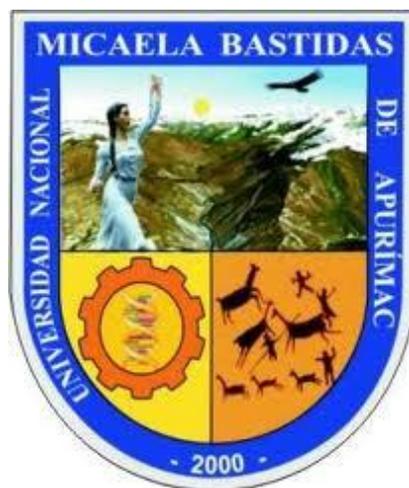


UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



“Fluvalinato y Metales Pesados (Cobre y plomo) en Miel de los Sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol-Abancay 2018”

TESIS

PRESENTADO POR:

JONILDA MERINO TORRES
LUIS ANTONIO PILLACA VILCA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

ABANCAY – PERÚ

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

“FLUVALINATO Y METALES PESADOS (COBRE Y PLOMO) EN MIEL DE LOS SECTORES DE PACHACHACA, ATUMPATA Y QUITASOL - ABANCAY 2018”

Presentado por JONILDA MERINO TORRES y LUIS ANTONIO PILLACA VILCA, para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Sustentado y aprobado el 15 de agosto del 2019 ante el jurado:

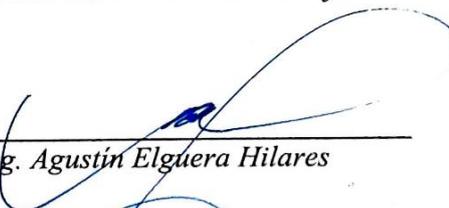
Presidente:


Ing. Abel Jesús Enrique Mujica Paredes

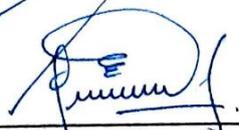
Primer Miembro:


Mg. Juan Silver Barreto Carbajal

Segundo Miembro:


Ing. Agustín Elguera Hilaes

Asesor(a):


Dra. Guadalupe Chaquilla Quilca

AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer a nuestros padres por ser los principales promotores de nuestros sueños y objetivos, por creer y confiar siempre en nosotros, por ser nuestra inspiración y nuestro principal motivo de desarrollo, para convertirnos en profesionales que contribuyan en la mejora y el desarrollo de la sociedad.

Gracias a Dios por bendecir nuestras vidas cada día con la hermosa oportunidad de ser mejores hijos, mejores personas y mejores profesionales, gracias a Dios por guiar e iluminar nuestro camino hacia el logro de nuestros objetivos.

Agradecer también a nuestra casa de estudios superiores por acogernos en sus aulas, brindarnos la asesoría necesaria y proporcionarnos los equipos, herramientas y condiciones necesarias para la elaboración de esta tesis.

Asimismo, queremos agradecer inmensamente a nuestra asesora Dra. Guadalupe Chaquilla Quilca por apoyarnos y acompañarnos incondicionalmente en este proceso de principio a fin, por ser una persona correcta y exigente y por mostrarnos a diario que podemos dar más de nosotros si nos lo proponemos. Y también a cada uno de nuestros docentes y amigos que desempeñaron un rol fundamental en nuestro paso por la universidad, compartiendo sus experiencias y conocimientos con nosotros y haciendo de nuestra estadía en la universidad la mejor de nuestras aventuras de la vida.



DEDICATORIA

Con mucho amor, cariño a Dios por darnos salud y así concluir los cinco años de estudio de Ingeniería Agroindustrial; a nuestros padres por su apoyo, motivación incondicional y por mostrarnos siempre el camino correcto hacia la superación.



ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
CAPÍTULO I.....	5
Planteamiento del problema.....	5
1.1. Descripción del problema.....	5
1.2. Enunciado.....	6
1.3. Objetivos	6
Objetivos General	6
Objetivos Específicos	6
1.4. Justificación.....	6
1.5. Delimitación	7
CAPÍTULO II	8
Marco Teórico.....	8
2.1. Antecedentes.....	8
2.2. Marco referencial	10
CAPÍTULO III.....	34
DISEÑO METODOLÓGICO	34
3.1. Definición de variables	34
3.1.1. Variable dependiente:.....	34
3.1.2. Variable independiente:.....	34
3.2. Operacionalización de variables	35
3.3. Hipótesis de la investigación	35
3.4. Tipo y diseño de la investigación.....	35
3.4.1. Tipo de la investigación.....	35
3.4.2. Diseño de la investigación.....	36
3.5. Población y muestra	36
3.5.1. Población.....	36
3.5.2. Muestra	37

3.6. Procedimientos de la investigación.....	38
3.7. Material de investigación.....	42
3.7.1. Instrumento de investigación:.....	42
3.7.2. Diseño de material de investigación:.....	45
CAPÍTULO IV.....	46
RESULTADOS.....	46
4.1. Descripción de resultados	46
4.1.1. Presencia del fluvalinato en la miel.....	46
4.1.2. Presencia de metales pesados en la miel	57
4.2. Contrastación de hipótesis.	66
4.2.1. Hipótesis estadísticas	70
4.3. Discusión de resultados	71
CAPÍTULO V	73
Conclusiones y recomendaciones.....	73
5.1. Conclusiones.....	73
5.2. Recomendaciones	73
Referencias bibliográficas.....	74
Anexos.....	77



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del fluvalinato.....	21
Tabla 2. Fuentes de contaminación en alimentos.....	24
Tabla 3. Tipos de llamas utilizados en la absorción atómica.	29
Tabla 4. Operacionalización de variables.....	35
Tabla 5. Diseño factorial de 2x3 con 6 tratamientos.	36
Tabla 6. Representación del diseño experimental.	45
Tabla 7. Fluvalinato en muestra 1.	48
Tabla 8. Fluvalinato en muestra 2.	50
Tabla 9. Fluvalinato en muestra 3.	51
Tabla 10. Fluvalinato en muestra 4.	52
Tabla 11. Fluvalinato en muestra 5.	53
Tabla 12. Fluvalinato en muestra 6.	55
Tabla 13. Presencia de fluvalinato en las 6 muestras por duplicado.	57
Tabla 14. Principios generales de la absorción atómica.....	58
Tabla 15. Otros patrones a tener en cuenta.....	59
Tabla 16. Resultados de presencia de plomo en la miel procedente de las seis muestras por triplicado.	60
Tabla 17. Principios generales de los patrones en absorción atómica para el cobre.	62
Tabla 18. Lecturas de los patrones 2 y 3.	63
Tabla 19. Resultados de la presencia de cobre de las seis muestras por triplicado.	64
Tabla 20. Resultados de cobre y plomo de las seis muestras de miel por triplicado.....	66
Tabla 21. Análisis de la varianza para Fluvalinato.....	67
Tabla 22. Prueba de Tukey para Fluvalinato.....	67
Tabla 23. Análisis de la varianza para Cobre.....	68
Tabla 24. Prueba de Tukey para Cobre.....	68
Tabla 25. Análisis de la varianza para Plomo.	69
Tabla 26. Prueba de Tukey para Plomo.	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de atomizador.....	28
Figura 2. Mapeo de ubicación de apiarios de donde se recolectaron las muestras para la investigación.	37
Figura 3. Muestras de miel recolectadas en Pachachaca, Atumpata y Quitasol.....	38
Figura 4. Cromatograma del Apistan, curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.	46
Figura 5. Cromatogramas Gc de las muestras de miel; Pachachaca M1, Pachachaca M2, Quitasol M1, Quitasol M2, Atumpata M1 y Atumpata M2; curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.	47
Figura 6. Cromatograma GC de la muestra de Pachachaca M1, curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.....	49
Figura 7. Cromatogramas GC del Pachachaca (M2), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.....	50
Figura 8. Cromatogramas GC de la muestra Quitasol (M1), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.....	51
Figura 9. Cromatogramas GC de la muestra Quitasol (M1), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.....	52
Figura 10. Cromatogramas GC de la muestra de Atumpata (M1), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.....	54
Figura 11. Cromatogramas GC de la muestra Atumpata (M2), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.....	56
Figura 12. Principios del patrón para determinación de plomo.	58
Figura 13. Tiempo de retención del patrón 1, 2 y 3.	59
Figura 14. Tiempo de retención del patrón 1.	62
Figura 15. Tiempo de retención del patrón 2 y 3.	63

“Fluvalinato y Metales Pesados (Cobre y plomo) en Miel de los Sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol-Abancay 2018”

Esta publicación está bajo una licencia de Creative Commons.



INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación titulado **“Fluvalinato y metales pesados (cobre y plomo) en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol – Abancay 2018”** surgió en respuesta a la constante problemática del desconocimiento o falta de capacitación en el uso correcto de acaricidas, lo cual ocasiona contaminación en productos de la colmena, como: miel, polen, propóleos y otros. Asimismo, la problemática también se relaciona a la presencia en el medio ambiente de contaminantes orgánicos (fluvalinato) y metales pesados (cobre y plomo) en los productos de la colmena, ya que como lo indica ALVAREZ et al., 2018 en su trabajo de investigación titulado “Metales pesados contenidos en miel en el noreste de Argentina”. La apicultura moderna depende, en gran medida, de la utilización de agroquímicos para controlar las plagas, las enfermedades y las malas hierbas que pueden ocasionar pérdidas en la calidad de las cosechas y disminuir su producción. El amplio uso de los plaguicidas, unido a la persistencia y distribución medioambiental, origina la contaminación de las aguas, del suelo y de los alimentos. Además, el carácter lipofílico de muchos plaguicidas puede provocar su acumulación en el organismo, al consumir alimentos contaminados. En los últimos años, la contaminación de los alimentos y del medio ambiente por los plaguicidas se ha convertido en objeto de gran interés y preocupación social debido a los posibles efectos adversos de una exposición prolongada a estos compuestos.

Los metales pesados son unos contaminantes importantes en los alimentos, debido a su elevada toxicidad aún en concentraciones muy bajas y a su efecto acumulativo en el cuerpo humano. La presencia de metales pesados en suelo, agua o aire es responsable de la contaminación de los alimentos. Las abejas pueden incorporarlos en la miel a partir del néctar de flores contaminadas, actuando así la miel como un bioindicador de la contaminación ambiental con metales pesados, y también pueden originarse por el contacto de la miel con pintura (que generalmente contiene metales pesados), que se haya empleado para proteger las colmenas o cuadros.

En la actualidad, existen alrededor de 8014 colmenas instaladas en el departamento de Apurímac según el registro de la Asociación de Apicultores de Abancay, éstas se manejan de una manera semitecnificada. Existe una gran aptitud de producción apícola, dada la disponibilidad de extensas áreas y diferentes pisos en la extensión territorial y condiciones climáticas adecuadas. Es así que nuestro rol como profesionales en la sociedad es contribuir en la solución de las diversas problemáticas que aquejan a los ciudadanos y proporcionarles, información sobre la presencia de fluvalinato y metales pesados (Cobre y Plomo) que les permita elegir apropiadamente sus productos de consumo como es la miel de abejas garantizando un producto de calidad.

Por ende, en esta investigación se planteó como objetivo general determinar el nivel de presencia de fluvalinato y metales pesados (Cobre y Plomo) en miel de abeja procedente de Pachachaca, Atumpata y Quitasol, Abancay- Apurímac, para lo cual se desplegó en dos objetivos específicos, los

cuales son: Determinar el nivel de presencia de fluvalinato en miel procedente de Pachachaca, Atumpata y Quitasol y Determinar el nivel de presencia de metales pesados en miel procedente de Pachachaca, Atumpata, para que a partir de ello se les proporcione información a los apicultores de dichas zonas mencionadas y que les permitan tener conocimiento de que si su producto es de calidad contribuyendo en su desarrollo y garantizando la productividad de sus productos en el mercado.

Para conseguir este objetivo la metodología de investigación empleada fue la siguiente: se utilizó la investigación aplicada ya que en este tipo de investigación se aplican los conocimientos que surgen de la investigación básica para resolver problemas de carácter práctico, empírico y tecnológico para el avance y beneficio de los sectores productivos de bienes y servicios de la sociedad. El tipo de investigación fue no experimental es la que no manipula deliberadamente las variables a estudiar. Lo que hace este tipo de investigación es observar fenómenos tal y como se dan en su contexto natural, para después analizarlo. En un estudio no experimental, no se construye ninguna situación, sino que se observan situaciones ya existentes. Así también el nivel de investigación utilizado fue el descriptivo, porque describe la naturaleza de un segmento demográfico, sin centrarse en las razones por las que se produce un determinado fenómeno. Para la determinación del tamaño de la muestra del estudio se empleó la técnica de muestreo no probabilístico o dirigido por conveniencia, con el fin de garantizar la objetividad en los datos, por lo que se determinó que la toma de muestra, se realice de dos apiarios por cada zona de estudio (tres zonas), haciendo un total de 6 apiarios de la población estudiada. La técnica de recolección de datos que se usó es de acuerdo a los equipos de la cromatografía de gases acoplado a masas para la determinación de fluvalinato y para determinar la presencia de metales pesados cobre y plomo se utilizó absorción atómica por el método en llama, cuyos resultados fueron procesados en el software INFOSAT versión estudiantil, 2011.

El resultado de esta investigación permitió conocer el nivel de presencia de fluvalinato y metales pesados (cobre y plomo) en miel de abeja procedente de las zonas de Pachachaca, Quitasol y Atumpata de Abancay, presentando las zonas de Pachachaca y Quitasol un alto nivel de presencia de fluvalinato sobre los LMRS que es de 50ug/ kg y lo que representa una preocupación para la salud de los consumidores, Sin embargo, observamos que las muestras del sector de Atumpata tienen un nivel bajo de presencia de fluvalinato y que está por debajo de los LMRS. También nos permitió conocer que la presencia de metales pesados (cobre y plomo) en las tres zonas: Pachachaca, Quitasol y Atumpata fue muy bajo o mejor dicho casi.

Por ello, en esta investigación se propone algunas soluciones que contribuyan a mejorar el uso adecuado de pesticidas contra la varroa para evitar la presencia de residuos contaminantes en miel y puedan garantizar un producto de calidad libre de fluvalinato y metales pesados, y de algún modo contribuyan activamente en el desarrollo de nuestra región.

RESUMEN

En el presente trabajo se analizaron muestras de miel de abeja procedentes de Los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol Abancay- Apurímac. Para determinar las concentraciones de residuos de fluvalinato y metales pesados (Cobre y Plomo), la toma de muestras se realizó en las primeras semanas del mes de noviembre del 2018, posteriormente se procedió a analizar las mieles, por medio de métodos cuantitativos con 2 repeticiones c/u para la determinación del nivel de presencia del fluvalinato utilizando el cromatógrafo de gases acoplado a masas y con 3 repeticiones c/u para la determinación del nivel de presencia de metales pesados (Cobre y Plomo) utilizando el equipo del espectrofotómetro de absorción atómica por flama. Los resultados encontrados en el análisis cuantitativo, fue un alto nivel de presencia de fluvalinato en mieles procedentes de Pachachaca y Quitasol con un contenido de 288.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 62.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente, más no así en la miel procedente de Atumpata con un valor mínimo de fluvalinato 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Con respecto a la determinación del nivel de presencia de metales pesados (cobre y plomo) encontramos que en las tres zonas de estudio que son Pachachaca, Atumpata y Quitasol no hay nivel de presencia de cobre y plomo ya que sus valores obtenidos no superan los límites máximos permisibles para la miel que es 0.30 mg/kg.

Palabras claves: Residuos, miel, fluvalinato, metales pesados.

ABSTRACT

In this work, honey samples from the Pachachaca, Atumpata and Quitasol Abancay-Apurimac sectors were analyzed. To determine the concentrations of fluvalinate and heavy metal residues (Copper and Lead), the sampling was carried out in the first weeks of November 2018, subsequently the honey was analyzed, using quantitative methods with 2 repetitions each for the determination of the level of presence of fluvalinate using the gas chromatograph coupled to masses and with 3 repetitions each for the determination of the level of presence of heavy metals (Copper and Lead) using the atomic absorption spectrophotometer equipment by flame. The results found in the quantitative analysis, was a high level of presence of fluvalinate in honey from Pachachaca and Quitasol with a content of 288.43 $\mu\text{g} / \text{kg}$ and 62.23 $\mu\text{g} / \text{kg}$ respectively, but not in honey from Atumpata with a value minimum fluvalinate 0.05 $\mu\text{g} / \text{kg}$. With respect to the determination of the level of presence of heavy metals (copper and lead) we find that in the three study areas that are Pachachaca, Atumpata and Quitasol there is no level of presence of copper and lead since their obtained values do not exceed the limits maximum allowable for honey which is 0.30 mg / kg.

Keywords: Residues, honey, fluvalinate, heavy metals.

CAPÍTULO I

Planteamiento del problema

1.1. Descripción del problema

Una de las principales problemáticas que aquejan a los apicultores de la provincia de Abancay es el desconocimiento o falta de capacitación en el uso correcto de acaricidas, lo cual ocasiona la contaminación de los productos de la colmena, como: la miel, el polen, propóleo y otros. Asimismo, la problemática también se relaciona la presencia en el medio ambiente de contaminantes orgánicos (fluvalinato) y metales pesados (Cobre y Plomo) en los productos de la colmena.

La apicultura moderna depende, en gran medida, de la utilización de pesticidas para controlar las plagas, las enfermedades y las malas hierbas que pueden ocasionar pérdidas en la calidad de las cosechas y disminuir su producción. El amplio uso de los pesticidas, unido a la persistencia y distribución medioambiental, origina la contaminación de las aguas, del suelo y de los alimentos. Además, el carácter lipofílico de muchos plaguicidas puede provocar su acumulación en el organismo, al consumir alimentos contaminados.

Los apicultores de los principales sectores productores de miel de Abancay, como son: Pachachaca, Atumpata y Quitasol; emplean el Apistan en el control de la varroa de manera descontrolada, además de extraer la miel de la colmena de manera artesanal o tradicional generando de esta manera el incremento de la presencia del fluvalinato en la miel, por encima de los límites permitidos, ocasionando problemas en la salud de los consumidores.

El departamento de Apurímac se caracteriza por ser una región minera, por lo que es posible la presencia de metales pesados como son (plomo y cobre) en el suelo, el agua y el aire, además Abancay es una zona de alto tránsito debido a que conecta con las ciudades de Cusco y Lima lo que también podría ser otro factor de contaminación de metales pesados; así mismo el uso de pinturas tóxicas en el mercado en general, la utilización de contenedores de miel inapropiados, el uso de pesticidas en la producción de flores y hortalizas, serían otros factores de contaminación. Por lo tanto, es inevitable considerar la existencia de residuos de estos metales en la miel producidos en los sectores de Atumpata, Pachachaca y Quitasol, puesto que por lo general los apicultores realizan sus labores productivas de manera empírica, sin tener asesoría y orientación profesional en apicultura, por lo que cometen frecuentemente errores que podrían generar la presencia de metales pesados en la miel.

Sin embargo, en nuestra Región no existen estudios relacionados a la presencia de fluvalinato y metales pesados en productos derivados de la colmena como es la miel de abejas de las principales zonas apícolas como Pachachaca, Atumpata y Quitasol. A partir de ello nace el interés de conocer como es el uso del fluvalinato en la actividad apícola de estas zonas para contrarrestar las varroa y determinar la presencia de metales pesados producto de la extracción minera de la región, acarreados por el agua o polvo y manejo inapropiado. Contribuyendo de esta manera en garantizar la calidad de

los productos derivados de la colmena de las principales zonas apícolas de nuestra región.

1.2. Enunciado

Problema General

¿Cuál es la concentración de fluvalinato y metales pesados (Cobre y Plomo) en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol?

Problema Específicos

¿Cuál es la concentración de fluvalinato en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol?

¿Cuál es la concentración de metales pesados (Cobre y plomo) en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol?

1.3. Objetivos

Objetivos General

Determinar la concentración de fluvalinato y metales pesados (Cobre y Plomo) en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

Objetivos Específicos

Determinar la concentración de fluvalinato en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

Determinar la concentración de metales pesados (Cobre y Plomo) en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

1.4. Justificación

En la actualidad, existen alrededor de 8014 colmenas instaladas en el departamento de Apurímac según el registro de la Asociación de Apicultores de Abancay, éstas se manejan de una manera semitecnificada. Existe una gran aptitud de producción apícola, dada la disponibilidad de extensas áreas y diferentes sectores en la extensión territorial y condiciones climáticas adecuadas.

