



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Determinación del origen floral de mieles como medida de calidad mediante análisis polínico

Alumno: Roberto Barbudo Espejo

Julio, 2017



UNIVERSIDAD DE JAÉN
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

Trabajo Fin de Grado

DETERMINACIÓN DEL ORIGEN FLORAL DE MIELES COMO MEDIDA DE CALIDAD MEDIANTE ANÁLISIS POLÍNICO

Alumno: Roberto Barbudo Espejo

Jaén a 14 de julio de 2017

ÍNDICE.

1.RESUMEN.....	1
1.1. Abstract	1
2. INTRODUCCIÓN	2
2.1. Melisopalinología	3
<i>2.1.1. Definición</i>	<i>3</i>
<i>2.1.2. Origen del polen presente en la miel</i>	<i>3</i>
<i>2.1.3. Objetivos de la melisopalinología</i>	<i>4</i>
2.2. Justificación	6
2.3. Objetivos	7
2.4. Antecedentes	8
3. MATERIAL Y MÉTODOS	8
3.1. Muestras	8
3.2. El análisis polínico	10
3.3. Metodología	12
4. RESULTADOS	14
4.1. Serie de mieles comerciales	15
<i>4.1.1. Análisis polínico cuantitativo</i>	<i>15</i>
<i>4.1.2. Análisis polínico cualitativo</i>	<i>16</i>
4.2. Serie de mieles a granel	24
<i>4.2.1. Análisis polínico cuantitativo</i>	<i>24</i>
<i>4.2.2. Análisis polínico cualitativo</i>	<i>25</i>
5. DISCUSIÓN	28
5.1. Mieles de la serie C	29
5.2. Mieles de la serie G	32
6. CONCLUSIONES	33
7. BIBLIOGRAFÍA	34

1. RESUMEN.

El análisis polínico de la miel es una técnica habitual de control de la calidad realizado previamente a la comercialización, analizando el polen y los elementos de mielada contenidos en la miel. Se estudiaron mediante análisis polínico cuantitativo y cualitativo 20 muestras de miel, 14 de ellas mieles comerciales de diverso etiquetado y 6 mieles a granel a catalogar floralmente. El análisis polínico cualitativo de la miel, donde se identificaron 1498 (mieles comerciales) y 701 (mieles a granel) granos de polen respectivamente, siendo 33 las tipologías polínicas determinadas, ha revelado que en las mieles comerciales, 3 tres de ellas fueron erróneamente catalogadas y que de las mieles a granel, 4 han sido catalogadas como mieles monoflorales de romero y 2 tipificadas como mieles mil flores ricas en pólenes de la familia *Rosaceae*. El análisis polínico cuantitativo, fueron contabilizados 52257 (mieles comerciales) y 34585 (mieles a granel) granos de polen respectivamente, de la serie de mieles comerciales muestra que de ellas, 6 son Clase de Maurizio II, 7 Clase III y una Clase IV. En las mieles de la serie a granel, 2 se engloban en la Clase II, 3 Clase III y una Clase IV.

1.1. Abstract.

The pollen analysis of honey is a common quality control technique, performed prior to commercialization, analyzing the pollen and all elements of honeydew contained in the honey. Twenty samples of honey were studied by quantitative and qualitative pollen analysis: 14 commercial honeys with different labeling, and 6 honeys in bulk to be cataloged florally. The qualitative pollen analysis of honey, where 1498 (commercial honeys) and 701 (bulk honeys) pollen grains were respectively identified, being 33 the pollen types determined, has revealed that in commercial honeys, 3 of them were erroneously cataloged, and in relation to the honeys in bulk, 4 of them have been cataloged as rosemary *monoflorales-honey* and 2 typified as *mil-flores-honey*, rich in pollen that belong to the *Rosaceae* family. In the quantitative pollen analysis, were counted 52257 commercial honeys and 34585 bulk honeys pollen grains. The series of commercial honeys shows that: 6 are Class of Maurizio II, 7 Class III and Class IV. On the bulk honey series, 2 of them are Class II, 3 are Class III and 1 is Class IV.

2. INTRODUCCIÓN.

La apicultura es la actividad dedicada a la crianza de abejas para obtener beneficio de la venta de los productos elaborados y recolectados por la colmena, a la que podemos considerar una pequeña fábrica. Algunos de estos productos tienen su origen en el campo y sólo sufren leves alteraciones como el néctar, el polen o los propóleos. Otros, en cambio, son producidos por las propias abejas como la jalea real, la cera o el veneno (Herrero, 2004).

Un beneficio indirecto resultado de la labor de pecoreo que realizan las abejas es la polinización de muchos vegetales incluidos los cultivos. Exceptuando las flores perfectas (hermafroditas) que se autopolinizan, el resto de especies precisan de un agente polinizador para que ocurra la polinización, esto es el paso del polen del estambre de la flor (parte masculina) al estigma del pistilo (parte femenina) produciéndose la fecundación. Los agentes polinizadores más relevantes son el viento, que transporta los pólenes más ligeros y pequeños como los de los sauces o las gramíneas, y los insectos, como las abejas, que transportan los pólenes más pesados y gruesos de los que se impregnan en la búsqueda de néctar de flor en flor. La relación entre planta y abeja es muy estrecha de tal forma que algunas especies sólo se reproducen si hay abejas (Herrero, 2004).

Desde el punto de vista de la comercialización de la miel, hasta 1979 España era un país preeminentemente exportador. Tras ese año, el volumen de importaciones superó al de las exportaciones. La razón, España servía de puente para distribuir por Europa la miel importada. En 2009, el volumen de las exportaciones, por primera vez, superó al de las importaciones. Resultando la balanza comercial positiva para España.

En 2015, el principal destino de nuestras exportaciones fue el mercado comunitario destacando países como: Francia, Italia y Alemania. Para este mismo año, casi el 80% de la miel importada por nuestro país procede de China. El nivel de autoabastecimiento alcanzó el 98,2%.

Dentro del espacio comunitario España ocupa el primer lugar del censo con el 16% de las colmenas totales de Europa. El sector melífero nacional se distribuye principalmente en Castilla y León con el 16% de las explotaciones. Seguido por Andalucía con un 15,5% y Galicia con el 12.8%.

2.1. Melisopalinología.

2.1.1. Definición.

La melisopalinología es la ciencia que estudia la miel analizando el polen y los elementos de mielada presentes en ella (García, 2003). Por extensión, también se encarga del estudio del polen recogido por las abejas para su alimento. Esta ciencia es eficaz para averiguar el origen geográfico de las mieles, tipificarlas y caracterizarlas desde el punto de vista botánico y geográfico.

2.1.2. Origen del polen presente en la miel.

Al interpretar el espectro polínico de una miel de flores es preciso considerar los aportes polínicos que dan a la miel su contenido en pólenes.

- Aporte primario: se produce en la propia flor cuando los granos de polen caen en el néctar, bien por la acción del viento o por la actividad de los insectos polinizadores que agitan las anteras. En la succión del néctar por la abeja estos granos de polen suspendidos se arrastran. La cantidad varía según la arquitectura floral, localización de los estambres, posición de los nectarios, la asincronía entre la dehiscencia de la antera y la máxima secreción de néctar, etc.
- Aporte secundario: se produce en el interior de la propia colmena, ya sea por corrientes de aire o por la actividad de la propia colmena. Generalmente son los granos de polen adheridos al cuerpo de las abejas en el pecoreo o durante la alimentación de las larvas con el polen almacenado en la colmena para tal fin. Los granos de polen caen en las celdillas de miel en maduración no operculada quedando presentes en la miel.
- Aporte terciario: tiene lugar cuando las celdillas con polen entran directamente en contacto con la miel, por manipulación del apicultor (García, 2003), durante la extracción de la miel.

El sedimento de la miel contiene granos de polen de distintas plantas, que presentan características morfológicas diferenciables, y de esta manera marcan a la miel en la que se encuentran (García, 2003).

2.1.3. Objetivos de la Melisopalinología.

Mediante el estudio de los pólenes presentes en una miel se pretende alcanzar los siguientes objetivos:

- Determinación del origen floral de la miel.

Con el estudio el sedimento que se obtiene de una miel, se identifican no solo los tipos polínicos contenidos en la miel, sino también los elementos característicos de los mielatos empleados por las abejas en la elaboración de la miel. Esto posibilita conocer la materia prima empleada por las abejas.

Según el origen botánico del sedimento se distinguen dos tipos de mieles:

- Miel de néctar o de flores: para elaborar este tipo de miel la abeja emplea como materia prima el néctar, en el sedimento de estas mieles domina el polen de plantas nectaríferas. Dentro de este tipo de miel encontramos dos categorías: Miel monofloral o unifloral, en las que predomina el polen de una única especie; y miel multifloral, milfloral o milfloral, en las que ninguno de los pólenes presentes tiene un predominio claro sobre el resto.

Hay un debate entre los distintos autores, pero por norma general se admite que un porcentaje superior al 45% de un tipo polínico determinado es suficiente para catalogar a una miel como monofloral. Sin embargo existen muchas excepciones que derivan de las características florales y de producción de polen que tienen las plantas. Para especies vegetales con baja capacidad para producir polen como muchas *Lamiaceae* y *Citrus* donde los pólenes están poco representados, es suficiente con una concentración de entre el 10% y el 20% para considerarlas monoflorales. Ocurre también al revés, hay plantas cuyos pólenes están sobre representados y se les exige porcentajes de entre el 70% y el 90%, como es el caso de *Castanea*, *Eucalyptus*, etc. Siendo este un problema al que se enfrenta la melisopalinología al tipificar mieles.

- Mieles de mielada, de melaza o de bosque: para elaborar esta miel la abeja toma secreciones de savia, jugos floemáticos, que fluyen por los vegetales a través de fisuras accidentales de las plantas; o exudados de ciertos insectos localizados sobre las plantas, que se alimentan del floema de diversos árboles y arbustos y excretan un líquido dulce que es recolectado por las abejas y empleado para fabricar miel de mielato (García, 2003).
- Conocer el origen geográfico de la miel.

El espectro polínico es un reflejo de la flora local, así pues los diferentes tipos polínicos o combinaciones específicas de ellos pueden ser empleados como marcadores geográficos de una zona particular. Es por tanto necesario realizar un estudio a conciencia de las mieles.

- Determinar la riqueza polínica.

El contenido en granos de polen por gramo de miel está relacionado con su origen botánico. Entonces, existen mieles pobres en polen como las de *Citrus*, *Robinia* o *Tilia* y por el contrario mieles ricas en polen como las de *Castanea* o *Myosotis* (Maurizio 1949, Louveaux 1968).

