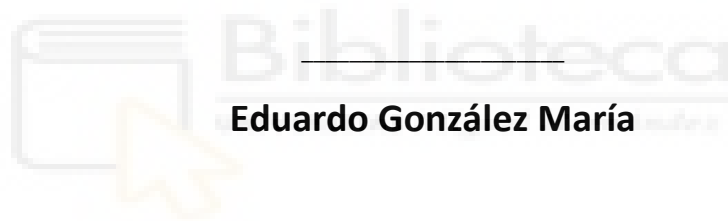




Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias, Agroambientales
y Alimentarias

Clasificación de mieles monoflorales mediante el uso de impedancia eléctrica y nariz electrónica



Eduardo González María

Director de la tesis

Dr. D. Antonio Ruiz Canales

Codirector de la tesis

Dr. D. Antonio Madueño Luna

Universidad Miguel Hernández de Elche

-2023-



La presente Tesis Doctoral, titulada CLASIFICACIÓN DE MIELES MONOFLORALES MEDIANTE EL USO DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA Y NARIZ ELECTRÓNICA se presenta bajo la modalidad de **tesis por compendio** de las siguientes **publicaciones**:

- María, E.G.; Madueño-Luna, A.; Ruiz-Canales, A.; Luna, J.M.M. Classification of Monofloral Honeys by Measuring Electrical Impedance Based on Neural Networks. *Agronomy* 2022, 12, 1929. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081929>

- María, E.G.; Luna, A.M.; Celdrán, A.C.; Muñoz, G.M.; Oates, M.J.; Ruiz-Canales, A. Classification of Monofloral Honeys by Measuring a Low-Cost Electronic Nose Prototype Based on Resistive Metal Oxide Sensors. *Agronomy* 2023, 13, 2183. <https://doi.org/10.3390/agronomy13082183>



El Dr. D. *Antonio Ruiz Canales*, director, y el Dr. D. *Antonio Madueño Luna*, codirector de la tesis doctoral titulada “Clasificación de mieles monoflorales mediante el uso de impedancia eléctrica y nariz electrónica.”

INFORMA/N:

Que D./Dña. *Eduardo González María* ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “**Clasificación de mieles monoflorales mediante el uso de impedancia eléctrica y nariz electrónica**” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo/firmamos para los efectos oportunos, en Orihuela a 20 de noviembre de 2023



Director/a de la tesis

Dr. D. *Antonio Ruiz Canales*

Codirector/a de la tesis

Dr. D. *Antonio Madueño Luna*

1 Contenido

2	Listado de abreviaturas	3
3	Listado de figuras	4
4	Listado de tablas	5
5	Resumen	6
6	Abstract	7
7	Introducción	8
7.1	Situación económica del sector apícola.....	8
7.2	Retos del sector apícola	10
7.3	El fraude de la miel	11
7.4	Legislación vigente.....	12
7.5	Propiedades fisicoquímicas de la miel y el polen.	13
7.6	Metodología aprobada por ley para realizar análisis fisicoquímicos y detectar el fraude en la miel.....	14
7.7	Métodos estadísticos empleados en la clasificación de mieles.....	16
7.8	Nuevas tecnologías empleadas en la industria para la clasificación de mieles en la industria agroalimentaria.....	16
7.8.1	La impedancia eléctrica	17
7.8.2	Nariz electrónica.....	17
8	Objetivo General de la Tesis.....	18
8.1	Sub-objetivo 1.	18
8.2	Sub-objetivo 2.	18
9	CAPÍTULO 1: Clasificación de mieles monoflorales mediante medición de impedancia eléctrica basada en redes neuronales.....	19
9.1	Descripción de las mieles utilizadas	19
9.2	Implementación del dispositivo de impedancia eléctrica.....	22
9.3	Red neuronal clasificadora tipo patternnet.....	23
9.4	Resultados de la evolución de la impedancia en función de las variedades de miel .	23
9.5	Resultados del clasificado con red neuronal Patternet	25
9.6	Relación de parámetros físico-químicos de las muestras con los valores característicos de impedancia eléctrica de cada variedad de miel unifloral	28
9.7	Conclusiones.....	32
10	CAPÍTULO 2: Clasificación de mieles monoflorales con un prototipo de nariz electrónica de bajo costo basado en sensores resistivos de óxido metálico.	33
10.1	Descripción de las mieles empleadas para la nariz electrónica.....	33

10.2	Dispositivo utilizado: prototipo de nariz electrónica.....	36
10.3	Análisis de los resultados de la nariz electrónica con diferentes modelos matemáticos.....	41
10.4	Resultados del primer estudio realizado con la enose	41
10.5	Resultados del segundo experimento de la enose.....	44
10.6	Conclusiones.....	51
11	<i>Conclusiones generales, puntos débiles y futuras líneas de investigación.</i>	<i>52</i>
12	<i>Referencias</i>	<i>54</i>
13	<i>Anexo: Publicaciones derivadas de la línea de investigación</i>	<i>59</i>
14	<i>Agradecimientos.....</i>	<i>92</i>



2 Listado de abreviaturas

$\mu\text{S/cm}$	Microsiemens/centímetro
AD	Analógico Digital
AEA	Asociación Española de Apicultura
ANL	Argonne National Laboratory
ANOVA	Análisis de la Varianza
APISCAM	Asociación de Apicultores de la Comunidad de Madrid
Ca	Calcio
COV	Compuestos Orgánicos Volátiles
DAD2	Digilent Analog Discovery 2
DC	Del inglés Direct Current (Corriente Continua)
DFT	Transformada Discreta de Fourier
DOP	Denominación de Origen Protegida
EEUU	Estados Unidos
FFT	Transformada rápida de Fourier
HMF	Hidroximetilfurfural
Hz	Hercio
IGP	Indicación Geográfica Protegida
IE	Impedancia Eléctrica
K	Potasio
kHz	Kilohercios
k Ω	Kiloohmio
L/min	Litros por minuto
MAPA	Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
MHz	Megahercio
ML	Aprendizaje automático (del inglés Machine Learning)
mS/cm	Milisiemens/centímetro
M Ω	Megaohmio
Na	Sodio
NIR	Espectroscopia de Infrarrojo Cercano
PCA	Análisis de Componentes Principales
PVC	Policloruro de Vinilo
R/C	Resistencia/Condensador
RAW	Valores en crudo y sin procesar
RD	Real Decreto
REGA	Registro de explotaciones apícolas en España
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SnO ₂	Dióxido de estaño
SVM	Máquinas de Soporte Vectorial
UE	Unión Europea
V	Voltio

3 Listado de figuras

Figura 1 Evolución del número de colmenas (miles). Fuente: ANUARIO DE ESTADÍSTICA 2020. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación	8
Figura 2 Evolución de la producción de la miel y cera (toneladas). Fuente: ANUARIO DE ESTADÍSTICA 2020. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.....	9
Figura 3 Mapa de mieles con Denominación de Origen Protegida, 2023.....	10
Figura 4 Dispositivo utilizado para la medición de impedancia: (a) DAD2 y la tarjeta adaptadora para medición de impedancia; (b) punta estándar utilizada de $s = 2,54$ mm de longitud e igual separación	22
Figura 5 Aplicación configurada con un rango de barrido de frecuencia de 1 Hz a 25 MHz con incremento logarítmico y para adquirir 101 muestras	22
Figura 6 Evolución de la impedancia eléctrica en las muestras de miel bajo ensayo	23
Figura 7 Matriz de entrenamiento, validación y test de las mieles	28
Figura 8 Esquemas del sistema de detección durante los ensayos. (a) Principios generales de funcionamiento de una enose en comparación con el proceso olfativo ; (c) Principales procesos de clasificación de mieles por enose durante el experimento.	37
Figura 9 Esquemático en bloques del prototipo de nariz electrónica empleado	38
Figura 10 Mejoras del enose actual respecto al utilizado anteriormente. (a) Separación en varias líneas de alimentación; (b) Mejora introducida en la placa base con la incorporación de un nuevo conversor A/D. Las cruces rojas son pines sin utilizar del dispositivo	39
Figura 11 Dispositivo utilizado: (a) Diagrama del prototipo de nariz electrónica utilizado. (b) Matriz de sensores MQ dentro de la cámara de muestreo junto con el sensor de humedad y temperatura SHT71 (en el centro de la cámara). (c) Procedimiento experimental. ((d) Muestras de miel del primer ensayo	40
Figura 12 Respuesta de los ocho sensores a la muestra de miel 3 junto con la señal de voltaje (con valores menores) introducida en los sensores	42
Figura 13 Resultados de los análisis de PCA en el estudio preliminar: (a) Gráfico que muestra el análisis de PCA de todas las muestras y cada color indica a cuál de los seis tipos de muestras pertenece cada punto (m1, m2 y m3).....	43
Figura 14 Aplicación del algoritmo k-means para clasificar el conjunto de datos en dos grupos de forma no forzada.....	44
Figura 15 Representación de los dos primeros coeficientes principales del PCA realizada con los datos obtenidos del análisis fisicoquímico, llevando el 74,89% de la varianza de los datos.....	45
Figura 16 . Representación de los dos primeros coeficientes principales del PCA realizada con los datos obtenidos del análisis por nariz electrónica, tomando el 80% de la varianza de los datos. Castaño (CAST), rojo, Romero (RM), negro, Lavanda (CANT), blanco y Roble (RB), amarillo.....	47
Figura 17 Matriz de confusión como medida del rendimiento del modelo. En los ejes se detalla el código correspondiente a cada grupo: En vertical el tipo de miel correcto, en horizontal la predicción.....	48
Figura 18 Importancia de la variables fisicoquímicas en el estudio predictivo del modelo SVM .49	
Figura 19 importancia de las variables de los sensores del estudio predictivo del modelo SVM.50	

4 Listado de tablas

Tabla 1 Compuestos volátiles reportados por algunos autores en las variedades de acacia, girasol y tilo. Fuente: elaboración propia a partir de Juan-Borras et al., 2014	13
Tabla 2 Análisis fisicoquímico de las muestras analizadas.....	19
Tabla 3 Análisis polínico de las muestras analizadas	21
Tabla 4 Valores característicos a frecuencia mínima (1 Hz).....	24
Tabla 5 Valores característicos a reactancia mínima (más negativa).	24
Tabla 6 Valores característicos a reactancia máxima (menos negativa).....	24
Tabla 7 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (del 1 al 10).	26
Tabla 8 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (de 11 a 20).....	26
Tabla 9 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (de 21 a 30).....	27
Tabla 10 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (de 31 a 35).....	27
Tabla 11 Relación de conductividad y coloración de las muestras facilitadas por la Asociación de Apicultores de la Comunidad de Madrid.	30
Tabla 12 Análisis físico, químico y de polen de las muestras de miel utilizadas en el segundo experimento.	35
Tabla 13 Sensores empleados en el prototipo de nariz electrónica usado y sus sensibilidades ...	36
Tabla 14 Métricas para evaluar el desempeño del modelo SVM al clasificar entre las cuatro clases.	46



5 Resumen

La normativa que regula el mercado europeo de la miel considera, entre otros aspectos, que la miel puede verse etiquetada con indicaciones que hagan referencia a su origen vegetal y geográfico. Actualmente no existe ningún criterio en la legislación que obligue a denominar floralmente una miel. Esta falta de concreción en las normativas, ha llevado a considerar en las últimas décadas una miel como monofloral cuando el porcentaje de representación de un tipo polínico es superior al 45%. Este “vacío legal” dificulta, no solo la aplicación de acciones de control en materia de calidad sobre el origen floral, sino que en ocasiones mieles genuinamente monoflorales españolas son rechazadas por laboratorios europeos, al contrastar los resultados analíticos obtenidos, con una base de datos histórica de analíticas, en la que las características propias de las mieles españolas no se encuentran bien representadas.

En esta tesis doctoral se muestran dos casos de estudio relacionados con la caracterización del tipo de miel en base a su origen floral. Un primer estudio [1] en el que se utilizó un medidor de impedancia eléctrica de bajo coste, obteniéndose 101 muestras (Resistencia (R) versus Reactancia (X)), con un barrido de frecuencia entre un 1 Hz y 25 MHz en todas las mieles analizadas, demostrándose que mediante el uso de una red neuronal multicapa entrenada a partir de estos datos, es posible clasificar con una precisión del 100% cada una de las muestras analizadas y con ello determinar de forma rápida y fácil el origen floral de la miel sin necesidad de emplear los datos físicoquímicos habituales o modelos eléctricos equivalentes. En este trabajo se ha medido la impedancia eléctrica de un total de siete muestras; seis muestras de mieles monoflorales de procedencias diversas y de una multifloral comercial.

Por otro lado, se realizó un segundo estudio [2] en el que se pretendió clasificar las mieles mediante un prototipo de nariz electrónica de bajo coste, compuesta por una matriz de sensores resistivos e inespecíficos de óxidos metálicos tipo MQ. El experimento se realizó en dos ensayos y los resultados fueron contrastados con análisis físicoquímicos y contenido de polen. Un primer ensayo consistió en muestrear de forma preliminar las mieles utilizadas para el caso anterior (impedancia eléctrica) y en el que repitió ocho veces para cada una de las muestras, mostrando una clara respuesta de los sensores en aquellas que presentaban un mayor contenido polínico, por encima del 57%. Sin embargo, las muestras de miel que reflejaban valores de polen inferiores al 50% no manifestaban una reacción perceptible en los sensores. En el segundo ensayo, se aumentó el tamaño de la muestra hasta un total de 16 muestras (cuatro mieles de lavanda, cuatro mieles de roble, cuatro mieles de romero y cuatro mieles de castaño), se realizaron un total de diez repeticiones por muestra con un total de ciento sesenta repeticiones. Estos últimos datos fueron analizados con la técnica de componentes principales (PCA), cuyos resultados no fueron concluyentes. Sin embargo, al aplicar el análisis de datos mediante el uso de Máquinas de Soporte Vectorial (SVM), se pudo obtener un modelo con un 87,5% de precisión en la clasificación.

Actualmente se continúa trabajando en esta línea en la que se va a realizar un tratamiento de datos más exhaustivo mediante redes neuronales y la implementación de estos sensores en el interior de la colmena.

6 Abstract

The rules that regulate the European honey market consider that honey can be labelled with indications referred to its plant and geographical origin, among others. Currently there is no criterion in the legislation that requires honey to be classified as floral. This lack of specificities in regulations has led in recent decades to consider honey as monofloral when the percentage of representation of a pollen type is greater than 45%. This “legal loophole” makes it difficult not only to apply quality control actions on floral origin, but sometimes genuinely, monofloral Spanish honeys are rejected by European laboratories. In this case, the obtained analytical results are compared with a database and the characteristics of Spanish honeys are not well represented.

This Ph thesis shows two case studies related to the characterization of the type of honey based on its floral origin. A first study in which a low-cost electrical impedance meter was used, obtaining 101 samples (Resistance (R) versus Reactance (X)), with a frequency sweep between 1 Hz and 25 MHz in all the analysed honeys. It is demonstrated that using a multilayer neural network trained from this data, it is possible to classify each of the analyzed samples with 100% accuracy. Moreover with a quick and easy determination is possible to obtain the floral origin of the honey without having to use the usual physicochemical data or equivalent electrical models. In this work, the electrical impedance of a total of seven samples has been measured. Additionally, six samples of monofloral honey from diverse origins and one commercial multifloral are used.

On the other hand, a second study was carried out. In this study, the aim was to classify honey using a prototype of a low-cost electronic nose, composed of an array of resistive and non-specific sensors of metal oxides MQ type. The experiment was carried out in two trials and the results were contrasted with physicochemical analyses and pollen content. A first test consisted of preliminarily sampling the used honey for the previous case (electrical impedance) and repeating it eight times for each sample. This is showing a clear response from the sensors in those that had a higher pollen content (above 57%). However, honey samples that reflected pollen values lower than 50% did not show a perceptible reaction in the sensors. In the second test, the size was increased to a total of 16 samples (four lavender honeys, four oak honeys, four rosemary honeys and four chestnut honeys). A total number of ten repetitions per sample were carried out, with a total amount of one hundred and sixty repetitions. These latter data were analyzed with the principal components analysis technique (PCA). The results of them were inconclusive. However, by applying data analysis using Support Vector Machines (SVM), a model with 87.5% classification accuracy could be obtained.

Currently, several works continue in this line. More exhaustive data processing will be carried out using neural networks and the implementation of these sensors inside the hive.

7 Introducción

7.1 Situación económica del sector apícola

El sector apícola español supone alrededor del 0,44% de la Producción Final Ganadera y el 0,17% de la Producción de la Rama Agraria, con un valor anual de su producción (miel, cera y polen) estimado en unos 62 millones de euros. No obstante, el valor este sector va más allá de lo puramente económico, ya que la apicultura juega un papel fundamental en la conservación del medio natural, la polinización de los cultivos y el mantenimiento de la biodiversidad [3]. Una estimación reciente calcula que el valor económico mundial de este servicio es de 217 mil millones de dólares, alrededor del 10% del valor global de los alimentos [4].

En los últimos años el sector viene manteniendo un crecimiento constante, tanto en número de colmenas, de explotaciones y de apicultores. En el ámbito comunitario, España destaca por su censo de colmenas, alrededor del 16% de las colmenas en la Unión Europea (UE), así como por el hecho de que el 80% se encuentra en manos de apicultores profesionales (aquellos que gestionan más de 150 colmenas). El grado de profesionalización de la apicultura en España supera la media de la UE, con alrededor de un 22% de apicultores profesionales. Este perfil, unido a datos productivos y de comercio exterior de gran relevancia, refleja la importancia del sector apícola español.

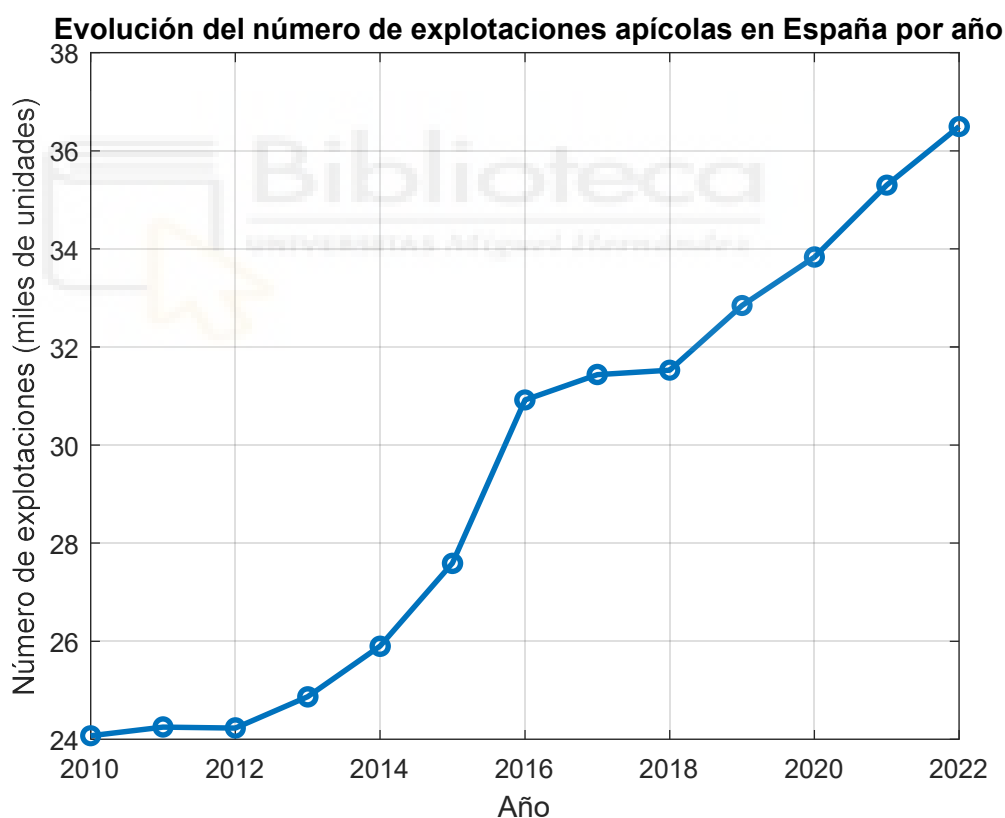


Figura 1 Evolución del número de colmenas (miles). Fuente: ANUARIO DE ESTADÍSTICA 2020. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

En la gráfica se observa un aumento importante a partir del año 2013, donde el número de explotaciones en España ha aumentado de unas veinticinco mil a más de treinta y seis mil entre 2013 y 2020, lo que demuestra que la apicultura es una actividad que está en auge, pero sobre todo entre los productores aficionados dado que según datos de la Asociación Española de Apicultura (AEA) cerca de ochocientos nuevos productores son no profesionales y tan sólo en torno a cincuenta lo hacen de forma profesional. No obstante, hay que destacar positivamente

este cambio de tendencia alcista puede ser debido a que hay más conciencia ecológica y hay gran riqueza vegetal.

Sin embargo, en cuanto a producción de miel en España, se puede observar que es una producción estable pero muy variable, y actualmente se muestra una tendencia descendente respecto años anteriores con menores rendimientos. Esto es debido principalmente a las malas condiciones climatológicas y al mal estado de las colmenas al inicio de la etapa productiva.

En cuanto al censo de colmenas, sobre la base del Registro de explotaciones apícolas en España (REGA), de éstas, el 80% pertenecen a apicultores profesionales.

Hay que destacar la diversidad existente en las distintas Comunidades Autónomas. Hay, de hecho, dos apiculturas diferentes: la existente en la zona norte y noroeste (caracterizada por el alto grado de “hobbistas” y de apicultores pequeños o no profesionales que, en su mayoría, no practican la trashumancia) y la apicultura practicada en el centro y sur/sureste de la península (con un mayor grado de profesionalización y mayoritariamente trashumante).

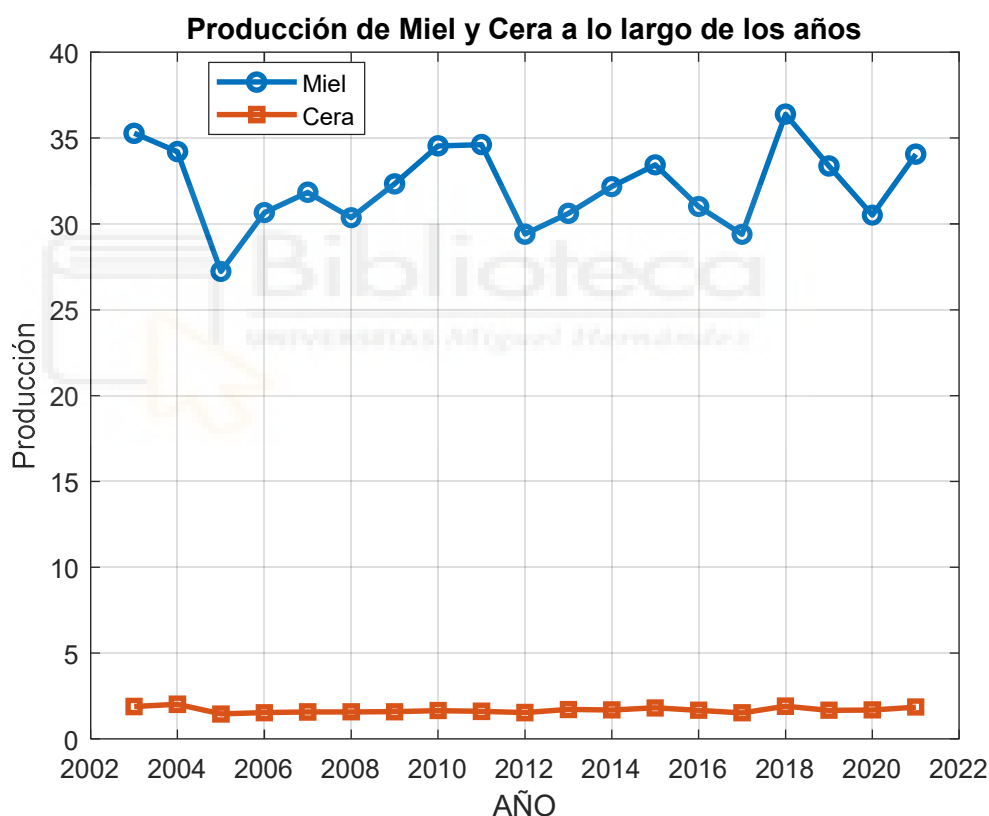


Figura 2 Evolución de la producción de la miel y cera (toneladas). Fuente: ANUARIO DE ESTADÍSTICA 2020. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

Actualmente existe una demanda importante por parte del consumidor de garantizar una información más completa sobre el origen de la miel, a fin de no inducir a error en relación con la calidad del producto.

Es importante destacar que las **mieles monoflorales** son las mieles **más valoradas por el consumidor** y con **mayor valor económico**, especialmente apreciadas por sus características organolépticas específicas, por sus atribuidos beneficios para el organismo y por la dificultad que tiene el apicultor para conseguir las.

la incorporación de las nuevas aportaciones tecnológicas para dar paso a explotaciones más modernas que industrializan la producción.

Uno de los retos más significativos a los que se enfrenta el sector apícola en los últimos años es la elevada mortalidad de abejas en los colmenares, provocando graves pérdidas económicas a los apicultores. Este **aumento de la mortalidad** de las abejas es atribuible a múltiples factores de estrés, que varían en función de la zona geográfica, las características locales o las condiciones climáticas. Los principales factores de estrés se han identificado, pero los mecanismos que desencadenan la pérdida de colonias siguen sin estar claros [6]. Esto se debe a que muchos de estos **factores ambientales** no matan a las abejas, sino que tienen efectos sinérgicos menos letales que perjudican el comportamiento de los individuos provocando el colapso de la colmena [7].

Entre estos factores, se encuentra el grave impacto de las **especies invasoras**, como el ácaro *Varroa destructor*, el pequeño escarabajo de la colmena *Aethina tumida*, la avispa asiática *Vespa velutina* y la loque americana *Histolyasis infectiosa perniciosae larvae apium*, *Pestis americana larvae apium*, así como patógenos animales como la nosemosis producida por el parásito *Microsporidio Nosema Apis*. También influyen gravemente los efectos de ciertas sustancias activas presentes en los productos fitosanitarios y otros biocidas. Esta disminución drástica de los polinizadores, en concreto de la abeja de la miel, ha recibido una atención considerable en la última década tanto por la comunidad científica como por las administraciones públicas [8].

Otro reto importante es la lucha contra el **fraude de la miel**, un problema global con importantes implicaciones tanto sanitarias, como comerciales y económica. La principal organización apícola mundial, APIMONDIA, considera que es un problema todavía no resuelto y hace evidente la importancia del desarrollo de técnicas analíticas que permitan la detección inequívoca de adulterantes en la miel.

7.3 El fraude de la miel

La demanda de miel ha ido incrementándose sin pausa durante los últimos años. Sin embargo, la producción de miel es bastante inelástica, es decir, no es capaz de crecer tan rápidamente ante un aumento significativo de la demanda. Este aumento de la demanda registrado en años recientes, ha presionado los precios al alza lo que a su vez también ha incrementado los incentivos económicos para adulterarla [9].

Aumentar el número de colmenas, bien a través de la generación de nuevos apicultores o del crecimiento del tamaño de las explotaciones ya establecidas, es un proceso que requiere tiempo. Además, cabe señalar que disponer de más colmenas no necesariamente significa obtener más miel en un marco global como el actual, de constante aumento de las áreas agrícolas dedicadas a la producción de monocultivos como la soja, que terminan reemplazando a las praderas de leguminosas y a los bosques nativos.

Existen diferentes tipos de fraude o adulteración de la miel [10]:

1. Dilución con diferentes tipos de jarabes producidos a partir del maíz, caña de azúcar, azúcar de remolacha, arroz, trigo, etc.
2. Cosecha de miel inmadura (antes de que las abejas hayan tenido la oportunidad de transformar el néctar en un producto que tenga los constituyentes químicos y la composición de la auténtica miel) como método planificado, sistemático e intencional de producción, la cual

debe ser posteriormente deshidratada activamente mediante equipos tales como (pero no limitado a) secadores de vacío u otros.

3. Uso de resinas de intercambio iónico para la remoción/reducción de residuos y/o constituyentes de la miel tales como el Hidroximetilfurfural (HMF) y/o para aclarar la miel.

4. Enmascaramiento o mal etiquetado del origen geográfico y/o botánico de la miel. La falsificación del origen geográfico de la miel ha constituido un importante fraude aduanero para evadir las tarifas antidumping que Estados Unidos (EE.UU) impuso a China, pero también para sacar provecho ilegal del gran diferencial de precios del producto de acuerdo a su origen geográfico que comenzó a presentarse a partir de 2008 [11]

5. Alimentación artificial de las abejas mediante un flujo de jarabe artificial compuesto por agua y azúcar.

El caso más común es cortar la miel con edulcorantes a base de azúcar barato y fácilmente disponible, como el jarabe de maíz con alto contenido de fructosa [12]. Numerosos estudios han buscado detectar la presencia de sacarosa como adulterante en variedades de miel seleccionadas de diferentes orígenes florales mediante el empleo de la técnica de espectroscopia de impedancia eléctrica con éxito [13].

7.4 Legislación vigente

Desde un punto de vista jurídico, de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea 2001/110/CE y la Directiva 2014/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de mayo de 2014 que la modifica, se define como miel a la *sustancia natural dulce producida por la abeja Apis mellifera a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las partes vivas de plantas, que las abejas recolectan, transforman combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure.*

En el ámbito nacional, el Real Decreto 523/2020, de 19 de mayo, por el que se modifica el Real Decreto 1049/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel, la miel se describe ídem al punto anterior y establece que **la miel se puede clasificar según su origen: miel de flores o de néctar**; siendo aquella miel que procede del néctar de las plantas. O bien, miel de mielada; aquella que procede en su mayor parte de excreciones de insectos chupadores de plantas (hemípteros) presentes en las partes vivas de las plantas o de secreciones de las partes vivas de las plantas [14] Este nuevo Real Decreto 523/2020 implanta la **obligatoriedad de un etiquetado más claro** relativo a la miel, con objeto de que el consumidor tenga conocimiento del lugar de su origen, y de esta manera salvaguardar la protección del consumidor y dificultar la realización de prácticas ilegítimas, en relación con el origen geográfico de las mieles

Sin embargo, esta claridad que existe desde un punto de vista agronómico y jurídico se ve perturbada por la definición de miel que se puede encontrar en diferentes diccionarios como, por ejemplo, la segunda acepción del término miel según el Diccionario de la Real Academia de la Lengua donde se la define como *jarabe saturado obtenido entre dos cristalizaciones o cocciones sucesivas en la fabricación del azúcar*. Precisamente aquello que, desde un punto de vista jurídico, y sobre todo de calidad alimentaria, no se puede nunca considerar como miel [15].

No obstante, la realidad con la que nos encontramos actualmente es con un etiquetaje en la miel donde es suficiente indicar *“Mezcla de mieles procedentes de la UE y de fuera de la UE”* para cumplir la legalidad en el mercado. Y de esa forma se hace posible que cualquier productos, envasador o comercializador pueda vender miel libremente procedente de cualquier lugar, o, dicho en otras palabras, la miel más barata sin tener en cuenta ningún parámetro de calidad del

producto ni de su obtención. La diferenciación, a veces difusa, entre fraude sanitario, fraude alimentario y calidad alimentaria repercute también de forma grave en la confianza del consumidor sobre la industria alimentaria, ya que en muchas ocasiones en vez de fraude sanitario cabe hablar de fraude en el etiquetado del alimento y por tanto de fraude en la calidad alimentaria.

7.5 Propiedades fisicoquímicas de la miel y el polen.

La composición de la miel no sólo está influenciada por la flora visitada por las abejas pecoreadoras [16] sino que depende también de las condiciones edáficas y climatológicas de la región. El color, la conductividad eléctrica, la acidez, el contenido de cenizas y el pH son los parámetros fisicoquímicos con mayor poder de discriminación en la diferenciación de las mieles de néctar y melaza. [17]

La miel está formada mayoritariamente por carbohidratos con valores medios de: fructosa (38%) y glucosa (31%), agua (17%), disacáridos (8%), otros azúcares (2%), y otras sustancias (4%) como enzimas: invertasa, amilasa (diastasa) y glucosa oxidasa junto con pequeñas cantidades de catalasa y fosfatasa ácida, aminoácidos, ácidos orgánicos, antioxidantes, vitaminas (A, B, C, D, E y K) y minerales. [18]

Han sido aislados más de 300 compuestos volátiles pertenecientes a distintas familias químicas: ésteres de ácidos alifáticos y aromáticos, aldehídos, cetonas y alcoholes [19] Todos ellos contribuyen al aroma y al sabor de la miel, junto con los azúcares y los ácidos. En mieles de distintos orígenes se han aislado componentes orgánicos volátiles como los monoterpenos y sesquiterpenos y aldehídos aromáticos como el benzaldehído y el furfural, y otros compuestos orgánicos como el isovaleraldehído y el fenilacetaldéhid. Cada uno de ellos le confiere un aroma particular a la miel. La presencia de 3-metilbutiraldehído y 2-metilbutiraldehído es un índice de la calidad microbiológica de la miel.

Otros autores han concluido que, entre los componentes volátiles, las concentraciones de borneol, 1-(2-furanil)-etanona y 3-hidroxi-2-butanona fueron las variables más discriminantes. En la diferenciación de muestras de miel de zonas montañosas y planicies, el 2,3-butanodiol y el 1-(2-furanil)-etanona fueron los volátiles más significativos, mientras que los datos fisicoquímicos no fueron útiles para distinguir los lugares de recolección [20].

Por otro lado, hay compuestos volátiles característicos de ciertas mieles como el metilantranilato para las mieles de azahar y lavanda[21], así como la miel de romero que destaca por el elevado peso de la familia de los alcoholes, que suponen más del 43% del total frente al 18% de la miel de azahar[22]. Como ejemplo, en la Tabla 1 se muestran los compuestos volátiles reportados por algunos autores en las mieles de acacia, girasol y tilo [23].

Tabla 1 Compuestos volátiles reportados por algunos autores en las variedades de acacia, girasol y tilo. Fuente: elaboración propia a partir de Juan-Borras et al., 2014

ÁCIDOS	ALCOHOLES	HIDROCARBURO
Ácido Etanoico	2-metil-2-propanol	Octano
Ácido 2-metil-propanoico	2-propanol	Nonano
ALDEHÍDOS	Etanol	n-Decano
3-Metil-butenal	2-butanol	Tolueno
2- Pentanal	2-metil-3-buten-2-ol	p-Xileno
2-Metil-2-butenal	2-metil-3-buten-1-ol	ÉSTERES
3-Metil-2-butenal	2-metil-1-propanol	Acetato de Etilo
Octanal	2-metil-2-butanol	Éster butílico del ácido acético

Nonanal	1-butanol	COMPUESTOS SULFUROSOS
Benzaldehído	2-metil-1-butanol	Sulfuro de dimetilo
CETONAS	2-penten-1-ol	Disulfuro de dimetilo
Acetona	2-metil-3-buten-1-ol	TERPENOS
2-Butanona	2-metil-2-buten-1-ol	Carvacrol
2-pentanona	2-Heptanol	Alfa-terpineno
2-Heptanona	1-Hexanol	Alfa-pineno
3-Hepte-2-ona	3-hexen-1-ol	Borneol
3-Hydroxy-2-Butanona	FURANOS	Beta-linalol
6-Metil-5hepten-2-ona	Furanmetanol	Hotrienol
1-4-metil phenil-etanona	Furfural	

Un factor que afecta a la presencia/ausencia de estas enzimas y de los azúcares (glucosa y sacarosa) **es el grado de maduración**. Las prácticas apícolas empleadas (extracción, limpieza y manipulación), aunque en menor medida, también influyen en la cantidad de sólidos insolubles, minerales y cuerpos extraños. Dentro de los macrominerales presentes en la miel (K, Na y Ca) el mineral más abundante en la miel es el potasio, que supone cerca del 80% de la materia mineral total. Tanto el suelo donde se asienta la planta como su origen botánico determinan la proporción de estos. Si bien el contenido de las mieles en minerales es modesto, este es mayor en las provenientes de los mielatos que en las de origen floral [24]. El contenido de minerales (como Na, K y Ca) y el pH están estrechamente relacionados con la conductividad eléctrica medida [25].

Por otro lado, los estudios específicos sobre la composición química del polen son diversos ya que varían según su propósito, es decir, o bien conocer sus características **nutricionales** o bien determinar sus características generales y **composición química**, enfatizando en sus aspectos terapéuticos, microbiológicos y presencia de contaminantes. Sin embargo, los estudios sobre su composición química en una determinada región o especie en particular no son muy frecuentes [26].

Al igual que sucede con la miel, existe una enorme variación en su composición química dependiendo de su origen botánico y geográfico, con presencia de azúcares reductores, proteínas solubles, aminoácidos libres, fenoles totales y flavonoides [27].

7.6 Metodología aprobada por ley para realizar análisis fisicoquímicos y detectar el fraude en la miel.

Clásicamente, la determinación del origen botánico de las mieles ha sido realizada por métodos melisopalinológicos, es decir, estudiando la morfología externa de los pólenes predominantes en la miel. Dependiendo del número de especies utilizadas en la obtención de néctar para la producción de la miel, esta se puede clasificar en miel monofloral y multifloral. Esta información le permite al apicultor tipificar su producto según el origen botánico, de acuerdo con las especies predominantes de la zona [28].

Sin embargo, la normativa comunitaria vigente **no establece qué características de composición deberán reunir las mieles con un origen floral o vegetal determinado** o las que tengan un origen regional, territorial o topográfico concreto. Esto supone una seria dificultad a la hora de determinar analíticamente si una miel con una de estas indicaciones, tiene realmente el origen floral o geográfico que se declara, dificultando la acción de control de las autoridades competentes en materia de calidad comercial alimentaria.

La literatura científica relativa al origen floral o vegetal de las mieles es abundante y exhaustiva al establecer parámetros físico-químicos, melisopalinológicos y organolépticos que caracterizan las distintas mieles monoflorales. Sin embargo, no existe una caracterización con base legal de las mismas [29].

Tal y como se ha comentado anteriormente, no existe ningún criterio en la legislación que obligue a denominar floralmente una miel. Por ello, el criterio que se aplica está relacionado con la producción y el análisis melisopalinológico, de tal modo que es el apicultor, quién teniendo en cuenta el porcentaje de polen predominante y las principales especies botánicas existentes en el lugar de producción, proporcionará la denominación monofloral de la miel.