Los alimentos que consumimos son fruto de una naturaleza manipulada por el hombre con la finalidad de obtener el mejor rendimiento posible. Uno de los medios más comunes para proteger los productos agrícolas de los efectos de los organismos nocivos consiste en el uso de plaguicidas. Ello obliga al uso de una gran variedad de productos químicos que pueden aparecer en los alimentos y son ajenos a su naturaleza. Sin embargo, su uso puede tener como consecuencia la presencia de residuos en los productos tratados, en los animales alimentados con dichos productos y en alimentos producidos por los animales o expuestos a dichas sustancias, como por ejemplo la miel.

Los principales grupos de contaminantes químicos que pueden encontrarse en los alimentos son los contaminantes orgánicos y los metales pesados.

Apurímac es una región meramente minera, es así que debido a la actividad minera es posible encontrar residuos de cobre o plomo en los suelos, el aire y el agua, los cuales pueden constituirse como conductos de contaminación de los productos derivados de la colmena, además del manejo inapropiado por parte de los productores.

Por lo tanto, el estudio de Fluvalinato y metales pesados (Cobre y Plomo) en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol es de vital importancia, ya que se desea conocer si estos productos están o no libres de sustancias tóxicas que puedan causar efectos adversos en la salud pública de la región. Además de concientizar a los productores de la miel en el uso adecuado de este tipo de productos de acuerdo con los límites mínimos establecidos y proporcionar un material de consulta para próximas investigaciones.

1.5. Delimitación

El estudio de esta investigación se delimita a los principales sectores productivos de miel de abejas en Abancay-Apurímac, como son: Pachachaca, Atumpata y Quitasol. En los que se encuentran un total de 36 apicultores activos aproximadamente. En la presente investigación se determinó la muestra de manera no probabilística por conveniencia, obteniendo 2 kg de muestra de miel por apiario y por cada sector en estudio se obtuvo 4 kg de miel, siendo un total de 12 kg de muestra de miel obtenida para la realización de este trabajo de investigación.

CAPÍTULO II

Marco Teórico

2.1. Antecedentes

A nivel internacional destacamos las siguientes investigaciones:

En lo referente al estudio del Fluvalinato resaltamos la Tesis titulada “Determinación de residuos de fluvalinato en mieles de la X región de Los Lagos, Chile” presentado en la Universidad Austral de Chile en el año 2002 para optar el grado de Licenciado en Agronomía por Claudia Marcela Dussaubat Arriagada. En esta investigación, de acuerdo con los objetivos y metodología empleada se arribó a las siguientes conclusiones: 1) Existe presencia de residuos de fluvalinato en mieles de la X Región, debido al uso de tratamientos artesanales para el control de varroa, siendo necesario mayor preocupación en el uso de productos químicos y la implementación de formas de control alternativa. 2) La situación de residuos encontrada es similar a lo informado por otros países, los que en su mayoría han utilizado fluvalinato en forma de Apistan por más de una década, y que actualmente están adoptando otras formas de control sanitario, no solo debido a los residuos sino también por problemas de resistencia. 3) En general, los niveles de fluvalinato detectados fueron inferiores a las tolerancias establecidas, por lo que se considera que los riesgos para la salud humana al consumir estas mieles serían mínimos. 4) En cuanto a los niveles de fluvalinato y las características de los apicultores estudiados, se determinó que: Las mieles provenientes de colmenas localizadas en las comunas de Lago Ronco y Paillaco presentaron mayor concentración que las localizadas en Futrono, a pesar de que los apicultores muestreados en estas comunas poseen características similares. 5) El factor de importancia económica de la actividad apícola presentó un efecto sobre los niveles de residuos, de tal manera que, las concentraciones de fluvalinato más altas correspondieron a mieles de apicultores cuyos principales ingresos dependen de esta actividad.

En lo referido a los metales pesados destacamos la Tesis intitulada “Determinación de metales pesados y pesticidas en la miel de abeja del norte del estado de Durango, México” presentado en el Instituto Politécnico Nacional (Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango) en el año 2017 para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Gestión Ambiental por Marisol Sáenz Torres. Los materiales y métodos empleados en esta investigación se detallan a continuación: **1) Descripción del área de estudio:** Esta investigación se realizó en los municipios de Rodeo, El Oro e Indé del estado de Durango, en donde se registran ocho apiarios, de fácil acceso y cercano a carreteras. **2) Encuestas de campo:** Con la finalidad de conocer el tipo de agroquímicos utilizados para el control de plagas, enfermedades y malezas, se aplicaron 15 encuestas dirigidas a productores del sector agrícola, en donde se siembran cultivos, los cuales son muy visitados por abejas, debido a que son su principal fuente de alimentación. **3) Muestreo de miel:** Se tomó alrededor de 1.3 kg de miel de cada uno de los seis contenedores. La previa homogeneización de la miel procedente de los apiarios de estudio conforme a las especificaciones de la norma NMX-F-036-

1981 para métodos de muestreo. Enseguida se determinó el color por comparación de la escala de colores del colorímetro Lobi-Bond. Las muestras se etiquetaron y almacenaron para su análisis químico posterior. **4) Análisis químico:** Para el análisis de metales pesados, las muestras homogeneizadas se guardaron en contenedores de vidrio pequeño, se etiquetaron y se almacenaron hasta su análisis químico. Para la determinación de pesticidas, las muestras de miel se fundieron en baño María para su homogenización completa, luego se colocaron en frascos de vidrio con tapa de plástico y se etiquetaron. En esta investigación se obtuvieron las siguientes conclusiones: 1) Los resultados obtenidos en el análisis químico, indicaron que la miel procedente de los seis apiarios de estudio ubicados en los municipios de Indé, Rodeo y El Oro no están contaminadas con Cobre, Zinc Fierro o Plomo, según las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995 y The Association of American Feed Control Officials (AAFCO), (Méndez, 2001). Por lo tanto, no representan ningún daño a la salud humana según las normas citadas, estos valores también indican que la actividad minera y agrícola no han generado contaminación en la miel para estos metales, por lo cual, tampoco han afectado la calidad de esta. Así mismo, se determinó que la mayor concentración de fierro y zinc en las mieles corresponde a las de color oscuro, provenientes de la temporada de otoño. 2) La miel, las abejas y el polen son excelentes bioindicadores de contaminación de metales pesados, y aunque los niveles encontrados estuvieron muy por debajo de los límites permisibles, en las normas establecidas, se pudo comprobar la relación que existe entre las variables analizadas y su importancia. 3) Los reportes revisados señalan la evidencia de la presencia de pesticidas en la miel y otros productos de la colmena, que afectan la salud de las abejas y del ser humano. 4) De acuerdo con la literatura analizada, los estudios realizados en México sobre metales pesados en productos de la colmena son insuficientes, pues solo se han llevado a cabo en el Estado de Veracruz y Coahuila. Para garantizar la calidad de la miel en cada zona apícola, se requiere continuar con este tipo de estudios, para transmitirle al sector apícola los beneficios de ubicar apiarios en zonas no contaminadas.

A nivel nacional resaltamos la tesis intitulada “Concentración de plomo en la miel de *Apis mellifera* e inflorescencias de *Euliptus globulus* en seis zonas del valle del Mantaro” presentado en la Universidad Nacional del Centro del Perú - Huancayo en el año 2013 para optar el título profesional de Ingeniero Zootecnista por Angela Lucia Huaman Atapoma. El diseño de esta investigación consistió en la recolección de datos mediante una entrevista a los productores apícolas, la toma de muestras de miel de *Apis mellifera* e inflorescencias de *Eucalyptus globulus*. El tipo de investigación es aplicada, porque tuvo por finalidad conocer las posibles fuentes de contaminación y concentración de plomo en la miel de *Apis mellifera* e inflorescencias de *Eucalyptus globulus*, en seis zonas del valle del Mantaro. La metodología de estudio se realizó de la manera siguiente: 1) Evaluación de las posibles fuentes contaminantes de plomo en la miel de *Apis mellifera* e inflorescencias de *Eucalyptus globulus*. Se seleccionó los productores de miel de *Apis mellifera* de cada zona de estudio. Se aplicó la encuesta a cada uno de los productores apícolas en cada zona de estudio. 2) Determinación de la concentración de plomo la miel de *Apis mellifera* en seis zonas del valle del Mantaro: Recolección de las muestras de miel de *Apis mellifera*, análisis de laboratorio de las muestras de miel. 3)

Determinación de la concentración de plomo en las inflorescencias de *Eucalyptus globulus* en seis zonas del valle del Mantaro. En esta investigación se arribó a las conclusiones siguientes: 1) Las posibles fuentes de contaminación de plomo en la miel de *Apis mellifera* en las zonas de Muquiyauyo, Sincos, Orcotuna, El Mantaro, Matahuasi y El Tambo son la extracción la miel de forma artesanal y el uso de instrumentos que son fabricados con materiales de aluminio, las plantas mellíferas como el eucalipto y tuna. Las fuentes de agua de consumo de las abejas, como el agua de bebederos de establos y el agua de lluvia, el uso de cera estampada, uso de pintura para los equipos e instrumentos, la alimentación artificial a las abejas, el uso de agua sola en la higiene personal y de los instrumentos, el uso de plaguicidas y fertilizantes en la fumigación de los cultivos cerca al apiario. Las posibles fuentes contaminantes de plomo en las inflorescencias de *Eucalyptus globulus* son la corta distancia a la carretera y el flujo vehicular intenso, las actividades humanas como la fabricación de ladrillos y la elaboración de productos lácteo, la tala de árboles, la red de irrigación más próximas como las aguas del río Mantaro, canal de riego CIMIR y canal de riego PLAN MERIS. 2) La concentración de plomo en la miel de *Apis mellifera* en las seis zonas del valle del Mantaro: Muquiyauyo, Sincos, Orcotuna, El Mantaro, Matahuasi, El Tambo, fue < 0.04 mg/kg respectivamente, dicho promedio no supera los límites máximos permisibles para la miel que es 0.30 mg/kg como lo señala MERCOSUR 2011. 3) La concentración de plomo en las inflorescencias de *Eucalyptus globulus* en la zona de El Mantaro y Orcotuna, fue 0,54 mg/kg y 0.13 mg/kg respectiva mente, y las concentraciones obtenidas en las zonas de El Tambo, Matahuasi, Sincos y Muquiyauyo con 0,08 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,06 mg/kg y 0.05 mg/kg respectivamente.

2.2. Marco referencial

2.2.1. Miel

La miel es «el producto alimenticio producido por las abejas melíferas a partir del néctar de las flores o de las secreciones procedentes de partes vivas de las plantas o que se encuentran sobre ellas, que las abejas liban, transforman, combinan con sustancias específicas propias y almacenan y dejan madurar en los panales de la colmena. Este producto alimenticio puede ser fluido, espeso o cristalino»¹

La miel es la sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* o por diferentes subespecies, a partir del néctar de las flores y de otras secreciones extra florales que las abejas liban, transportan, transforman, combinan con otras sustancias, deshidratan, concentran y almacenan en panales². Constituye uno de los alimentos más primitivos que el hombre aprovechó para nutrirse. Su composición es compleja y los carbohidratos representan la mayor proporción, dentro de los que destacan la fructosa y glucosa, pero contiene una gran variedad de sustancias menores dentro de los que destacan las enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, antioxidantes, vitaminas y minerales.

¹ CANALES, M.L. La miel en la Alimentación humana. Hojas divulgadoras, 1-20, 1989.

² ULLOA, J.A. et al. La miel de abeja y su importancia: Revista fuente. 2010.

2.2.1.1. La miel, un recurso medicinal y alimenticio

El desarrollo de las sociedades humanas se ha sustentado en el aprovechamiento de los recursos naturales como en el caso de la miel, la cual se produjo mucho antes de la aparición del hombre en la tierra. Aunque la historia de la apicultura tiene sus raíces en los primeros asentamientos humanos, existen evidencias arqueológicas de que la miel bien pudo utilizarse como alimento desde el periodo Mesolítico, esto es 7000 años a.C. También se sabe que la primera referencia escrita para la miel es una tablilla Sumeriana, fechada entre los años 2100-2000 a.C.; dicha tablilla también menciona el uso de la miel como droga y como un ungüento. Por ello se afirma que la miel ha sido usada con propósitos médicos y nutricionales. Se estima que la miel es la medicina más antigua conocida y que en muchas razas fue prescrita por médicos para una variedad de enfermedades. Los antiguos egipcios, asirios, chinos y romanos usaron la miel en combinación con otras hierbas para tratar heridas y enfermedades del intestino. En la Grecia antigua, Aristóteles afirmaba que la miel podría aplicarse como un ungüento para las heridas y el dolor de ojos. Dioscórides alrededor del año 50 d.C. recomendaba a la miel para el tratamiento de quemaduras del sol, manchas en la cara y todas las pudrientas y huecas úlceras. El uso de la miel como un agente terapéutico ha continuado dentro de la medicina popular hasta nuestros días.

En la India, la miel de loto se usa para tratar enfermedades de los ojos. Otros ejemplos de los actuales usos de la miel en la medicina tradicional son: como terapia para piernas ulcerosas infectadas, dolor de oídos, tratamiento tópico de la rubeola y sarampión, úlceras gástricas y dolor de garganta. Hoy se sabe que el poder antibacteriano de la miel se debe principalmente a las inhibinas. Estas inhibinas consisten en peróxido de hidrógeno, flavonoides y ácidos fenólicos, además de otras sustancias sin identificar, aunque otros investigadores atribuyen la capacidad antibacteriana de miel a la combinación de propiedades tales como su alta osmolaridad, bajo pH, presencia de sustancias volátiles y bajo valor de actividad de agua. También se ha demostrado que la miel sirve como una fuente natural de antioxidantes, los cuales son efectivos para reducir el riesgo de enfermedades del corazón, sistema inmune, cataratas y diferentes procesos inflamatorios. La miel permaneció como el único endulzador primario natural disponible hasta el pasado Siglo XIX, cuando su consumo fue superado por el azúcar de caña o azúcar de remolacha, y más tarde por azúcares derivados del maíz. Hoy en día se acepta que la miel puede ser además un alimento protector, ya que tiene un gran número de sustancias que actúan de esa manera incluyendo el ácido ascórbico, péptidos pequeños, flavonoides, tocoferoles y enzimas, pudiendo ser una alternativa natural al uso de aditivos alimentarios para controlar el encafecimiento enzimático durante el procesamiento de frutas y verduras, así como ingrediente en la elaboración de jugos y conservas alimenticias, y en muchos otros alimentos para inferirles propiedades sensoriales propias de la miel³.

³ CHACHIN P. C (2012).; La miel como indicador de malos hábitos de apicultura.

2.2.1.2. Composiciones fisicoquímicas de la miel

La miel varía en su composición dependiendo de la fuente del néctar, las prácticas de apicultura, el clima y las condiciones ambientales⁴.

A) Los Carbohidratos: Constituyen el principal componente de la miel. Dentro de los carbohidratos los principales azúcares son los monosacáridos fructosa y glucosa. Estos azúcares simples representan el 85% de sus sólidos, ya que la miel es esencialmente una solución altamente concentrada de azúcares en agua. Los otros sólidos de la miel incluyen a lo menos otros 25 azúcares complejos, pero algunos de ellos están presentes en niveles muy bajos y todos están formados por la unión de la fructosa y glucosa en diferentes combinaciones.

B) El agua: El contenido de humedad es una de las características más importantes de la miel y está en función de ciertos factores tales como los ambientales y del contenido de humedad del néctar. La miel madura tiene normalmente un contenido de humedad por debajo del 18.5% y cuando se excede de este nivel, es susceptible a fermentar, particularmente cuando la cantidad de levaduras osmofílicas es suficientemente alta. Además, el contenido de agua en la miel influye en su viscosidad, peso específico y color, condicionando así la conservación y cualidades organolépticas de este producto. Después de la extracción de la miel de la colmena, su contenido de humedad puede cambiar dependiendo de las condiciones de almacenamiento.

C) Las Enzimas: Son añadidas principalmente por las abejas, aunque algunas pocas proceden de las plantas. Las abejas añaden enzimas a fin de lograr el proceso de maduración del néctar a miel y éstas son en gran parte las responsables de la complejidad composicional de la miel. El proceso involucrado en la conversión de los tres azúcares básicos del néctar a por lo menos 25 azúcares adicionales de gran complejidad es difícil de entender. La enzima más importante de la miel es la α glucosidasa, ya que es la responsable de muchos de los cambios que ocurren durante la miel; también se conoce como invertasa o sucrasa y convierte el disacárido sacarosa de la miel en sus constituyentes monosacáridos fructosa y glucosa. Otras enzimas presentes en la miel son la glucosa oxidasa, responsable en gran parte de la propiedad antibacteriana de la miel; la catalasa, responsable de convertir el peróxido de hidrógeno a oxígeno y agua; la ácido fosfatasa, que degrada el almidón; la diastasa que se usa indicador de aplicación de calor a la miel.

D) Proteínas y aminoácidos: La miel contiene aproximadamente 0.5% de proteínas, principalmente como enzimas y aminoácidos. Los niveles de aminoácidos y proteína en la miel son el reflejo del contenido de nitrógeno, el cual es variable y no supera el 0.04%. Entre el 40-80% del nitrógeno total de la miel es proteína. Cerca de 20 proteínas no enzimáticas se han identificado en la miel, muchas de las cuales son comunes a distintas mieles. Algunas de ellas tienen su origen en las

⁴ CANALES, M.L. La miel en la Alimentación humana. Hojas divulgadoras, 1-20, 1989.

abejas y otras en el néctar de la planta. La presencia de las proteínas en la miel resulta en una baja tensión superficial, lo que fomenta la formación de las finas burbujas de aire en una marcada tendencia al espumado. La cantidad de aminoácidos libres en la miel es pequeña y no tiene importancia nutricional. En la miel se han encontrado entre 11 y 21 aminoácidos libres, de los cuales la prolina representa alrededor de la mitad del total. Además de la prolina, el ácido glutámico, alanina, fenilalanina, tirosina, leucina e isoleucina se presentan en niveles mayores. Los aminoácidos reaccionan con algunos de los azúcares para producir sustancias amarillas o cafés responsables del oscurecimiento de la miel durante su almacenamiento⁵.

E) Los ácidos y el pH: La gran dulzura de la miel enmascara en gran parte el sabor de los ácidos orgánicos presentes en la miel, los cuales representan aproximadamente el 0.5% de los sólidos de este alimento. Los ácidos orgánicos son los responsables del bajo pH (3.5 a 5.5) de la miel y de la excelente estabilidad de la misma. Son varios los ácidos orgánicos que están presentes en la miel, aunque el que predomina es el ácido glucónico. El ácido glucónico se origina de la glucosa a través de la acción de la enzima glucosa oxidasa añadida por las abejas. El efecto combinado de su acidez y el peróxido de hidrógeno ayudan a la conservación del néctar y la miel. Otros ácidos orgánicos contenidos en menor proporción en la miel son el fórmico, acético, butírico, láctico, oxálico, succínico, tartárico, maleico, pirúvico, piroglutámico, cetoglutámico, glicólico, cítrico, málico.

F) Vitaminas y minerales: La cantidad de vitaminas en la miel y su contribución a la dosis recomendada diaria de este tipo de nutrientes es despreciable. El contenido mineral de la miel es altamente variable, de 0.02 a 1.0%, siendo el potasio cerca de la tercera parte de dicho contenido; la cantidad de potasio excede 10 veces a la de sodio, calcio y magnesio. Los minerales menos abundantes en la miel son hierro, manganeso, cobre, cloro, fósforo, azufre y sílice.

G) Componentes del aroma, color y sabor: Existe una gran variedad de mieles con diferentes aromas, colores y sabores, dependiendo de su origen botánico. Los azúcares son los principales componentes del sabor. Generalmente la miel con un alto contenido de fructosa es más dulce que una miel con una alta concentración de glucosa. El aroma de la miel depende en gran medida de la cantidad de ácidos y aminoácidos. El color de la miel varía desde extra-clara, pasando por tonos ámbar y llegando a ser casi negra; algunas veces con luminosidad amarilla típica, verdosa o de tono rojizo. El color está relacionado con el contenido de minerales, polen y compuesto fenólicos. Las mieles oscuras tienen un alto contenido de fenoles y consecuentemente una alta capacidad antioxidante.

