



AgEcon SEARCH
RESEARCH IN AGRICULTURAL & APPLIED ECONOMICS

The World's Largest Open Access Agricultural & Applied Economics Digital Library

This document is discoverable and free to researchers across the globe due to the work of AgEcon Search.

Help ensure our sustainability.

Give to AgEcon Search

AgEcon Search

<http://ageconsearch.umn.edu>

aesearch@umn.edu

*Papers downloaded from **AgEcon Search** may be used for non-commercial purposes and personal study only. No other use, including posting to another Internet site, is permitted without permission from the copyright owner (not AgEcon Search), or as allowed under the provisions of Fair Use, U.S. Copyright Act, Title 17 U.S.C.*

PERMANENCIA DE ANTIBIOTICOS EN LA MIEL DE TAHONAL (*Viguiera dentata*) Y SU IMPACTO EN ALGUNOS FACTORES DE CALIDAD

Sara González Novelo¹, Jorge Tamayo Cortez²,
Lourdes Vargas y Vargas³, Enrique Sauri Duch³

Antibiotics permanence in Tahonal honey (*viguiera dentata*) and its impact in some quality factors

ABSTRACT

Beekeeping is an activity of great socioeconomic importance in Mexico, since 80% of beekeepers are resource-poor farmers; it is among the top three of the livestock subsector and is a source of foreign exchange activity, over the 80% of the production from 59.00 tons approximately, is exported. Mexican Honey is widely known for its high quality, however, due to improper use of certain medications such as antibiotics and sulfa drugs, used to control bee diseases, may become contaminated resulting in quality problems that limit international marketing, leading to the rejection of shipments of honey. International quality standards are becoming more demanding with regard to the residual concentration of these compounds in high-quality honey. The aim of this study is to evaluate the effect of time and storage temperature on the degradation of antibiotics in honey.

Key words: honey, tahonal, tetracycline.

RESUMEN

La apicultura es una actividad de gran importancia socioeconómica en México, ya que el 80 % de los apicultores son campesinos de escasos recursos, se encuentra entre los tres primeros lugares del subsector pecuario y es una actividad generadora de divisas, pues más del 80 % de la producción, de alrededor de 59,00 toneladas, se destina a la exportación. La miel mexicana es ampliamente conocida por su alta calidad, sin embargo, debido al uso inadecuado de algunos medicamentos como antibióticos y sulfas, utilizados para el control de algunas enfermedades de las abejas, es posible que se contamine dando lugar a problemas de calidad que limitan su comercialización internacional, dando lugar al rechazo de embarques de miel. Las normas internacionales de calidad cada vez son más exigente con relación a la concentración residual de estos compuestos en la miel de alta calidad. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto del tiempo y la temperatura de almacenamiento sobre la degradación de antibióticos en la miel de abeja.

Palabras clave: miel, tahonal, tetraciclina.

INTRODUCCIÓN

La miel es aquella sustancia dulce natural producida por las abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones de otras partes vivas de la planta, que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan en panales, de los cuales se extrae el producto sin ninguna adición (Anónimo, 1984).

¹Profesor del Departamento de Ing. Química-Bioquímica del Tecnológico de Mérida.

²Profesor Investigador del Postgrado en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología del Tecnológico de Mérida.

³Profesor del Departamento de Ing. Química- Bioquímica del Tecnológico de Mérida.

⁴Profesor Investigador del Postgrado en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología del Tecnológico de Mérida.

La composición, el aspecto, el sabor, el color, etc. varían mucho dependiendo de las flores que proviene, de su origen, de la región y de su madurez.

La miel de tahonal pertenece a la familia de las compuestas es una hierba que se produce anualmente, originaria de México y sur de E.U.A., crece en ambientes de vegetación secundarias, en selvas bajas y medianas puede alcanzar 2,5 m de cumbre y florece de diciembre a febrero. La aparición de las flores amarillas del tahonal señala el principio de la temporada melífera, que puede implicar hasta tres cosechas. El tahonal da una miel que cristaliza rápidamente: por eso es poco apreciado por el consumidor mexicano, que busca una miel líquida y asimila la miel cristalizada a azúcar. Por el contrario, por su fina cristalización, la miel de tahonal conviene bien al mercado europeo, donde constituye la miel mexicana de preferencia, bajo el nombre de miel Yucatán. Su color café oscuro y el olor fuerte a miel son otras características organolépticas que distinguen a este tipo de miel. (Aguilar, 1998).

