

ESTUDIO PRELIMINAR QUÍMICO-TOXICOLÓGICO EN MIELES PROCEDENTES DE DOS ESPECIE DE ABEJAS (*Apis mellifera* y *Mellipona beecheii*).

Sosa Martínez Rafael, Tenori Borroto Esvieta, Marrero Chang Osmany , Aguila Jimenez Edisleidy, Camacho Bordon Sinay, Mórales Montero Armando.

Grupo de Toxicología. Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central. Santa Clara. Cuba.
E-mail: rsosa@uclv.edu.cu

Introducción

El crecimiento poblacional aunado a la diversificación de los mercados ha originado un cambio constante en las condiciones del comercio. Cada día, los requisitos que deben cumplir los productos, especialmente los alimentos, son más estrictos. Aún cuando ciertos principios de calidad de los alimentos depende de los gustos y exigencias del ser humano, existen normas regulatorias para controlar la presencia de contaminantes y alcanzar un nivel elevado de protección para la salud pública, en particular para los grupos más sensibles de la población: los niños, las personas alérgicas.

Objetivos

- Determinar la presencia de de Na, K, Ca, Mg mediante espectrofotometría de absorción atómica en mieles procedentes de *Apis mellifera* y *Mellipona beecheii*
- Determinar: humedad, cenizas, conductividad, azúcares reductores, Hidroximetil furfural y actividad de la diastasa en mieles procedentes de *Apis mellifera* y *Mellipona beecheii*
- Evaluar la irritabilidad oftálmica de mieles procedentes tanto de ambas especies *Apis mellifera* y *Mellipona beecheii* empleando el ensayo de hemólisis en células rojas de sangre humanos.

Materiales y Métodos

Muestras.

Se realizaron recogidas de 15 muestras en los apiarios de procedencia. La distribución geográfica de las muestras coincide con los cuatro puntos cardinales y su origen botánico aunque no fue determinado debe guardar estrecha relación con la flora existente en el área.

Determinación de humedad

Se empleo el método refractométrico aprobado por la legislación española (B.O.E., 1986), La cual propone para la determinación de la humedad, medir su índice de refracción a 20°C mediante refractómetro Abbe, su calculo en tanto por ciento se efectuó utilizando la tabla de Chataway (1932).

Cenizas

Se utilizó también el método propuesto por la legislación española (B.O.E., 1986) y de la (A.O.A.C., 1990): se pesa una muestra de miel de 5 gramos en balanza analítica y en un crisol tarado. Se procedió a un calentamiento suave en plancha bajo campana de extracción con el objetivo de evitar pérdidas por derrames debido a la espuma e inhalar gases tóxicos. Una vez que las muestras se encuentran ennegrecidas se colocan en mufla a 550°C hasta peso constante.

Conductividad eléctrica

En la determinación de este parámetro utilizamos el de Bianchi método que establece el uso de un conductímetro para medir la conductividad eléctrica en solución de miel al 20 % en base materia humedad.

Determinación de Hidroximetilfurfural (HMF)

En la determinación de hidroximetilfurfural utilizamos el método colorimétrico cuantitativo propuesto Winkler, (1955),

Caracterización de elementos trazas

Para la obtención de los elementos traza, se partió de la técnica de análisis por espectrometría de absorción atómica, adaptando el método basado en la destrucción de la materia orgánica, digestión húmeda ácida (“wetashing”). **Determinación de Azúcares reductores**

En la determinación de azúcares reductores utilizamos el método modificado por Lane y Eynon, 1923.

Actividad de la diastasa

Para la evaluación de la actividad enzimática se procedió con la técnica reportada por Bianchi (1986), utilizando como sustrato almidón y en condiciones de trabajo controladas

Evaluación de la irritabilidad oftálmica empleando el ensayo de hemólisis en células rojas de sangre humanos (red blood cell (RBC))

Este método de trabajo permite diferenciar daños sobre la membrana citoplasmática (hemólisis), sobre la proteína y conocer la seguridad de estos productos.