La riqueza polínica se puede encontrar alterada por el sistema de extracción de miel de los paneles usado por el apicultor. Por ejemplo, las mieles prensadas tienen mayor riqueza polínica que las mieles extraídas por centrifugación debido a que durante el prensado se extrae y mezcla el polen de las celdillas con la miel.

Otros factores como el tipo de colmena empleada en la práctica apícola y la idoneidad de la flora y las condiciones climáticas (mayor o menor recogida de polen por parte de las abejas) varían la riqueza polínica en la miel.

- Detectar la presencia de impurezas.

Los estudios melisopalinológicos dan la oportunidad de detectar en la mieles la presencia de levaduras de fermentación y de otras impurezas de origen orgánico (ceras, restos de hongos, restos de abejas...) o inorgánico (partículas minerales) (García, 2003). Según la presencia de estas y su proporción puede predecirse la ocurrencia de procesos que alteren la miel como las fermentaciones o una práctica de extracción poco adecuada.

2.2. Justificación.

En las sociedades con un elevado nivel de vida hay una demanda creciente de productos de gran calidad, sobre todo respecto a los productos alimentarios. La miel no es una excepción, por sus propiedades alimenticias y saludables, su consumo ha aumentado y también la exigencia de calidad. En España, desde 1980, el consumo se ha incrementado un 597%. Así aparecen las denominaciones de origen, que para ser otorgadas, los respectivos consejos reguladores exigen que el producto cumpla requisitos específicos de procedencia y composición, siendo necesaria tipificación de las características que los definen, mediante procedimientos para controlar la calidad de la miel como el análisis polínico de la miel que permite conocer el origen de la miel y tipificarla desde un punto de vista botánico y geográfico. Es complementado con análisis físico-químicos y organolépticos, que cercioran la tipificación de la miel.

El análisis polínico de la miel, en los países desarrollados, es una técnica habitual de control de la calidad realizado previamente a la comercialización, consistente en estudiar la miel analizando el polen y los elementos de mielada contenidos en su seno (García, 2003). Sin embargo no hay referencias explícitas de el en la legislación europea. La legislación española tampoco es rigurosa en la necesidad de sistematizar esta técnica. Así es frecuente que la miel sea vendida con la denominación que le da el propio apicultor en función de la flora presente en la localización de las colmenas y las características organolépticas del producto. Aun considerando la buena intención y honestidad del apicultor, con frecuencia la calificación floral final no coincide con la otorgada por el productor. A esto debe

sumarse la existencia de prácticas fraudulentas y adulteraciones que no pueden ser apreciadas por el consumidor.

Dentro de este contexto, se justifica la necesidad emplear el análisis polínico de la miel como única herramienta fiable y estandarizada de calidad de ciertos parámetros relacionados con el origen floral y geográfico de las mieles, ofreciendo a los productores una herramienta para mejorar el manejo de sus colmenas y que puedan obtener productos diferenciales y a los consumidores una herramienta que verifique la autenticidad de la miel en base a los estándares de calidad ofertados en la etiqueta del producto final a su disposición.

En este contexto, el estudio llevado a cabo se ha realizado un análisis polínico cuantitativo y cualitativo a una serie de mieles de distinta procedencia tanto botánica y geográficamente como de forma de adquisición pues unas fueron obtenidas en establecimientos comerciales y otras directamente del apicultor. Las cuales se han tipificado floralmente y por su riqueza en granos de polen, permitiendo catalogar las mieles a granel aportadas directamente por los productores y confirmar la veracidad del etiquetado de las mieles comerciales.

2.3. Objetivos.

El objetivo general del presente trabajo es la determinación del origen floral de mieles comerciales como medida de calidad mediante análisis polínico.

Recogiéndose los siguientes objetivos específicos:

- Realización del análisis polínico cualitativo de las muestras de miel, para categorizarlas según su riqueza polínica.
- Realización del análisis polínico cuantitativo de las muestras de miel, para obtener sus respectivos espectros polínicos y categorizarlas floralmente en función de ellos.
- Tipificar las mieles en función de los resultados obtenidos por el análisis polínico de las mismas, como control del etiquetado comercial.

2.4. Antecedentes.

Existen algunos estudios en los que se emplea el análisis polínico de la miel pues se trata de un protocolo estándar previo a la comercialización de la miel, sin embargo sus resultados no trascienden al consumidor y puede producirse alteraciones posteriormente. Algunas referencias relativas a mieles comerciales y a granel son: el estudio realizado por García (2003) sobre las mieles monoflorales de la Región de Murcia; el estudio realizado por Rodríguez *et al.* (2013) de análisis palinológico de mieles comerciales monoflorales; el estudio de Andrés *et al.* (2006) en el que analiza polínicamente mieles de la Sierra Norte de Sevilla y de las Sierras Subbéticas, donde se analizan mieles de zonas próximas a la localización de los colmenares de donde proceden dos de nuestras muestras; y como en el caso anterior el estudio de Ortiz (1985) también versa sobre análisis polínico a mieles de las Sierras del Sur de Córdoba. No se ha podido encontrar referencia de estudios palinológicos a mieles de la provincia de Jaén.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1. Muestras.

Para la realización de este trabajo se tomaron inicialmente 22 muestras de miel, de las cuales 20 muestras fueron sometidas a análisis polínico (Tabla 1). Con el fin estructurar adecuadamente los resultados que arrojó el análisis polínico de la miel, las mieles se han dividido en dos series de estudio. Las mieles que conforman la serie de mieles a granel (códigos G) fueron obtenidas directamente del apicultor mientras que las mieles que forman la serie de mieles comerciales (códigos C) fueron obtenidas de mercados y grandes superficies.

Muestra	Forma	Catalogación	Procedencia
C1	Comercial	Azahar	Lanjarón (Granada)
C2	Comercial	Azahar	Desconocida
C3	Comercial	Mil flores	Sierra Mágina y Sierra Sur de Jaén
C4	Comercial	Romero	Desconocida
C5	Comercial	Azahar	Desconocida
C6	Comercial	Azahar	Desconocida
C7	Comercial	Eucalipto	Desconocida
C8	Comercial	Eucalipto	Desconocida
C9	Comercial	Castaño	Lanjarón (Granada)
G2	Grael	A catalogar	Sierra de Cazorla, localización exacta desconocida
G3	Grael	A catalogar	Aldea de Miller, Santiago-Pontones (Jaén)
G4	Grael	A catalogar	Embalse del Tranco, Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas
G5	Grael	A catalogar	Embalse del Tranco, Parque Natural de las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas
C10	Comercial	Brezo	Sierra Morena (Córdoba)
G6	Grael	A catalogar	Sierra de Cabra (Córdoba)
G7	Grael	A catalogar	Sierra de Cabra (Córdoba)
C11	Comercial	Azahar	Desconocida
C12	Comercial	Espliego	Comarca de La Alcarria (Guadalajara)
C13	Comercial	Castaño	Desconocida
C14	Comercial	Romero	Lanjarón (Granada)

Tabla 1. Relación detallada de mieles que fueron sometidas a análisis polínico. Las muestras de la serie C están conformadas por las mieles comerciales, mientras que las muestras de la serie G engloban las mieles a granel.

Al separar las muestras en 2 series de estudio podremos comparar las diferencias entre ambos, es decir, entre el producto recién extraído de la colmena y el producto envasado a disposición del consumidor. Además mediante el estudio polínico de las mieles a granel podremos catalogar estas y por el análisis de las mieles comerciales comprobaremos que su tipificación es cierta y que no sea hayan producido adulteraciones, fraudes o contaminación del producto.

3.2. El análisis polínico.

El grano de polen lo forman una o varias células vivas rodeadas por una pared inerte denominada esporodermis, que tiene una estructura de doble capa. La capa interna o intina y la capa externa o exina, que presenta caracteres morfológicos (forma, tamaño, simetría, ornamentación, etc.) que pueden emplearse en la identificación de las especies vegetales. Además la exina, suele presentar una o más aberturas por donde sale el contenido celular para fecundar el óvulo que también son características diferenciables entre las especies vegetales.

El análisis cualitativo y cuantitativo de los componentes polínicos de una miel proporciona valiosa información sobre su origen botánico y geográfico, convirtiendo la técnica en una herramienta fundamental para la tipificación de mieles de calidad y la detección de fraudes (García, 2003).

Hay dos tipos de análisis polínico que pueden realizarse a una muestra de miel:

- Análisis polínico cualitativo de la miel, indica en qué proporción se encuentra los granos de polen de distintas especies, es decir, el espectro polínico (Carretero, 1989).

Como se ha mencionado anteriormente en el subapartado 2.1.3. *Objetivos de la Melisopalinología* (pág. 4) existe una amplia literatura referente a cuál es el porcentaje suficiente para catalogar una miel como monofloral. Por ello, en la catalogación de nuestras muestras emplearemos los criterios recogidos en la *ORDEN APA/3209/2002, de 3 de diciembre, por la que se ratifica el Reglamento de la Denominación de Origen Protegida «Miel de Granada» y de su Consejo Regulador*, (DOP “Miel de Granada”). Para las mieles cuya catalogación no está recogida en el documento anterior, supondremos su monofloralidad con un porcentaje superior al 45% de dominancia de un tipo polínico en el caso de la miel de brezo, un porcentaje superior al 75% para la miel de eucalipto y un porcentaje superior al 15% para la miel de espliego. Los criterios para considerar la monofloralidad de las mieles se sintetizan a continuación (Tabla 2).

Tipo de miel	Características melitopalínológicas
Miel de castaño	> 75% <i>Castanea sativa</i> , 0% <i>Erica sp.</i>
Miel de romero	> 15% <i>Rosmarinus officinalis</i>
Miel de azahar	> 15% <i>Citrus sp.</i>
Miel de espliego	> 15% <i>Lavandula sp.</i>
Miel de eucalipto	> 75% <i>Eucalyptus sp.</i>
Miel de brezo	> 45% <i>Erica sp.</i>
Miel de la sierra	> 20% <i>Castanea sativa</i>
Miel milflores	> 5% polen de la familia <i>Lamiaceae</i>

Tabla 2. Porcentajes que las distintas muestras deben tener para ser definidas como monoflorales en función del tipo polínico dominante según DOP “Miel de Granada”.

- Análisis polínico cuantitativo de la miel, proporciona la cantidad total de polen por unidad de peso (Carretero, 1989). Según su riqueza en polen, las mieles se clasifican en cinco clases, detalladas por Maurizio en 1939 (Tabla 3).

Clase	Granos de polen por gramo de miel
I	< 2000
II	De 2000 a 10000
III	De 10001 a 50000
IV	De 50001 a 100000
V	> 100000

Tabla 3. Clases de miel según su riqueza polínica.

