



# A la caza de los enemigos de la miel

Gloria Montenegro  
Enrique Mejías / egmejias@uc.cl  
Departamento de Ciencias Vegetales

En los últimos años, el uso de productos destinados al control de plagas y enfermedades en los cultivos, ha generado la exposición continua de los consumidores a estos compuestos que pueden ser tóxicos a elevadas concentraciones. La miel no se libra de ellos. Es por eso que se está desarrollando una línea de investigación que ha logrado validar diversos métodos que permiten detectar con una alta precisión y exactitud la presencia de contaminantes como metales y antibióticos.

La miel se define como una sustancia natural dulce producida por las abejas (*Apis mellifera*) a partir del néctar de las flores y/o de secreciones vivas de la planta. La abeja las recoge, transforma y combina con sustancias específicas propias, las que luego son depositadas y almacenadas en el panal hasta su maduración.

La composición química de la miel corresponde en su mayoría a azúcares (sobre 75%); no obstante, también es posible encontrar en cantidades menores diversos oligoelementos, micronutrientes, vitaminas y aminoácidos. Gracias a estos componentes, la miel es considerada un alimento funcional con un bajo aporte calórico aproximado de 3,3 cal/g.

Por otra parte, un factor fundamental a considerar en la caracterización de cualquier miel es el origen botánico, debido a que esto determina si una miel es monofloral o polifloral. De esta manera, mediante análisis melisopalinológico, cuando una miel posee una cantidad igual o superior a 45% de granos de polen pertenecientes a una misma especie vegetal, se clasifica como miel monofloral, mientras que es posible hablar de miel polifloral cuando no existe predominancia superior a este porcentaje de los granos de polen presentes en el contenido de aquella miel.

La miel puede heredar las propiedades de las plantas que son responsables de su origen botánico. Entre las moléculas responsables de tales atributos se encuentran los compuestos fenólicos y flavonoides sintetizados como metabolitos secundarios en las plantas y que son traspasados a su contenido.

La presencia de contaminantes en una miel afecta su composición y altera la efectividad de sus propiedades biológicas naturales. El cumplimiento de la normativa vigente que asegure la inocuidad de la miel como alimento funcional para la salud de los consumidores determina la necesidad de analizar y certificar la presencia de metales pesados, plaguicidas o antibióticos de uso veterinario, entre otros.

## Contaminantes

La contaminación puede llegar a la colmena y, por consiguiente, pasar al contenido de la miel que allí se produce, mediante diferentes vías. En el caso de la contaminación por metales y plaguicidas, si una colmena se encuentra ubicada en una zona donde existe contaminación de aire, suelos y agua, es probable que debido a factores ambientales estos se depositen directamente en la colmena con-

taminando sus productos apícolas. De igual modo, una segunda vía de entrada de estos elementos a la miel puede ser de forma indirecta, a través de la contaminación de estructuras de la planta que entran en contacto con las abejas y, finalmente, estas últimas actuarían como vectores transportando la contaminación hacia la colmena. En cualquiera de los casos anteriores, la miel mostrará contenidos indeseados de metales y sus propiedades biológicas (si las tiene) se verán modificadas a causa de esto.

Para el caso de los antibióticos, la vía de contaminación es más bien directa y ocurre por aplicación de estos fármacos como tratamiento para combatir ciertas enfermedades bacterianas que afectan a las abejas.

Un aspecto importante a considerar es que la presencia de contaminantes en la miel no tiene relación con el origen botánico. Es decir, no importa cuál sea el origen botánico de una miel, si existe una fuente de contaminación próxima a la colmena donde fue producida, esta se contaminará de igual modo.

## Métodos analíticos

La determinación de contaminantes en matrices de alimentos como la miel, es un proceso complejo de varias etapas.

El primer paso consiste en la extracción de los contaminantes desde la miel. En el caso del análisis del contenido de metales, la muestra debe ser deshidratada y luego sometida a un proceso de digestión mediada por ácidos inorgánicos, que permite destruir la materia orgánica de la miel. En seguida, el residuo que se obtiene al finalizar este proceso debe ser resuspendido hasta generar una solución con la que se puede determinar los metales en un equipo adecuado (Equipo de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente ICP-OES).

Para el caso de los pesticidas y antibióticos, las muestras deben ser sometidas a un proceso de extracción en fase sólida, en donde dichos compuestos deben ser aislados y purificados del resto de los constituyentes de la miel. Una vez aisla-

dos, estos deben ser colectados y analizados mediante Cromatografía Líquida asociada a detector de masa o equivalente.