H) Conductividad eléctricas: Este parámetro está relacionado con la concentración de sales minerales, ácidos orgánicos y proteínas, por lo cual es una medición útil para establecer el origen geográfico de los distintos tipos de mieles. Se ha sugerido a la medición de conductividad eléctrica como una técnica indirecta para determinar el contenido de minerales de distintos tipos de mieles, debido a que es un valor estable que no varía significativamente durante el almacenamiento del

⁵ ULLOA, J.A. et al. La miel de abeja y su importancia: Revista fuente. 2010.

alimento y además indica si las abejas han sido alimentadas con azúcares. El rango de conductividad eléctrica en la miel es de 0.60 y 2.17 mS/cm (milisiemens/centímetro)⁶.

2.2.1.3. Clases de miel

Cabe señalar que no se debe hablar de miel, sino de mieles, su variedad es muy grande y su sabor y color dependen de la flor de la que procede el néctar. Podemos distinguir como más comunes las mieles de romero, azahar, girasol, eucalipto, cantueso, espliego, tomillo, brezo, albaida, miel de bosque, etcétera⁷.

El Código Alimentario Español clasifica las mieles en tres grandes grupos.

A) Mieles multiflorales: Son aquellas que proceden de una flora variada que hacen imposible identificar su procedencia exacta.

B) Mieles uniflorales: Son las mieles que provienen principalmente de una especie vegetal determinada y poseen, por tanto, características organolépticas específicas que se pueden definir de una manera bastante precisa.

C) Miel de mielada: Es la obtenida primordialmente a partir de secreciones azucaradas de las partes vivas de las plantas o que se encuentran sobre ellas.

2.2.1.4. Principales enfermedades que aquejan la apicultura

El Código Sanitario para los Animales Terrestres identifica seis enfermedades que aquejan a las abejas, los cuales desarrollamos a continuación:

A) Acarapisosis: Es causada por un ácaro microscópico, *Acarapis woodi*, denominado también ácaro traqueal, un parásito interno del sistema respiratorio de las abejas adultas que se alimenta de hemolinfa. Se ha registrado la acarapisosis en Norteamérica, Sudamérica, Europa y Oriente Medio. La tasa de mortalidad varía, pero una infestación masiva causa alta mortalidad. Se transmite a las abejas por contacto directo y las abejas recién salidas del huevo son más sensibles. El diagnóstico se efectúa por observación de los ácaros en la tráquea.

B) Loque americana: Es una enfermedad grave de las abejas melíferas causada por una bacteria productora de esporas llamada *Paenibacillus larvae*. Está presente en todo el mundo. La bacteria mata las larvas en las celdillas de cría. En las colmenas infectadas, la colonia presenta un aspecto irregular o salteado debido a las celdillas vacías, a veces con un olor característico, y la cría tiene una apariencia viscosa o húmeda. La loque americana es transmitida por las esporas bacterianas que se forman en las larvas infectadas y son muy resistentes y sobreviven varios años. Las esporas diseminan la enfermedad por traslado de la cera, de las reinas, intercambio de panales o de miel contaminada. El diagnóstico se confirma mediante identificación de la bacteria por medios moleculares, por cultivo o microscopía. El

⁶ ULLOA, J.A. et al., La miel de abeja y su importancia: Revista fuente 2010, págs.11-14.

⁷ CANALES, M.L. La miel en la Alimentación humana. Hojas divulgadoras, 1-20, 1989.

tratamiento con antibióticos destruirá las bacterias vegetativas, pero no las esporas, así que la enfermedad se repetirá. Por ello se recomienda con frecuencia quemar la colmena y los equipos, ya que puede ser la única manera de destruir las esporas.

C) Loque europea: Enfermedad de las abejas melíferas causada por la bacteria *Melissococcus plutonius*. A pesar del nombre, se encuentra en Norteamérica, Sudamérica, Oriente Medio y Asia. Al igual que la loque americana, las bacterias de la loque europea matan las larvas dejando vacías las celdillas del panal. La enfermedad se transmite por contaminación mecánica de los panales y tiende, por tanto, a persistir año tras año. También puede ser transmitida por las abejas que sobreviven a una infección en la fase larval y diseminan las bacterias en las deyecciones. El diagnóstico se efectúa por microscopía.

D) Infestación por el escarabajo de las colmenas: El pequeño escarabajo de las colmenas, *Aethina tumida*, es un depredador y parásito de las colonias de abejas melíferas. Es oriundo de África, pero fue introducido en los Estados Unidos, Egipto, Canadá y Australia por el movimiento comercial de abejas. Considerado como una plaga menor en su territorio original, se ha convertido en un problema importante en las zonas donde se ha introducido. Tanto los adultos como las larvas de los escarabajos se alimentan de larvas, polen, miel y cría de abejas. La hembra adulta pone sus huevos en la colmena. Cuando eclosionan, salen las larvas que se alimentan de la cría de las abejas, polen y miel, después dejan la colmena para entrar en la fase de pupa en el suelo. Una vez en estadio adulto, vuelan en busca de nuevas colmenas. Por consiguiente, la propagación puede ser rápida, ya que los adultos tienen un alcance de varios kilómetros. Si la infestación es masiva, las abejas pueden desertar la colmena. El diagnóstico se efectúa por identificación de los escarabajos adultos en la colmena. Es posible aplicar un tratamiento con insecticidas que maten al escarabajo y no a las abejas, pero con el riesgo de que queden residuos en la miel.

E) Tropilaelaps: Existen varias especies de ácaros *Tropilaelaps*, en particular *Tropilaelaps clareae* y *T. koenigerum*. Cada especie tiene un ámbito geográfico distinto, pero todas se encuentran en Asia. Estos ácaros son parásitos externos que se alimentan de las crías de abejas (larvas y pupas) y causan un patrón irregular de crías operculadas y sin opercular, así como deformidades en los adultos. Se diseminan por contacto directo de abeja a abeja o por el movimiento de la cría. Son suficientemente grandes de modo que se los puede percibir a simple vista, también se dispone de pruebas de diagnóstico morfológico y molecular. Existen tratamientos químicos para reducir o eliminar estos ácaros.

F) Varroasis: Es causada por un ácaro, un parásito externo de las abejas adultas y de sus crías. Existen cuatro especies de ácaros *Varroa*, pero *Varroa destructor* es el más importante. Se encuentra en todo el mundo salvo en Australia y la isla sur de Nueva Zelanda. Es conocido por transmitir un virus que causa deformación del ala, las abejas adultas afectadas con varroasis también presentan el abdomen más corto. Los primeros signos de infección normalmente pasan desapercibidos, y solo

cuando la infección es masiva se hacen aparentes, y se pueden observar ácaros adultos en las abejas. La infección se propaga por contacto directo de abeja adulta a abeja adulta. Este ácaro puede actuar también como vector de virus de la abeja melífera⁸.

2.2.2. Pesticidas o plaguicidas

Los conceptos de pesticidas y plaguicidas pueden entenderse como sinónimos, ya que la única diferencia que existe entre ambos es el derivado de la palabra, pesticida proviene de la palabra en inglés "Pest" que significa plaga y plaguicida también proviene de la palabra plaga.

Un pesticida es "cualquier sustancia o mezcla de éstas que tenga por objeto prevenir, destruir, repeler o mitigar cualquier tipo de insecto, roedor, nematodo, hongo, hierba o cualquier otra forma de vida declarada como plaga"⁹.

Los pesticidas o plaguicidas son sustancias químicas destinadas a matar, repeler, atraer, regular o interrumpir el crecimiento de plagas que perjudican la producción agrícola. El uso intensivo de plaguicidas tiene consecuencias desastrosas para el medio ambiente. Hay una contaminación significativa del suelo, de los cultivos y plantas silvestres, del aire y del agua¹⁰.

El insecticida es un producto fitosanitario utilizado para controlar, insectos (Insecta, en latín, literalmente "cortado en medio", basado en la observación directa de la simetría bilateral de los mismos), generalmente por la inhibición de enzimas. El origen etimológico de la palabra insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Es un tipo de biocida. Los biocidas pueden ser sustancias químicas sintéticas, naturales, de origen biológico o de origen físico que están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo considerado nocivo para el hombre. Los insecticidas tienen importancia para el control de plagas de insectos en la agricultura o para eliminar todos aquellos que afectan la Salud humana y animal¹¹.

En consecuencia, los insecticidas son los que presentan más riesgo para las abejas, pero también hay que tomar en cuenta a los fungicidas y herbicidas. Las abejas pueden entrar en contacto con el pesticida de varios modos: directamente al pulverizar, por el polvo al sembrar con semillas tratadas, al pecorear polen, néctar o agua contaminados por residuos tóxicos. El modo de intoxicación más insidioso resulta del consumo de polen y néctar contaminados almacenados en la colmena. Existen varios niveles de intoxicación: aguda, con la muerte a corto plazo, crónica, cuando la abeja está enfrentada al veneno durante un tiempo más largo con posiblemente, la muerte al final. El pesticida

⁸ OIE. Fichas de información general sobre enfermedades animales: Enfermedades de las Abejas. Paris, Francia, 2015. Morrison INRA.

⁹ AGENCIA DE PROTECCIÓN AMBIENTAL DE ESTADOS UNIDOS. (actualizado 25 de octubre de 2016) (fecha de consulta 27 de marzo del 2018). Disponible en: <https://espanol.epa.gov/espanol/plaguicidas>.

¹⁰ SABENCH, J. Pesticidas y abejas - Confederation Paysanne – Francia (2011).

¹¹ CAMARA DE SEGURIDAD AGROPECUARIA Y FERTILIZANTES (CESAFE). Informe: Insecticidas y acaricidas. Buenos Aires, Argentina, 2014.

puede dañar la abeja sin matarla, ya que se trata de efectos subletales. Las bajas dosis de tóxicos pueden actuar sobre la abeja de varios modos: neuronal, comportamental, fisiológico, bioquímico o

celular. Los efectos subletales pueden alterar: el comportamiento, la nutrición, la comunicación, la termorregulación, el aprendizaje y la memoria y provocar el debilitamiento de la inmunidad de la colonia, y la resistencia a patógenos y parásitos.

2.2.2.1. Tipos de insecticidas.

Se pueden establecer dos tipos de insecticidas: los insecticidas convencionales y los insecticidas bio-rationales¹².

A) Convencionales: Se dividen en grupos según los procesos fisiológicos sobre los que actúan:

a) Organoclorados: Son los primeros insecticidas de síntesis que se utilizaron en la historia. Son compuestos químicos orgánicos, decir cuya estructura principal está formada por una cadena de átomos de carbono (C), y como grupos sustituyentes el átomo de cloro (Cl). Antiguamente se utilizaban insecticidas naturales, el azufre, la nicotina, la rotenona (extraída de una planta llamada derris), o el piretro (extraído de las cabezas florales de los crisantemos). El primer Organoclorado que se sintetizó fue el DDT en 1939, actualmente prohibido por los daños irreversibles causados por su efecto. Hay cuatro principales familias de derivados Organoclorados: Los derivados del hexaclorociclopentadieno (Aldrin, Dieldrin, Endrin), los derivados del 2,2-difeniletano (DDT, Metoxiclor, Dicofol), los derivados del ciclohexano (Lindano) y los de estructura química en forma de caja (Declorane, Clordecone). En general los derivados Organoclorados actúan por contacto, posterior absorción local y acción biocida. Estos insecticidas han sido prohibidos por su acción tóxica, encontrándose en el mercado solamente algunos derivados cuyo desarrollo tecnológico ha logrado morigerar los efectos nocivos y ser utilizados efectivamente siempre bajo una manipulación segura para el hombre.

b) Organofosforados: Son compuestos químicos orgánicos derivados del Ácido Fosfórico, aunque un átomo de oxígeno del ácido fosfórico puede ser sustituido por un átomo de Azufre. Así se producen diferentes combinaciones que dan origen a una serie de grupos: Ésteres fosfóricos, Ortofosfatos (Diclorvós) y Pirofosfatos (TEPP), Fosfotionatos (Fenitrotión) y Fosfotiolatos (Metasistox), Esteres ditiofosfóricos (Malatión), Amidas del ácido ortofosfórico (Crutomato) y Fosfonatos (Triclorfón). Los insecticidas Organofosforados, por la acción del agua (hidrólisis) se destruyen, por lo que no son persistentes en el medio ambiente, no dejando residuos evidentes ni de larga duración. Por este motivo los Tiempos de Carencia de los Organofosforados suelen ser más cortos que los Organoclorados. Son neurotóxicos que actúan inhibiendo la enzima colinesterasa. Existen diversos modos de acción, por contacto o sistémicos, siendo absorbido por las plantas,

¹² PADILLA, M. A.; 1999. "protocolos de vigilancia sanitaria".

translocándose y actuando cuando el insecto ataca ingiriendo la planta.

c) Carbamatos: Luego de los Organoclorados y los Organofosforados la síntesis de insecticidas evolucionó hacia productos como los Carbamatos, familia de insecticidas orgánicos que contempla derivados Carbámicos. Hay diferentes formas de este grupo, con diferentes funciones, como por ejemplo los ditiocarbamatos que son fungicidas, los fenilcarbamatos que son herbicidas, y los metilcarbamatos que son insecticidas confiriendo diferente función a la sustancia (así los fenilcarbamatos son herbicidas, los ditiocarbamatos son fungicidas, y los metilcarbamatos insecticidas). Dentro de los insecticidas Carbámicos, se encuentran dos grupos: Dimetilcarbamatos, (Dimetan) y N-metilcarbamatos, (Carbaril). El modo de acción de los insecticidas Carbámicos es de neurotóxicos, pero con la diferencia, que son menos tóxicos para animales y seres humanos. Dentro de este grupo encontramos insecticidas de acción sistémica, que debe ser aprovechada en dosis efectivas.

d) Piretrinas: Son insecticidas naturales, extraídas de una especie vegetal, el *Chrysanthemum cinaerifolium*. Si bien son eficaces en algunas especies, su uso en la agricultura ha disminuido ya que son fácilmente degradables por la luz solar (foto degradación), perdiendo rápidamente efectividad. Este hecho, ha derivado en la Investigación y Desarrollo de productos químicos de síntesis que no sean fotodegradables. Luego del desarrollo de algunos compuestos como la aletrina, el tetrametrin, el fenotrin o el neopynamin, que superaban en eficacia a los naturales, no se lograba todavía un resultado óptimo en cuanto a la foto degradación, por lo que se aconsejaba aplicarlos en horarios de baja intensidad lumínica. La investigación siguió avanzando hasta obtener los piretroides más estables a la luz, y de una rápida utilización una vez aplicados, que permite un mayor margen de eficiencia y eficacia. Se pueden resumir en dos grupos: Los piretroides que conservan el anillo ciclopropano característico de las Piretrinas naturales y (Permetrina, cipermetrina, deltametrina, fenpropatrin) y los Piretroides que han perdido el anillo ciclopropano, (Fenvalerato, fluvalinato). El modo de acción de los piretroides es la paralización que propina un efecto de volteo o knock-out del insecto, posteriormente convulsiones y finalmente mueren. Es importante aclarar que puede ocurrir una detoxificación en organismos resistentes por lo que el volteo no siempre es seguido de la muerte del insecto. Para ello se suelen utilizar sinergizantes (son sustancias auxiliares que actúan asemejando a catalizadores) como el Butóxido de Piperonilo, que intensifican la acción del piretroide. La gran ventaja de las Piretrinas es su baja toxicidad en animales mamíferos y seres humanos y muy alta en insectos, a esto se le llama alto grado de selectividad, pero pueden ser tóxicos en peces, por lo que una medida de manejo importantísima es la protección de espejos de agua. También tienen un uso hormiguicida cuando se los combina con resina u otros excipientes de origen graso en tratamiento de suelos, con acción duradera.

B) Bioracionales: Estos insecticidas se caracterizan por tener una acción particular en cada insecto. Gran parte de estos insecticidas no son obtenidos por síntesis química. Son los insecticidas que interfieren en los procesos fisiológicos propios del insecto como, por ejemplo: mudas de larvas,

crecimiento, apareamiento de insectos, puesta de huevos, alteran la reproducción, la alimentación del insecto y la detección olfativa. Un ejemplo muy conocido es el de la Abamectina, (obtenida por fermentación de *Streptomyces avermectilis*), que tiene un uso adicional como acaricida. Otro grupo importante son los inhibidores de la formación de quitina o exoesqueleto del insecto, por lo que las larvas de los insectos no pueden desarrollarse y mudar. Otros productos evitan la eclosión de los huevos y si alguno llega a buen fin, las larvas recién emergidas sucumben al poco tiempo. Dentro de este grupo se encuentran las benzoilureas, como el diflubenzurón, clorfluazurón, flufenozurón, hexaflumurón y otros. También pueden considerarse como insecticidas bioracionales a las feromonas. La ecdisoma y la hormona juvenil, que producen los insectos les permiten regular su desarrollo de larva a pupa. Un producto similar a la hormona juvenil, como por ejemplo el metopropeno, hace que el estado de larva aumente de tamaño, pero no pueda evolucionar a pupa, con lo que se ve interrumpida la metamorfosis y se impide que el insecto llegue a ser adulto que, en algunos casos, (no en todos) puede ser el estadio que provoque el mayor daño en los cultivos. Existen otros productos que, sin ser hormonas, actúan de manera similar a las hormonas, como el fenoxicarb (que es en realidad un Carbamato). Otra característica de algunos de estos productos es el efecto contrario a la hormona juvenil que es muy efectivo también para el control de insectos, estimulando la muda y produciendo una metamorfosis rápida, con adultos muy jóvenes y pequeños, sexualmente inmaduros que no dejan descendencia fértil, son por ejemplo los precocenos. Las feromonas (hormonas) son mensajeros químicos que sintetizan los insectos y que inducen determinadas reacciones de tipo biológicas. Un caso de este tipo son las feromonas sexuales, que emiten las hembras de los insectos para atraer a los machos. Se usan para:

1. Cebos masivos (mass-trapping). Se preparan cebos con feromonas en lugares no susceptibles de ser atacados por los insectos y al diluir la plaga sus efectos son menores.

2. Confusión: Produce desorientación de los machos por sentir atracción desde diversos puntos y dificulta el apareamiento.

3. Seguir la expansión de la plaga. Poniendo trampas con la feromona y siguiendo la evolución de los desplazamientos y poblaciones. Otro grupo de insecticidas bioracionales son los denominados insecticidas biológicos, también llamados plaguicidas microbianos. El más conocido es el *Bacillus thuringiensis*. Que ataca ciertas orugas, dípteros o coleópteros. El mecanismo de acción del bacilo es la producción de una endotoxina que se desdobra en el intestino del insecto al ser ingerido, produciendo parálisis e impidiendo la alimentación. Hay otros insecticidas biológicos que siguen en experimentación y que se están tratando genéticamente para poder alcanzar una mayor escala en agricultura extensiva, pero retan años de investigación para conocer cuáles pueden ser sus efectos. Todos estos insecticidas biológicos además se están tratando de modificar genéticamente mediante ingeniería genética para aplicarlos a la agricultura extensiva y hacerlos más eficaces, aunque esto está

discutiéndose acaloradamente dado que los efectos que pueden ocasionar se desconocen¹³.

2.2.2.2. Fluvalinato.

El fluvalinato es un insecticida del follaje y acaricida, obtenido sintéticamente usando como modelo las piretrinas, que son aisladas a partir de las flores del crisantemo, siendo los piretroides altamente lipofílicos y clasificados como una molécula moderadamente dañina¹⁴.

El fluvalinato, piretroide sintético, es una mezcla incolora y aceitosa de dos diastereoisómeros, fácilmente soluble en disolventes orgánicos (hidrocarburos aromáticos, éter etílico, éter de petróleo, diclorometano) y alcoholes. Este plaguicida se ha utilizado tradicionalmente en cultivos de vegetales y de plantas ornamentales. Su espectro como plaguicida es similar al de otros piretroides sintéticos, sin embargo, su actividad acaricida y aficida es muy superior¹⁵.

Su modo de acción está basado en cambios de permeabilidad de los canales del sodio en las membranas de las células nerviosas, causando una despolarización e hiperexcitabilidad prolongada (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1995). La sinapsis neuromuscular de los insectos es un blanco especialmente importante para los piretroides, como también para otros insecticidas. Los signos de intoxicación con piretroides en insectos se desarrollan rápidamente entre 1-2 minutos y son; hiperexcitabilidad, convulsiones, ataxia y descoordinación. Los cuales pueden resultar en la caída, es decir, la pérdida de la postura normal y de la locomoción¹⁶.