Es difícil evaluar la proporción del néctar de las distintas plantas que han contribuido a una muestra de miel a partir del análisis polínico, si no se ha determinado previamente, de una manera general, la relación que existe entre la cantidad del néctar de cada especie con la que se ha elaborado la miel y el contenido polínico de esa especie en la miel (García, 2003). Así pues, en mieles populares como las de azahar o romero, los análisis polínicos de la miel realizados por diversos autores hace que la relación néctar/polen sea conocida, habiéndose tipificado los contenidos polínicos de sus sedimentos (Sáenz & Gómez, 2000). A modo de ejemplo, las mieles de romero suelen presentar bajas concentraciones de polen dado que esta especie produce pocos granos de polen y, por tanto, si la abeja emplea como materia prima para la elaboración de miel el néctar del romero, la miel tendrá en

consecuencia baja riqueza polínica. Otros factores pueden modificar la riqueza polínica de la miel, los cuales están recogidos en el subapartado 2.1.3. *Objetivos de la melisopalinología* (Pág. 4).

3.3. Metodología.

Las muestras se someten a un análisis polínico de la miel que permitirá visualizar el polen contenido en el sedimento polínico de la miel. El procedimiento que emplearemos en la preparación de las muestras es el propuesto por Louveaux en 1968 y seguido por Carretero en 1989 pero modificado.

Pasos para la preparación y montaje de las muestras:

1. Se pesan 10 gr de muestra de miel (bien homogeneizada) en un vaso de precipitado y se le añaden 20 ml de agua acidulada con H_2SO_4 al 0.5%.
Es preciso que la muestra sea homogeneizada previamente al proceso de preparación. Para ello las muestras han sido calentadas a 50°C durante el día anterior a la preparación, introduciéndolas en una estufa.
2. Con ayuda de una varilla de vidrio se remueve la disolución hasta que se diluye la miel en el agua acidulada con H_2SO_4 al 0.5%.
3. El contenido del vaso de precipitado una vez diluida la miel se vierte en 3 tubos de centrífuga que se centrifugan en una centrifugadora durante 10 minutos a 2500 rpm.
4. Tras este primer lavado el sedimento polínico queda en el fondo de los tubos de centrífuga. Se elimina el sobrante hasta un milímetro y se agita el fondo de cada tubo de centrífuga diluyendo el sedimento polínico. El contenido de los 3 tubos de centrífuga se junta en único tubo de centrífuga que se enrasa con agua acidulada con H_2SO_4 al 0.5%. Es importante limpiar las paredes de los tubos para recoger el máximo posible de sedimento polínico.
5. Se realizan dos lavados adicionales con agua acidulada con H_2SO_4 al 0.5% de 10 minutos y a 2500 rpm. El objetivo con estos lavados adicionales es eliminar el azúcar del sedimento para facilitar la visualización posterior del polen al microscopio óptico. Durante este paso tiene lugar un último lavado en el que además del agua acidulada con H_2SO_4 al 0.5% se añaden unas gotas

de agua con fucsina (colorante) que mejorará la visualización de los granos de polen.

6. Una vez realizado este último lavado, se enrasa hasta 1 mm y se somete el tubo de centrífuga a una fuerte agitación. Se cogen 2 alícuotas de 10 µl con una micropipeta a distintas profundidades, una en superficie y otra en el fondo con la finalidad de minimizar la posible heterogeneidad en la distribución del polen dentro del tubo de centrífuga. Las alícuotas se depositan en un portaobjetos debidamente etiquetado con los datos de la muestra y se tapan con un cubreobjetos para cada alícuota. Como realizaremos el conteo del polen (análisis cuantitativo de la miel) de forma inmediata a la preparación de la muestra no realizamos un sellado con esmalte para evitar la desecación.
7. El contenido del tubo de centrífuga se lava con agua acidulada con H₂SO₄ al 0.5% y unas gotas de agua con fucsina una vez más durante 10 minutos a 2500 rpm.
8. Se elimina el sobrante teniendo cuidado de conservar intacto el sedimento polínico. Se extrae una alícuota de 10 µl directamente del sedimento polínico. El objetivo es extraer la máxima cantidad posible de granos de polen para elaborar y estudiar el espectro polínico de la miel (análisis cualitativo de la miel). La alícuota se deposita sobre el portaobjetos, debidamente etiquetado con los datos de la muestra, y este se coloca sobre una estufa para reducir la humedad de la alícuota pero sin dejar que se seque por completo. Tras esto se retira el portaobjetos de la estufa y se le añade una gota de glicerogelatina que se mezcla con ayuda de una lanceta con la alícuota y se cubre con un cubreobjetos, esto inmoviliza los granos de polen permitiendo y facilitando su identificación.

Visualización de las preparaciones:

Para el análisis polínico cuantitativo de la miel, se toma el portaobjetos sobre el que se depositaron las dos alícuotas tomadas a distintas profundidades tras someter el contenido del tubo de centrífuga a una fuerte agitación. Se empleó una plantilla de acetato de líneas separadas un milímetro entre ellas para usarla de guía a la hora de hacer el recuento de los granos de polen contenidos en cada alícuota. La visualización de los granos para el conteo se realizó con un microscopio óptico con el aumento de 10 x 10, que permite observar en su totalidad el espacio delimitado

por las líneas de la plantilla. Se contaron en su totalidad todos los granos de polen presentes en cada alícuota. Posterior con los valores obtenidos se calculó la concentración de granos de polen por gramo de miel, de la siguiente forma.

$$\left(\frac{n^{\circ} \text{ granos de polen alícuota superior} + n^{\circ} \text{ granos de polen alícuota inferior}}{2} \right) \times 10$$

Con la concentración calculada se le asigna a cada miel su respectiva Clase (Maurizio, 1939), según su riqueza polínica.

Para el análisis polínico cualitativo de la miel, tomamos el portaobjetos sobre el que se ha depositado la alícuota recogida directamente del sedimento polínico. Para la identificación y conteo de los granos de polen empleamos un microscopio óptico con el aumento de 40 x 10, que permite diferenciar las características morfológicas de la exina de los distintos tipos polínicos.

Para llevar a cabo este análisis se realizaron barridos con el microscopio desde cuatro puntos marcados sobre el portaobjetos. Para sistematizar la forma de trabajo como referencia siempre empezábamos el barrido en el segundo punto. El barrido debe efectuarse hasta tener una $n = 30-50$, que es el tamaño de muestra recomendado, en nuestro caso para aumentar la representatividad de los resultados, se prolongaba hasta obtener una $n = \pm 100$.

Una vez tenemos el n° de granos de polen identificados, se calcula el porcentaje de cada uno de ellos respecto al total, obteniéndose así el espectro polínico de la miel que nos permitirá clasificarla como monofloral o multifloral, si hay dominancia o no de un tipo polínico sobre los demás, en base a los criterios comentados en el apartado 3.2. *El análisis polínico* (pág. 10) y recopilados en la *Tabla 2* (pág. 11).

4. RESULTADOS.

Como comentamos en el *Capítulo 3* (pág. 8) del presente trabajo, las muestras fueron divididas en dos series de estudio para facilitar la comprensión de los resultados arrojados por el análisis polínico.

4.1. Serie de mieles comerciales.

4.1.1. Análisis polínico cuantitativo.

Tras realizar el análisis polínico cualitativo de las mieles comerciales obtenemos el nº de granos de polen por gramos de miel de cada muestra (Tabla 4), con esto asignamos a cada una de ellas su respectiva clase de riqueza polínica, propuestas por Maurizio en 1939, detalladas en la *Tabla 3* (pág. 11). Casi la totalidad de las muestras analizadas en esta serie presentan valores de riqueza polínica correspondientes a las clases II y III. Así, de las 14 muestras examinadas vemos que hay 6 muestras de clase II, en las que el contenido polínico oscila entre los 2900 y 9905 granos de polen, 7 muestras de clase III, cuya riqueza polínica oscila entre los 10490 y 40300 pólenes, y 1 muestra de clase IV, que presenta una concentración de 54130 granos de polen por gramo de miel.

Muestra	Alícuota Superior (nº granos)	Alícuota Inferior (nº granos)	Media	nº granos/gr de miel	Clase de Maurizio
C1	279	301	290	2900	II
C2	489	381	435	4350	II
C3	1087	1011	1049	10490	III
C4	744	731	737,5	7375	II
C5	1347	2553	1950	19500	III
C6	758	778	768	7680	II
C7	5651	5175	5413	54130	IV
C8	4107	3953	4030	40300	III
C9	2435	2014	2225	22245	III
C10	3682	3408	3545	35450	III
C11	595	596	595,5	5955	II
C12	2345	3384	2865	28645	III
C13	1144	1328	1236	12360	III
C14	886	1095	990,5	9905	II

Tabla 4. Detalla los granos de polen recontados en cada alícuota, la media entre ellos y la concentración de granos de polen por gramo de miel, así la clase de Maurizio correspondiente a cada muestra de miel comercial.

4.1.2. Análisis polínico cualitativo.

En este subapartado las diferentes tipologías de mieles han sido divididas según su etiquetado comercial para mejorar la visualización y comprensión de los resultados hallados con el análisis polínico cualitativo, realizando el espectro polínico de las distintas muestras. Para todas las muestras sometidas a análisis se procedió a identificar un número de pólenes suficiente para determinar su espectro polínico, que aun dependiendo de la riqueza en polen de las distintas mieles, en todos los casos se superaron los 100 granos de polen identificados. En la descripción de los resultados, se incluye el número de granos de polen totales que fueron visualizados para realizar el espectro polínico respectivo de cada muestra de miel. La información desglosada por tipos polínicos por número de granos de polen contados también está disponible (Tabla 5).

