

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación de impurezas en miel de abeja de marca registrada en la
ciudad de Guatemala



Guatemala, Julio de 2006

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación de impurezas en miel de abeja de marca registrada en la
ciudad de Guatemala

Informe de Tesis

Presentado por
Peggi Astrid Ramírez García

Para optar al título de
Química Farmacéutica

Guatemala, Julio de 2006

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph.D.	Decano
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona, M.A.	Secretaria
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Angel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Ángel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

ÍNDICE

1. Resumen.....	5
2. Introducción.....	7
3. Antecedentes.....	8
4. Justificación.....	21
5. Objetivos.....	22
6. Hipótesis.....	23
7. Materiales y Métodos.....	24
8. Resultados.....	29
9. Discusión.....	39
10. Conclusiones.....	42
11. Recomendaciones.....	43
12. Referencias bibliográficas.....	44

1. RESUMEN

En el presente trabajo de tesis se analizaron 10 muestras de miel de abeja de tres marcas diferentes, para hacer una total de 30 muestras y así realizar la determinación de impurezas en la miel de abeja de marca registrada distribuidas en la ciudad de Guatemala.

Los ensayos realizados para la determinación de impurezas fueron: carbono 13, fenol, antibióticos, plaguicidas, humedad y pureza por medio de espectrofotometría.

El análisis de carbono 13 se realizó por cromatografía en capa fina, utilizando como estándares azúcar y almidón de maíz, así también utilizando una fase móvil de n-propanol: acetona: ácido láctico y como revelador una solución saturada de nitrato de plata en acetona; al realizar éste análisis se obtuvo que el 100% de las muestras analizadas no presentaban carbono 13 como una impureza.

El fenol es un compuesto que puede causar una intoxicación crónica al ingerirse pequeñas cantidades de éste, para realizar el ensayo de fenol se sometió a la muestras a la presencia de cloruro férrico, para que se desarrollara una coloración violeta en el caso que existiera fenol; los resultados que se obtuvieron mostraron que el 100% de las muestras no presentaban fenol.

El análisis de antibióticos se realizó sobre la base de una metodología microbiológica que se basa en la inhibición de *Bacillus subtilis*, si las muestras presentaban halo de inhibición se corrió un cromatografía en capa fina utilizando como estándares tetraciclina, cloramfenicol, sulfacetamida y estreptomina. Del total de las muestras analizadas se obtuvo que el 15% de las muestras de la marca 1 obtuvieron resultado positivo a estreptomina, el 38% de las muestras de la marca 2 fueron positivas a estreptomina y el 47% de las muestras de la marca 3 fueron positivas también a estreptomina.

El clordimeform fue el plaguicida analizado en estas muestras de miel, esto se realizó por medio de una extracción con éter de petróleo, evaporando y redisolviendo con alcohol para leer en espectrofotómetro a una longitud de onda de 230 nm; los resultados obtenidos mostraron que el 100% de las muestras no presentaban clordimeform.

El análisis de humedad se realizó por medio de un sacarímetro, obteniéndose que el 100% de las muestras se encontraban dentro del límite de 21% de humedad.

Se realizó el análisis de pureza por medio de espectrofotometría, disolviendo las muestras en agua y leyendo a una longitud de onda de 260 nm, para obtener una gráfica característica que fue comparada con la gráfica de un estándar libre de impurezas; de la marca 1 el 40% de las muestras no concordaron con el estándar, de la marca 2 el 10% de las muestras no concordaron con el estándar y de la marca 3 el 100% de las muestras no concordaron con el estándar.

El 100% de las muestras de miel de abeja analizadas (marca 1, marca 2 y marca 3) no presentaron las impurezas de carbono 13, plaguicidas (clordimeform), fenol y también el 100% de las muestras de miel de abeja analizadas (marca 1, marca 2 y marca 3) se encontraron dentro del límite de 21% de humedad cumpliendo con la norma COGUANOR para mieles ICAITI 34 0 97. Las muestras de las tres marcas analizadas presentaron la impureza de estreptomina, la presentaron en diferentes proporciones, pero aún así ninguna de las muestras debería presentarla.

Se analizaron 3 marcas diferentes de mieles; en términos generales se puede establecer que las tres marcas se encuentran en condiciones similares, ya que las tres marcas resultaron negativas a carbono 13, clordimeform, fenol y las tres marcas resultaron positivas a antibióticos. Mostrando esto que los diferentes apicultores guatemaltecos enfrentan los mismos problemas en el manejo de sus mieles.

2. INTRODUCCIÓN

La miel, sin lugar a dudas, es un alimento energético y un tratamiento eficaz contra muchas enfermedades y dolencias. La acción positiva que ejerce sobre el organismo se debe a sus componentes, como los azúcares, oligoelementos orgánicos y minerales, las hormonas y las vitaminas, sustancias vivas que desempeñan un papel de poderosos catalizadores, capaces de liberar la energía contenida en potencia en otros elementos. Debido a las propiedades de la miel es importante que ésta no contenga sustancias indeseables, que afectan su composición disminuyendo su calidad. Por lo anterior es necesario verificar que ésta no contenga contaminantes y que cumpla con las normas sanitarias (Norma Centroamericana ICAITI 34 097, Miel de abejas) para la exportación de miel, ya que el 80 por ciento de la miel que se produce en el país tiene como destino el mercado de exportación, el cual se ve frenado por la presencia de impurezas en la miel.

Actualmente se ha observado que las abejas son afectadas por diversas plagas y enfermedades, por ello los apicultores han pasado a depender del uso de plaguicidas sintéticos y antibióticos, esto ha conducido a problemas de riesgo toxicológico para los apicultores, abejas y por lo tanto también para los consumidores. Debido a esto es importante comprobar si estos u otros contaminantes, están llegando a ser parte de la miel que se puede adquirir en los establecimientos comerciales en la ciudad de Guatemala, siendo éste el propósito de el presente trabajo de tesis.

Se realizó una investigación bibliográfica sobre los métodos para la determinación de antibióticos, plaguicidas, carbono 13 y fenol, los cuales son contaminantes de la miel, así como también de humedad y pureza; estableciendo con esto detalladamente el procedimiento de los ensayos químicos a realizar. Posteriormente se obtuvieron las muestras por medio de un muestreo por conveniencia no probabilístico, visitando así diferentes supermercados de la ciudad capital, obteniendo un total de 30 muestras de miel de abeja. Luego a dichas muestras se les realizaron los ensayos químicos para determinar si existía o no alguna de las impurezas anteriormente mencionadas; no se cuantificó, solamente se determinó si existía o no la impureza en la miel, ya que el hecho de que estuviera presente, hace que la miel no cumpla con los estándares de calidad.

3. ANTECEDENTES

3.1 GENERALIDADES

La miel es la sustancia azucarada elaborada a partir del néctar de las flores por la abeja obrera. Es el más antiguo de los alimentos azucarados conocidos por el hombre; pinturas rupestres muestran su recolección de los panales de las abejas al menos hace 15,000 años.

La miel es un alimento natural de grandes propiedades, ignoradas a menudo. De fácil digestión, tiene acciones estimulantes y tonificantes. Es la única sustancia que no facilita la obesidad.

Las normas COGUANOR establecen que " se entiende por miel de abejas exclusivamente la sustancia dulce natural producida para su propia alimentación por abejas obreras de diferentes especies, principalmente *Apis mellifera*, a partir del néctar de la flores o de secreciones de otras partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan depositadas sobre las partes vivas de las plantas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias después almacenan y dejan en los panales para que madure y añeje". (24)

De la flor a la miel

Las flores tienen, en el néctar de sus corolas, azúcares complejos, ricos en vitaminas y sales minerales, que la planta extrae del suelo. Las abejas recogen este néctar, y por medio de sus diastasas salivares, lo convierten en glucosa y levulosa. Luego, concentran el líquido, y lo airean, agitando intensamente sus alas, para finalmente, dejar las celdas de cera de los panales llenos de dulce y espeso jarabe.

La miel contiene sustancias alimenticias, además contiene antisépticos que la conservan libre de fermentaciones y putrefacciones. Uno de ellos es el ácido fórmico y otro, que también se encuentra en la leche y en la saliva, es la inhibina. Gracias a estos antisépticos, la miel resulta exenta de microbios y se conserva indefinidamente. (1)

En Guatemala aunque con pequeños volúmenes de producción, la apicultura tiene potencial, el país cuenta con alrededor de 55 mil colmenas, con un promedio de 40 colmenas por propietario, en Guatemala cerca de mil trescientos setenta y cinco personas se dedican a la apicultura, el 80% de la miel que se produce en el país tiene como destino mercado de exportación, el restante 20% va al mercado local cuya población posee escasa cultura de

consumo de miel. En 2004 Guatemala exportó 3.7 millones de libras de miel por un total de 4.5 millones de dólares, mientras que en 2003 las exportaciones sumaron 4.22 millones de libras y 3.74 millones de dólares. (28)

3.1.1 VIRTUDES DE LA MIEL

La miel se puede consumir sola o untando con ella rebanadas de pan, galletas y bizcochos, también se puede mezclar, como edulcorante de bebidas. Tiene sobre el azúcar blanco la ventaja de que no decalcifica, no daña los dientes y no tiene tendencia a fermentar ni a provocar fermentaciones de los otros alimentos.

Se digiere fácilmente; no irrita la mucosa gástrica, es ligeramente laxante y, por su contenido de fósforo, es un tónico cerebral excelente.

Es un eficaz balsámico en los resfriados, catarros y bronquitis. Para ellos se recomienda el hidromiel o mezcla de miel y agua, bebida en caliente. Bebida en esta forma es un buen tonificante en los fríos días de invierno. Una cucharada grande de miel en un vaso de agua caliente constituye un buen tónico en casos de desvanecimiento, después de una hemorragia o en los estados de depresión o agotamiento. En las afecciones del hígado (hepatitis, cirrosis, etc.) se da importancia capital al consumo de miel en la dieta prescrita. Esto se explica por la abundancia del glicógeno que el hígado necesita para sanar, y que solo puede formar si recibe glucosa en abundancia. La miel proporciona gran cantidad de glucosa purísima y de fácil absorción intestinal.