Se han realizado numerosos estudios para detectar la presencia de Fluvalinato en mieles procedentes de colmenas tratadas con este acaricida. Borneck indicó que con tratamientos de 1'2 mg de fluvalinato por colmena no se presentaban problemas residuales. Ducos de Lahitte encontró valores promedio de 15'7, ug/kg en muestras procedentes de colmenas tratadas, observando que estos residuos se presentaban en cantidad 40 veces menor a la encontrada en frutas. Lubinevski et al. Indicaron la gran importancia que tiene el realizar el tratamiento durante los períodos en los que no hay cosecha de miel. Para el análisis de fluvalinato, tradicionalmente se ha utilizado la cromatografía de gases con columnas empaquetadas y detector de llama. Sin embargo, esta técnica no es adecuada, ya que los piretroides son muy inestables en estas y la sensibilidad en su detección es muy baja. Pero es la cromatografía de "gases con columnas apilares de sílice fundida y detector de captura de electrones, la que consigue una mayor selectividad y sensibilidad en el análisis de fluvalinato¹⁷.

A) Afinidad del fluvalinato por la cera de abejas: Debido a sus propiedades altamente

¹³ (CESAFE), Informe: Insecticidas y acaricidas. Buenos Aires, Argentina 2014, págs.390-393.

¹⁴ NEIRA.C. et al. Residuos del Tau Fluvalinato (piretroide) en la cera de la cámara de cría y su efecto sobre larvas de abejas de la casta obrera (*Apis mellifera* L.): Agro Sur. Valdivia, Chile, 2011.

¹⁵ SANCHO, M. Análisis de residuos de fluvalinato en la miel mediante GC/ECD: Agroquímica Tecnológica Alimenticia. La Coruña, España, 1991.

¹⁶ NEIRA.C. et al. Residuos del Tau Fluvalinato (piretroide) en la cera de la cámara de cría y su efecto sobre larvas de abejas de la casta obrera (*Apis mellifera* L.): Agro Sur. Valdivia, Chile, 2011

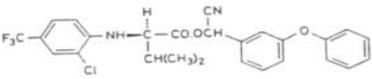
¹⁷ SANCHO, M. Análisis de residuos de fluvalinato en la miel mediante GC/ECD: Agroquímica Tecnológica Alimenticia. La Coruña, España, 1991.

lipofílicas a diferencia de otros residuos el fluvalinato se presenta en la cera muy fácilmente, no así en la miel. Sin embargo, una vez que el fluvalinato se encuentra en la miel, éste permanece ahí por un largo tiempo. Igualmente agrega que es una molécula muy estable y por cierto uno de los piretroides sintéticos fotoestables modernos más utilizados principalmente en el control de varroasis¹⁸.

B) Uso del fluvalinato en el control de varroasis: Tanto el Apistanâ, Mavrikâ y Klartanâ son formulaciones comerciales que existen en el mercado mundial, de los cuales sólo el Apistanâ es el único químico aprobado para el uso apícola, mientras que los otros son utilizados en la agricultura. El tau-fluvalinato es uno de los ingredientes activos más interesantes debido a su uso extensivo a escala mundial y a su alto poder acaricida. El fluvalinato impregnado en tiras plásticas fue oficialmente aprobado para ser utilizado en Estados Unidos y en varios países desde 1988, mientras que en Chile, se utilizan tablillas artesanales impregnadas con fluvalinato desde hace aproximadamente 11 años. Es que pueden terminar siendo tóxicos para la colonia de abejas por la dificultad que presenta su dosificación y el alto riesgo de desencadenar resistencia al acaricida debido a la utilización de dosis sub-letales.

C) Características físico - químicas del fluvalinato: El fluvalinato, piretroide sintético, es una mezcla incolora y aceitosa de dos diestereoisómeros, fácilmente soluble en disolventes orgánicos (hidrocarburos aromáticos, éter etílico, éter de petróleo, diclorometano) y alcoholes. La actividad de este compuesto es única debido a que está condicionado por la temperatura: a menor temperatura su actividad es mucho más fuerte y viceversa. Sus principales características se presentan en el siguiente cuadro.

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del fluvalinato.

Fórmula química	
Fórmula molecular	C ₂₆ H ₂₂ ClF ₃ N ₂ O ₃
Nombre químico	(RS)-2-ciano-3-fenoxibenzil N-(2-cloro-2,4,6-trifluoro-p-tolyl)-D-valinato. (IUPAC). Ciano(3-fenoxifenil)metil N-[2-cloro-4-(trifluorometil) fenil]-D-valinato. (C.A.)
Familia química	Piretroides, trifluorometilos
Peso molecular	502,23
Estado físico	Aceite viscoso
Color	Amarillo
Densidad	1,29 g/cm ³
Presión de vapor	< 1*10 ⁻⁷ torr a 25°C
Solubilidad	Insoluble en 0,005 µ/ml de agua (2 ppb). Altamente soluble en solventes orgánicos e hidrocarburos aromáticos
Punto de ebullición	> 450° C

Fuente: Adaptado de Environmental Protection Agency (1986), Department of Agriculture, Soil Conservation Service (1990) y Meister (1992) citado por CORNELL UNIVERSITY et al. (1996).

¹⁸ SILLARD PÉREZ, S.A. Residuos de Fluvalinato en era de abejas. Valdivia, Chile, 2002.

D) Toxicidad del fluvalinato: Esta sustancia presenta una toxicidad aguda moderada. Su modo de acción está basado en cambios en la permeabilidad de los canales de sodio del sistema nervioso, causando depolarización prolongada e hiperexcitabilidad. El metabolismo de los mamíferos es muy eficiente y posee alta tolerancia hacia este compuesto¹⁹.

E) Causas de la contaminación de la miel con residuos de fluvalinato: El uso de pesticidas dentro de la colmena implica un riesgo directo de contaminación de la miel y de sus otros productos. En su mayoría los apicultores no tienen el conocimiento apropiado acerca del manejo de pesticidas y pocos han adquirido el entrenamiento adecuado para administrar los químicos con seguridad dentro de la colmena. Como consecuencia expone que, además del daño ocasionado a la abeja, existen residuos de químicos en la cera, miel y otros productos de la colmena. Los problemas potenciales que ocasionan van desde resistencia del ácaro a los químicos hasta cambios en la actitud del consumidor acerca de la posibilidad de contaminación de la miel, polen y jalea real. Así mismo, cabe señalar que con más frecuencia se utilizan pesticidas en la colmena, es más alto el riesgo que puedan detectarse residuos en los productos de la abeja, como miel, propóleos y cera, argumentando en favor de la existencia de cuatro mecanismos básicos por los cuales se presentan residuos en la miel después del uso de acaricidas: mal uso de medicamentos, por ejemplo cuando se emplean durante el flujo de néctar, como también una dosis perjudicial con la consecuencia que más pesticida penetre en las colonias innecesariamente. Otro mecanismo de contaminación, es el uso de pesticidas utilizados normalmente durante el período de alimentación, con la consecuencia que los alimentos de invierno son algunas veces contaminados con acaricidas. Así, en primavera las abejas al reponer su alimento sobre restos contaminados del alimento invernal, los residuos pueden penetrar la miel de primavera. Otra forma de contaminación depende del proceso de desorperculación. En este proceso varias partículas que contienen residuos, pueden penetrar la miel durante el proceso de extracción y de esta manera contaminarla. La última forma de contaminación es la migración de residuos de la cera a la miel.

F) Tolerancia a los residuos de fluvalinato: DE GREEF et al. (1994), señala que la ingesta diaria aceptable (ADI) es de 0,01 mg/kg por kilo de peso de la persona. Esto se traduce en que la ingesta máxima permisible (IMP) para una persona de 60 kg es de 0,6 mg/kg/día, cantidad que representa lo que una persona puede consumir sin sufrir daños. Sin embargo, la OMS citado por CARAVIA (1997) establece un ADI de 0,005 mg/kg/día. Aún más estricto es el criterio de THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS (EMEA) (1995), indicando un valor ADI entre 0 y 0,0005 mg/kg. Los límites máximos de residuos (LMR), son fijados como límites máximos aceptables de residuos tóxicos, expresados en partes por millón, que equivale a la cantidad de residuos en miligramos de producto químico por kilo de alimento, que es

¹⁹ THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, (EMEA), 1995.

toxicológicamente aceptable para que no produzca problemas en la salud del consumidor²⁰.

Para la miel, producto principal de la colmena, no existe un LMR para los pesticidas fijado por la Unión Europea (UE), pero varios países como Alemania, Holanda e Italia tienen sus propios límites. En algunos casos se especifica una sustancia en particular y en otros casos existe un límite general de 10 µg/kg ó 50 µg/kg (MARTIN, 1999). WALLNER (1999), especifica los siguientes LMR para Italia: 10 µg/kg; Holanda: 50 µg/kg; Alemania: 10µg/kg; Suiza: 50µg/kg; UE: no considera y USA: 50µg/Kg²¹.

2.2.2.3. Metales pesados.

Según la tabla periódica, los metales pesados son elementos químicos con alta densidad (mayor a 4 g/cm³), masa y peso atómico por encima de 20, y son tóxicos en concentraciones bajas. Algunos de estos elementos son: aluminio (Al), bario (Ba), berilio (Be), cobalto (Co), cobre (Cu), estaño (Sn), hierro (Fe), manganeso (Mn), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), arsénico (As), cromo (Cr), molibdeno (Mo), níquel (Ni), plata (Ag), selenio (Se), talio (Tl), vanadio (Va), oro (Au) y zinc (Zn) [9,10]. En general se considera, que los metales son perjudiciales, pero muchos resultan esenciales en nuestra dieta y en algunos casos, su deficiencia o exceso puede conducir a problemas de salud, por ejemplo, el organismo requiere de hierro, cobalto, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, vanadio, estroncio y zinc. Otros en cambio no cumplen una función fisiológica conocida, alteran la salud y es mejor evitarlos siempre.

“Los metales pesados son sustancias propias de la naturaleza de peso molecular alto, muy difundidos y en muchos casos muy útiles como, por ejemplo, el plomo que se utiliza mucho para tubería, y el cadmio. Hablando ya de la contaminación, los metales pesados tienen efectos en la salud y afectan diferentes órganos. Esa sería una definición más o menos general”²².

Los residuos por metales pesados en la miel no parecen preocupantes, ni siquiera en las proximidades de las autopistas, minas o fábricas, aunque en algunos análisis aparecen trazas. Las que se han detectado de mayor importancia se deben a los recipientes de plomo o zinc usados por los agricultores durante la extracción de la miel. La introducción del acero inoxidable en la fabricación del material destinado a la apicultura es la mejor prevención a esta contaminación²³.

A) Fuentes de contaminación de metales pesados en alimentos: Se encuentran de manera natural en el ambiente en concentraciones que, por lo general, no perjudican las diferentes formas de vida. Los metales pesados no pueden ser degradados o destruidos, pueden ser disueltos por agentes físicos y químicos y ser lixiviados. Algunos forman complejos solubles y son transportados y

²⁰ CARAVIA, L. 1997. Determinación de residuos de fluvalinato en miel, producto del control estival de *Varroa jacobsoni* Oud. (mesostigmata: Varroidae), con acaricidas aplicados en el alza mielaria.

²¹ SILLARD PÉREZ, S.A. Residuos de Fluvalinato en era de abejas de colmenares de la Décima Región. Valdivia, Chile, 2002.

²² EROSTEGUI REVILLA, D.P. Contaminación por metales pesados (K.P. Ledezma, Entrevistador). 2009.

²³ CANALES, M.L. La miel en la Alimentación humana. Hojas divulgadoras, 1-20. 1989.

distribuidos a los ecosistemas hasta incorporarse en la cadena trófica (suelo, agua, plantas, semillas y forrajes), primordialmente aquellos procedentes de áreas contaminadas. A continuación, se indican posibles fuentes de contaminación de los alimentos por metales pesados.

Tabla 2. Fuentes de contaminación en alimentos.

Origen de contaminación	Metal pesado involucrado
Natural, proveniente del suelo	Cadmio, bromo, flúor, cobre
Uso de insecticidas, desinfectantes y medicamentos	Arsénico, cobre, plomo, mercurio
Del suelo arenoso y envase de vidrio	Silicio
Por el equipo de procesamiento	Cobre, hierro, níquel, estaño, plomo, zinc
Debido al almacenamiento	Hierro, níquel, estaño, plomo, cadmio, estroncio
Por oxidación en el envase	Hierro y cobre
Debido al procesamiento	Cobre, cadmio, arsénico
Suplementos alimenticios en dietas de animales	Cobre, cadmio, hierro, zinc, arsénico

Fuente: Los riesgos de los metales en la salud humana y animal, LONDOÑO FRANCO, L.F. et al 2016.

B) Características generales del cobre y plomo.

a) Plomo: Número atómico 82, peso atómico 207, color azulado, Forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos. En la industria, los compuestos más importantes son óxidos y tetraetilo de plomo, forma aleaciones con estaño, cobre, arsénico, bismuto, cadmio y sodio. El plomo se encuentra en metales de uranio y de torio, ya que proviene de la división radiactiva. Los minerales comerciales suelen contener poco plomo (3%), lo más común es que sea del (10%). Los minerales antes de fundirse pueden acumular hasta 40% o más de plomo. Se usa como aditivo antidetonante en la gasolina, baterías, en monitores de computadores y pantallas de televisión, joyería, latas de conserva, tintes para el pelo, grifería, pigmentos, aceites, cosmetología, aleaciones, cerámicas, municiones, soldaduras, plomadas, armamento, radiación atómica, insecticidas, etc.

Absorción del plomo: La absorción del plomo depende del estado de salud, nutrición y edad de la persona. Los adultos generalmente absorben 20% del plomo que ingieren y casi todo ese plomo es inhalado. La extracción del plomo del subsuelo (minas) y las emisiones de las fundiciones afectan tanto a niños como a adultos. La ingestión de polvo contaminado o de alimentos, agua o alcohol contaminados es la forma más común de ingreso del plomo al organismo. Los niños absorben una proporción mayor que los adultos. La inhalación es la vía de ingreso más común en personas que utilizan este metal en sus ocupaciones.

El plomo que no es excretado permanece en el cuerpo por periodos prolongados y se intercambia entre 3 compartimientos -sangre, huesos y dientes- que contienen casi la totalidad del plomo, y en otros tejidos, como el hígado, riñones, pulmones, cerebro, bazo, músculos y corazón. El plomo almacenado en los huesos y dientes puede volver a entrar a la circulación durante periodos de deficiencia de calcio, como el embarazo, lactancia y osteoporosis.

Comparado con los adultos, los niños absorben más el plomo que ingieren. Los niños a menudo se colocan las manos y los objetos en la boca, ingieren más tierra o polvo contaminado. Además, muchos niños tienden a comer productos no alimenticios (pica), su frecuencia respiratoria es más alta, respiran más volumen por kilos de peso y, como son más pequeños, están más cerca del aire contaminado con el polvo, así como con emisiones del subsuelo. Mientras menos edad tiene, el intestino absorbe más plomo, 5 a 10 veces, que niños mayores y los adultos, especialmente con el estómago vacío. La absorción intestinal de plomo en niños aumenta en casos de deficiencia de hierro, calcio y zinc, que son condiciones comunes. Todas estas condiciones favorecen un mayor riesgo de toxicidad en los niños²⁴.

Límites Máximos Permisibles de plomo en la miel: El límite máximo permisible para la miel de abeja es 0.30 mg/kg²⁵.

Métodos de determinación de contenido de plomo en la miel de *Apis mellifera*: Para el análisis de plomo en alimentos una de las técnicas más empleadas es la espectrometría de absorción atómica con cámara de grafito, debido a la sencillez de la instrumentación empleada, a un costo aceptable y a su disponibilidad en multitud de laboratorios, además de ser una de las técnicas más sensibles. Sin embargo, presenta inconvenientes como el de emplear modificadores químicos adecuados, correctores de fondo y una cuidadosa optimización de tiempos y temperaturas con el fin de eliminar las múltiples interferencias químicas y espectrales, que restan sensibilidad y llevan a medidas erróneas. Además la determinación de elementos volátiles (como el plomo) mediante ETAAS está sujeto a dificultades debidas a las pérdidas de analito durante las etapas previas a la atomización²⁶.

Fotometría de llama: Es una técnica de emisión que utiliza una llama como fuente de fotodetector electrónico como dispositivo de medida. Se trata principalmente de un método de análisis cuantitativo y es uno de los métodos más sencillos y precisos para el análisis de metales alcalinos, la mayor parte de los metales alcalinotérreos y algún otro elemento metálico. También es posible realizar un análisis cualitativo examinando todas las longitudes de onda del espectro de emisión (espectrofotometría de llama o fotometría de llama). Su aplicación es limitada si se compara con la espectroscopía de emisión ordinaria, ya que la energía de la llama permite excitar únicamente de 30 a 50 elementos, siendo este número función del tipo de llama utilizada²⁷.

Espectrofotometría de absorción atómica: Es una técnica muy relacionada con la fotometría de llama ya que se utiliza una llama para atomizar la disolución de la muestra de modo que los elementos a analizar se encuentran en forma de vapor de átomos, en absorción atómica existe una fuente

²⁴ Agency of Toxic Substances and Disease Registry. Case studies in environmental medicine. Lead toxicity. US Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA: The Agency; 2007

²⁵ MERCOSUR; “reglamento técnico MERCOSUR sobre los límites máximos de contaminantes inorgánicos en alimentos”2011.

²⁶ RODRÍGUEZ J. C.; 2010, “La miel como indicador ambiental”.

²⁷ Dean. (2003, May 7). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud: PESTICIDAS [SciELO.org.ve; 2003]. Recuperado de <http://www.SciELO.org.ve>

independiente de luz monocromática, específica para cada elemento a analizar y que se hace pasar a través del vapor de átomos, midiéndose posteriormente la radiación absorbida²⁸.

b) Cobre. Número atómico 29, es un metal no ferroso. Su utilidad se debe a la combinación de sus propiedades químicas, eléctricas, físicas y mecánicas, además de su abundancia. La mayor parte del cobre del mundo se obtiene de los sulfuros minerales como la calcocita, covelita, calcopirita, bornita y enargita. Tiene dos isótopos naturales estables ⁶³Cu y ⁶⁵Cu y nueve isótopos inestables (radiactivos). De cientos de compuestos fabricados de manera industrial, el más importante es el sulfato de cobre. El cobre se usa en equipo eléctrico, maquinaria industrial, construcción, en aleaciones de bronce: latón, níquel, clavos, pernos, objetos decorativos, tuberías, techos, monedas, utensilios de cocina, joyería, muebles, maquillaje, pinturas, instrumentos musicales y medios de transporte. Además, el sulfato de cobre es uno de los primeros compuestos utilizados en alimentación animal como pesticidas, las sales de cobre poseen efectos fungicidas y plaguicidas²⁹.

Cobre en los seres vivos: En los organismos vivos, incluyendo el hombre, se considera un elemento esencial, ya que participa en un gran número de procesos biológicos como el transporte de oxígeno, actividades redox (transporte de electrones) y como cofactor de enzimas. Además, se encuentra normalmente en todos los tejidos del cuerpo humano, en la sangre, la orina, las heces, el cabello y las uñas. También se encuentra de manera natural en la dieta, tanto en los alimentos como en el agua, estimándose un consumo medio de un miligramo de cobre al día. No obstante, una ingesta excesiva de éste puede provocar efectos tóxicos en los organismos, ya que puede inhibir la actividad enzimática y afectar al funcionamiento normal de células, tejidos y órganos.

Efectos en la salud: En el caso del hombre, los efectos adversos sobre la salud se manifiestan por daños en el hígado y el riñón, anemia, inmunotoxicidad, etc., aunque los más habituales suelen ser los trastornos gastrointestinales, que se manifiestan por vómitos, náuseas y dolor abdominal poco después de ingerir bebidas con contenidos elevados de cobre. Además, y dada la esencialidad de este elemento 27 para el organismo, su deficiencia también puede provocar algunas enfermedades como anemia, osteoporosis o niveles altos de colesterol. Por tanto, es necesario que se mantenga una concentración de cobre prácticamente constante en el organismo para que no se produzcan efectos sobre la salud³⁰.