Especie	nº granos contados en mieles comerciales													
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14
<i>Asteraceae</i>	2	1	1	3	4	2	1	2	1	1	3	5	3	3
<i>Boraginaceae</i>	-	-	-	-	-	3	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>Brassicaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11
<i>Castanea (Fagaceae)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	-	-	-	-
<i>Cistus (Cistaceae)</i>	4	2	2	-	4	-	-	-	-	2	-	3	2	2
<i>Citrus (Rutaceae)</i>	27	21	5	9	29	37	-	2	-	-	36	-	-	-
<i>Convolvulus (Convolvulaceae)</i>	-	-	-	2	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Cucumis (Cucurbitaceae)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	4	41	33	1	1	5	3	3	5	43	16	-	37	-
<i>Ericaceae</i>	-	-	-	1	6	-	-	1	-	5	-	-	-	-
<i>Eucalyptus (Myrtaceae)</i>	1	4	1	2	-	3	94	86	-	19	7	-	-	6
<i>Fabaceae</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Genisteae (Fabaceae)</i>	-	3	10	10	8	8	-	-	-	-	7	-	-	-
<i>Lamiaceae</i>	4	2	2	-	1	-	1	-	2	1	-	15	3	-
<i>Lupinus (Fabaceae)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Malvaceae</i>	1	-	-	1	1	-	-	-	-	1	-	51	-	-
<i>Oleaceae</i>	10	10	7	24	15	20	-	-	11	3	10	3	10	10
<i>Pinus (Pinaceae)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>Plantago (Plantaginaceae)</i>	-	1	1	-	2	-	-	-	-	1	-	-	5	6
<i>Poaceae</i>	-	-	4	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Prunus (Rosaceae)</i>	9	2	8	12	3	4	1	-	21	2	2	-	11	15
<i>Ranunculaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Rosaceae</i>	19	6	8	14	12	16	2	-	11	11	4	16	17	15
<i>Rosmarinus (Lamiaceae)</i>	-	-	-	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19
<i>Rubus (Rosaceae)</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-
<i>Rutaceae</i>	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Santalaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2

<i>Tamaricaceae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Tilia (Malvaceae)</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
No Identificados	24	7	15	21	16	15	6	8	25	6	15	19	13	22
TOTAL	105	100	101	128	102	116	108	102	137	107	100	114	101	115

Tabla 5. Espectro polínico de las mieles comerciales analizadas. El tamaño muestral mínimo de granos de polen visualizados ha sido 100.

A continuación, se precede a presentar los resultados pormenorizados divididos por tipologías de mieles.

- Mieles de castaño.

Corresponden a las muestras C9 Y C13, de cuyos espectros polínicos (Tabla 6, Gráfico 1) se extrae la siguiente información, que en C9 el tipo polínico dominante resulto ser del género *Castanea* con un 36,5% del espectro polínico, en C13 el polen dominante fue el género *Echium* con el 36,63% de pólenes presentes. En ambas muestras el segundo polen más abundante es el de los pólenes de la familia *Rosaceae*, entre los que destaca el género *Prunus*, seguido por los representantes de la familia *Oleaceae*. El porcentaje de pólenes no identificados es del 18,25% en la muestra C9 y del 12,87% en la muestra C13.

Especie	C9	C13
<i>Asteraceae</i>	0,73	2,97
<i>Castanea (Fagaceae)</i>	36,50	-
<i>Cistus (Cistaceae)</i>	-	1,98
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	3,65	36,63
<i>Lamiaceae</i>	1,46	2,97
<i>Oleaceae</i>	8,03	9,90
<i>Plantago (Plantaginaceae)</i>	-	4,95
<i>Prunus (Rosaceae)</i>	15,33	10,89
<i>Ranunculaceae</i>	0,73	-
<i>Rosaceae</i>	8,03	16,83
<i>Rubus (Rosaceae)</i>	6,57	-
<i>Tamaricaceae</i>	0,73	-
No Identificados	18,25	12,87

Tabla 6. Espectro polínico de las muestras C9 y C13, catalogadas en origen como mieles monoflorales de castaño.

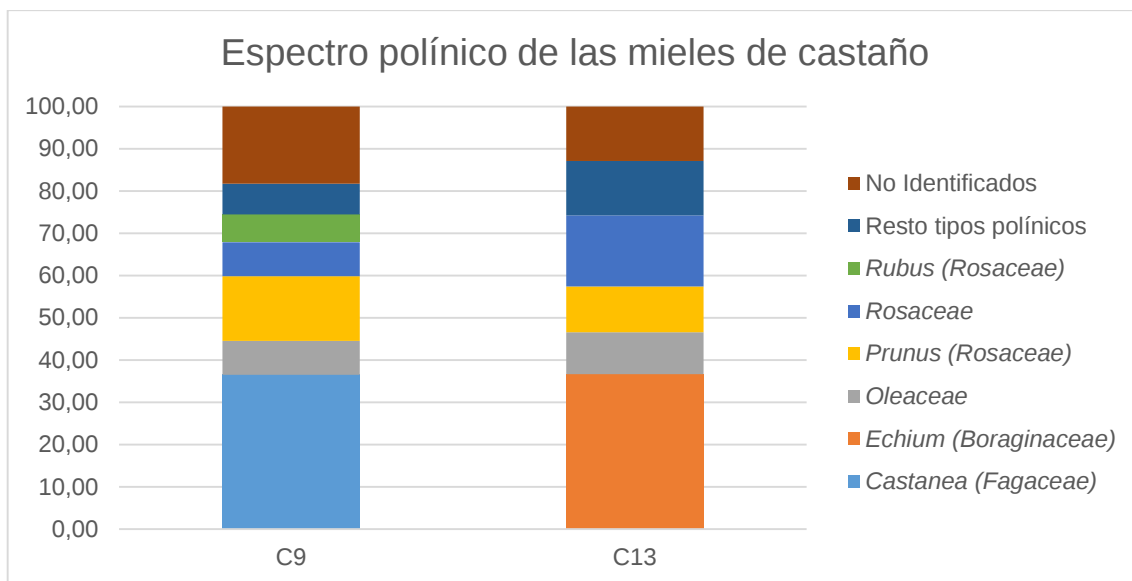


Gráfico 1. Representación visual de los espectros polínicos de las muestras C9 y C13, etiquetadas en origen como mieles monoflorales de castaño.

- Mieles de romero.

Están representadas en el estudio por las muestras C4 y C14, de sus espectros polínicos (Tabla 7, Gráfico 2) observamos que para C4, de los granos de polen identificados domina el perteneciente al género *Rosmarinus* con el 21,09%, otros porcentajes significativos son el de género *Citrus* 7,03%, *Genisteae* 7,81%, de las familias *Oleaceae* 18,75% y *Rosaceae*, donde destaca el género *Prunus*. El porcentaje de Pólenes no identificados fue del 16,41%. En la visualización de la muestra C14, el polen más representado es el del género *Rosmarinus* con un 16,52%, otros porcentajes destacables son de los géneros *Brassicaceae* 9,57%, *Eucalyptus* 5,22%, *Plantago* 5,22% y de las familias *Oleaceae* 8,7% y *Rosaceae* 26,08%, siendo el género *Prunus* el más representado de esta última familia. El porcentaje de polen no identificado es de 19,13%.

Especie	C4	C14
<i>Asteraceae</i>	2,34	2,61
<i>Brassicaceae</i>	-	9,57
<i>Cistus (Cistaceae)</i>	-	1,74
<i>Citrus (Rutaceae)</i>	7,03	-
<i>Convolvulus (Convolvulaceae)</i>	1,56	-
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	0,78	-
<i>Ericaceae</i>	0,78	-
<i>Eucalyptus (Myrtaceae)</i>	1,56	5,22
<i>Fabaceae</i>	0,78	-
<i>Genisteae (Fabaceae)</i>	7,81	-
<i>Malvaceae</i>	0,78	-
<i>Lupinus (Fabaceae)</i>	-	0,87
<i>Oleaceae</i>	18,75	8,70
<i>Plantago (Plantaginaceae)</i>	-	5,22
<i>Poaceae</i>	-	-
<i>Prunus (Rosaceae)</i>	9,38	13,04
<i>Rosaceae</i>	10,94	13,04
<i>Rosmarinus (Lamiaceae)</i>	21,09	16,52
<i>Rutaceae</i>	-	2,61
<i>Santalaceae</i>	-	1,74
No Identificados	16,41	19,13

Tabla 7. Espectro polínico de las muestras C4 y C14, catalogadas en origen como mieles monoflorales de romero.

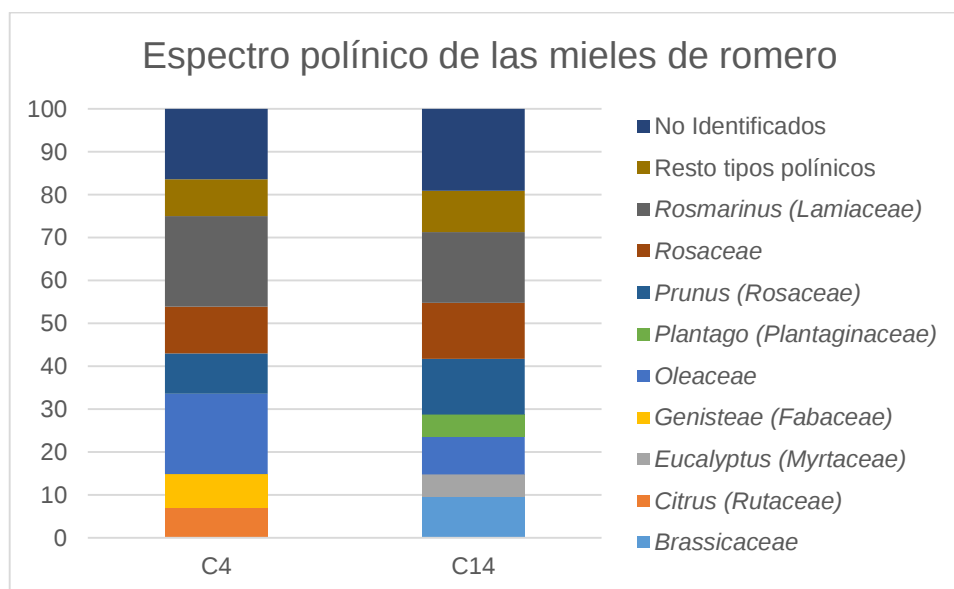


Gráfico 2. Representación visual de los espectros polínicos de las muestras C4 y C14, etiquetadas en origen como mieles monoflorales de romero.

- Mieles de eucalipto.

Las muestras C7 y C8 se corresponden con las mieles de eucalipto. Dentro de C7, ejercen dominancia los granos de polen del género *Eucalyptus* con un porcentaje del 87,04%, estando el resto de tipologías polínicas poco representadas. El 5,56% de los pólenes no pudieron ser identificados. En la muestra C8, el género *Eucalyptus* presenta un porcentaje del 84,31%, estando infrarrepresentados el resto de tipos polínicos. Un 7.84% de los granos de polen no fueron identificados. Sus espectros polínicos se detallan a continuación (Tabla 8, Gráfico 3).

Especie	C7	C8
<i>Asteraceae</i>	0,93	1,96
<i>Citrus (Rutaceae)</i>	-	1,96
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	2,78	2,94
<i>Ericaceae</i>	-	0,98
<i>Eucalyptus (Myrtaceae)</i>	87,04	84,31
<i>Lamiaceae</i>	0,93	-
<i>Prunus (Rosaceae)</i>	0,93	-
<i>Rosaceae</i>	1,85	-
No Identificados	5,56	7,84

Tabla 8. Espectro polínico de las muestras C7 y C8, catalogadas en origen como mieles monoflorales de eucalipto.