El análisis polínico de una miel comporta dos etapas: identificación de los granos de polen observados y su recuento. La identificación no se puede hacer más que por comparación de la morfología y las dimensiones de los granos de polen observados con aquellos granos conocidos que constituyen la referencia. Estos análisis son tediosos e implican mucho tiempo, así como un elevado coste por muestra analizada. Las muestras de miel se analizan mediante la técnica de acetólisis de Erdtman [30]. Este método consiste en la destrucción de la celulosa y el contenido de granos de polen mediante ácidos, lo que permite identificar las estructuras relevantes para el análisis. Existen numerosas palinotecas “on line” [31] que pueden ser consultadas en caso de duda en algún tipo específico de polen.

Otro método de los más destacados para la determinación de las características de la miel es el análisis de isótopos de carbono, cuyo principio se basa en las diferencias entre la relación carbono 13 y carbono 12 de plantas C4 procedentes de especies monocotiledóneas de azúcar de caña y maíz, en comparación a las especies de dicotiledóneas (plantas C3). La relación isotópica de carbono indica la forma en que las plantas fijan y utilizan el CO₂. Mientras que las plantas C3 son el principal proveedor de néctar de las abejas, utilizan el ciclo de Calvin y Benson, las plantas C4 son las que producen los jarabes de azúcar, utilizando el ciclo de Calvin y Benson y el ciclo de Hatch-Slack [32].

Por otro lado, el análisis conocido como Resonancia Magnética Nuclear (RMN) permite obtener una imagen completa de la composición y característica de un producto. Esta técnica se aplica en el control de la calidad, autenticidad y trazabilidad de los alimentos. La resonancia magnética nuclear (RMN) se utiliza cada vez más para evaluar la autenticidad de la miel. La información proporcionada por el espectro de RMN de protones, en combinación con diversos métodos quimiométricos, se utiliza para distinguir entre mieles de diferentes orígenes botánicos [33].

La espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) combinada con métodos quimiométricos se ha utilizado para detectar la adulteración de muestras de miel siendo una técnica de detección rápida para la detección de adulteración de miel con buena precisión [34].

7.7 Métodos estadísticos empleados en la clasificación de mieles

El uso de métodos estadísticos sobre resultados físico-químicos ha sido una herramienta útil para caracterizar diferentes tipos de miel. Tanto la conductividad eléctrica, como el pH y el Hidroximetilfurfural (HMF) son los parámetros químicos que más se usan para predecir el origen floral de las muestras de miel [35] y el empleo de métodos de minería de datos y árboles de decisión para el análisis de estos parámetros físico-químicos puede reproducir muy bien la estructura del conjunto de datos [36].

Los Análisis de Componentes Principales (PCA) son utilizados con frecuencia para describir todo el conjunto de datos en términos de nuevas componentes no correlacionadas con el fin de reducir la dimensionalidad del espacio muestral, basándose en los parámetros fisicoquímicos más comunes, como la humedad, la conductividad eléctrica, la acidez libre, los carbohidratos, el HMF, el color, la rotación óptica y el pH [37].

Por otro lado, es frecuente también realizar análisis estadístico descriptivo (media, desviación estándar, valor mínimo y máximo) y resultados del análisis de la varianza (ANOVA) de los parámetros fisicoquímicos para el factor variedad de miel.

Las redes neuronales artificiales son un modelo computacional inspirado en el comportamiento observado en su homólogo biológicos [38]. Su uso está muy extendido en múltiples de campos. En análisis de miel, se han realizado estudios comparativos de varios algoritmos de aprendizaje automático para la clasificación de mieles uniflorales [39].

Como se puede observar, la tecnología de análisis empleada actualmente, así como los métodos de análisis estadísticos basados en simplificar los resultados obtenidos de todos los parámetros fisicoquímicos, implican un elevado coste y tiempo.

7.8 Nuevas tecnologías empleadas en la industria para la clasificación de mieles en la industria agroalimentaria.

El conocimiento de las particularidades de la miel es cada vez más demandado por apicultores y consumidores, y también por los laboratorios para tipificar las mieles según su origen botánico y comprobar su calidad. Se están utilizando técnicas melisopalínológicas, sensoriales y fisicoquímicas para estudiar las características de muestras de mieles de diferentes orígenes vegetales y zonas geográficas. La combinación de estas técnicas analíticas con métodos matemáticos y estadísticos o quimiométricos permite a los investigadores identificar un conjunto de variables o parámetros individuales que definen muestras independientes, proporcionando una solución práctica para clasificar la miel según el origen geográfico o botánico [40].

La detección de compuestos en la miel es una tarea importante para garantizar su calidad y autenticidad. Hay varios dispositivos y técnicas que se pueden utilizar para este propósito. A continuación, se muestra información sobre algunos de los dispositivos y técnicas que se emplean para detectar compuestos en la miel.

Se han desarrollado e implementado varias técnicas analíticas, algunas de ellas combinadas con el análisis de melisopalínología tradicional, junto con herramientas quimiométricas para el análisis de la miel, en concreto para:

1. Verificar la autenticidad de la miel, mediante la identificación del origen botánico, entomológico y/o geográfico [41–44].

2. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de la miel, así como de las actividades antioxidantes y antimicrobianas y de las propiedades terapéuticas [45–48].
3. Detección de insecticidas, pesticidas, medicamentos veterinarios o residuos de antibióticos multiclase en la miel [49–52].
4. Detectando adulteraciones en la miel [53–56].

La adulteración de la miel es un problema mundial y su detección, debido fundamentalmente a la complejidad de la composición de la miel y la naturaleza dinámica de la propia adulteración, sigue siendo un desafío para investigadores y autoridades. Existen numerosas formas de falsificar la miel; entre ellos, la adulteración directa es uno de los métodos más comunes [57].

Algunos autores recomiendan una combinación adecuada de pruebas de laboratorio junto con otras estrategias de mitigación de riesgos como la mejor manera de combatir el fraude de la miel [58].

7.8.1 La impedancia eléctrica

La utilización de la impedancia eléctrica (IE) en la industria agroalimentaria presenta múltiples ventajas, como su rapidez, economía y fácil implementación, además de ser no destructiva y respetuosa con el medio ambiente, representando un gran potencial para reemplazar los métodos tradicionales, con lo que se ahorra tiempo, costos y capacitación de personal [59]. Es una muy buena opción en comparación con los métodos de análisis tradicionales, ya que permite hacer mediciones de campo y en tiempo real, además de ser fácil de trasladar y utilizar. La mayoría de los estudios realizados con esta técnica se centran en la evaluación de calidad de productos cárnicos y pesqueros, así como en la caracterización de los cambios generados durante los procesos térmicos y maduración de frutas [60].

En revisiones bibliográficas recientes, se ha utilizado la técnica de impedancia eléctrica (IE) para detectar y cuantificar adulterantes tóxicos en alimentos y bioconsumibles, entre ellos la miel, mostrando una variación constante de la impedancia eléctrica con el aumento del porcentaje de adulterante en la solución [61].

Así mismo, también se ha utilizado este método para determinar diferentes orígenes botánicos de la miel [62,63] y como método alternativo para complementar el etiquetado según la legislación europea [64] con el fin de evitar competencia desleal mediante el etiquetado falso.

7.8.2 Nariz electrónica

Los orígenes del empleo de sensores capaces de detectar aromas se remontan a los años 60 del siglo XX, cuando la compañía *Bacharac Inc.*, construyó un dispositivo conocido con el nombre de Sniffer, el cual constaba de un solo sensor de gas. En la década de los 80, surgen dos grupos de investigadores, en la Universidad de Warwick en Gran Bretaña y en el Argonne National Laboratory (ANL) en Estados Unidos. Krishna Persaud y George Dodd, realizaron la primera publicación relacionada con las narices electrónicas en 1982 [65]. Ellos orientaron sus estudios en entender los procesos del olfato biológico, utilizando un conjunto de sensores semiconductores de óxidos metálicos, que luego ampliaron en su investigación a sensores basados en polímeros conductores, mientras que, el otro grupo propuso un aparato para detectar, identificar y medir una amplia variedad de productos químicos y mezclas transportadas por ferrocarriles, barcos y camiones [66].

Las narices electrónicas fueron desarrolladas en un comienzo para reemplazar a los paneles de expertos en la clasificación de aromas, debido a que éstos se consideran costosos, difíciles de transportar, y algunas veces subjetivos, debido a que sus valoraciones se pueden ver afectadas por el cansancio, estado anímico, el clima y otros factores externos [66].

Los sistemas de olfato electrónico, más comúnmente conocidos en la industria agroalimentaria como narices electrónicas, son considerados hoy en día como una técnica de análisis de gran aplicabilidad y una práctica no destructiva diseñada para determinar, reconocer e identificar niveles muy bajos de sustancias químicas volátiles.

Un conjunto de sensores electroquímicos crea una huella única digital del alimento, haciendo posible el control de calidad, el desarrollo de productos, la caracterización, clasificación y diferenciación por origen y por estado de madurez, la evaluación de su tiempo de vida útil y también como herramienta de control para identificar problemas que amenazan la comercialización, como la falsificación y la adulteración.

Los sensores identifican compuestos volátiles por grupos funcionales y mediante las técnicas de análisis estadístico multivariado garantizan su utilidad en diferentes aplicaciones industriales.

8 Objetivo General de la Tesis

Como se ha visto anteriormente, la miel presenta propiedades fisicoquímicas que hacen viable el uso de estas dos tecnologías, la impedancia eléctrica y la nariz electrónica. El objetivo de esta tesis es **DESARROLLAR UNA METODOLOGÍA SIMPLE, RÁPIDA Y DE BAJO COSTO QUE PERMITA LA CLASIFICACIÓN DE MIELES MONOFLORES EN BASE A SU ORIGEN FLORAL**, y consta de dos sub-objetivos.

8.1 Sub-objetivo 1.

Realizar una búsqueda de dispositivos y sensores de medida comerciales y de bajo costo que dispongan de tecnología viable para la identificación del origen floral y polen dominante presente en cada miel, reduciendo considerablemente el universo de datos que se necesita actualmente (humedad, conductividad eléctrica, acidez libre, etc.) para su clasificación, y que a su vez puedan detectar los componentes volátiles o compuestos químicos que componen la miel. de la miel. Readaptar dos dispositivos ya existentes.

Se explorarán dos dispositivos; impedancia eléctrica y nariz electrónica.

8.2 Sub-objetivo 2.

Exploración de diferentes modelos de minería de datos y herramientas de modelización matemática, así como el desarrollo de modelos matemáticos basados en aprendizaje automático y redes neuronales para la clasificación de la miel. Los datos que se emplean con estos modelos y herramientas son las mediciones realizadas por los dispositivos de impedancia eléctrica y de nariz electrónica.

9 CAPÍTULO 1: Clasificación de mieles monoflorales mediante medición de impedancia eléctrica basada en redes neuronales

En este capítulo se midió la impedancia eléctrica de seis muestras de miel monofloral de diversos orígenes y una miel multifloral comercial mediante un medidor de impedancia de bajo costo, obteniendo 101 muestras [reactancia (X) versus resistencia (R)], con una frecuencia barrido entre 1 Hz y 25 MHz en todas las mieles analizadas. Con este estudio se quiere demostrar que es posible, mediante el uso de una red neuronal multicapa entrenada a partir de estos datos, clasificar con un 100% de precisión entre estas mieles y, así, determinar rápida y fácilmente el origen floral de la miel sin necesidad de utilizar datos químicos o modelos eléctricos equivalentes.

9.1 Descripción de las mieles utilizadas

Seis de las siete muestras, correspondientes a las muestras números 1, 2, 3, 4, 5 y 7, fueron aportadas por la Asociación de Apicultores de la Comunidad de Madrid (APISCAM). Estas muestras procedían de apicultores locales, con asentamientos ubicados en diferentes zonas de la meseta central peninsular.

La muestra número seis, correspondiente a la miel de “mil flores”, es una miel multifloral comercial, cuyos valores fisicoquímicos han sido determinados según la Guía-de-mieles-monoflorales-Ibéricas-Apinevada-Pajuelo-2018, y según la Directiva 110 /2001 CE, RD 1049/2003 en España.

Las seis muestras proporcionadas por APISCAM fueron cosechadas en los meses de junio y julio del año 2020 y analizadas en el mismo período mediante métodos establecidos según la legislación vigente para determinar el contenido de polen y otros parámetros físico químicos, como contenido de humedad, hidroximetilfurfural (HMF), conductividad y pH, entre otros. Todas las muestras utilizadas en este estudio se clasifican como monoflorales, según el porcentaje de polen dominante presente en la miel.

El valor que diferencia una miel de otra está asociado principalmente al origen botánico, ya que la composición del polen determina tanto las características organolépticas como los parámetros fisicoquímicos de las mieles obtenidas [67].

En la Tabla 2 se muestra el análisis de los parámetros fisicoquímicos cuyos valores de humedad, conductividad eléctrica, HMF y pH se encuentran dentro de los valores establecidos en la legislación vigente [68].

Tabla 2 Análisis fisicoquímico de las muestras analizadas

Nº Muestra	Análisis polínico	Humedad	Hmf (mg/kg)	Coloración	Mm pfund	Conductividad (mS/cm)	pH	Brix (%)
1 (14/20)	viborera	14,8	5,89	Ámbar extra claro	37	0,27	4,05	82,3
2 (07/20)	viborera	17	4,23	Ámbar extra claro	37,3	0,26	3,8	80,5
3 (11/20)	viborera	17,4	3,96	Ámbar extra claro	43	0,30	4,47	80,5
4	colza	18	8,16	Blanco	28	0,32	4,2	81,1
5	lavanda	15,1	3,88	Ámbar extra claro	40,3	0,16	3,6	82
6 (comercial)	mil flores	18**	4,0*	Ámbar extra clara	48**	0,3**	-	-
7 (no catalogada)	Bosque (mielato encina/roble)	18**	4,0*	Ámbar oscuro	90**	0,9**	-	-

En relación con el pH, existe una relación directa entre el pH de la miel y su origen floral [69]. En nuestro estudio ninguna miel supera valores de 4,5, aunque las muestras tres (Viborera 11/20) y cuatro (Colza) representan valores superiores al resto de mieles, lo que probablemente esté asociado a su origen botánico.

Los valores normales del pH de la miel oscilan entre 3,2 y 4,5, de tal manera que esta acidez natural permite inhibir el crecimiento de microorganismos y preserva la miel [40], mientras que las mieles de bosque presentan valores más elevados.

El color también es muy importante para definir el origen y poder otorgar su clasificación comercial como miel monofloral, siendo una característica primordial para la clasificación comercial. Las unidades en las que se expresan las diferentes clases de color en la miel son las unidades de la escala Pfund, y esta medición se puede realizar comparando la miel con un estándar de referencia que indique el origen floral de la miel [40].

En cuanto al porcentaje de humedad de las muestras obtenidas, todas tienen valores inferiores al 20%, cumpliendo con los valores establecidos en el Real Decreto 1049/2003. Estos valores de humedad indican, independientemente de otros parámetros, que estas mieles tienen mayor tendencia a la granulación y menor fermentación.

Por otro lado, todas las muestras tienen bajos contenidos de hidroximetilfurfural (HMF), siendo la miel de colza la que muestra el valor más alto, pero lejos del máximo legal de 40 mg/kg. Este indicador, compuesto por un aldehído y un furano resultante de la descomposición de monosacáridos, particularmente fructosa en medio ácido [70], es un factor de calidad importante para la miel, ya que refleja la frescura de las muestras y las condiciones en las que fue obtenida. almacenada, así como el tratamiento recibido y la edad de la miel.

Respecto al origen floral, no existe ningún criterio en la legislación que exija que una miel lleve nombre floral. Por esta razón, el criterio que se aplica está relacionado con la producción y el análisis melisopalínológico, de tal manera que como se comentó anteriormente es el apicultor, quién, teniendo en cuenta el porcentaje de polen predominante y las principales especies botánicas presentes en el lugar de producción, proporciona la denominación monofloral de miel.

El porcentaje de pólenes predominantes de las cinco muestras en las que se realizó el análisis polínico es: Muestra 1: Echium 50%; Muestra 2: Echium 62%; Muestra 3: Echium 74%; Muestra 4: Brassica 57%; Muestra 5: Lavanda 50%.

En la Tabla 3 se muestran los porcentajes de pólenes identificados según el método de análisis indicado anteriormente:

Tabla 3 Análisis polínico de las muestras analizadas

Nº de muestra	Análisis polínico	Pólenes dominantes >45%	Pólenes de Acompañamiento >16%-45%	Pólenes minoritarios >3%-15%	Pólenes residuales o aislados <3%
1 (14/20)	Viborera	Echium 50%	-	Cistus 11% Vicia 20% Prunus 9% Lavandula stoechas 5%	Cytisus 3% Trifolium 2%
2 (07/20)	Viborera	Echium 62%	-	Cistus 14% Tipo "Rubus" 6% Rosmaris 5% Crucíferas 5% Cytisus 4% Rosmaris 9%	Lavandula 2% Anchusa 2%
3 (11/20)	Viborera	Echium 74%	-	Crucíferas 8% Cistus 6% Cytisus 3% Prunus 10% Cytisus 9%	-
4	Colza	Brassica 57%	-	Diploaxis 8% Rosmaris 7% Helianthus 6%	Anchusa 3%
5	Lavanda	Lavandula 50%	Prunus 20%	Citissus 9% Rubus 6%	Cirissium 3%
6** (comercial)	Mil flores	-	-	-	-
7** (sin catalogar)	Bosque (mielatos de encina/roble)	-	-	-	-

9.2 Implementación del dispositivo de impedancia eléctrica.

Para la medición de la impedancia se utilizó un Digilent Analog Discovery 2™ (Digilent Inc.®, Pullman, Washington, DC, EE. UU.; en adelante DAD2). [71]. DAD2 es un instrumento multifunción de bajo costo que permite a los usuarios medir, visualizar, generar, registrar y controlar circuitos de señales mixtas de todo tipo. Para facilitar la medición de impedancia, se utilizó un módulo adaptador especialmente diseñado para esta función [72].

La Figura 4 muestra el DAD2, la tarjeta adaptadora para medición de impedancia y la punta estándar de 2,54 mm utilizada (de igual longitud y separación).

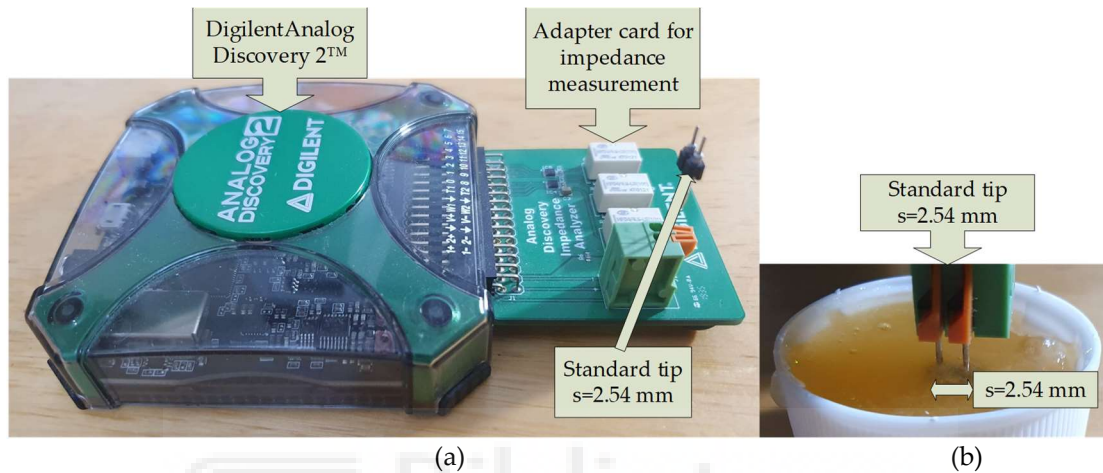


Figura 4 Dispositivo utilizado para la medición de impedancia; (a) DAD2 y la tarjeta adaptadora para medición de impedancia; (b) punta estándar utilizada de $s = 2,54$ mm de longitud e igual separación

Para la medición, la aplicación del medidor se configuró con un rango de barrido de frecuencia de 1 Hz a 25 MHz con incremento logarítmico y 101 muestras. El rango para el módulo de impedancia se estableció en 100 M Ω y una excitación sinusoidal de 1 V de amplitud, que es adecuada para todas las mieles analizadas. La Figura 5 muestra la aplicación configurada al efecto.

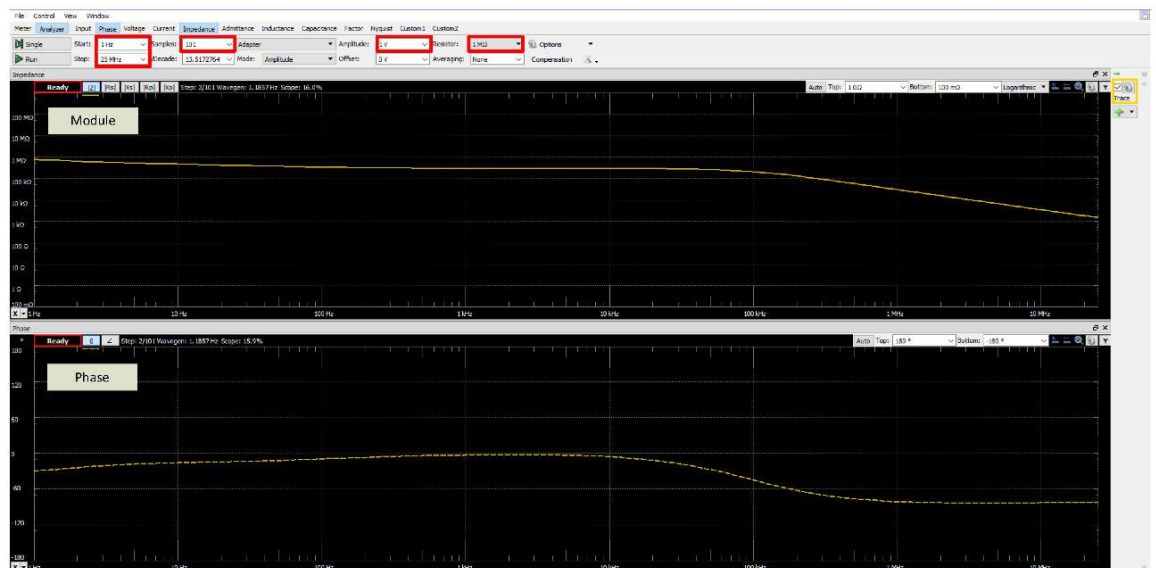


Figura 5 Aplicación configurada con un rango de barrido de frecuencia de 1 Hz a 25 MHz con incremento logarítmico y para adquirir 101 muestras

9.3 Red neuronal clasificadora tipo patternnet

Para la clasificación de mieles monoflorales mediante medición de impedancia eléctrica basada en redes neuronales, se utilizó un tipo de red neuronal de las bibliotecas de Matlab: una red de clasificación, "patternnet" [73], para distinguir entre los 6 casos de miel unifloral y la miel multifloral comercial. Este modelo de red neuronal multicapa emplea solo 1 capa interna con 5 neuronas utilizando la proporción 75/15/15 de los datos para el proceso de Entrenamiento, Validación y Pruebas durante el aprendizaje en un total de 50 repeticiones. La función de entrenamiento seleccionada fue la retropropagación de gradiente conjugado escalado ("traincsg" en lenguaje Matlab). Esta red de reconocimiento de patrones es un tipo de red de avance que se puede entrenar para clasificar las entradas según las clases objetivo y utiliza internamente una función sigmoidea como función de activación [74]. Los datos objetivos consisten en vectores con todos los valores a cero excepto un 1 en el elemento i , donde i es la clase que deben representar.

9.4 Resultados de la evolución de la impedancia en función de las variedades de miel

En la Figura 6 se muestra la evolución de la impedancia expresada como reactancia versus resistencia para los siete tipos de mieles analizadas a una temperatura ambiente de unos 25 ° C. El equivalente eléctrico se corresponde con un circuito serie R/C.

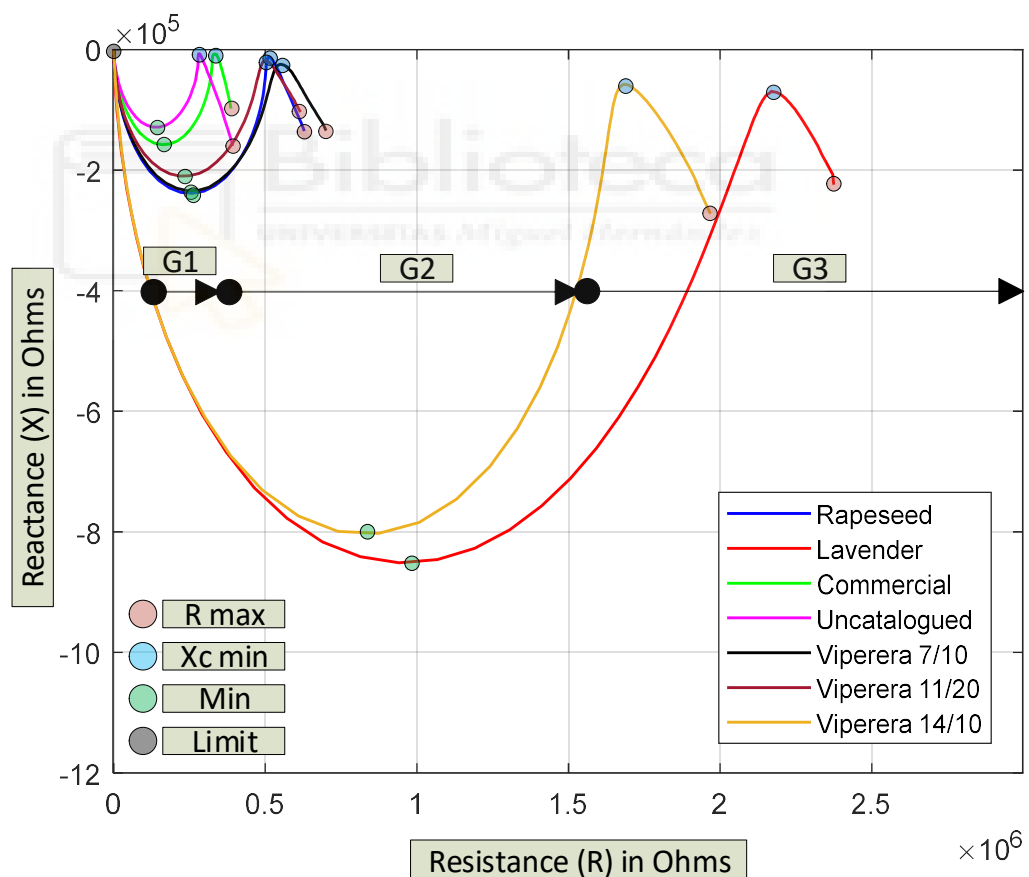


Figura 6 Evolución de la impedancia eléctrica en las muestras de miel bajo ensayo

Cada curva tiene una evolución característica, ver tabla ver Tablas 4, 5 y 6:

1.-Valor de la componente resistiva alta a bajas frecuencias (punto rojo), entre 0.35 MΩ y 2.5 MΩ para una frecuencia de 1 Hz.

2.-Máximo relativo (punto azul) a frecuencias medias (entre 30 Hz y 1 kHz) en esta zona el comportamiento capacitivo se minimiza con valores de reactancia entre 6 kΩ y 70 kΩ.

3.-Zona de mínimo relativo (punto verde) con un valor máximo negativo de la componente capacitiva, con valores de frecuencia entre 10 kHz y 100 kHz y de reactancia entre 0.1 MΩ y 1 MΩ.

4.-Punto común (punto gris) a alta frecuencia (25 MHz) donde todas las curvas confluyen y el efecto de las componentes parásitas del sistema de medición ya se hacen patentes.

Como se aprecia en dicha Figura 6, cada tipo de miel tiene una zona propia en el gráfico. A simple vista ya permite intuir que la red neuronal tendrá un buen comportamiento al clasificar y requerirá poca complejidad en su estructura. Por otra parte, esto viene a demostrar que no es necesario extraer los parámetros de modelos equivalentes ni acudir a un análisis PCA para poder hacer un clasificado de variedades de miel como se venía realizando hasta ahora por otros autores.

Tabla 4 Valores característicos a frecuencia mínima (1 Hz).

F_min	Uncatalogued	Commercial	Vip 11/20	Rapeseed	Vip 07/10	Vip 14/10	Lavender
R	3,94E+05	3,87E+05	6,16E+05	6,29E+05	7,01E+05	1,97E+06	2,38E+06
X	-1,60E+05	-9,76E+04	-1,04E+05	-1,35E+05	-1,34E+05	-2,72E+05	-2,24E+05
F	1	1	1	1	1	1	1
Group	G1	G1	G2	G2	G2	G3	G3

Tabla 5 Valores característicos a reactancia mínima (más negativa).

X_min	Uncatalogued	Commercial	Vip 11/20	Rapeseed	Vip 07/10	Vip 14/10	Lavender
R	1,29E+05	1,59E+05	2,18E+05	2,60E+05	2,44E+05	8,75E+05	9,41E+05
X	-1,29E+05	-1,58E+05	-2,10E+05	-2,39E+05	-2,34E+05	-8,03E+05	-8,51E+05
F	1,07E+05	9,05E+04	5,43E+04	5,43E+04	4,58E+04	1,65E+04	1,39E+04
Group	G1	G1	G2	G2	G2	G3	G3

Tabla 6 Valores característicos a reactancia máxima (menos negativa).

X_max	Uncatalogued	Commercial	Vip 11/20	Rapeseed	Vip 07/10	Vip 14/10	Lavender
R	2,81E+05	3,35E+05	4,99E+05	5,13E+05	5,52E+05	1,69E+06	2,17E+06
X	-6,86E+03	-7,32E+03	-1,80E+04	-1,23E+04	-2,46E+04	-5,77E+04	-6,93E+04
F	7,68E+02	2,33E+02	2,76E+02	3,28E+02	2,33E+02	1,40E+02	5,03E+01
Group	G1	G1	G2	G2	G2	G3	G3

9.5 Resultados del clasificado con red neuronal Patternet

Como se mencionó en el apartado 8.3 sobre la red neuronal tipo Patternet, se realizó una distribución de los datos para el entrenamiento de la red neuronal y se utilizó un total de quince repeticiones para cada muestra de miel, destinando diez al proceso de entrenamiento y cinco al proceso de desafío.

Las Tablas 7, 8, 9 y 10 muestran el resultado del proceso de clasificación (valor = 1: caso seleccionado por el NN; valor→0: caso descartado por el NN) para 35 desafíos (cinco para cada tipo de miel):



Tabla 7 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (del 1 al 10).

		Desafíos									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Colza	1	1	1	1	1	1,09E+08	7,88E+07	7,45E+07	6,99E+07	6,42E+07
	Lavanda	5,81E+07	5,78E+07	5,75E+07	5,67E+07	5,65E+07	1	1	1	1	1
	Comercial	1,79E+08	1,79E+08	1,79E+08	1,78E+08	1,77E+08	4,21E+04	1,43E+04	1,19E+04	9,61E+03	7,25E+03
Mieles	No catalogada	3,15E+04	3,15E+04	3,15E+04	3,15E+04	3,14E+04	2,83E+01	2,10E+02	2,98E+02	4,45E+02	7,55E+02
	Viborera 7/10	1,20E+07	1,20E+07	1,20E+07	1,21E+07	1,20E+07	1,69E+07	5,87E+07	7,28E+07	9,34E+07	1,30E+08
	Viborera 11/20	1,19E+07	1,19E+07	1,18E+07	1,16E+07	1,16E+07	9,39E+07	3,06E+08	3,76E+08	4,77E+08	6,52E+08
	Viborera 14/10	6,56E+07	6,56E+07	6,56E+07	6,56E+07	6,57E+07	1,27E+08	1,32E+08	1,33E+08	1,34E+08	1,35E+08

Tabla 8 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (de 11 a 20).

		Desafíos									
		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Colza	1,95E+08	1,95E+08	1,95E+08	1,95E+08	1,95E+08	4,01E+05	4,01E+05	4,01E+05	4,01E+05	4,02E+05
	Lavanda	3,40E+02	3,40E+02	3,40E+02	3,40E+02	3,40E+02	9,18E+00	9,18E+00	9,19E+00	9,19E+00	9,19E+00
	Comercial	1	1	1	1	1	5,06E+08	5,06E+08	5,07E+08	5,07E+08	5,07E+08
Mieles	No catalogada	4,24E+08	4,24E+08	4,24E+08	4,24E+08	4,24E+08	1	1	1	1	1
	Viborera 7/10	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	1,60E+05	8,65E+07	8,65E+07	8,65E+07	8,66E+07	8,66E+07
	Viborera 11/20	1,36E+05	1,36E+05	1,36E+05	1,36E+05	1,36E+05	4,59E+07	4,59E+07	4,59E+07	4,59E+07	4,59E+07
	Viborera 14/10	1,30E+08	1,30E+08	1,30E+08	1,30E+08	1,30E+08	4,65E+06	4,65E+06	4,65E+06	4,65E+06	4,66E+06

Tabla 9 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (de 21 a 30).

		Desafíos									
		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	Colza	1,03E+07	9,49E+06	1,10E+07	1,51E+07	1,34E+07	1,62E+07	1,64E+07	1,70E+07	1,73E+07	1,88E+07
	Lavanda	2,70E+07	2,43E+07	2,72E+07	5,49E+07	4,47E+07	3,81E+07	3,84E+07	3,97E+07	4,02E+07	4,30E+07
	Comercial	5,48E+03	4,86E+03	5,91E+03	1,08E+04	8,80E+03	3,13E+06	3,16E+06	3,31E+06	3,39E+06	3,83E+06
Mieles	No catalogada	1,97E+08	1,82E+08	2,09E+08	2,92E+08	2,59E+08	1,44E+08	1,44E+08	1,41E+08	1,40E+08	1,34E+08
	Viborera 7/10	1	1	1	1	1	7,12E+07	7,12E+07	7,10E+07	7,10E+07	7,07E+07
	Viborera 11/20	1,59E+08	1,34E+08	1,73E+08	4,39E+08	3,25E+08	1	1	1	1	1
	Viborera 14/10	1,33E+07	1,32E+07	1,33E+07	1,41E+07	1,39E+07	2,45E+01	2,48E+01	2,55E+01	2,59E+01	2,76E+01

Tabla 10 Resultados de la red neuronal frente a 35 desafíos (de 31 a 35).

		Desafíos				
		31	32	33	35	35
	Colza	2,01E+07	2,01E+07	2,01E+07	2,01E+07	2,01E+07
	Lavanda	1,06E+08	1,06E+08	1,06E+08	1,06E+08	1,06E+08
	Comercial	1,75E+08	1,75E+08	1,75E+08	1,75E+08	1,75E+08
Mieles	No catalogada	3,04E+06	3,04E+06	3,04E+06	3,04E+06	3,04E+06
	Viborera 7/10	1,13E+07	1,13E+07	1,13E+07	1,13E+07	1,13E+07
	Viborera 11/20	2,60E+01	2,60E+01	2,60E+01	2,60E+01	2,60E+01
	Viborera 14/10	1	1	1	1	1

En la Figura 7 se muestran las matrices de confusión del Entrenamiento, la Validación y el Test. Las pruebas con los ensayos no vistos por la red neuronal (desafíos) demostraron que la red neuronal es capaz de detectar el 100% de los casos correctamente.

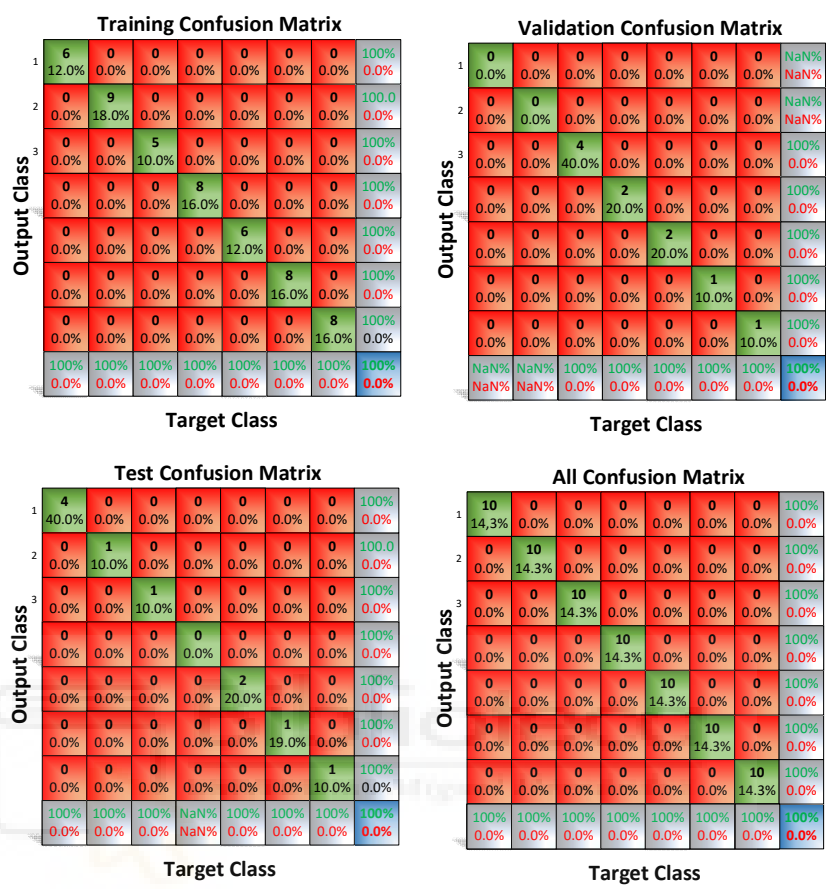


Figura 7 Matriz de entrenamiento, validación y test de las mieles

Otros autores [75] pudieron obtener resultados de clasificación similares con este tipo de red neuronal para la clasificación de aceitunas procesadas “Estilo Sevillano”.

9.6 Relación de parámetros físico-químicos de las muestras con los valores característicos de impedancia eléctrica de cada variedad de miel unifloral

En la figura nº 6, en la que se muestra el gráfico de la evolución de la Impedancia Eléctrica en las muestras de miel obtenidas, se pueden apreciar tres grupos de mieles, de menor a mayor valor resistivo (R); un primer grupo (G1) que corresponde con la miel sin catalogar y miel comercial (valores inferiores a $0.5 \times 10^6 \Omega$); un segundo grupo (G2) que comprendería las dos muestras de viborera y la de colza (valores cercanos a $0.5 \times 10^6 \Omega$); y un tercer grupo más resistivo con la muestra nº 1 de viborera y la miel de lavanda (valores superiores $1.5 \times 10^6 \Omega$).

Respecto a las muestras de Viborera, dos de ellas se encuentran en la zona media de la gráfica, y la tercera en el grupo de los valores resistivos más altos. Esto puede ser debido a la influencia del origen botánico y la diversidad botánica del área geográfica de producción de la miel. Numerosos autores concluyen que las diferencias observadas en las muestras para todos los parámetros analizados están principalmente asociadas al origen botánico, ya que la composición del polen y la diversidad botánica determina tanto las características organolépticas como los parámetros físico-químicos de las mieles [32].