Por otro lado la apicultura en México es una actividad generadora de divisas y está constituida como una importante industria a nivel nacional, al ubicarse en los tres primeros lugares del subsector pecuario; además de que a nivel social es de gran importancia, y además el 80 por ciento de los apicultores son campesinos de escasos recursos. México aumentó en un 26.5 por ciento sus exportaciones de miel en Europa en el 2004, al pasar de 12 mil 530 toneladas a 15 mil 850 toneladas, con lo que se ubica como el tercer proveedor de miel en esa región del mundo, después de Argentina y Brasil. (Anónimo A, 2005).

La miel mexicana es un producto de alta calidad y muy apreciado en Europa por sus propiedades nutricionales, así como por su aroma, sabor y color, sin embargo, la presencia del ácaro *Varroa destructor* (antes considerado como *Varroa jacobsoni* Oud.), ha incrementado el uso indiscriminado de acaricidas y antibióticos que dejan residuos, provocando con esto que los embarques de miel sean rechazados. (Güemes, 2001).

Las principales enfermedades que han sufrido las abejas en la península de Yucatán son la Loque Americana, la Loque Europea y hongos, las cuales han sido controladas con la aplicación de algunos medicamentos principalmente antibióticos y sulfas (Cajero, 1995).

Con la finalidad de poder prevenir y controlar estas enfermedades, los apicultores utilizan una serie de tratamientos con antibióticos y otros productos químicos plaguicidas; que pueden dar lugar a la contaminación de la miel si no se utilizan en los momentos y bajo las condiciones adecuadas. Asimismo, varios de los medicamentos utilizados para el control y el tratamiento de todas estas enfermedades, una vez que se aplican y pasan a la miel y a los otros productos de la colmena, con el transcurso del tiempo disminuyen su concentración, pero se transforman en otros productos diferentes que resultan de la degradación de los compuestos aplicados. Por esta razón, en la miel pueden aparecer residuos del propio medicamento y de sus productos de degradación (Berron, 1999). En este sentido, la determinación de estos compuestos son complicados, pues se requieren métodos analíticos bastante sofisticados, para poder detectarlos en las cantidades tan pequeñas en las que se encuentran en la miel, que son del orden de parte por billón (ppb) y partes por millón (ppm). (Berron, 1999). Por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del tiempo y la temperatura sobre la degradación de antibióticos en la miel de abeja.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: El estudio se realizó con miel de tahonal (*viguiera dentata*) de reciente cosecha obtenida de la Sociedad de Solidaridad Social de RL (Apícola Maya de Yucatán), ubicada en la ciudad de Mérida Yucatán, la miel fue transportada en frascos de vidrio para su estudio, hasta el laboratorio de Alimentos de la División de Estudios de Postgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Mérida.

Estándares: Se utilizaron estándares de antibióticos de alta pureza obtenidos de la empresa HELM de México, sulfatiazol y tetraciclina, los cuales se prepararon a concentraciones de 10 y 50 ppm.

Equipo: Cromatógrafo de líquidos de alta resolución, (HPLC) marca Beckman modelo System Gold con detector ultravioleta-visible (UV-Vis) con arreglos de diodos, con una columna Econosphere C 18 de 5, 25 cm, válvula automática para la inyección, con un loop de muestreo de 20 l, (figura 7).

METODOLOGÍA

Para evaluar el efecto de la temperatura sobre la velocidad de degradación de los antibióticos se contaminó un kilo de miel de tahonal con dos concentraciones de una mezcla de tetraciclina y sulfatiazol (10, 50 ppm), las cuales se almacenaron a 2 temperaturas 26 y 45 °C (± 2 °C). Para lo cual se tomaron muestras representativas durante 120 días. Cada tratamiento se realizó por duplicado se analizaron las principales características fisicoquímicas como HMF, humedad, sólidos solubles totales (°Brix) y determinación de antibióticos por CLAR, en intervalos de tiempo de 0, 15, 60 y 120 días.

Hidroximetilfurfural: El contenido de hidroximetilfurfural (HMF), se determinó siguiendo el método espectrofotométrico propuesto por Winkler (1955), basado en su reacción con ácido barbitúrico y p-toluidina. Leyendo la absorbancia a 550 nm en un espectrofotómetro Bausch & Lomb. Los resultados se expresaron en mg/100 gr. de muestra.