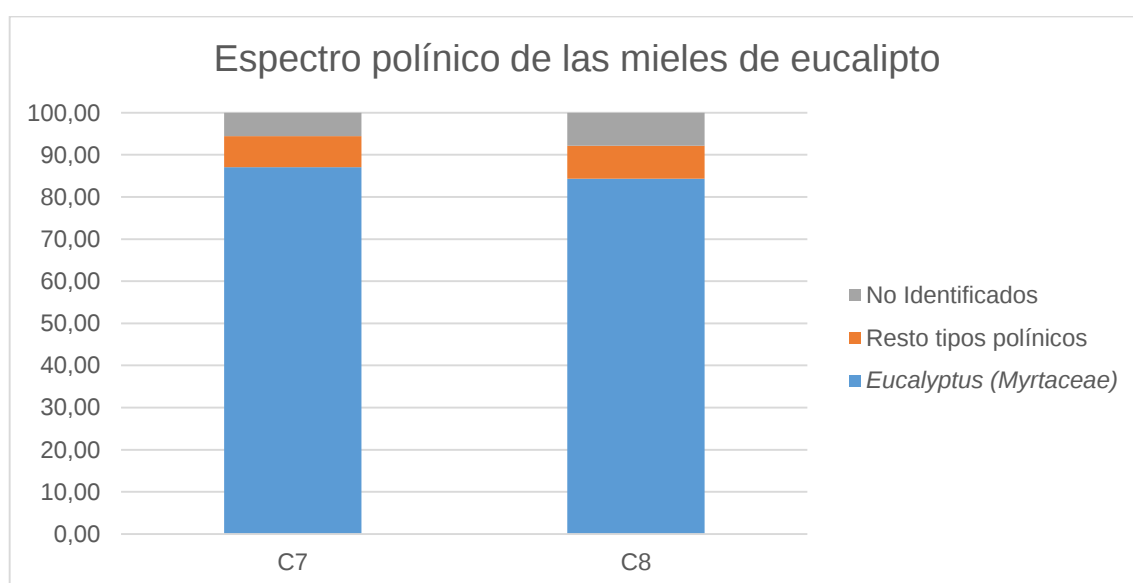


Gráfico 3. Representación visual de los espectros polínicos de las muestras C7 y C8, etiquetadas en origen como mieles monoflorales de eucalipto.

- Mieles de azahar.

Las mieles de azahar corresponden a las muestras C1, C2, C5, C6 y C11. Tras elaborar sus respectivos espectros polínicos (Tabla 9, Gráfica 4) se obtuvo que para C1, domina el género *Citrus* con el 25,71% de los pólenes, estando representados de forma significativa también las tipologías polínicas de la familia *Oleaceae* 9,52% y *Rosaceae* 26,67% , destacando el polen del género *Prunus*. El porcentaje de polen no identificado fue del 22,86%.

En C2 el polen más representado es el perteneciente al género *Echium* 41%, las tipologías del género *Citrus* 21%, y de las familias *Oleaceae* 10% y *Rosaceae* 8% tienen una representación estimable. El porcentaje de granos de polen no identificados es del 7%.

Para C5 los pólenes más representados son los del género *Citrus* 28,43%. Otros porcentajes cuya representación es significativa son de la familia *Ericaceae* 5,88%, *Oleaceae* 14,71% y *Rosaceae* 14,7% y del género *Genisteae* 7,84%. Un 15,69% de granos de polen no fueron identificados.

En la muestra C6 es el género *Citrus* 31,9% la tipología polínica más representada seguida por el polen correspondiente al género *Genisteae* 6,9% y las familias *Oleaceae* 17,24% y *Rosaceae* 17,24%. No se identificaron el 12,93% de pólenes presentes en la muestra.

En la muestra C11 la tipología polínica más significativa se corresponde con el género *Citrus* 36%, que dando también ampliamente representados los pólenes de los géneros *Echium* 16%, *Eucalyptus* 7% y *Genisteae* 7%. La familia *Oleaceae* presenta un porcentaje del 10%, quedando el 15% de los granos de polen visualizados sin identificar.

Especie	C1	C2	C5	C6	C11
<i>Asteraceae</i>	1,90	1,00	3,92	1,72	3,00
<i>Boraginaceae</i>	-	-	-	2,59	-
<i>Cistus (Cistaceae)</i>	3,81	2,00	3,92	-	-
<i>Citrus (Rutaceae)</i>	25,71	21,00	28,43	31,90	36,00
<i>Convolvulus (Convolvulaceae)</i>	-	-	-	0,86	-
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	3,81	41,00	0,98	4,31	16,00
<i>Ericaceae</i>	-	-	5,88	-	-
<i>Eucalyptus (Myrtaceae)</i>	0,95	4,00	-	2,59	7,00
<i>Genisteae (Fabaceae)</i>	-	3,00	7,84	6,90	7,00
<i>Lamiaceae</i>	3,81	2,00	0,98	-	-
<i>Malvaceae</i>	0,95	-	0,98	-	-
<i>Oleaceae</i>	9,52	10,00	14,71	17,24	10,00
<i>Plantago (Plantaginaceae)</i>	-	1,00	1,96	-	-
<i>Poaceae</i>	-	-	-	0,86	-
<i>Prunus (Rosaceae)</i>	8,57	2,00	2,94	3,45	2,00
<i>Rosaceae</i>	18,10	6,00	11,76	13,79	4,00
<i>Tilia (Malvaceae)</i>	-	-	-	0,86	-
No Identificados	22,86	7,00	15,69	12,93	15,00

Tabla 9. Espectro polínico de las muestras C1, C2, C5, C6 y C11, catalogadas en origen como mieles monoflorales de azahar.

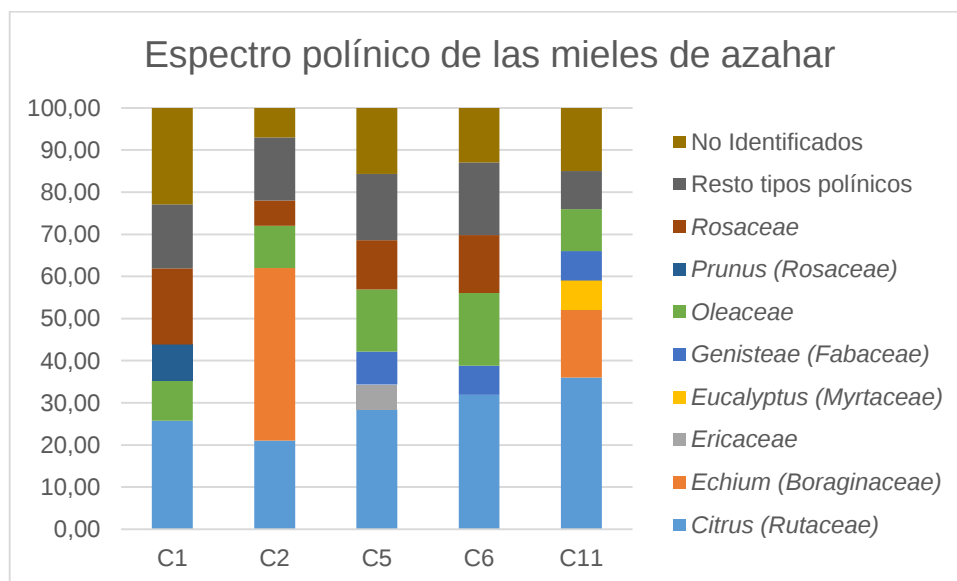


Gráfico 4. Representación visual de los espectros polínicos de las muestras C1, C2, C5, C6 y C11, etiquetadas en origen como mieles monoflorales de azahar.

- Otras mieles.

Las muestras cuyos resultados comentaremos seguidamente (Tabla 10, Gráfico 5) son la C3, miel de mil flores, la C10, miel de brezo y la C12, miel de

espliego. Para la muestra C3, los pólenes del género *Echium* son los más representados con un 32,67% de total. Otros tipos polínicos representativos son los de las familias *Oleaceae* 6,93% y *Rosaceae* 15,84%, siendo el género *Prunus* 7,92% el más representado de esta familia, y el género *Genisteae* 9,9%. Estando el 14,85% de los granos visualizados catalogados como no identificados.

En C10, el género *Echium* 40,19% la tipología más representada, seguida de las de los géneros *Cucumis* 7,48% y *Eucalyptus* 17,76%, y de la familia *Rosaceae* 12,15%. El porcentaje de pólenes no identificados fue del 5,61%.

Durante visualización de la muestra C12, el tipo polínico más representado corresponde a la familia *Malvaceae* 44,74%, seguido por los porcentajes de pólenes de la familia *Lamiaceae* 13,16% y *Rosaceae* 14,04%. Estando no identificados el 16,67% de los granos de polen.

Especie	C3	C10	C12
<i>Asteraceae</i>	0,99	0,93	4,39
<i>Boraginaceae</i>	-	1,87	-
<i>Cistus (Cistaceae)</i>	1,98	1,87	2,63
<i>Citrus (Rutaceae)</i>	4,95	-	-
<i>Convolvulus (Convolvulaceae)</i>	-	0,93	-
<i>Cucumis (Cucurbitaceae)</i>	-	7,48	-
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	32,67	40,19	-
<i>Ericaceae</i>	-	4,67	-
<i>Eucalyptus (Myrtaceae)</i>	0,99	17,76	-
<i>Fabaceae</i>	-	0,93	-
<i>Genisteae (Fabaceae)</i>	9,90	-	-
<i>Lamiaceae</i>	1,98	0,93	13,16
<i>Lupinus (Fabaceae)</i>	-	-	0,88
<i>Malvaceae</i>	-	0,93	44,74
<i>Oleaceae</i>	6,93	2,80	2,63
<i>Pinus (Pinaceae)</i>	-	-	0,88
<i>Plantago (Plantaginaceae)</i>	0,99	0,93	-
<i>Poaceae</i>	3,96	-	-
<i>Prunus (Rosaceae)</i>	7,92	1,87	-
<i>Ranunculaceae</i>	-	-	-
<i>Rosaceae</i>	7,92	10,28	14,04
<i>Rutaceae</i>	3,96	-	-
No Identificados	14,85	5,61	16,67

Tabla 10. Espectro polínico de las muestras C3, C10 y C12, catalogadas en origen como miel de mil flores, miel monofloral de brezo y miel monofloral de espliego, respectivamente.