En la debilidad cardiaca, la energética acción de la glucosa en la contracción de la fibra muscular, puede resultar una insustituible ayuda.

En la inflamación del riñón (nefritis, pielitis) favorece la diuresis, y al mismo tiempo actúa como antiséptico en la zona inflamada. Los que sufren de artritis, reumatismo; obtendrá indudables beneficios con el uso diario de la miel. (23)

A temperatura normal la miel está sobresaturada de glucosa y se presenta como un jarabe que es el preferido por los consumidores. Sin embargo, durante el almacenamiento puede presentarse una cristalización o granulación gruesa, y llegar en algunos casos a la fermentación. La tendencia a granular depende de diversos factores, algunos de los cuales aún se desconocen. La proporción entre componentes azucarados y humedad es lo que tiene mayor efecto y se ha demostrado que las mieles con una proporción glucosa/agua de 2:1 granulan

rápidamente, mientras que mieles con una relación 1.7:1 o menor tienden a permanecer líquidas.

En tiempos de sequía, cuando el néctar es escaso, la abeja colecta rocío de miel que es un depósito azucarado dejado por ciertos insectos sobre partes verdes de la planta. La miel proveniente de rocío de miel es un producto de calidad inferior. (3)

3.1.2 LA MIEL DE ABEJA Y SU COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los principales componentes de la miel son humedad, glucosa (dextrosa), fructosa, maltosa, sacarosa, sustancias minerales y proteínas. Invariablemente se encuentra polen en el panal, pero puede no existir en algunas mieles que han sido filtradas con finura. Puede haber enzimas que causan alteraciones en las proporciones de azúcares originalmente presente y la sacarosa puede desaparecer por completo al almacenarla. La presencia de más de 5% de sacarosa se puede deber a la alimentación artificial de las abejas con azúcar, durante el invierno o durante períodos de sequía.

La miel es una mezcla compuesta sobre todo de los azúcares (carbohidratos) [Glucosa](#) y [Fructosa](#). Ambos azúcares suponen el 75% en peso de la miel. Su tercer componente mayoritario es el agua. La miel también contiene otros tipos de azúcares, así como ácidos orgánicos, proteínas y minerales (fósforo, magnesio, calcio, hierro, sodio y potasio) y vitaminas como el ácido ascórbico (vitamina C), tiamina(vitamina B1), riboflavina(vitamina B2), ácido nicotínico y piridoxina (vitamina B6).

[La sacarosa](#), que se compone de la fructosa y de la glucosa unidas, es un disacárido; constituye el 1% de la composición de la miel. Otros disacáridos de la miel son la maltosa y galactosa. La fructosa es levemente más dulce que la sacarosa. En la mayoría de las mieles, la fructosa predomina sobre el resto de azúcares y esto hace que la miel sea más dulce que el azúcar.

También existen otros tipos de mieles que contienen más glucosa que la fructosa. En la miel media está 1 a 1,5 veces más dulce que el azúcar.

La miel líquida contiene unos 82 g de carbohidratos/100 g de miel y proporciona unas 30 Kilocalorías. Así, una cucharada de miel con 21 gramos, contiene aproximadamente 17 gramos de carbohidratos y a razón de unas 4 kilocalorías por gramo, su poder calórico será de 64 kilocalorías (kcal). Aproximadamente 95% de los carbohidratos encontrados en miel son fermentables.

La miel pura con un contenido de carbohidratos mayor del 83% en peso o un contenido de agua menor del 17.1% en peso no fermentarán cuando esté almacenada correctamente. La miel es higroscópica ya que es rica en azúcares como la fructosa y puede absorber el agua fácilmente bajo ciertas condiciones. (2)

TABLA No. 3.1
Componentes de la Miel

<u>Enzimas</u>	<u>Vitaminas</u>	<u>Hormonas</u>
Invertasa	B ₁ B ₂ B ₃	Acetil colina
Diastasa	C	Tirosina
Glucosa oxidasa	Nicotina	
Catalasa	Biotina H	
<u>Minerales</u>	<u>Ácidos</u>	<u>Aminoácidos</u>
Magnesio	Glutámico	Isoleucina
Calcio	Clorhídrico	Aspargina
Fósforo	Glucotónico	Tecnilamina
Manganeso	Fosfórico	Treonina
Silicio	Acético	Alamina
Sodio	Fórmico	Arginina
Cloro	Butírico	Histidina
Azufre	Cítrico	Lisina
Cobre	Láctico	
Hierro		
<u>Inhibidores</u>	<u>Aromas</u>	
Peróxido de hidrógeno	Aldehído	
Penicilina	Formaldehído	
Arbutina	Acetaldehído	
Otros bactericidas	Diacetil	

Fuente: Trujillo Lam, Kimy Araceli. Evaluación de la calidad de la miel de abeja con marca registrada en la ciudad de Guatemala. Julio 1993. 40 pp.

La mayor parte de las mieles naturales tienen una rotación óptica negativa, pero la sacarosa y el jarabe de glucosa hacen que la rotación sea positiva. En las imitaciones de mieles puede estar presente el azúcar invertido técnicamente.

Los jarabes de glucosa ricos en fructosa contienen fructosa y glucosa en proporción aproximadamente igual que la miel. Por consiguiente, se puede usar este nuevo edulcorante para adulterar la miel o para fabricar imitaciones de miel. (2)

TABLA No. 3.2 Límites de los valores obtenidos en mieles florales de varias fuentes.

Agua %	15.7-21.00
Cenizas %	0.04-0.93
Nitrógeno %	0.05-0.38
Azúcares reductores %	85.0-94.9
Rotación específica α_{20}	Negativa
Dextrina %	1.70-5.22
Ácido libre (ml de NaOH 0.1M/100g)	12.9-58
Ph	3.6-5.6

Fuente: Egan Harold, Kirk Ronald, Sawyer Ronald, Análisis Químico de Alimentos de Pearson, Primera edición en español, Compañía editorial continental, 1987, 574p.

3.2 CALIDAD DE LA MIEL DE ABEJAS Y ESTÁNDARES DE CONTROL

Internacionalmente, los criterios de calidad de la miel están especificados en una Directiva Europea (4) y en los estándares del *Codex Alimentarius* (5), los cuales están actualmente en revisión. La Comisión Internacional de la Miel (IHC, International Honey Commission), formada en 1990 para revisar los métodos y los estándares de la miel de abejas. Inicialmente, ésta comisión recopiló y discutió los métodos de análisis aceptados en rutinas de control de calidad de miel de abejas. Luego, condujo análisis interlaboratorio en colaboración con la comisión del Manual Suizo de Alimentos (SFM, Swiss Food Manual). Los métodos fueron publicados inicialmente por la SFM y luego ligeramente modificados (9), bajo la coordinación de Stefan Bogdanov. El trabajo actual de la IHC se concentra en los criterios de composición de miel de abejas monofloral y está coordinado por Werner von der Ohe.

Los métodos analíticos modernos permiten obtener resultados mejores y más rápidos, por ello se considera la posibilidad de integrarlos en la norma actualizada. En publicaciones

recientes, se revisó extensivamente el contenido de azúcares específicos y la conductividad eléctrica de la miel de abejas, junto con los demás métodos reconocidos para determinar la calidad de la miel (10). En general, los estándares del *Codex Alimentarius* son válidos para la comercialización de mieles en el mundo entero, mientras que otras normas regionales como la Norma de la Comisión Guatemalteca de Normas COGUANOR NGO 34 097 "Miel de abejas" pueden establecer requerimientos de calidad específicos para la región.

La norma Centroamericana ICAITI 34 097 "Miel de abejas" inciso 7.1.1. establece " La miel de abejas no deberá tener ningún sabor y aroma extraños, ni contaminación inaceptable, que hayan sido absorbidos de una materia extraña durante su elaboración y almacenamiento. La miel de abejas no deberá haber comenzado a fermentar o mostrar efervescencia". (24)

3.3 CAUSAS DE CONTAMINACIÓN Y ADULTERACIÓN DE LA MIEL

La presencia de jarabes de maíz o de azúcar de caña en la miel puede tener diferentes orígenes:

2.3.1 La adulteración deliberada por parte de operadores del comercio de la miel o de apicultores que inescrupulosamente agregan en forma directa a la miel sustitutos artificiales de menor valor. El sustituto utilizado para la adulteración es el jarabe de maíz de alta fructosa.

2.3.2 La alimentación de colmenas durante el flujo de miel con la deliberada intención de aumentar la cosecha "pensando" que el pasaje de estos sustitutos por el sistema procesador de néctar de la abeja pueda encubrir la adulteración. Ello no es así y esta inescrupulosa práctica de algunos apicultores puede ser fácilmente detectada en el laboratorio tanto si se realiza con jarabes de azúcar de caña como de maíz.