Humedad: Se determinó el índice de refracción, en un refractómetro de laboratorio tipo Abbe modelo RX-5000. Los resultados se expresaron en porcentaje de humedad, utilizando la tabla de Chataway que relaciona el índice de refracción con la humedad, tomando el promedio de las tres lecturas.

Sólidos solubles totales (°Brix): Se determinó de forma directa colocando una gota de miel, en un refractómetro de laboratorio tipo Abbe modelo RX-5000. Los resultados se expresaron como °Brix.

Determinación de antibióticos por HPLC

Tetraciclina.- La miel contaminada con antibióticos en cantidades conocidas fue preparada siguiendo el procedimiento descrito González, (2002).

Se preparó una mezcla patrón de antibióticos con concentraciones dadas y a partir de esta mezcla se enriquecieron 5 g de miel agregándoles 5 ml. de las soluciones preparadas se indican en la tabla 1. Adicionalmente se preparo una mezcla de diclorometano/metanol (1:1) de la cual se tomaron 60 ml. y se le adicionó a cada una de las muestras agitando la mezcla vigorosamente. Seguidamente con la finalidad de reducir el contenido de agua, se adicionó 10 g. de sulfato de sodio anhidro, y se dejó en reposo durante 5 minutos, luego se decanto y midió el volumen final, de este se tomaron 4 ml. y se evaporaron casi a sequedad con aire, se prediluyó el extracto con 2 ml. de la fase móvil (acetonitrilo/SDS). Se filtró y se inyectó en el HPLC.

Sulfatiazol: Se uso el Método de extracción y purificación de sulfatiazol propuesto por Horie (1992) y el método de sulfatiazol es utilizado por González (2002) con modificaciones, la cual consistió en prediluir el extracto con 1 ml de fase móvil.

Métodos Cromatográficos: La metodología aplicada para el HPLC fue la descrita por González, (2002) con modificaciones, la cual consistió en utilizar fase móvil al 100%. Como fase móvil se utilizó una mezcla de Acetonitrilo/SDS. (Acetonitrilo grado HPLC (70:30) con una porción acuosa conteniendo 0.01M de dodecyl sulfato de sodio (SDS) y 0.01 M de ácido oxálico en agua., en modo isocrático, con un flujo de 2 ml/min., longitud de onda de detección de 270nm.

Se corrieron primero estándares de los antibióticos por separado y luego una mezcla de ellos con el fin de tener los tiempos de retención de los antibióticos y tener bien establecidas las condiciones de trabajo (resolución de los picos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variación de la humedad durante el almacenamiento.

Respecto al contenido inicial de humedad en las muestras de miel fue de 18.06 %, que fue menor al que exige la norma, esto es importante ya que a no presentarse altos valores de humedad, se eliminarían posibles fermentaciones y aumentos en los valores de acidez (Bogdanov, 1997).

El contenido de humedad de las mieles almacenadas a 26 y 45 °C (± 2 °C) a los 120 días y con concentraciones de antibióticos de 10 ppm presentó un porcentaje de humedad de 18.28 y 17.58 respectivamente, y las mieles que contenían concentraciones de antibióticos de 50 ppm obtuvieron una concentración de 18.37 y 17.44% respectivamente.

Las normas *Códex Alimentarius* y el de la Unión Europea consideran que el contenido de humedad debe ser 21 g/100g para el caso general y en el rubro industrial o de panadería 25g/100g. (Bogdanov, 1997).

Variación de los sólidos solubles totales (°brix) durante el almacenamiento.

Las muestras de miel presentaron un contenido inicial de sólidos solubles de 79.73 %. Durante el almacenamiento no se presentó variación alguna en las muestras almacenadas a 26 °C (± 2 °C), manteniéndose estable, y teniendo un ligero aumento en los °Brix de 80.7 % a los 120 días a 45 °C (± 2 °C) de almacenamiento. Esto indica que la temperatura y el tiempo de almacenamiento no influyen en el contenido de sólidos solubles totales de la miel.

Variación de HMF durante el almacenamiento.