## Resultados experimentales

### Contaminación con metales

Estudios realizados sobre muestras de miel y polen producidos en las cercanías del volcán Llaima mostraron una tendencia a presentar contenidos elevados de metales, los que están relacionados con las erupciones registradas del volcán durante los últimos años. La presencia de estos metales altera la composición original de estos productos apícolas comparados con las muestras controles utilizadas, pero además se detectaron cambios en la propiedad antioxidante de las mieles, los que fueron atribuidos a la presencia de estos contaminantes. Los resultados obtenidos mostraron que las mieles provenientes de las zonas próximas al volcán presentaban actividades antioxidantes disminuidas. En ninguna de las muestras estudiadas se detectaron niveles de metales mayores a los LMR permitidos (Tabla 1).

En la misma línea de investigación, se fortificaron con cantidades crecientes de metales (Pb, Cd y Cr) muestras de polen de las mismas colmenas y se obtuvieron los perfiles de compuestos fenólicos mediante electroforesis capilar. Los resultados mostraron que a medida que aumenta la concentración

de metales, los perfiles se modifican fuertemente, reforzando la hipótesis propuesta que relaciona la presencia de estos contaminantes con los cambios observados en la disminución de la efectividad de la capacidad antioxidante de estos pólenes (Gráfico 1).

### Presencia de antibióticos

Un estudio similar se llevó a cabo sobre muestras monoflorales de miel de Tevo con el fin de establecer el efecto de la presencia de tetraciclina sobre el perfil de compuestos fenólicos obtenidos por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (UPLC).

El procedimiento experimental consistió en la obtención de un extracto a partir de la miel de Tevo. Este extracto se dividió en cuatro muestras equivalentes. La muestra 1 "extracto de Tevo" (Fig. 1) no fue fortificada. Los extractos 1, 2 y 3 fueron fortificados con cantidades crecientes de tetraciclina (Fig. 2, 3 y 4).

Luego de la fortificación, los extractos fueron almacenados a 15°C por 36 horas. En seguida, la muestra control (extracto de tevo) y las muestras fortificadas fueron analizadas por UPLC.

Los resultados se muestran en las figuras 1, 2, 3 y 4.

Los cromatogramas obtenidos muestran un cambio importante en el perfil de compuestos fenólicos que se relaciona con el incremento de tetraciclina adicionada.

TABLA 1. Contenido de Fenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antirradicalaria de Mieles y Pólenes Apícolas producidos en las cercanías del Volcán Llaima