2.3.3 Finalmente, y sin ninguna mala intención, el apicultor puede alimentar sus colmenas en exceso los días previos a la mielada. De esa manera genera reservas que no son consumidas por la abeja y que pueden contaminar la miel. Hablamos en este caso de *contaminación* y no de *adulteración* porque la cantidad de sustitutos artificiales que

pueden llegar a la miel es cuantitativamente mucho menor a los casos de adulteración deliberada e inescrupulosa descritos en los dos primeros incisos. De todos modos, como a los apicultores decentes y cuidadosos de su noble producto no les interesa ser confundidos con otros de diferente comportamiento, deben ser muy cuidadosos con la alimentación artificial los días/semanas previas al ingreso principal de néctar. (11)

3.4 CARBONO 13

Para comprender cómo hoy en día resulta posible distinguir mediante un análisis de laboratorio si un azúcar proviene de una planta melífera o de un sustituto artificial debe introducirse en algunos conceptos de fisiología vegetal y de química. Las plantas toman el anhídrido carbónico del aire y mediante el proceso de fotosíntesis fabrican azúcares. En el reino vegetal existe un grupo de plantas que fijan ese anhídrido carbónico en compuestos de tres átomos de carbono y son las denominadas plantas C3. Todas las especies melíferas pertenecen a plantas C3. En contraposición, existe otro grupo de plantas más evolucionadas, denominadas C4, que fijan el anhídrido carbono en moléculas de cuatro átomos de carbono. Dentro de las plantas C4 se encuentran el maíz y la caña de azúcar, especies de donde se originan los dos alimentos más comúnmente utilizados en la alimentación artificial de las abejas: los jarabes de maíz y el azúcar de caña. La gran parte del carbono que constituye las moléculas orgánicas de los seres vivos es el denominado Carbono 12. Sin embargo, existe también en todos los cuerpos de los seres vivos una pequeña porción de átomos de carbono denominados Carbono 13. Sorprendentemente, las plantas melíferas (plantas C3) producen azúcares con una proporción Carbono13/Carbono12 menor que las plantas C4 como la caña de azúcar y el maíz. Por ello, mediante análisis de laboratorio se puede detectar la presencia aún de pequeñas cantidades de jarabes artificiales en la miel. (11)

3.5 CONTENIDO DE HUMEDAD

El contenido de humedad es el único criterio de composición de la miel, que debe ser cumplido como parte de los estándares de la miel de abejas para su comercialización mundial. Miel con mayores contenidos de humedad podrían fermentar. En el borrador de los nuevos estándares se sugiere un valor máximo de humedad de 21 g/100 g miel. En la práctica, este valor máximo de humedad es muy raro. En los análisis de rutina para control de calidad de la miel de abejas efectuados por la IHC durante los años 1989-97 en aproximadamente 30.000 muestras de miel, 91-95% de las muestras presentaron contenidos de humedad inferiores a 20g/100 g miel (8). Los estándares suizos utilizaron un máximo de humedad de 20g/100 g miel en los pasados 20 años, hasta que debieron adoptar el máximo de 21 g/100 g miel sugerido por la UE, tal como indica la última revisión de la Ordenanza Suiza de Alimentos. Es de notar que numerosas organizaciones apícolas (Alemania, Austria, Bélgica, España, Italia y Suiza) utilizan máximos de humedad comprendido entre 17.5 y 18.5 g/100 g para clases especiales de mieles. (5) Las normas COGUANOR para miel de abejas, establece un porcentaje máximo de humedad de 21%.

3.6 PLAGUICIDAS (CLORDIMEFORM)

Los apicultores han pasado a depender del uso de plaguicidas sintéticos y antibióticos para combatir plagas, y esto ha conducido a problemas de contaminación para los apicultores, abejas, miel y consumidores.

TABLA No. 3 .3Generalidades del CLORDIMEFORM

CLORDIMEFORM N'-(4-Cloro-o-tolil)-N,N-dimetilformamida) $C_{10}H_{13}ClN_2$ Masa molecular:196.7	Fuente: http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspr0124.htm
---	---

D A T O S I M P O R T A N T E S	ESTADO FÍSICO: Cristales	ASPECTO DE EXPOSICIÓN incoloros. La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión.
	PELIGROS FÍSICOS PELIGROS QUÍMICOS La sustancia se descompone al calentarla intensamente al arder produciendo humos tóxicos y corrosivos, conteniendo cloruro de hidrógeno y óxidos de nitrógeno.	RIESGO DE INHALACIÓN Por evaporación de esta sustancia a 20°C, no se alcanza, o se alcanza sólo muy lentamente, una concentración nociva en el aire; alcanzándose mucho antes, si se pulveriza o se dispersa.
PROPIEDADES FÍSICAS	LÍMITES DE EXPOSICIÓN No	EFFECTOS DE EXPOSICIÓN DE CORTA DURACIÓN La sustancia puede causar efectos en el sistema nervioso central y la sangre, dando lugar a alteraciones funcionales y a la formación de metahemoglobina. La sustancia puede causar efectos en la vejiga y el riñón, dando lugar a la irritación de la vejiga y hematuria. Los efectos pueden aparecer de forma no inmediata. Se recomienda vigilancia médica.
	Punto de ebullición (se descompone) Presión de vapor, Pa a 20°C: 0.05 Punto de fusión: 32°C Densidad relativa de vapor (aire = 1): 6.8 Densidad relativa (agua = 1): 1.1 Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1): 1 Solubilidad en agua, g/100 ml a 20°C: 0.025 Coeficiente de reparto octanol/agua como log Pow: 0.11	EFFECTOS DE EXPOSICIÓN PROLONGADA O REPETIDA El contacto prolongado o repetido con la piel puede producir dermatitis. La experimentación animal muestra que esta sustancia posiblemente cause efectos tóxicos en la reproducción humana.
DATOS AMBIENTALES	 Esta sustancia puede ser peligrosa para el ambiente; debería prestarse atención especial a los peces.	Fuente: http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspr0124.htm

3.7 ANTIBIÓTICOS

3.7.1 Sobre la presencia de antibióticos en la miel y en la cera

Los productores recuerdan su posición sobre este punto, que es el de no aceptar más que un nivel máximo de 15 ppb de antibióticos en la miel (existe un nivel razonable de detección y que permite tener en cuenta la presencia extra apícola). Según ellos no conviene tener en cuenta solamente la seguridad del consumidor, sino también la imagen del producto. La industria aprueba esta posición y afirma que es necesario que todos los productores del mundo se propongan una tasa 0. Por lo que conviene vigilar la utilización en algunos terceros países de antibióticos cuya presencia no se busca en Europa. En efecto, la miel, por error, puede parecer que no contiene antibióticos. Se extrañan también de que los laboratorios de referencia comunitarios sean reticentes a la hora de publicar sus métodos de control. El representante del comercio aporta las conclusiones del simposium de Celles sobre este tema. (18)

Las crías de las abejas, sobre todo en sus primeros estadios, son susceptibles de ser atacadas por bacteriosis. Son responsable de la misma el *Bacillus larvae*, es una enfermedad de las larvas que casi siempre las mata después de que han formado sus capullos y se han estirados sobre sus dorsos con las cabezas hacia los opérculos de las celdillas; y *Streptococcus plutón*, generalmente acompañado por *Bacillus alvei*, *Bacillus eurydice*, y alguna otra bacteria que ataca las larvas cuando tienen 4 ó 5 días de edad, principalmente al inicio del verano cuando la colonia esta creciendo. (16)

La mortandad provoca severas reducciones en la población de la colmena, con las consiguientes mermas de producción o incluso la pérdida de colmenas cuando el ataque progresa. La quimioterapia (tratamiento basado en el empleo de sustancias químicas naturales o de síntesis) es el tratamiento más aplicado en base a antibióticos, la oxitetraciclina, resulta eficaz cuando se aplica 0,25-0,4 a 1 gramos en 5 litros de jarabe (mezcla de dos partes de azúcar con una parte de agua, disolviéndose el azúcar en el agua), toda la actividad del antibiótico desaparece tras unos 2 meses en la miel, aunque concentraciones mayores son tóxicas para las abejas o bien podría ser nociva tal concentración para las personas que consumiesen miel contaminada con los mismos, o podría aparecer resistencia hacia las

tetraciclinas.

Aunque la resistencia a las tetraciclinas no se adquiere tan pronto como a la penicilina, ocurre con facilidad, de igual manera (Harvey, 1990). La sensibilidad a una tetraciclina suele conferir resistencia a todos las demás, salvo algunas cepas tetraciclinoresistentes pueden seguir siendo sensibles a la minociclina. La resistencia generada por las tetraciclinas es lenta del tipo gradual. (14)

La actividad antibacteriana de amplio espectro de las tetraciclinas ocasiona una importante alteración de la ecología microbiana benévola, produciendo reacciones adversas, algunas graves y mortales, los trastornos pueden ser a nivel del hígado y riñón, así como trastornos dentarios, nerviosos e hipertensión intracraneana. Los efectos colaterales gastrointestinales de la oxitetraciclina son mayores comparados con las demás tetraciclinas. La dosis máxima para niños de 8 años o más es de 50 mg/día/K; la dosis adulto es de 2g/día. La vida media biológica de la oxitetraciclina en el organismo es de 6-8hs.

Los antibióticos deben ser utilizados para prevenir o tratar enfermedades de la abeja durante el período no nectarífero, sin embargo muchas veces se utilizan durante este período y en concentraciones mayores a las estipuladas, lo que ocasiona perjuicio en la calidad de la miel (15).

El comercio internacional pena la presencia de antibióticos en la miel, debido a que el consumidor ingiere una droga no deseada que puede provocar la adaptación y resistencia de las bacterias.

La eficacia del tratamiento depende del grado de contaminación, de la habilidad del apicultor y de la variabilidad de los factores naturales y ambientales. (17)

3.7.2. Antibióticos detectados en la miel en Bélgica, España y Reino Unido

La Agencia belga de Seguridad de los Alimentos ha realizado un estudio sobre la presencia de antibióticos y sulfamidas en la miel. De acuerdo con dicho análisis se

ha puesto de manifiesto que en la miel procedente del exterior (tanto de otros Estados miembro como de países terceros) 13 muestras de 25 fueron positivas a estreptomicina, 4 sobre 17 a tetraciclina, 6 sobre 17 a sulfamidas. En total, de todas las muestras analizadas solo un 35% de las mismas dieron negativo a los tres antibióticos controlados.

La miel producida en Bélgica también ha sido objeto de estudio, siendo mejores los resultados. Después de 1999, 3 muestras sobre 173 estaban contaminadas por estreptomicina (de las cuales una tenía mezcla con miel extranjera). De las 5 muestras analizadas para tetraciclina y de las 25 para sulfamidas, ninguna dio positiva.

En la UE está prohibido el uso de antibióticos en la apicultura y no hay fijados límites máximos de residuos (LMR) para las sustancias anti-infecciosas. Los científicos de la Agencia belga explican la presencia de los antibióticos por un uso inadecuado de los mismos y en el caso de la presencia de estreptomicina, en bajas concentraciones, en miel de abejas que han polinizado árboles frutales, por posibles tratamientos realizados sobre los frutales. Asimismo, la Organización de Consumidores y Usuarios española (OCU) ha publicado un artículo en el que pone de manifiesto que en un análisis que han realizado en mieles, se ha detectado la presencia de antibióticos. Las muestras proceden de mieles comercializadas en España, aunque el artículo no precisa si las mieles son de producción española, de otros países o mezclas. Los resultados del estudio han indicado que de 35 muestras de miel analizadas, 11 tenían antibióticos (sulfamidas y tetracilinas).