Tratamiento de los datos

Los analisis estadisticos para los datos obtenidos se realizo mediante el test de t de Student, para un nivel de significación de 0,05

Resultados

Los valores de obtenidos de humedad, cenizas y conductividad se representan en la (Tabla 1) para la especie *Apis mellifera* y (Tabla 2) para la especie *Mellipona beecheii*. Por otro lado, los valores de hidroximetil furfural (H.M.F) en muestras de miel procedentes de las especies *Apis mellifera* y *Mellipona beecheii*, se representan en (la tabla 3)

Tabla 1. Valores obtenidos para la humedad, cenizas y conductividad eléctrica para la especie *Apis mellifera*

Muestra	Especies	Humedad %	Cenizas %	Cond. elect $\mu\text{S/cm}$
1	<i>Apis mellifera</i>	14.63	0.41	624
2	<i>Apis mellifera</i>	14.12	0.28	139
3	<i>Apis mellifera</i>	15.36	0.35	258
4	<i>Apis mellifera</i>	16.75	0.45	726
5	<i>Apis mellifera</i>	16.80	0.58	796
6	<i>Apis mellifera</i>	15.49	0.35	267
7	<i>Apis mellifera</i>	17.68	0.02	189
8	<i>Apis mellifera</i>	16.25	0.45	772
9	<i>Apis mellifera</i>	14.69	0.03	257
10	<i>Apis mellifera</i>	16.32	0.35	287
X		15.809	0.327	431.7
V. max		17.58	0.58	798
V. min		14.12	0.02	139
DS		1.13	0.17	263

Tabla 2. Valores obtenidos para la humedad, cenizas y conductividad eléctrica para la especie *Mellipona beecheii*

Muestra	Especies	Humedad %	Cenizas %	Cond. elect $\mu\text{S/cm}$
11	<i>Mellipona beecheii</i>	19.45	0.09	349
12	<i>Mellipona beecheii</i>	20.58	0.08	597
13	<i>Mellipona beecheii</i>	19.24	0.04	367
14	<i>Mellipona beecheii</i>	21.89	0.17	674
15	<i>Mellipona beecheii</i>	23.78	0.04	218
X		19.45	0.09	349
V.max		20.58	0.08	597
V.min		19.24	0.04	367
DS		21.89	0.17	674

Tabla 3. Contenido de hidroximetil furfural (H.M.F) en muestras de miel procedentes de la especie *Apis mellifera* y *Mellipona beecheii*

Muestras	Especies	Contenido (H.N.F) mg/Kg de miel
1	<i>Apis mellifera</i>	10.59
2	-	8.59
3	-	7.56
4	-	7.87
5	-	13.4
6	-	10.4
7	-	5.36
8	-	8.65
9	-	7.35
10	-	1.92
11	<i>Mellipona beecheii</i>	2.34
12	-	1.52
13	-	2.34
14	-	2.12
15	-	2.31

Discusión

Humedad, cenizas y conductividad eléctrica

Al analizar nuestros resultados es importante destacar el valor máximo obtenido para la humedad (17.68 %), se aparta del valor máximo permitido 20%, mientras el 90 % de las muestras presentan valores por debajo de 17.1 % valor establecido por algunos

autores como límite de riesgo de fermentación Belitz (1988). Al respecto Alcalá (1977) planteó que los valores de la actividad del agua (a_w) en mieles con ese porcentaje de humedad, permite el desarrollo de de microorganismos osmófilicos. Es importante destacar que el contenido de agua en las muestras analizadas procedentes de la especie *Apis mellifera* manifiesta una tendencia poco variable figura 1. 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. Mieles con mayores contenidos de humedad que los establecidos por las agencias regulatorias podrían inducir procesos de fermentación. Por lo que en la propuesta de nuevos estándares se sugiere un valor máximo de humedad de 21 g/100 g miel, con excepción sugerida para algunas mieles. En análisis realizados para control de calidad de la miel de abejas el 91-95% de las muestras presentaron contenidos de humedad inferiores a 20g/100 g miel Lüllmann (1997). Por otro lado, se conoce también que de numerosas organizaciones apícolas de (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.

Por otro lado, el contenido de cenizas no sobrepasó el 0.6 % establecido por las agencias regulatorias para el caso de la especie *Apis mellifera* sin que se tenga reportes para valores de ambos parámetros en mieles de la especie *Mellipona beecheii* que presentan comportamientos diferentes como es de esperar. Las figuras 1,2 y 3 mostraron el comportamiento de los valores para la Humedad, contenido de cenizas y conductividad para la especie *Apis mellifera*. En cuanto a la correlación obtenida entre contenido de cenizas (%) y la conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), se evidencia claramente, al observar la figura 4, que para las mieles procedentes de la especie *Apis mellifera* existe una relación lineal expresada por el modelo:

Conduct eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) = $72.478 + 1098.5$ Ceniza (%), este modelo presentó un ajuste débil pero coincide con otros autores que plantean una pendencia directamente proporcional contenido de cenizas y conectividad.

