo disparo láser, en un tiempo menor de 1 segundo.

Este método tiene las siguientes ventajas, como son: a) no requiere preparación de la muestra, b) el análisis se realiza sobre una pequeña proporción o muestra de miel, c) el análisis se realiza en unos pocos segundos, d) el análisis se realiza a presión atmosférica y temperatura ambiente, e) proporciona una gran cantidad de datos que hacen apto el análisis matemático y f) puede ser realizado *in-situ* utilizando el sistema portátil desarrollado para este fin.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

En los dibujos adjuntos, con carácter ilustrativo y no limitativo, se muestran las principales características de la invención.

Figura 1.- Vista esquematizada del dispositivo portátil comprendiendo tanto el equipo láser, los espejos, lentes, posicionador muestra, fibra óptica, espectrómetro-detector, y ordenador personal o Tablet.

Figura 2.- Mapa geográfico de España indicando las denominaciones de origen protegido DOP e indicación geográfica protegida IGP de las diferentes mieles españolas.

Figura 3.- Muestra de miel preparada para el análisis. El método no requiere preparación de la muestra y puede analizarse en condiciones atmosféricas normales.

Figura 4.- Espectro LIBS típico obtenido de una muestra de miel. La figura muestra la asignación de las líneas de emisión (tabla 1) de los elementos más importantes

presentes en miel y los intervalos de longitud de onda seleccionados (tabla 2) para el procesamiento de los datos en un recuadro rojo.

A continuación, se proporciona una lista de los distintos elementos representados en las figuras que integran la invención:

1 = equipo láser
2 = espejos
3 = lentes
4 = posicionador muestra
5 = fibra óptica
6 = espectrómetro – detector
7 = ordenador personal o Tablet
8 = DOP Miel de Liébana
9 = DOP Miel de la Alcarria
10 = DOP Miel de Granada
11 = DOP Miel de Tenerife
12 = DOP Miel Villuercas-Íberes
13 = IGP Miel de Galicia

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCIÓN

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante el siguiente ejemplo, que no pretende ser limitativo del alcance de la misma.

Todas las muestras de miel utilizadas se adquirieron en supermercados locales. Todos los frascos conteniendo la miel se abrieron al mismo tiempo para someter todas las muestras a las mismas condiciones medioambientales.

Ejemplo: Determinación de la adulteración y origen geográfico de muestras de miel

Como ejemplo, a fin de determinar la adulteración de una muestra de miel, se utilizan 6 mieles diferentes. Una de la región de Zamora otra de Portugal con una separación entre ellas de 15 km y una miel de Madrid. Otras denominaciones de origen incluyen Mieles de Galicia, Alcarria y Granada y distintas muestras comerciales mostradas en la tabla 3. Las muestras adulteradas de cada miel fueron preparadas a 5% de adulteración, añadiendo separadamente jarabes de fructosa (FRU), glucosa (GLU), arroz (ARR),

agave (AGA), manzana (MAN) y de coco (COC), respectivamente Un espectro LIBS típico de una de estas mieles se muestran en las Figura 4. Un total de 100 pulsos láser de cada muestra son almacenados como "huellas digitales" de las muestras. Como se muestra en la Tabla 4 todas las mieles son clasificadas correctamente como mieles con DOP. La asignación no produce ningún falso positivo (mieles clasificadas como mieles sin denominación de origen), ni falsos negativos (mieles con denominación de origen clasificados como mieles sin DOP), siendo todas las asignaciones correctas como verdaderos positivos o verdaderos negativos.

Tabla 1: Longitud de onda de emisión de las principales líneas atómicas y moleculares elementos identificados en la miel

Elemento	Longitud de onda (nm)
C(I)	247.87
Mg(II)	280.27
Ca(I)	422.67; 445.48; 551.30; 560.13
Ca(II)	393.37; 396.85
Na(I)	588.99; 589.59
O(I)	777.37; 844.62
H_α	656.39

Tabla 2: Selección de intervalos de longitud para el procesamiento de datos

Intervalo de longitud de onda (nm)	Elemento
247,4 – 248,5	C(I)
640 – 675	H_α
764 – 782	O(I)
27 – 291	Mg(II)
390 – 429	Ca(II)
581 – 598	Na(I)
760 – 783	K(I)

Tabla 3: Muestras de mieles incluidos en los análisis.