Fuentes de cobre: Para determinar si un individuo se encuentra afectado por cobre no sólo habrá que tener en cuenta factores como la dosis, la duración y el tiempo de exposición, sino también otros factores como el contacto con otros agentes químicos, la edad, la dieta, el sexo, el estilo de vida o el estado de salud. Como ya se ha mencionado, el cobre se encuentra en todos los compartimentos

²⁸ DEAN. (2003, May 7). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud: PESTICIDAS [Scielo.org.ve; 2003]. Recuperado de <http://www.Scielo.org.ve>

²⁹ LONDOÑO FRANCO, L.F. et al. Los riesgos de los metales en la salud humana y animal: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2016.

³⁰ MORENO C, GARCIA M. (2008). Nuevas alternativas para la simplificación y mejora de la metodología de análisis de metales pesados en muestras ambientales: <http://minerva.uca.es/publicaciones/asp/docs/tesis/JJPintoGanformina.pdf>

ambientales de forma natural, por lo que su acumulación a través de la cadena alimentaria debe provenir de su incorporación al medio por otras vías. Esta acumulación se realiza por procesos naturales, como pueden ser las erupciones volcánicas, los incendios forestales (no provocados), el polvo arrastrado por el aire, los restos de fauna y vegetación o la espuma del mar, y por las actividades antropogénicas, entre las más importantes se pueden citar: combustión de residuos y combustibles fósiles, aguas residuales industriales y urbanas, residuos de minería, producción de madera, producción de fertilizantes, etc.

Cuando el cobre o sus compuestos se emiten al aire, como sucede con las plantas industriales que procesan el mineral de cobre, éste lo hace en forma de partículas que pueden ser arrastradas varios kilómetros desde la fuente de emisión parte de éste se lixivie en el agua y sea absorbido por los distintos microorganismos presentes en el sistema, o sea retenido en forma articulada en el sistema de filtración de los organismos bénticos. Posteriormente, comienza su incorporación a la cadena trófica hasta poder llegar al hombre³¹.

Ddescripción de la técnica de absorción atómica con llama para determinar cobre:

La muestra líquida es aspirada a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador donde se desintegra y forma pequeñas gotas de líquido (niebla), que son conducidas a una llama, donde se produce la de solvatación (se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular sólido finamente dividido). Luego la disociación de la mayoría de estas moléculas produce un gas que origina la formación de átomos. Estos átomos son irradiados por un haz de luz de una longitud de onda específica de acuerdo con el metal que se va a analizar El átomo en "estado fundamental" absorbe energía de la luz y entra al estado excitado.

La fracción restante es captada por un monocromador que tiene como finalidad, aislar todas las señales que causan interferencias que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación llega a un fotodetector y un transductor que la convierten en una señal eléctrica que posteriormente es registrada por un software.

Función de las llamas:

1. Permite pasar la muestra a analizar del estado líquido a estado gaseoso.
2. Descompone los compuestos moleculares del elemento de interés en átomos individuales o en moléculas sencillas.
3. Excita estos átomos o moléculas.

Condiciones de las llamas: Llama satisfactoria: Que se forme un ambiente gaseoso que permita las funciones anteriormente mencionadas: Que el ruido de fondo de la llama no debe interferir las observaciones a efectuar.

³¹ DULSKI, T. (1996). A Manual for the Chemical Analysis of Metals: RMNL25.ISBN-EB: 978-0-8031-4532-0. pp. 158 – 167

Estructura de la llama: El tamaño y aspecto de cada región depende del tipo de combustible oxidante y de su relación. La temperatura máxima se localiza a 1 cm de la zona de combustión primaria de la llama.

Temperatura en la llama oxidante- combustible temperatura °C Aire acetileno: Se analizan cerca de 35 elementos 2100 - 2400 Acetileno Óxido Nitroso utilizado para elementos que forman óxido refractarios. También se utiliza para eliminar interferencias químicas que puede estar presentes en una llama de temperatura más baja.³²

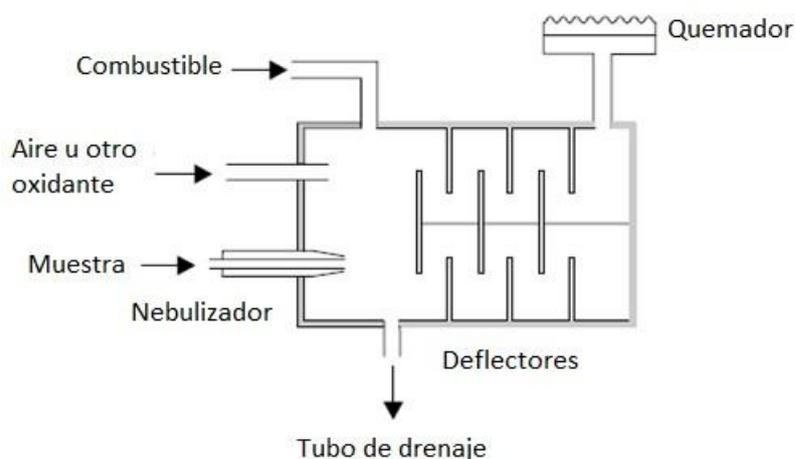


Figura 1. Sistema de atomizador.

Fuente: BLANES, Patricia S. - Benítez, Mónica E. - Giménez, María C. (2004). Validación de una metodología para la extracción y determinación de cobre en aguas naturales subterráneas por espectrometría de absorción atómica. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.

Un atomizador de llama consta de un nebulizador neumático, que convierte la solución de la muestra en una niebla o aerosol que posteriormente se conduce hasta un mechero. Por lo general se utiliza un mechero de flujo laminar, el cual proporciona llamas relativamente largas y estables. El gas a alta presión que se encuentra contenido en el aerosol, se mezcla con el combustible. El aerosol, fluye a una cámara de spray donde se encuentra con unas pantallas que retienen todo excepto las gotas más finas. Parte de la muestra que es retenida por estas pantallas luego es drenada a un recipiente de desecho. El spray de la muestra se mezcla con el gas oxidante y el combustible para luego ser quemados en un mechero de ranura, el cual proporciona una llama con una altura entre los 5 y 10 cm.

³² BLANES, Patricia S. - Benítez, Mónica E. - Giménez, María C. (2004). Validación de una metodología para la extracción y determinación de cobre en aguas naturales subterráneas por espectrometría de absorción atómica. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Disponible en pdf: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/8-Exactas/E-069.pdf>

A continuación, se presenta una tabla que contiene las diferentes llamas empleadas en espectroscopia atómica³³.

Tabla 3. Tipos de llamas utilizados en la absorción atómica.

Combustible/oxidante	Temperatura (°C)	Velocidad de combustión
Gas propano o natural/Aire	1700 – 1900	39 – 43
Gas propano o natural/O ₂	2700 – 2800	370 – 390
H ₂ /aire	2000 – 2100	300 – 440
H ₂ /O ₂	2500 – 2700	900 – 1400
C ₂ H ₂ /aire	2100 – 2400	158 – 266
C ₂ H ₂ /O ₂	3050 – 3150	1100 – 2480
C ₂ H ₂ /N ₂ O	2600 – 2800	285

Fuente: SKOOG, W. H. (2005). *Química analítica*. Octava edición. México. Thomson. pp. 870 – 876

2.2.3. Ventajas e inconvenientes del uso de los plaguicidas.

Según las estadísticas actuales de la FAO, dos tercios de la Humanidad están subalimentados. Por consiguiente, el aumento de la producción agrícola es una necesidad, siendo preciso ampliar las áreas cultivadas y el rendimiento de las explotaciones. La lucha contra las plagas es uno de los métodos más importantes para aumentar la productividad de las explotaciones agrícolas, ya que las pérdidas causadas por las plagas son muy elevadas. Se ha calculado que alrededor de un tercio de la producción alimenticia del mundo se perdería si los agricultores no utilizaran productos químicos para contrarrestar el efecto de las plagas de los cultivos, de las enfermedades de las plantas y la competencia de las malas hierbas.³⁴

Además de este aumento de los rendimientos, la disminución de las grandes fluctuaciones de las cosechas debidas a las plagas y el ahorro de mano de obra debido al uso de los plaguicidas tienen gran importancia económica. Tampoco conviene olvidar que los insectos parasitan el ganado, destruyen la madera y las plantas destinadas a usos industriales y transmiten enfermedades al hombre. Consecuencia de ello ha sido el rápido incremento de las ventas de productos agroquímicos a partir del desarrollo de la industria moderna en la década de los años 40 con un aumento aproximado del 10% anual. En 1981 las ventas en todo el mundo, incluyendo usos no agrícolas, ascendieron a 17.500 millones de dólares, de los cuales unos 14.000 millones correspondieron a productos fitosanitarios.

³³ SKOOG, W. H. (2005). *Química analítica*. Octava edición. Mexico. Thomson. pp. 870 – 876.

³⁴ FAO. 2015c. El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2015.

Dos tercios de estas ventas se realizaron en zonas de agricultura intensiva de Europa Occidental, Norteamérica y Japón. Sin embargo, el uso de plaguicidas presenta varios inconvenientes que son necesarios tener en cuenta. Hay que considerar en primer lugar que los plaguicidas alteran el balance de la naturaleza desequilibrando los sistemas ecológicos. Este hecho tiene gran trascendencia, ya que, como es sabido, el suelo es un ecosistema francamente complejo, en el que coexisten multitud de poblaciones animales, vegetales y microbianas que mantienen entre sí y con el agua y los elementos minerales edáficos un equilibrio dinámico muy preciso. La alteración de este equilibrio por la introducción de unos agentes químicos tan activos, como suelen ser los plaguicidas, produce una serie de fenómenos variados que probablemente afectan a muchos de los elementos biológicos del suelo. Al mismo tiempo, los insectos y algunos otros parásitos pueden desarrollar razas resistentes a los plaguicidas lo que hace necesario utilizar dosis mayores o productos de mayor efectividad.

La flora y la fauna también pueden ser afectadas por la aplicación de un plaguicida, en la zona donde se realiza el tratamiento o incluso en regiones más extensas. Los residuos de estos compuestos pueden llegar a zonas más lejanas del área de aplicación arrastrados por el viento, cursos de aguas continentales, corrientes marinas y a través de las cadenas biológicas. Si se tiene en cuenta que todos los plaguicidas son tóxicos en mayor o menor grado para el hombre, es necesario destacar también este aspecto estando su peligrosidad relacionada con: La manipulación de los compuestos, la toxicidad residual en alimentos, su evolución en el suelo. El manejo de estos compuestos lleva consigo unos riesgos de intoxicación que deben ser tenidos en cuenta por las personas que los manipulan y aplican. La toxicidad se establece mediante ensayos en animales de experimentación y su expresión cuantitativa se representa mediante la dosis letal media DL50, que corresponde a la cantidad de plaguicida necesario para causar la muerte al 50% de los individuos que componen el lote de ensayo. La DL50 se representa en miligramos de plaguicida por kilogramo de peso de animal tratado en el ensayo. Cuanto menor sea su valor, mayor será la toxicidad del compuesto. Este índice puede hacer referencia a la toxicidad oral aguda, crónica o dérmica según que resulte a) de la ingestión, de una sola vez, de una cantidad determinada de tóxico, b) de la ingestión de las partes por millón de tóxico presentes en la dieta alimenticia, sucesivamente durante días, y c) de la absorción del compuesto a través de la piel. Existen diferencias de toxicidad muy grandes incluso entre plaguicidas del mismo tipo y de estructura química semejantes. Las autoridades regulan la distribución y aplicaciones de los productos más tóxicos y en algunos casos pueden llegar a prohibir su uso. Dada la diversidad de materias primas y formulaciones se especifica por medio de letras, en la etiqueta de cualquier producto comercial registrado, la peligrosidad general del mismo, para la fauna terrestre y acuícola. Las letras varían de la A a la D, incrementándose en este orden la toxicidad para las especies en que esté indicada. Estas letras son sustituidas actualmente por los términos de baja peligrosidad (A), nocivo (B), tóxico (C) y muy tóxico (D). Los productos de categoría D se han suprimido prácticamente, ya que su manejo está legislado de forma que se hace difícil su utilización y venta. Toxicidad relativa de algunos plaguicidas organofosforados y organoclorados. La toxicidad residual se refiere a los residuos en los alimentos y a la contaminación del medio biológico.

La presencia de residuos de plaguicidas puede dar lugar a una intoxicación de los consumidores. Este hecho se evita estableciendo unas tolerancias de residuos en las que se especifica la cantidad máxima en mg. de plaguicida por Kg. de producto vegetal que puede admitirse en los alimentos en base a la toxicidad del producto activo y a la proporción del alimento en la dieta normal. Para evitar la presencia de un residuo superior al tolerable, se determinan los tiempos mínimos que deben transcurrir entre la aplicación del plaguicida y la recolección de la cosecha. Los Organismos Internacionales, como la FAO (Organización para la Agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud), han establecido los niveles máximos admisibles respecto a la ingestión de plaguicidas normalmente utilizados en distintos países, siendo las autoridades nacionales las encargadas de establecer una legislación apropiada y vigilar cuidadosamente los residuos de los plaguicidas mediante controles analíticos adecuados. La toxicidad relacionada con la evolución de los plaguicidas en el suelo se expone en apartados sucesivos al tratar detalladamente este proceso dada su importancia. De todo lo anteriormente expuesto podemos resumir que los plaguicidas son productos que, junto a una gran utilidad económica, presentan riesgos de importancia variable. En consecuencia, resulta imprescindible la comprobación de que su eficacia sea superior a unos mínimos aceptables y que los riesgos derivados de su manipulación y aplicación sean perfectamente controlables. Para conseguir los objetivos será necesario que el agricultor efectúe una buena práctica agrícola. En definitiva, deberá seguir fielmente las instrucciones de uso del producto, efectuará únicamente los tratamientos necesarios evitando tratamientos por rutina, elegirá sólo plaguicidas autorizados sobre el cultivo, no aplicará dosis superiores a las recomendadas, el método de aplicación será lo más uniforme y regular posible y el momento de aplicación será tal que actúe sobre la plaga en su forma más vulnerable y con la suficiente antelación a la fecha de recolección para que se cumpla el plazo de seguridad entre tratamiento y recolección. Al mismo tiempo, la Administración, consciente de la problemática que presentan estos productos, debe adoptar las medidas adecuadas para garantizar al usuario que los productos que puede adquirir en el mercado son suficientemente eficaces y seguros. En España desde 1942 está prohibida la fabricación, importación y comercialización de cualquier plaguicida que no haya sido inscrito en el Registro Oficial Central de productos fitosanitarios del Ministerio de Agricultura. La inscripción en dicho registro está precedida de una laboriosa homologación que abarca la comprobación de su eficacia, de sus características fisicoquímicas, y la evaluación de su peligrosidad bajo los distintos aspectos ya mencionados³⁵.

2.2.3. Contaminación de la miel con residuos de fluvalinato y metales pesados.

El uso del fluvalinato, por su carácter lipofílico, tiene el riesgo de contaminar los diferentes productos de la colmena, presentándose muy fácilmente en la cera, no así en la miel; sin embargo, una vez que se encuentra en la miel permanece ahí por un largo tiempo; otro riesgo que conlleva el uso sistemático de acaricidas sintéticos es la aparición de resistencia a éstos por parte del ácaro.³⁶ A pesar

³⁵ SÁNCHEZ MARTIN, M.L y SÁNCHEZ CAMAZANO, M. Los plaguicidas: Absorción y evolución en el suelo. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología (CSIC). Salamanca, 2015.

³⁶ NEIRA.C. et al. abejas de la casta obrera (Apis mellifera L.): Agro Sur. Valdivia, Chile, 2011.

de lo anterior, el tau fluvalinato es el ingrediente activo más utilizado por apicultores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

El uso de pesticidas dentro de la colmena implica un riesgo directo de contaminación de la miel y de sus otros productos. Este problema se debe principalmente a que muchos apicultores no tienen el conocimiento necesario acerca del manejo de pesticidas y pocos han adquirido el entrenamiento apropiado para administrar los químicos con seguridad dentro de la colmena. Por lo que se ocasiona daños en las abejas, además de dejar residuos químicos en la cera, miel y otros productos de la colmena³⁷.

Así mismo, mientras más frecuente se utilizan pesticidas en la colmena, es más alto el riesgo que puedan detectarse residuos en los productos de la abeja, como miel, propóleos y cera, argumentando en favor de la existencia de cuatro mecanismos básicos por los cuales se presentan residuos en la miel después del uso de acaricidas: mal uso de medicamentos, por ejemplo cuando se emplean durante el flujo de néctar, como también una dosis perjudicial con la consecuencia que más pesticida penetre en las colonias innecesariamente. Otro mecanismo de contaminación es el uso de pesticidas utilizados normalmente durante el período de alimentación, con la consecuencia que los alimentos de invierno son algunas veces contaminados con acaricidas. Así, en primavera las abejas al reponer su alimento sobre restos contaminados del alimento invernal, los residuos pueden penetrar la miel de primavera. Otra forma de contaminación depende del proceso de desorperculación. En este proceso varias partículas que contienen residuos pueden penetrar la miel durante el proceso de extracción y de esta manera contaminarla. La última forma de contaminación es la migración de residuos de la cera a la miel. Estudios de laboratorio indican que algunos pesticidas como el bromopropilato, coumafos y en menor cantidad el fluvalinato pueden migrar a la miel. Los pesticidas con baja tendencia a migrar como el fluvalinato y la flumetrina se acumulan muy fácilmente en la cera y pueden conducir, en menor grado, sus residuos a la miel. La cera contaminada es una fuente significativa de residuos en la miel debido a que no ocurre una degradación natural de los acaricidas en la cera. De todo lo anterior se deduce que la calidad de la cera también tiene influencia en la calidad de la miel³⁸.

La contaminación de la miel con metales pesados como son el plomo y el cobre ocasiona severos daños en la salud de los humanos y los animales. Por ejemplo:

La absorción de plomo es un grave riesgo de salud pública; provoca retraso del desarrollo mental e intelectual de los niños, causa hipertensión y enfermedades cardiovasculares en adultos. La intoxicación se debe a la ingestión accidental de compuestos de plomo o a la ingestión por parte de los animales de forrajes o alimentos con plomo, procedentes de áreas ambientalmente contaminadas. La absorción de plomo por vía oral es cerca al 10% en adultos y se puede incrementar hasta 50% en

³⁷ SILLARD PÉREZ, S.A. Residuos de Fluvalinato en era de abejas de colmenares de la Décima Región. Valdivia, Chile, 2002.

³⁸ SILLARD PÉREZ, S.A. Residuos de Fluvalinato en era de abejas de colmenares de la Décima Región. Valdivia, Chile, 2002.

niños. El plomo absorbido se distribuye en riñón, hígado, encéfalo y huesos por semejanza con el calcio. El mayor depósito de plomo son los huesos hasta por 20 años; interfiere en la función del calcio, inhibe la síntesis de hemoglobina y causa daño neurológico. Los efectos agudos en sistema nervioso central consisten en parestesia, dolor y debilidad muscular, crisis hemolítica-anemia grave y hemoglobinuria. También afecta riñones con oliguria y albuminuria. Aunque la intoxicación aguda puede causar la muerte, es más frecuente que el paciente se recupere y presente intoxicación crónica con daño gastrointestinal, neuromuscular, nervioso, hematológico, renal y reproductivo. A nivel gastrointestinal hay anorexia, cefalea, estreñimiento, espasmo intestinal y dolor abdominal. Los síntomas neuromusculares presentan debilidad muscular y cansancio seguida de parálisis de músculos del antebrazo, muñeca y dedos de la mano y algunas veces pies, estos síntomas eran característicos de enfermedad de pintores, en la actualidad la sustitución de pigmentos con plomo y las mejoras en las condiciones de seguridad e higiene industrial están propiciado la desaparición de esta intoxicación. Los primeros síntomas de encefalopatía en niños son letargo, vómitos, irritabilidad, pérdida de apetito y mareos, que avanzan hasta desembocar en ataxia, reducción de la consciencia provocando finalmente coma y muerte. La exposición aguda por ingestión del sulfato de cobre puede producir necrosis hepática y muerte. La exposición crónica de alimentos conservados en recipientes de cobre genera lesiones hepáticas en niños. Algunos efectos de intoxicación son: hemólisis letal en vacas lecheras a dosis de 38 mg/kg PV. Altas concentraciones de sales solubles de cobre conllevan a coagulación proteica e inflamación severa de mucosa digestiva, si el animal sobrevive desarrollará hemólisis intravascular. Las muertes rápidas se deben a insuficiencia hepática, mientras que los decesos tardíos se producen por insuficiencia renal. No existe evidencia de efectos cancerígenos del cobre o sus compuestos por ninguna vía de exposición. Puede generar diversas alteraciones como: anemia hipocrómica, disminuye la tasa de crecimiento, diarreas, cambios de coloración del pelo o de lana, ataxia neonatal, alteración del crecimiento, infertilidad temporal e insuficiencia cardiaca.