Por otro lado, la miel sin catalogar junto con la miel comercial presenta mucha-menor resistencia que el resto de mieles, situándose en el primer grupo de la gráfica. Esto puede ser debido a que se trata de productos derivados de mieladas o mielatos, con unas características fisicoquímicas muy distintas a las mieles de néctar, lo que podría justificar la menor resistencia (R) respecto a las mieles monoflorales analizadas en el estudio.

Por otro lado, destacar que la norma oficial de calidad de la miel española (BOE 186 del 5/8/2013) ya obliga a definir el tipo de miel según su origen (miel de flores o néctar; y miel de mielada o mielato) estableciendo unas características mínimas de composición específicas que debe contener cada miel.

9.6.1.1 Humedad.

En relación a este parámetro, el contenido de humedad sí parece tener una relación directa con los valores de impedancia.

Las muestras de mieles con valores de humedad bajos, correspondiente a la muestra 1 de viborera (14,8%) y la muestra de lavanda (15,1%) presentan valores resistivos más altos, cuyos máximos relativos en la gráfica se encuentran por encima de $1,5 \times 10^6 \Omega$ en el eje X correspondiente a la resistencia.

Por otro lado, las muestras de mieles que ofrecen una menor resistencia son las que tienen porcentajes de humedad más altos, oscilando entre 17 y 18%.

9.6.1.2 HMF (Hidroximetilfurfural)

El HMF no parece influir en la curva resistiva de las muestras.

9.6.1.3 Coloración

En este estudio, tal y como se puede apreciar en la tabla nº 8, se ha observado que a diferencia de los que comentan otros autores, no existe la relación entre el color y la conductividad, dado que la miel con la conductividad más alta corresponde con una-miel clara, y las mieles con conductividades bajas corresponden a las muestras con colores más oscuros.

El color de la miel es muy importante para definir el origen y poderle otorgar su clasificación comercial como mieles monoflorales, siendo una característica primaria para la clasificación comercial [23].

Es un factor de composición que está ligado casi exclusivamente a su origen botánico. A su vez, está también ligado con la conductividad, dado que depende del contenido de sales minerales. Las mieles con altos contenidos de minerales, son de colores oscuros, y tienen conductividades altas [33].

En este estudio no se ha observado una relación directa entre el color de la miel y la impedancia eléctrica.

Sin embargo, otros estudios sí han contrastado los valores de conductividad versus color, concluyendo que las mieles con la conductividad más elevada tienen un color más claro, y por el contrario mieles más oscuras presentan valores de conductividad más bajos.

En la Tabla 11 se muestra la relación de color y conductividad de las mieles monoflorales muestreadas.

Tabla 11 Relación de conductividad y coloración de las muestras facilitadas por la Asociación de Apicultores de la Comunidad de Madrid.

Nº DE MUESTRA	ANÁLISIS POLÍNICO	mm Pfund	COLORACION	CONDUCTIVIDAD (mS/cm)
5	lavanda	40,3	Ámbar extra claro	0,16
2	viborera 2 (7/20)	37,3	Ámbar extra claro	0,26
1	viborera 1 (14/20)	37	Ámbar extra claro	0,27
3	viborera 3 (11/20)	43	Ámbar extra claro	0,3
4	colza	28	Blanco	0,32

Para este parámetro no se observa que la coloración influya en los valores de resistencia de las mieles, aunque sí debería dado que está ligado con la conductividad.

9.6.1.4 Conductividad

Al igual que ocurre con el color, no se ha observado que la conductividad influya en la posición de las variedades en la gráfica de evolución de impedancia eléctrica (figura 6).

No obstante, consideramos que sí debería haber tenido una relación dado que, según otros autores, depende del contenido de sales y sirve para diferenciar la miel de néctar de la miel de mielada que es más rica en sales, dado que, a mayor conductividad eléctrica, mayor cantidad de sales [33].

Por otro lado, las cenizas son un parámetro que, a pesar de no estar incluido en el análisis de las muestras, también expresan el contenido de sales minerales y suele ser proporcional al tono de la miel [34].

La Normativa de la Miel [21] obliga a nombrar en la etiqueta si una miel es de origen floral o tiene su origen en la mielada de algunos árboles (alcornoque, encina, roble, abeto, castaño...), y marca un límite de conductividad de 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (= 0,8 mS/cm). Las mieles de mieladas o sus mezclas con mieles florales deberán tener más de ese límite, y las florales menos, excepto las mieles de brezos (*Erica ssp*), biércol (septembrina, *Calluna vulgaris*), eucaliptos (*Eucalyptus ssp*) y madroño (*Arbutus unedo*).

9.6.1.5 pH

No se observa una relación entre el pH y la resistencia de las mieles.

9.6.1.6 Grados BRIX

Al igual que con la humedad, el contenido en azúcares sí parece tener una relación con la impedancia y la representación de las curvas obtenidas con la red neuronal.

Las dos muestras que presentan los valores más altos de grados Brix (viborera 1 y lavanda), se localizan en el tercer grupo, con máximos relativos de resistencia por encima de $1.6 \times 10^6 \Omega$.

Por otro lado, se observa que las mieles con valores entre 80.5 y 81.1 tienen valores resistivos más bajos, lo que podría ser debido a que la composición de azúcares de la miel está afectada por el tipo de néctar que utilizan las abejas, así como por la región y las condiciones climáticas donde ha sido producida la miel [35].

9.6.1.7 Polen

Respecto al contenido de polen de las muestras estudiadas, las muestras con valores resistivos más altos corresponden con la muestra 1 (viborera 14/20) y muestra 5 (lavanda), con un porcentaje de polen dominante de 50% para ambos casos.

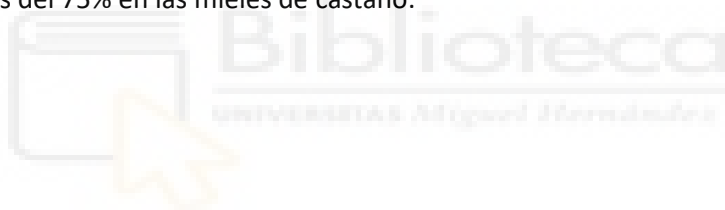
Este valor de polen dominante para ambas muestras, representa el porcentaje más bajo de las mieles estudiadas, cuyos valores por orden ascendente son Colza (57%), Viborera 2 (62%) y Viborera 3 (74%).

Las muestras con porcentajes de polen más altos se encuadran en zonas menos resistivas de la gráfica de evolución de impedancia (Figura 6).

Las otras dos muestras de mieles (miel comercial y miel de mielato) no disponen del análisis polínico.

El contenido en polen influye en el contenido total de cenizas [32] por lo que sí podría tener una relación con la resistividad de la miel.

La variedad monofloral está determinada por la mayor proporción de polen de la especie botánica, pero no en exclusividad. Para evitar posibles fraudes comerciales y preservar los intereses de los consumidores, se admite que el polen predominante puede ser variable es función de la variedad botánica y la cantidad de polen que contenga. Por ello el residuo polínico de las mieles monoflorales varía entre un mínimo del 12% en el caso de la miel de romero, hasta valores mínimos del 75% en las mieles de castaño.



9.7 Conclusiones

En este capítulo, relacionado con el empleo de la impedancia eléctrica para la clasificación de la miel, se ha podido concluir que:

1. Utilizando el dispositivo DAD2 y el análisis de los datos de Reactancia Vs Resistencia en la red neuronal clasificadora del tipo patternet, ha sido capaz de discriminar las muestras de mieles según su origen botánico sin necesidad de procesar los datos previamente con otras técnicas estadísticas como PCA o usar modelos eléctricos equivalentes.
2. La red neuronal empleada para el estudio emplea solo 5 neuronas y ha sido capaz de detectar el 100% de los casos.
3. Cada miel tiene en el diagrama X vs R un perfil característico apreciándose 3 grupos de propiedades eléctricas similares.
4. A frecuencias muy elevadas hay un incremento en los componentes parásitos, lo que puede dar lugar a una mal interpretación de los resultados.
5. De los parámetros fisicoquímicos estudiados, la humedad y el porcentaje de grados Brix sí parece tener una relación directa con la impedancia eléctrica.
6. El pH y la conductividad no parecen tener una relación con la discriminación de las mieles según los resultados obtenidos en la gráfica de evolución de impedancia eléctrica.
7. No se ha observado que la coloración influya en los valores de resistencia de las mieles, aunque sí debería dado que está ligado con la conductividad.
8. El contenido en polen influye en el contenido total de cenizas y en consecuencia a la conductividad, sin embargo, en este estudio no se ha podido establecer una relación directa entre la evolución de la impedancia y el contenido en polen de la muestra.
9. Las muestras de miel se han clasificado con frecuencias medias entre 11 y 110 KHz, siendo la muestra sin catalogar con el valor más alto (107,3 KHz) y la muestra de lavanda la de menor valor de frecuencia (13,9 KHz).
10. A medida que se incrementa el valor de Z, el valor de la frecuencia va disminuyendo, siendo las muestras de Lavanda y Viborera 1 (14/20) las que representan una mayor resistencia y menor valor de frecuencia respectivamente.
11. Las mieles que presentan valores de humedad y de grados Brix más elevados, se han podido discriminar con valores de frecuencia más bajos.
12. En este estudio se ha comprobado que los valores de impedancia en las muestras monoflorales de viperera no ha permitido reagrupar las tres muestras en el mismo rango de Resistencia. A pesar que hay estudios que justifican la discrepancia entre los parámetros fisicoquímicos de una misma miel unifloral dependiendo de la zona geo-gráfica, climatología o diversidad de flora del terreno, se abre una línea de trabajo futura con el fin de enfatizar en estos resultados y estudiar en profundidad las discrepancias en los valores de impedancia para mieles de la misma clasificación floral.

10 CAPÍTULO 2: Clasificación de mieles monoflorales con un prototipo de nariz electrónica de bajo costo basado en sensores resistivos de óxido metálico.

En este capítulo se presenta un caso de estudio de clasificación de tipo de mieles según su origen floral. El objetivo es discriminar mieles ibéricas procedentes de apicultores locales ubicados en la Comunidad de Madrid (España) mediante un prototipo de nariz electrónica de bajo coste, compuesta por una matriz de sensores resistivos inespecíficos de óxidos metálicos tipo MQ. Los sensores de gas MQ son sensores electroquímicos y varía su resistencia al exponerse a determinados gases. Las mediciones de las mieles realizadas con un prototipo de nariz electrónica fueron contrastadas con análisis fisicoquímicos y contenido de polen. El experimento se llevó a cabo en dos ensayos. Un primer estudio preliminar en el que se utilizaron seis muestras de miel de diferentes procedencias (tres de viborera, una de colza, una de lavanda y una miel comercial) y en el que se realizaron ocho repeticiones para cada una de las seis muestras analizadas. Debido al pequeño tamaño de la muestra no se obtuvieron resultados concluyentes, aunque los sensores sí mostraron una respuesta clara en aquellas que presentaron un mayor contenido de polen, por encima del 57%, sin embargo, las muestras de miel que reflejaron valores de polen inferiores al 50% no mostraron reacción perceptible en los sensores. En el segundo estudio, en el que se aumentó el tamaño de la muestra hasta un total de 16 muestras (cuatro mieles de lavanda, cuatro mieles de roble, cuatro mieles de romero y cuatro mieles de castaño), se realizaron un total de 10 repeticiones por muestra con un total de repeticiones sobre 160. Estos últimos datos fueron analizados con la técnica de componentes principales (PCA), cuyos resultados no fueron concluyentes. Sin embargo, al aplicar el análisis de datos mediante el uso de Máquinas de Soporte Vectorial (SVM), es posible obtener un modelo con un 87,5% de precisión en la clasificación. En este caso las mieles de Lavanda y Castaño fueron las que lograron una precisión del 90% y 100% respectivamente.

10.1 Descripción de las mieles empleadas para la nariz electrónica.

Para las mieles utilizadas en el caso de la nariz electrónica, se llevaron a cabo dos experimentos, en el primero de ellos se utilizaron las muestras de miel empleadas en el capítulo anterior de la impedancia eléctrica. Para este análisis se prepararon las muestras en recipientes de vidrio con 50 gramos de cada tipo de miel. La medición con el dispositivo se realizó a temperatura ambiente, sin realizar ningún tipo de manipulación ni preparación previa de la muestra.

En el estudio preliminar se utilizaron ocho mieles diferentes, obtenidas de diferentes lotes y cosechadas en el año 2020. Los análisis de polen clasificaron estas muestras como monoflorales. Por otro lado, los valores obtenidos en el análisis físico-químico se pueden observar en la Tabla 2 (véase capítulo anterior) en los que los valores de humedad, conductividad eléctrica, HMF y pH se encuentran dentro de los valores establecidos en la legislación vigente.

El objetivo del **estudio preliminar** consistió en **evaluar la capacidad y sensibilidad** del prototipo de nariz electrónica (enose) para detectar las diferentes mieles. Aunque los resultados mostraron que no fue posible observar ninguna agrupación en función del origen botánico de las mieles, sí se observó que los mayores valores de respuesta de los sensores coincidieron con las mieles que presentaron mayor porcentaje de polen, correspondientes a las muestras 2 (Viborera 74%), muestra 3 (Viborera 62%) y muestra 4 (Colza 57%) respectivamente, y que esta falta de agrupación puede deberse al bajo número de muestras.

Es por ello por lo que se consideró aumentar el número de muestras, dado que ayudaría a evitar esa falta de agrupación. Manteniendo esta suposición, se realizó un segundo estudio más exhaustivo, en el que se incrementó tanto el número de muestras como el de experimentos y repeticiones.

En la Tabla 12, se muestran los resultados de los análisis correspondientes las mieles del segundo estudio, clasificadas como miel de lavanda, castaño, roble y romero. En este caso se tuvieron que utilizar mieles diferentes ya que no era posible obtener mieles con el mismo origen botánico que las iniciales, utilizadas en el estudio preliminar. Estas mieles fueron cosechadas en 2022 por apicultores locales:



Tabla 12 Análisis físico, químico y de polen de las muestras de miel utilizadas en el segundo experimento.

Tipo	Nº muestra	% BRIX	% Humedad	pH	Conductividad	Pfound (mm)	Color	Contenido levaduras	Descripción	Nº granos	Polen nectarífero	Granos poliníferos	Polen tipo	Nectarífero	Polen
								(10 g)						(%)	(%)
Lavanda	2065	82	16	4,18	0,36	47	0	7.783,88	Muy bajo	687	400	287	119	29,7	17,3
Lavanda	3002	83	15	4	0,41	59	1	12,838,12	Bajo	500	400	100	37	9,25	7,4
Lavanda	3007	85	17	4,01	0,48	57	1	18,231,1	Bajo	540	446	94	16	3,59	2,96
Lavanda	3011	82	16	3,98	0,45	63	1	12,838,12	Bajo	500	400	100	44	11	8,8
Castaño	2026	79	16,5	4,82	1,16	145	2	51,625,46	Bajo	500	425	75	166	39,06	33,2
Castaño	2075	81	16,5	4,66	0,97	115	2	11,707,04	Bajo	803	712	91	399	56,03	49,68
Castaño	2094	82	16,5	4,74	1	116	2	85,465,32	Bajo	1313	1073	240	454	42,3	34,5
Castaño	22,109	81,5	16	4,85	1,16	131	2	85,465,32	Bajo	1313	1073	240	620	57,78	47,22
Romero	2001	83	14	4,26	0,1	14	4	5.558,96	Muy bajo	570	400	170	78	19,5	13,68
Romero	2007	80	17	4,12	0,09	19	3	2.963,47	Muy bajo	1004	401	603	125	31,17	12,45
Romero	2030	81	16	3,98	0,2	33	3	34,118,37	Bajo	508	463	45	15	3,23	2,95
Romero	2152	81	16	4,03	0,23	52	1	4.533,88	Muy bajo	736	400	336	87	21,7	11,8
Roble	2027	83,5	14	5,07	1,23	119	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Roble	2042	83	15	4,87	1,16	104	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Roble	2071	79	18,5	5,02	1,17	102	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Roble	2078	83	14	4,26	1,21	107	5	-	-	-	-	-	-	-	-

En el caso de la miel de roble, los apartados correspondientes al análisis polínico no tienen resultados. Esto es debido a que las mieles de mielato, que provienen principalmente de secreciones vegetales o excreciones de hemípteros (insectos chupadores de plantas), no se considera la carga de polen [28]. Este tipo de miel tiene otras características en su composición que le permiten tener otras excepciones respecto a otras mieles, como el contenido de azúcar o la conductividad eléctrica. Esta circunstancia también se reflejará en la detección de componentes del polen por parte de los sensores más relacionados con estas sustancias.

10.2 Dispositivo utilizado: prototipo de nariz electrónica

Para el análisis de la miel se utilizó un dispositivo compuesto por un conjunto de ocho sensores resistivos MQ (Tabla 13) (MQ2, MQ3, MQ4, MQ5, MQ7, MQ8, MQ9 y MQ135), Hanwei Electronics Co., Ltd.® (Zhengzhou, China), con un Arduino NANO® como equipo de adquisición y procesamiento de datos. Los sensores de gas MQ son sensores electroquímicos y su resistencia varía cuando se exponen a ciertos gases. Su interior consta de un calentador que se encarga de aumentar la temperatura interna. Gracias a esto, el sensor reacciona con los gases provocando un cambio en el valor de la resistencia. Los parámetros eléctricos de los sensores (sensibilidad entre otros) se pueden ver en [76].

Tabla 13 Sensores empleados en el prototipo de nariz electrónica usado y sus sensibilidades

Nº	Sensor	Sensible a
1	MQ2	GLP (Gases Licuados del Petróleo), Hidrógeno y Propano
2	MQ3	Alcohol
3	MQ4	Metano
4	MQ5	Hidrógeno y GLP
5	MQ7	Hidrógeno y monóxido de carbono.
6	MQ8	Hidrógeno
7	MQ9	Monóxido de carbono y gases licuados del petróleo (GLP)
8	MQ135	NH ₃ (amoníaco), NO _x , alcohol, benceno, humo, CO ₂ , etc.

Estos sensores resistivos comerciales asequibles cuentan con una capa sensible compuesta de un óxido metálico, específicamente dióxido de estaño (SnO₂). Cuando se expone a un gas, el óxido metálico facilita la ionización del gas, lo que provoca el movimiento de electrones y cambios en la conductividad de la capa. Dado que este mecanismo depende de la temperatura, el sensor incluye un calentador para mantener la temperatura de funcionamiento deseada.

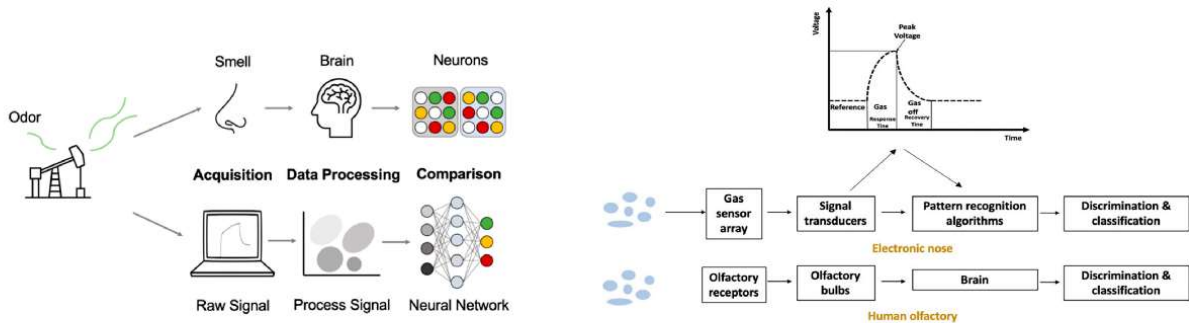
Tal y como se puede apreciar en la Tabla 13, cada sensor está diseñado para detectar una variedad de gases y sustancias químicas orgánica. Todos estos sensores son sensibles a una amplia variedad de gases. Una sustancia concreta, en este caso la miel, genera una señal concreta. Esta señal depende del número y cantidad específicos de compuestos orgánicos volátiles (COV) de cada miel. Posteriormente, cada miel presenta una señal específica que se puede distinguir entre varias mieles.

Las categorías químicas de las sustancias volátiles que se encuentran en la miel abarcan: hidrocarburos; aldehídos; alcoholes; cetonas; ácidos; ésteres; derivados de benceno, furano y pirano; norisoprenoides; terpenos y sus derivados; junto con azufre y compuestos cíclicos [77].

Si bien los sensores no detectan directamente los compuestos orgánicos volátiles (COV) mencionados en la miel, el objetivo de los experimentos fue observar si estos COV podrían influir

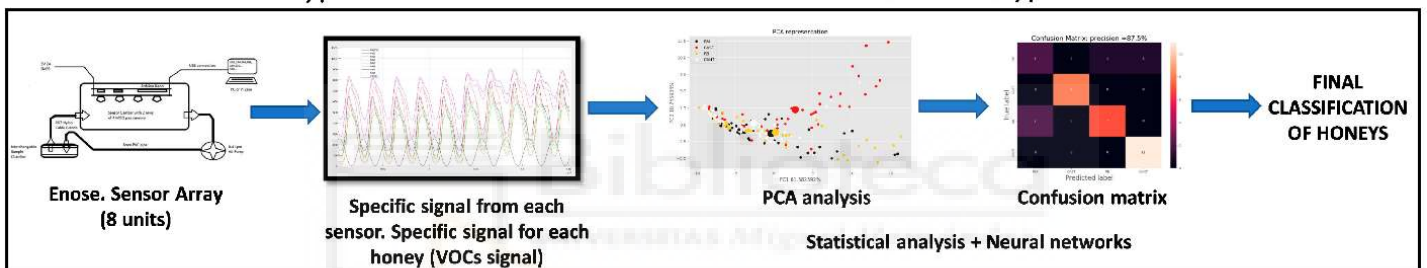
en los sensores, proporcionando potencialmente una firma química para diferenciar cada variedad de miel.

En la Figura 8 se muestran, en el apartado a los esquemas correspondientes al procedimiento de detección en el experimento. En el apartado b, los principios generales de una enose en comparación con el proceso olfativo; y por último en la imagen los procesos principales en la clasificación de mieles por enose utilizados en el experimento.



(a) General principles of an enose compared with the olfactory process.

(b) Main processes for classification of substances by enose compared with the olfactory process.



(c) Main processes for classification of honeys by enose in the experiment.

Figura 8 Esquemas del sistema de detección durante los ensayos. (a) Principios generales de funcionamiento de una enose en comparación con el proceso olfativo ; (c) Principales procesos de clasificación de mieles por enose durante el experimento.

Este equipo ha sido probado con éxito en experimentos anteriores [78–80] cuyos resultados han mostrado potencial como herramienta de detección complementaria en el sector agroalimentario. La principal novedad de este dispositivo respecto a versiones anteriores, que se muestra en la Figura 9, se basa en la mejora del diseño electrónico respecto a los prototipos utilizados en experimentos anteriores.

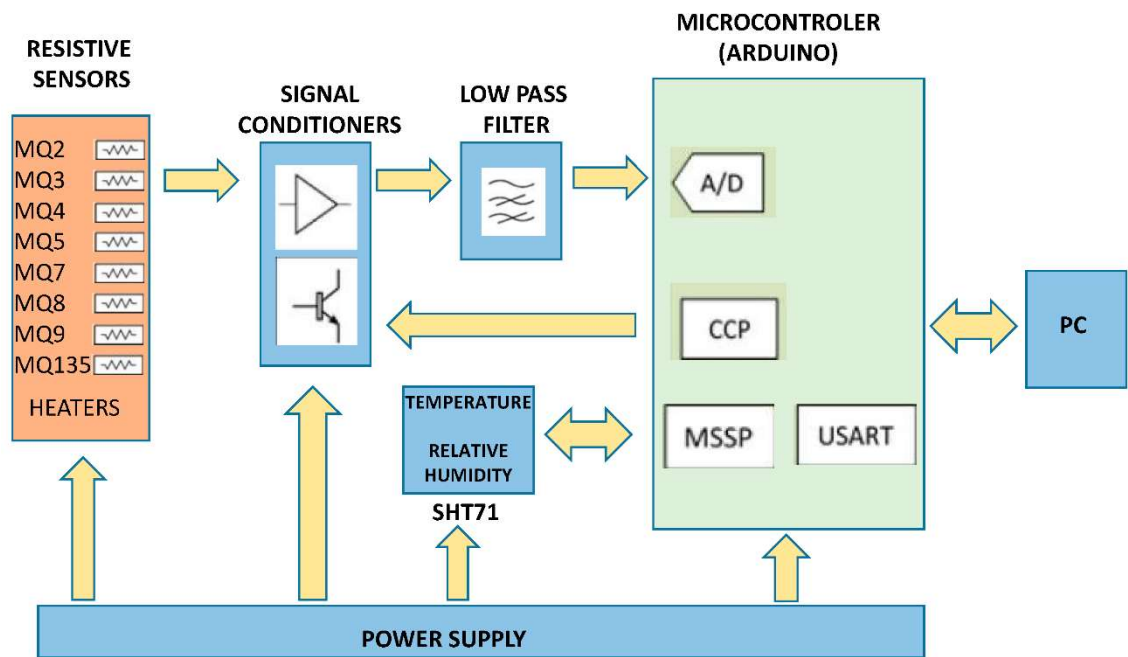


Figura 9 Esquemático en bloques del prototipo de nariz electrónica empleado

Además de este cambio en el diseño electrónico, se incluyeron nuevos reguladores de menor consumo de energía para evitar sobrecargas y sobrecalentamientos.

En el diseño original, el regulador principal soportaba toda la carga del circuito, lo que hacía que se calentara bastante. Los reguladores secundarios también tuvieron el mismo problema de calentamiento. El diseño se mejoró separando las líneas de alimentación para reducir la temperatura de calentamiento de los convertidores reductores (buck en la terminología inglesa). Estos presentaron una buena mejora y ya no hubo problemas de calentamiento, el convertidor reductor de 9 V a 5 V puede soportar hasta 3,5A sin necesidad de un disipador de calor.

La Figura 10 incluye la separación en líneas de alimentación y el circuito mejorado de la placa base del dispositivo.

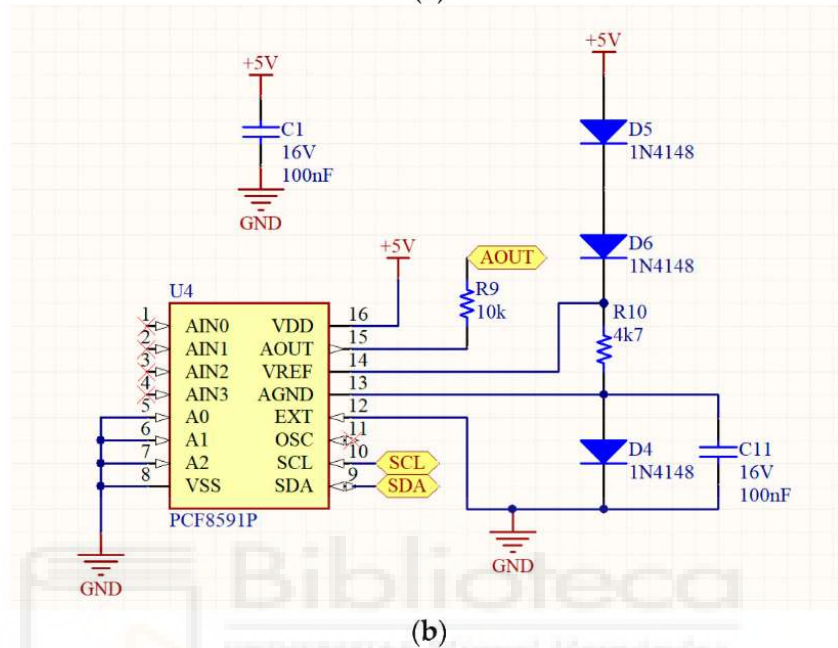
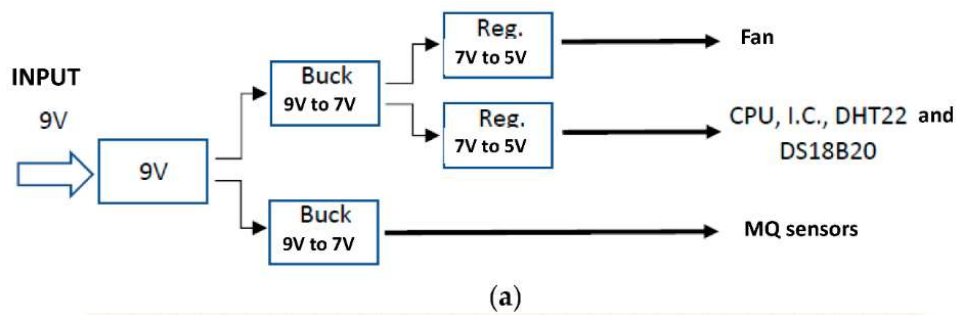


Figura 10 Mejoras del enose actual respecto al utilizado anteriormente. (a) Separación en varias líneas de alimentación; (b) Mejora introducida en la placa base con la incorporación de un nuevo convertor A/D. Las cruces rojas son pines sin utilizar del dispositivo

El tubo de aspiración de aire que permite la recolección de datos está conectado a la muestra tal y como se muestra en la Figura 11. Este tubo de conexión es de PVC, de 6 mm de diámetro externo (4 mm de diámetro interno), y se conecta en el otro extremo a la cámara del sensor de 700 mL hecha de PP5 (PVC de grado alimenticio) que contiene la matriz de sensores MQ.

El dispositivo cuenta con una bomba de aire de 0,4 L/min que recircula el aire dentro de la cámara de muestra. En la última versión del prototipo también se han cambiado los tubos de alimentación de aire por unos más rígidos y de mayor calidad (teflón). Esto evita el deterioro que se produce durante el muestreo. Debido al tamaño de la muestra y al bajo flujo de aire, la influencia en la generación de olores es muy baja. No obstante, para fines comerciales se tendrá en cuenta el uso de materiales alternativos al PVC.

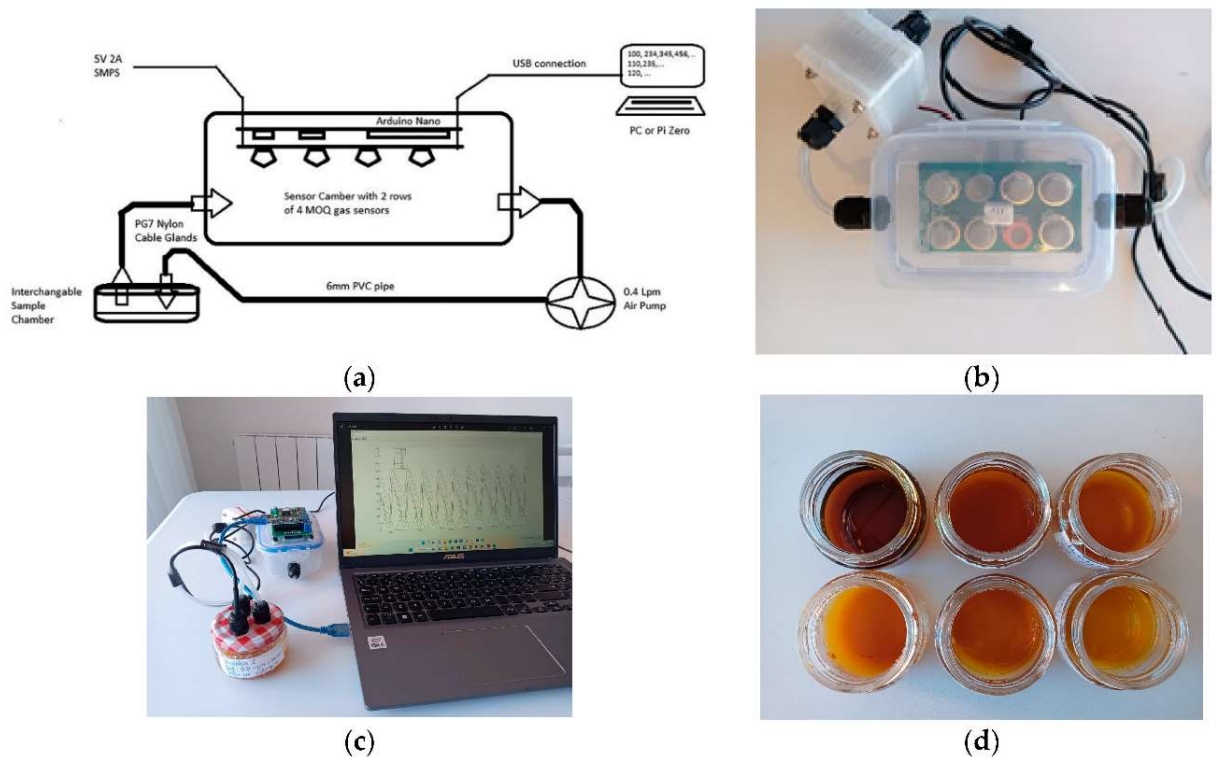


Figura 11 Dispositivo utilizado: (a) Diagrama del prototipo de nariz electrónica utilizado. (b) Matriz de sensores MQ dentro de la cámara de muestreo junto con el sensor de humedad y temperatura SHT71 (en el centro de la cámara). (c) Procedimiento experimental. (d) Muestras de miel del primer ensayo

Todos los sensores deben quemarse durante aproximadamente 48 horas para eliminar la humedad restante. Después del rodaje, las resistencias del potenciómetro utilizadas para cada sensor deben ajustarse para obtener una respuesta de 2 voltios con aire fresco (el valor de referencia sin miel). Si el dispositivo no se utiliza durante más de tres meses, se debe volver a realizar el procedimiento de precalentamiento de 48 horas.

La resistencia del sensor, que es la que es sensible a los gases presentes en la muestra, recibe una alimentación sinusoidal con valores de voltaje que varían entre 1,5 V y 4,5 V con un periodo de 2 min. Esto introduce una variación en la temperatura del sensor, que según la literatura sobre el uso de los sensores y pruebas nuestras anteriores ha demostrado aumentar la sensibilidad y, sobre todo, evitar el proceso de deriva en los sensores. El proceso de deriva se refiere al fenómeno por el cual el valor que leemos de los sensores en situaciones estables cae con el tiempo debido a procesos de deriva de sensibilidad. El muestreo del sensor se realiza cada 0,5 s con el ADC del *Arduino Nano* a 10 bits de resolución, es decir, se muestrea a 2 Hz.

10.3 Análisis de los resultados de la nariz electrónica con diferentes modelos matemáticos.

Por otro lado, en el caso de la clasificación de mieles monoflorales mediante la medición de un prototipo de nariz electrónica de bajo costo basado en sensores resistivos de óxido metálico, para analizar los datos sin procesar (sin procesar) capturados por los sensores, la acción inicial fue ejecutar una Transformada Discreta de Fourier (DFT) para cada ciclo de la señal de entrada [81]. El análisis previo de estos datos se realizó con software propio basado en *Matlab R2022b*. Actualmente este análisis DFT posterior se realiza de forma manual y se está desarrollando una aplicación para hacerlo de forma automática, aunque no está operativa hasta la fecha.

Posteriormente se utilizó el entorno *Python* para realizar un Análisis de Componentes Principales (PCA) como método lineal no supervisado. *Python* es un lenguaje de programación ampliamente utilizado en las aplicaciones web, el desarrollo de software, la ciencia de datos y el machine learning (ML). Con los datos empleados se observa el agrupamiento que la nariz electrónica pudo encontrar entre las muestras. Este análisis permite simplificar las variables estudiadas, su composición fisicoquímica, el análisis del polen y los valores obtenidos del prototipo de nariz electrónica. La técnica produce una nueva colección de variables conocidas como componentes principales. Cada componente principal se deriva de una combinación lineal de las variables iniciales. Estos componentes principales son mutuamente ortogonales, lo que garantiza que no se superponga información. Esta colección de componentes principales crea una base ortogonal para el dominio de datos.

En el segundo experimento, se utilizó el algoritmo de aprendizaje automático (ML) a través de Máquinas de Soporte Vectorial (SVM). Se trata de un algoritmo de aprendizaje supervisado que se utiliza en muchos problemas de clasificación y regresión, incluidas aplicaciones médicas de procesamiento de señales, procesamiento del lenguaje natural y reconocimiento de imágenes y voz. Este método ha dado buenos resultados en otros estudios recientes relacionados con la adulteración o clasificación de la miel que han combinado herramientas de aprendizaje automático [67,68] con otras técnicas de análisis como perfiles de isótopos, tecnología de microscopía hiperespectral o espectroscopia infrarroja [69].

Los resultados de las lecturas de la nariz electrónica, tomadas anteriormente, se compararon con las evaluaciones fisicoquímicas y de polen de cada muestra de miel para medir y evaluar la efectividad de la clasificación del prototipo utilizado.

10.4 Resultados del primer estudio realizado con la enose

Por un lado, se estudiaron los valores RAW (valores brutos y sin procesar) devueltos por el conversor AD (Analógico Digital). Estos valores analógicos oscilaron enteros entre 0 y 1023 (0-5 V) correspondientes a los datos directamente de los sensores, con una resolución de 10 bits. En el primer estudio, el experimento se repitió ocho veces para cada una de las seis muestras analizadas, mostrando una respuesta clara de los sensores en aquellas con mayor contenido de polen. La tendencia más observada es la disminución de la señal del sensor con el tiempo, tal y como se puede observar en la Figura 12, eventos que también han sido respaldados por otros estudios [82].