Por otra parte, la Agencia Alimentaria del Reino Unido (FSA) ha anunciado también el resultado de un análisis realizado sobre mieles vendidas en el mercado británico. Siete de las 15 muestras analizadas dieron positivas a la estreptomicina. Dichas muestras positivas procedían de China o eran mezclas de mieles, conteniendo mieles chinas.

Tanto el informe de la Agencia belga como el artículo de la OCU han mencionado que las concentraciones de antibióticos detectadas no suponen riesgo para la salud humana, razón que lógicamente no justifica su presencia. (25)

3.8 FENOL EN MIEL

El fenol es un compuesto aromático incoloro o levemente rosado cuando se encuentra como sólido cristalino, que presenta un olor "agridulce" característico. En las primeras décadas del 1800's, el fenol fue utilizado para el tratamiento de heridas como cicatrizante hasta que comenzaron a observarse efectos tóxicos sobre los pacientes. El fenol es actualmente utilizado en la industria de la producción de hidrocarburos, explosivos, textil, para la fabricación de resinas, también lo usan en las madereras como preservante y en menor medida en la industria farmacéutica como diluyente. Los efectos tóxicos del fenol se pueden dividir en agudos y crónicos. Los agudos son los producidos por la ingestión de una dosis muy elevada de fenol; y los crónicos, los producidos a largo plazo por la ingestión de dosis mínimas del compuesto pero de manera sostenida a lo largo del tiempo. La llegada de fenol a la Miel es un tanto controversial ya que en un primer momento se suponía que se desprendía de los ahumadores usados por los apicultores como repelentes para las abejas al momento de la cosecha, que contenían ácido fénico; pero se ha observado que apicultores que ya no usan dicho compuesto para los ahumadores seguían teniendo niveles un tanto elevados de fenol en sus mieles. Por lo tanto se comenzó a sospechar de los tambores afirmándose en su momento, que estos eran horneados a menor temperatura y tiempo del adecuado para fijar el barniz sanitario que los recubre interiormente y por lo tanto al llenarse los tambores con la Miel y una vez cerrados, el fenol que es un compuesto volátil, difundiría hacia la miel. (26,27)

4. JUSTIFICACIÓN

Se ha observado que las abejas son afectadas por diversas plagas y enfermedades, por lo cual los apicultores han pasado a depender del uso de pesticidas sintéticos y antibióticos para combatir plagas, y algunos agregan también otras sustancias para aumentar el rendimiento de producción de la miel, lo cual conduce a una contaminación en la miel, provocando que no se cumplan los estándares de calidad de la miel. Además con la reciente aprobación del tratado de libre comercio, aumentará también la comercialización de productos de origen natural y el que la miel no cumpla con los estándares de calidad, disminuye la oportunidad de competitividad de las mieles nacionales. Por ello es importante comprobar si estos contaminantes, están presentes en la miel de abeja que se puede adquirir en los establecimientos comerciales en la ciudad de Guatemala.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de impurezas en miel de abeja de marca registrada distribuida en la ciudad de Guatemala.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 5.2.1 Llevar a cabo los ensayos químicos para la identificación de antibióticos, plaguicidas, fenol y carbono 13, que son impurezas que no deben existir en la miel de abeja.
- 5.2.2 Realizar los ensayos de humedad y determinación de pureza por medios espectrofotométricos, los cuales ayudan a confirmar la presencia de algún tipo de impurezas en la miel.
- 5.2.3 Analizar los datos obtenidos, para determinar si las muestras de miel de abeja, se encuentra realmente contaminadas con alguna de las impurezas señaladas en este estudio.

6. HIPÓTESIS

Ninguna de las muestras de miel de abeja de marca registrada, recolectadas para el presente trabajo de tesis, presenta impurezas tales como antibióticos, plaguicidas, fenol y carbono 13.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Muestras de miel de abeja de marca registrada que se expenden en la ciudad de Guatemala.

7.2 MUESTRA:

Se analizaron 10 muestras, de 3 diferentes marcas registradas; haciendo un total de 30 muestras.

7.3 MEDIOS

7.3.1 Recursos Humanos

Tesista: Br. Peggi Astrid Ramírez García

Asesora: Licda. Julia Amparo García Bolaños

Personal del Laboratorio Industrial San Cristóbal

7.3.2. Recursos Materiales

7.3.2.1 Institucionales

- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

- Sección de Análisis Químico del Laboratorio Industrial San Cristóbal

7.3.2.2. Materiales

7.3.2.2.1 Equipo

- Balanza analítica
- Espectrofotómetro
- Incubadora
- Lámpara de luz ultra violeta
- Estufa
- Campana de extracción

7.3.2.2.2 Cristalería y varios

- Beakers de 50ml, 100 ml y 250 ml
- Probetas
- Cajas petri
- Pipetas volumétricas de 1ml, 2ml, 5ml y 10 ml.
- Pipetas serológicas de 1ml, 2ml, 5ml y 10 ml.
- Varillas agitadoras

- Pisetas
- Cromatoplacas
- Espátulas

7.3.2.2.3. Reactivos

- Agua
- N-propanol
- Acetona
- Ácido láctico
- Nitrato de Plata
- Amoniac
- Éter de Petróleo
- Metano
- Cloroformo
- Ácido acético
- Cloruro ferrico

7.3.2.2.4. Controles

- Estándares de almidón, azúcar, tetraciclina, sulfacetamida, clorofenicol y estreptomina, los cuales estarán al 100% de pureza, y serán proporcionados por el laboratorio industrial San Cristóbal.

7.4 PROCEDIMIENTO

7.4.1. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE AZÚCAR Y CARBONO 13

Técnica por medio de cromatografía en capa fina.

Estándares: Para la preparación de los estándares, se colocó 1 gramo de azúcar en un beacker y se disolvió con 25 ml de agua; después se colocó en otro beacker 1 g de almidón de maíz y se disolvió con 25 ml de agua.

Muestra: Para la preparación de la muestra, se colocó 1g de miel en un beacker y se disolvió con 10 ml de agua.

Fase móvil: n-propanol:acetona:ácido láctico (50:40:10)

En una cromatoplaca se colocaron 5 gotas de muestra y estándar en los puntos determinados; se corrió la cromatoplaca en la fase móvil durante 40 minutos; al finalizar la corrida se marcó con lápiz el borde al que llegó el solvente y se secó.

Revelado de la cromatoplaca:

Se roció la cromatoplaca con una solución saturada de nitrato de plata en acetona (la solución se preparó agregando gota a gota 0.5 ml de una solución saturada de nitrato de plata a 15 ml de acetona). Posteriormente se colocó la cromatoplaca en una cámara cromatográfica que contenía un beacker con amoníaco, se tapó la cámara y se dejó por 15 minutos para que el vapor del amoníaco penetre en la cromatoplaca. Después se colocó la cromatoplaca en el horno a 100 °C durante 15 minutos para que desarrollaran los colores determinados. Por último se observó la cromatoplaca con luz ultravioleta a 366 nm y se tomó el Rf. (2)

7.4.2. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS (CLORDIMEFORM)

En una ampolla de decantación se colocaron 10 gramos de miel y se añadieron 25 ml de éter de petróleo, agitando vigorosamente durante 10 minutos, se esperó la separación de fases y se decantó la fase etérea; agregando otros 25 ml de éter de petróleo a la ampolla de decantación y agitando nuevamente, se esperó la separación de fases y nuevamente se decantó la fase etérea.

Después de unir los extractos etéreos y evaporar totalmente, se redisolvió el residuo en 10 ml de alcohol 95°, para leerlo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 230 nm y obtener la gráfica. (21)

7.4.3. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS

La técnica se efectuó sobre la base de una metodología microbiológica, que consiste en la inhibición del desarrollo del *Bacillus subtilis*, por la presencia de antibióticos.

Se tomaron 10g de muestra en 25 ml de agua, colocando 7 gotas en 3 discos de papel, luego de esperar a que se secan se colocaron en una caja petri con tripticasa soya agar en donde fue sembrado el *Bacillus subtilis*, luego se incubó durante 24 horas.

Si en la caja de petri, los discos presentaban halo de inhibición, esto indicaba la presencia de antibióticos, por lo cual se continuo con una cromatografía en capa fina.

Técnica por medio de cromatografía en capa fina.

Estándares: Para la preparación de los estándares, se colocaron 10 mg de tetraciclina, 10 mg de cloramfenicol, 10 mg de sulfacetamida y 10 mg de estreptomicina cada uno en un beacker y disolvieron con 10 ml de metanol.

Muestra: Para la preparación de la muestra, se colocaron 2g de miel en un beacker y se disolvieron con 10 ml de metanol.

Fase móvil: cloroformo:metanol:ácido acético (79:14:7)

En una cromatoplaça se colocaron 5 gotas de muestra y estándares en los puntos determinados; se corrió la cromatoplaça en la fase móvil durante 30 minutos; al finalizar la corrida se marcó con lápiz el borde al que llegó el solvente y secar.

Se observó la placa bajo luz ultra violeta y se determinaron los Rf. (19,20)

7.4.4. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Se abrió la tapadera del sacarímetro y se colocó una gota de miel, cerrando la tapadera; se observó por medio del lente del sacarímetro para buscar la lectura que presenta la muestra. La lectura se determinó, estableciendo la interfase de la parte oscura y la parte clara que se observan en el lente del sacarímetro. (19)

7.4.5.DETERMINACIÓN DE FENOL

A 10 gramos de miel, se agregaron 2 ml de agua, añadiendo 1 gota de cloruro férrico, si existía fenol en la muestra se desarrollaba un color violeta en la solución. (20)

7.4.6.DETERMINACIÓN DE PUREZA POR MÉTODO ESPECTOFOTOMÉTRICO

Se disolvió 1 gramo de muestra en 10 ml de agua para leerlo en el espectrofotómetro a 260 nm. Debío producirse una gráfica característica para una miel pura. Se trató el estándar de miel de abeja pura de la misma manera que la muestra. (19)

7.5. DISEÑO ESTADÍSTICO DE LA INVESTIGACIÓN

6.5.1. Tamaño de Muestra:

Se realizó un muestreo por conveniencia no probabilístico, estableciendo un total de 30 muestras; considerando el presupuesto, la disponibilidad de las instalaciones del laboratorio San Cristóbal, las marcas disponibles, y la cantidad de supermercados en los que se tomará muestras.