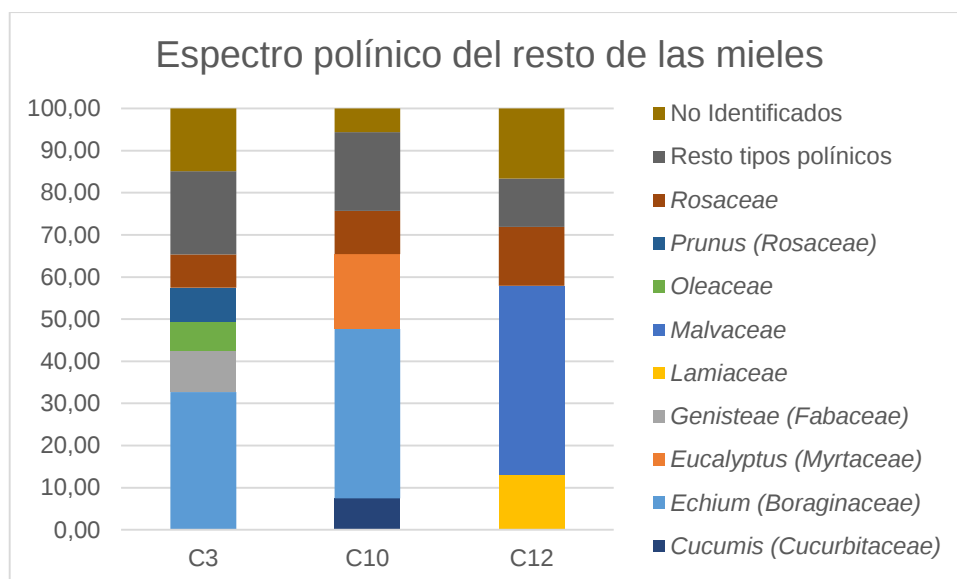


Gráfico 5. Representación visual de los espectros polínicos de las muestras C3, C10 y C12, etiquetadas en origen como miel de mil flores, miel monofloral de brezo y miel monofloral de espliego, respectivamente.

4.2. Serie de mieles a granel.

4.2.1. Análisis polínico cuantitativo.

Con la realización del análisis polínico cualitativo de las mieles a granel obtenemos el nº de granos de polen por gramo de miel de cada muestra (Tabla 11), con esto asignamos a cada una de ellas su respectiva clase de riqueza polínica (Maurizio, 1939) que fueron detalladas en la *Tabla 3* (pág. 11). De las 6 muestras estudiadas vemos que hay 2 muestras de clase II, que tienen una riqueza polínica que oscila entre los 7750 y 8265 pólenes, 3 muestras de clase III, con una concentración de polen comprendida entre los 14300 y 42795 granos de polen y 1 muestra de clase IV, con un valor de 57870 granos de polen por gramo de miel.

Muestra	Alícuota Superior (nº granos)	Alícuota Inferior (nº granos)	Media	nº granos/gr de miel	Clase de Maurizio
G2	1473	1387	1430	14300	III
G3	740	810	775	7750	II
G4	3687	4702	4194,5	41945	III
G5	5163	6411	5787	57870	IV
G6	820	833	826,5	8265	II
G7	4122	4437	4279,5	42795	III

Tabla 11. Detalla los granos de polen recontados en cada alícuota, la media entre ellos y la concentración de granos de polen por gramo de miel, así la clase de Maurizio correspondiente a cada muestra de miel a granel.

4.2.2. Análisis polínico cualitativo.

En este apartado, comentaremos los resultados obtenidos del análisis polínico cualitativo de miles a granel, de catalogación de origen desconocida. Los espectros polínicos (Tabla 13, Gráfico 6) realizados dilucidaran el origen floral de la muestras de miel, aunque esto será tratado en el *Capítulo 5* (pág. 28). En la descripción de los resultados de las muestras de miel, se incluye el número de granos de polen totales que fueron visualizados para realizar el espectro polínico respectivo de cada muestra de miel, en todos los casos fueron más de 100 los granos de polen visualizados. La información desglosada por tipos polínicos por número de granos de polen contados también está disponible (Tabla 12).

nº granos contados en mieles a granel						
Especie	G2	G3	G4	G5	G6	G7
<i>Asteraceae</i>	-	-	-	1	4	-
<i>Berberidaceae</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Boraginaceae</i>	3	-	-	5	10	4
<i>Crataegus (Rosaceae)</i>	1	-	4	3	-	-
<i>Cistus (Cistaceae)</i>	-	-	3	6	-	2
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	-	-	-	-	4	27
<i>Ericaceae</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Eucalyptus (Myrtaceae)</i>	-	-	1	4	6	11
<i>Fraxinus (Oleaceae)</i>	4	6	-	-	-	-
<i>Genisteae (Fabaceae)</i>	12	5	9	5	15	5
<i>Lamiaceae</i>	16	34	14	18	3	2
<i>Malvaceae</i>	-	-	-	4	-	1
<i>Oleaceae</i>	12	12	2	7	7	21
<i>Pinaceae</i>	4	1	1	1	-	-
<i>Plantago (Plantaginaceae)</i>	11	22	6	9	-	-
<i>Poaceae</i>	1	-	9	1	-	-

<i>Prunus</i> (<i>Rosaceae</i>)	20	3	27	14	25	35
<i>Rosaceae</i>	22	14	15	22	16	24
<i>Rubiaceae</i>	-	-	-	5	-	1
<i>Rutaceae</i>	1	-	-	1	2	2
<i>Tamarix</i> (<i>Tamaricaceae</i>)	-	1	-	3	-	1
No Identificado	8	10	16	14	9	9
TOTAL	115	109	107	124	101	145

Tabla 12. Espectro polínico de las mieles a granel analizadas. El tamaño muestral mínimo de granos de polen visualizados ha sido 100.

En el análisis de la muestra G2, el tipo polínico mayormente representado fue el de la familia *Rosaceae* 37,39%, dentro de esta familia el género más representado es *Prunus* 17,39%. Otros pólenes ampliamente representados son los correspondientes a los géneros *Genisteae* 10,43% y *Plantago* 9,57% y a las familias *Lamiaceae* 13,91% y *Oleaceae* 13,91%. El porcentaje de pólenes no identificados es del 6,96%.

Para la muestra G3, la tipología polínica más representada es la aportada por la familia *Lamiaceae* 31,19%, otras presencias polínicas significativas son las de las familias *Oleaceae* 16,51% y *Rosaceae* 15,59%, y la del género *Plantago* 20,18%. No fue identificado el 9,17% de los granos de polen observados.

Durante la visualización de la muestra G4, los pólenes más representados son los de la familia *Rosaceae* 42,99%, entre los que destacan el polen del género *Prunus* 25,23%. Otros porcentajes de polen amplios serían los de los géneros *Genisteae* 8,41% y *Plantago* 5,61%, y las familias *Poaceae* 8,41% y *Lamiaceae* 13,08%. El porcentaje de polen no identificado fue del 14,95%.

En G5, el tipo polínico mayoritario corresponde con la familia *Rosaceae* 31,45%, dentro de pólenes de esta familia los más representados son los del género *Prunus* 11,29%. Son también significantes los porcentajes de las familias *Lamiaceae* 14,52% y *Oleaceae* 5,65%, y del género *Plantago* 7,26%. Quedaron sin identificar el 11,29% de los pólenes.

En la muestra G6, la tipología polínica dominante corresponde a los pólenes de la familia *Rosaceae* 40,59%, entre ellos destaca el polen del género *Prunus* 24,75%. Otros porcentajes significativos son los referentes a pólenes de la familia *Boraginaceae* 9,9% y *Oleaceae* 6,93%, y de los géneros *Eucalyptus* 5,94% y *Genisteae* 14,85%. El porcentaje de granos de polen sin identificar fue del 8,91%.

En la visualización de la muestra G7, los pólenes de la familia *Rosaceae* resultaron ser los más representados con un 40,69%, entre ellos destaca el género *Prunus* 24,14%. Otros porcentajes significativos son aportados por los granos de polen presentes del género *Eucalyptus* 7,59%, y de las familias *Oleaceae* 14,48% y *Boraginaceae* 21,38%, entre el polen presente en la muestra de esta última familia destaca el aportado por el género *Echium* 18,62%. Los pólenes no identificados ascendieron al 6,21% del total.

Especie	G2	G3	G4	G5	G6	G7
<i>Asteraceae</i>	-	-	-	0,81	3,96	-
<i>Berberidaceae</i>	-	-	-	0,81	-	-
<i>Boraginaceae</i>	2,61	-	-	4,03	9,90	2,76
<i>Crataegus (Rosaceae)</i>	0,87	-	3,74	2,42	-	-
<i>Cistus (Cistaceae)</i>	-	-	2,80	4,84	-	1,38
<i>Echium (Boraginaceae)</i>	-	-	-	-	3,96	18,62
<i>Ericaceae</i>	-	0,92	-	-	-	-
<i>Eucalyptus (Myrtaceae)</i>	-	-	0,93	3,23	5,94	7,59
<i>Fraxinus (Oleaceae)</i>	3,48	5,50	-	-	-	-
<i>Genisteae (Fabaceae)</i>	10,43	4,59	8,41	4,03	14,85	3,45
<i>Lamiaceae</i>	13,91	31,19	13,08	14,52	2,97	1,38
<i>Malvaceae</i>	-	-	-	3,23	-	0,69
<i>Oleaceae</i>	10,43	11,01	1,87	5,65	6,93	14,48
<i>Pinaceae</i>	3,48	0,92	0,93	0,81	-	-
<i>Plantago (Plantaginaceae)</i>	9,57	20,18	5,61	7,26	-	-
<i>Poaceae</i>	0,87	-	8,41	0,81	-	-
<i>Prunus (Rosaceae)</i>	17,39	2,75	25,23	11,29	24,75	24,14
<i>Rosaceae</i>	19,13	12,84	14,02	17,74	15,84	16,55
<i>Rubiaceae</i>	-	-	-	4,03	-	0,69
<i>Rutaceae</i>	0,87	-	-	0,81	1,98	1,38
<i>Tamarix (Tamaricaceae)</i>	-	0,92	-	2,42	-	0,69
No Identificado	6,96	9,17	14,95	11,29	8,91	6,21

Tabla 13. Espectro polínico de las muestras G2, G3, G4, G5, G6 y G7 que conforman el bloque de las mieles a granel y cuya catalogación es desconocida.