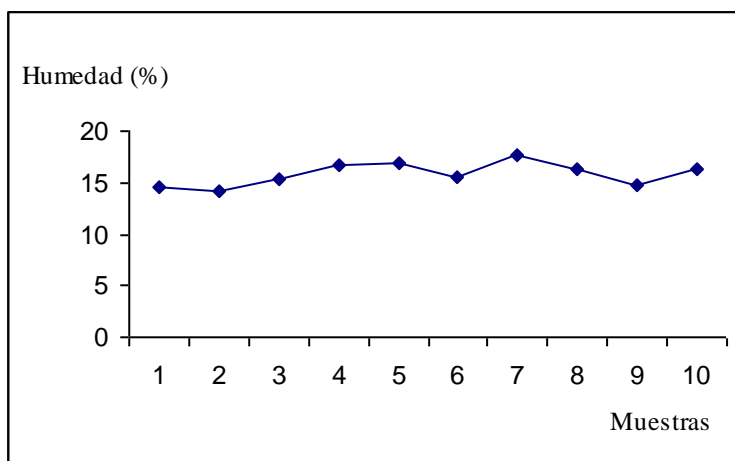


Figura 1. % de humedad en muestras de miel procedentes de la especie *Apis mellifera*

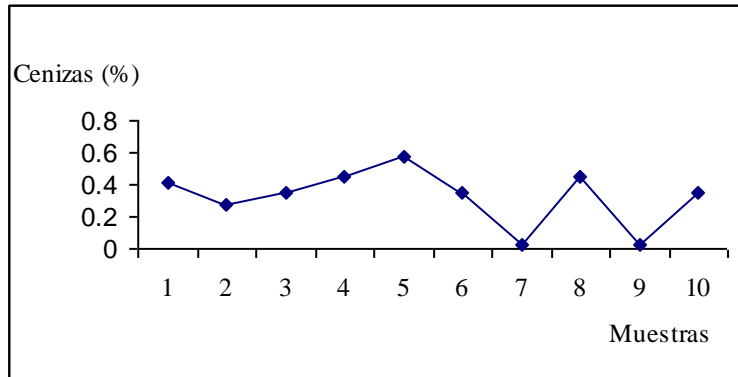


Figura 2. % de cenizas en muestras de miel procedentes de la especie *Apis mellifera*

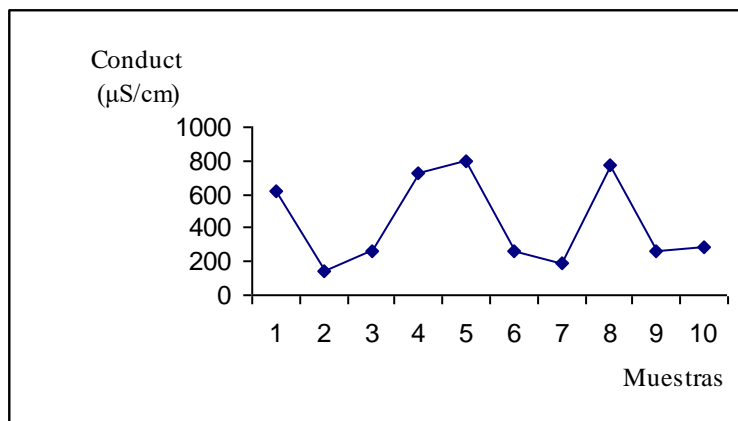


Figura 3. Conductividad (µS/cm) en muestras de miel procedentes de la especie *Apis mellifera*

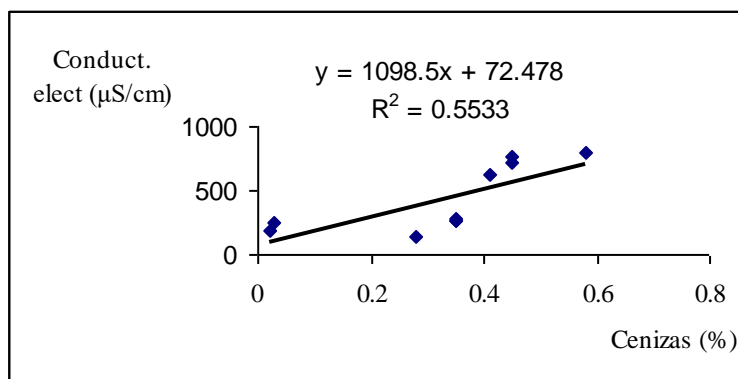


Figura 4. Correlación entre ceniza (%) y la conductividad (µS/cm) en muestras de miel procedentes de la especie *Apis mellifera*

Contenido de Hidroximetilfurfural (H.M.F.)

El HMF no existe de forma natural en la miel; es un compuesto formado por la pérdida de dos moléculas de agua en la fructosa. Otro factor que tributa es el aumento de la acidez debido a su actividad catalítica en la reacción de condensación de cetohexosas White (1980), condición que se puede general durante el almacenamiento. Los cambios del contenido de HMF en las muestras correspondientes tanto a la especie *Apis mellifera* como *Mellipona beecheii*, siguieron comportamientos globales similares se encuentran en niveles aceptados y coincide con otros reportados para la especie *Apis mellifera* White (1994), pero sin referencias para los valores para *Mellipona beecheii*.