6.5.2 Muestreo:

La totalidad de las muestras requeridas para el estudio se obtuvieron de diferentes supermercados distribuidos en la ciudad capital. Durante 3 semanas se visitaron 3 supermercados cada semana, elegidos en forma aleatoria; en el primer supermercado se tomaron 3 muestras de miel, cada una de diferente marca, en el segundo supermercado también se tomaron 3 muestras de diferente marca cada una, y en el tercer supermercado se tomarán 4 muestras de diferente marca cada una; haciendo un total de 10 muestras por semana.

7.6. ANÁLISIS DE DATOS

El análisis de datos para variables cualitativas (que indican presencia o ausencia de la impureza) se realizó por medio de porcentajes, tablas y gráficas. Para las variables cuantitativas se realizará por medio de promedios, tablas y gráficas.

8. RESULTADOS

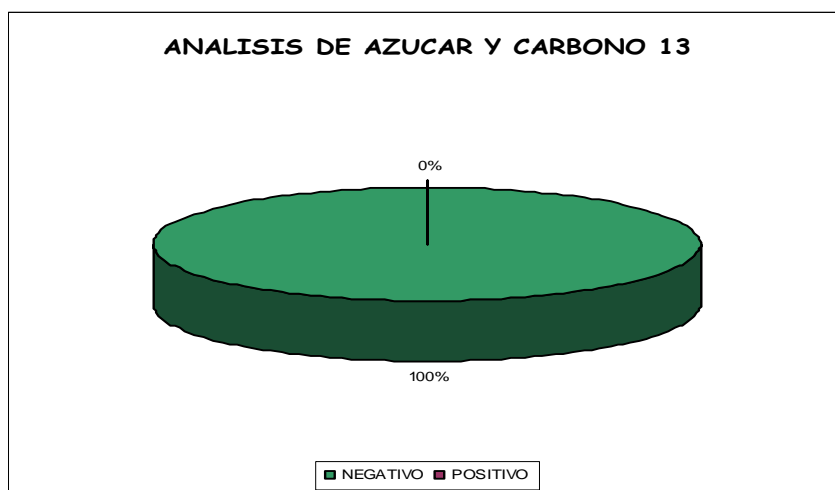
Se analizaron 10 muestras de miel, de 3 diferentes marcas comerciales; haciendo un total de 30 muestras.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

8.1. ANÁLISIS DE AZÚCAR Y CARBONO 13: Para este análisis se realizó la técnica de cromatografía en capa fina, en donde se sembró las diferentes muestras junto con un estándar de azúcar y uno de almidón (carbono 13), luego se corrió la placa con la fase móvil formada por n-propanol:acetona:ácido láctico, finalizando con el revelado de la placa, con la adición de una solución saturada de nitrato de plata en acetona. Con el revelado de las placas se obtuvo que el 100% de las muestras analizadas no mostraron la presencia de azúcar y carbono 13; los resultados se muestran en las siguientes tablas y gráficas:

MUESTRA	MARCA	RESULTADO
1	1	(-)
2		(-)
3		(-)
4		(-)
5		(-)
6		(-)
7		(-)
8		(-)
9		(-)
10		(-)
11		(-)
12		(-)
13		(-)
14		(-)
15		(-)
16		(-)
17		(-)
18		(-)
19		(-)
20		(-)
21	3	(-)
22		(-)
23		(-)
24		(-)
25		(-)
26		(-)
27		(-)
28		(-)
29		(-)
30		(-)

TABLA 8.1 Resultados de análisis de Azúcar y carbono 13

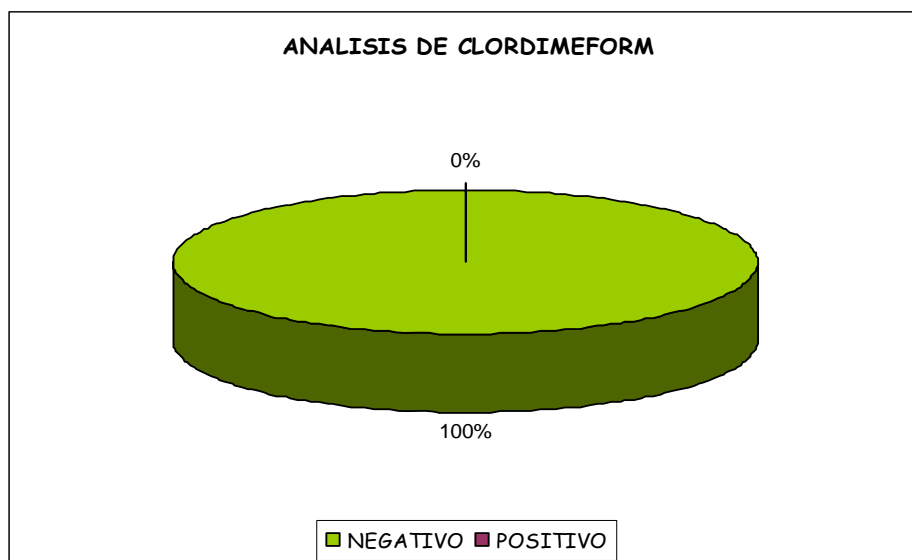


Gráfica 8.1 Resultado de análisis de azúcar y carbono 13

8.2. ANÁLISIS DE PESTICIDAS (CLORDIMEFORM): En este análisis se realizó la extracción del pesticida con éter de petróleo en una ampolla de decantación, posteriormente se evaporó la fase etérea y la muestra se redisolvió con alcohol 95° para su posterior lectura. El clordimeform lee a una longitud de onda de 230 nm, pero en todas las gráficas de cada muestra no se observó ningún pico a 230 nm, ni a otra longitud de onda, dando como resultado que el 100% de las muestras no presentaron contaminación por clordimeform. Los resultados se muestran a continuación en las siguientes tablas y gráficas:

TABLA 8.2. Resultados de análisis de clordimeform

MUESTRA	MARCA	RESULTADO	MUESTRA	MARCA	RESULTADO
1	1	(-)	21	3	(-)
2		(-)	22		(-)
3		(-)	23		(-)
4		(-)	24		(-)
5		(-)	25		(-)
6		(-)	26		(-)
7		(-)	27		(-)
8		(-)	28		(-)
9		(-)	29		(-)
10		(-)	30		(-)
11	2	(-)			
12		(-)			
13		(-)			
14		(-)			
15		(-)			
16		(-)			
17		(-)			
18		(-)			
19		(-)			
20		(-)			

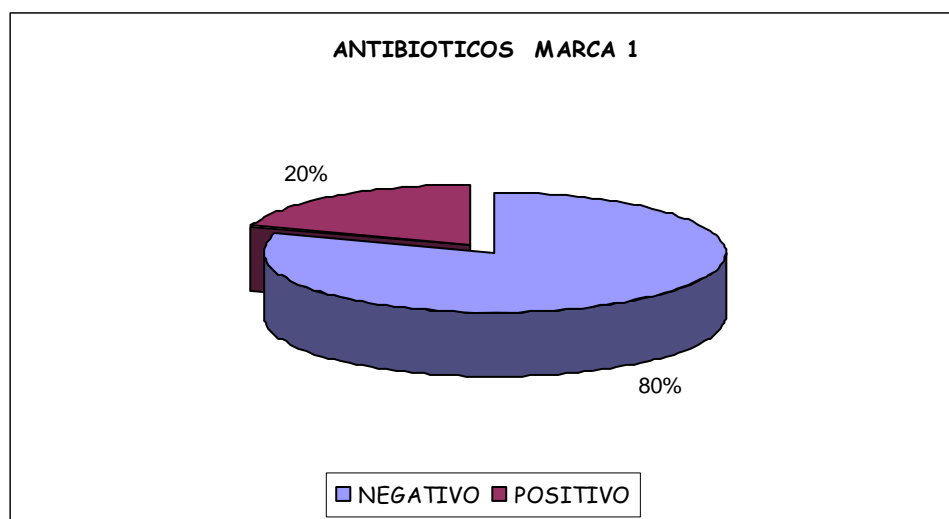


GRAFICA 8.2. Resultados de análisis de clordimeform

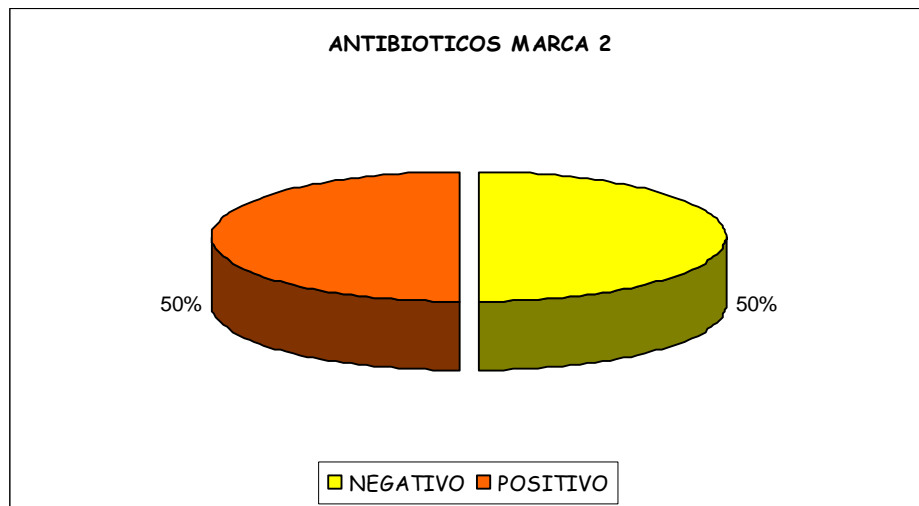
8.3. ANÁLISIS DE ANTIBIÓTICOS: La técnica se efectuó sobre la base de una metodología microbiológica, que consiste en la inhibición del desarrollo del *Bacillus subtilis*, por la presencia de antibióticos. Se colocaron las muestras en discos de papel y se sembraron en cajas petri con *Bacillus subtilis*, luego se incubaron durante 24 horas. Las muestras que presentaron halo de inhibición indicaron la presencia de antibióticos y éstas se corrieron en placa cromatográfica para identificar el antibiótico. Las muestras de las tres diferentes marcas sí presentaron antibióticos; de la marca 1 un 20% de las muestras presentaron antibióticos, siendo este identificado como estreptomicina; la marca 2 obtuvo un 50% de muestras positivas con antibióticos siendo también la estreptomicina, la marca 3 presentó un 60% de muestras positivas a estreptomicina. Es decir que del total de las muestras un 43% presentaron antibióticos, siendo éste la estreptomicina. Los resultados se muestran en las siguientes tablas y gráficas:

MUESTRA	MARCA	RESULTADO
1	1	(+) Estreptomicina
2		(-)
3		(-)
4		(-)
5		(+) Estreptomicina
6		(-)
7		(-)
8		(-)
9		(-)
10		(-)
11		(+) Estreptomicina
12		(+) Estreptomicina
13		(+) Estreptomicina
14		(+) Estreptomicina
15		(+) Estreptomicina
16		(-)
17		(-)
18		(-)
19		(-)
20		(-)
21	3	(+) Estreptomicina
22		(+) Estreptomicina
23		(+) Estreptomicina
24		(+) Estreptomicina
25		(+) Estreptomicina
26		(+) Estreptomicina
27		(-)
28		(-)
29		(-)
30		(-)

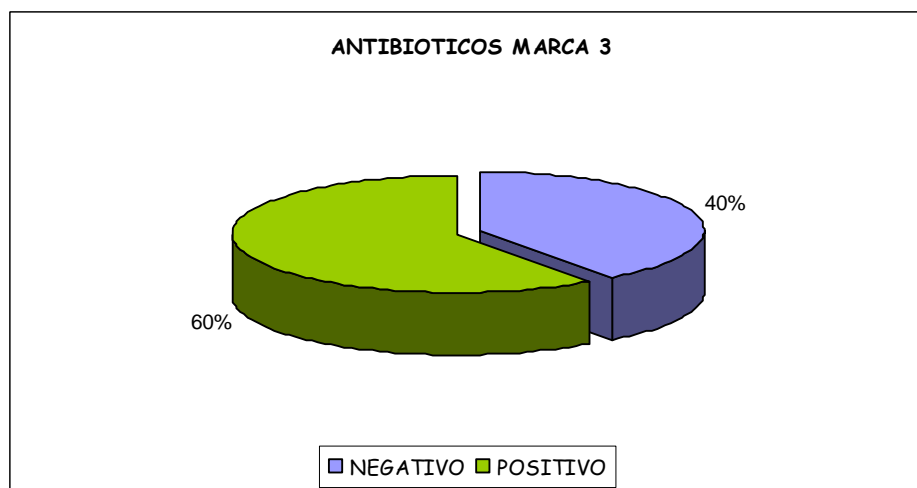
TABLA 8.3. Resultados de antibióticos



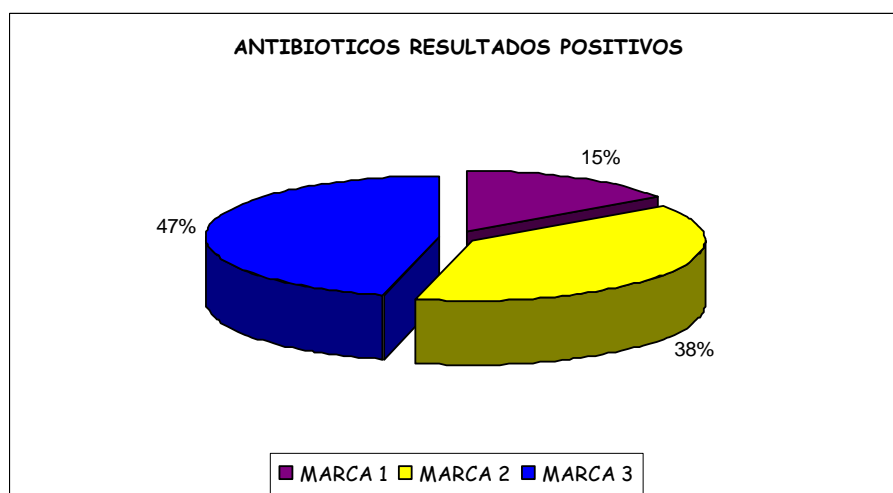
GRAFICA 8.3.1. Resultados de antibióticos Marca 1



GRAFICA 8.3.2. Resultados de antibióticos marca 2



GRAFICA 8.3.3. Resultados de antibióticos marca 3

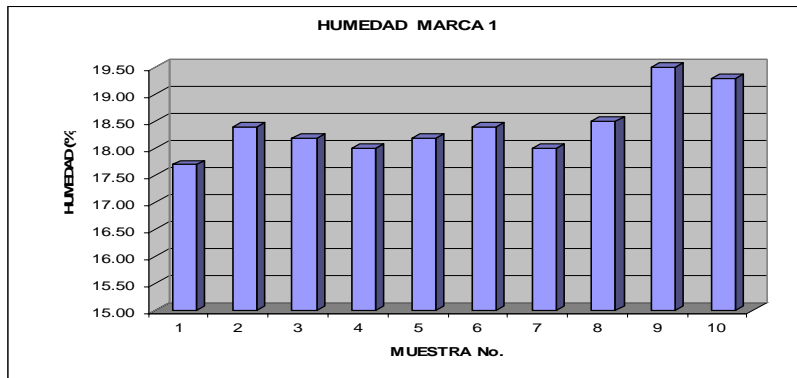


GRAFICA 8.3.4. Resultados de antibióticos positivos de las tres marcas comerciales.

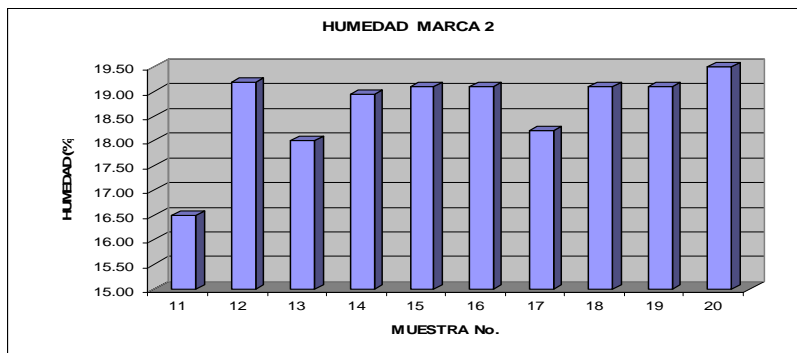
8.4. ANÁLISIS DE HUMEDAD: La humedad de cada una de las muestras fue determinada por medio de un sacarímetro. El rango de humedad en el cual deben estar las mieles según la Norma COGUANOR NGO 34 097 "Miel de abejas" es de un máximo de un máximo de 21%. La totalidad de las muestras se encontraron dentro del límite establecido, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

MUESTRA	MARCA	RESULTADO (%)
1	1	17.70
2		18.40
3		18.20
4		18.00
5		18.20
6		18.40
7		18.00
8		18.50
9		19.55
10		19.30
PROMEDIO	18.43	
11	2	16.50
12		19.20
13		18.00
14		18.95
15		19.10
16		19.10
17		18.20
18		19.10
19		19.10
20		19.50
PROMEDIO	18.68	
21	3	19.00
22		18.50
23		18.50
24		18.50
25		18.00
26		18.95
27		19.20
28		18.20
29		19.10
30		19.60
PROMEDIO	18.76	
PROMEDIO TOTAL	18.62	

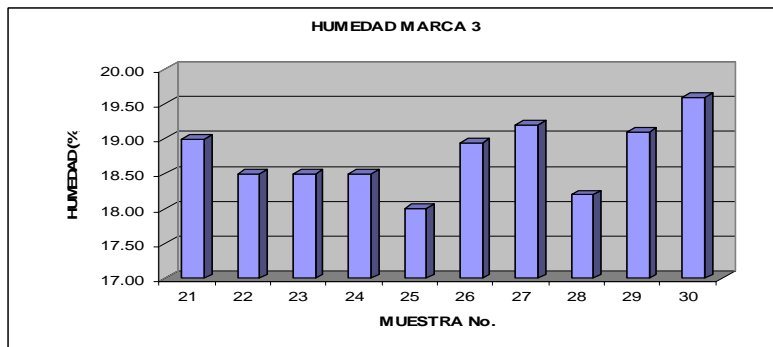
TABLA 8.4. Resultados de Humedad



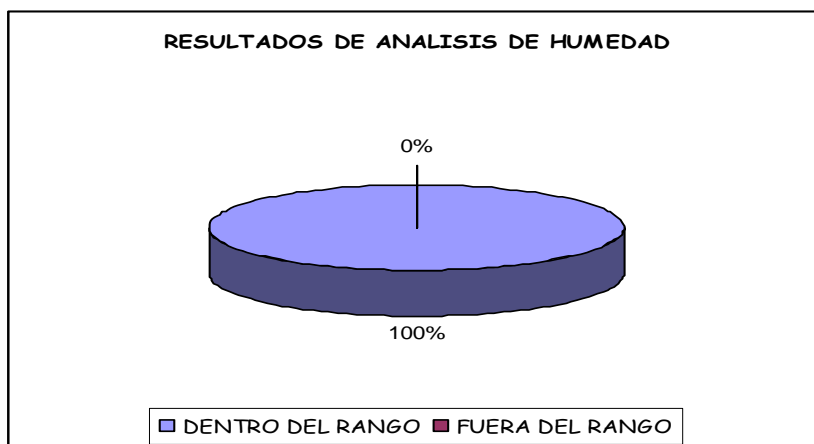
GRAFICA 8.4.1. Resultados de humedad de la marca 1



GRAFICA 8.4.2. Resultados de humedad de la marca 2



GRAFICA 8.4.3 Resultados de humedad de la marca 3

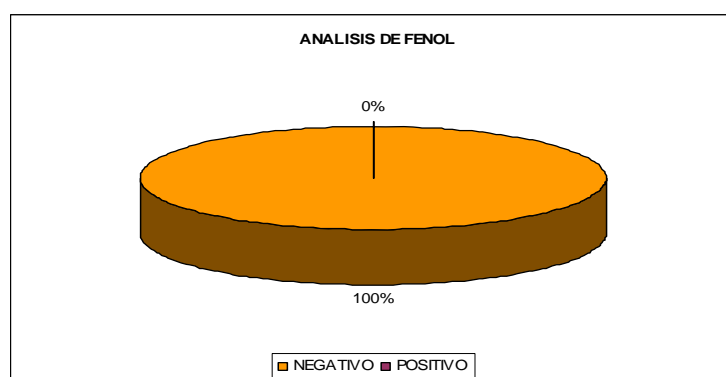


GRAFICA 8.4.5. Porcentaje de muestras que cumplen con los límites

8.5 ANÁLISIS DE FENOL: Este análisis se realizó agregando a la miel agua y cloruro férrico, si existía fenol en la muestra se desarrollaba un color violeta. Las 30 muestras analizadas no presentaron coloración violeta al agregar el reactivo, dando como resultado que el 100% de las muestras no presentaron fenol.