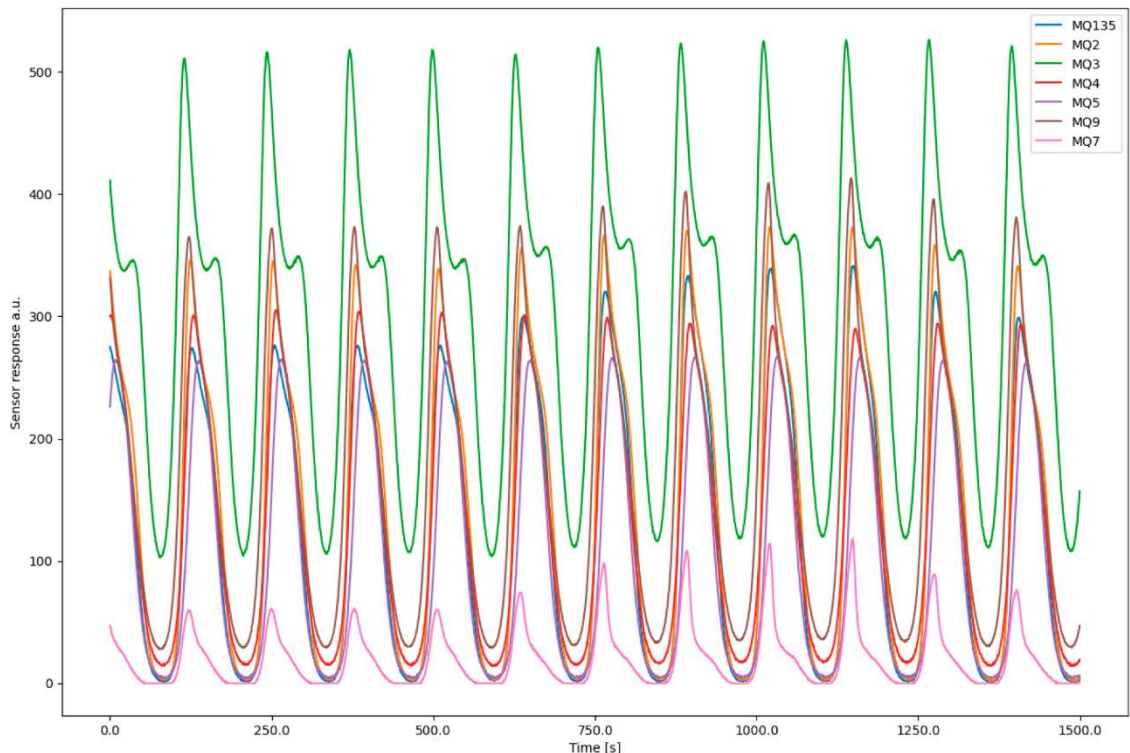


Figura 12 Respuesta de los ocho sensores a la muestra de miel 3 junto con la señal de voltaje (con valores menores) introducida en los sensores

Los experimentos se llevaron a cabo en un ambiente estable. Se tomaron muestras de 35 gramos de cada una de las mieles y se colocaron en cámaras de vidrio de 135 mililitros adaptadas para la nariz electrónica.

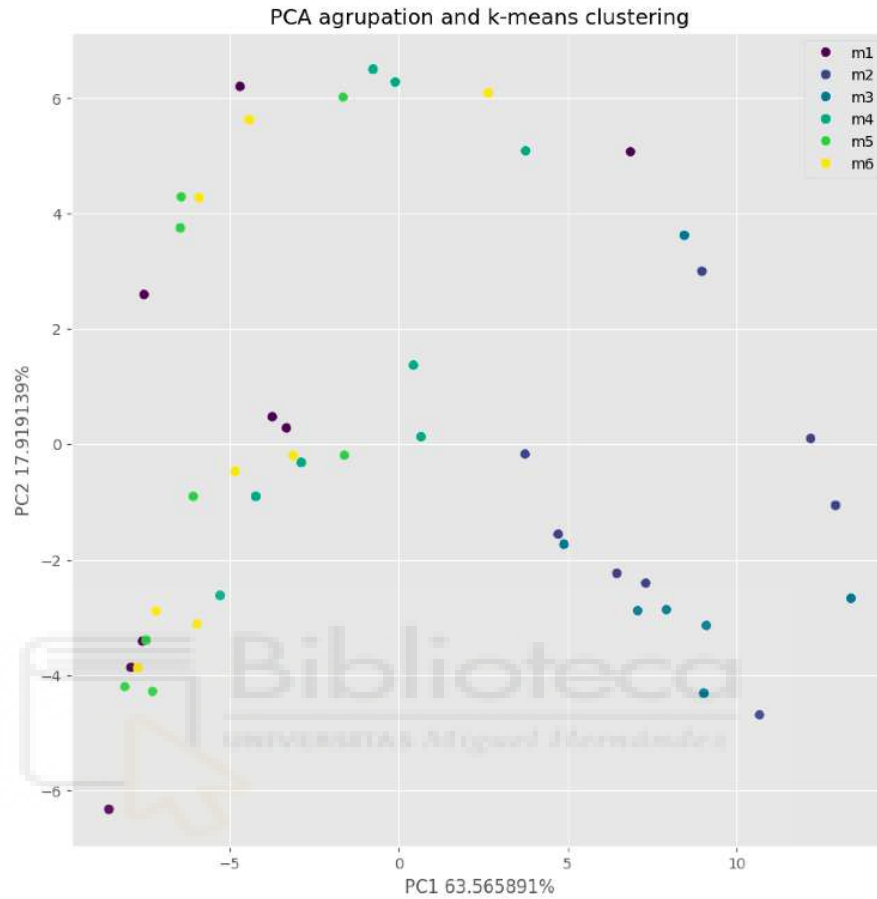
Para procesar los datos en bruto, el paso inicial implicó ejecutar una transformada discreta de Fourier (DFT) para cada experimento mediante un software especializado. Cada muestra se sometió a un análisis durante diez minutos, con la frecuencia de muestreo del dispositivo configurada en 2 Hz. En consecuencia, cada muestreo arrojó 1200 valores, que se procesaron a través de la función FFT (Transformada rápida de Fourier) de Matlab, produciendo coeficientes coseno y seno junto con cinco armónicos que abarcan el componente DC para cada coeficiente.

Posteriormente se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) para visualizar y agrupar las muestras. Tanto el PCA como la visualización se ejecutaron utilizando la versión *Matlab*® *R2020a*. Los datos acumulados se ordenaron en una matriz, posteriormente se normalizaron y luego se desglosaron en sus componentes principales (PC).

En este primer estudio preliminar no se observa un agrupamiento por muestras individuales, es decir, no se distinguen claramente las muestras. Sin embargo, se puede observar en la Figura 13 a que existe cierta división por color, es decir, a la izquierda se puede observar que las muestras m2 y m3 (Viborera 62% y Viborera 74%) que se encuentran agrupadas en contraste con las demás que se agrupan a la derecha de la nube de puntos.

Esta conclusión se ve más claramente en la Figura 14. Después de usar el algoritmo *k-means* para clasificar el conjunto de datos en dos grupos, se observa que las muestras de Viborera m2, m3 se pueden agrupar en un grupo y el resto de muestras se pueden agrupar en otro grupo.

Por otro lado, los datos de PCA de todas las muestras se representaron mediante un gráfico 2D en la Figura 14. En el gráfico se utilizan los dos primeros componentes principales y las muestras se muestran con un color y forma diferente según el tipo de miel al que pertenezcan. Este agrupamiento se observa con el análisis físico-químico y se compara con los resultados del análisis de la nariz electrónica.



(a)

Figura 13 Resultados de los análisis de PCA en el estudio preliminar: (a) Gráfico que muestra el análisis de PCA de todas las muestras y cada color indica a cuál de los seis tipos de muestras pertenece cada punto (m1, m2 y m3).

Las muestras de Viborera m2, m3 en (a) se pueden agrupar como un grupo (m1, azul) y las otras m1, m4, m5 y m6 en (a) se pueden agrupar como otro grupo (m2, amarillo).

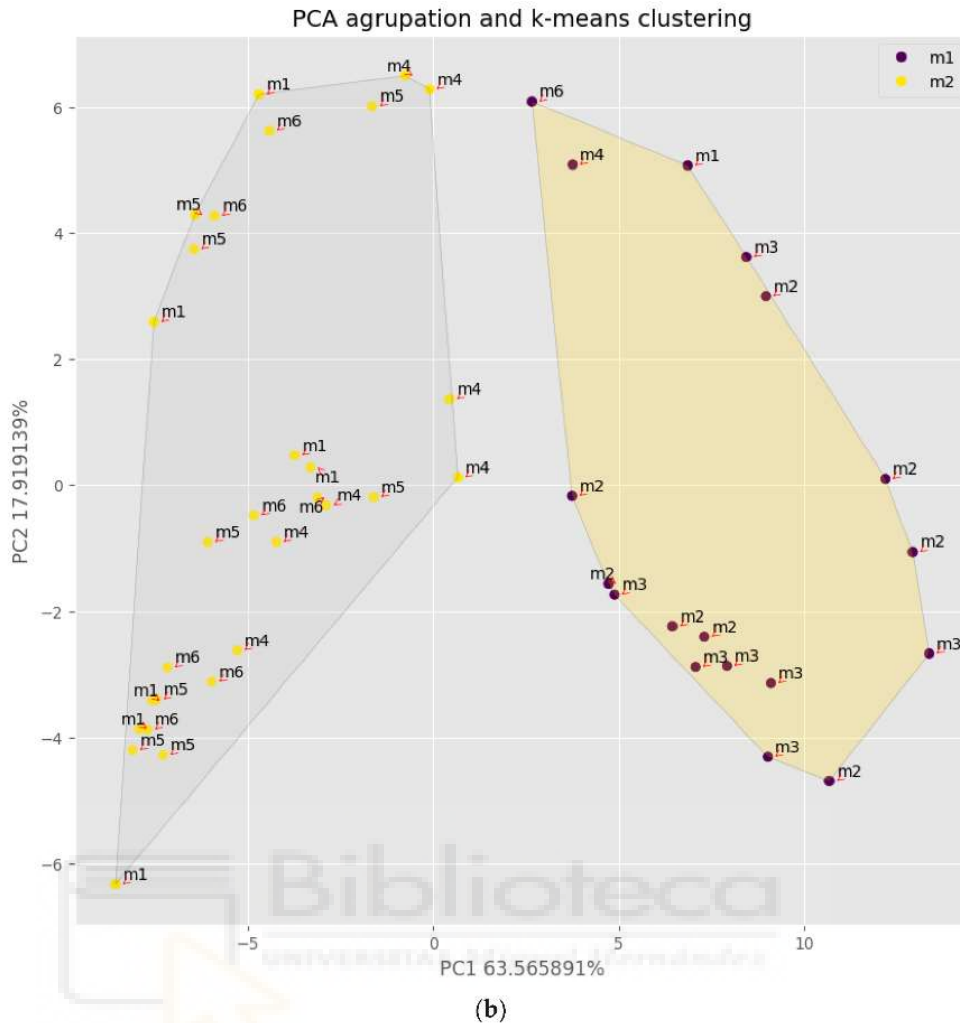


Figura 14 Aplicación del algoritmo k-means para clasificar el conjunto de datos en dos grupos de forma no forzada.

Si bien no se observa una clasificación clara para cada una de las mieles, se demuestra que el prototipo logra definir una clasificación en función de su contenido de polen, lo que refuerza nuestra hipótesis de que a pesar de ser sensores no específicos para COVs, puede tener un potencial clasificador para mieles.

10.5 Resultados del segundo experimento de la enose.

En este segundo estudio se utilizaron dieciséis muestras de miel, obtenidas también de apicultores locales de la zona de la Sierra Norte de la Comunidad de Madrid (España) y recolectadas en otoño de 2022. Cabe destacar que estas mieles, obtenidas principalmente de apiarios locales con colmenas en estanterías, es decir, aquella apicultura cuyas colmenas permanecen todo el año en el mismo asentamiento. están muy ligadas a la floración predominante del año en que se cosecha, y debido a los últimos años marcados por extremos climáticos, ha complicado la obtención de las mismas mieles monoflorales que en el primer estudio (Azul, Colza, Lavanda y Bosque).

En este caso, las mieles estudiadas se clasificaron en Romero (RM), Roble (RB), Lavanda (CANT) y Castaño (CAST). Para cada una de las variedades se proporcionaron cuatro muestras de diferentes lotes, lo que permitió analizar un total de dieciséis mieles con diferentes cargas polínicas. Como en el caso preliminar, se realizó un análisis fisicoquímico para cada una de las

muestras, cuyos resultados se muestran en la tabla nº 3 y que sirvieron para comparar con los resultados obtenidos del prototipo de nariz electrónica.

Las muestras de Roble (melaza) y Castaño presentan una mayor conductividad y color que el resto de muestras. Estas mieles tienen propiedades fisicoquímicas similares y, frecuentemente, perfiles de espectro polínico similares que en algunos estudios han complicado la diferenciación entre ellas [83] pero por el contrario, este hecho sí permite diferenciarlas claramente del resto de muestras como se puede observar en la figura nº 14.

Se realizó un PCA previo para comparar el agrupamiento realizado. Para este análisis se utilizaron los valores obtenidos de la tabla nº 3 a excepción de los valores de melaza del roble. En el caso de la melaza como la miel de roble, la melisopalinología no es útil para identificar el origen botánico de este tipo de miel [84].

La Figura 15 muestra la representación PCA realizada con los datos del análisis fisicoquímico. Cada uno de los puntos corresponde a cada una de las 12 muestras. El color indica la etiqueta de cada muestra relacionándola con el grupo al que pertenece según la leyenda indicada. Los puntos más grandes corresponden al centroide de cada uno de los clústers correspondientes a cada grupo. El centroide indica el promedio alrededor del cual se agrupan los puntos de un mismo grupo. Se puede observar cómo se han formado tres clústers que se pueden relacionar con las agrupaciones que pretendemos realizar según el tipo de miel. Abajo a la derecha, con mayor separación de los otros dos, se aprecia el racimo naranja correspondiente a Castaño. Éste presenta una gran variabilidad interna entre muestras, pero se diferencia mucho de los demás clústers. A la izquierda, se puede observar que los clústers correspondientes a Lavanda y Romero están mucho más próximos, indicando mayor similitud entre ellos. Se observa que una de las muestras de Romero, ubicada en la parte inferior izquierda de su cúmulo, está más cerca del cúmulo de Lavanda. Es decir, estos dos grupos (Lavanda y Romero) presentan una similitud muy alta según sus datos de análisis fisicoquímicos.

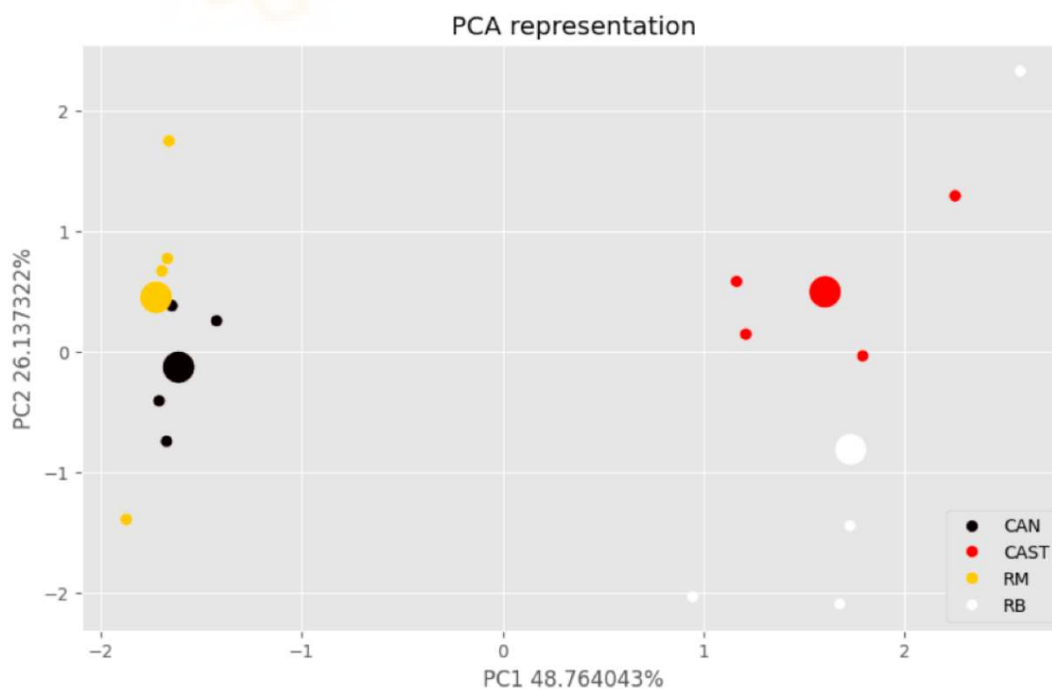


Figura 15 Representación de los dos primeros coeficientes principales del PCA realizada con los datos obtenidos del análisis fisicoquímico, llevando el 74,89% de la varianza de los datos

Según los valores fisicoquímicos, la gráfica muestra una mayor similitud entre las muestras de romero y lavanda, estando más diferenciado el castaño. Esto puede deberse a que tiene una mayor conductividad y color que el resto de muestras.

También se observan dos valores atípicos, uno de Roble y otro de Romero, que se alejan del resto del conjunto de datos, y que incide claramente en la correcta agrupación del clúster. Esto puede deberse a una de las limitaciones que tiene PCA como método de reducción de dimensionalidad, ya que solo contempla combinaciones lineales de variables, lo que significa que no es capaz de capturar otro tipo de relaciones.

Respecto a la nariz electrónica, se realizaron un total de diez mediciones para cada una de las muestras, obteniendo sobre el conjunto de datos que contiene 160 datos correspondientes a las mediciones realizadas por nariz electrónica sobre muestras de miel. Estas mieles se han agrupado según su contenido de polen en 4 grupos, Romero (RM), Roble (RB), Lavanda (CANT) y Castaño (CAST).

Además de las mediciones con nariz electrónica, se han empleado los resultados de un análisis fisicoquímico, que se muestra en la tabla nº 9 que contiene medidas de las melazas utilizadas. Según estos datos se ha realizado un estudio estadístico de 3 de las mieles RM, CAST y CANT. Cada uno de estos grupos está formado por cuatro muestras, por lo que hay un total de 12 muestras estudiadas. Se han omitido las muestras correspondientes al grupo RB al no haberse realizado en ellas el análisis polínico.

Tabla 14 Métricas para evaluar el desempeño del modelo SVM al clasificar entre las cuatro clases.

	Precisión ¹	Recall ²	Puntuación-F1 ³	Suport ⁴
Romero	0,8	0,67	0,73	6
Castaño	1.00	0,9	0,95	10
Roble	0,75	0,86	0,8	7
Lavanda	0,9	1.00	0,95	9
Exactitud	0,87	-	0,88	32
Macro-media ⁵	0,86	0,86	0,86	32
Micro-media ⁵	0,88	0,88	0,87	32

1 Precisión: la proporción de instancias clasificadas correctamente en todas las clases.

2 Recall: la capacidad del modelo para identificar correctamente todos los casos de una clase específica.

3 Puntuación F1: la media armónica de precisión y recuperación, que proporciona una medida equilibrada para cada clase.

4 Suport: se refiere al número de casos de cada clase. Da una indicación de la distribución de casos entre las clases.

5 Macro/Micro-media de precisión, recuperación y puntuación F1: macro-media calcula las métricas de forma independiente para cada clase y luego promedia, mientras que micro-media agrega las contribuciones de todas las clases para calcular las métricas.

El primer objetivo se estableció comparar el agrupamiento inicial de los cuatro grupos mencionados anteriormente, con los agrupamientos de los datos fisicoquímicos y los medidos por nariz electrónica. De esta manera se determinó si la nariz detecta y diferencia las muestras según la hipótesis inicial de los cuatro grupos.

En la Figura 16 se muestra la representación PCA realizada con los datos del análisis realizado por nariz electrónica. Cada uno de los puntos corresponde a cada una de las 160 muestras analizadas con la nariz. En este caso se presentan los datos de los 4 grupos estudiados. Cada color corresponde a uno de ellos establecidos en la leyenda de la figura. La primera observación de interés es; cómo gran parte de las muestras son indistinguibles por grupo, ubicado en la parte central izquierda de la figura, mientras que otros conglomerados están formados por grupos. En la parte superior izquierda, el clúster correspondiente a Castaño (CAST, rojo) es el que mejor se distingue del resto de muestras. Se ve que su centroide es el más alejado del resto y que una gran cantidad de muestras se ubican en la parte superior derecha de la figura.

En segundo lugar, cabe destacar que las muestras correspondientes a Roble (RB, amarillo) y Romero (RM, negro) son las que más se parecen entre sí. Los centroides están a la distancia más pequeña observada y las muestras se colocan exactamente en la misma área de la figura. Finalmente, se puede observar como Lavender (CANT, blanco), a pesar de que el centroide se aleja del resto, las muestras se distribuyen junto con el clúster central izquierdo.

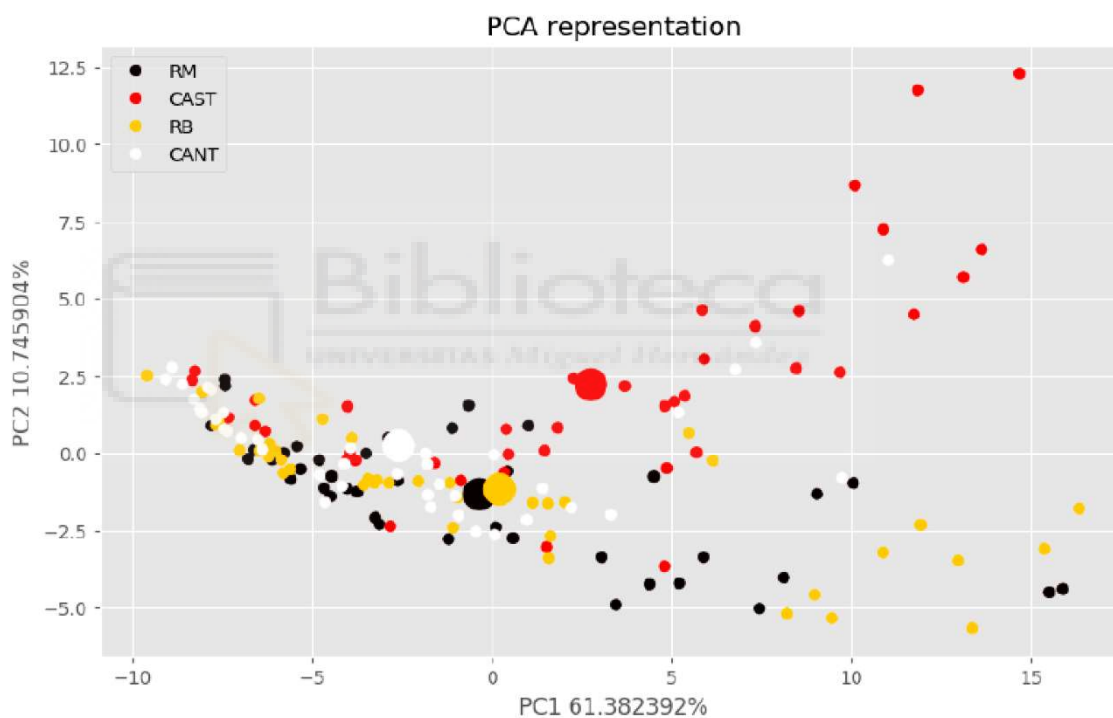


Figura 16 . Representación de los dos primeros coeficientes principales del PCA realizada con los datos obtenidos del análisis por nariz electrónica, tomando el 80% de la varianza de los datos. Castaño (CAST), rojo, Romero (RM), negro, Lavanda (CANT), blanco y Roble (RB), amarillo

En la Figura 15 se puede observar que la miel de Castaño, al igual que el caso del análisis PCA realizado con sus parámetros fisicoquímicos, se diferencia del resto de mieles principalmente por sus componentes fenólicos. Esto puede deberse a que la miel de castaño es una miel monofloral en la que se ha identificado el mayor número de compuestos fenólicos hasta la fecha [85], lo que permite aumentar la sensibilidad de los sensores y clasificarla de forma más clara respecto al resto de miel.

Lo mismo ocurre con la miel de melaza de roble, cuyas investigaciones han determinado que tiene un mayor contenido en polifenoles y flavonoides [84] en comparación con otros tipos de miel. Finalmente, se han utilizado modelos de aprendizaje supervisado para clasificar cada una

de las muestras dentro de cada uno de los grupos que se han establecido y a los que se considera que pertenecen. Los mejores resultados se obtuvieron utilizando Máquinas de Soporte Vectorial (SVM). El modelo obtenido fue entrenado con el 80% de los datos y con una calidad del 20%. Es posible obtener un modelo con un 87,5% de precisión en la clasificación. A continuación, en la Tabla 4 se detalla una serie de mediciones obtenidas.

Finalmente, se muestra el algoritmo de aprendizaje automático (ML) utilizando Máquinas de Soporte Vectorial (SVM).

Para la categorización estadística de las muestras, se construyó una matriz de confusión tal y como se puede apreciar en la Figura 17. Cada columna de la matriz indica el recuento de predicciones para cada clase, mientras que cada fila indica las instancias que pertenecen a la clase verdadera. Con esta matriz es posible evaluar la capacidad de predicción del algoritmo obtenido basado en SVM. Este algoritmo relaciona los valores medidos de las muestras con la enose utilizada frente al tipo de miel. Como se presenta en la figura 17, la precisión del algoritmo predictivo es del 87,5%. Ésta es una buena opción y la enose puede utilizarse para una rápida identificación de las mieles estudiadas.

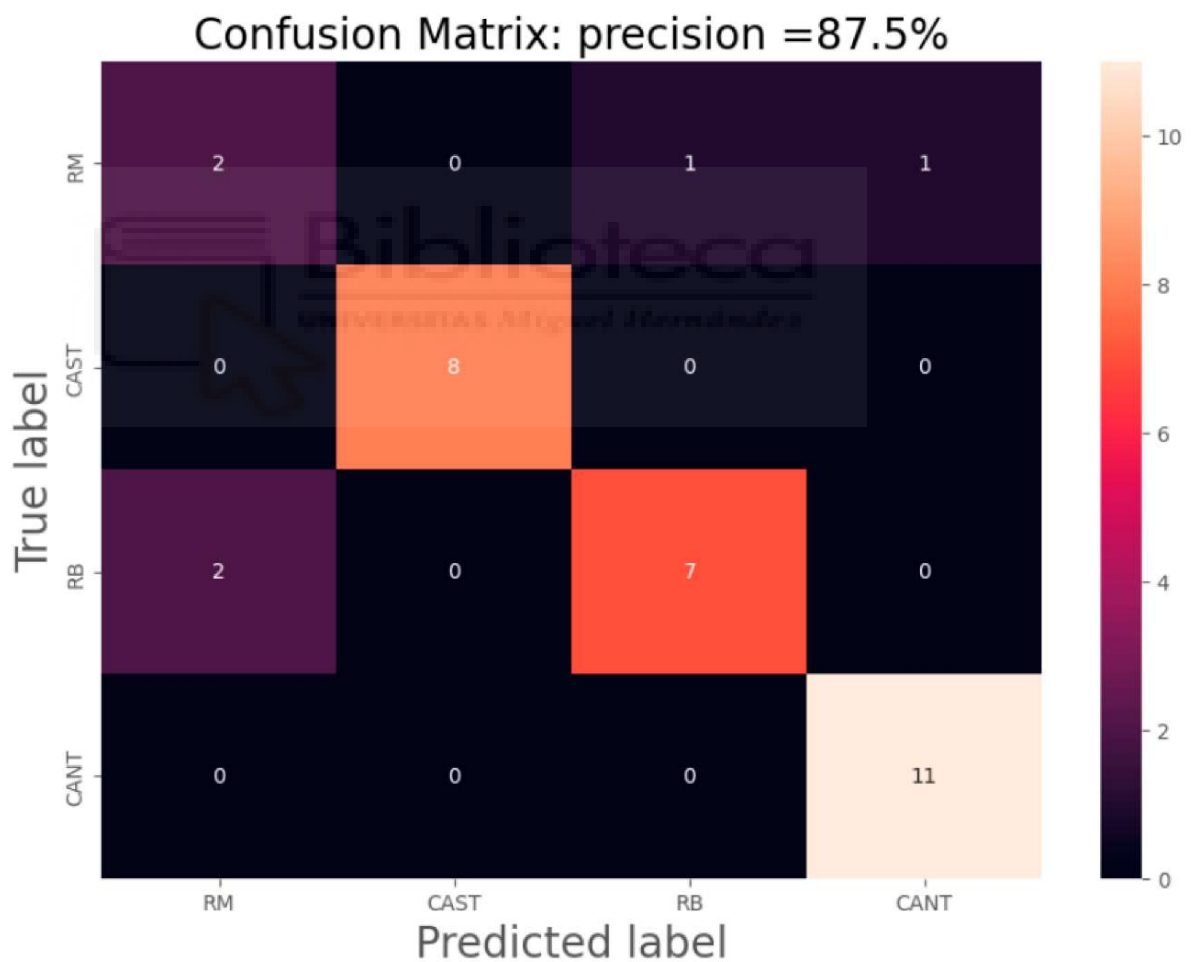


Figura 17 Matriz de confusión como medida del rendimiento del modelo. En los ejes se detalla el código correspondiente a cada grupo: En vertical el tipo de miel correcto, en horizontal la predicción

Finalmente se realizó un estudio cuyo objetivo es identificar cuáles son los sensores de la nariz electrónica que más aportan a la capacidad predictiva del modelo SVM. Se utilizó la técnica de Importancia de permutación para evaluar la importancia de las 72 variables en un conjunto de datos que consta de 160 muestras.

La importancia de la permutación es una técnica que le permite medir la importancia relativa de cada variable en un modelo de aprendizaje automático. En este caso se aplicará para evaluar cómo cada una de las 72 variables mencionadas anteriormente contribuye a la capacidad predictiva del modelo.

Con esta técnica, primero se entrena un modelo utilizando todo el conjunto de datos que contiene los 160 registros y 72 variables. Luego se calcula el rendimiento inicial del modelo. Se seleccionaron cada una de las variables, los valores de una de ellas se mezclaron, mientras que las demás variables permanecieron sin cambios en cada permutación. Se evalúa el desempeño del modelo con la variable permutada y se compara con el desempeño inicial para establecer la importancia de esta variable. Una mayor disminución en el desempeño indicará una mayor importancia de la variable como se puede observar en las figuras 18 y 19 :

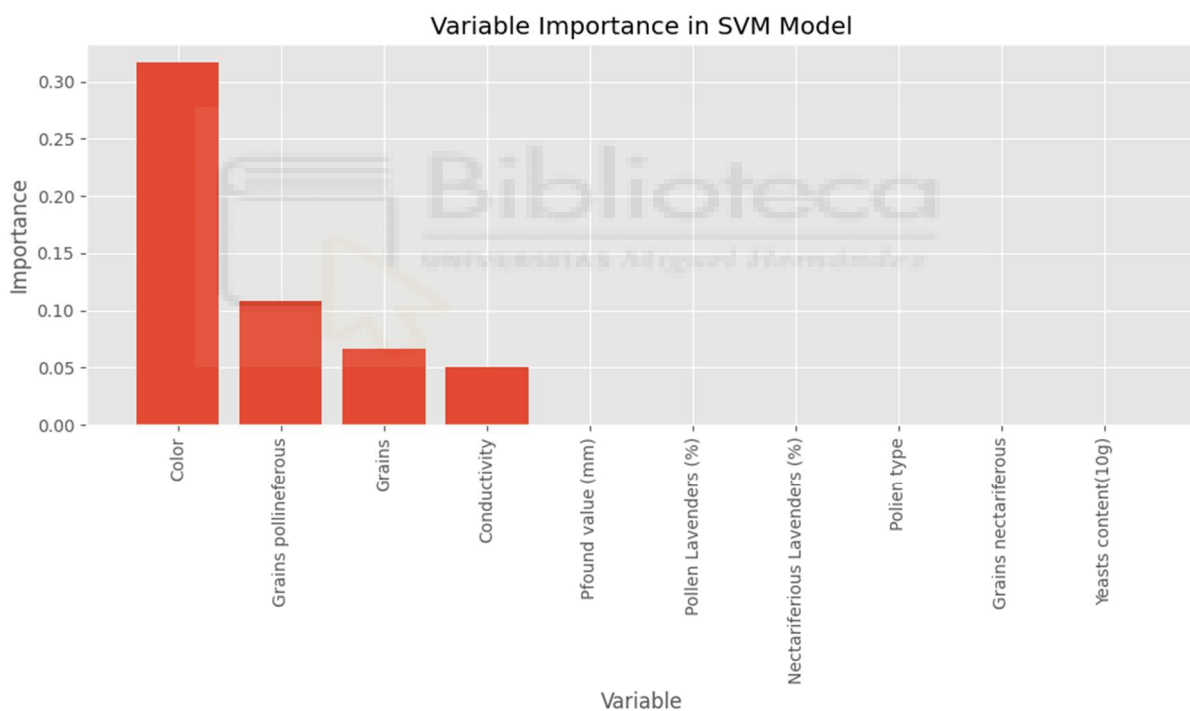


Figura 18 Importancia de la variables fisicoquímicas en el estudio predictivo del modelo SVM

Variable Importance in SVM Model

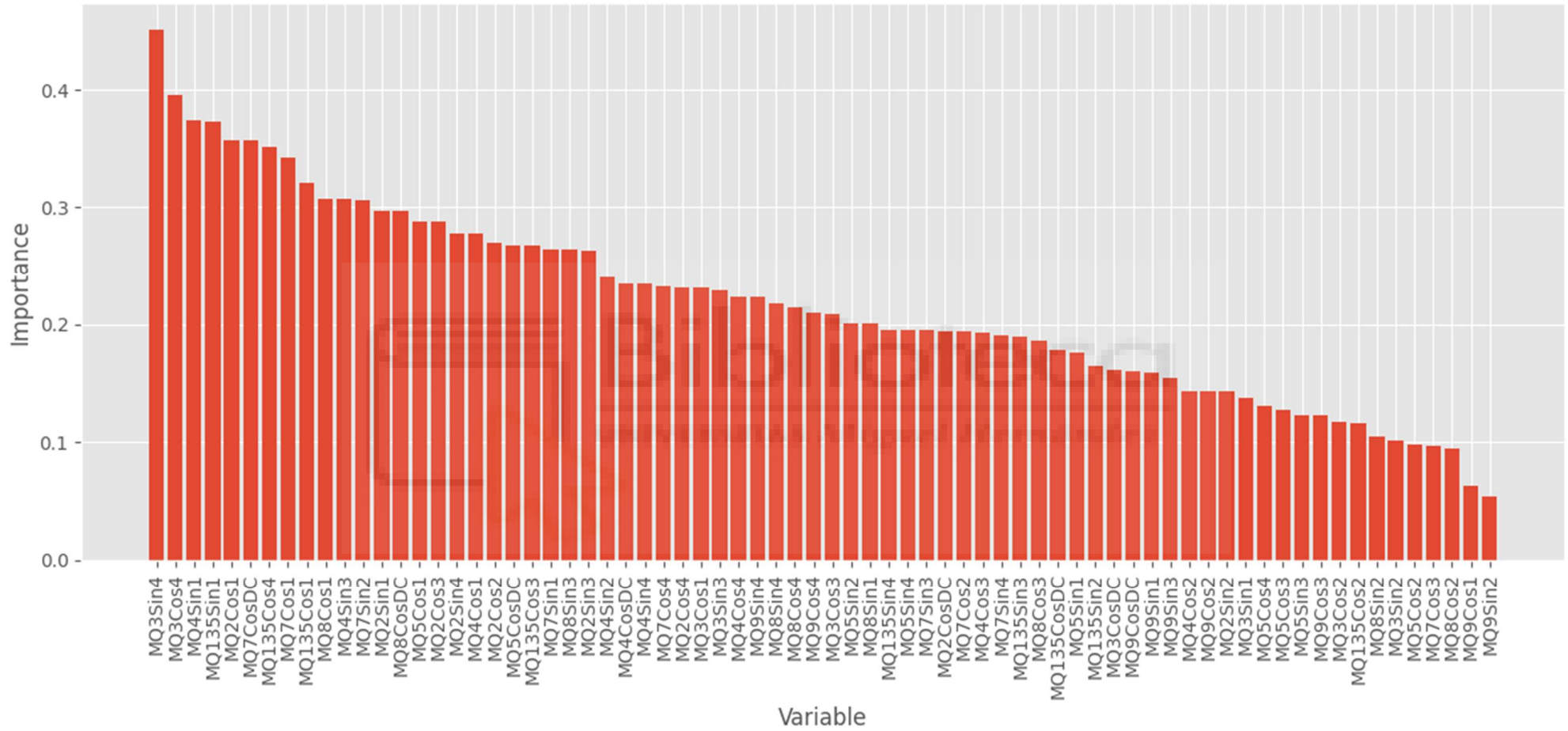


Figura 19 importancia de las variables de los sensores del estudio predictivo del modelo SVM

El sensor MQ3 (alcohol) es el más importante, mientras que MQ9 (monóxido de carbono y gases licuados del petróleo) es el menos relevante. Como era de esperar, el sensor MQ3 es una variable importante debido a su sensibilidad a los alcoholes y a que la composición química tanto de la miel como del polen está formada por estos. El MQ135 también es importante por su amplia sensibilidad a diferentes sensores.

En cuanto a la importancia de las variables del modelo SVM, el color es la variable más importante. Los siguientes en importancia son los granos de polen, seguidos de los granos y la conductividad. Las otras variables no son importantes en el modelo.

10.6 Conclusiones

Este capítulo, relacionado con el empleo de un prototipo de nariz electrónica para el análisis de la miel, ha permitido obtener las siguientes conclusiones generales:

1. Que los compuestos orgánicos volátiles pueden ayudar a distinguir las mieles monoflorales según sus fuentes y ofrecer información sobre la procedencia botánica y geográfica de la miel.
2. El uso de este prototipo de nariz electrónica ha permitido simplificar el análisis sin necesidad de requerir un especialista cualificado y reduciendo costes.
3. El conocimiento del perfil volátil de una miel y su huella química ha permitido discriminar el tipo de miel en función de su origen floral.
4. Los resultados del estudio preliminar permitieron clasificar dos grupos en función del porcentaje de polen contenido en la miel, obteniendo una mayor respuesta de los sensores para aquellas muestras que tenían un contenido de polen superior al 54%.
5. El método de clasificación SVL ha permitido distinguir las variedades de mieles y se muestra como un método alternativo al PCA en la clasificación de mieles monoflorales del experimento desarrollado.
6. Para este experimento, los sensores relacionados con el alcohol (MQ3) son los que mayor respuesta dan debido a la composición química tanto de la miel como del polen. Del mismo modo, el MQ135 da una respuesta significativa, debido a la amplia gama de COV a los que es sensible.

11 Conclusiones generales, puntos débiles y futuras líneas de investigación.

Los prototipos de dispositivo empleados en esta tesis (impedancia eléctrica y nariz electrónica) se han mostrado como alternativas y complementos a los paneles de catadores para detectar las características cualitativas de la miel. No obstante, deben ser entrenados con más experimentos para mejorar la calidad de la medida del dispositivo.

Las mediciones de la impedancia eléctrica y nariz electrónica resultaron ser útiles para la detección y discriminación de diferentes variedades de miel. La aplicación de estos dispositivos en la industria para el control de fraude y alteraciones de la miel, sería interesante, ya que no se altera el producto y la medición se realiza de una manera rápida y con posibilidades de automatización.

El dispositivo de impedancia eléctrica empleado, permitió clasificar diferentes mieles y se puede emplear en la diferenciación de este producto, desde el punto de vista cualitativo.