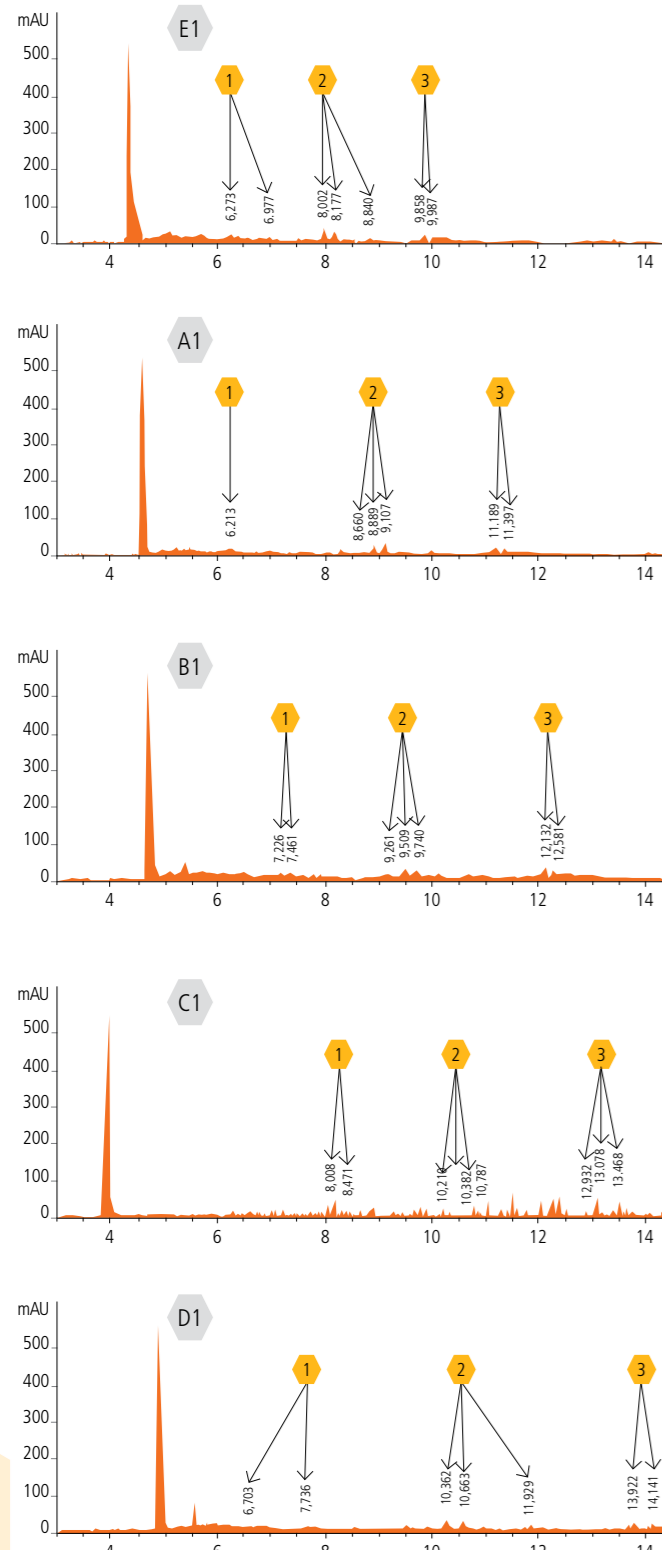
MATRIZ	ZONA	COMPUESTOS FENÓLICOS (eq/kg) SD	FRAP (*) (eq/g) SD	DPPH (**) (eq/g) SD
MIEL	LLAIMA	1,093 (47)	0,260 (0.015)	1,97 (0.57)
	CONTROL	1,703(30) a	0,424 (0,001) b	4,55 (0.06) c
POLEN DE LOTUS	LLAIMA	504 (41)	67,8 (1.3)	112,1 (4.7)
	CONTROL	760 (10) a	82,9 (0.6) b	139,3 (2.1) c
POLEN DE ESCALONIA	LLAIMA	1,249 (15)	69,5 (0.9)	119,9 (1.9)
	CONTROL	1,679 (7.4) a	90,3 (0.9) b	140,3 (2.2) c

a,b,c muestran diferencias significativas para la comparación de medias para cada matriz en la misma columna de acuerdo al Test de Tukey ( $p < 0.05$ ).

El contenido de compuestos fenólicos es expresado como los mg equivalentes de ácido gálico/kg de muestra. FRAP (\*): los valores son expresados como los mM equivalentes de Fe +2/g de muestra. DPPH (\*\*): los valores son expresados como ug equivalentes de ácido ascórbico/ g de muestra.

DPPH: radical 1,1-difenil-2-picril hidrazilo; FRAP: poder reductor/antioxidante del ion férrico; SD: desviación estándar.

GRÁFICO 1. Electroferogramas de las muestras de polen producido en el Volcán Llama (Escallonia) fortificadas con alicuotas de MRC de Pd, Cr y Cd.



Nota I: E1: Muestra de polen sin fortificar – A1, B1, C1 y D1: Muestras fortificadas con Pb, Cd y Cr de acuerdo al siguiente orden A1 < B1 < C1 < D1.  
 Nota II: 1: Naringenina; Rutina. 2: A. p-Cumárico; A. Ferúlico. 3: A. Cafeico; A. Gálico.



**Qué es un plaguicida**

De acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2013), un plaguicida se define como: "Cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. Se incluyen reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación y preservantes". La Unión Europea prohíbe el uso de aquellos que no hayan sido probados científicamente en los siguientes términos:

- Demostrar los verdaderos efectos que pueden provocar en los consumidores o en las personas encargadas de su manipulación en el campo.
- Deben ser productos amigables con el medio ambiente.
- Deben ser suficientemente eficaces a bajas concentraciones.

**Buen uso de los pesticidas**

Debido a que el uso de plaguicidas existe, es necesario establecer criterios adecuados para su buen uso. Por tal motivo, la comisión del CODEX ALIMENTARIUS establecida por la FAO y por la Organización Mundial de la Salud (OMS), define el concepto de "Buenas Prácticas Agrícolas en el uso de Pesticidas (BPA)" como: "Los usos inocuos de plaguicidas autorizados en un país en las condiciones necesarias actualmente para realizar el control eficaz y fiable de las plagas. Comprende una gama de niveles de aplicación de plaguicidas hasta la concentración de uso autorizado más elevada, aplicada de forma que quede la concentración mínima posible del residuo. Los usos inocuos autorizados se determinan a nivel nacional y previenen usos registrados o recomendados en el país que tienen en cuenta las consideraciones de salud pública y profesional, y la seguridad del medio ambiente. Las condiciones concretas comprenden cualquier etapa de la producción, el almacenamiento, el transporte, la distribución y la elaboración de productos de alimentación".