MUESTRA	MARCA	RESULTADO
1	1	(-)
2		(-)
3		(-)
4		(-)
5		(-)
6		(-)
7		(-)
8		(-)
9		(-)
10		(-)
11		(-)
12		(-)
13		(-)
14		(-)
15		(-)
16		(-)
17		(-)
18		(-)
19		(-)
20		(-)
21	3	(-)
22		(-)
23		(-)
24		(-)
25		(-)
26		(-)
27		(-)
28		(-)
29		(-)
30		(-)

TABLA 8.5. Resultados de análisis de fenol

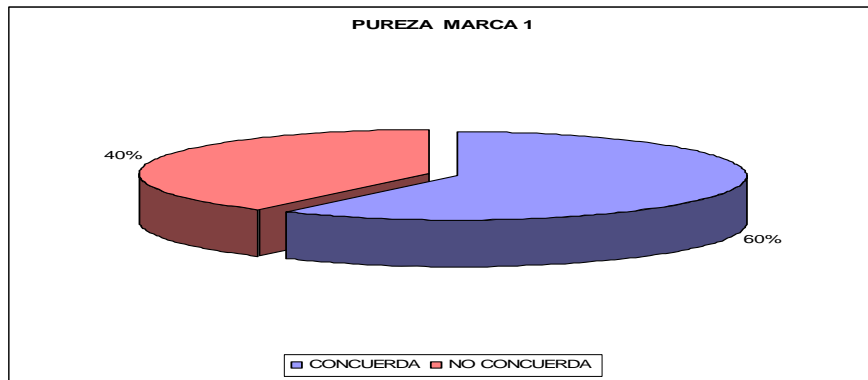


GRAFICA 8.5.1. Porcentaje de muestras con resultado positivo y negativo de análisis de fenol.

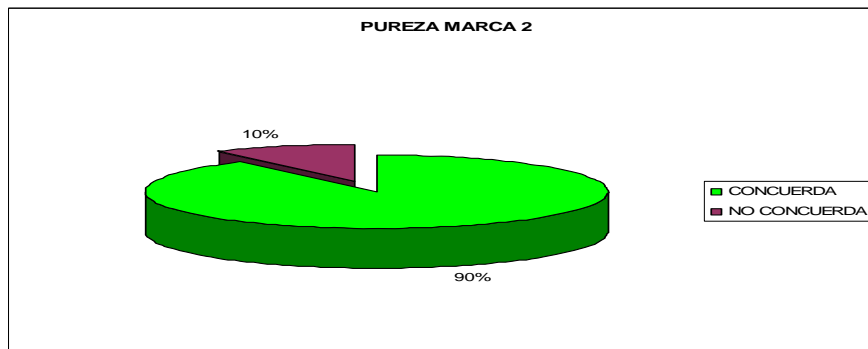
8.6 ANÁLISIS DE PUREZA POR MEDIO ESPECTOFOTOMÉTRICO: Para realizar este análisis se disolvió la muestra de miel en agua y se procedió a leerla en el espectrofotómetro a 260 nm para obtener una gráfica característica. Se utilizó un estándar de miel de abeja obtenido de un panal de abejas libre de contaminación, éste estándar fue tratado de la misma forma que la muestra, el cual sirvió como punto de comparación para la determinación de los resultados de éste análisis.

MUESTRA	MARCA	RESULTADO
1	1	(+)
2		(+)
3		(-)
4		(-)
5		(-)
6		(-)
7		(+)
8		(+)
9		(+)
10		(+)
11	2	(+)
12		(+)
13		(-)
14		(+)
15		(+)
16		(+)
17		(+)
18		(+)
19		(+)
20		(+)
21	3	(-)
22		(-)
23		(-)
24		(-)
25		(-)
26		(-)
27		(-)
28		(-)
29		(-)
30		(-)
		(+) Concuerda con el estándar
		(-) No concuerda con el estándar

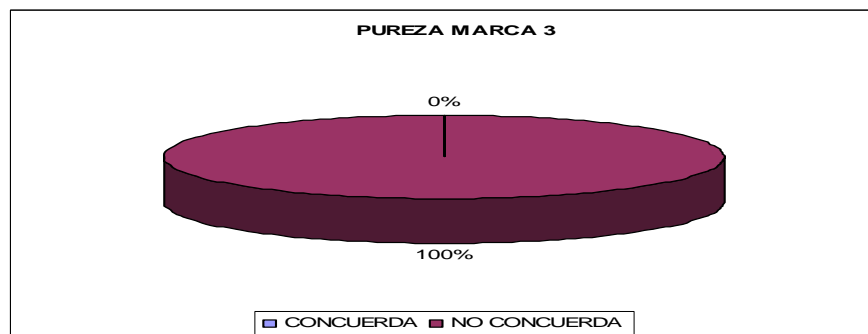
TABLA 8.6 Resultados de análisis de pureza



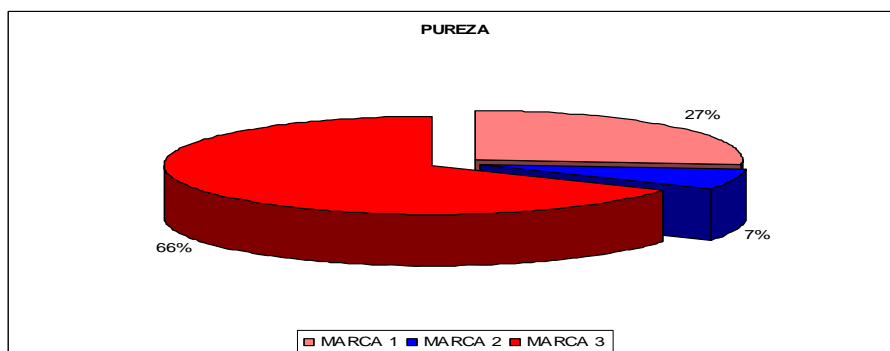
GRAFICA 8.6.1. Porcentaje de muestras de la marca 1 que concuerdan y no concuerdan con el estándar



GRAFICA 8.6.1. Porcentaje de muestras de la marca 2 que concuerdan y no concuerdan con el estándar



GRAFICA 8.6.1. Porcentaje de muestras de la marca 2 que concuerdan y no concuerdan con el estándar



GRAFICA 8.7.1. Porcentaje total de las muestras que no concuerdan con el estándar.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este estudio están referidos a varios ensayos que se realizaron para la determinación de impurezas en la miel de abeja de marca registrada, distribuida en la ciudad de Guatemala. A continuación se discute ensayo por ensayo, iniciando con el ensayo de carbono 13 (C13); para comprender cómo hoy en día resulta posible distinguir mediante un análisis de laboratorio si un azúcar proviene de una planta melífera o de un sustituto artificial (C13) se aclararan los siguientes términos: Las plantas toman el anhídrido carbónico del aire y mediante el proceso de fotosíntesis fabrican azúcares, las plantas melíferas fijan el anhídrido carbónico en compuestos de 3 átomos, denominándose plantas C3, otros grupo de plantas fijan el anhídrido carbónico en compuestos de cuatro átomos, denominándose planta C4, dentro de las cuales se encuentran el maíz y la caña de azúcar, las cuales se utilizan para una alimentación artificial de las abejas (jarabes de maíz y azúcar de caña) . La gran parte del carbono que constituye las moléculas orgánicas de los seres vivos es el denominado Carbono 12. Sin embargo, existe también en todos los cuerpos de los seres vivos una pequeña porción de átomos de carbono denominados Carbono 13. Las plantas melíferas (plantas C3) producen azúcares con una proporción Carbono13/Carbono12 menor que las plantas C4 como la caña de azúcar y el maíz. Es decir que por la determinación de carbono 13 se puede detectar la presencia de pequeñas cantidades de jarabes artificiales en la miel. El 100% de las muestras analizadas dieron resultado negativo para el análisis de carbono 13, lo que demuestra que no se han utilizado jarabes artificiales para la producción de miel, en ninguna de las tres marcas analizadas.

Los apicultores han pasado a depender del uso de plaguicidas sintéticos para combatir plagas, y esto ha conducido a problemas de contaminación para los apicultores, abejas, miel y consumidores. Los resultados obtenidos demostraron que el 100% de las muestras analizadas presentaron resultados negativos al análisis de clordimeform, determinándose así que las mieles de las tres marcas analizadas no son fuente de contaminación por pesticidas para los consumidores finales.