Por otro lado, respecto al dispositivo de impedancia eléctrica se observó que las curvas X vs R tienden a los mismos valores a altas frecuencias, por lo que dejan de tener utilidad para el clasificado. Así mismo, también se ha observado que a frecuencias más altas hay un aumento de los componentes parasitarios, lo que puede dar lugar a una interpretación errónea de los resultados. De forma práctica se podría limitar el barrido en frecuencia hasta 10 MHz como máximo.

Se puede concluir de manera general, que la nariz electrónica es perfectamente aplicable para la evaluación de los compuestos volátiles de las mieles y productos análogos.

Mediante el empleo de métodos estadísticos para relacionar las propiedades físicoquímicas de la miel con las mediciones de los prototipos de dispositivos usados es posible caracterizar diferentes tipos de miel. El empleo de los Análisis de Componentes Principales (PCA) permitieron reducir la dimensionalidad del espacio muestral.

Los sensores utilizados en el dispositivo de nariz electrónica del tipo MOx (óxidos metálicos) reaccionan, en mayor o menor medida, a casi cualquier tipo de compuestos volátiles presentes en la miel, reduciendo u oxidando el material sensible que provoca un cambio en la resistencia de estos. El hecho de que cada uno de los 8 sensores reaccionen de forma distinta a los volátiles presentes en la miel, ha permitido discriminar los diferentes patrones olfativos en la miel. La nariz electrónica podría desempeñar un papel importante en la industria de la miel en la clasificación interna y como alternativa y complemento a los paneles de cata.

Un problema observado en el prototipo de la nariz electrónica es la repetibilidad del dispositivo. Se ha observado que hay una respuesta variada en cada dispositivo, aunque se intuye que esto se puede solucionar con un sensor de mejor calidad. De hecho, actualmente se está trabajando con una familia de sensores más precisa para los nuevos prototipos de nariz electrónica que desarrolla el grupo de investigación.

Otro inconveniente que presenta este prototipo es la calibración previa, dado que requiere un periodo de varios meses (dependiendo del número de muestras), lo que dilata considerablemente los plazos del experimento. Este inconveniente se presenta en la gran mayoría

de las narices electrónicas, puesto que no se trata de un dispositivo de detección cuantitativa, sino cualitativa.

La futura línea de investigación consiste en integrar estos dispositivos en el interior de la colmena mediante un sistema de monitorización remoto y autónomo que, junto con otros sensores de temperatura, humedad, peso e imagen, logren monitorear diferentes puntos dentro y fuera de ella, permitiendo almacenar los datos recopilados y facilitar la toma de decisiones en el manejo sin la necesidad de desplazarse al colmenar.



12 Referencias

1. María, E.G.; Madueño-Luna, A.; Ruiz-Canales, A.; Luna, J.M.M. Classification of Monofloral Honeys by Measuring Electrical Impedance Based on Neural Networks. *Agronomy* **2022**, *12*, 1929, doi:10.3390/agronomy12081929.
2. María, E.G.; Luna, A.M.; Celdrán, A.C.; Muñoz, G.M.; Oates, M.J.; Ruiz-Canales, A. Classification of Monofloral Honeys by Measuring a Low-Cost Electronic Nose Prototype Based on Resistive Metal Oxide Sensors. *Agronomy* **2023**, *13*, 2183, doi:10.3390/agronomy13082183.
3. Apícola Available online: <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/sectores-ganaderos/apicola/> (accessed on 25 February 2023).
4. Es hora de apreciar la labor de los polinizadores Available online: <http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1129811/> (accessed on 16 April 2023).
5. Mapa de Miel con Denominación de Origen Protegida e Indicación Geográfica Protegida Available online: https://www.mapa.gob.es/es/cartografia-y-sig/publicaciones/alimentacion/mapa_dop_igp_miel.aspx (accessed on 9 October 2023).
6. Goulson, D.; Nicholls, E.; Botias, C.; Rotheray, E.L. Bee Declines Driven by Combined Stress from Parasites, Pesticides, and Lack of Flowers. *Science* **2015**, *347*, 1255957–1255957, doi:10.1126/science.1255957.
7. Klein, S.; Cabirol, A.; Devaud, J.-M.; Barron, A.; Lihoreau, M. Why Bees Are So Vulnerable to Environmental Stressors. *Trends Ecol. Evol.* **2017**, *32*, doi:10.1016/j.tree.2016.12.009.
8. REPORT on Prospects and Challenges for the EU Apiculture Sector Available online: https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2018-0014_EN.html (accessed on 9 November 2020).
9. Cárdenas-Escudero, J.; Galán-Madruga, D.; Cáceres, J.O. Rapid, Reliable and Easy-to-Perform Chemometric-Less Method for Rice Syrup Adulterated Honey Detection Using FTIR-ATR. *Talanta* **2023**, *253*, 123961, doi:10.1016/j.talanta.2022.123961.
10. ENGHMAYER, M.; Maldonado, L.; Salomón, V.; Alvarez, A.; Gaggiotti, M. La Detección de Adulteraciones En La Miel. In; 2022; p. 109 ISBN 978-987-885-180-8.
11. García, N.L. The Current Situation on the International Honey Market. *Bee World* **2018**, *95*, 89–94, doi:10.1080/0005772X.2018.1483814.
12. Huang, T.-K.; Chuang, M.-C.; Kung, Y.; Hsieh, B.-C. Impedimetric Sensing of Honey Adulterated with High Fructose Corn Syrup. *Food Control* **2021**, *130*, 108326, doi:10.1016/j.foodcont.2021.108326.
13. Das, C.; Chakraborty, S.; Acharya, K.; Bera, N.K.; Chattopadhyay, D.; Karmakar, A.; Chattopadhyay, S. FT-MIR Supported Electrical Impedance Spectroscopy Based Study of Sugar Adulterated Honeys from Different Floral Origin. *Talanta* **2017**, *171*, 327–334, doi:10.1016/j.talanta.2017.05.016.
14. Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática *Real Decreto 523/2020, de 19 de Mayo, Por El Que Se Modifica El Real Decreto 1049/2003, de 1 de Agosto, Por El Que Se Aprueba La Norma de Calidad Relativa a La Miel*; 2020; Vol. BOE-A-2020-6513, pp. 43006–43008;.
15. ASALE, R.-; RAE miel | Diccionario de la lengua española Available online: <https://dle.rae.es/miel> (accessed on 18 March 2023).
16. Elbanna, K.; Attalla, K.; Elbadry, M.; Abdeltawab, A.; Gamal-Eldin, H.; Fawzy Ramadan, M. Impact of Floral Sources and Processing on the Antimicrobial Activities of Different Unifloral Honeys. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2014**, *4*, 194–200, doi:10.1016/S2222-1808(14)60504-1.
17. Karabournioti, S.; Thrasyvoulou, A.; Eleftheriou, E.P. A Model for Predicting Geographic Origin of Honey from the Same Floral Source. *J. Apic. Res.* **2006**, *45*, 117–124, doi:10.1080/00218839.2006.11101329.
18. Galhardo, D.; Garcia, R.C.; Schneider, C.R.; Braga, G.C.; Chambó, E.D.; França, D.L.B. de; Ströher, S.M. Physicochemical, Bioactive Properties and Antioxidant of *Apis Mellifera* L.

- Honey from Western Paraná, Southern Brazil. *Food Sci. Technol.* **2020**, *41*, 247–253, doi:10.1590/fst.11720.
19. Escriche, I.; Sobrino-Gregorio, L.; Conchado, A.; Juan-Borrás, M. Volatile Profile in the Accurate Labelling of Monofloral Honey. The Case of Lavender and Thyme Honey. *Food Chem.* **2017**, *226*, 61–68, doi:10.1016/j.foodchem.2017.01.051.
 20. Soria, A.C.; González, M.; de Lorenzo, C.; Martínez-Castro, I.; Sanz, J. Characterization of Artisanal Honeys from Madrid (Central Spain) on the Basis of Their Melissopalynological, Physicochemical and Volatile Composition Data. *Food Chem.* **2004**, *85*, 121–130, doi:10.1016/j.foodchem.2003.06.012.
 21. Escriche, I.; Visquert, M.; Juan-Borrás, M.; Fito, P. Influence of Simulated Industrial Thermal Treatments on the Volatile Fractions of Different Varieties of Honey. *Food Chem.* **2009**, *112*, 329–338, doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.068.
 22. Lahoz Ortega, J. Estudio de la fracción volátil de mieles españolas de azahar y romero. Proyecto/Trabajo fin de carrera/grado, Universitat Politècnica de València, 2020.
 23. Juan-Borrás, M.; Domenech, E.; Hellebrandova, M.; Escriche, I. Effect of Country Origin on Physicochemical, Sugar and Volatile Composition of Acacia, Sunflower and Tilia Honeys. *Food Res. Int.* **2014**, *60*, 86–94, doi:10.1016/j.foodres.2013.11.045.
 24. Sáenz Laín, C.; Gómez Ferreras, C. *Mieles españolas: características e identificación mediante el análisis del polen*; Mundi Prensa Libros, 2000; ISBN 978-84-7114-877-3.
 25. Ratiu, I.A.; Al-Suod, H.; Bukowska, M.; Ligor, M.; Buszewski, B. Correlation Study of Honey Regarding Their Physicochemical Properties and Sugars and Cyclitols Content. *Molecules* **2020**, *25*, 34, doi:10.3390/molecules25010034.
 26. Saavedra C, K.I.; Rojas I, C.; Delgado P, G.E. Características Polínicas y Composición Química Del Polen Apícola Colectado En Cayaltí (Lambayeque - Perú). *Rev. Chil. Nutr.* **2013**, *40*, 71–78, doi:10.4067/S0717-75182013000100011.
 27. Thakur, M.; Nanda, V. Composition and Functionality of Bee Pollen: A Review. *Trends Food Sci. Technol.* **2020**, *98*, 82–106, doi:10.1016/j.tifs.2020.02.001.
 28. Insuasty-Santacruz, E.; Martínez-Benavides, J.; Jurado-Gámez, H. Determinación melisopalínológica de miel de abejas *Apis mellifera* producida con flora de clima frío, principalmente *Trifolium repens* L. *Rev. Vet. Zootec. Line* **2017**, *11*, 74–82, doi:10.17151/vetzo.2017.11.1.6.
 29. BOE-A-2018-8493 Resolución de 4 de Junio de 2018, de La Dirección General de La Industria Alimentaria, Por La Que Se Publica El Convenio Con El Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos Para El Desarrollo de La Universidad Politècnica de Valencia, Para La Caracterización de Las Principales Mieles Monoflorales Españolas. Available online: https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-2018-8493 (accessed on 25 February 2023).
 30. Erdtman, G. The Acetolysis Method—a Revised Description. *Sven. Bot. Tidskr.* **1960**.
 31. Caceres, J.; Pintor, S. El Polen, Elemento Clave de La Miel. **2019**, *57*, 3.
 32. Guler, A.; Kocaokutgen, H.; Garipoglu, A.V.; Onder, H.; Ekinci, D.; Biyik, S. Detection of Adulterated Honey Produced by Honeybee (*Apis Mellifera* L.) Colonies Fed with Different Levels of Commercial Industrial Sugar (C3 and C4 Plants) Syrups by the Carbon Isotope Ratio Analysis. *Food Chem.* **2014**, *155*, 155–160, doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.033.
 33. Labsvards, K.D.; Rudovica, V.; Kluga, R.; Rusko, J.; Busa, L.; Bertins, M.; Eglite, I.; Naumenko, J.; Salajeva, M.; Viksna, A. Determination of Floral Origin Markers of Latvian Honey by Using IRMS, UHPLC-HRMS, and ¹H-NMR. *Foods* **2022**, *11*, 42, doi:10.3390/foods11010042.
 34. Zhu, X.; Li, S.; Shan, Y.; Zhang, Z.; Li, G.; Su, D.; Liu, F. Detection of Adulterants Such as Sweeteners Materials in Honey Using Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *J. Food Eng.* **2010**, *101*, 92–97, doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.06.014.
 35. Ballesteros, E.P.; Riveros, A.C.; Acuña, F.R.T. Determinantes Físicoquímicos de La Calidad de La Miel: Una Revisión Bibliográfica. *Cuad. Desarro. Rural* **2019**, *16*, undefined-undefined, doi:10.11144/javeriana.cdr16-83.dfc.

36. Popek, S.; Halagarda, M.; Kurska, K. A New Model to Identify Botanical Origin of Polish Honeys Based on the Physicochemical Parameters and Chemometric Analysis. *LWT* **2017**, *77*, 482–487, doi:10.1016/j.lwt.2016.12.003.
37. Determinantes físicoquímicos de la calidad de la miel: una revisión bibliográfica*.
38. van Gerven, M.; Bohte, S. Editorial: Artificial Neural Networks as Models of Neural Information Processing. *Front. Comput. Neurosci.* **2017**, *11*, 114, doi:10.3389/fncom.2017.00114.
39. Mateo, F.; Tarazona, A.; Mateo, E.M. Comparative Study of Several Machine Learning Algorithms for Classification of Unifloral Honeys. *Foods* **2021**, *10*, 1543, doi:10.3390/foods10071543.
40. Escuredo, O.; Seijo, M.C. Honey: Chemical Composition, Stability and Authenticity. *Foods* **2019**, *8*, 577, doi:10.3390/foods8110577.
41. Corvucci, F.; Nobili, L.; Melucci, D.; Grillenzoni, F.-V. The Discrimination of Honey Origin Using Melissopalynology and Raman Spectroscopy Techniques Coupled with Multivariate Analysis. *Food Chem.* **2015**, *169*, 297–304, doi:10.1016/j.foodchem.2014.07.122.
42. Prosser, S.W.J.; Hebert, P.D.N. Rapid Identification of the Botanical and Entomological Sources of Honey Using DNA Metabarcoding. *Food Chem.* **2017**, *214*, 183–191, doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.077.
43. Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M.C.; de Torres, C.; Pérez-Coello, M.S. Effect of Geographical Origin on the Chemical and Sensory Characteristics of Chestnut Honeys. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 2335–2340, doi:10.1016/j.foodres.2010.07.007.
44. Belay, A.; Haki, G.D.; Birringer, M.; Borck, H.; Addi, A.; Baye, K.; Melaku, S. Rheology and Botanical Origin of Ethiopian Monofloral Honey. *LWT* **2017**, *75*, 393–401, doi:10.1016/j.lwt.2016.09.021.
45. Oryan, A.; Alemzadeh, E.; Moshiri, A. Biological Properties and Therapeutic Activities of Honey in Wound Healing: A Narrative Review and Meta-Analysis. *J. Tissue Viability* **2016**, *25*, 98–118, doi:10.1016/j.jtv.2015.12.002.
46. Almasaudi, S.B.; Al-Nahari, A.A.M.; Abd El-Ghany, E.S.M.; Barbour, E.; Al Muhayawi, S.M.; Al-Jaouni, S.; Azhar, E.; Qari, M.; Qari, Y.A.; Harakeh, S. Antimicrobial Effect of Different Types of Honey on *Staphylococcus Aureus*. *Saudi J. Biol. Sci.* **2017**, *24*, 1255–1261, doi:10.1016/j.sjbs.2016.08.007.
47. Osés, S.M.; Pascual-Maté, A.; de la Fuente, D.; de Pablo, A.; Fernández-Muiño, M.A.; Sancho, M.T. Comparison of Methods to Determine Antibacterial Activity of Honeys against *Staphylococcus Aureus*. *NJAS - Wagening. J. Life Sci.* **2016**, *78*, 29–33, doi:10.1016/j.njas.2015.12.005.
48. Bueno-Costa, F.M.; Zambiasi, R.C.; Bohmer, B.W.; Chaves, F.C.; Silva, W.P. da; Zanusso, J.T.; Dutra, I. Antibacterial and Antioxidant Activity of Honeys from the State of Rio Grande Do Sul, Brazil. *LWT - Food Sci. Technol.* **2016**, *65*, 333–340, doi:10.1016/j.lwt.2015.08.018.
49. Jin, Y.; Zhang, J.; Zhao, W.; Zhang, W.; Wang, L.; Zhou, J.; Li, Y. Development and Validation of a Multiclass Method for the Quantification of Veterinary Drug Residues in Honey and Royal Jelly by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Food Chem.* **2017**, *221*, 1298–1307, doi:10.1016/j.foodchem.2016.11.026.
50. Tette, P.A.S.; da Silva Oliveira, F.A.; Pereira, E.N.C.; Silva, G.; de Abreu Glória, M.B.; Fernandes, C. Multiclass Method for Pesticides Quantification in Honey by Means of Modified QuEChERS and UHPLC–MS/MS. *Food Chem.* **2016**, *211*, 130–139, doi:10.1016/j.foodchem.2016.05.036.
51. Juan-Borrás, M.; Domenech, E.; Escriche, I. Mixture-Risk-Assessment of Pesticide Residues in Retail Polyfloral Honey. *Food Control* **2016**, *67*, 127–134, doi:10.1016/j.foodcont.2016.02.051.
52. Vichapong, J.; Burakham, R.; Santaladchaiyakit, Y.; Srijaranai, S. A Preconcentration Method for Analysis of Neonicotinoids in Honey Samples by Ionic Liquid-Based Cold-Induced

- Aggregation Microextraction. *Talanta* **2016**, *155*, 216–221, doi:10.1016/j.talanta.2016.04.045.
53. Guelpa, A.; Marini, F.; du Plessis, A.; Slabbert, R.; Manley, M. Verification of Authenticity and Fraud Detection in South African Honey Using NIR Spectroscopy. *Food Control* **2017**, *73*, 1388–1396, doi:10.1016/j.foodcont.2016.11.002.
 54. Siddiqui, A.J.; Musharraf, S.G.; Choudhary, M.I.; Rahman, A.- Application of Analytical Methods in Authentication and Adulteration of Honey. *Food Chem.* **2017**, *217*, 687–698, doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.001.
 55. Bázár, G.; Romvári, R.; Szabó, A.; Somogyi, T.; Éles, V.; Tsenkova, R. NIR Detection of Honey Adulteration Reveals Differences in Water Spectral Pattern. *Food Chem.* **2016**, *194*, 873–880, doi:10.1016/j.foodchem.2015.08.092.
 56. Li, S.; Zhang, X.; Shan, Y.; Su, D.; Ma, Q.; Wen, R.; Li, J. Qualitative and Quantitative Detection of Honey Adulterated with High-Fructose Corn Syrup and Maltose Syrup by Using near-Infrared Spectroscopy. *Food Chem.* **2017**, *218*, 231–236, doi:10.1016/j.foodchem.2016.08.105.
 57. Bodor, Z.; Majadi, M.; Benedek, C.; Zaukuu, J.-L.Z.; Veresné Bálint, M.; Csajbókné Csobod, É.; Kovacs, Z. Detection of Low-Level Adulteration of Hungarian Honey Using near Infrared Spectroscopy. *Chemosensors* **2023**, *11*, 89, doi:10.3390/chemosensors11020089.
 58. García, N.; Schwarzinger, S. Chapter 15 - Honey Fraud. In *Food Fraud*; Hellberg, R.S., Everstine, K., Sklare, S.A., Eds.; Academic Press, 2021; pp. 309–334 ISBN 978-0-12-817242-1.
 59. El Khaled, D.; Castellano, N.N.; Gazquez, J.A.; García Salvador, R.M.; Manzano-Agugliaro, F. Cleaner Quality Control System Using Bioimpedance Methods: A Review for Fruits and Vegetables. *J. Clean. Prod.* **2017**, *140*, 1749–1762, doi:10.1016/j.jclepro.2015.10.096.
 60. Caicedo-Eraso, J.C.; Díaz-Arango, F.O.; Osorio-Alturo, A.; Caicedo-Eraso, J.C.; Díaz-Arango, F.O.; Osorio-Alturo, A. Espectroscopia de impedancia eléctrica aplicada al control de la calidad en la industria alimentaria. *Cienc. Tecnol. Agropecu.* **2020**, *21*, 100–119, doi:10.21930/rcta.vol21_num1_art:951.
 61. Das, C.; Chakraborty, S.; Karmakar, A.; Chattopadhyay, S. Comparative Study for the Impedimetric Detection and Quantification of Adulterants in Different Bio-Consumables.; March 5 2020.
 62. Shin, W.; Hong, S.; Jeong, Y.; Jung, G.; Park, J.; Kim, D.; Choi, K.; Shin, H.; Koo, R.-H.; Kim, J.-J.; et al. Low-Frequency Noise in Gas Sensors: A Review. *Sens. Actuators B Chem.* **2023**, 133551, doi:10.1016/j.snb.2023.133551.
 63. Karabagias, I.; Maia, M.; Karabagias, V.; Gatzias, I.; Badeka, A. Characterization of Eucalyptus, Chestnut and Heather Honeys from Portugal Using Multi-Parameter Analysis and Chemo-Calculus. *Foods* **2018**, *7*, 194, doi:10.3390/foods7120194.
 64. Scandurra, G.; Tripodi, G.; Verzera, A. Impedance Spectroscopy for Rapid Determination of Honey Floral Origin. *J. Food Eng.* **2013**, *119*, 738–743, doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.06.042.
 65. Persaud, K.; Dodd, G. Analysis of Discrimination Mechanisms in the Mammalian Olfactory System Using a Model Nose. *Nature* **1982**, *299*, 352–355, doi:10.1038/299352a0.
 66. Moreno, I.; Caballero, R.; Galán, R.; Matía, F.; Jiménez, A. La Nariz Electrónica: Estado del Arte. *Rev. Iberoam. Automática E Informática Ind. RIAI* **2009**, *6*, 76–91, doi:10.1016/S1697-7912(09)70267-5.
 67. Castón, M.J.P.; Navarro-González, I.; Alaminos, A.B.; Elvira-Torales, L.I.; García-Alonso, F.J. Parámetros de calidad en mieles de diferentes orígenes botánicos producidas en La Alpujarra granadina. *An. Vet. Murcia* **2016**, *32*, 59–71.
 68. BOE.Es - DOUE-L-2002-80034 Directiva 2001/110/CE Del Consejo, de 20 de Diciembre de 2001, Relativa a La Miel. Available online: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2002-80034> (accessed on 20 October 2023).
 69. Zandamela Mungói, E.M.F. Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique. Ph.D. Thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, 2008.

70. Pérez, N.; Jesús, F.; Pérez, C.; Niell, S.; Draper, A.; Obrusnik, N.; Zinemanas, P.; Spina, Y.M.; Letelier, L.C.; Monzón, P. Continuous Monitoring of Beehives' Sound for Environmental Pollution Control. *Ecol. Eng.* **2016**, *90*, 326–330, doi:10.1016/j.ecoleng.2016.01.082.
71. Analog Discovery 2 - Referencia Diligent Available online: <https://diligent.com/reference/test-and-measurement/analog-discovery-2/start> (accessed on 20 October 2023).
72. Impedance Analyzer for Analog Discovery Available online: <https://diligent.com/shop/impedance-analyzer-for-analog-discovery/> (accessed on 20 October 2023).
73. Generar Una Red de Reconocimiento de Patrones - MATLAB Patternnet - MathWorks España Available online: <https://es.mathworks.com/help/deeplearning/ref/patternnet.html;jsessionid=370562d44f3c46b93a717f92677f> (accessed on 20 October 2023).
74. Sigmoid Layer - MATLAB - MathWorks España Available online: <https://es.mathworks.com/help/deeplearning/ref/nnet.cnn.layer.sigmoidlayer.html> (accessed on 20 October 2023).
75. Luna, J.M.M.; Luna, A.M.; Fernández, R.E.H. Characterization and Differentiation between Olive Varieties through Electrical Impedance Spectroscopy, Neural Networks and IoT. *Sensors* **2020**, *20*, 5932, doi:10.3390/s20205932.
76. Resultados mieles ABRIL 2023 Available online: <https://www.dropbox.com/scl/fo/1o9d3fcq8lppa9jw370i9/h?dl=0&rlkey=f6fzhj7tu2gguln7p59ewk5nj> (accessed on 31 October 2023).
77. Gianelli Barra, M.P.; Ponce-Díaz, M.C.; Venegas-Gallegos, C. Volatile Compounds in Honey Produced in the Central Valley of Ñuble Province, Chile. *Chil. J. Agric. Res.* **2010**, *70*, 75–84, doi:10.4067/S0718-58392010000100008.
78. Celdrán, A.C.; Oates, M.J.; Molina Cabrera, C.; Pangua, C.; Tardaguila, J.; Ruiz-Canales, A. Low-Cost Electronic Nose for Wine Variety Identification through Machine Learning Algorithms. *Agronomy* **2022**, *12*, 2627, doi:10.3390/agronomy12112627.
79. Oates, M.; Fox, P.; Sánchez-Rodríguez, L.; Carbonell-Barrachina, A.; Ruiz-Canales, A. DFT Based Classification of Olive Oil Type Using a Sinusoidally Heated, Low Cost Electronic Nose. *Comput. Electron. Agric.* **2018**, *155*, 348–358, doi:10.1016/j.compag.2018.10.026.
80. Oates, M.; Abu-Khalaf, N.; Molina-Cabrera, C.; Ruiz-Canales, A.; Ramos, J.; Bahder, B. Detection of Lethal Bronzing Disease in Cabbage Palms (Sabal Palmetto) Using a Low-Cost Electronic Nose. *Biosensors* **2020**, *10*, doi:10.3390/bios10110188.
81. Repositorio Universidad Técnica de Ambato: Sistema de Monitoreo Apícola Mediante El Uso de Redes Neuronales Artificiales Para Identificar La Variación de Población Available online: <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/31507> (accessed on 20 October 2023).
82. Viciano-Tudela, S.; Sendra, S.; Parra, L.; Jimenez, J.M.; Lloret, J. Proposal of a Gas Sensor-Based Device for Detecting Adulteration in Essential Oil of Cistus Ladanifer. *Sustainability* **2023**, *15*, 3357, doi:10.3390/su15043357.
83. Escuredo, O.; Rodríguez-Flores, M.S.; Míguez, M.; Seijo, M.C. Multivariate Statistical Approach for the Discrimination of Honey Samples from Galicia (NW Spain) Using Physicochemical and Pollen Parameters. *Foods* **2023**, *12*, 1493, doi:10.3390/foods12071493.
84. Seijo, M.C.; Escuredo, O.; Rodríguez-Flores, M.S. Physicochemical Properties and Pollen Profile of Oak Honeydew and Evergreen Oak Honeydew Honeys from Spain: A Comparative Study. *Foods* **2019**, *8*, 126, doi:10.3390/foods8040126.
85. Lawag, I.L.; Lim, L.-Y.; Joshi, R.; Hammer, K.A.; Locher, C. A Comprehensive Survey of Phenolic Constituents Reported in Monofloral Honeys around the Globe. *Foods* **2022**, *11*, 1152, doi:10.3390/foods11081152.

13 Anexo: Publicaciones derivadas de la línea de investigación

ARTÍCULOS DE REVISTAS CIENTÍFICAS

1. María, E.G.; Madueño-Luna, A.; Ruiz-Canales, A.; Luna, J.M.M. Classification of Monofloral Honeys by Measuring Electrical Impedance Based on Neural Networks. *Agronomy* 2022, 12, 1929. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081929>

2. María, E.G.; Luna, A.M.; Celdrán, A.C.; Muñoz, G.M.; Oates, M.J.; Ruiz-Canales, A. Classification of Monofloral Honeys by Measuring a Low-Cost Electronic Nose Prototype Based on Resistive Metal Oxide Sensors. *Agronomy* 2023, 13, 2183. <https://doi.org/10.3390/agronomy13082183>





Article

Classification of Monofloral Honeys by Measuring Electrical Impedance Based on Neural Networks

Eduardo González María ^{1,*}, Antonio Madueño-Luna ² , Antonio Ruiz-Canales ¹ and José Miguel Madueño Luna ³

¹ Engineering Department, Miguel Hernández University of Elche, 03312 Orihuela, Spain

² Aerospace Engineering and Fluid Mechanical Department, University of Seville, 41013 Seville, Spain

³ Graphics Engineering Department, University of Seville, 41013 Seville, Spain

* Correspondence: eduardo.gonzalez@goumh.umh.es

Abstract: The study of electrical impedance applied to food has become a method with great potential for use in the food industry, which allows the monitoring and control of quality processes in a safe and non-invasive way. Recent research has shown that this technique can be an alternative method to determine the floral origin of the honey bee (*Apis mellifera* L.) and acquire information on chemical and physical properties such as conductivity, ash content and acidity. In this work, the electrical impedance of six monofloral honey samples from diverse origins and one commercial multi-floral honey were measured using a low-cost impedance meter, obtaining 101 samples (reactance (X) versus resistance (R)), with a frequency sweep between 1 Hz and 25 MHz in all the honeys analyzed. This shows that it is possible, by using a multilayer neural network trained from these data, to classify with 100% accuracy between these honeys and, thereby, quickly and easily determine the floral origin of the honey. This is without the need to use the chemical data or equivalent electrical models.

Keywords: electrical impedance; neural networks; physicochemical properties; beekeeping



Citation: María, E.G.; Madueño-Luna, A.; Ruiz-Canales, A.; Luna, J.M.M. Classification of Monofloral Honeys by Measuring Electrical Impedance Based on Neural Networks. *Agronomy* **2022**, *12*, 1929. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081929>

Academic Editors: Daniel García Fernández-Pacheco, José Miguel Molina Martínez and Dolores Parras-Burgos

Received: 29 July 2022

Accepted: 15 August 2022

Published: 17 August 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Electrical impedance (Z) [1] is defined as the total opposition a device, circuit, substance or living tissue offers to the flow of an alternating current (AC) to a specific frequency. It is represented as a complex number with a graphic representation on a complex plane with a real part (resistance, R) and an imaginary part (reactance, X), expressed by using the rectangular coordinates in the form of $R + j \cdot X$, or in the polar form as a magnitude and phase angle: $|Z| \angle \Phi$ [2].

There are two alternatives for impedance measurement, the LCR meter, also known as the LCR bridge (with various configurations such as Schering [3] and the Maxwell bridge [4]), and the Impedance/Gain-Phase analyzer [5,6]. The first one is only suitable for pure components: inductors (L), capacitors (C), or resistors (R).

The Impedance/Gain-Phase analyzer is a powerful device capable of obtaining diagrams separately, both in magnitude and in the phase of any network, electronic circuit, substance or living tissue which has an input and an output [7–9]. These variables are represented according to frequency [10]. A frequency sweep with a sinusoidal signal is performed on the network with a specific criterion regarding the initial, intermediate and final frequency values; the number of points; linear or logarithmic sweep, etc. The magnitude diagram at each frequency is obtained by dividing the output amplitude by the input amplitude to the network. The phase diagram for each frequency is obtained from the phase difference between the network output and input signals.

The use of electrical impedance (EI) in the agri-food industry represents multiple advantages, such as its speed, economy, easy implementation, as well as being non-destructive and respectful of the environment, and represents great potential to replace traditional methods, which saves time, costs and staff training [11].

It is a very good option compared to traditional analysis methods, since it allows field and real-time measurements, as well as being easy to move and use [12].

Most of the studies carried out with this technique focus on the evaluation of the quality of meat and fish products, as well as on the characterization of the changes generated during the thermal processes and ripening of fruits [12].

In recent literature reviews, the electrical impedance technique has been used to detect and quantify toxic adulterants in food and bioconsumables, including honey, showing a constant variation in electrical impedance with the increase in the percentage of adulterant in the solution [13].

Likewise, this method has also been used to determine different botanical origins of honey [14,15] and as an alternative method to complement the labeling according to European legislation [16], in order to avoid unfair competition through false labeling.

Honey adulteration is a prominent global problem in the modern food supply chain. The most common case is cutting honey with cheap and readily available sugar-based sweeteners, such as high-fructose corn syrup [17]. Numerous studies have sought to detect the presence of sucrose as an adulterant in honey varieties selected from different floral origins using the electrical impedance spectroscopy technique with success [18].

Classically, the determination of the botanical origin of honey has been carried out by melissopalynological methods. Depending on the number of species used to obtain nectar for honey production, it can be classified into mono-floral and multifloral honey. This information allows the producer to classify the product according to the botanical origin, according to the predominant species in the area [19].

The composition of honey, in addition to being influenced by the flora visited by foraging bees [3,20], also depends on the edaphic and climatological conditions of the region, factors that influence pollen content, color, smell, flavor, texture and relative humidity [21].

The use of statistical methods on physical–chemical results has been a useful tool to characterize different types of honey. Electrical conductivity, pH and hydroxymethylfurfural (HMF) are the chemical parameters that are most used to predict the floral origin of honey samples [22].

On the other hand, the use of data mining methods and decision trees for the analysis of physical–chemical parameters can very well produce the structure of the data set [23].

Artificial neural networks are a computational model inspired by the behavior observed in its biological counterpart [24]. For example, the use of remote sensing and photogrammetric tools using artificial neural networks as a tool to support the practical use and improvement of precision agriculture techniques is becoming more and more common [25].

Rodriguez et al. studied the physicochemical properties through a probabilistic neural network (PNN) system with a Bayesian classifier with attributes and physicochemical properties, obtaining statistically significant differences and classifications between 95 and 100% accuracy [26]. Other physical parameters such as temperature, humidity, carbon dioxide concentration and hive weight have also been used to identify population variation through the use of artificial neural networks, allowing the future prediction of physical variables that directly affect health and hive population production [27].

Neural networks have also been successfully applied to pollen grain classification in palynology [28].

Its use is widespread in many fields. In honey analysis, comparative studies of various machine learning algorithms have been carried out for the classification of unifloral honeys [29]. In this study, a classifying neural network of the patternnet type [30] is used.

A principal component analysis (PCA) has been used to reduce the number of inputs to the neural network and for an adequate visualization of the experimental results [31], either directly, to reduce the dimensionality when chemical parameters are used directly [23], or on the parameters of the equivalent electrical model [7].

Through this work, a novel approach is provided, since we show that it is possible to classify the type of honey directly from the complex impedance data with a neural network

without the need to refer to the data of the melissopalynological analysis or a previously adjusted electrical model.

2. Materials and Methods

2.1. Description of the Honeys Used

Six of the seven samples, corresponding to sample numbers 1, 2, 3, 4, 5 and 7, were provided by the Association of Beekeepers of the Community of Madrid (APIS-CAM). These samples were from local beekeepers, with settlements located in different areas of the central peninsular plateau.

Sample number 6, corresponding to the “thousand flowers” honey, is a commercial multifloral honey, whose physicochemical values have been determined according to the Guide-to-mieles-monoflorales-Ibéricas-Apinevada-Pajuelo-2018, and according to the Directive 110/2001 CE, RD 1049/2003 in Spain.

The six samples provided by Apiscam were harvested in the months of June and July of the year 2020 and analyzed in the same period using methods established according to current legislation to determine the pollen content and other chemical physical parameters, such as moisture content, hydroxymethylfurfural (HMF), conductivity and pH, among others. All the samples used in this study are classified as monofloral, according to the percentage of dominant pollen present in the honey.

The value that differentiates one honey from another is mainly associated with the botanical origin, since the composition of the pollen determines both the organoleptic characteristics and the physicochemical parameters of the honeys obtained [32].

In the samples analyzed (Table 1) the values of humidity, electrical conductivity, HMF and pH are within the values established in current legislation [33].

Table 1. Physicochemical analysis of the analyzed samples.

Number of Sample	Pollen Analysis	Humidity	Hmf (mg/kg)	Coloration	Mm Pfund	Conductivity (mS/cm)	pH	Brix (%)
1 (14/10)	Viperera	14.8	5.89	Extra-light amber	37	0.27	4.05	82.3
2 (07/10)	Viperera	17	4.23	Extra-light amber	37.3	0.26	3.84	80.5
3 (11/20)	Viperera	17.4	3.96	Extra-light amber	43	0.30	4.4	80.5
4	Rapeseed	18	8.16	White	28	0.32	4.2	81.1
5	Lavender	15.1	3.88	Extra-light amber	40.3	0.16	3.6	82
6 (commercial)	Honey of a “thousand flowers”	18 **	4.0 *	Extra-light amber	48 **	0.3 **	-	-
7 (uncatalogued)	Uncatalogued	18 **	4.0 *	Dark amber	90 **	0.9 **	-	-

* Included value according to EC Directive 110/2001 CE, RD 1049/2003 in Spain. ** Data according to Guía-de-mieles-monoflorales-ibéricas-Apinevada-Pajuelo-2018. Page n° 48 prairie honey and page 44 forest honey.

In relation to pH, there is a direct relationship between the pH of honey and its floral origin [34]. In our study, no honey exceeds values of 4.5 (Table 1), although samples 3 and 4 represent higher values than the rest of the honeys, which is probably associated with their botanical origin (viborera and rapeseed).

The normal values of the pH of honey range between 3.2 and 4.5, in such a way that this natural acidity allows the inhibition of the growth of microorganisms and preserves the honey [35], while forest honeys present higher values [36].

The color is also very important to define the origin and be able to grant its commercial classification as a monofloral honey, being a primary characteristic for commercial classification. The units in which the different classes of color in honey are expressed are

the Pfund scale units, and this measurement can be made by comparing the honey with a reference standard that indicates the floral origin of the honey [35].

Regarding the humidity percentage of the samples obtained, all have values below 20%, complying with the values established in Royal Decree 1049/2003. These moisture values indicate, regardless of other parameters, that these honeys have a greater tendency toward granulation and less fermentation.

On the other hand, all the samples have low contents of hydroxymethylfurfural (HMF), with rapeseed honey showing the highest value but far from the legal maximum of 40 mg/kg [37]. This indicator, composed of an aldehyde and a furan resulting from the decomposition of monosaccharides, particularly fructose in an acid medium [38], is an important quality factor for honey, as it reflects the freshness of the samples and the conditions in which it was stored, as well as the treatment received and the age of the honey.

With respect to the floral origin, there is no criterion in the legislation that requires a honey to be florally named. For this reason, the criterion that is applied is related to the production and the melissopalynological analysis, in such a way that it is the beekeeper, who, taking into account the percentage of predominant pollen and the main botanical species present in the place of production, provides the monofloral denomination of honey.

The percentage of predominant pollens of the five samples in which the pollen analysis was carried out is: Sample 1: Echium 50%; Sample 2: Echium 62%; Sample 3: Echium 74%; Sample 4: Brassica 57%; Sample 5: Lavender 50%.

Table 2 shows the percentages of pollens identified according to the analysis method indicated above:

Table 2. Pollen analysis of the analyzed samples.