Caracterización de elementos traza en mieles

Este análisis nos ha permitido comprobar la presencia de elementos tales como Na, K, Ca y Mg en mieles procedentes de *Apis mellifera* y *Mellipona beecheii*., en rangos que oxidan entre 1.31-13.1 para el caso del Na; 0.30 -28.3, K; 0,54 - 4, 90, Ca; 0,49 – 3.40 Mg en ppm respectivamente, niveles que en el caso de la muestra 3 presentó un valor elevados y que a nuestro juicio esta relacionado con la acides de muestra cuyo valor es de 71.9 meq/Kg, fuera de los limites de aceptación, el resto coinciden con trabajos reportados por otros autores como Rodríguez (1992).

Azúcares reductores expresados en azúcares invertidos.

Los azúcares no mostraron variación significativa y se encuentran en rangos aceptables dentro de los estándares permitidos

Actividad de la diastasa

En nuestras muestras la actividad diastásica no varió significativamente entre las muestras procedentes de la especie *Apis mellifera*, en todas las muestras ensayadas el valor fue superior a 8 unidades de diastasa. Por otro lado, debemos destacar que las muestras de mieles procedentes de la especie *Mellipona beecheii* no expresaron actividad relacionada con este enzima, aspecto y sobre el que hay que profundizar.

Evaluación de la irritabilidad oftálmica empleando el ensayo de hemólisis en células rojas de sangre humanos (red blood cell (RBC))

Las muestras ensayadas, no fueron capaz de provocar % de hemólisis, por lo tanto, resultó imposible poder calcular la concentración hemolítica 50 (CH₅₀). Estos resultados como es de esperar insinúan que aunque existan diferentes niveles de compuestos polifenólicos y presencia de metales, no mostraron ningún efecto de irritabilidad y permite clasificar al producto como no toxico.

Conclusiones

El análisis de de los elementos trazas nos permitido comprobar la presencia de elementos tales como Na, K, Ca y Mg en mieles procedentes de *Apis mellifera* y *Mellipona*

beecheii, en rangos que oxidan entre 1.31-13.1 para el caso del Na; 0.30 -28.3, K; 0,54 - 4, 90, Ca; 0,49 – 3.40 Mg en ppm respectivamente con excepción de la muestra 3.

Los azúcares no mostraron variación significativa y se encuentran en rangos aceptables dentro de los estándares permitidos.

la actividad diastásica no varió significativamente entre las muestras procedentes de la especie *Apis mellifera*, y en todas las muestras ensayadas el valor fue superior a 8 unidades de diastasa, no así par las muestras procedentes de la especie *Mellipona beecheii*, que no mostró presencia de este enzima.

Los cambios del contenido de HMF en las muestras correspondientes tanto a la especie *Apis mellifera* como *Mellipona beecheii*, siguieron comportamientos globales similares y se mantienen dentro de los rangos aceptados.

La relación entre el contenido de minerales, conductividad eléctrica y humedad para las mieles procedentes de ambas especies quedó expresado mediante sus correlaciones destacándose la influencia de los minerales en el aumento de la conductividad.

Y por ultimo las muestras ensayadas, no fueron capaz de provocar % de hemólisis, por lo tanto, resultó imposible poder calcular la concentración hemolítica 50 (CH₅₀), lo que nos permitió clasificar las muestras como no toxicas.

Referencias Bibliografica

Alcalá, M., 1997. Actividad de agua de la miel y crecimiento de microorganismos osmotolerantes. Trabajos Científicos de la Universidad de Córdoba

Belitz, H.A. y Grosch, W., 1998. Química de los alimentos. Acribia. Zaragoza.

Bianchi EM. Control de calidad de miel. Centro de Investigaciones Avícolas. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Argentina. 1986.

Institut für Honiganalysen, Flughafendamm 9a, 28199 Bremen 1, Germany

Lüllmann, C.: Annual Reports of the Institute for Honey Analysis (1989-1997).

Rodriguez, j Determination of Na, k, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn and total cationic milliequivalents in Apanish commercial honeys. Journal of Apicultural Reserch 31 (2): 65 -69, 1992

White, Jonathan, W, Jr. 1980. Hydroxymethylfurfural content of honey as an indicator of its adulteration whit invert sugar. Bee World. Letters, 61(1) : 29-37.

White J. The role of HMF and diastasa assays in honey quality evaluation. Bee World 1994; 75(3):104-117.