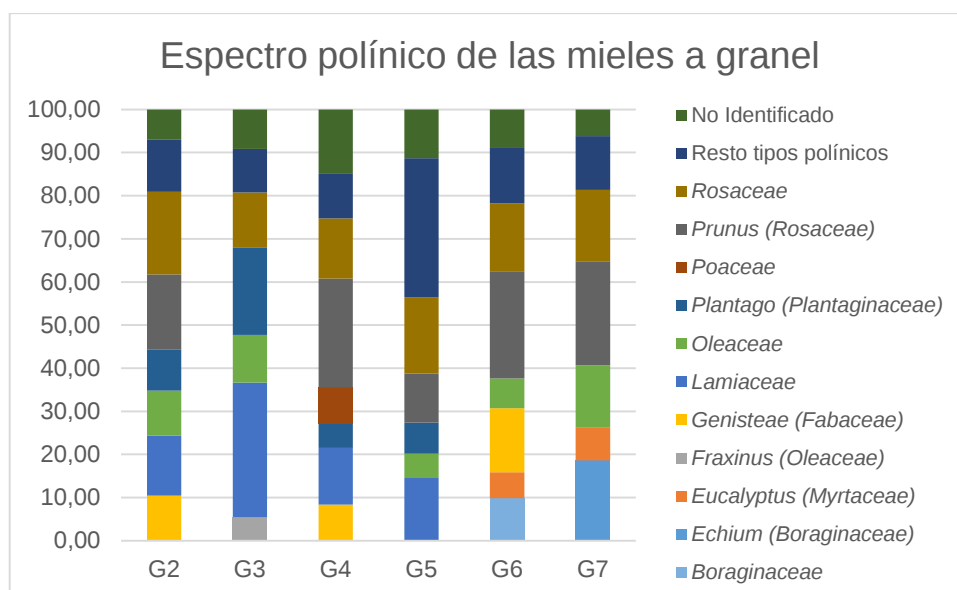


Gráfico 6. Representación visual de los espectros polínicos de las muestras G2, G3, G4, G5, G6 y G7, que forman el bloque de estudio de las mieles a granel y cuya catalogación es desconocida.

5. DISCUSIÓN.

Por el gran volumen de los datos obtenidos durante la realización del análisis polínico cuantitativo (se contaron 52257 granos de polen en las mieles de la serie C, comerciales, y 34585 granos de polen en las mieles de la serie G, a granel) y cualitativo (se identificaron 1498 pólenes en las mieles de la serie C y 701 pólenes en la serie de mieles G) de las mieles, para permitir una comprensión óptima de la discusión de los resultados, se empleará una estructuración por mieles similar que la recogida en el *Capítulo 4* (pág. 14).

En la tipificación que se realizará a continuación de las mieles tanto para comprobar la veracidad del etiquetado en las mieles comerciales (serie C) como para catalogar las mieles a granel (serie G), aportadas directamente por apicultores, se emplearán los criterios recogidos en el apartado 3.2. *El análisis polínico* (pág. 10) y sintetizados en la *Tabla 2* (pág. 11).

5.1. Mieles de la serie C.

Valoración de los resultados obtenidos por análisis polínico de las muestras de miel pormenorizado en función de su etiquetación comercial.

- Mieles de castaño.

Estas mieles están representadas por las muestras C9 y C13. Si bien, por su riqueza polínica, ambas están incluidas en la Clase III y la miel de castaño presenta un número de formas polínicas bajo, dato que coincide con la mayoría de las mieles consultadas en la bibliografía (Luis & Gómez, 1989). Ninguna de las muestras cumple con el criterio (DOP “Miel de Granada”) de que el polen de *Castanea sativa* este en una concentración superior al 75%. Así la miel C9, con un 36,5% de *Castanea sativa* sería catalogada como miel de la sierra, según los criterios empleados (> 20% *Castanea sativa*, DOP “Miel de Granada”). En la miel C13 no se detectó ningún grano de polen de *Castanea sativa*, siendo el polen más representado en la muestra el del género *Echium*, con un 36,63% pudiéndose catalogar esta miel como mil flores rica en *Echium*.

- Mieles de romero.

Representadas por las muestras C4 y C14, por cuya riqueza polínica se engloban en la Clase II, teniendo bajas concentraciones de polen que son típicas de este tipo de miel. Ambas muestras superan el 15% *Rosmarinus officinalis*, criterio (DOP “Miel de Granada”) para ser catalogadas como mieles monoflorales de romero, con un 21,09% en C4 y un 16,52% en C14. En base a estos datos, verificamos el correcto etiquetado de estas mieles como mieles monoflorales de romero. Comentar que en la muestra C4, la presencia de la familia *Oleaceae* es elevada, con un 18,75%, podría deberse a un aporte terciario de polen. Pero al desconocer la localización del colmenar tampoco podemos descartar que sea localmente importante como recurso de polen (Ortiz, 1990) en esa área.

- Mieles de eucalipto.

Corresponden a las muestras C7 y C8, por su riqueza polínica tienen asignadas Clase IV y Clase III respectivamente, siendo las mieles de la serie C (comerciales) que presentan mayores concentraciones de granos de polen por gramo de miel. En ambas muestras se supera el umbral del 75%, de género *Eucalyptus*, con un 87,04% en C7 y un 84,31% en C8. Por tanto, son consideradas mieles monoflorales de eucalipto coincidiendo nuestra valoración con el etiquetado del producto.

- Mieles de azahar.

Estas representadas por las muestras C1, C2, C5, C6 y C11 todas ellas englobadas en la Clase II, por su riqueza polínica, a excepción de la muestra C5 que pertenece a la Clase III. Las mieles de azahar son generalmente pobres en contenido polínico (García, 2003), estando infrarrepresentado en el sedimento de la miel el polen del género *Citrus*. Por ello, el criterio (DOP “Miel de Granada”) para considerar la monofloralidad de una miel como de azahar es que se debe superar el 15% de *Citrus sp.* En base a esto y con los datos obtenidos consideramos que todas las muestras pueden ser consideradas mieles monoflorales de azahar siendo veraz su etiquetado pues la representación de *Citrus sp.* Es del 25,71% en C1, 21% en C2, 28,43% en C5, 31,9% en C6 y 36% en C11. Comentaremos ahora dos peculiaridades, en la muestra C2, el contenido en pólenes del género *Echium* es del 41%, por lo que también se la podría considerar miel monofloral de viborera aunque no llegue al umbral del 45%. En las muestras C5 y C6, es peculiar el porcentaje de representantes polínicos de la familia *Oleaceae*, consideraremos su elevada presencia a causas similares a lo expuesto anteriormente, como un aporte terciario de polen o por su empleo como fuente local de polen.

- Otras mieles.

La muestra C3 esta etiquetada como miel de mil flores pero en base a los criterios (DOP “Miel de Granada”) empleados en el presente estudio, para

poder ser considerada como tal se debe superar una concentración en pólenes de la familia *Lamiaceae* del 5%. En la visualización mediante barridos del polen presente no identificaron granos de polen de la familia *Lamiaceae*. Pero por el amplio espectro polínico que presenta, podríamos definirla como tal. Debido a la elevada presencia de representantes polínicos del género *Echium*, 32,67%, nosotros la catalogaremos como miel mil flores rica en *Echium*.

La miel de brezo está representada por la muestra C10, para ser considerada como miel monofloral de brezo se debe superar un 45% de pólenes de *Erica sp.* estando mal etiquetada, pues los representantes de *Erica sp.* solo reúnen un 4,67%. En cambio el género *Echium*, tiene una presencia elevada con 40,19% por lo que se le podría considerar como miel monofloral de viborera, según la bibliografía consultada (García, 2003), aunque no se encuentre convenientemente tipificada y definida como tal esta tipología de miel.

La muestra C12, corresponde a una miel de espliego que para poder ser considerada monofloral debe superar el umbral de 15% de *Lavandula sp.* Esta muestra ha resultado ser de lo más curiosa pues los pólenes de *lavándula sp.* suman un 13,16% y la consideraremos como miel monofloral de espliego pero presenta un 44,74% de pólenes de la familia *Malvaceae*, pudiendo haber sido considerada también como miel monofloral de malva sino fuera porque esta miel no se encuentra definida ni tipificada como tal.

Las valoraciones sobre el correcto etiquetado o no de las distintas muestras analizadas en esta serie de mieles comerciales, se sintetizan a continuación (Tabla 14).

Muestra	Valoración del etiquetado comercial
C1	Correcto
C2	Correcto
C3	Correcto
C4	Correcto
C5	Correcto
C6	Correcto
C7	Correcto

C8	Correcto
C9	Incorrecto (Miel de la sierra)
C10	Incorrecto (Miel de viborera)
C11	Correcto
C12	Correcto
C13	Incorrecto (Miel de mil flores)
C14	Correcto

Tabla 14. Síntesis de las valoraciones sobre el etiquetado de las mieles de la serie C, entre paréntesis se incluye la tipificación que se les asigna en el estudio a las muestras incorrectamente catalogadas.

5.2. Mieles de la serie G.

Valoración de los resultados obtenidos de las muestras por análisis polínico de la miel y catalogación de las mismas en base a estos.

El análisis polínico de las siguientes muestras de miel a granel, ha revelado que se tratan de mieles monoflorales de romero, pues todas cumplen con los criterios establecidos (DOP “Miel de Granada”).

La muestra G2, presenta una cantidad significativa de *Rosmarinus officinalis* (13,91%), por lo tanto podríamos considerarla como una miel monofloral de romero. Además su riqueza polínica es baja (Clase III,), siendo esta una característica de este tipo de mieles. Presenta elevada riqueza a su vez en pólenes de la familia *Rosaceae*, concretamente del género *Prunus*.

La muestra G3, supera ampliamente el umbral de 15% de pólenes de *Rosmarinus officinalis*, representando el 31,19% del total de granos de polen visualizados. Su baja riqueza polínica clasificada como Clase II, es frecuente en las mieles de romero. Así pues, la catalogaremos como miel monofloral de romero, presentando también una concentración significativa de pólenes del género *Plantago*.

Las muestras G4 y G5, presentan una riqueza polínica elevada siendo englobadas en las clases III y IV respectivamente. Las concentraciones de *Rosmarinus officinalis* son del 13,08% en G4 y 14,52% en G5, por lo que las consideraremos mieles monoflorales de romero. La elevada riqueza polínica, anómala en este tipo de mieles, comentada puede deberse a fueron obtenidas por procesos de prensado

(Rodríguez *et al.*, 2013). Ambas muestras presentan elevadas concentraciones de pólenes de la familia *Rosaceae*, entre los que destacan los del género *Prunus*.

Mediante el estudio polínico de las muestras siguientes, se ha determinado que se tratan de mieles mil flores ricas en pólenes de la familia *Rosaceae*.