Number of Sample	Pollen Analysis	Dominant Pollens >45%	Accompanying Pollens >16–45%	Minority Pollens >3–15%	Residual or Isolated Pollens <3%
1 (14/10)	Viperera	Echium 50%	-	Cistus 11% Vicia 20% Prunus 9% Lavandula stoechas 5%	Cytisus 3% Trifolium 2%
2 (07/10)	Viperera	Echium 62%	-	Cistus 14% Type "Rubus" 6% Rosmarinus 5% Cruciferous 5% Cytisus 4%	Lavender 2% Anchusa 2%
3 (11/20)	Viperera	Echium 74%	-	Rosmarinus 9% Cruciferous 8% Cistus 6% Cytisus 3%	-
4	Rapeseed	Brassica 57%	-	Prunus 10% Cytisus 9% Diplotaxis 8% Rosmarinus 7% Helianthus 6%	Anchusa 3%
5	Lavender	Lavender 50%	Prunus 20%	Citius 9% Rubus 6%	Cirisium 3%
6 ** (commercial)	Honey of a "thousand flowers"	-	-	-	-
7 ** (uncatalogued)	Uncatalogued	-	-	-	-

** Data according to Guía-de-mieles-monoflorales-ibéricas-Apinevada-Pajuelo-2018. Page n° 48 prairie honey and page 44 forest honey.

The current regulations that regulate the European honey market [37] consider, among other aspects, that honey can be labeled with indications that refer to its vegetable and geographical origin, as long as it comes from the indicated origin, and also differentiates two types of honey according to its vegetable origin, flower honeys or nectar and honeydew honeys.

The lack of specificity in the current regulations, both national and European, to delimit the botanical and geographical origin of nectar honeys through palynological criteria has led to consideration in recent decades of honey as monofloral when the percentage of the representation of a pollen type is greater than 45% [39].

Numerous authors have directly related the influence they have on the characteristics, both physicochemical and organoleptic, of the plant species and the flora visited by foraging bees [3,20], as well as the influence of the climatic and soil conditions of the place of cultivation, where they are collected [40], and the handling practices carried out by the beekeeper during their extraction and storage [41].

2.2. Equipment Used to Measure Electrical Impedance

A Digilent Analog Discovery 2™ (Digilent Inc.[®], Pullman, Washington, DC, USA; henceforth DAD2) [42] was used for the impedance measurement. DAD2 is a low-cost multi-function instrument that allows users to measure, visualize, generate, record and control mixed signal circuits of all kinds. To facilitate the impedance measurement, an adapter module specially designed for this function was used [43].

Figure 1 shows the DAD2, the adapter card for impedance measurement and the standard 2.54 mm tip used with equal spacing.

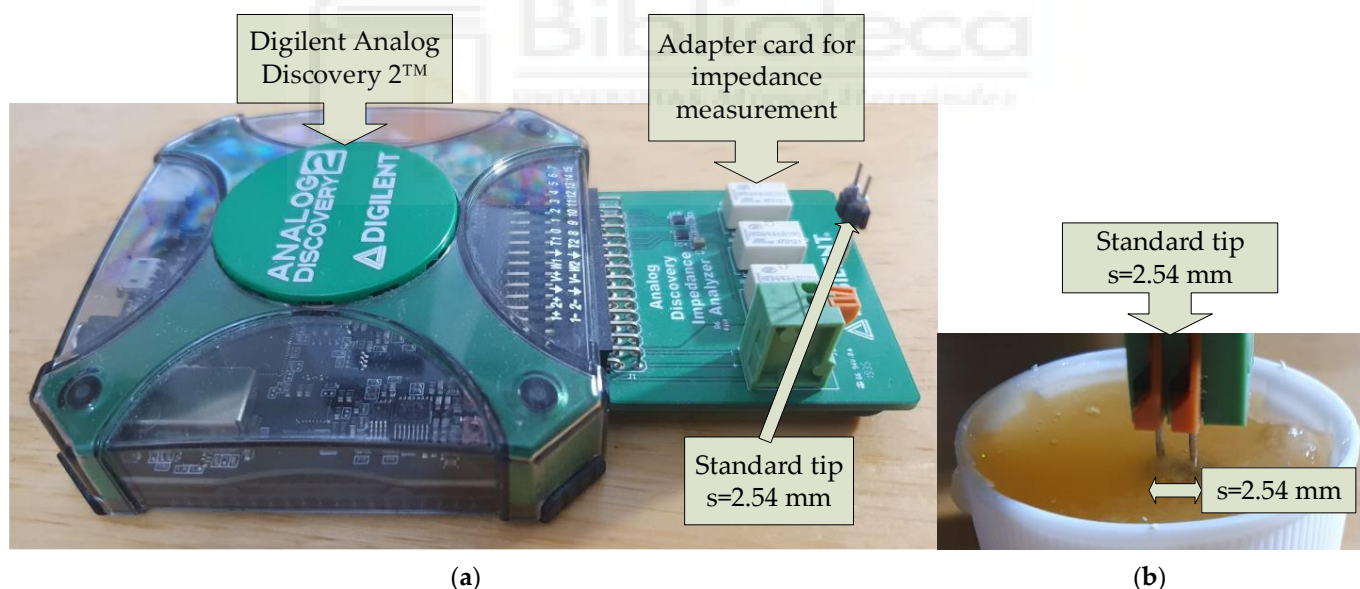


Figure 1. Device used for impedance measurement: (a) DAD2, the adapter card for impedance measurement; (b) standard tip used of $s = 2.54$ mm in length and equal separation.

For the measurement, the meter application was configured with a frequency sweep range from 1 Hz to 25 MHz with logarithmic increment and 101 samples. The range for the impedance modulus was established at $100\text{ M}\Omega$ and a sinusoidal excitation of 1 V amplitude, which is adequate for all the analyzed myeles. Figure 2 shows the configured application.

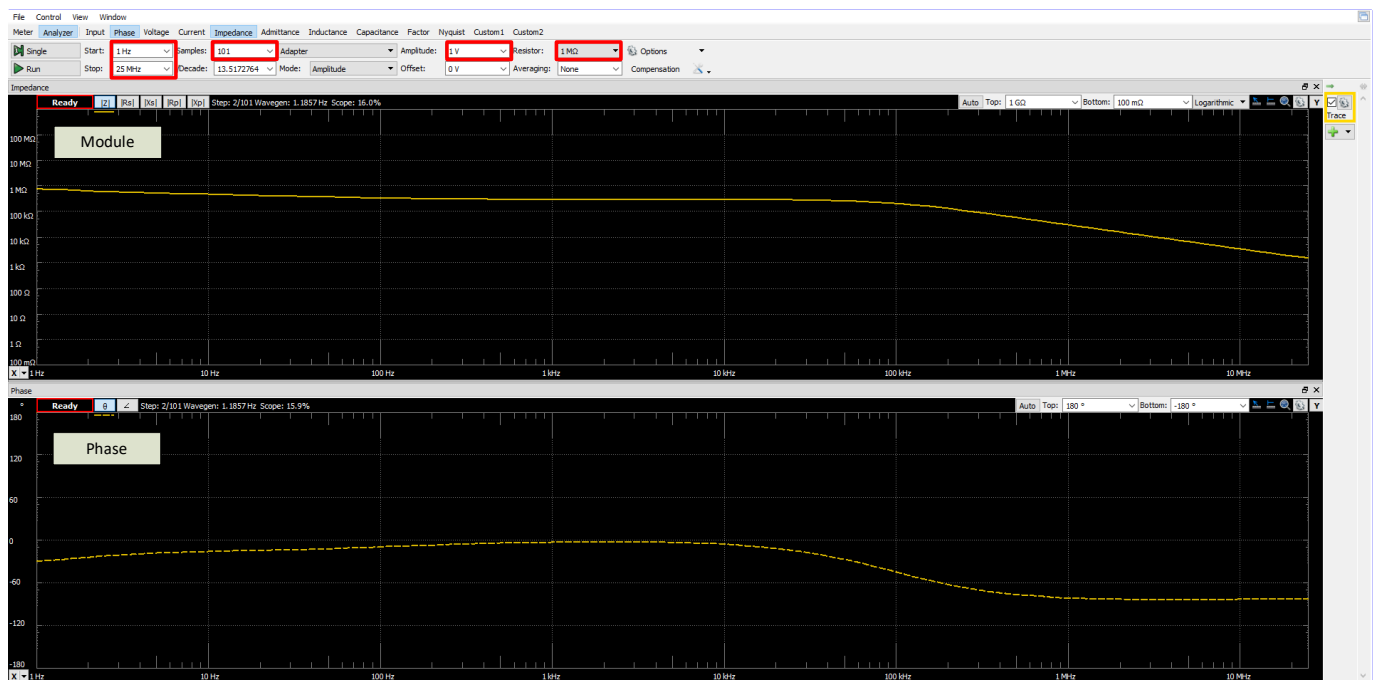


Figure 2. Application configured with a frequency sweep range from 1 Hz to 25 MHz with logarithmic increment and 101 samples.

2.3. Neural Networks to Sorting

One type of neural network was used from the Matlab libraries: A sorting network, “patternnet” [30], to distinguish between the 6 cases of unifloral honey and the commercial multifloral honey. This multilayer neural network model employs only 1 internal layer with 5 neurons using the proportion 75/15/15 of the data for the process of Training, Validation and Testing during learning in a total of 50 repetitions. The Training Function selected was the scaled conjugate gradient backpropagation (“trainscg” in Matlab language). This pattern recognition network is a type of feedforward network that can be trained to classify inputs according to target classes, and internally uses a sigmoid function as the activation function [44]. The target data consist of vectors of all zero values except for a 1 in element i , where i is the class they are to represent.

3. Results and Discussion

3.1. Evolution of the Impedance Depending on the Varieties of Honey

Figure 3 shows the evolution of the impedance expressed as reactance versus resistance for the seven types of honey analyzed at an ambient temperature of about 25 °C. The electrical equivalent corresponds to a series R/C circuit.

Each curve has a characteristic evolution, see Tables 3–5:

1. Value of the high resistive component at low frequencies (red dot), between 0.35 MΩ and 2.5 MΩ for a frequency of 1 Hz.
2. Relative maximum (blue dot) at medium frequencies (between 30 Hz and 1 kHz). In this area, the capacitive behavior is minimized with reactancy values between 6 kΩ and 70 kΩ.
3. Relative minimum (green point) (with a negative maximum value of the capacitive component) with frequency values between 10 kHz and 100 kHz and reactance values between 0.1 MΩ and 1 MΩ.
4. Common point (grey dot) at high frequency (25 MHz), where all the curve-confluence and the effect of the parasitic components of the measurement system are already evident.

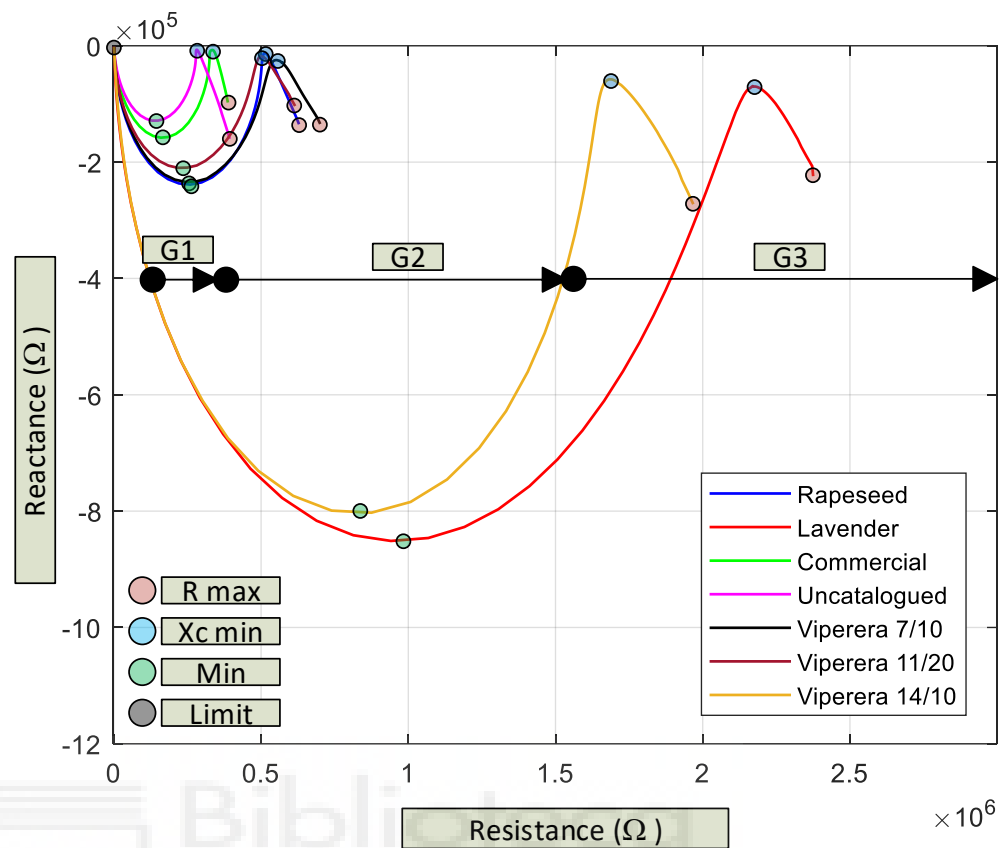


Figure 3. Evolution of the electrical impedance in the honey samples obtained.

Table 3. Characteristic values at minimum frequency (1 Hz).

F_min	Uncatalogued	Commercial	Vip11/20	Rapeseed	Vip 07/10	Vip14/10	Lavender
R (Ω)	3.94×10^5	3.87×10^5	6.16×10^5	6.29×10^5	7.01×10^5	1.97×10^6	2.38×10^6
X (Ω)	-1.60×10^5	-9.76×10^4	-1.04×10^5	-1.35×10^5	-1.34×10^5	-2.72×10^5	-2.24×10^5
F (Hz)	1	1	1	1	1	1	1
Group	G1	G1	G2	G2	G2	G3	G3

Table 4. Characteristic values at minimum reactance (more negative).

X_min	Uncatalogued	Commercial	Vip 11/20	Rapeseed	Vip 07/10	Vip 14/10	Lavender
R (Ω)	1.29×10^5	1.59×10^5	2.18×10^5	2.60×10^5	2.44×10^5	8.75×10^5	9.41×10^5
X (Ω)	-1.29×10^5	-1.58×10^5	-2.10×10^5	-2.39×10^5	-2.34×10^5	-8.03×10^5	-8.51×10^5
F (Hz)	1.07×10^5	9.05×10^4	5.43×10^4	5.43×10^4	4.58×10^4	1.65×10^4	1.39×10^4
Group	G1	G1	G2	G2	G2	G3	G3

Table 5. Characteristic values at maximum reactance (less negative).

X_max	Uncatalogued	Commercial	Vip 11/20	Rapeseed	Vip 07/10	Vip 14/10	Lavender
R (Ω)	2.81×10^5	3.35×10^5	4.99×10^5	5.13×10^5	5.52×10^5	1.69×10^6	2.17×10^6
X (Ω)	-6.86×10^3	-7.32×10^3	-1.80×10^4	-1.23×10^4	-2.46×10^4	-5.77×10^4	-6.93×10^4
F (Hz)	7.68×10^2	2.33×10^2	2.76×10^2	3.28×10^2	2.33×10^2	1.40×10^2	5.03×10^1
Group	G1	G1	G2	G2	G2	G3	G3

As can be seen in Figure 3, if the position of the points (red and blue) is analyzed, the honeys can be grouped into three clearly differentiated groups (G1, G2 and G3). On the other hand, it is clearly seen that each type of honey has its own zone in the graph, which at first glance already allows us to intuit that the neural network will behave well when classifying and require little complexity in its structure. On the other hand, this goes to show that it is not necessary to extract the parameters of equivalent electric models or use a PCA analysis to classify honey varieties, as has been previously commented.

3.2. Results of the Classified with Patternnet Neural Network

As mentioned in Section 2.3, a distribution of the data was made for the training of the neural network and a total of 15 repetitions was used for each honey sample, allocating 10 to the training process and five to the challenge process.

Tables 6–9 show the result of the sorting process (value = 1: case selected by the NN; value → 0: case discarded by the NN) for 35 challenges (five for each type of honey).

Table 6. Results of the neural network against 35 challenges (from 1 to 10).

		Challenges									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Honeys	Rapeseed	1	1	1	1	1	1.09×10^{-8}	7.88×10^{-7}	7.45×10^{-7}	6.99×10^{-7}	6.42×10^{-7}
	Lavender	5.81×10^{-7}	5.78×10^{-7}	5.75×10^{-7}	5.67×10^{-7}	5.65×10^{-7}	1	1	1	1	1
	Commercial	1.79×10^{-8}	1.79×10^{-8}	1.79×10^{-8}	1.78×10^{-8}	1.77×10^{-8}	4.21×10^{-4}	1.43×10^{-4}	1.19×10^{-4}	9.61×10^{-3}	7.25×10^{-3}
	Uncatalogued	3.15×10^{-4}	3.15×10^{-4}	3.15×10^{-4}	3.15×10^{-4}	3.14×10^{-4}	2.83×10^{-1}	2.10×10^{-2}	2.98×10^{-2}	4.45×10^{-2}	7.55×10^{-2}
	Viperera 7/10	1.20×10^{-7}	1.20×10^{-7}	1.20×10^{-7}	1.21×10^{-7}	1.20×10^{-7}	1.69×10^{-7}	5.87×10^{-7}	7.28×10^{-7}	9.34×10^{-7}	1.30×10^{-8}
	Viperera 11/20	1.19×10^{-7}	1.19×10^{-7}	1.18×10^{-7}	1.16×10^{-7}	1.16×10^{-7}	9.39×10^{-7}	3.06×10^{-8}	3.76×10^{-8}	4.77×10^{-8}	6.52×10^{-8}
	Viperera 14/10	6.56×10^{-7}	6.56×10^{-7}	6.56×10^{-7}	6.56×10^{-7}	6.57×10^{-7}	1.27×10^{-8}	1.32×10^{-8}	1.33×10^{-8}	1.34×10^{-8}	1.35×10^{-8}

Table 7. Results of the neural network against 35 challenges (from 11 to 20).

		Challenges									
		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Honeys	Rapeseed	1.95×10^{-8}	1.95×10^{-8}	1.95×10^{-8}	1.95×10^{-8}	1.95×10^{-8}	4.01×10^{-5}	4.01×10^{-5}	4.01×10^{-5}	4.01×10^{-5}	4.02×10^{-5}
	Lavender	3.40×10^{-2}	3.40×10^{-2}	3.40×10^{-2}	3.40×10^{-2}	3.40×10^{-2}	9.18×10^{-9}	9.18×10^{-9}	9.19×10^{-9}	9.19×10^{-9}	9.19×10^{-9}
	Commercial	1	1	1	1	1	5.06×10^{-8}	5.06×10^{-8}	5.07×10^{-8}	5.07×10^{-8}	5.07×10^{-8}
	Uncatalogued	4.24×10^{-8}	4.24×10^{-8}	4.24×10^{-8}	4.24×10^{-8}	4.24×10^{-8}	1	1	1	1	1
	Viperera 7/10	1.60×10^{-5}	1.60×10^{-5}	1.60×10^{-5}	1.60×10^{-5}	1.60×10^{-5}	8.65×10^{-7}	8.65×10^{-7}	8.65×10^{-7}	8.66×10^{-7}	8.66×10^{-7}
	Viperera 11/20	1.36×10^{-5}	1.36×10^{-5}	1.36×10^{-5}	1.36×10^{-5}	1.36×10^{-5}	4.59×10^{-7}	4.59×10^{-7}	4.59×10^{-7}	4.59×10^{-7}	4.59×10^{-7}
	Viperera 14/10	1.30×10^{-8}	1.30×10^{-8}	1.30×10^{-8}	1.30×10^{-8}	1.30×10^{-8}	4.65×10^{-6}	4.65×10^{-6}	4.65×10^{-6}	4.65×10^{-6}	4.66×10^{-6}

Table 8. Results of the neural network against 35 challenges (from 21 to 30).

		Challenges									
		21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Honeys	Rapeseed	1.03×10^{-7}	9.49×10^{-6}	1.10×10^{-7}	1.51×10^{-7}	1.34×10^{-7}	1.62×10^{-7}	1.64×10^{-7}	1.70×10^{-7}	1.73×10^{-7}	1.88×10^{-7}
	Lavender	2.70×10^{-7}	2.43×10^{-7}	2.72×10^{-7}	5.49×10^{-7}	4.47×10^{-7}	3.81×10^{-7}	3.84×10^{-7}	3.97×10^{-7}	4.02×10^{-7}	4.30×10^{-7}
	Commercial	5.48×10^{-3}	4.86×10^{-3}	5.91×10^{-3}	1.08×10^{-4}	8.80×10^{-3}	3.13×10^{-6}	3.16×10^{-6}	3.31×10^{-6}	3.39×10^{-6}	3.83×10^{-6}
	Uncatalogued	1.97×10^{-8}	1.82×10^{-8}	2.09×10^{-8}	2.92×10^{-8}	2.59×10^{-8}	1.44×10^{-8}	1.44×10^{-8}	1.41×10^{-8}	1.40×10^{-8}	1.34×10^{-8}
	Viperera 7/10	1	1	1	1	1	7.12×10^{-7}	7.12×10^{-7}	7.10×10^{-7}	7.10×10^{-7}	7.07×10^{-7}
	Viperera 11/20	1.59×10^{-8}	1.34×10^{-8}	1.73×10^{-8}	4.39×10^{-8}	3.25×10^{-8}	1	1	1	1	1
	Viperera 14/10	1.33×10^{-7}	1.32×10^{-7}	1.33×10^{-7}	1.41×10^{-7}	1.39×10^{-7}	2.45×10^{-1}	2.48×10^{-1}	2.55×10^{-1}	2.59×10^{-1}	2.76×10^{-1}

Table 9. Results of the neural network against 35 challenges (from 31 to 35).

		Challenges				
		31	32	33	34	35
Honeys	Rapeseed	2.01×10^{-7}	2.01×10^{-7}	2.01×10^{-7}	2.01×10^{-7}	2.01×10^{-7}
	Lavender	1.06×10^{-8}	1.06×10^{-8}	1.06×10^{-8}	1.06×10^{-8}	1.06×10^{-8}
	Commercial	1.75×10^{-8}	1.75×10^{-8}	1.75×10^{-8}	1.75×10^{-8}	1.75×10^{-8}
	Uncatalogued	3.04×10^{-6}	3.04×10^{-6}	3.04×10^{-6}	3.04×10^{-6}	3.04×10^{-6}
	Viperera 7/10	1.13×10^{-7}	1.13×10^{-7}	1.13×10^{-7}	1.13×10^{-7}	1.13×10^{-7}
	Viperera 11/20	2.60×10^{-1}	2.60×10^{-1}	2.60×10^{-1}	2.60×10^{-1}	2.60×10^{-1}
Viperera 14/10	1	1	1	1	1	

Figure 4 shows the confusion matrices for Training, Validation and Test. The tests with the challenges showed that the neural network is capable of detecting 100% of the cases correctly.

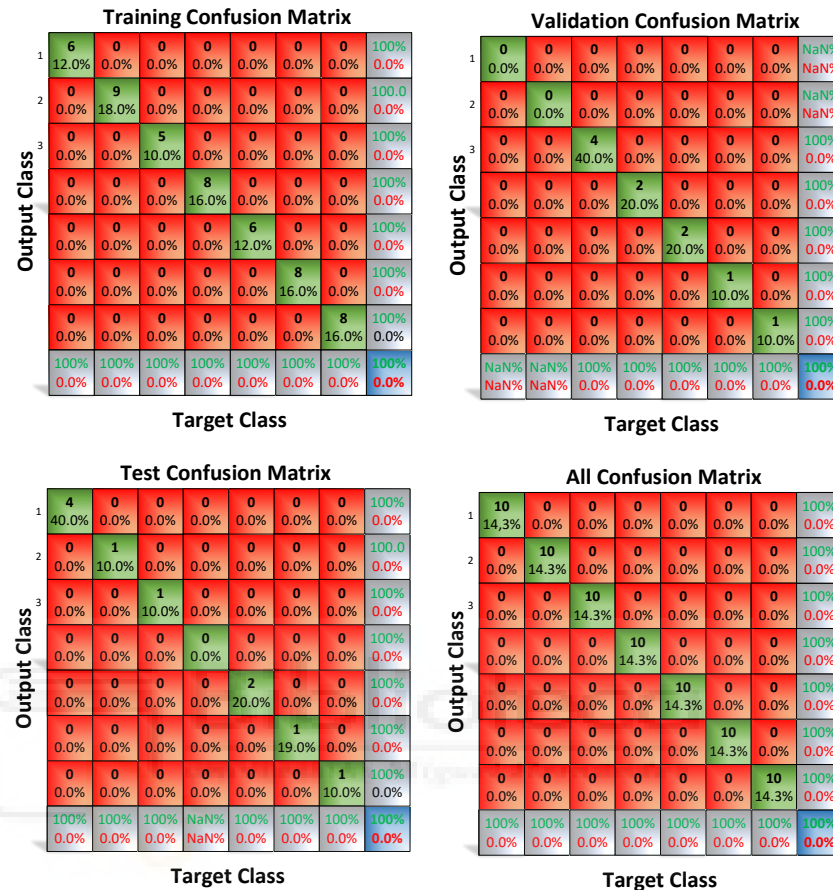


Figure 4. Training confusion matrix for sorting unifloral honeys.

Similar sorting results with this type of neural network can be found in this work by other authors [1] with table olives.

3.3. Relationship of Physical–Chemical Parameters of the Samples with the Characteristic Values of Electrical Impedance of Each Variety of Unifloral Honey

In the graph (Figure 3), three groups of honeys can be seen, from lowest to highest resistive value (R); a first group (G1) that corresponds to uncatalogued honey and commercial honey (values less than $0.5 \times 10^6 \Omega$); a second group (G2) that would include the two viperera samples and the rapeseed one (near values to $0.5 \times 10^6 \Omega$); and a third more resistive group (G3) with sample 14/10 of viperera and lavender honey (higher values than $1.5 \times 10^6 \Omega$).

Regarding the viperera samples, two of them are in the middle of the graph, and the third in the group with the highest resistive values. This may be due to the influence of the botanical origin and the botanical diversity of the geographical area of honey production. Numerous authors conclude that the differences observed in the samples for all the parameters analyzed are mainly associated with the botanical origin, since the composition of the pollen and the botanical diversity determine both the organoleptic characteristics and the physical–chemical parameters of the honeys [32].

On the other hand, uncatalogued honey, together with commercial honey, shows much less resistance (R) than the rest of the honeys, placing it in the first group of the graph. This may be because they are products derived from honeydew or myelates, with very

different physical–chemical characteristics from nectar honeys, which could justify the lower resistance (R) compared to the monofloral honeys analyzed in the study.

On the other hand, it should be noted that the official quality standard for Spanish honey (BOE 186 of 5/8/2013) already requires defining the type of honey according to its origin (flower honey or nectar and honeydew honey) and establishing the minimum characteristics of the specific composition that each honey must contain.

3.3.1. Humidity

In relation to this parameter, the moisture content does seem to have a direct relationship with the impedance values.

Honey samples with low moisture values, corresponding to viborera 14/10 (14.8%) and lavender sample (15.1%), have higher resistive values, whose relative maximums in the graph (Figure 3) are above $1.5 \times 10^6 \Omega$ on the R axis corresponding to the resistance.

On the other hand, the honey samples that offer less resistance are sample uncatalogued honey and commercial honey, with higher percentages of moisture, ranging between 17 and 18%.

3.3.2. HMF (Hidroximetilfurfural)

The HMF does not seem to influence the resistive curve of the samples.

3.3.3. Coloration

The color of the honey is very important to define the origin and grant its commercial classification as monofloral honeys, being a primary characteristic for the commercial classification [35].

It is a composition factor that is linked almost exclusively to its botanical origin. In turn, it is also linked to conductivity, since it depends on the content of mineral salts. Honeys with high mineral content are dark in color and have high conductivities [45].

In this study, a direct relationship between honey color and electrical impedance has not been observed.

However, other studies have contrasted conductivity versus color values. According to the study carried out by Santos et al., it was determined that the darkest honeys present the highest conductivity values [45]. Likewise, Blanco et al. also concluded that darker honeys such as honeydew have higher conductivity values than honeys with lighter colors (rosemary, orange blossom, lavandula stoechas...) [46]. In general, honeys of floral origin have lower conductivities (and lighter colors) than honeydew honeys (darker) [47].

Table 10 shows the relationship of the color and conductivity of the monofloral honeys shown.

Table 10. Relationship of conductivity and coloration of the samples provided by the Association of Beekeepers of the Community of Madrid (Spain).

Pollen Analysis	Mm Pfund	Coloration	Conductivity (mS/cm)
Lavender	40.3	Extra-light amber	0.16
Viperera 7/20	37.3	Extra-light amber	0.26
Viperera 14/20	37	Extra-light amber	0.27
Viperera 11/20	43	Extra-light amber	0.30
Rapeseed	28	White	0.32

For this parameter, it is not observed that the coloration influences the resistance values of the honey, although it should do since it is linked to conductivity.

3.3.4. Conductivity

As with color, it has not been observed that conductivity influences the position of the varieties in the electrical impedance evolution graph (Figure 3).

However, we consider that there should have been a relationship given that, according to other authors, it depends on the salt content and serves to differentiate nectar honey from honeydew honey, which is richer in salts, given that the higher the electrical conductivity, the greater the amount of salts [45].

On the other hand, ash is a parameter that, despite not being included in the analysis of the samples, also expresses the content of mineral salts and is usually proportional to the tone of the honey [48].

The Honey Regulation [21] obliges a name on the label if a honey is of floral origin or has its origin in the honeydew of some trees (cork oak, holm oak, oak, fir, chestnut, etc.), and sets a conductivity limit of 800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ($=0.8 \text{ mS}/\text{cm}$). Honeydew honeys or their mixtures with floral honeys must have more than that limit, and floral honeys less, except heather (*Ericasp*); biercol (*Callunavulgaris*); eucalyptus (*Eucalipusssp*); and strawberry tree (*Arbutusunedo*) honeys.

3.3.4.1. pH

No relationship is observed between the pH and the resistance of the honeys.

3.3.5. BRIX Degrees

As with humidity, the sugar content does seem to have a relationship with the impedance and the representation of the curves obtained with the neural network.

The two samples that present the highest values of Brix degrees (viperera14/10 and lavender) are located in the third group, with a maximum relative resistance above $1.5 \times 10^6 \Omega$.

On the other hand, it is observed that honeys with values between 80.5 and 81.1 have lower resistive values, which could be due to the fact that the sugar composition of honey is affected by the type of nectar used by bees, as well as by the region and climatic conditions where the honey has been produced [49].

3.3.6. Pollen

Regarding the pollen content of the studied samples, the samples with the highest resistive values correspond to sample 1 (viperera 14/10) and sample 5 (lavender), with a dominant pollen percentage of 50% for both cases.

This predominant value for both samples represents the lowest percentage of the honeys studied, whose values in ascending order are rapeseed (57%); viperera 07/10 (62%); and viperera 11/20 (74%).

The samples with higher pollen percentages are framed in less resistive areas of the impedance evolution graph (Figure 3).

The other two honey samples (commercial honey and uncatalogued honey) do not have a pollen analysis.

The pollen content influences the total ash content [49], so it could have a relationship with the impedance of the honey.

The monofloral variety is determined by the highest proportion of pollen of the botanical species, but not exclusively. To avoid possible commercial fraud and preserve the interests of consumers, it is admitted that the predominant pollen may be variable depending on the botanical variety and the amount of pollen it contains. For this reason, the pollen residue of monofloral honey varies between a minimum of 12% in the case of rosemary honey, up to minimum values of 75% in chestnut honey.

4. Conclusions

The method applied in this study, using the DAD2 device and the analysis of the reactance vs. resistance data in the patternnet-type classifying neural network, was able to discriminate the honey samples according to their botanical origin without the need to process the data previously with other statistical techniques such as PCA, or using equivalent electric models.

The neural network used for the study uses only one internal layer with five neurons and could detect 100% of the cases.

Each honey has a characteristic profile in the X vs. R diagram, showing three groups of similar electrical properties.

The X vs. R curves tend asymptotically to the same values at high frequencies, so they are no longer useful for classification; on the other hand, at higher frequencies there is an increase in parasitic components, which can lead to the misinterpretation of the results. In a practical way, the frequency sweep could be limited to a maximum of 10 MHz.

Around the physicochemical parameters studied, humidity and the percentage of Brix degrees do seem to have a direct relationship with electrical impedance.

The pH and the conductivity do not seem to have a relationship with the discrimination of the honeys, according to the results obtained in the graph of the evolution of electrical impedance.

It has not been observed that coloration influences the resistance values of honey, although it should since it is linked to conductivity.

The pollen content influences the total ash content and consequently the conductivity; however, in this study it has not been possible to establish a direct relationship between the evolution of the impedance and the pollen content of the sample.

In this study, it was verified that the impedance values in the viperera monofloral samples do not allow regrouping of the three samples in the same resistance range. Although there are studies that justify the discrepancy between the physicochemical parameters of the same unifloral honey depending on the geographical area, climatology or diversity of flora of the land, a future line of work is opened in order to emphasize these results and study in depth the discrepancies in the impedance values for honeys of the same floral classification.