Denominación Geográfica	Identificador de muestra	Marca comercial	Tipo de miel	Año producción
Miel de Galicia	MG1	Pazo de Lusio	flores de montaña	2.018
	MG2	De nuestra tierra	flores	2.018
	MG3	Mel da anta	flores de montaña	2.018
Miel de la Alcarria	MA1	La Orza de Valderomero	flores	2018
	MA2	El Colmenar del Abuelo	Romero	2018
	MA3	Guadalhor	Romero y Espliego y Multifloral	2018
Miel de Granada	MGr1	Jardines de la Alhambra	Castaño	2.018
	MGr2	Arana miel	mil flores	2.018
	MGr3	Miel La Almijara	Tomillo	2.018
Miel de Zamora	MZ1	Las obreras de aliste	bosque	2.018
Miel de Portugal	MP1	-	bosque	2.018
Miel de Madrid	MM1 MM3 MM3	Apismel	flores	2018

Tabla 4: Resultados de clasificación de diferentes mieles analizadas.

	Predicción de pertenencia a una DOP			
	Muestra	**Adulterado ICE%**	**Puro ICE %**	**Origen**
Miel de Galicia Puro	MG1	0	99	Galicia
	MG2	0	98	Galicia
	MG3	0	100	Galicia
Adulterada con Siropes	MG1 – FRU	99	1	desconocido
	MG1 – GLU			desconocido
	MG1 – COC			desconocido
	MG1 – MAN			desconocido
	MG1 – AGA			desconocido
	MG1 – ARR			desconocido
Miel de Alcarria Puro	MA1	0	99	Galicia
	MA2	0	98	Galicia
	MA3	0	100	Galicia
Adulterada con Siropes	MA1 – FRU	99	1	desconocido
	MA1 – GLU			desconocido
	MA1 – COC			desconocido
	MA1 – MAN			desconocido
	MA1 – AGA			desconocido
	MA1 – ARR			desconocido
Miel de Granada Puro	MGr1	0	99	Galicia
	MGr2	0	98	Galicia
	MGr3	0	100	Galicia
Adulterada con Siropes	MGr1 – FRU	99	1	desconocido
	MGr1 – GLU			desconocido
	MGr1 – COC			desconocido
	MGr1 – MAN			desconocido
	MGr1 – AGA			desconocido
	MGr1 – ARR			desconocido
Miel de Zamora Puro	MZ1	0	99	Galicia
Adulterada con Siropes	MZ1 – FRU	99	1	desconocido
	MZ1 – GLU			desconocido
	MZ1 – COC			desconocido
	MZ1 – MAN			desconocido
	MZ1 – AGA			desconocido
	MZ1 – ARR			desconocido
Miel de Portugal Puro	MP1	0	99	Galicia
Adulterada con Siropes	MP1 – FRU	99	1	desconocido
	MP1 – GLU			desconocido
	MP1 – COC			desconocido
	MP1 – MAN			desconocido
	MP1 – AGA			desconocido
	MP1 – ARR			desconocido
Miel de Madrid Puro	MM1	0	99	Galicia
Adulterada con Siropes	MM1 – FRU	99	1	desconocido
	MM1 – GLU			desconocido
	MM1 – COC			desconocido
	MM1 – MAN			desconocido
	MM1 – AGA			desconocido
	MM1 – ARR			desconocido

* *Porcentaje de adulteración: 5%*

REIVINDICACIONES

1. Método de detección de adulteración e identificación de denominación de origen protegido de miel que comprende las siguientes etapas:

   (a) Irradiar una muestra de miel con un láser focalizado sobre la superficie de la misma obteniendo un plasma de dicha muestra

   (b) Obtener un espectro del plasma de la muestra utilizando un analizador óptico.

   (c) Seleccionar intervalos de longitud de onda para los elementos C, H ,O, Mg, Na, Ca, K.

   (d) Determinar las intensidades de emisión para cada uno de los elementos anteriores.