2.3. Definición de términos

2.3.1. Fluvalinato: es una mezcla incolora y aceitosa de dos diestereoisómeros, fácilmente soluble en disolventes orgánicos (hidrocarburos aromáticos, éter etílico, éter de petróleo, diclorometano) y alcoholes.

2.3.2. Metales pesados: son elementos químicos con alta densidad (mayor a 4 g/cm³), masa y peso atómico por encima de 20, y son tóxicos en concentraciones bajas

CAPÍTULO III

Diseño Metodológico

3.1. Definición de variables

3.1.1. Variable dependiente:

3.1.1.1. Fluvalinato: Es una mezcla incolora y aceitosa de dos diestereoisómeros, fácilmente soluble en disolventes orgánicos (hidrocarburos aromáticos, éter etílico, éter de petróleo, diclorometano) y alcoholes. Este plaguicida se ha utilizado tradicionalmente en cultivos de vegetales y de plantas ornamentales. Su espectro como plaguicida es similar al de otros piretroides sintéticos, sin embargo, su actividad acaricida y aficida es muy superior³⁹.

3.1.1.2. Metales pesados: Los metales pesados son sustancias propias de la naturaleza de peso molecular alto, muy difundidos y en muchos casos muy útiles como, por ejemplo, el plomo que se utiliza mucho para tubería, y el cadmio. Hablando ya de la contaminación, los metales pesados tienen efectos en la salud y afectan diferentes órganos. Esa sería una definición más o menos general⁴⁰.

3.1.2. Variable independiente:

3.1.2.1. Pachachaca: Centro poblado ubicado en el distrito de Abancay, provincia de Abancay en la región de Apurímac. Se caracteriza por contar con una gran cantidad de apicultores.

3.1.2.2. Atumpata: Centro poblado ubicado en el distrito de Abancay, provincia de Abancay en la región de Apurímac. Se caracteriza por contar con una gran cantidad de apicultores.

3.1.2.3. Quitasol: Centro poblado ubicado en el distrito de Abancay, provincia de Abancay en la región de Apurímac. Se caracteriza por contar con una gran cantidad de apicultores.

³⁹ SANCHO, M. *Análisis de residuos de fluvalinato en la miel mediante GC/ECD*: Agroquímica Tecnológica Alimenticia. La Coruña, España, 1991.

⁴⁰ EROSTEGUI REVILLA, D.P. Contaminación por metales pesados (K.P. Ledezma, Entrevistador). 2009.

3.2. Operacionalización de variables

Tabla 4. Operacionalización de variables.

VARIABLES	INDICADORES	ÍNDICES
Variables independientes		
Procedencia de la miel	Pachachaca	Lugar
	Atumpata	
	Quitasol	
Variables dependientes		
Contenido de insecticidas orgánicos	Fluvalinato	µg/kg
Contenido de metales pesados	Metales pesados (Cobre y Plomo)	mg/kg

3.3. Hipótesis de la investigación

Hipótesis general

La concentración de fluvalinato y metales pesados (Cobre y Plomo) en miel está influenciada según el sector de procedencia Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

Hipótesis específicas

La concentración de fluvalinato en miel está influenciada según el sector de procedencia Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

La concentración de metales pesados (Cobre y Plomo) en miel está influenciada según el sector de procedencia Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

3.4. Tipo y diseño de la investigación

3.4.1. Tipo de la investigación.

Una investigación aplicada es aquella que pretende aplicar los conocimientos y resultados derivados de la investigación básica en la generación de beneficios para la sociedad. Es decir, pretende aplicar los resultados de la investigación básica en la solución de determinadas. Por lo tanto, nuestra investigación fue de tipo **aplicada**, debido a que pretendemos contribuir en la solución de la problemática relacionada con la presencia de fluvalinato y metales pesados en miel, brindando lineamientos y recomendaciones para incentivar el uso correcto de los plaguicidas de manera que se garantice un producto de calidad⁴¹.

La investigación no experimental es la que no manipula deliberadamente las variables a estudiar. Lo que hace este tipo de investigación es observar fenómenos tal y como se dan en su contexto actual, para después analizarlo. En un estudio no experimental no se construye ninguna situación, sino que se

⁴¹ HERNÁNDEZ SAMPIERI, R. et al. Metodología de la Investigación. Hill Interamericana de México S.A. de C.V. Ciudad de Mexico, 1997.

observan situaciones ya existentes⁴². Por la naturaleza de esta investigación consideramos que esta investigación es de tipo **no experimental-descriptiva**.

3.4.2. Diseño de la investigación.

Se empleó el diseño completo al azar DCA

Tabla 5. Diseño completo al azar (DCA).

Lugar	Sustancia	Tratamientos
Pachachaca	Fluvalinato	T1
	Metales pesados (Cu, Pb)	T2
Atumpata	Fluvalinato	T3
	Metales pesados (Cu, Pb)	T4
Quitasol	Fluvalinato	T5
	Metales pesados (Cu, Pb)	T6

3.5. Población y muestra

3.5.1. Población.

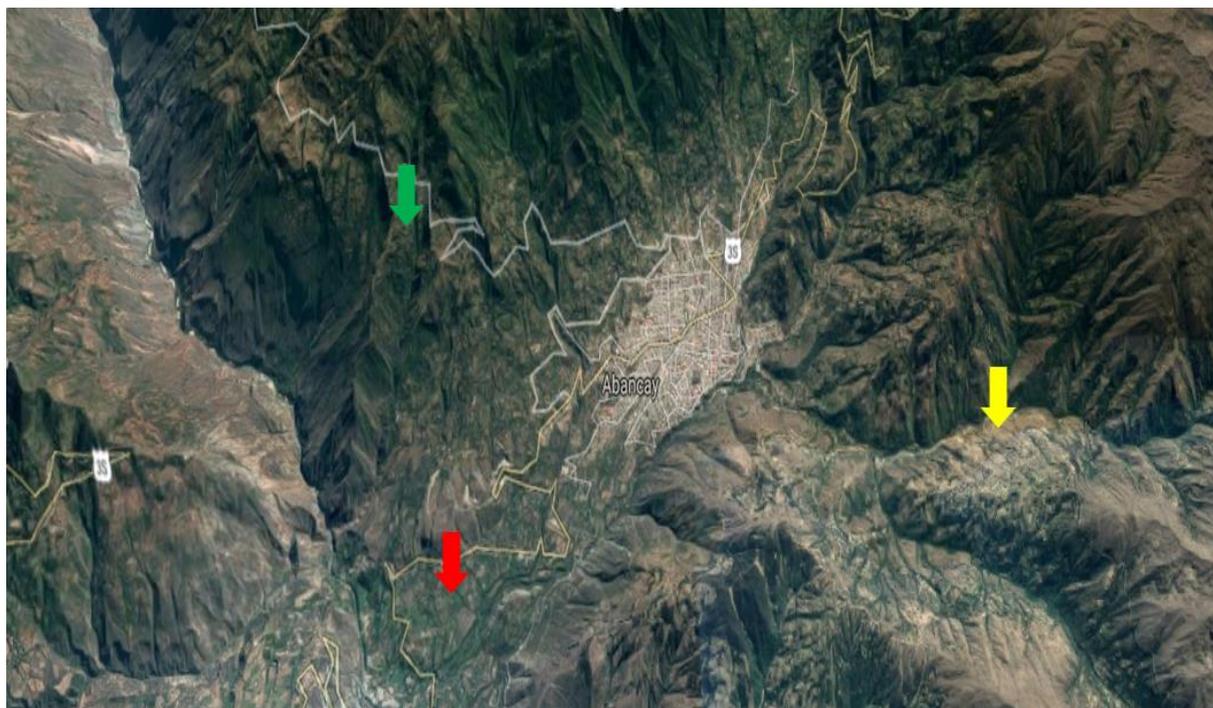
3.5.1.1. Características.

Las poblaciones de estudio estuvieron constituidas por la miel procedente de colmenas ubicadas en Pachachaca, Atumpata y Quitasol de los cuales se obtuvo 2 kg de miel por apiario que en total fue 12 kg de miel de los 6 diferentes apiarios. En estos se determinó la concentración de fluvalinato y metales pesados.

3.5.1.2. Ubicación espacio temporal.

La población de estudio se encuentra ubicada en la provincia de Abancay, departamento Apurímac. Las muestras de la miel se extrajeron de los apiarios ubicados en las zonas de Pachachaca, Atumpata y Quitasol. Todas las muestras de miel fueron recolectadas para la investigación en el mes de Noviembre.

⁴² CORTES CORTES, M. E. & IGLESIAS LEÓN, M. Generalidades sobre Metodología de la Investigación. Unidad Autónoma del Carmen. México, 2004.



- ➔ Toma de muestra de sector Atumpata que se encuentra a 2628 msnm.
Latitud Sur: 13° 38' 59.6" S (-13.64988562000)
Longitud Oeste: 72° 51' 7.4" W (-72.85206154000)
- ➔ Toma de muestra de sector Pachachaca que se encuentra a 1717msnm.
Latitud sur: 13° 39' 45.4" S (-13.66261916000)
Longitud Oeste: 72° 56' 11.3" W (-72.93647852000)
- ➔ Toma de muestra de sector Quitasol que se encuentra a 2332 msnm.
Latitud Sur: 13° 38' 55.3" S (-13.64870197000)
Longitud Oeste: 72° 55' 22" W (-72.92278006000)

Figura 2. Mapeo de ubicación de apiarios de donde se recolectaron las muestras para la investigación.

Fuente: Figura generada en Google Maps.

3.5.2. Muestra.

3.5.2.1. Técnica de muestreo.

Se realizó con un muestreo no probabilístico o dirigidas, la elección de los elementos no depende de la probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación o de quien hace la muestra⁴³. Aquí el procedimiento no es mecánico ni con base en fórmulas de probabilidad, sino que depende del proceso de toma de decisiones de un investigador o de un grupo de investigadores y, desde luego, las muestras seleccionadas obedecen a otros criterios de investigación.

⁴³ HERNÁNDEZ SAMPIERI, R. et al. Metodología de la Investigación. Hill Interamericana de México S.A. de C.V. Ciudad de México, 1997.

Por lo tanto, en la presente investigación se determinó la muestra de manera no probabilística por conveniencia, es decir que para garantizar la confiabilidad de los datos y obtener una información más consistente y objetiva se optó por estudiar a las colmenas ubicadas en los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

3.5.2.2. Cálculo del tamaño.

En el muestreo no probabilístico por conveniencia, no existe una fórmula para el cálculo del tamaño de la muestra, sino que por las características de la investigación está determinada por los investigadores. En cuanto a lo que es la muestra para el análisis con el cromatógrafo de gases fue 10 g y para espectrofotometría de absorción atómica fue 50 mL.

3.6. Procedimientos de la investigación

Para la realización de esta investigación se siguió las siguientes etapas:

3.6.1. Determinación de fluvalinato en miel

Etapa 1: Recolección de muestras de miel en Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

Para los ensayos previos y la experimentación, se utilizó muestras representativas de la miel procedente de Pachachaca, Atumpata y Quitasol. Se obtuvo 2 kg de miel por apiario y por las zonas estudiadas se obtuvo las muestras de dos apiarios diferentes cada una. Tanto la recolección de la miel como el acondicionamiento estuvieron sujetos a los parámetros indicados para su buen almacenamiento. Las muestras fueron rotuladas de acuerdo al lugar de procedencia.



Figura 3. Muestras de miel recolectadas en Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

Etapa 2: Tratamiento de la muestra:

Se hace con el objetivo de destruir la materia orgánica, para poder obtener el analito de interés libre de cualquier interferencia. Varias técnicas instrumentales requieren que las muestras tengan un trato adecuado a nivel de trazas porque la variación de la concentración es muy ancha por lo que se presenta un método de acercamiento de análisis a niveles de concentración altos >1.0 mg/L y otro a nivel de trazas ≤ 0.1 mg/L del analito de interés.

Se siguió los siguientes pasos:

Se pesó 10.00 gramos de miel y se disuelven en 30 mL de una disolución saturada de cloruro sódico previamente extraída con éter etílico.

El filtrado de muestra: El filtrado se transfirió a un embudo de decantación de 1 l junto con 750 mL de agua, 5 g de cloruro de sodio y 100 mL de diclorometano al 5%: éter de petróleo (v / v). La mezcla se agitó vigorosamente durante 1 minuto, ventilando frecuentemente para evitar la acumulación de presión. Después de que las capas se separaron, la capa acuosa se drenó en un vaso de precipitados de 1 L. La capa de éter se filtró sobre 2 g de sulfato de sodio anhidro en un matraz de fondo redondo y luego se repitió la extracción utilizando 50 mL adicionales de diclorometano al 5%: éter de petróleo (v / v). El embudo de decantación y el sulfato de sodio se enjuagaron con 10 ml de éter de petróleo y se agregaron a los extractos combinados. Los extractos etéreos se evaporaron a sequedad en un evaporador rotatorio a 35°C.

Limpieza cromatográfica florisil: Se preparó una columna de limpieza agregando 25 g de Florisil desactivado con agua al 5% a una columna de vidrio limpia de 22 x 400 mm equipada con un disco de vidrio sinterizado y una llave de paso de teflón. La superficie del relleno de la columna se cubrió con una capa de 1 cm de sulfato de sodio anhidro. Para asentar el contenido, la columna se golpeó suavemente. El residuo se disolvió en un matraz de fondo redondo con 10 mL de éter de petróleo y la solución se transfirió a la columna de limpieza. El matraz se enjuagó dos veces más con 10 ml de éter de petróleo y los lavados se transfirieron a la columna. Cuando la solución de éter se había absorbido completamente en Florisil, la columna se eluyó con 150 mL de éter de petróleo a un caudal de 2 mL / min. Esta fracción fue descartada. La columna se eluyó por segunda vez a la misma velocidad con 150 mL de acetato de etilo al 10 %: éter de petróleo en un matraz limpio de fondo redondo de 250 ml. El eluato se evaporó a sequedad en un evaporador rotatorio a 35°C. El residuo se reconstituyó en 5 ml de hexano para el análisis de GC.

Etapas 3: Análisis de determinación de Fluvalinato en miel.

El procedimiento que se realizó para analizar el fluvalinato en miel es el que se describe a continuación:

El método utilizado para el análisis de residuos en la miel fue el siguiente⁴⁴:

Sistema de cromatografía de gases / espectrometría de masas (GC-MS): GC-MS se realizó con un cromatógrafo de gases modelo 5890 Serie II equipado con una columna capilar DB-5MS 30 mx0.25 mm id.x0.25 pm (J y W Scientific, Folsom, CA) acoplada directamente a una detección selectiva de masas tor, modelo 5971A (Hewlett-Packard, Avondale, PA). El software MS ChemStation, modelo G1034C, se utilizó para el análisis de datos (Hewlett-Packard, Avondale, PA). La inyección splitless de 0,5 pl se realizó manualmente. La temperatura de entrada comenzó a 90 ° C, luego aumentó con la

⁴⁴ FRISON, S.; et al. (1999) The analysis of fluvalinate in beeswax using GC/MS. Food Research International 32: 35-41.

inyección a una velocidad de 150 °C / min a 280 ° C. La temperatura del horno fue inicialmente de 80 °C, luego aumentó a una velocidad de 40 °C / min a 280 ° DO. La temperatura del detector se mantuvo a 280 °C. Se utilizó helio (1 mL / min) como gas portador.

La temperatura de la fuente de iones MS se mantuvo a 200 ° C con ionización de impacto de electrones a 70 eV. El rango de escaneo fue de 50-550 m / z. El modo de adquisición de datos se seleccionó monitoreo de iones (SIM) para iones 183, 250 y 252 m / z.

GC con detector de ionización de llama nitrógeno-fósforo: El análisis de GC se realizó con un cromatógrafo de gases modelo 5710A equipado con un detector dual de ionización de llama con nitrógeno y fósforo, modelo 18789A (Hewlett-Packard, Avondale, PA). Una identificación de 6'x2 mm. columna de vidrio empacada con 3% de OV101 (Supelco, distribuido por Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, ON) sobre malla 60/80 Se usó Gas ChromQ (Applied Science Laboratories Inc., State College, PA). La temperatura del horno se mantuvo a 225 ° C, la temperatura del puerto de inyección a 250 ° C y la temperatura del detector a 300 ° C. Los ajustes de flujo de gas fueron los siguientes: gas portador de helio: 30 mL / min, hidrógeno, 3 mL / min, y Aire, 60 mL / min. El voltaje del detector fue de 21 voltios DC. El dispositivo de registro del cromatograma se ajustó para obtener una desviación de media escala con 5 mg de fluvalinato. El volumen de inyección fue de 5 ml.

Cromatógrafo de gases con detector electrónico de captura: El análisis GC-ECD se realizó con un cromatógrafo de gas AGILENT 6890 N.

3.6.2. Determinación de metales pesados (cobre, plomo)

Etapas 1: Recolección de muestras de miel en Pachachaca, Atumpata y quitasol

Para los ensayos previos y la experimentación, se utilizó muestras representativas de la miel procedente de Pachacha, Atumpata y Quitasol. Tanto la recolección de la miel como el acondicionamiento estuvieron sujetos a los parámetros indicados para su buen almacenamiento.

Etapas 2: Procedimiento de preparación de estándares para la curva de calibración de Cu y Pb.

Soluciones estándar intermedias de 100 mg/L de Cu, Pb, Se tomó. Para cada metal por separado, tomar 10,0 mL del respectivo patrón de 1000 mg/L y llevar a volumen con agua desionizada en balón aforado de 100 mL.

Estándares de calibración: Los estándares para la curva de calibración en A.A. se preparan con agua ultra pura, no se digieren. Las curvas se hacen con tres estándares de alta media y baja concentración hasta cubrir el rango de linealidad de acuerdo a lo obtenido en la validación y lo establecido en el manual del Espectrofotómetro Perkin Elmer, de la siguiente manera.

Estándares para la curva de calibración de Cobre Total y Cobre Soluble de 0.5, 1.0 y 4.0 mg/l. El estándar de ajuste o chequeo de es de 4.0 mg/L

Prepare una solución intermedia de 10,0 mg/l a partir de la solución intermedia de 100,0 mg/l, tome 10 ml de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 100 mL, con agua acidulada. Prepare un estándar de 4,0 mg/L a partir de la solución intermedia de 100 mg/L, tome 4 ml de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 100 ml, con agua acidulada. Prepare un estándar de 1,0 mg/l a partir del estándar de 10,0 mg/L, tome 10 ml de ésta y lleve a volumen en un balón aforado de 100 mL, con agua acidulada. Prepare un estándar de 0,50 mg/L a partir del estándar de 10,0 mg/l, tome 5 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 100 mL, con agua acidulada

Estándares para la curva de calibración de Plomo Total y Plomo Soluble de 1.0, 5.0 y 9.0 mg/l. El estándar de ajuste o chequeo es de 9.0 mg/l

Prepare una solución intermedia de 10,0 mg/L a partir de la solución intermedia de 100,0 mg/L, tome 10 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 100 mL, con agua acidulada. Prepare un estándar de 9,0mg/L a partir de la solución intermedia de 100 mg/L, tome 9 mL de ésta solución empleando pipetas de 5 mL y 4 mL y lleve a volumen en un balón aforado de 100 mL, con agua acidulada.

Etapas 3: Análisis de determinación de metales pesados cobre y plomo en miel

El procedimiento que se realizó para analizar el fluvalinato en la miel es el que se describe a continuación:

Con probeta de 50 mL se toma una alícuota de 50 mL de agua ultrapura para el blanco; 50 mL del estándar de control de 1 mg/L (Cu y Pb) y 50 mL de muestras incluyendo duplicados. Entre cada toma de alícuota se enjuaga la probeta dos veces con agua desionizada y por último con agua acidulada.

Adicionar a cada erlenmeyer 5 mL de HNO₃ bajo en metales + 1 mL de peróxido de hidrógeno al 30% y agitar suavemente.