Author Contributions: Conceptualization, E.G.M., A.M.-L., A.R.-C. and J.M.M.L.; Formal analysis, E.G.M., A.M.-L., A.R.-C. and J.M.M.L.; Investigation, E.G.M., A.M.-L., A.R.-C. and J.M.M.L.; Writing—original draft, E.G.M., A.M.-L., A.R.-C. and J.M.M.L.; Supervision, E.G.M., A.M.-L., A.R.-C. and J.M.M.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study did not require ethical approval.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Dataset analyzed in: <https://www.dropbox.com/sh/omze3h9xpwo27g4/AADeu1T4eyPdJnMWCuxhPIWIa?dl=0>.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Luna, J.M.M.; Luna, A.M.; Fernández, R.E.H. Characterization and Differentiation between Olive Varieties through Electrical Impedance Spectroscopy, Neural Networks and IoT. *Sensors* **2020**, *20*, 5932. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Okada, K.; Sekino, T. Agilent Impedance Measurement Handbook. In *A Guide to Measurement Technology and Techniques*; Agilent Technologies: Santa Clara, CA, USA, 2009.
3. Elbanna, K.; Attalla, K.; Elbadry, M.; Abdeltawab, A.; Gamal-Eldin, H.; Fawzy Ramadan, M. Impact of Floral Sources and Processing on the Antimicrobial Activities of Different Unifloral Honeys. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2014**, *4*, 194–200. [[CrossRef](#)]
4. Wikipedia. Maxwell Bridge. Available online: https://en.wikipedia.org/wiki/Maxwell_bridge (accessed on 10 August 2022).
5. A Low Cost RF Impedance Analyzer. Available online: https://www.nutsvolts.com/magazine/article/a_low_cost_rf_impedance_analyzer (accessed on 11 August 2022).
6. Analizador Impedancia Valencia. Available online: <https://pdfcoffee.com/analizador-impedancia-valencia-pdf-free.html> (accessed on 11 August 2022).
7. Paszkowski, B.; Wilczek, A.; Szyplowska, A.; Nakonieczna, A.; Skierucha, W. A Low-Frequency Sensor for Determination of Honey Electrical Properties in Varying Temperature Conditions. *J. Food Eng.* **2014**, *138*, 17–22. [[CrossRef](#)]
8. Nelson, S. Dielectric Properties of Agricultural Products: Measurements and Applications. *IEEE Trans. Electr. Insul.* **1991**, *26*, 845–869. [[CrossRef](#)]

9. Repo, T.; Paine, D.; Taylor, A. Electrical Impedance Spectroscopy in Relation to Seed Viability and Moisture Content in Snap Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Sci. Res.* **2002**, *12*, 17–29. [CrossRef]
10. Tegam. The LCR Meter as an Impedance Analyzer. Available online: <http://www.tegam.com/wp-content/uploads/2015/10/AN303.pdf> (accessed on 11 August 2022).
11. El Khaled, D.; Castellano, N.N.; Gazquez, J.A.; García Salvador, R.M.; Manzano-Agugliaro, F. Cleaner Quality Control System Using Bioimpedance Methods: A Review for Fruits and Vegetables. *J. Clean. Prod.* **2017**, *140*, 1749–1762. [CrossRef]
12. Caicedo-Eraso, J.C.; Díaz-Arango, F.O.; Osorio-Alturo, A. Espectroscopia de impedancia eléctrica aplicada al control de la calidad en la industria alimentaria. *Cienc. Tecnol. Agropecu.* **2019**, *21*, 100–119. [CrossRef]
13. Das, C.; Chakraborty, S.; Karmakar, A.; Chattopadhyay, S. Comparative Study for the Impedimetric Detection and Quantification of Adulterants in Different Bio-Consumables. In Proceedings of the 2020 International Symposium on Devices, Circuits and Systems (ISDCS), Howrah, India, 4–6 March 2020; pp. 1–6.
14. Elamine, Y.; Inácio, P.M.C.; Lyoussi, B.; Anjos, O.; Estevinho, L.M.; da Graça Miguel, M.; Gomes, H.L. Insight into the Sensing Mechanism of an Impedance Based Electronic Tongue for Honey Botanic Origin Discrimination. *Sens. Actuators B Chem.* **2019**, *285*, 24–33. [CrossRef]
15. Karabagias, I.; Maia, M.; Karabagias, V.; Gatzias, I.; Badeka, A. Characterization of Eucalyptus, Chestnut and Heather Honeys from Portugal Using Multi-Parameter Analysis and Chemo-Calculus. *Foods* **2018**, *7*, 194. [CrossRef]
16. Scandurra, G.; Tripodi, G.; Verzera, A. Impedance Spectroscopy for Rapid Determination of Honey Floral Origin. *Journal of Food Engineering* **2013**, *119*, 738–743. [CrossRef]
17. Huang, T.-K.; Chuang, M.-C.; Kung, Y.; Hsieh, B.-C. Impedimetric Sensing of Honey Adulterated with High Fructose Corn Syrup. *Food Control* **2021**, *130*, 108326. [CrossRef]
18. Das, C.; Chakraborty, S.; Acharya, K.; Bera, N.K.; Chattopadhyay, D.; Karmakar, A.; Chattopadhyay, S. FT-MIR Supported Electrical Impedance Spectroscopy Based Study of Sugar Adulterated Honeys from Different Floral Origin. *Talanta* **2017**, *171*, 327–334. [CrossRef] [PubMed]
19. Insuasty-Santacruz, E.; Martínez-Benavides, J.; Jurado-Gámez, H. Determinación Melisopolinológica de Miel de Abejas Apis Mellifera Producida Con Flora de Clima Frío, Principalmente *Trifolium repens* L. *Vet. Zootec.* **2017**, *11*, 74–82. [CrossRef]
20. Pospiech, M.; Ljasovská, S.; Titěra, D.; Kružík, V.; Javůrková, Z.; Tremlová, B. Pollen Diversity in Honeys of the Czech Republic in the 2019 Season. *Potravin. Slovák J. Food Sci.* **2020**, *14*, 1115–1123. [CrossRef]
21. Karabournioti, S.; Thrasyvoulou, A.; Eleftheriou, E.P. A Model for Predicting Geographic Origin of Honey from the Same Floral Source. *J. Apic. Res.* **2006**, *45*, 117–124. [CrossRef]
22. Pineda Ballesteros, E.; Castellanos Riveros, A.; Téllez Acuña, F.R. Determinantes físicoquímicos de la calidad de la miel: Una revisión bibliográfica. *Cuad. Des. Rural* **2019**, *16*, 83. [CrossRef]
23. Popek, S.; Halagarda, M.; Kurska, K. A New Model to Identify Botanical Origin of Polish Honeys Based on the Physicochemical Parameters and Chemometric Analysis. *LWT* **2017**, *77*, 482–487. [CrossRef]
24. van Gerven, M.; Bohte, S. Editorial: Artificial Neural Networks as Models of Neural Information Processing. *Front. Comput. Neurosci.* **2017**, *11*, 114. [CrossRef]
25. Hara, P.; Piekutowska, M.; Niedbała, G. Selection of Independent Variables for Crop Yield Prediction Using Artificial Neural Network Models with Remote Sensing Data. *Land* **2021**, *10*, 609. [CrossRef]
26. Rodríguez, N.; Reyes Méndez, L.; Salamanca Grosso, G. Aplicación de análisis de cluster y redes neuronales artificiales para la clasificación de mieles colombianas. In Proceedings of the Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos-Cibia9, Valencia, Spain, 13–16 January 2014; Volume 9.
27. Gavilanes Proaño, D.A. *Sistema de Monitoreo Apícola Mediante el uso de Redes Neuronales Artificiales para Identificar la Variación de Población*; Universidad Técnica de Ambato: Ambato, Ecuador, 2020.
28. Martínez, L.; Arguijo, P.; López, J.A.; Melendez-Armenta, R. Configuración de Red Neuronal Para El Análisis de Polen. *Res. Comput. Sci.* **2019**, *148*, 91–98. [CrossRef]
29. Mateo, F.; Tarazona, A.; Mateo, E.M. Comparative Study of Several Machine Learning Algorithms for Classification of Unifloral Honeys. *Foods* **2021**, *10*, 1543. [CrossRef] [PubMed]
30. Generate Pattern Recognition Network—MATLAB Patternnet—MathWorks España. Available online: <https://es.mathworks.com/help/deeplearning/ref/patternnet.html?sessionid=370562d44f3c46b93a717f92677f> (accessed on 12 June 2022).
31. Nikolova, K.; Tsankova, D.; Eftimov, T. Fluorescence spectroscopy, colorimetry and neural networks in distinguishing different types of honey. In Proceedings of the V International Conference Industrial Engineering and Environmental Protection 2015 (IIZS 2015), Zrenjanin, Serbia, 15–16 October 2015.
32. Caston, M.J.P.; González, I.N.; Alaminos, A.B.; Torales, L.I.E.; Alonso, F.J.G. Parámetros de calidad en mieles de diferentes orígenes botánicos producidas en la alpujarra granadina. *Anales de Veterinaria de Murcia* **2016**, *32*, 59–71.
33. DIRECTIVA 2001/110/CE. Available online: <https://www.boe.es/doue/2002/010/L00047-00052.pdf>. (accessed on 10 June 2022).
34. Caracterización Físico-Química y Evaluación Sanitaria de la miel de Mozambique. 290. Available online: <http://hdl.handle.net/10803/5701> (accessed on 5 September 2021).
35. da Silva, P.M.; Gauche, C.; Gonzaga, L.V.; Costa, A.C.O.; Fett, R. Honey: Chemical Composition, Stability and Authenticity. *Food Chem.* **2016**, *196*, 309–323. [CrossRef]

36. Revista Veterinaria Argentina. Comparación de Parámetros Físicoquímicos En Muestras de Miel Ecológica y Convencional. Available online: <https://www.veterinariargentina.com/revista/2022/05/comparacion-de-parametros-fisicoquimicos-en-muestras-de-miel-ecologica-y-convencional/> (accessed on 10 August 2022).
37. BOE.Es—DOUE-L-2002-80034 Directiva 2001/110/CE Del Consejo, de 20 de Diciembre de 2001, Relativa a La Miel. Available online: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2002-80034> (accessed on 10 August 2022).
38. Pérez García, M.R. Universitat Politècnica de València. *Ingeniería Del Agua* **2014**, *18*, ix. [CrossRef]
39. de la Cruz, D.R.; Reyes, E.S.; Durán, S.S.; Sánchez, J.S. Análisis palinológico de mieles comerciales monoflorales. *Bot. Complut.* **2013**, *37*, 171–180. [CrossRef]
40. Montenegro, G.; Gómez, M.; Díaz-Forestier, J.; Pizarro, R. Aplicación de La Norma Chilena Oficial de Denominación de Origen Botánico de La Miel Para La Caracterización de La Producción Apícola. *Ciencia e Investigación Agraria* **2008**, *35*, 181–190. [CrossRef]
41. López Candel, A. Caracterización Físicoquímica de Miel de Espliego y Tomillo de la Comunidad Valenciana. 2014. Available online: <hdl.handle.net/10251/57240> (accessed on 10 August 2022).
42. Analog Discovery 2—Digilent Reference. Available online: <https://digilent.com/reference/test-and-measurement/analog-discovery-2/start> (accessed on 12 June 2022).
43. Impedance Analyzer for Analog Discovery. Available online: <https://digilent.com/shop/impedance-analyzer-for-analog-discovery/> (accessed on 12 June 2022).
44. Sigmoid Layer—MATLAB—MathWorks España. Available online: <https://es.mathworks.com/help/deeplearning/ref/nnet.cnn.layer.sigmoidlayer.html> (accessed on 11 August 2022).
45. Santos, E.I.; Meerhoff, E.; Rosa, E.G.D.; Ferreira, J.; Raucher, M.; Quintana, W.; Martínez, A.; González, C.; Mancebo, Y. Color and Electrical Conductivity of Honeys Produced by *Apis Mellifera* in Uruguay. *INNOTECH* **2018**, *16*, 51–55. [CrossRef]
46. Blanco Pérez, M. Parámetros Físicoquímicos En mieles Monoflorales Españolas de la Campaña 2020. Master's Thesis, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain, 2021.
47. Control de Calidad de Las Miel, ¿qué Medir? Available online: <https://www.hannainst.es/blog/1609/Control-de-calidad-de-las-miel> (accessed on 10 August 2022).
48. Staniškienė, B.; Matusevičius, P.; Budreckienė, R. Honey as an Indicator of Environmental Pollution. *Medus—Aplinkos Taršos Indikatoriumas* **2006**, *36*, 53–58.
49. Tornuk, F.; Karaman, S.; Ozturk, I.; Toker, O.S.; Tastemur, B.; Sagdic, O.; Dogan, M.; Kayacier, A. Quality Characterization of Artisanal and Retail Turkish Blossom Honeys: Determination of Physicochemical, Microbiological, Bioactive Properties and Aroma Profile. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *46*, 124–131. [CrossRef]

Article

Classification of Monofloral honeys by measuring a low-cost electronic nose prototype based on resistive metal oxide sensors

Eduardo González María¹, Antonio Madueño Luna² , Agustín Conesa Celdrán¹ , Gemma Martínez Muñoz¹, Martin John Oates¹ and Antonio Ruiz-Canales^{1,*}

¹ Engineering Department, Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Miguel Hernández University of Elche, 03312 Orihuela, Spain; eduardo.gonzalez@goumh.umh.es (E.G.M.); agusconesaceldran@gmail.com (A.C.C.); gemma.veinte@gmail.com (G.M.M.); moates990@gmail.com (M.J.O.)

² Departamento de Ingeniería Aeroespacial y Mecánica de Fluidos, Universidad de Sevilla, Camino de los Descubrimientos, s/n, 41092 Sevilla, Spain; antonio@madueno.es

* Correspondence: acanales@umh.es

Abstract: In this article a case study of characterisation of type of honey based on floral origin is presented. It is intended to discriminate Iberian honeys from local beekeepers located in the Community of Madrid (Spain), by means of a low-cost electronic nose prototype, composed of a matrix of nonspecific resistive sensors of MQ-type metal oxides. The measurements of the honeys made with an electronic nose prototype were contrasted with physicochemical analyzes and pollen content. The experiment was carried out in two trials. A first preliminary study in which six samples of honey from different sources were used (three Blueweed, one rapeseed, one lavender and one commercial honey) and in which eight repetitions were made for each of the six samples analyzed. Due to the small sample size, conclusive results were not obtained, although the sensors did show a clear response in those that presented a higher pollen content, above 57%, however, the honey samples that reflected pollen values lower than 50% they showed no perceptible reaction on the sensors. In the second study, in which the sample size was increased to a total of 16 samples (four lavender honeys, four oak honeys, four rosemary honeys, and four chestnut honeys), a total of 10 repetitions per sample were carried out with a total of repetitions out of 160. These last data were analyzed with the principal component technique (PCA), the results of which were inconclusive. However, when applying the data analysis through the use of Support Vector Machines (SVM), it is possible to obtain a model with 87.5% accuracy in the classification. In this case, the Lavender and Chestnut honeys were the ones that achieved a precision of 90% and 100% respectively.

Keywords: honey; botanical origin; volatile organic compounds; electronic nose; metal oxide sensors



Citation: María, E.G.; Luna, A.M.; Celdrán, A.C.; Muñoz, G.M.; Oates, M.J.; Ruiz-Canales, A. Classification of Monofloral Honeys by Measuring a Low-Cost Electronic Nose Prototype Based on Resistive Metal Oxide Sensors. *Agronomy* **2023**, *13*, 2183. <https://doi.org/10.3390/agronomy13082183>

Academic Editor: Roberto Marani

Received: 8 July 2023

Revised: 5 August 2023

Accepted: 14 August 2023

Published: 21 August 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The guidelines governing the European honey industry allow, among other things, for honey to be marked based on its botanical and regional source. At the moment, there's no mandate in the law that requires floral designation for honey. This absence of clarity in the rules has resulted in honey being deemed as monofloral if a specific pollen type exceeds 45% representation [1].

Currently, several methods are used to verify the authenticity of monofloral honey, one of them being melissopalynology, a fundamental tool in the verification process but which implies a high cost both in analysis time and cost. The method for analyzing honey's pollen involves two steps: recognizing the pollen grains present and tallying them. The identification can only be done by comparing the morphology and dimensions of the observed pollen grains with those known grains that constitute the reference [2].

Using data from melissopalynological studies, we can categorize or create subcategories within comparable production entities. Principal component analysis facilitates

the reduction of the dimension of the data set, by transforming it into a new uncorrelated set [3].

Alternatively, another common method for distinguishing honey, often cited in research, is by analyzing prevalent physicochemical attributes such as moisture, electrical conductivity, free acidity, carbohydrates, HMF, color, optical rotation, and pH. Tools like principal component analysis (PCA), linear discriminant analysis (LDA), and stepwise discriminant analysis (SDA) are employed for its categorization. These tools assess data trends and uncover the links between the physicochemical attributes and honey's botanical source [4]. Recently, methods to analyze honey's volatile components have emerged, aiding in the detection of chemical markers within honeys, facilitating the distinct identification of monofloral varieties. Among these methodologies, one of the most promising is the analysis of the volatile fraction of honeys by means of SPME-GC-MS (Solid Phase Microextraction—Gas Chromatography-Mass Spectrometry), since the compounds in this fraction are closely related to the organoleptic perception that the consumer receives from them. [5]

Honey, as such, contains small amounts of organic acids, amino acids, minerals, vitamins, phenolic compounds, and volatile compounds, mainly carboxylic acids, aldehydes, alcohols, and terpenes [6,7].

The volatile organic elements in honey can be categorized into distinct chemical classes, acting as a unique signature for each honey type [8]. Several researchers have directly linked the impact of plant species and the flora accessed by foraging bees to both the physicochemical and organoleptic traits of honey [9]. Additionally, the climate and soil conditions of the collection area, as well as the beekeeper's extraction and storage techniques, also play a significant role [10].

More than 300 volatile compounds belonging to different chemical families have been isolated: esters of aliphatic and aromatic acids, aldehydes, ketones and alcohols [11]. All of them contribute to the aroma and flavor of honey, along with sugars and acids [4]. There are volatile compounds characteristic of certain honeys such as methylanthranilate for citrus honeys [12] and lavender and thyme [13].

The limitation for a low-cost electronic nose project is determined by the commercial availability of gas sensors. The parameters of the electrical circuit are based in the recommendations of the manufacturers in order to obtain a standard approach. For example, the voltage of the sensor heater is determining the temperature of the sensor. Moreover, another aspect of the enoses is the use of metal oxide gas sensors (MQ). The use of these sensors for quick classification has been extended in this type of devices [14].

The analysis for the differentiation of honeys based in VOCs based on the combination of statistical methods through principal component analysis and linear discriminant has been obtaining good results [6].

Common multivariate statistical methods used to identify the botanical or geographical roots of honey focus on its physicochemical, antioxidant properties, or chemical makeup. These methods include principal component analysis (PCA), linear discriminant analysis (LDA), cluster analysis (CA), and artificial neural networks (ANN). The origin determinations center around the honeys' physicochemical and antioxidant characteristics or their chemical structure [15].

Other honey characterization research often encompasses a variety of parameters, including physicochemical, sensory, or both, and occasionally alongside the pollen spectrum. For classifying these parameters, techniques such as cluster analysis, PCA, and LDA are typically employed. Additionally, the Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) of monofloral honeys, when processed through PCA and later, using a machine learning algorithm like the support vector machine (SVM), has demonstrated effectiveness in pinpointing honey's origin [16].

An essential component in honey is pollen. Bee pollen is a mixture of pollen pellets of different colors collected by *Apis mellifera* on flowers of various species, removed by complex movements between the legs and the buccal appendages, compacted with nectar on the corbicles of its hind legs, and transported to the hive [17].

Numerous authors have described the chemical composition of pollen, in which the components vary depending on environmental, botanical and processing factors. Carbohydrates, proteins and essential amino acids, essential fatty acids, dietary fiber, vitamins and trace minerals [18] as well as carotenoids, flavonoids and polyphenols [19] have been described. More recent studies have highlighted the richness in phenolamides for bee pollen of the *Castanea* species [20] and flavonoid glycosides detected in *Echium plantagineum* bee pollen [21].

Aroma significantly influences the sensory characteristics of foods. Numerous studies highlight the potential of the e-nose in the food sector, characterized as a fast tool with a simple methodology [22] notably in distinguishing honey based on its geographical, botanical [19], and physicochemical attributes [23].

Taking into account the previously mentioned chemical characteristics of both honey and pollen, in this study an electronic nose prototype made up of eight MQ (resistive metal oxide) sensors has been used to analyze and botanically characterize different types of honey based on their chemical fingerprint. A PCA analysis was used to pool the honey samples and a comparative study was carried out using basic physical-chemical analyzes of honey as well as pollen analyzes in order to support the results of both electronic nose prototypes. With the results obtained, the potential capacity of these devices to be able to discriminate honey samples based on their botanical origin was supported in a similar way to a melissopalynological study, reducing both the time and the cost of the analysis. In addition to the PCA analysis, the Support Vector Machine (SVM) technique was used to try to improve the analysis of the data obtained and relate the measurements of the aforementioned device with the physicochemical and pollen analyses.

2. Materials and Methods

2.1. Used Honeys

The honey samples were provided by the Association of Beekeepers of the Community of Madrid (Spain) and local beekeepers from the northern mountains of Madrid. For analysis with the e-nose, samples were prepared in glass containers with 50 g of each type of honey. The measurement with the device was carried out at room temperature, without carrying out any type of manipulation or previous preparation of the sample.

Two experiments were carried out. A first preliminary study in which the capacity and sensitivity of the electronic nose prototype (e-nose) to detect the different honeys was assessed. Although it is not possible to observe any grouping based on the botanical origin of the honeys, it is observed that the highest response values of the sensors coincided with the honeys that presented the highest percentage of pollen, corresponding to samples 2 (Blueweed 74%), sample 3 (Blueweed 62%) and sample 4 (Rapeseed 57%) respectively, and that this lack of grouping may be due to the low number of samples. It was considered that increasing the number of samples would help to avoid this phenomenon. Maintaining this assumption, a second, more exhaustive study was carried out, in which both the number of samples and the number of experiments and repetitions were increased.

In the preliminary study, eight different honeys were used, obtained from different batches and harvested in the year 2020. Pollen analyzes classified these samples as monofloral. On the other hand, the values obtained in the physical-chemical analysis can be seen in Table 1; the values of humidity, electrical conductivity, the HMF and the pH are within the values established in the current legislation [24].

Employing statistical approaches on physicochemical data has proven effective in identifying various honey types. Among the chemical indicators commonly used to determine the floral source of honey samples are electrical conductivity, pH, and Hydroxymethylfurfural (HMF) [4].

Table 1. Physical, chemical and pollen analysis of the honey samples used in the first experiment.

Honey	Reference	BRIX Degrees (%)	Humidity (%)	pH	Mm Pfund	Conductivity (mS/cm)	Pollen from Nectariferous (%)	Color
Blueweed	m1	82.3	14.8	4.05	37	0.27	50	Extra light amber
Blueweed	m2	80.5	17	3.8	37.3	0.26	62	Extra light amber
Blueweed	m3	80.5	17.4	4.47	43	0.3	74	Extra light amber
Rape	m4	81.1	18	4.2	28	0.32	57	White
Lavender	m5	82	15.1	3.6	40.3	0.16	50	Extra light amber
Forest	m6		18		90	0.9		

On the other hand, in the second study 16 honey samples were used, classified as lavender, chestnut, oak and rosemary honey (see Table 2). In this case, different honeys had to be used since it was not possible to obtain honeys with the same botanical origin as the initial ones. These honeys were harvested in 2022.

Table 2. Physical, chemical and pollen analysis of the honey samples used in the second experiment.

Type	Sample Number	% BRIX	% Humidity	pH	Conductivity	Pfund Value (mm)	Color	Yeasts Content (10 g)	Description	Grains	Grains Nectariferous	Grains Pollineferous	Polien Type	Nectariferous (%)	Pollen (%)
Lavender	2065	82	16	4.18	0.36	47	0	7783.88	Very low	687	400	287	119	29.70	17.30
Lavender	3002	83	15	4	0.41	59	1	12,838.12	Low	500	400	100	37	9.25	7.4
Lavender	3007	85	17	4.01	0.48	57	1	18,231.1	Low	540	446	94	16	3.59	2.96
Lavender	3011	82	16	3.98	0.45	63	1	12,838.12	Low	500	400	100	44	11	8.8
Chestnut	2026	79	16.5	4.82	1.16	145	2	51,625.46	Low	500	425	75	166	39.06	33.2
Chestnut	2075	81	16.5	4.66	0.97	115	2	11,707.04	Low	803	712	91	399	56.03	49.68
Chestnut	2094	82	16.5	4.74	1	116	2	85,465.32	Low	1313	1073	240	454	42.3	34.5
Chestnut	22,109	81.5	16	4.85	1.16	131	2	85,465.32	Low	1313	1073	240	620	57.78	47.22
Rosemary	2001	83	14	4.26	0.1	14	4	5558.96	Very low	570	400	170	78	19.5	13.68
Rosemary	2007	80	17	4.12	0.09	19	3	2963.47	Very low	1004	401	603	125	31.17	12.45
Rosemary	2030	81	16	3.98	0.2	33	3	34,118.37	Low	508	463	45	15	3.23	2.95
Rosemary	2152	81	16	4.03	0.23	52	1	4533.88	Very low	736	400	336	87	21.7	11.8
Oak	2027	83.5	14	5.07	1.23	119	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Oak	2042	83	15	4.87	1.16	104	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Oak	2071	79	18.5	5.02	1.17	102	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Oak	2078	83	14	4.26	1.21	107	5	-	-	-	-	-	-	-	-

In the case of oak honey, which comes mostly from plant secretions or excretions from hemiptera (plant-sucking insects), the pollen load is not considered [19]. This type of honey has other characteristics in its composition that allow it to have other exceptions compared to other honeys, such as sugar content or electrical conductivity. This circumstance will also be reflected in the detection of pollen components by the sensors most related to these substances.

2.2. Device Used: E-Nose Prototype

For the analysis of the honey, a device composed of an array of eight MQ resistive sensors (Table 3) (MQ2, MQ3, MQ4, MQ5, MQ7, MQ8, MQ9 and MQ135), Hanwei Electronics Co., Ltd.[®] (Zhengzhou, China), with an Arduino NANO[®] as acquisition equipment and data processing have been used. MQ gas sensors are electrochemical sensors and their resistance varies when exposed to certain gases. Its interior consists of a heater that is responsible for increasing the internal temperature. Thanks to this, the sensor reacts with the gases causing a change in the resistance value. The electrical parameters of the sensors (sensitivity among others) can be seen in [25].

Table 3. Used sensors in the used e-nose prototype and their sensibilities.

N°	Sensor	Sensible to
1	MQ2	LPG (Liquefied Petroleum Gases), Hydrogen and Propane
2	MQ3	Alcohol
3	MQ4	Methane
4	MQ5	Hydrogen and LPG
5	MQ7	Hydrogen and carbon monoxide
6	MQ8	Hydrogen
7	MQ9	Carbon monoxide and liquefied petroleum gases (LPG)
8	MQ135	NH ₃ (ammonia), NO _x , alcohol, benzene, smoke, CO ₂ , etc.

These affordable commercial resistive sensors feature a sensitive layer composed of a metal oxide, specifically tin dioxide (SnO₂). When exposed to a gas, the metal oxide facilitates the gas’s ionization, leading to electron movement and changes in the layer’s conductivity. Since this mechanism is temperature-dependent, the sensor includes a heater to sustain the desired operating temperature.

Each sensor is designed to detect a range of organic chemicals and gases (Table 3). All of these sensors are sensitive to a wide variety of gases. A specific substance, in this case honey, generates a specific signal. This signal depends on the specific number and quantity of volatile organic compounds (VOCs) of each honey. Subsequently, each honey presents a specific signal that can be distinguished among several honeys.

The chemical categories of the volatile substances found in honey encompass: hydrocarbons; aldehydes; alcohols; ketones; acids; esters; derivatives of benzene, furan, and pyran; norisoprenoids; terpenes and their derivatives; along with sulfur and cyclic compounds [26].

While the sensors don’t directly detect the mentioned volatile organic compounds (VOCs) in honey, the goal of the experiments was to see if these VOCs might influence the sensors, potentially providing a chemical signature to differentiate each honey variety (Figure 1).

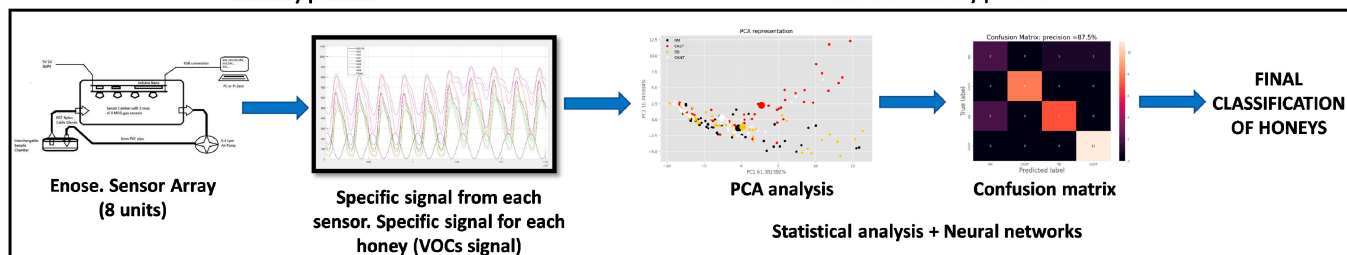
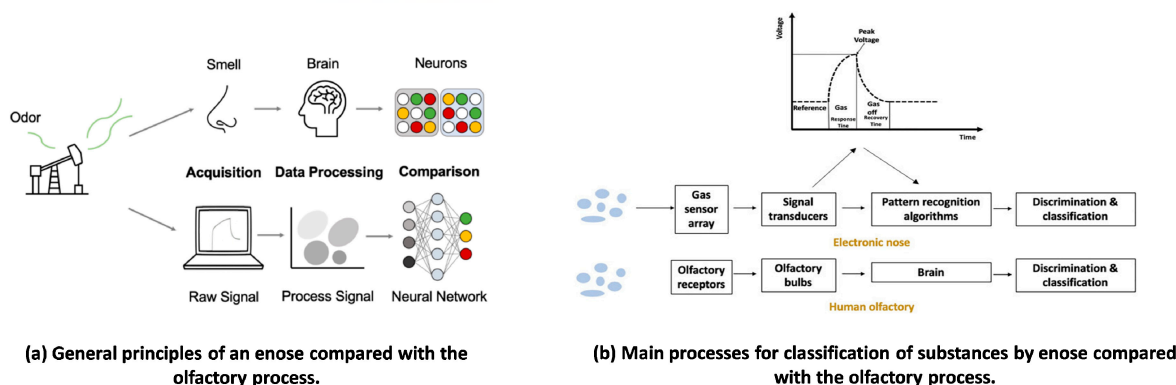


Figure 1. Schematics of the detection procedure in the experiment. (a) General principles of an enose compared with the olfactory process; (b) Main processes for classification of substances by enose compared with the olfactory process; (c) Main processes for classification of honeys by enose in the experiment.

Traditionally, honey quality attributes are assessed using standard analytical methods. Numerous studies detail the evaluation of honey's physicochemical properties, such as moisture level, pH, ash content, invertase enzyme activity, electrical conductivity, acidity, sugar breakdown (like sucrose, glucose, and fructose), color, and hydroxyl methyl furfural (HMF) [27,28]. These are employed to distinguish between various honey types or to detect adulteration. While the accuracy of these methods is established, they tend to be costly, labor-intensive, and destructive, making them unsuitable for real-time sorting. For industrial quality assurance, it's essential for managers to adopt testing procedures that can efficiently manage a high volume of samples at an affordable cost.

This equipment has been successfully tested in previous experiments [29–31] whose results have shown potential as a complementary detection tool in the agri-food sector. The main novelty of this device compared to previous versions is based on the improvement of the electronic design compared to the prototypes used in previous experiments [29–31] (Figure 2). In addition to this change in electronic design, new lower power consumption regulators were included to prevent overcharging and overheating.

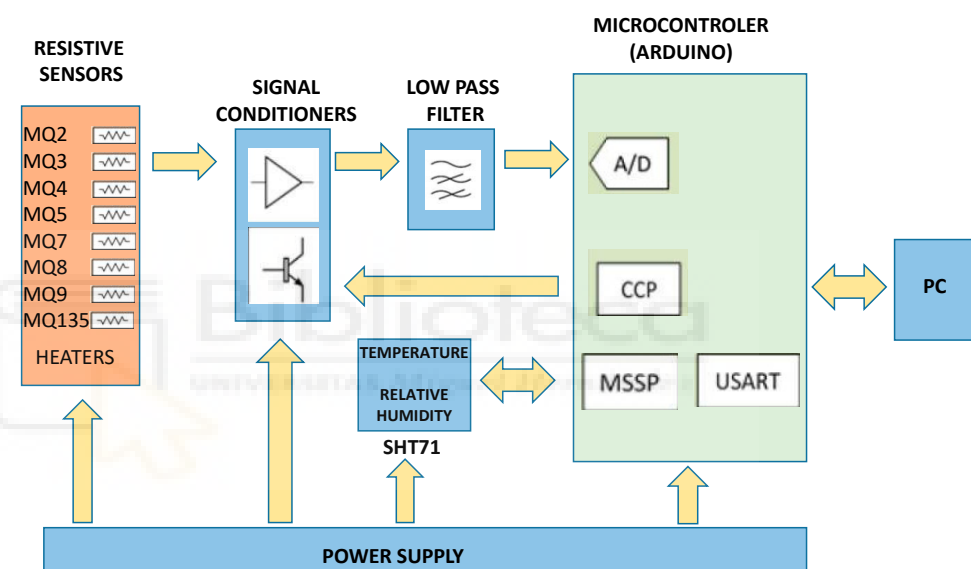


Figure 2. Flux diagram design of used electronic nose prototype.

In the original design, the main regulator, supported the entire load of the circuit making it get quite hot. The secondary regulators also had the same heating problem. The design was improved by separating on feed rails to lower the heating temperature of the bucks. These presented a good improvement and there was no heating problem, the 9 V to 5 V buck can support up to 3.5 A without a heatsink. Figure 3 includes the separation in power rails and the improved circuit of the motherboard of the device.

The air aspiration tube that allows data collection is connected to the sample (Figure 4). This connection tube is made of PVC, and 6 mm in external diameter (4 mm in internal diameter), and connects at the other end to the 700 mL sensor chamber made of PP5 (food grade PVC) that contains the matrix of MQ sensors. The device has a 0.4 L/min air pump that recirculates the air inside the sample chamber. In the latest version of the prototype, the air supply tubes have also been changed for more rigid and higher quality ones (Teflon). This prevents deterioration that occurs during sampling. Because of the size of the sample and the low air flow, the influence in the generation of smells is very low. Nevertheless, for a commercial purpose, the use of alternative materials to PVC will be taking into account.

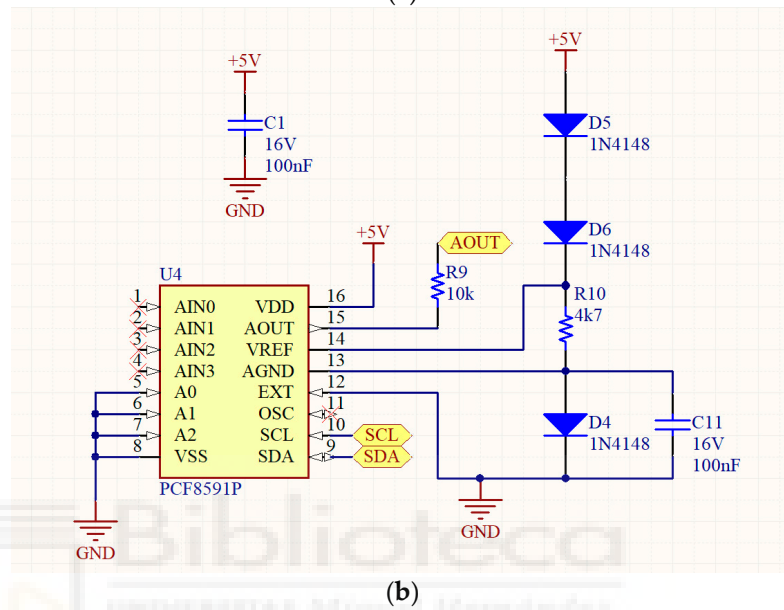
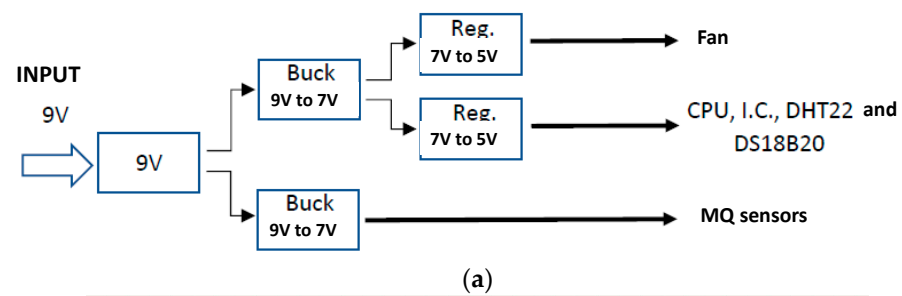


Figure 3. Improvements of the current enose compared with the previously used. (a) Separation in power rails; (b) Improvement introduced in the motherboard with the addition of a new A/D converter. The red cross are the zones that have been changed respect to the initial version.

All sensors must be burned for around 48 h to remove any remaining moisture. After burn-in, the trim pot resistors used for each sensor must be adjusted to obtain a 2 volt response on fresh air (the reference value without honey). If the device remains unused for over three months, the 48-h burn-in procedure should be redone.

The resistance of the sensor, which is the one that is sensitive to the gases present in the sample, receives a sinusoidal power supply with voltage values that vary between 1.5 V and 4.5 V with a period of 2 min. This introduces a variation in the temperature of the sensor, which according to the literature on the use of the sensors and previous tests of ours has shown to increase the sensitivity and, above all, to avoid the drift process in the sensors. The drift process refers to the phenomenon whereby the value we read from sensors in stable situations drops over time due to sensitivity drift processes. The sensor sampling is done every 0.5 s with the ADC of the Arduino Nano at 10 bits of resolution, that is, it is sampled at 2 Hz.

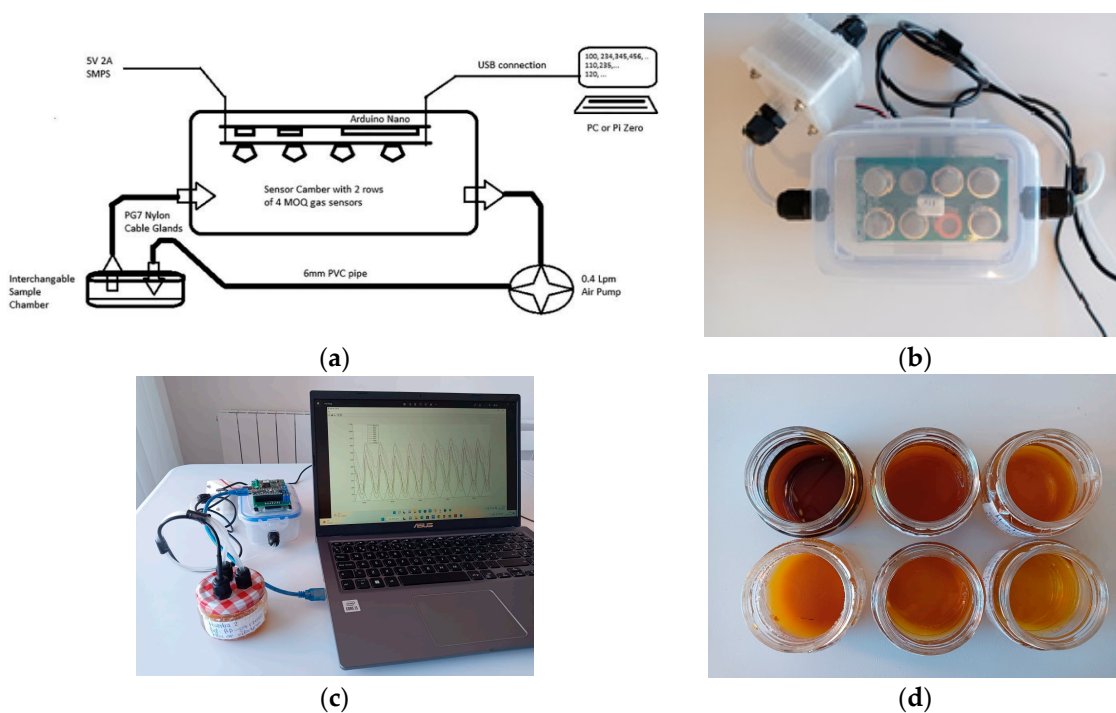


Figure 4. Device used: (a) Diagram of the electronic nose prototype used. (b) Matrix of MQ sensors inside the sampling chamber together with the SHt71 humidity and temperature sensor (in the center of the chamber). (c) Experimental procedure for one of the case study honeys. (d) Honeys used in the previous experiment.

2.3. Data Analysis

For analyzing the raw data (unprocessed) captured by the electronic nose, the initial action taken was executing a Discrete Fourier Transform (DFT) for each cycle of the input signal [27]. The previous analysis of these data was performed with proprietary software based in Matlab R2022b. Currently this subsequent DFT analysis is done manually and an application is being developed to do it automatically.

Subsequently, the Python environment was used to perform a Principal Component Analysis (PCA) as an unsupervised linear method. The grouping that the e-nose could find among the samples is observed. This analysis allows to simplify the variables studied, their physicochemical composition, pollen analysis and the obtained values from the electronic nose prototype. The technique produces a fresh collection of variables known as principal components. Every principal component is derived from a linear blend of the initial variables. These principal components are mutually orthogonal, ensuring no overlapping information. This collection of principal components creates an orthogonal foundation for the data domain.

In the second experiment, the machine learning (ML) algorithm was used through Support Vector Machines (SVM). This method has given good results in other recent studies related to honey adulteration or classification that have combined machine learning tools [32,33] with other analysis techniques such as isotope profiles, hyperspectral microscopy technology, or infrared spectroscopy [34].

The outcomes from the e-nose readings, taken earlier, were compared against the physicochemical and pollen evaluations of each honey sample to gauge and assess the classification effectiveness of the utilized prototype.

3. Results

3.1. Results of the First Experiment

On the one hand, the RAW values (raw and unprocessed values) returned by the AD converter were studied, analogue values that oscillate integers between 0 and 1023 (0–5 V)

corresponding to the data directly from the sensors, with a resolution of 10 bits. In the first study, the experiment was repeated eight times for each of the six samples analysed, showing a clear response from the sensors in those with a higher pollen content.

The most observed trend is the decrease of the sensor signal over time (Figure 5), events that have also been supported by other studies [35].

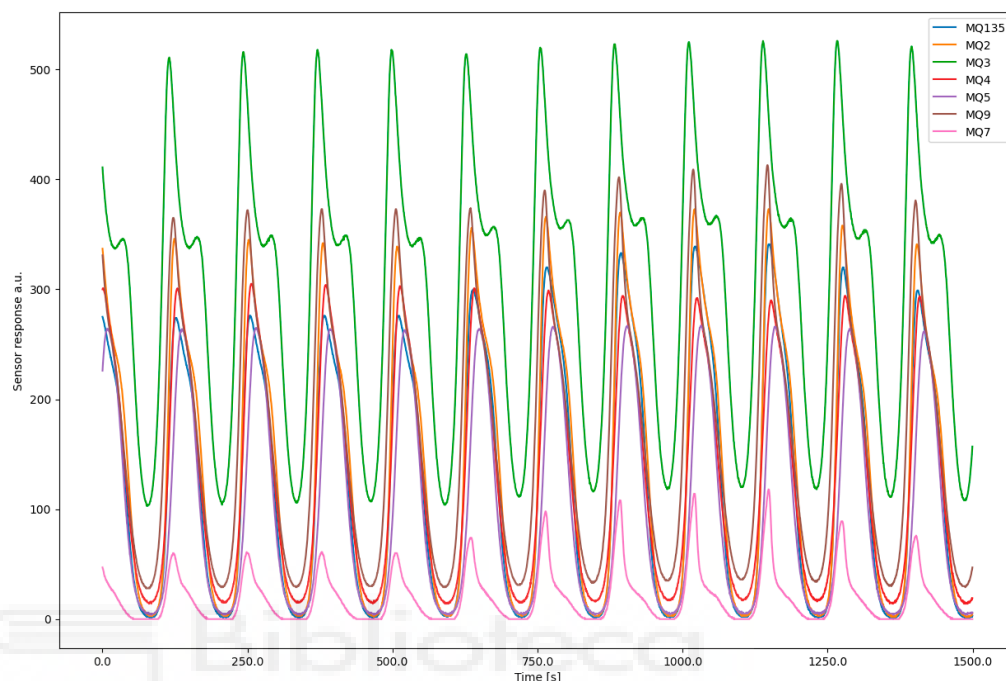


Figure 5. Response of the eight sensors to honey sample 3 (Blueweed 74% pollen content) together with the voltage signal introduced into the sensors.