El contenido inicial de HMF fue alrededor de 4 mg/kg, lo cual indica que se trataba de miel de reciente cosecha. Durante el almacenamiento, los cambios del contenido de HMF en las muestras correspondientes a los tratamientos de miel, siguieron comportamientos general similares, ya que en ambos casos, el HMF aumentó continuamente durante el almacenamiento, aunque en diferentes proporciones (figura 3). Así mismo, en ambos casos dicho incremento no fue lineal, ya que después de 15 días a 26 °C (± 2 °C) de almacenamiento, el HMF aumentó hasta concentraciones alrededor de 6.74 mg/kg. (75 %), mientras que en la almacenada a 45 °C llegó hasta valores de alrededor de 18.53 mg/kg (368.32 %) comparado con el valor inicial. Sin embargo, podemos observar en la figura que, cuantitativamente, el incremento de la concentración de HMF durante el almacenamiento fue mayor en la miel almacenada a 45 °C (± 2 °C) que la almacenada a 26 °C (± 2 °C), lo cual queda de manifiesto por los valores alcanzados después de los 30 días a 45 °C (± 2 °C), ya que las muestras de miel sobrepasaron el límite permitido por la norma.

Esto indica que la temperatura y el tiempo de almacenamiento influyen en el incremento del HMF.

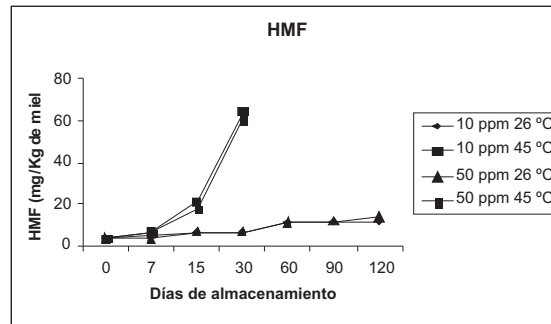


Figura 3.- Efecto de la concentración de antibióticos en la variación de la cantidad de HMF de la miel durante su almacenamiento

Degradación de la tetraciclina durante el almacenamiento. Durante el almacenamiento de la miel contaminada intencionalmente con la mezcla de antibióticos a 26 °C (± 2 °C), se observó que el contenido de tetraciclina fue disminuyendo continuamente, haciéndose más notable esta disminución en la muestra con concentración de 50 ppm, (figura 4).

En el caso de las muestras de 10 ppm a los 15 días a 26 y 45 °C (± 2 °C) de almacenamiento, la tetraciclina disminuyó hasta concentraciones alrededor de 6.80 ppm (31.95 %) y 3.95 ppm (60.41%) respectivamente y al final del tiempo de almacenamiento (120 días), se observó que la cantidad final de tetraciclina disminuyó un 94.68 % y que se degradó un 100 %, con respecto a la concentración inicial a 45 °C (± 2 °C).

En las mieles que se prepararon con 50 ppm de tetraciclina, presentaron una disminución considerable a los 15 días de 23.42 ppm (53.14 %), a partir de estos 15 días la degradación fue a menor velocidad, obteniendo un 65.39 % a los 60 días y un 67.50 % a los 120 días (figura 4).

Respecto a la miel almacenada a 45 °C (± 2 °C) con 50 ppm de antibióticos, esta presentó un comportamiento similar al de 10 ppm, obteniendo una concentración de 27.41 ppm (45.17%) pero con un porcentaje menor durante los primeros 15 días, y a los 60 días el porcentaje de degradación fue haciéndose mayor conforme fueron pasando los días de almacenamiento hasta obtener una concentración de 73.34 ppm (85.33 %) después de los 120 días.

Esto indica que a pesar de que la concentración de tetraciclina disminuye con el almacenamiento, esta fue menor en la mezcla de 50 que en la de 10 ppm.

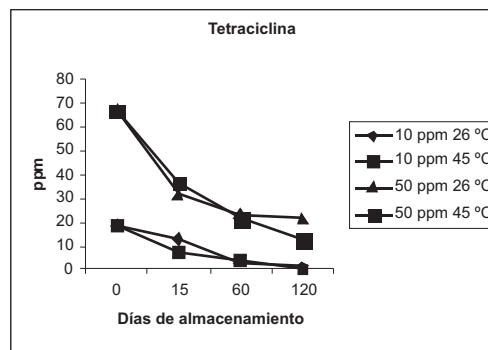


Figura 4.- Efecto de la concentración de antibióticos en la variación de la cantidad de tetraciclina de la miel durante su almacenamiento