Las muestras G6 y G7, no pueden ser catalogadas, a priori, como miel de mil flores al carecer en su espectro polínico de representantes de la familia *Lamiaceae*, pues el criterio para esta tipología melífera es que los pólenes de esta familia deben superar el 5%. Pero por su elevada variedad de tipologías polínicas, nosotros las consideramos como mieles mil flores. A causa de que los pólenes más representados son de la familia *Rosaceae*, entre los cuales destacan los pólenes del género *Prunus*, consideraremos finalmente a estas como mieles mil flores ricas en *Rosaceae*. Comentar que la muestra G6 tiene también una elevada representación de polen del género *Genisteae* (14,85%) y que en G7 destaca el contenido en polen del género *Echium* (18,62%), en esta es reseñable a su vez el contenido en representantes polínicos de la familia *Oleaceae*, esto puede deberse a que el colmenar se enclava en un olivar ecológico y por tanto sería muy importante el aporte terciario de polen.

La catalogación dada a cada muestra de las serie de mieles a granel, esta resumida a continuación (Tabla 15).

Muestra	Catalogación
G2	Miel de romero
G3	Miel de romero
G4	Miel de romero
G5	Miel de romero
G6	Miel de mil flores
G7	Miel de mil flores

Tabla 15. Recopilación de las catalogaciones dadas a las mieles de la serie G.

6. CONCLUSIONES.

Tras realizar el análisis polínico de las 20 muestras de mieles y examinar los datos arrojados por este, podemos concluir que:

- 1) Se han contabilizado en la realización del análisis polínico cuantitativo de las mieles un total de 52257 granos de polen en las mieles comerciales y 34585 granos de polen en las mieles a granel. Que se han identificado 1498 pólenes en las mieles comerciales y 701 pólenes en las mieles a granel, en la ejecución del análisis polínico cualitativo de las mieles.
- 2) Han sido identificadas un total de 33 tipologías polínicas, de las cuales 17 tipos polínicos están presentes en ambas series de mieles, comerciales y a granel.
- 3) El análisis polínico cuantitativo de las muestras de miel ha revelado que en la serie de mieles comerciales hay 6 muestras categorizadas como Clase II cuya amplitud de rango es de 2900 a 9905 granos de polen por gramo de miel, 7 siete muestras Clase III con una oscilación de entre 10490 y 40300 granos de polen por gramo de miel y una muestra de Clase IV con una riqueza polínica de 54130 granos de polen por gramo de miel. En la serie de mieles a granel se sitúan 2 muestras de Clase II con concentraciones polínicas de 7750 y 8265 granos de polen por gramo de miel, 3 muestras de Clase III cuyo rango está comprendido entre los 14300 y 42795 granos de polen por gramo de miel y una muestra de Clase IV con una riqueza polínica de 57870 pólenes por granos de miel.
- 4) En el análisis cualitativo de las mieles comerciales, realizado a fin de verificar su etiquetado comercial, 11 muestras están convenientemente catalogadas y 3 de las muestras resultaron estar catalogadas erróneamente, siendo re-catalogadas.
- 5) Con la elaboración del espectro polínico de las muestras de la serie de mieles a granel, se han catalogado 4 muestras como mieles monoflorales de romero y 2 muestras como mieles de mil flores.
- 6) Se ha comprobado la utilidad del análisis polínico de la miel en la catalogación de mieles cuya tipología es desconocida y en el control de la calidad y del etiquetado de las mieles comerciales a disposición de los consumidores.

7. BIBLIOGRAFÍA

Alviz, V., Calleja, L., Pereira, M., Ruíz, L. & Calahorra, F.J. -2009- Visión actual de la apicultura en España. RCCV 3 (2): 139-148.

Andrés, C., Díez, M.J. & Terrab, A. -2006- Análisis polínico de mieles en el Parque Natural de Doñana. Polen 15: 45-53.

Andrés, C., Díez, M.J. & Terrab, A. -2004- Análisis Polínico de mieles de los Parques Naturales Sierra Norte de Sevilla y Sierras Subbéticas. Lazaroa 25: 125-133.

Arroyo, J., Devesa, J.A., Herrera, J., Ortiz, P. & Talavera, S. -1986- Resumen del Proyecto de Investigación: La flora melitofila (1) en Andalucía Occidental. Vida Apícola 18: 33-39.

Belmonte, J., Pérez-Obiol, R. & Roure, J.M. -1986- Claves para la determinación de los pólenes de las principales especies melíferas de la Península Ibérica. Orsis 2: 27-54.

Cano, E., Cano-Ortiz, A., Martínez, M.C. & Ala-Torre, J. -2008- Algunos hábitats de interés para la conservación en el sector subbético. Stud. Bot. 27: 143-162. Ediciones Universidad de Salamanca.

Carretero, J.L. -1989- Análisis polínico de la miel. 1-120 pp. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

Cómo obtener miel, polen y jalea real, y criar abejas. 1-79 pp. Susaeta Ediciones, S.A. Madrid.

Dupré, M. -1992- Palinología. Cuadernos Técnicos de la S.E.G. nº 5. Sociedad Española de Geomorfología. Geomorfa Ediciones (Logroño).

El sector de la miel en cifras. Principales indicadores económicos en 2015. Agosto de 2016. Subdirección General de Productos Ganaderos.

Fernández, I., Martín, M. & Ortiz, P.L. -1992- Contribución al conocimiento melitopalínológico de Sierra Morena. Lazaroa 13: 41-48.

Flora Vascular de Andalucía Oriental. Edit. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía.

García, R. -2003- Estudio palinológico y colorimétrico de mieles monoflorales de la Región de Murcia. Proyecto de Fin de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica. Universidad Politécnica de Cartagena. Departamento de Producción Agraria.

Gómez, C. & Sáenz, C. -1980- Análisis polínico de mieles de Cáceres (España). Anales Jard. Bot. Madrid 36: 191-201.

González-Romano, M.L. & Candau, P. -1989- Contribución a la Palinología de *Rosaceae*. Acta Botánica Malacitana (Málaga) 14: 105-116.

Herrero, F. -2004- 16 Cartilla de divulgación. Lo que vd. debe saber sobre: las abejas y la miel. 3-80 pp. Edición Caja España.

Iglesias, M.I., Jato, M.V. & Aira, M.J. -1993- Estudio palinológico de mieles de montaña de la Provincia de Orense (NW-España). Acta Botánica Malacitana (Málaga) 18: 119-123.

Indicación Geográfica Protegida (I.G.P.) “Mel de Galicia” o “Miel de Galicia”. Pliego de condiciones.

Louveaux, J. -1968- L'analyse pollinique des miels. In: Chauvin ed. Traité de biologie de l'abeille. Tome III. 325-362 pp. Masson & Cie. Paris (France).

Luis, P. de. & Gómez, C. -1989- Contribución al análisis polínico de mieles de Asturias Occidental (España). Botánica Complutensis 15: 163-173. Edit. Universidad Complutense.

Maidana, J.F., Herrera, H., Rojas, A., Mazzola, M., Fontanellaz, R. & Rodríguez, M. – Determinación de las características físico-químicas de mieles de Santiago del Estero.

Maurizio, A. -1939- Untersuchungen zur quantitativen Pollenanalyse des Honigs. Mitt. Geb. Lebensmittelunters 30: 29-69.

Maurizio, A. -1949- Pollenanalytische Untersuchungen an Honig und Pollenhöschchen. Beih. zur Schweiz. Bienen-Zeitung 18: 320-455.

Momentos miel. Intermiel, Interprofesional de la Miel y los Productos Apícolas. 14-61 pp.

Orden APA/3209/2002, de 3 de diciembre, por la que se ratifica el Reglamento de la Denominación de Origen Protegida “Miel de Granada” y de su Consejo Regulador.

Ortiz, P.L. -1985- Análisis polínico de mieles y celdillas de las Sierras del Sur de Córdoba (España). An. Asoc. Palinol. Leng. Esp. 2: 353-360.

Ortiz, P.L. -1990- Aportación melitopalínológica al conocimiento de la flora apícola del Norte de Córdoba. Lagasalia 15 (2): 165-177.

Ortiz, P.L. & Fernández, I. -1992- Estudio microscópico de miel y polen apícola de la Provincia de Sevilla. *Acta Botánica Malacitana* (Málaga) 17: 183-193.

Rodríguez, D., Sánchez, E., Sánchez, S. & Sánchez, J. -2013- Análisis Palinológico de mieles comerciales monoflorales. *Botánica Complutensis* 37: 171-180. Edit. Universidad Complutense.

Rodríguez, M.S., Escudero, O. & Seijo, M.C. -2012- Diferencias en los espectros polínicos de las mieles monoflorales de Eucalipto del Noroeste de la Península Ibérica en función de su procedencia biogeográfica. *Polen* 22: 39-51.

Sá, M.P. de., Díaz, E. & Arnesto, S. -2011- Caracterización de mieles de obtención artesanal y comerciales producidas en Galicia (NO de España) a partir de su Espectro Polínico y contenido proteico. *Botánica Complutensis* 35: 131-140. Edit. Universidad Complutense.

Sáenz, C. -2004- Glosario de términos palinológicos. *Lazaroa* 25: 93-112.

Sáenz, C. & Gómez, C. -2000- Mielles españolas. Características mediante el análisis del polen. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

Sánchez, C. & Sáenz, C. -1982- Análisis Polínico de mieles de Pontevedra (España). *Lazaroa* 4: 253-268.

Seijo, M.C. & Aira, M.J. -1999- Tipos polínicos de las mieles comercializadas de Galicia. *Acta Botánica Malacitana* (Málaga) 24: 101-111.

Seijo, M.C., Jato, V. & Aira, M.J. -1992- Variaciones intranuales del espectro polínico de miel de Nogueira de Ramuín (Orense). *Acta Botánica Malacitana* (Málaga) 17: 175-182.

Serna, I.E. la. - Las determinaciones melisopalinológicas en la tipificación de la miel y su aplicación al control de calidad.

Socorro, O. & Espinar, M.C. -1998- Estudio del polen con interés en apiterapia. 1-302 pp. Editorial Comares (Granada).

Talavera, S., Herrera, J., Arroyo, J., Ortiz, P.L. & Davesa, J.A. -1988- Estudio de la flora apícola de Andalucía Occidental. *Lagascalía* 15 (extra): 567-591.

Terrab, C., Díez, M.J. & Valdés, B. -1998- Análisis polínico de mieles de la zona noroccidental de Marruecos: Región de Tánger. *Polen* 9: 63-74.

Valdés, B., Díez, M.J. & Fernández, I. -1987- Atlas polínico de Andalucía Occidental. 1-450 pp. Instituto de Desarrollo Regional de la Universidad de Sevilla. Excma. Diputación de Cádiz. Sevilla.