To process the raw data, the initial step involved executing a Fourier transform (DFT) for every experiment via specialized software. Each sample underwent analysis for a duration of ten minutes, with the device's sample rate configured at 2 Hz. Consequently, each sampling yielded 1200 values, which were processed through the Matlab FFT function, producing cosine and sine coefficients along with five harmonics encompassing the DC component for every coefficient.

A Principal Component Analysis (PCA) was then conducted to visualize and cluster the samples. Both the PCA and the visualization were executed using the Matlab[®] R2020a version. The accumulated data was arranged into a matrix, subsequently normalized, and then broken down into its principal components (PCs).

In this first preliminary study, a grouping by individual samples was not observed, that is, the samples are not clearly distinguished. However, it can be seen in Figure 3a that there is a certain division by color, that is, on the left it can be seen that the samples m2 and m3 (Blueweed 62% and Blueweed 74%) that are grouped in contrast to the others that are grouped to the right of the cloud of points.

This conclusion, it is seen more clearly in Figure 6b. After using the k means algorithm to classify the data set into two groups, it is observed that the Blueweed samples m2, m3 can be grouped as one group and the rest of samples can be grouped in another group.

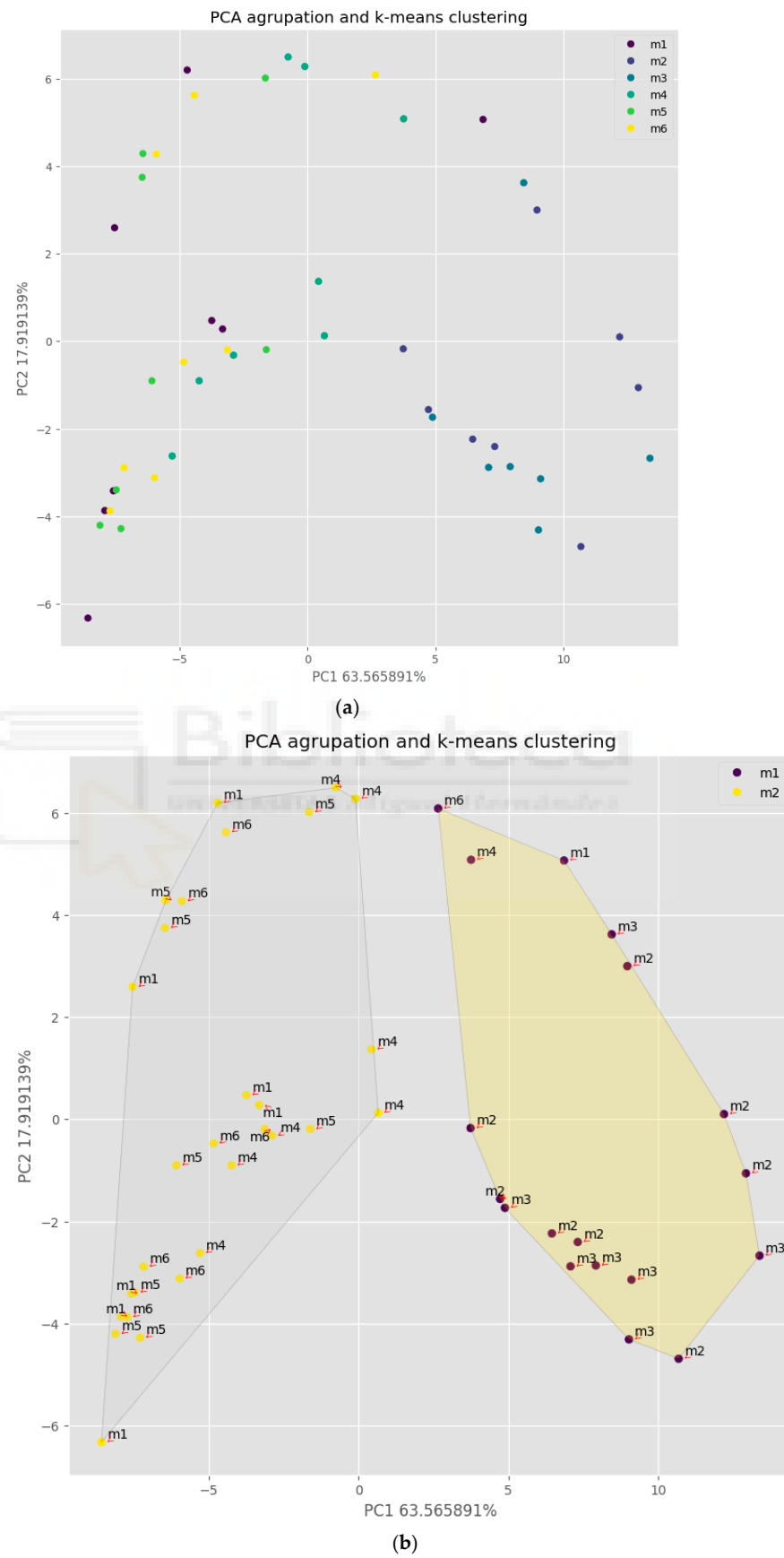


Figure 6. Results of the PCA analyses in the preliminary study: (a) Graph showing the PCA analysis of all the samples and each color indicates to which of the 6 types of samples each point belongs. (m1,

m2 and m3, different concentrations of Blueweed honey; m4, rape honey, m5, lavender honey, m6, forest honey); (b) Application of the k means algorithm to classify the data set into 2 groups in an unreinforced way. (Blueweed samples m2, m3 in (a) can be grouped as one group (m1, blue) and the others m1, m4, m5 and m6 in (a) can be grouped as another group (m2, yellow).

Although a clear classification for each of the honeys is not observed, it is shown that the prototype manages to define a classification based on its pollen content, which reinforces our hypothesis that despite being non-specific sensors for VOCs, it can have a potential classifier for honeys.

3.2. Results of the Second Experiment

In this second study, sixteen honey samples were used, also obtained from local beekeepers in the Sierra Norte area of the Community of Madrid (Spain) and harvested in the autumn of 2022. It should be noted that these honeys, obtained mainly from local apiaries with hives on shelves, that is, that beekeeping whose hives remain all year in the same settlement. They are closely linked to the predominant flowering of the year in which it is harvested, and due to recent years marked by climatic extremes, it has made it difficult to obtain the same monofloral honeys as in the first study (Blueweed, Rape, Lavender and Forest).

In this case, the studied honeys were classified as Rosemary (RM), Oak (RB), Lavender (CANT), and Chestnut (CAST). For each of the varieties, they provided us with four samples from different batches, which allowed us to analyze a total of sixteen honeys with different pollen loads. As in the preliminary case, a physicochemical analysis was performed for each of the samples, the results of which are shown in Table 2 and which were used to compare with the results obtained from the prototype e-nose.

The Oak (honeydew) and Chestnut samples present a higher conductivity and color than the rest of the samples. These honeys have similar physicochemical properties and, frequently, similar pollen spectrum profiles that in some studies have complicated the differentiation between them [36] but on the contrary, this fact does allow them to be clearly differentiated from the other samples as can be seen. See in Figure 4.

A prior PCA was performed to compare the grouping performed. For this analysis, the values obtained from Table 2 were used, with the exception of the Oak honeydew values. In the case of honeydew such as Oak honey, melissopalynology is not useful to identify the botanical origin of this type of honey [37].

Figure 7 shows the PCA representation made with the data from the physicochemical analysis. Each of the points corresponds to each of the 12 samples. The color indicates the label of each sample relating it to the group to which it belongs according to the indicated legend. The largest points correspond to the centroid of each of the clusters corresponding to each group. The centroid indicates the average around which the points of the same group are grouped. It can be seen how three clusters have been formed that can be related to the groupings that we intend to make according to the type of honey. Bottom right, with greater separation from the other two, the orange cluster corresponding to Chestnut can be seen. This one presents a great internal variability between samples but it differs well from the other clusters. On the left, it can be seen that the clusters corresponding to Lavender and Rosemary are much closer, indicating greater similarity between them. It is observed that one of the Rosemary samples, located in the lower left part of its cluster, is closer to the Lavender cluster. That is, these two groups (Lavender and Rosemary) present a very high similarity according to their physicochemical analysis data.

According to the physicochemical values, the graph shows a greater similarity between the rosemary and lavender samples, with chestnut being more differentiated. This may be because it has a higher conductivity and color than the rest of the samples.

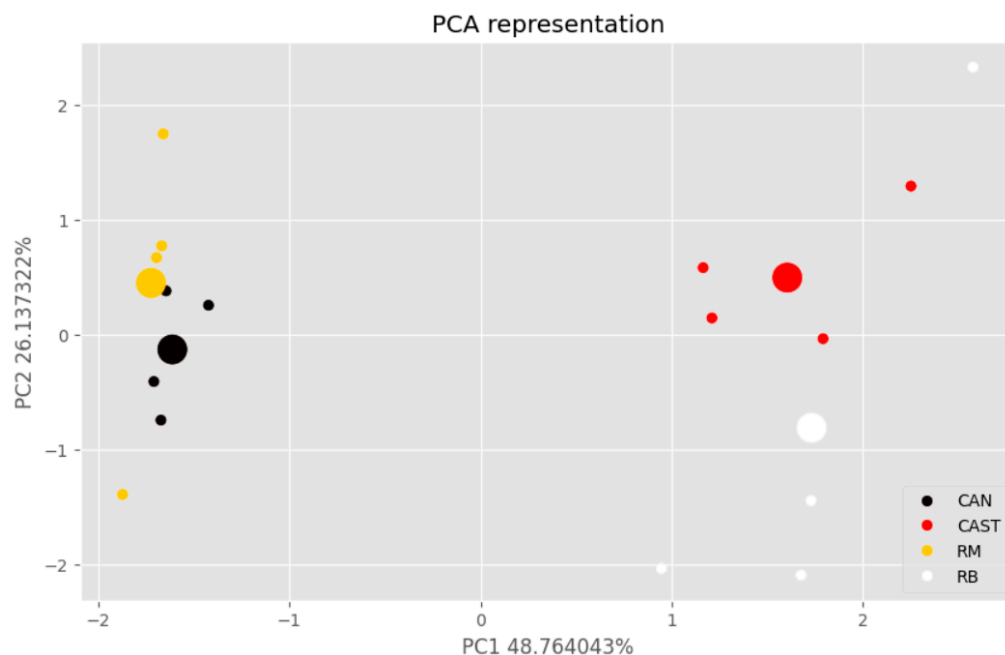


Figure 7. Representation of the first two main coefficients of the PCA carried out with the data obtained from the physicochemical analysis, carrying 74.89% of the variance of the data.

Two outliers are also observed, one from Oak and the other from Rosemary, which are far from the rest of the data set, and which clearly affects the correct grouping of the cluster. This may be due to one of the limitations that PCA has as a dimensionality reduction method, since it only contemplates linear combinations of variables, which means that it is not capable of capturing other types of relationships.

Regarding the electronic nose, a total of ten measurements were made for each of the samples, obtaining on the dataset containing 160 data corresponding to the measurements made by electronic nose on honey samples. These honeys have been grouped by pollen content into 4 groups, Rosemary (RM), Oak (RB), Lavender (CANT), and Chestnut (CAST).

In addition to the measurements by electronic nose, the results of a physicochemical analysis have been analyzed, shown in Table 4, containing measurements of the molasses used. A statistical study has been made according to these data of 3 of the RM, CAST, and CANT honeys. Each of these groups is made up of 4 samples, so there is a total of 12 samples studied. The samples corresponding to the RB group have been omitted since the pollen analysis has not been carried out on them.

Table 4. Metrics to evaluate the performance of the SVM model when classifying among the four classes.

	Precision ¹	Recall ²	F1-Score ³	Support ⁴
Rosemary	0.80	0.67	0.73	6
Chestnut	1.00	0.90	0.95	10
Oak	0.75	0.86	0.80	7
Lavender	0.90	1.00	0.95	9
Accuracy	0.87	-	0.88	32
Macro avg ⁵	0.86	0.86	0.86	32
Micro avg ⁵	0.88	0.88	0.87	32

¹ Precision: The proportion of instances classified correctly in all classes. ² Recall: The ability of the model to correctly identify all cases of a specific class. ³ F1 Score: The harmonic mean of accuracy and recall, providing a balanced measure for each class. ⁴ Support: Refers to the number of cases of each class. It gives an indication of the distribution of cases among the classes. ⁵ Macro/Micromean of Precision, Recall and F1 Score: Macromean calculates metrics independently for each class and then averages, while micromean aggregates contributions from all classes to calculate metrics.

The first objective was established to compare the initial grouping of the four groups mentioned above, with the groupings of the physicochemical data and those measured by electronic nose. In this way it was determined if the nose detects and differentiates the samples according to the initial hypothesis of the four groups.

Figure 8 shows the PCA representation made with the data from the analysis carried out by electronic nose. Each of the points corresponds to each of the 160 samples analyzed with the nose. In this case, the data of the 4 groups studied are presented. Each color corresponds to one of them established in the legend of the figure. The first observation of interest is; how a large part of the samples are indistinguishable by group, located in the central left part of the figure, while other clusters are formed by groups. In the upper left, the cluster corresponding to Chestnut (CAST, red) is the one that is best distinguished from the rest of the samples. It is seen that its centroid is the farthest from the rest and that a large number of samples are located in the upper right part of the figure. Secondly, it should be noted that the samples corresponding to Oak (RB, yellow) and Rosemary (RM, black) are the ones that are most similar to each other. The centroids are at the smallest distance observed and the samples are placed on exactly the same area of the figure. Finally, it can be seen how Lavender (CANT, white), despite the fact that the centroid distances itself from the rest, the samples are distributed together with the left central cluster.

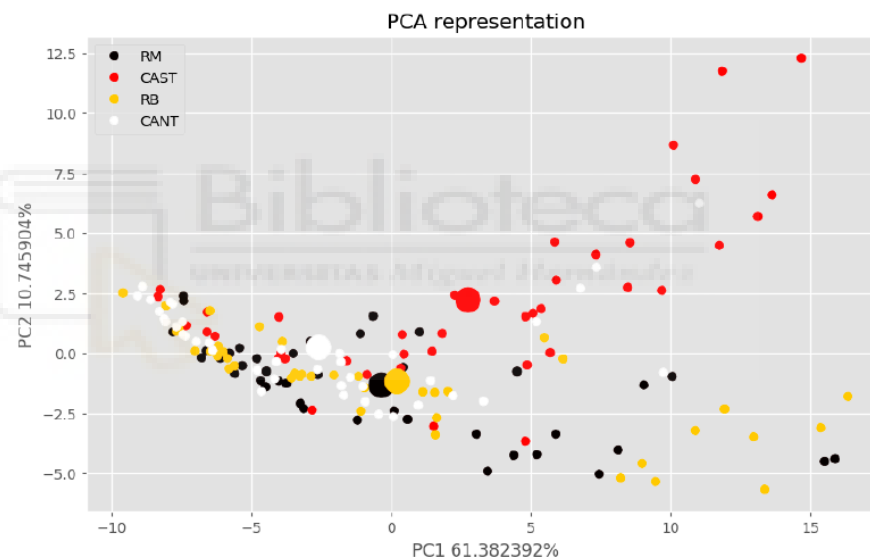


Figure 8. Representation of the first two main coefficients of the PCA carried out with the data obtained from the analysis by electronic nose, taking 80% of the variance of the data. Chestnut (CAST), red, Rosemary (RM), black, Lavender (CANT), white and Oak (RB), yellow.

In Figure 5 it can be seen that Chestnut honey, as in the case of the PCA analysis carried out with its physicochemical parameters, differs from the rest of the honey mainly due to its phenolic components. This may be due to the fact that chestnut honey is a monofloral honey in which the largest number of phenolic compounds have been identified to date [38], which allows increasing the sensitivity of the sensors and classifying it more clearly with respect to the rest of honey

The same happens with oak molasses honey, whose investigations have determined that it has a higher content of polyphenols and flavonoids [37] compared to other types of honey. Finally, supervised learning models have been used to classify each of the samples within each of the groups that have been established and to which they are considered to belong. The best results were obtained by using Support Vector Machines (SVM). The model obtained was trained with 80% of the data and with a quality of 20%. It is possible to obtain a model with 87.5% accuracy in the classification. Next, Table 4 details a series of measurements obtained.

Finally, the machine learning (ML) algorithm is shown using Support Vector Machines (SVM).

For the statistical categorization of the samples, we constructed a confusion matrix (Figure 9). Every column in the matrix denotes the count of predictions for each class, whereas each row indicates the instances belonging to the true class. With this matrix is possible to evaluate the prediction capacity of the obtained algorithm based in SVM. This algorithm is relating the measured values samples with the used enose against the type of honey. As it is presented in Figure 9, the precision of the predictive algorithm is 87.5%. This is a good fit and the enose can be employed for a quick identification of the studied honeys.

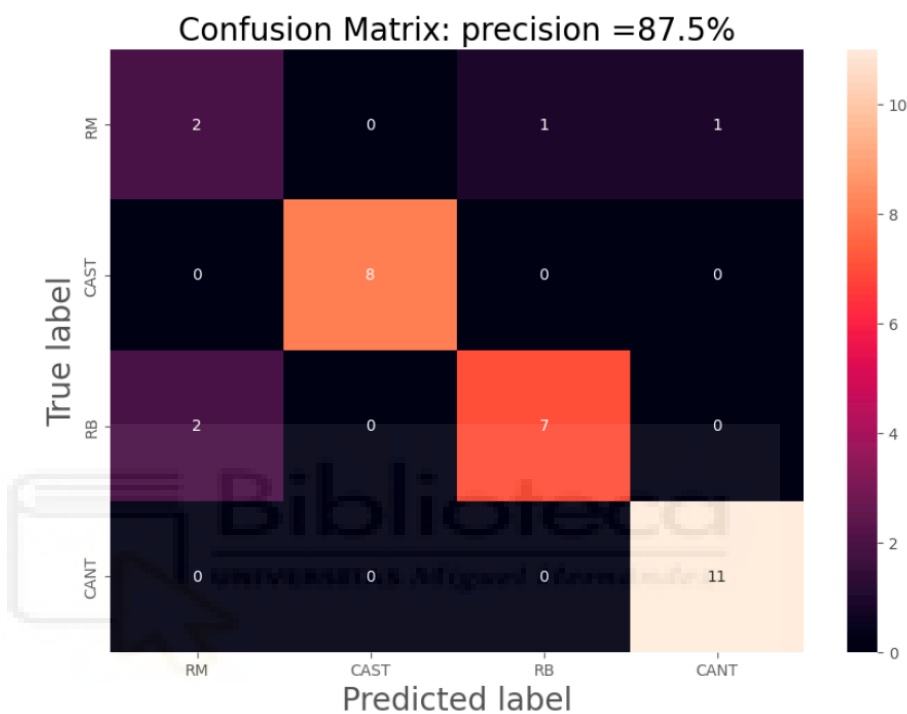


Figure 9. Confusion matrix as a measure of the model's performance. The code corresponding to each group is detailed on the axes.

Finally, a study is carried out whose objective is to identify which are the sensors of the electronic nose that contribute the most to the predictive capacity of the SVM model. The Permutation Importance technique will be used to evaluate the importance of the 72 variables in a data set consisting of 160 samples.

Permutation Importance is a technique that allows you to measure the relative importance of each variable in a machine learning model. In this case, it will be applied to evaluate how each of the 72 previously mentioned variables contributes to the predictive capacity of the model.

With this technique, a model is first trained using the entire dataset containing all 160 records and 72 variables. The initial performance of the model is then calculated. Each of the variables is selected, the values of one of them are mixed, while the other variables remain unchanged in each permutation. The performance of the model with the permuted variable is evaluated, and it is compared with the initial performance to establish the importance of this variable. A greater decrease in performance will indicate a greater importance of the variable (Figure 10).

Sensor MQ3 (alcohol) is the most important, while MQ9 (carbon monoxide and liquefied petroleum gases) is the least relevant. As expected, the MQ3 sensor is an important variable due to its sensitivity to alcohols and to the fact that the chemical composition of both honey and pollen is made up of these. The MQ135 is also important due to its wide sensitivity to different sensors.

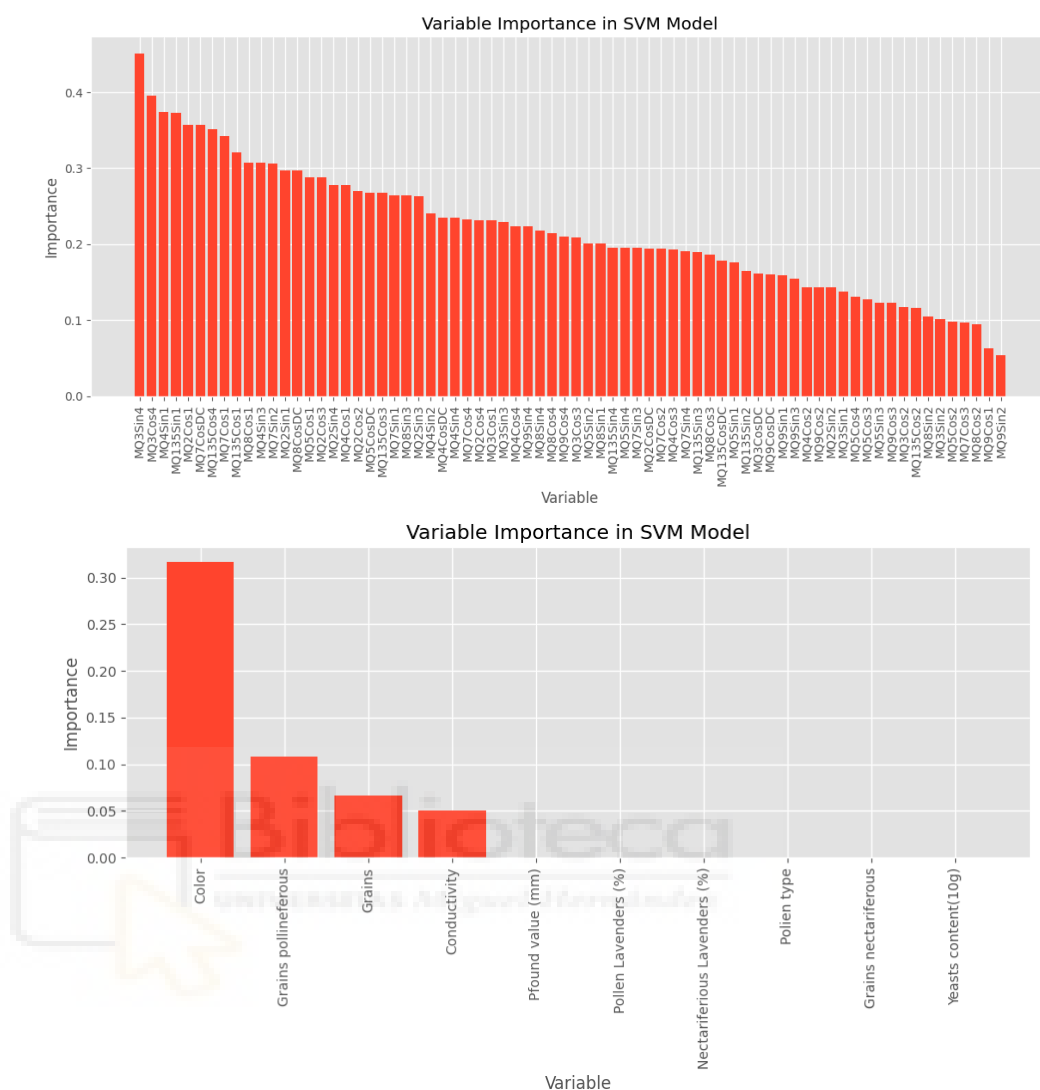


Figure 10. Predictive study of the SVM model.

Regarding the importance of the variables of the SVM model, color is the most important variable. Next in importance are pollen grains, followed by grains, conductivity. The other variables are not important in the model.

4. Conclusions

Volatile organic compounds can help distinguish monofloral honeys based on their sources and offer insights into the honey's botanical and geographical provenance.

The use of this e-nose prototype has allowed simplifying the analysis without the need to require a qualified specialist and reducing costs.

The knowledge of the volatile profile of a honey and its chemical fingerprint has allowed to discriminate the type of honey based on its floral origin.

The results of the preliminary study allowed to classify two groups based on the percentage of pollen contained in the honey, obtaining a higher response from the sensors for those samples that had a pollen content higher than 54%.

The SVL classification method has allowed to distinguish the varieties of honeys and it is shown as an alternative method to the PCA in the classification of monofloral honeys of the experiment developed.

For this experiment, the alcohol-related sensors (MQ3) are the ones that give the highest response due to the chemical composition of both honey and pollen. Similarly, the MQ135 gives a significant response, due to the wide range of VOCs to which it is sensitive.

This used prototype has been used for quick classification of agrifood products (olive oil, wine, coffee, lemons, among others) and medical purposes (urine analysis). The inconvenience of this prototype is the previous calibration. A period of several months (depending on the number of samples) has to be used for calibration. But finally, this device can be used for the studied substances.

Another problem is the repeatability of the device. There is a varied response in each device. This can be solved with a better quality sensor.

The next step for this device is the development of a commercial purpose.

Author Contributions: Conceptualization, E.G.M., A.M.L. and A.R.-C.; Formal analysis, E.G.M., A.M.L., A.R.-C. and A.C.C.; Investigation, E.G.M., A.M.L., A.R.-C., A.C.C., G.M.M. and M.J.O.; Writing—original draft, E.G.M., A.M.L. and A.R.-C.; Supervision, E.G.M., A.M.L. and A.R.-C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study did not require ethical approval.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Dataset analyzed in: <https://www.dropbox.com/scl/fo/1o9d3fcq8lppa9jw370i9/h?dl=0&rlkey=f6fzhj7tu2gguln7p59ewk5nj>. (accessed on 15 August 2023).

Acknowledgments: Authors are very grateful to TELENATURA EBT for its technical support, Asociación de Apicultores de la Comunidad de Madrid (APISCAM) and MIEL ANTONIO SIMON SL for providing us with the honey samples used in this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- De la Cruz, D.R.; Reyes, E.S.; Durán, S.S.; Sánchez, J.S. Análisis palinológico de mieles comerciales monoflorales. *Bot. Complut.* **2013**, *37*, 171–180. [CrossRef]
- Importancia del Análisis de Polen en Miel. Available online: <https://infomiel.com/importancia-del-analisis-polen-miel/> (accessed on 5 August 2023).
- Jacinto-Pimienta, S.Y.; Mendoza-Hernández, J.H.R.; Zaldivar-Cruz, J.M.; Sol-Sánchez, Á.; Vargas-Villamil, L.M.; Reyes-Sánchez, C.A.; Jacinto-Pimienta, S.Y.; Mendoza-Hernández, J.H.R.; Zaldivar-Cruz, J.M.; Sol-Sánchez, Á.; et al. El uso de componentes principales en la clasificación melisopalínológica de la miel de *Apis mellifera* L. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* **2016**, *7*, 2831–2840.
- Ballesteros, E.P.; Riveros, A.C.; Acuña, F.R.T. Determinantes Físicoquímicos de La Calidad de La Miel: Una Revisión Bibliográfica. *Cuad. Desarro. Rural* **2019**, *16*, 1–15. [CrossRef]
- Pinto, P.; María, A. *Identificación de Marcadores Químicos en Mieles Monoflorales Españolas*; Project/Final Work/Degree; Universitat Politècnica de València: Valencia, Spain, 2021.
- Schanzmann, H.; Augustini, A.L.R.M.; Sanders, D.; Dahlheimer, M.; Wigger, M.; Zech, P.-M.; Sielemann, S. Differentiation of Monofloral Honey Using Volatile Organic Compounds by HS-GCxIMS. *Molecules* **2022**, *27*, 7554. [CrossRef]
- Tedesco, R.; Scalabrin, E.; Malagnini, V.; Strojnik, L.; Ogrinc, N.; Capodaglio, G. Characterization of Botanical Origin of Italian Honey by Carbohydrate Composition and Volatile Organic Compounds (VOCs). *Foods* **2022**, *11*, 2441. [CrossRef]
- Bonini, A.; Guidici, V.; Leffer, V.; Muchiutti, N.; Fagúndez, G.; Tamaño, G.; Daners, G.; Guarinoni, G.; Almirón, F.; Fielder, S.; et al. *Combinación Quimiométrica de Espectroscopia NIR y de Composición Volátil Como Herramienta Para Caracterizar Mieles Cítricas Monoflorales*; Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU): Montevideo, Uruguay, 2015.
- Elbanna, K.; Attalla, K.; Elbadry, M.; Abdeltawab, A.; Gamal-Eldin, H.; Fawzy Ramadan, M. Impact of Floral Sources and Processing on the Antimicrobial Activities of Different Unifloral Honeys. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2014**, *4*, 194–200. [CrossRef]
- Montenegro, G.; Gómez, M.; Díaz-Forestier, J.; Pizarro, R. Aplicación de la Norma Chilena Oficial de Denominación de Origen Botánico de la Miel Para la Caracterización de la Producción Apícola. *Cienc. Investig. Agrar.* **2008**, *35*, 181–190. [CrossRef]
- Escriche, I.; Sobrino-Gregorio, L.; Conchado, A.; Juan-Borrás, M. Volatile Profile in the Accurate Labelling of Monofloral Honey. The Case of Lavender and Thyme Honey. *Food Chem.* **2017**, *226*, 61–68. [CrossRef]
- Sesta, G.; Piana, M.L.; Persano Oddo, L.; Lusco, L.; Belligoli, P. Methyl Anthranilate in Citrus Honey. Analytical Method and Suitability as a Chemical Marker. *Apidologie* **2008**, *39*, 334–342. [CrossRef]
- Zapater, S.; María, L. *Caracterización de la Fracción Volátil de Mieles de Espliego y de Tomillo Comercializadas en la Comunidad Valenciana*; Universitat Politècnica de València: Valencia, Spain, 2015.
- Borowik, P.; Adamowicz, L.; Tarakowski, R.; Waclawik, P.; Oszako, T.; Ślusarski, S.; Tkaczyk, M. Development of a Low-Cost Electronic Nose for Detection of Pathogenic Fungi and Applying It to *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. *Sensors* **2021**, *21*, 5868. [CrossRef]

15. Tarapatsky, M.; Sowa, P.; Zagała, G.; Dżugan, M.; Puchalski, C. Assessment of the Botanical Origin of Polish Honeys Based on Physicochemical Properties and Bioactive Components with Chemometric Analysis. *Molecules* **2021**, *26*, 4801. [CrossRef] [PubMed]
16. Mateo, F.; Tarazona, A.; Mateo, E.M. Comparative Study of Several Machine Learning Algorithms for Classification of Unifloral Honeys. *Foods* **2021**, *10*, 1543. [CrossRef] [PubMed]
17. Roubik, D.W. (Ed.) *Ecology and Natural History of Tropical Bees*; Cambridge Tropical Biology Series; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1989; ISBN 978-0-521-42909-2.
18. Puerto, N.; Prieto, G.; Castro, R. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Pollen. Review. *Chil. J. Agric. Anim. Sci.* **2015**, *31*, 115–126.
19. Rajs, B.B.; Primorac, L.; Gal, K.; Bubalo, D.; Prđun, S.; Flanjak, I. Influence of botanical origin on phenolic content and antioxidant capacity of monofloral bee pollen. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* **2022**, *21*, 213–222. [CrossRef]
20. Rodríguez-Flores, M.S.; Escuredo, O.; Seijo, M.C.; Rojo, S.; Vilas-Boas, M.; Falcão, S.I. Phenolic Profile of Castanea Bee Pollen from the Northwest of the Iberian Peninsula. *Separations* **2023**, *10*, 270. [CrossRef]
21. Qiao, J.; Feng, Z.; Zhang, Y.; Xiao, X.; Dong, J.; Haubruge, E.; Zhang, H. Phenolamide and Flavonoid Glycoside Profiles of 20 Types of Monofloral Bee Pollen. *Food Chem.* **2023**, *405*, 134800. [CrossRef]
22. Benedetti, S.; Mannino, S.; Sabatini, A.; Marcazzan, G. Electronic nose and neural network use for the classification of honey. *Apidologie* **2004**, *35*, 397–402. [CrossRef]
23. Faal, S.; Loghavi, M.; Kamgar, S. Physicochemical properties of Iranian ziziphus honey and emerging approach for predicting them using electronic nose. *Measurement* **2019**, *148*, 106936. [CrossRef]
24. Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. *Real Decreto 523/2020, de 19 de Mayo, Por el Que Se Modifica el Real Decreto 1049/2003, de 1 de Agosto, Por el Que Se Aprueba la Norma de Calidad Relativa a la Miel*; Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática: Madrid, Spain, 2020; Volume BOE-A-2020-6513, pp. 43006–43008.
25. Resultados Mielles ABRIL 2023. Available online: <https://www.dropbox.com/scl/fo/1o9d3fcq8lppa9jw370i9/h?dl=0&rlkey=f6fzhj7tu2gguln7p59ewk5nj> (accessed on 5 August 2023).
26. Barra, M.P.G.; Ponce-Díaz, M.C.; Venegas-Gallegos, C. Volatile compounds in honey produced in the central valley of Ñuble province, Chile. *Chil. J. Agric. Res.* **2010**, *70*, 75–84.
27. Spano, N.; Casula, L.; Panzanelli, A.; Pilo, M.I.; Piu, P.C.; Scanu, R.; Tapparo, A.; Sanna, G. An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey: The case of strawberry tree honey. *Talanta* **2006**, *68*, 1390–1395. [CrossRef]
28. Da Silva, P.M.; Gauche, C.; Gonzaga, L.V.; Costa, A.C.O.; Fett, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem.* **2016**, *196*, 309–323. [CrossRef] [PubMed]
29. Celdrán, A.C.; Oates, M.J.; Molina Cabrera, C.; Pangua, C.; Tardaguila, J.; Ruiz-Canales, A. Low-Cost Electronic Nose for Wine Variety Identification through Machine Learning Algorithms. *Agronomy* **2022**, *12*, 2627. [CrossRef]
30. Oates, M.; Fox, P.; Sánchez-Rodríguez, L.; Carbonell-Barrachina, A.; Ruiz-Canales, A. DFT Based Classification of Olive Oil Type Using a Sinusoidally Heated, Low Cost Electronic Nose. *Comput. Electron. Agric.* **2018**, *155*, 348–358. [CrossRef]
31. Oates, M.J.; Abu-Khalaf, N.; Molina-Cabrera, C.; Ruiz-Canales, A.; Ramos, J.; Bahder, B.W. Detection of Lethal Bronzing Disease in Cabbage Palms (Sabal Palmetto) Using a Low-Cost Electronic Nose. *Biosensors* **2020**, *10*, 188. [CrossRef] [PubMed]
32. Machuca, G.; Staforelli, J.; Rondanelli-Reyes, M.; Garcés, R.; Contreras-Trigo, B.; Tapia, J.; Sanhueza, I.; Jara, A.; Lamas, I.; Troncoso, J.M.; et al. Hyperspectral Microscopy Technology to Detect Syrups Adulteration of Endemic Guindo Santo and Quillay Honey Using Machine-Learning Tools. *Foods* **2022**, *11*, 3868. [CrossRef] [PubMed]
33. Hategan, A.R.; Magdas, D.A.; Puscas, R.; Dehelean, A.; Cristea, G.; Simionescu, B. Machine Learning Algorithms in Corroboration with Isotope and Elemental Profile—An Efficient Tool for Honey Geographical Origin Assessment. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 10894. [CrossRef]
34. David, M.; Hategan, A.R.; Magdas, D.A.; Berghian-Grosan, C.; Simionescu, B. Botanical Origin Assessment of Honey Based on ATR-IR Spectroscopy: A Comparison between the Efficiency of Supervised Statistical Methods and Artificial Intelligence. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 9645. [CrossRef]
35. Viciano-Tudela, S.; Sendra, S.; Parra, L.; Jimenez, J.M.; Lloret, J. Proposal of a Gas Sensor-Based Device for Detecting Adulteration in Essential Oil of Cistus Ladanifer. *Sustainability* **2023**, *15*, 3357. [CrossRef]
36. Escuredo, O.; Rodríguez-Flores, M.S.; Míguez, M.; Seijo, M.C. Multivariate Statistical Approach for the Discrimination of Honey Samples from Galicia (NW Spain) Using Physicochemical and Pollen Parameters. *Foods* **2023**, *12*, 1493. [CrossRef]
37. Seijo, M.C.; Escuredo, O.; Rodríguez-Flores, M.S. Physicochemical Properties and Pollen Profile of Oak Honeydew and Evergreen Oak Honeydew Honeys from Spain: A Comparative Study. *Foods* **2019**, *8*, 126. [CrossRef]
38. Lawag, I.L.; Lim, L.-Y.; Joshi, R.; Hammer, K.A.; Locher, C. A Comprehensive Survey of Phenolic Constituents Reported in Monofloral Honeys around the Globe. *Foods* **2022**, *11*, 1152. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

14. Agradecimientos.

A mi director de tesis, por su confianza, tenacidad y firmeza constante que ha permitido sacar adelante este proyecto y que no ha estado exento de dificultades.

A mi codirector de tesis, cuyo esmero y dedicación en estos años solo ha sido superado por la pasión por su trabajo.

A la Asociación de Apicultores de la Comunidad de Madrid (APISCAM) y la empresa MIEL ANTONIO SIMON SL, por facilitarnos todas las muestras de miel utilizadas en el estudio.

A Pablo Gutiérrez San José, cómplice de esta tesis y cuyo ingenio y eficacia han supuesto un revulsivo en el resultado de este trabajo.

A mi mujer Rosario y mis dos hijos, Carmen y Leónides, nacidos al principio y al final del desarrollo de esta tesis, perdón por el tiempo que no aproveché de vuestra extraordinaria compañía, cuyo tiempo y dedicación para investigar invadió mis horas de familia sin apenas percibirlo.