Se puede observar que la concentración varía con respecto al tiempo de almacenamiento y que a menor concentración mayor es la rapidez de degradación. Sin embargo, tanto en las muestras de miel almacenadas a 26 °C (± 2 °C) como en las almacenadas a 45 °C (± 2 °C) el porcentaje de degradación fue menor en las concentraciones de 50 ppm que en la concentración de 10 ppm; pero mayor es la degradación mientras más alta sea la temperatura de almacenamiento. Esto indica que la temperatura y el tiempo de almacenamiento influyen en el porcentaje de degradación de la tetraciclina. Pero puede afectar otras características de calidad de la miel como el HMF.

DEGRADACIÓN DEL SULFATIAZOL DURANTE EL ALMACENAMIENTO

Método de extracción de sulfatiazol utilizado por González (2002).

Se observó que la concentración de sulfatiazol obtenido en el HPLC, aumentaba conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento. Este aumento fue más notorio en las muestras a 45 °C (± 2 °C) y con la concentración de 50 ppm. Este incremento (aparente) de la concentración de sulfatiazol a lo largo del almacenamiento de la miel fue contrario al comportamiento que se esperaba, ya que lo normal del sulfatiazol es que se degrade con el tiempo y que esté fuera mayor mientras mayor fue la temperatura.

Por otra parte, es sabido que durante el almacenamiento de la miel se produce un sensible incremento de la concentración de HMF, el cual podría estar interfiriendo en el análisis del sulfatiazol, ya que también absorbe en el ultravioleta, a longitudes de onda similares (Bogdanov, 1997) a la que se utilizó en el detector del HPLC. Para comprobar esta posibilidad se inyectaron patrones de HMF y sulfatiazol en el HPLC con la finalidad de saber en que tiempo salía los picos de dichos patrones. Se observó que a la longitud de onda utilizada en la detección, ambos compuestos fueron detectados en el HPLC en el mismo tiempo de retención, (figura 5).

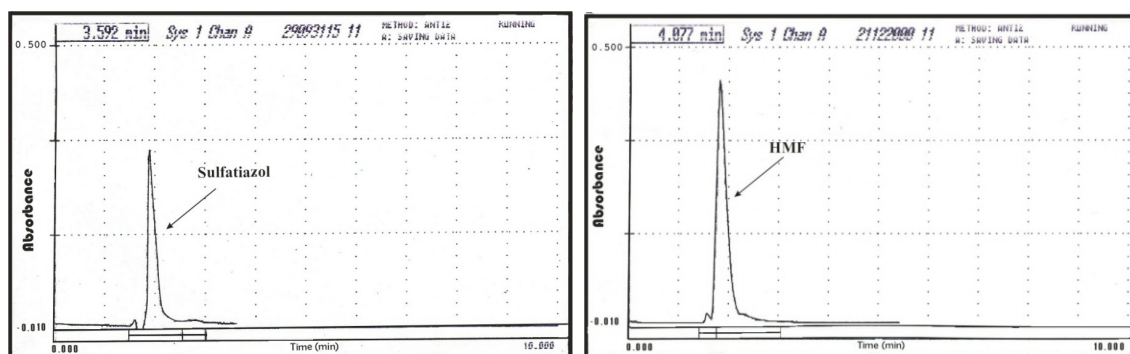


Figura 5.- Cromatograma de sulfatiazol y de HMF obtenido en el HPLC

Esto indica que el método propuesto por González (2002), para la preparación de la muestra de miel para su análisis por HPLC y detección de sulfatiazol no fue la adecuada ya que se encontró interferencia con el HMF.

Con la finalidad de resolver este problema, se exploró la posibilidad de hacer una extracción selectiva de la miel, para obtener un extracto libre de HMF. Para esto se utilizó el método de extracción en fase sólida con Florisil, (Horié 1992).

Método de extracción y purificación de sulfatiazol con el método propuesto por Horie (1992).

Para determinar si la extracción en fase sólida con Florisil permitía obtener un extracto libre de HMF, se tomo una miel de reciente cosecha y se le agrego 5 ml de una solución preparada con HMF a 500 ppm, por otro lado se utilizo una miel que estuvo almacenada durante 120 días a 45 °C (± 2 °C), contaminada con 500 ppm de sulfatiazol, y ambas mieles fueron preparadas utilizando el método antes citado.