**Las características de los residuos**

Según la FAO, un residuo de plaguicida corresponde a: "Cualquier sustancia especificada presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. El término incluye cualquier derivado de un plaguicida, tales como productos de conversión, metabolitos, productos de reacción o las impurezas que se considera que tienen una importancia toxicológica". La presencia de estos residuos debe ser segura para los consumidores y debe ser la más baja posible. Por esta razón, los plaguicidas poseen Límites Máximos de Residuos (LMR), que determinan la cantidad máxima legalmente tolerada en los alimentos. Esta concentración debe ser expresada en mg/K y se establece como la máxima cantidad de un residuo presente en la superficie o en la parte interna de los productos alimenticios para consumo humano. Cuando se establece un LMR, debe además ser considerada la existencia de residuos de plaguicidas cuya procedencia es de origen ambiental, en donde es necesario incluir como factores causales los usos agrícolas anteriores. Estos plaguicidas poseen una función distinta del plaguicida o contaminante, directa o indirectamente, presente en los productos alimenticios. De esta forma, cuando se debe analizar un producto alimenticio en términos de los contaminantes que pueden estar presentes, también es necesario considerar los Límites Máximos de Residuos Extraños (LMRE).

**La ingesta diaria admisible**

En el establecimiento de los LMR y LMRE deben ser considerados otros aspectos relacionados con el grado de toxicidad que pueden alcanzar los compuestos presentes en alimentos como residuos de plaguicidas o contaminantes. Entre tales parámetros es posible

mencionar la Dosis o Ingesta Diaria Admisble (IDA). Esta dosis se refiere a la ingesta permanente de un compuesto sin provocar un riesgo aparente para la salud de los consumidores. Asimismo, la Dosis Aguda de Referencia ARfD (Acute Reference Dose), permite determinar la cantidad de un compuesto que al ser ingerido por una única vez puede resultar tóxico. Esta dosis se expresa en mg/K de peso corporal. A partir de las cantidades referenciales obtenidas tanto para la IDA como para la ARfD, se definirán los LMR para un determinado residuo. De esta forma, las concentraciones propuestas para un LMR son extremadamente bajas asegurando la inocuidad de los alimentos que eventualmente pudiesen contener tales compuestos. En la actualidad, la existencia de LMR para un alto número de residuos y contaminantes obliga a realizar estrictos controles de calidad que incluyen diversos análisis de laboratorio que permiten asegurar el cumplimiento de las normas nacionales e internacionales. La producción de alimentos que no respete la normativa vigente, expone al productor a serias sanciones económicas y legales dañando en última instancia la imagen del país.

**Normativa en Chile**

El CODEX ALIMENTARIUS de la FAO y OMS es la institución principal encargada de establecer LMR y LMRE en las distintas matrices de alimentos. No obstante, la producción permanente de nuevas formulaciones y compuestos destinados al control de enfermedades y plagas, ha llevado a que tanto Estados Unidos (Agencia de Protección Ambiental EPA) como la Unión Europea (Parlamento Europeo y del Consejo) establezcan sus propias normativas.



**Es necesario establecer criterios adecuados para el buen uso de pesticidas. Por tal motivo, la comisión del CODEX ALIMENTARIUS establecida por la FAO y por la OMS definió las "Buenas Prácticas Agrícolas en el uso de Pesticidas".**

En Chile, la Resolución Exenta 33 del 22 de enero de 2010 corresponde a la normativa vigente y proviene de la División de Políticas Públicas, Saludables y Promoción de la Subsecretaría de Salud Pública del Ministerio de Salud. En este documento, aparece una lista con LMR para 105 plaguicidas y LMRE para aldrin y dieldrin, clordano, DDT, endrin y heptacloro. Sin embargo, se debe considerar que aquellos plaguicidas de uso agrícola en Chile deben ser previamente autorizados por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). Es importante notar que esta norma no es aplicable a la comercialización de productos de exportación, en donde se debe considerar la normativa vigente del país de destino.