Iniciar el proceso de digestión con calentamiento suave, lo cual corresponde a nivel 8 en las placas amarillas y nivel 9 en la azul, aproximadamente dos horas y media hasta que quede un residuo cercano a los 5 mL. Dejar enfriar y se enjuagar las paredes de los erlenmeyer con agua acidulada.

Preparar los embudos de polipropileno con el papel filtro en los soportes correspondientes de manera que el vástago quede dentro de los balones aforados clase A de 50 mL de boca ancha. Transferir cuantitativamente el producto de la digestión de los erlenmeyer a los balones correspondientes, realizando varios enjuagues. Completar a volumen con agua acidulada.

Agitar los balones para homogenizar la solución y se transferir a los frascos de polipropileno,

previamente identificados con el código de la muestra o el estándar. En este momento se puede proceder a la lectura en el espectrofotómetro. En caso de que la lectura no se vaya a realizar inmediatamente, es necesario almacenar los frascos en el cuarto frío.

3.6.3. Análisis de determinación de metales pesados en la miel mediante absorción atómica.

a) Se consultó el instructivo del espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer Modelo 2380 con anticipación. (TI0336). Para realizar el análisis de metales pesados de cobre y plomo, se hizo las lecturas sobre el filtrado obtenido al pasar las muestras a través de filtro de acetato de celulosa de 0.45 μm y preservarlas posteriormente con ácido nítrico hasta un pH. Para la determinación de metales totales, se realizó la digestión de la muestra, siguiendo los pasos dados en las condiciones, para el metal a determinar y fijarlas en el equipo.

b) Se introdujo la curva de calibración al equipo de acuerdo al instructivo.

c) Se realizó la lectura aspirando cada una de las muestras. La concentración de la muestra no debe sobrepasar el rango de concentración, ni la absorbancia obtenida

d) Se registró en el Formato de Captura datos Espectrofotometría AA – análisis de metales TF0023 las lecturas de concentración y desviación estándar para cada muestra.

e) Se leyó un estándar de control cada cinco muestras y registre su lectura al igual que la de las muestras.

f) Se aspiró agua desionizada y agua acidulada después de haber leído cada muestra para enjuagar el equipo.

g) Se apagó el equipo siguiendo el instructivo arriba mencionado

3.7. Material de investigación

3.7.1. Instrumento de investigación:

El experimento se desarrolló tomando como base el método de determinación de pesticidas en la miel mediante la dispersión de la matriz en la fase sólida y cromatografía de gases con detección por captura de electrones (HPLC) y método de absorción atómica para la determinación de metales pesados como el plomo y el cobre, por lo tanto, las variables en estudio conducen a un diseño de experimentación completo al azar.

Equipos de laboratorio.

Los equipos utilizados se detallan a continuación:

a) Cromatógrafo de gases marca AGILENT 6890N, con detector de captura de electrones (DCE),

columna capilar DB-5 (metil 5% fenil silicona) de diámetro interno 0,25 mm y 30 m de largo, con una estación de control “Varian Chromatography Workstation, Star System Control, versión 5.31”

- b) Baño ultrasonido.
- c) Refractómetro digital
- d) Grado de precisión: 1 °Brix.
- e) Baño María
- f) Balanza analítica
- g) Estufa MEMMERT
- h) Centrífuga marca CHRIST.
- i) Evaporador rotatorio digital.
- j) Bomba de vacío.
- k) Espectrofotómetro de Absorción Atómica PELKIN-ELEMER 2380
- l) Lámparas de cátodo hueco (LCH) o de descarga sin electrodo (LDE) PERKIN - ELMER; para Pb, Cu.
- m) Válvulas reductoras de presión, una para cada uno de los tanques de combustible acetileno y oxidante aire
- n) Compresor de aire.
- o) Ventilación: un extractor entre 15 y 30 cm por encima del quemador para remover los humos y vapores de la llama. Esta precaución protege al personal de laboratorio de los vapores tóxicos, protege el instrumento de los vapores corrosivos, y protege la estabilidad de la llama.
- p) Plancha de calentamiento Schott Ceran o Thermolyne Cimarec2
- q) Cabina extractora para vapores inorgánicos

Los materiales de vidrio utilizados en las corridas son los siguientes:

- a) Vasos precipitados,
- b) Pipetas,
- c) Matraces,
- d) Baguetas,
- e) Tubos de ensayo,
- f) Embudos de decantación,
- g) Frascos,
- h) Probetas, etc.
- i) Otros materiales: soportes universales, nueces, papel alusafol, etc.
- j) Balones aforados clase A de 100 y 50 ml de cuello ancho Erlenmeyers de 125 mL.
- k) Vasos de precipitado de 100 ml
- l) Pipetas aforadas clase A, de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 25 y 50 mL.
- m) Probetas plásticas de 50 ml.
- n) Pipeta pasteur.
- o) Embudo de polipropileno pequeño de 5 cm de diámetro y vástago corto

- p) Soporte para filtración
- q) Papel de filtro cualitativo S&S 595 referencia 311610 de 11 cm de diámetro
- r) Membranas de acetato de celulosa S&S OE67 referencia 10404012 de 0.45µm y 47 mm de diámetro.
- s) Frasco lavador
- t) Frascos de polipropileno de aproximadamente 50 mL de capacidad.

Estándar

El estándar externo corresponde a tau-fluvalinato extraído del producto del APISTAN, marca zoecon. Importado de USA. Posee 0.8 g de producto por cada tira de Apistan. Con él se prepararon soluciones patrones mediante las correspondientes diluciones y se confeccionaron curvas de calibración a tres diferentes niveles: Curva 1: 0,5 – 15 µg/kg; Curva 2: 15 – 100 µg/kg y Curva 3: 100 – 800 µg/kg.

Reactivos químicos

Los reactivos químicos utilizados en la extracción y purificación de las muestras se detallan a continuación:

- a) N-Hexano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$) Merck, grado para análisis, pureza 99%, con una temperatura de ebullición de 68 ° C.
- b) N-N Dimetilformamida (DMF) ($\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$) Merck, grado para análisis, pureza 99,5%, con una temperatura de ebullición de 153 ° C
- c) Ciclohexano (C_6H_{12}) Merck, grado para análisis, pureza 99,5%, con una temperatura de ebullición de 80,7 ° C.
- d) Diclorometano (CH_2Cl_2) Merck, división americana Em Science, grado análisis de residuos, pureza 99,98%, con una temperatura de ebullición entre 39,5 – 40,5 ° C.
- e) Sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), Fluka, grado para análisis, pureza 99,5%, preparado al 5% (P/V).
- f) Columnas de extracción en fase sólida (se utilizó en fase normal) de florisil Extra sep Ô montadas sobre un equipo al vacío Vacuum Manifold
- g) Aire, limpio y seco.
- h) Acetileno, grado absorción atómica
- i) Agua desionizada
- j) Ácido nítrico, HNO_3 ; al 65% grado ultra puro.
- k) Agua acidulada. Disuelva 1,5 mL de ácido nítrico al 65% grado ultra puro en 1 L de agua desionizada UP.
- l) Peróxido de hidrogeno, H_2O_2 , 30%.
- m) Soluciones patrones trazables a SRM de NIST de 1000 mg/L. de, Cobre, Plomo.

3.7.2. Diseño de material de investigación:

Tabla 6. Representación del diseño experimental.

Lugar de procedencia	Residuos contaminantes	Método
Pachachaca	Fluvalinato	Cromatografía de gases con acoplado a detector de masas CG-MS con detección por captura de electrones.
	Metales pesados (Cu,Pb)	Absorción atómica por flama.
Atumpata	Fluvalinato	Cromatografía de gases con acoplado a detector de masas CG-MS con detección por captura de electrones.
	Metales pesados (Cu,Pb)	Absorción atómica por flama.
Quitapol	Fluvalinato	Cromatografía de gases con acoplado a detector de masas CG-MS con detección por captura de electrones.
	Metales pesados (Cu, Pb)	Absorción atómica por flama.

CAPÍTULO IV

Resultados

4.1. Descripción de resultados

El resultado obtenido expresa el contenido en microgramos de fluvalinato por kg de miel.

4.1.1. Presencia del fluvalinato en la miel

4.1.1.1. Cromatograma del Apistan

File :D:\DATA MSD\ACARICIDA\FLUVALINATO\APISTAN-8.D
Operator : JCHP
Acquired : 29 Apr 2019 13:44 using AcqMethod FLUVALINATO19-SIM.M
Instrument : UNSSAC
Sample Name: Apistan
Misc Info : SIM
Vial Number: 1

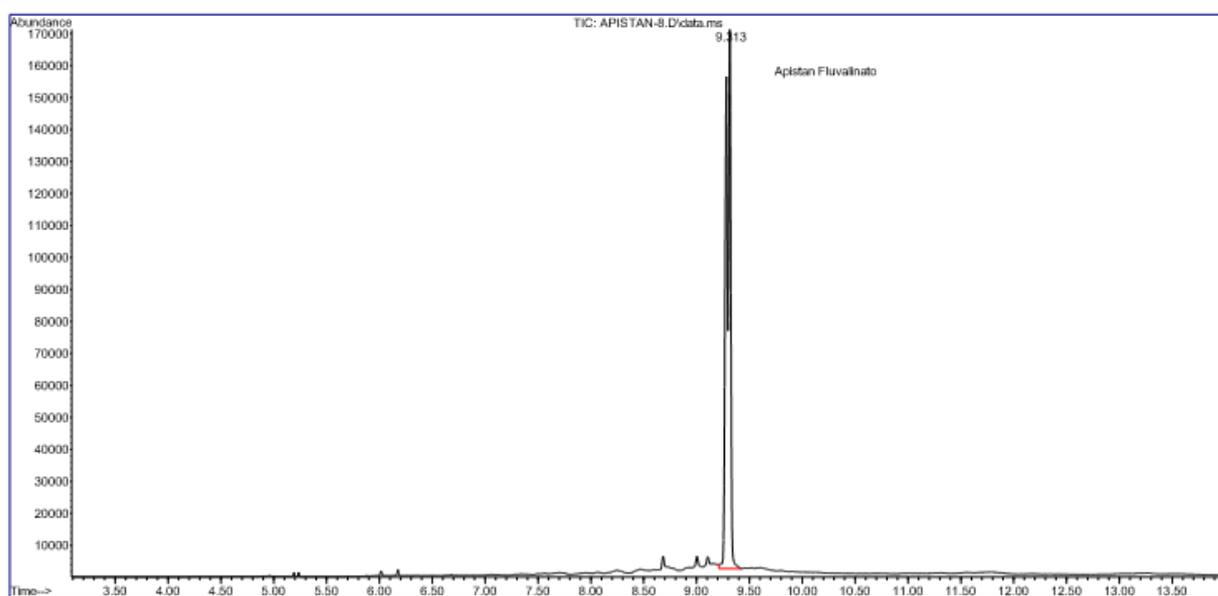


Figura 4. Cromatograma del Apistan, curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico Cromatografo de gases.

4.1.1.2. Cromatograma de las muestras de miel obtenidas de Pachachaca, Atumpata y Quitasol

File :D:\DATA MSD\ACARICIDA\FLUVALINATO\MIEL\Muestra 1.D
 Operator : JCHP
 Acquired : 7 May 19 2:25 pm using AcqMethod FLUVALINATO19-SIMM
 Instrument : UNSSAC
 Sample Name: Muestra 1
 Misc Info :
 Vial Number: 1

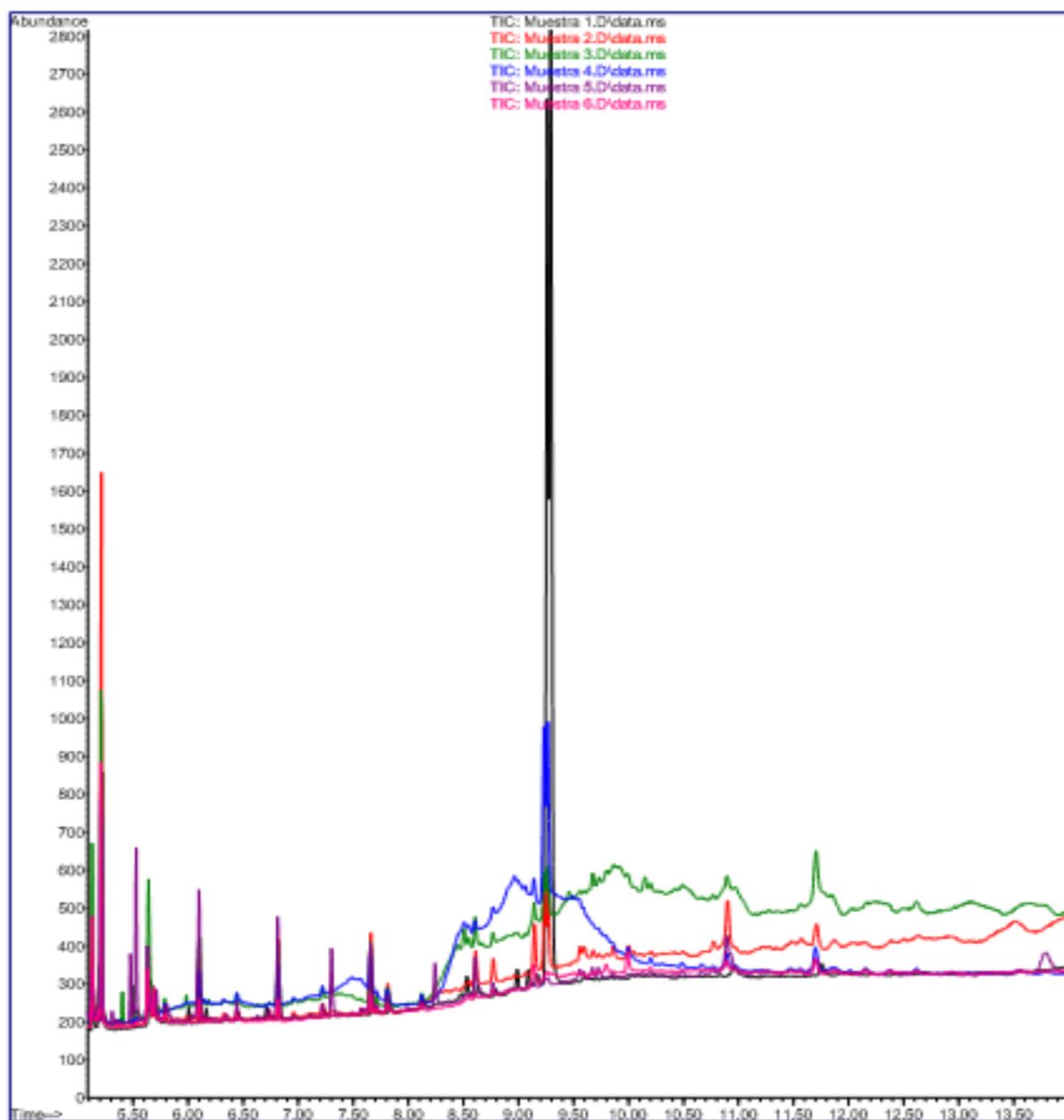


Figura 5. Cromatogramas Gc de las muestras de miel; Pachachaca M1, Pachachaca M2, Quitasol M1, Quitasol M2, Atumpata M1 y Atumpata M2; curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.

(Tiempos de retención 9.13 y 9.23 min) y 0.52 ppm de fluvalinato, usando monitoreo de iones seleccionados a m/z de 183, 250 y 252 (tres trazas superpuestas separadas, una para cada masa).

En la figura 4. Se aprecia el pico de fluvalinato, en sí mismo, fue bastante amplio al usar este sistema y la detección y cuantificación precisas se vieron afectadas negativamente.

El mejor sistema con el menor fondo de miel se obtuvo mediante el monitoreo de iones seleccionados por espectrometría de masas. Elegimos el pico en m/z de 250 ya que este fue el pico de fluvalinato más grande después del impacto de los electrones. La otra característica de este pico fue que contenía el átomo de cloro y, por lo tanto, también se pudo determinar el pico relacionado a m/z de 252.

Dos picos podrían considerarse como fluvalinato. Además, el fluvalinato contiene dos centros quirales y las formulaciones comerciales de fluvalinato tienen un centro, junto al grupo amino, fijado en la configuración R. Por lo tanto, la configuración R, S en el otro centro quiral (junto al grupo ciano) conduce a un par de compuestos diásteroméricos con diferentes propiedades.

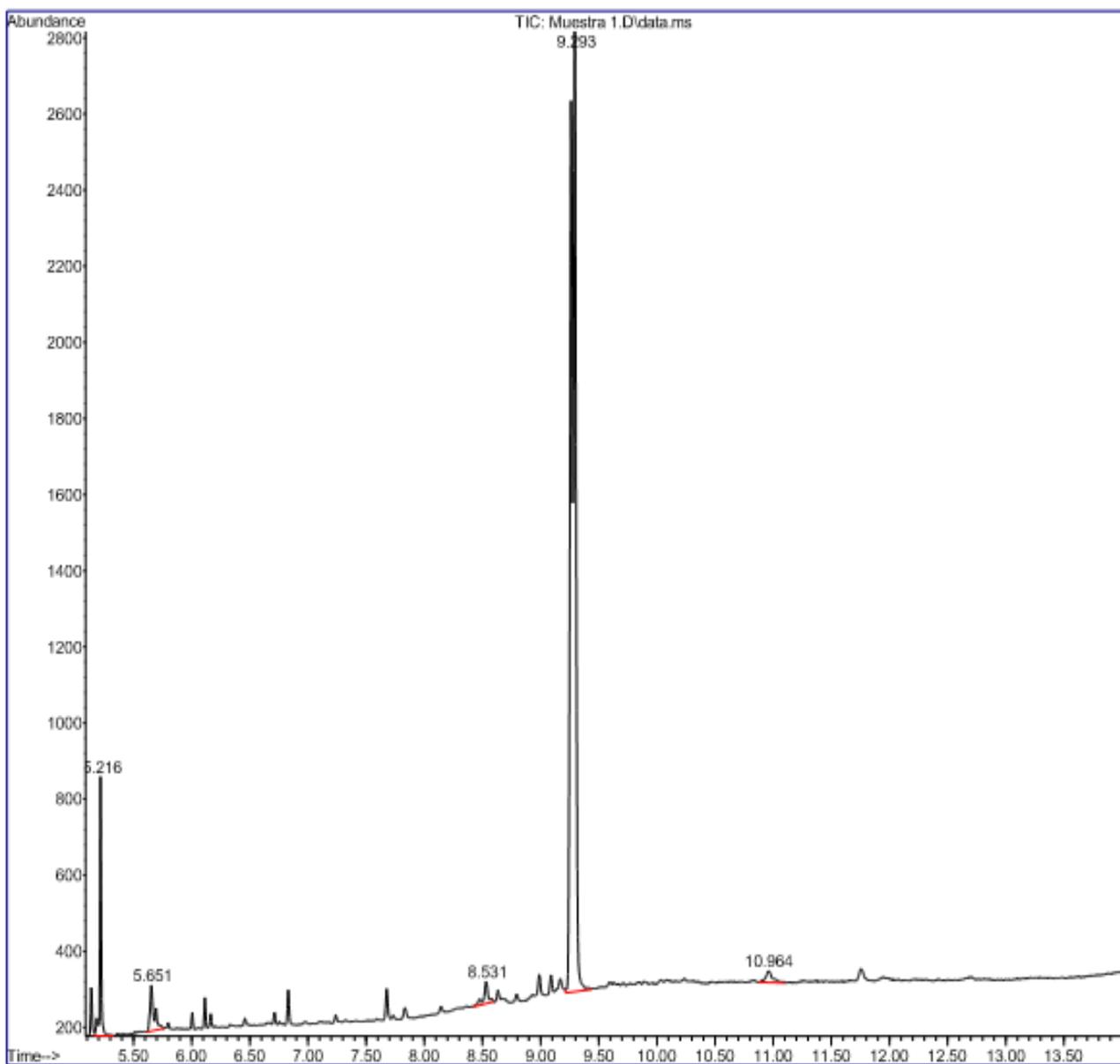
4.1.1.3. Fluvalinato en Muestra 1

Tabla 7. Fluvalinato en muestra 1.

Peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. Area	corr. Max	% of total
1	5.216	16	25	46	rVB	681	580	7.89%	6.822%
2	5.651	99	106	127	rBB3	121	286	3.89%	3.364%
3	8.531	621	642	655	rBB2	58	160	2.18%	1.882%
4	9.293	769	784	811	rVV	2518	7350	100.00%	86.450%
5	10.964	1078	1095	1120	rBB2	31	126	1.71%	1.482%

Suma de áreas correctas: 8502

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico Cromatógrafo de gases.