Se observó que, con el extracto obtenido de la miel preparada con HMF no se detecto ningún pico, y con el extracto obtenido de la miel contaminada si se presento el pico de sulfatiazol. Con esto se puede asegurar que el HMF no interfiere en la detección de sulfatiazol con este método. Con el método de *Horie (1992)* se logró separar el HMF del sulfatiazol, sin embargo este método de extracción no tuvo una buena reproducibilidad, ya que al analizar por triplicado una misma muestra de miel almacenada a 45 °C (± 2 °C) y con una concentración de 500 ppm, se observó en los cromatógramas que los picos obtenidos en el HPLC no presentaban la misma altura.

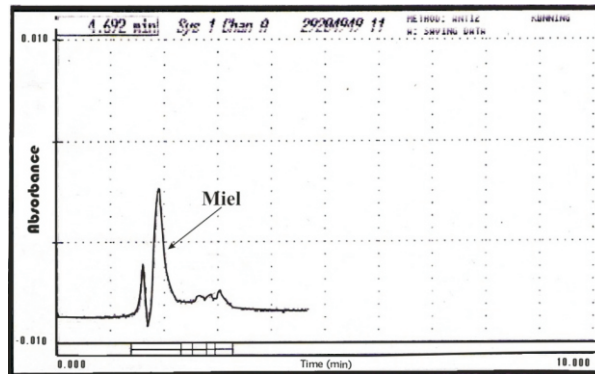


Figura 6.- Cromatógrama de miel a los 120 días a 45 °C (± 2 °C) de almacenamiento obtenido por el método de Horié (1992)

CONCLUSIONES

La concentración de tetraciclina presentó una disminución con respecto al tiempo y ésta fue más notoria a mayor temperatura, también se observo que a menor concentración mayor es la rapidez de degradación.

En los análisis de sulfatiazol con el método de González (2002), se observó un aumento en la concentración conforme aumentaba el tiempo y la temperatura. Por lo que se puede concluir que el método utilizado no fue el adecuado para la detección del sulfatiazol, ya que no se pudo cuantificar el comportamiento del sulfatiazol debido a la interferencia con el HMF.

Los métodos utilizados no lograron la detección simultanea de los dos antibióticos estudiados ya que solamente se detecto la tetraciclina, se propone hacer otros estudios para encontrar uno que logre la detección de ambos Por lo que se sugiere continuar con estos estudios.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar María, et al, 1998. De la miel y las abejas. Talleres gráficos del sureste. Mérida Yucatán, México.
2. Anónimo, 1984. Programa Conjunto FAO-OMS sobre normas alimentarias, 1984. Comisión de Codex Alimentarius/Norma Regional Europea Recomendada para la miel.
3. Anónimo A, Sagarpa. 2005. Aumentó México un 26 porciento sus exportaciones de miel a Europa en el 2004, Núm. 164/05.
4. Cajero S., 1995. Logros y acciones del programa nacional para el Control de la Abeja Africana en la actividad apícola. IX Seminario Americano de Apicultura, Colima, México. pp. 1-6.
5. Berrón A.F. 1999. Situación de la comercialización de la miel mexicana. En memorias del primer foro de Proyectos integrales: Sistema Producto Miel.
6. Bogdanov S., Martin P. and Lüllmann C. 1997. Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie* (extra issue) 1-59.
7. Ghoshdastidar N., Chakrabarti J., 1992, Studies on hydroxymethylfurfural formation during storage of honey. *J. of Food Science and Technology*, 29 (6) 399.
8. González N. Sara A. 2002. Tesis de Maestría. Validación de un método por cromatografía de líquidos para la determinación de antibióticos en la miel de abeja. Instituto Tecnológico de Mérida, México.
9. Güemes, R. F. 2001 Reporte de Práctica de Campo. Recorrido por la Zona Maya a fin de Identificar la Problemática Asociada al Manejo y Comercialización de la Miel de Apis y Establecer diferencias en el manejo y características de la miel de Melipona.
10. Horie M., Saito K. and Nose N. 1992. Simultaneous Determination of Sulfonamides in Honey by Liquid Chromatography. *Journal of AOAC International*. Vol. 75, No. 5.

***(Artículo recibido en septiembre del 2009 y aceptado para su publicación en junio del 2010).**