   (e) Calcular mediante procedimientos matemáticos convencionales de análisis de datos y a partir de las intensidades de emisión de los elementos carbono, hidrogeno y oxígeno para determinar si ha habido adulteración por adicción de azúcares y comparar las intensidades de emisión de los elementos C, H y O de la muestra con las intensidades correspondientes a una muestra sin adulterar mediante procedimientos matemáticos convencionales de análisis de datos para determinar si ha habido adulteración por adiceión de azúcares. Un valor superior a 1 en unidades arbitrarias sobre espectros normalizados implica detección de adulteración.

   (f) Calcular mediante procedimientos matemáticos convencionales de análisis de datos y a partir de las intensidades de emisión de los elementos C, Mg, Na, Ca y K y comparar dichas intensidades de emisión de los elementos C, Mg, Na, Ca y K de la muestra con las intensidades correspondientes a una muestra de origen conocido para determinar y/o confirmar la denominación de origen.

   donde el procedimiento matemático se basa en la obtención de métricas de valoración de los espectros obtenidos siguiendo un proceso de clasificación en: verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN), a partir de los cuales se calculan la sensibilidad (S), especificidad (Es), exactitud (E) de los procesos de detección y el Índice de correlación espectral (ICE) que corresponde a la exactitud porcentual y es la métrica que determina la decisión de la clasificación obtenida, de forma que

cuanto más próximo a 100 se encuentre el ICE más parecido es el espectro de una muestra a la base espectral de una determinada denominación de origen y/o de una determinada miel pura.

2. Método de detección de adulteración e identificación de denominación de origen protegido de la miel, según reivindicación 1, donde las muestras de miel son muestras claras, ámbar u oscuras, mieles puras o mezclas de mieles de diferentes países y/o adulteradas.

3. Método de detección de adulteración e identificación de denominación de origen protegido de la miel, según reivindicación 1, caracterizado porque emplea un procedimiento convencional de análisis de datos como "análisis de componentes principales" (PCA) para determinar la adulteración y/o el origen de la miel.

4. Método de detección de adulteración e identificación de denominación de origen protegido de la miel, según reivindicación 1, donde el láser focalizado que irradia la muestra de miel es un láser de estado sólido, líquido o gaseoso que emite radiación electromagnética ultravioleta visible o infrarroja y produce un plasma del material ablacionado.

5. Método de detección de adulteración e identificación de denominación de origen protegido de la miel, según reivindicación 4, donde el láser es un láser de Nd:YAG que trabaja a una frecuencia de 1 a 20 Hertz a una longitud de onda fija de 1064 nm.

6. Método de detección según reivindicación 1, caracterizado porque la detección de la radiación producida por los elementos químicos del plasma para obtención del espectro se realiza a través de un sensor óptico CCD que proporciona 6991 puntos espectrales en un intervalo de 180 a 960 nm.