El uso de antibióticos se ha visto obligado por los apicultores, ya que las crías de las abejas, sobre todo en sus primeros estadios, son susceptibles de ser atacadas por bacteriosis. Son responsable de la misma el *Bacillus larvae*, es una enfermedad de las larvas que casi siempre las mata después de que han formado sus capullos y *Streptococcus plutón*, generalmente acompañado por *Bacillus alvei*, *Bacillus eurydice*, y alguna otra

bacteria que ataca las larvas cuando tienen 4 ó 5 días de edad, principalmente al inicio del verano cuando la colonia esta creciendo. La mortandad provoca severas reducciones en la población de la colmena, con las consiguientes mermas de producción o incluso la pérdida de colmenas cuando el ataque progresa. Toda la actividad del antibiótico que se utilice desaparece tras unos 2 meses en la miel, aunque concentraciones mayores son tóxicas para las abejas o bien podría ser nociva tal concentración para las personas que consumiesen miel contaminada con los mismos, o podría aparecer resistencia hacia los antibióticos utilizados. En el trabajo realizado se obtuvieron resultados positivos en las tres marcas de miel analizadas; el 20% de muestras de la marca 1 fueron positivas a estreptomicina, el 50% de las muestras de la marca 2 fueron positivas a estreptomicina y el 60% de las muestras de la marca 3 fueron positivas también a estreptomicina; lo que demuestra que los apicultores se han visto en la necesidad de utilizar este antibiótico para combatir la bacteriosis que puede atacar a sus colmenas. Este es un problema que no sólo afecta la producción de miel guatemalteca, este es un problema que afecta la miel en muchos de los países productores de ésta, ya que se han detectado antibióticos en la miel en Bélgica, España y Reino Unido. La Agencia belga de Seguridad de los Alimentos ha realizado un estudio sobre la presencia de antibióticos y sulfamidas en la miel. De acuerdo con dicho análisis se ha puesto de manifiesto que en la miel procedente del exterior (tanto de otros Estados miembro como de países terceros) 13 muestras de 25 fueron positivas a estreptomicina, 4 sobre 17 a tetraciclina, 6 sobre 17 a sulfamidas. En total, de todas las muestras analizadas solo un 35% de las mismas dieron negativo a los tres antibióticos controlados. Los científicos de la Agencia belga explican la presencia de los antibióticos por un uso inadecuado de los mismos y en el caso de la presencia de estreptomicina, en bajas concentraciones, en miel de abejas que han polinizado árboles frutales, por posibles tratamientos realizados sobre los frutales. En cuanto a este estudio, en el total de muestras positivas, el 15% pertenece a la marca 1, el 38% a la marca 2 y el 47% a la marca 3, lo que refleja que la marca 3 presentó una mayor contaminación de estreptomicina, aunque ninguna de las tres marcas debería haber presentado antibióticos y el que se hayan presentado antibióticos en la miel puede deberse a que se están utilizando dosis muy altas para tratar a las abejas, lo que hace que en el transcurso de los dos meses en que el antibiótico deja de ejercer su actividad no sea suficiente, o que los apicultores no esperan el tiempo adecuado para distribuir sus mieles.

Las normas COGUANOR NGO 34 097 para miel de abejas, establece un porcentaje máximo de humedad de 21%, por lo que el 100% de las muestras analizadas se encuentran entre los requerimientos dados por esta norma. Valores muy bajos de contenidos de humedad indican almacenamientos prolongados de la miel, donde ésta tiende a la cristalización o granulación.

El fenol es un compuesto aromático incoloro o levemente rosado cuando se encuentra como sólido cristalino, los efectos tóxicos del fenol se pueden dividir en agudos y crónicos. Los agudos son los producidos por la ingestión de una dosis muy elevada de fenol; y los crónicos, los producidos a largo plazo por la ingestión de dosis mínimas del compuesto pero de manera sostenida a lo largo del tiempo, lo cual sucede en el caso de que la miel esté contaminada con fenol. Los resultados obtenidos muestran que el 100% de las muestras, no presentaban fenol, lo que indica un riesgo bajo de intoxicación por fenol debido a la ingesta de miel.

Se realizó un análisis de pureza por medio espectro fotométrico, el cual mostraba la pureza de la miel mostrando una gráfica bien definida que presentaba su pico máximo a 260 nm; en el total de las muestras analizadas, el 27% de las muestras de la marca 1 no coincidían con el estándar de miel pura, obtenido de una colmena libre de contaminación, el 7% de las muestras de la marca 2 no coincidían con el estándar y un 66% de las muestras de la marca 3 no coincidían con el estándar. Como se observó anteriormente la marca 3 presentaba mayor porcentaje de contaminación de antibióticos, y esto se ve reflejado en las gráficas obtenidas por medio espectrofotométrico, ya que la marca 3 tuvo el mayor porcentaje de muestras que no coincidían con la gráfica del estándar puro. La marca 1 presentaba menor porcentaje de antibióticos que la marca 2, pero contrariamente la marca 1 presentó un porcentaje mayor de muestras que no concordaron con la gráfica del estándar, lo cual pudo deberse a que las muestras de la marca 1 presentaran otro tipo de impurezas que no fueron objeto de estudio en esta investigación.

9. CONCLUSIONES

De acuerdo a los análisis realizados a la miel de abeja de marca registrada distribuida en la ciudad de Guatemala se determinó que:

- 9.1. El 100% de las muestras de miel de abeja analizadas (marca 1, marca 2 y marca 3) no presentaron las impurezas de carbono 13, plaguicidas (clordimeform) y fenol cumpliendo con la norma COGUANOR para mieles ICAITI 34 0 97.
- 9.2. El 100% de las muestras de miel de abeja analizadas (marca 1, marca 2 y marca 3) se encuentran dentro del límite de 21% de humedad establecido por con la norma COGUANOR para mieles ICAITI 34 0 97.
- 9.3. Las muestras de las tres marcas analizadas presentaron la impureza de estreptomina, la presentaron en diferentes proporciones, pero aún así ninguna de las muestras debería presentarla.
- 9.4. Se analizaron 3 marcas diferentes de mieles; en términos generales se puede establecer que las tres marcas se encuentran en condiciones similares, ya que las tres marcas resultaron negativas a carbono 13, clordimeform, fenol y las tres marcas resultaron positivas a antibióticos. Mostrando esto que los diferentes apicultores guatemaltecos enfrentan los mismos problemas en el manejo de sus mieles.
- 9.5. Debido a que el 43% de las muestras analizadas, presentaron contaminación por antibióticos y gráficas indefinidas en el análisis de pureza por medio espectrofotométrico , la hipótesis propuesta no fue verdadera.

10. RECOMENDACIONES

- 10.1. Debido a que las muestras si se encontraron contaminadas con antibióticos, se recomienda, seguir determinando si la miel está siendo contaminada o adulterada con otras sustancias, como por ejemplo coumaphos (plaguicida que pertenece al grupo de los organofosforados), edulcorantes artificiales, sustancias conservadores, etc.
- 10.2. La miel de abeja es un producto 100% natural, con propiedades nutricionales y medicinales reconocidas, por lo cual es recomendable que se realice un control de calidad que incluya la determinación tanto de impurezas como de parámetros químicos y microbiológicos característicos para la miel, garantizando al consumidor la inalterabilidad de la calidad de este producto. Para esto también deben tomar acciones las autoridades de salud pertinentes, mejorando los controles para evitar la autorización de registros de alimentos que no cumplen con las especificaciones dadas.
- 10.3. Realizar investigaciones sobre el almacenamiento y transporte de la miel de abeja, que deben ser tales que conserven las características del producto al ser manipulado en condiciones apropiadas.

11. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. <http://www.diabetic-help.com/vvmiel.htm>
2. Egan Harold, Kirk Ronald, Sawyer Ronald, Análisis Químico de Alimentos de Pearson, Primera edición en español, Compañía editorial continental, 1987, 574p.
3. <http://www.vegansociety.com>
4. *Council Directive* of 22 July 1974 on the harmonization of the laws of the Member States relating to honey, 74/409/EEC, Official Journal of the European Communities, No L 221/14 1974.
5. *Codex Alimentarius Standard for Honey*, Ref. Nr. CL 1993/14-SH FAO and WHO, Rome 1993.
6. *Proposal for a Directive of the European Council relating to honey*, EU document 96/0114, 1996.
7. *Codex Alimentarius draft revised for honey at step 6 of the Codex Procedure*. CX 5/10.2, CL 1998/12-S 1998.
8. *Swiss Food Manual*, (Schweizerisches Lebensmittelbuch) Chapter 23 A: Honey. Eidg. Drucksachen und Materialzentrale, Bern 1995.
9. Bogdanov S., Martin P. and Lüllmann C.: Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie* (extra issue) 1-59 (1997).
10. Bogdanov, S. et al. Honey Quality and International Regulatory Standards: Review of the Work of the International Honey Commission. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.*, 90, in press.
11. <http://www.estarinformado.com.ar/apicola/contaminacion.htm>
12. <http://www.mtas.es/insht/ipcsnspn/nspn0124.htm>
13. Harvey, Stewart, C.1990. Agentes farmacéuticos y medicinales, drogas antimicrobianas. tema 64, pag., 1637-1639.
14. Litter. 1988. Antibióticos de amplio espectro, tetraciclinas, cloranfenicol, macrólidos. En *Farmacología Experimental y clínica*. London.

15. Bianchi, Eduardo Mario. 1995. Determinación de plomo en la miel. Centro de Investigaciones Apícolas, CEDIA. Santiago del Estero.
16. Bailey, Leslie. 1983. Honey Bee Pathology. Academic Press Inc. London.
17. http://www.beekeeping.com/articulos/mieles_parque_chaqueno.htm
18. http://www.beekeeping.com/abeille-de-france/articles/informe_grupo_permanente_apicultura.htm
19. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. Tomo II, William Horwitz, Washington 1999.
20. Farmacopea de los Estados Unidos USP XXVII
21. Manual of chemical methods for pesticides and devices. US environmental protection agency. Office of pesticide programs chemical and biological investigations Branco Bestville, MD. August 1998.
22. Trujillo Lam, Kimy Araceli. Evaluación de la calidad de la miel de abeja con marca registrada en la ciudad de Guatemala. Julio 1993. 40 pp.
23. Root A.I. ABC y XYZ de la apicultura, enciclopedia de la cría científica y práctica de las abejas. Novena edición. Librería Hachete S.A. 670p.
24. Norma de la Comisión Guatemalteca de Normas COGUANOR NGO 34 097 "Miel de abejas. Especificaciones" (Mayo 1991)
25. <http://www.todomiel.com.ar/noticias/noticias2.htm>
26. Esquema A de la norma IRAM 6045, Octubre de 1999.
27. Boletín del Colmenar, Publicación de SADA, Año 5 n° 38 (2000) 29.
28. Un negocio desabrido. Artículo de prensa libre, Guatemala, sábado 15 de enero de 2005.