FIGURA 1. Extracto de miel de TEVO (Sin contenido de tetraciclina)

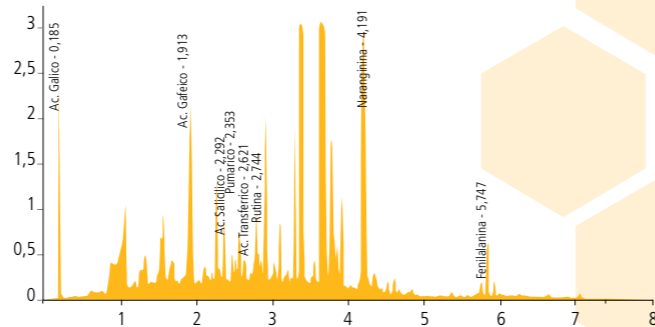


FIGURA 2. Extracto 1 (+5 ug/mL tetraciclina)

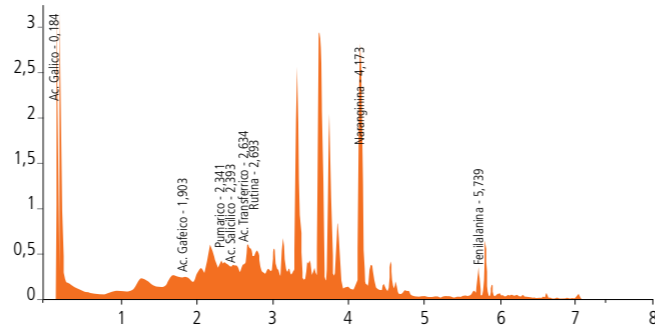


FIGURA 3. Extracto 2 (+10 ug/mL tetraciclina)

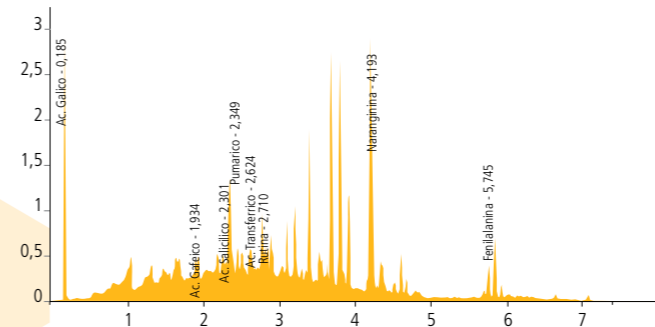
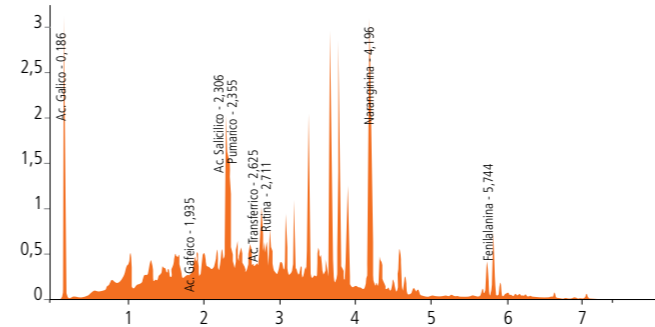


FIGURA 4. Extracto 3 (+15 ug/mL tetraciclina)



AGRADECIMIENTOS  
 Financiado por Proyectos: VRI/INICIO 16/2013 al Dr. Enrique Mejías y FIC-R IDI 30126395 a la Profesora Gloria Montenegro.

Estos resultados sugieren que la presencia de este antibiótico es capaz de modificar el perfil de compuestos fenólicos generando un efecto similar al provocado por la presencia de metales. Los datos obtenidos para la actividad antioxidante también mostraron una tendencia a la disminución a medida que la concentración de antibiótico aumentaba.

**La inocuidad como prioridad**

La detección de contaminantes en la miel debe ser un parámetro de calidad constantemente monitoreado, con el fin de asegurar la inocuidad de este alimento.

En el mismo contexto, la existencia de rigurosas normativas nacionales e internacionales que protegen la salud de los consumidores obliga a los apicultores a seguir las recomendaciones en el uso de productos y aditivos.

Nuestra línea de investigación ha logrado validar diversos métodos que permiten detectar con una alta precisión y exactitud la presencia de contaminantes como metales y antibióticos. En la actualidad, estamos desarrollando nuevos métodos que nos permitirán en un futuro cercano realizar análisis de pesticidas y aumentar la lista de antibióticos susceptibles de ser detectados con el equipamiento disponible.

La disponibilidad de equipos de última generación con alta sensibilidad junto con la posibilidad de analizar muestras producidas en distintas regiones de Chile, nos permitirá contribuir a la certificación de la inocuidad de las mieles producidas en el país favoreciendo el aumento del valor agregado y con ello la calidad del producto obtenido.