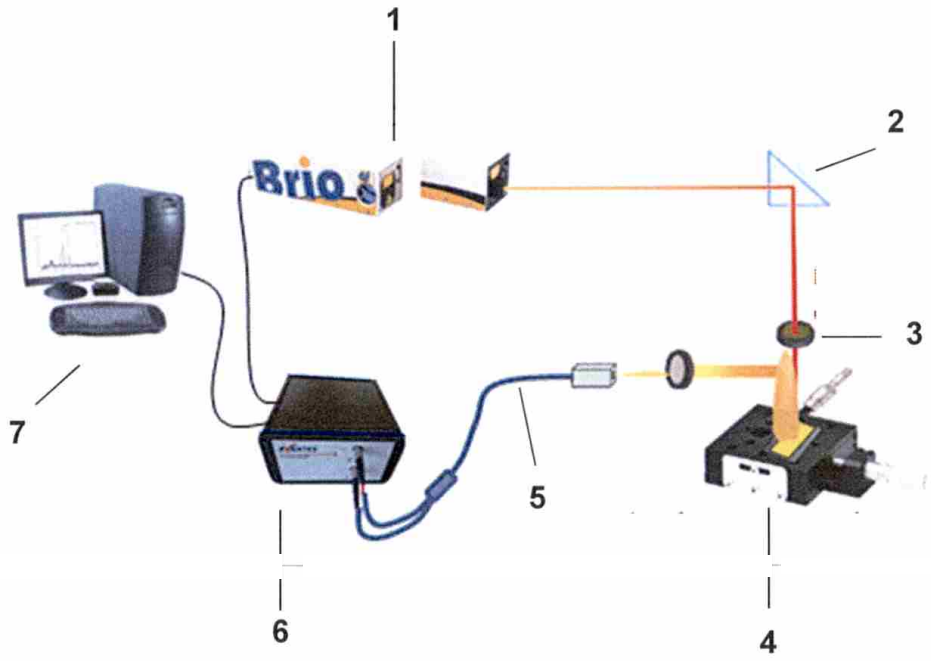

Figura 1

Figura 2

Figura 3

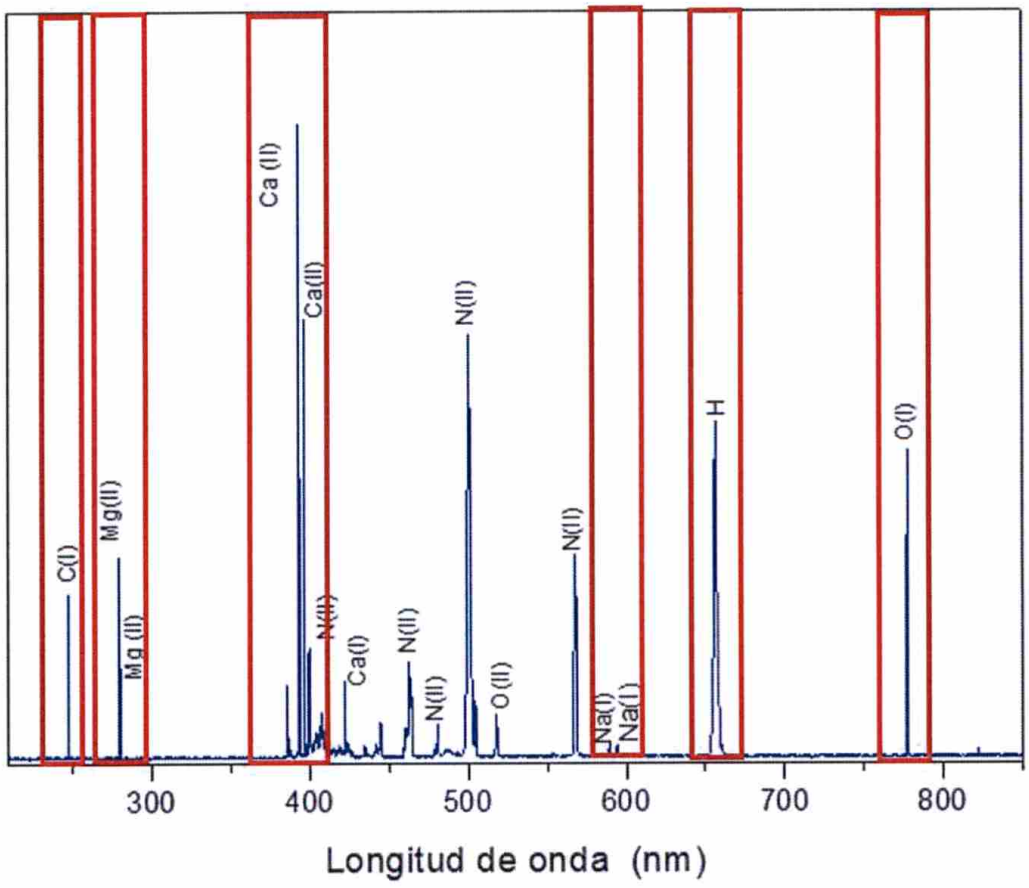
C(I)
Mg(II)
Mg (II)
Ca (II)
Ca(II)
N(II)
Ca(I)
N(II)
N(II)
N(II)
O (II)
N(II)
Na(I)
Na(I)
H
O(I)
300
400
500
600
700
800
Longitud de onda (nm)

Figura 4