FLUVALINATO19-SIM.M Tue May 07 16:28:47 2019 UNSAAC

Page: 2

Figura 6. Cromatograma GC de la muestra de Pachachaca M1, curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico Cromatógrafo de gases.

4.1.1.4. Fluvalinato en Muestra 2

Tabla 8. Fluvalinato en muestra 2.

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. Area	corr. Max	% of total
1	5.21	19	24	33	Rbb	1447	1062	100.00%	37.593%
2	7.66	474	480	487	rBB2	213	261	24.58%	9.239%
3	9.266	767	779	790	rBB2	205	592	55.74%	20.956%
4	10.899	1066	1083	1104	rBB2	132	378	35.59%	13.381%
5	13.494	1512	1566	1603	rBB3	40	532	50.09%	18.832%

Suma de áreas correctas: 2825

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico Cromatógrafo de gases.

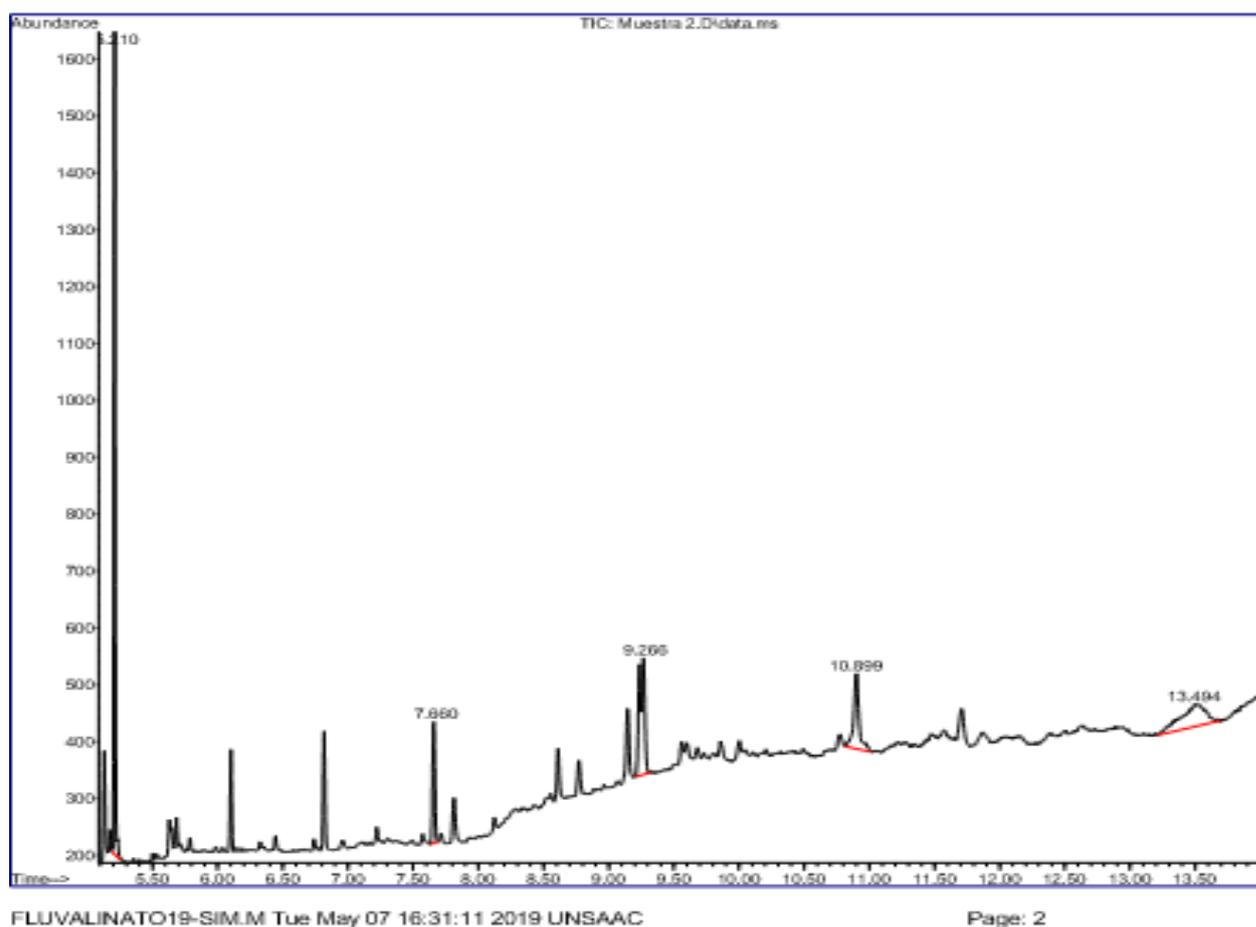


Figura 7. Cromatogramas GC del Pachachaca (M2), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico Cromatógrafo de gases.

4.1.1.5. Fluvalinato en Muestra 3

Tabla 9. Fluvalinato en muestra 3.

Peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. Area	corr. Max	% of total
1	5.205	13	23	37	rBB2	868	814	93.56%	15.414%
2	5.604	98	104	124	rBB2	361	629	72.30%	11.911%
3	6.811	316	322	337	rBB2	161	182	20.92%	3.446%
4	8.509	585	638	649	rBB2	70	607	69.77%	11.494%
5	9.266	766	779	790	rBB3	135	395	45.40%	7.480%
6	9.868	871	891	932	rBB2	54	597	68.62%	11.305%
7	10.491	982	1007	1032	rBB2	34	252	28.97%	4.772%
8	10.894	1063	1082	1125	rBB2	71	595	68.39%	11.267%
9	11.705	1213	1233	1278	rBB2	152	870	100.00%	16.474%
10	13.102	1471	1493	1547	rBB3	24	340	39.08%	6.438%

Suma de áreas correctas: 5281

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico Cromatógrafo de gases.

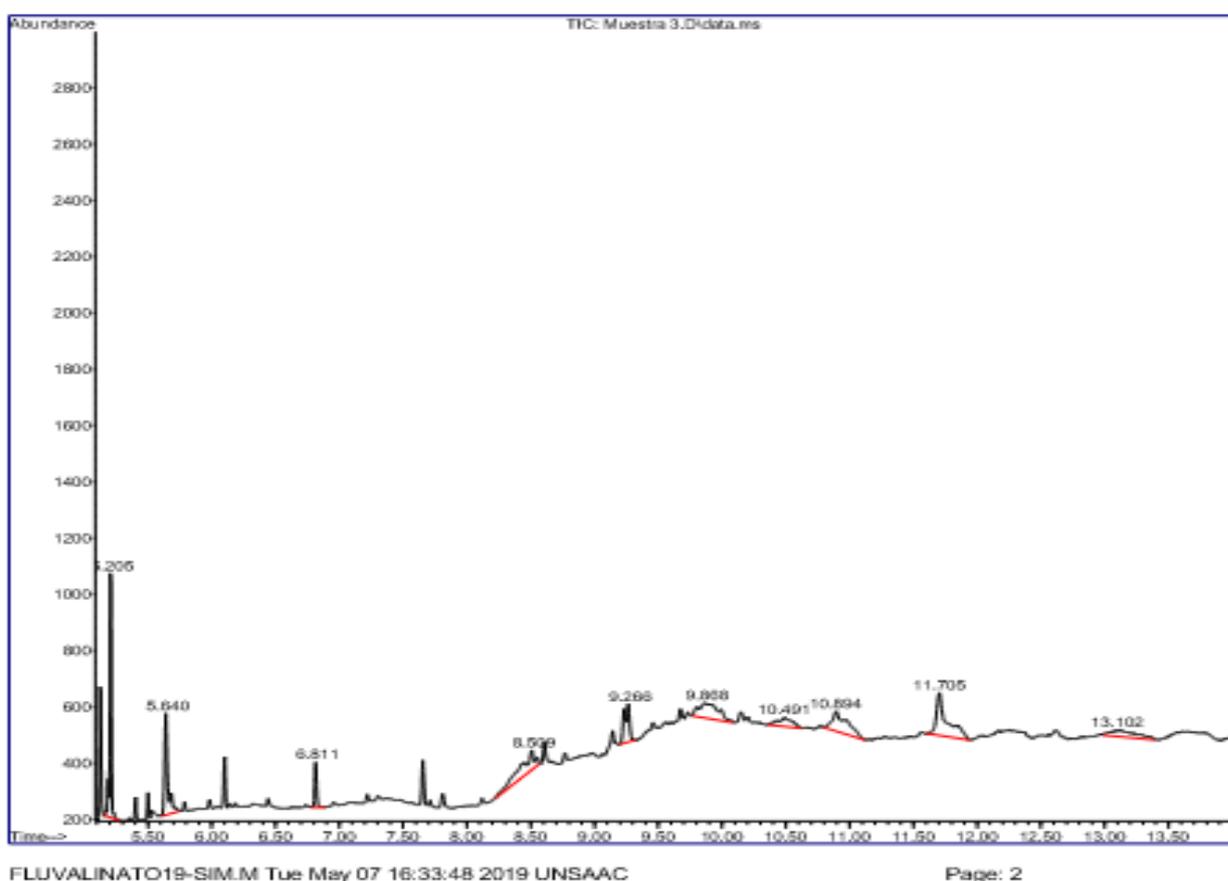


Figura 8. Cromatogramas GC de la muestra Quitasol (M1), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.

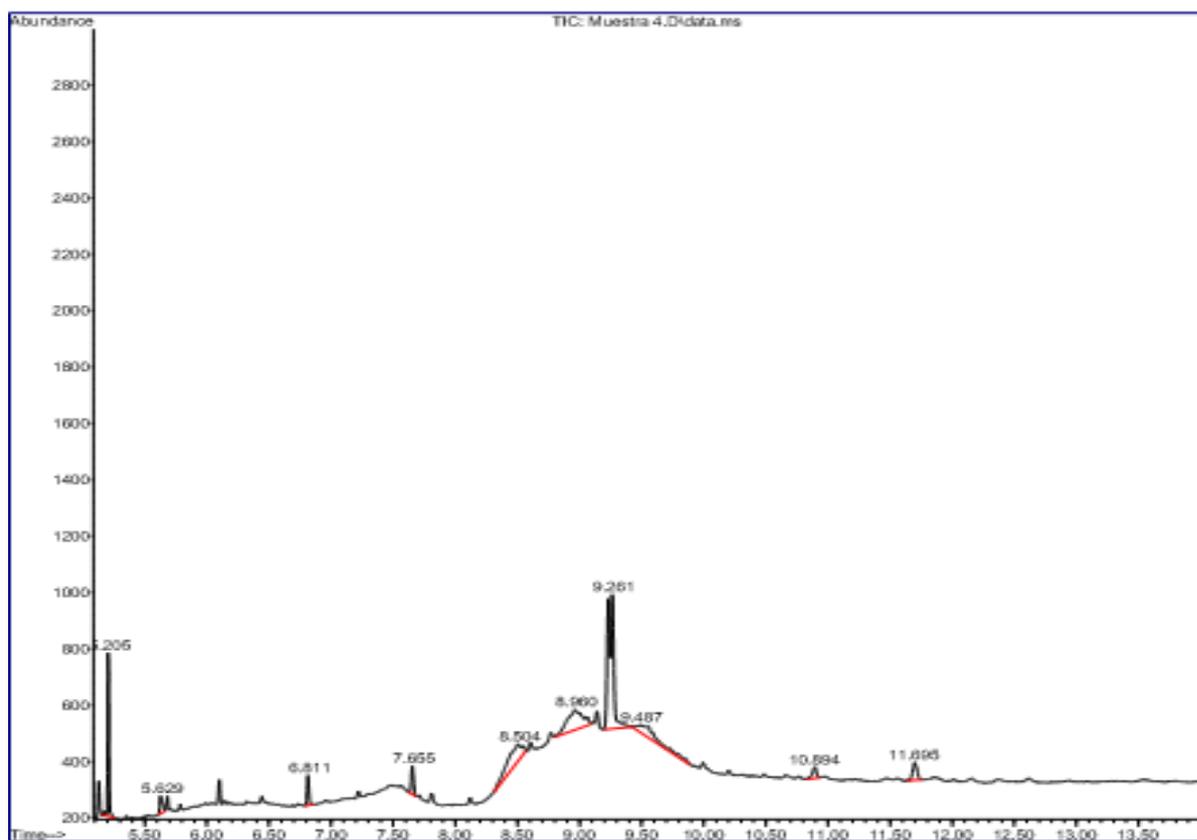
4.1.1.6. Fluvalinato en Muestra 4

Tabla 10. Fluvalinato en muestra 4.

Peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. Area	corr. Max	% of total
1	5.205	13	23	33	rBB	580	461	29.90%	11.008%
2	5.629	98	102	109	rBB2	62	99	6.42%	2.364%
3	6.811	317	322	331	rBB2	108	117	7.59%	2.794%
4	7.655	472	479	485	rBB2	101	120	7.78%	2.865%
5	8.504	601	637	649	rBB2	62	598	38.78%	14.279%
6	8.96	691	722	748	rBB2	73	625	40.53%	14.924%
7	9.261	765	778	808	rBB	477	1542	100.00%	36.819%
8	9.487	808	820	895	rBB	27	379	24.58%	9.050%
9	10.894	1069	1082	1090	rBB2	40	94	6.10%	2.245%
10	11.695	1219	1231	1242	rBB	63	153	9.92%	3.653%

Suma de áreas correctas: 4188

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.



FLUVALINATO19-SIM.M Tue May 07 16:34:34 2019 UNSAAC

Page: 2

Figura 9. Cromatogramas GC de la muestra Quitasol (M1), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.

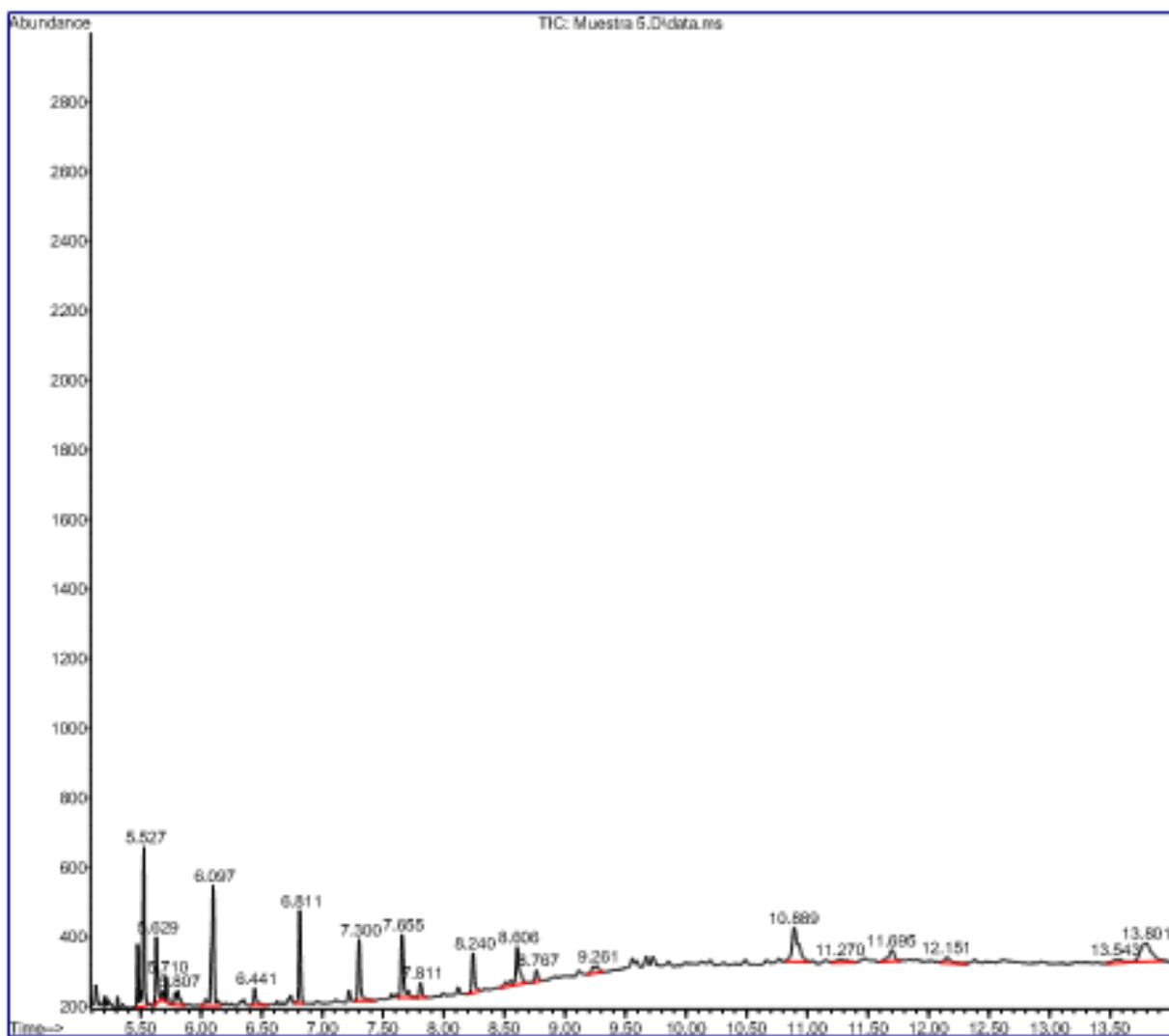
4.1.1.7. Fluvalinato en Muestra 5

Tabla 11. Fluvalinato en muestra 5.

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. Area	corr. Max	% of total
1	5.527	70	83	91	rBB2	457	568	100.00%	14.011%
2	5.629	98	102	109	rBB	192	199	35.04%	4.909%
3	5.71	109	117	123	rBB2	74	92	16.20%	2.269%
4	5.807	124	135	147	rBB2	41	98	17.25%	2.417%
5	6.097	169	189	202	rBB2	346	522	91.90%	12.876%
6	6.441	247	253	274	rBB2	49	71	12.50%	1.751%
7	6.811	313	322	329	rBB	267	281	49.47%	6.931%
8	7.3	406	413	439	rBV	178	258	45.42%	6.364%
9	7.655	472	479	499	rBB2	182	295	51.94%	7.277%
10	7.811	499	508	520	rBB2	43	68	11.97%	1.677%
11	8.24	580	588	601	rBB	116	181	31.87%	4.465%
12	8.606	629	656	673	rBB	109	280	49.30%	6.907%
13	8.767	679	686	694	rBB	34	53	9.33%	1.307%
14	9.261	763	778	790	rBB3	22	78	13.73%	1.924%
15	10.889	1069	1081	1105	rBB2	98	357	62.85%	8.806%
16	11.27	1138	1152	1177	rBB3	10	60	10.56%	1.480%
17	11.695	1213	1231	1246	rBB2	34	115	20.25%	2.837%
18	12.151	1306	1316	1348	rBB3	17	70	12.32%	1.727%
19	13.543	1561	1575	1600	rBB	11	67	11.80%	1.653%
20	13.801	1602	1623	1648	rBB2	54	341	60.04%	8.411%

Suma de áreas correctas: 4054

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.



FLUVALINATO19-SIM.M Tue May 07 16:35:37 2019 UNSAAC

Page: 2

Figura 10. Cromatogramas GC de la muestra de Atumpata (M1), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.

4.1.1.8. Fluvalinato en Muestra 6

Tabla 12. Fluvalinato en muestra 6.

Peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. Area	corr. Max	% of total
1	5.13	5	9	15	rBV2	293	313	55.20%	16.430%
2	5.205	19	23	29	rVV	697	567	100.00%	29.764%
3	5.629	93	102	109	rBV2	150	254	44.80%	13.333%
4	5.683	109	112	123	rVV	100	151	26.63%	7.927%
5	6.097	185	189	193	rVB2	61	58	10.23%	3.045%
6	6.811	317	322	329	rVB	59	69	12.17%	3.622%
7	7.655	473	479	485	rBV2	54	72	12.70%	3.780%
8	9.138	741	755	761	rBV	66	136	23.99%	7.139%
9	9.992	907	914	923	rBV2	57	115	20.28%	6.037%
10	10.889	1075	1081	1091	rVB3	25	54	9.52%	2.835%
11	11.695	1221	1231	1239	rBV	44	116	20.46%	6.089%

Suma de áreas correctas: 1905

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.

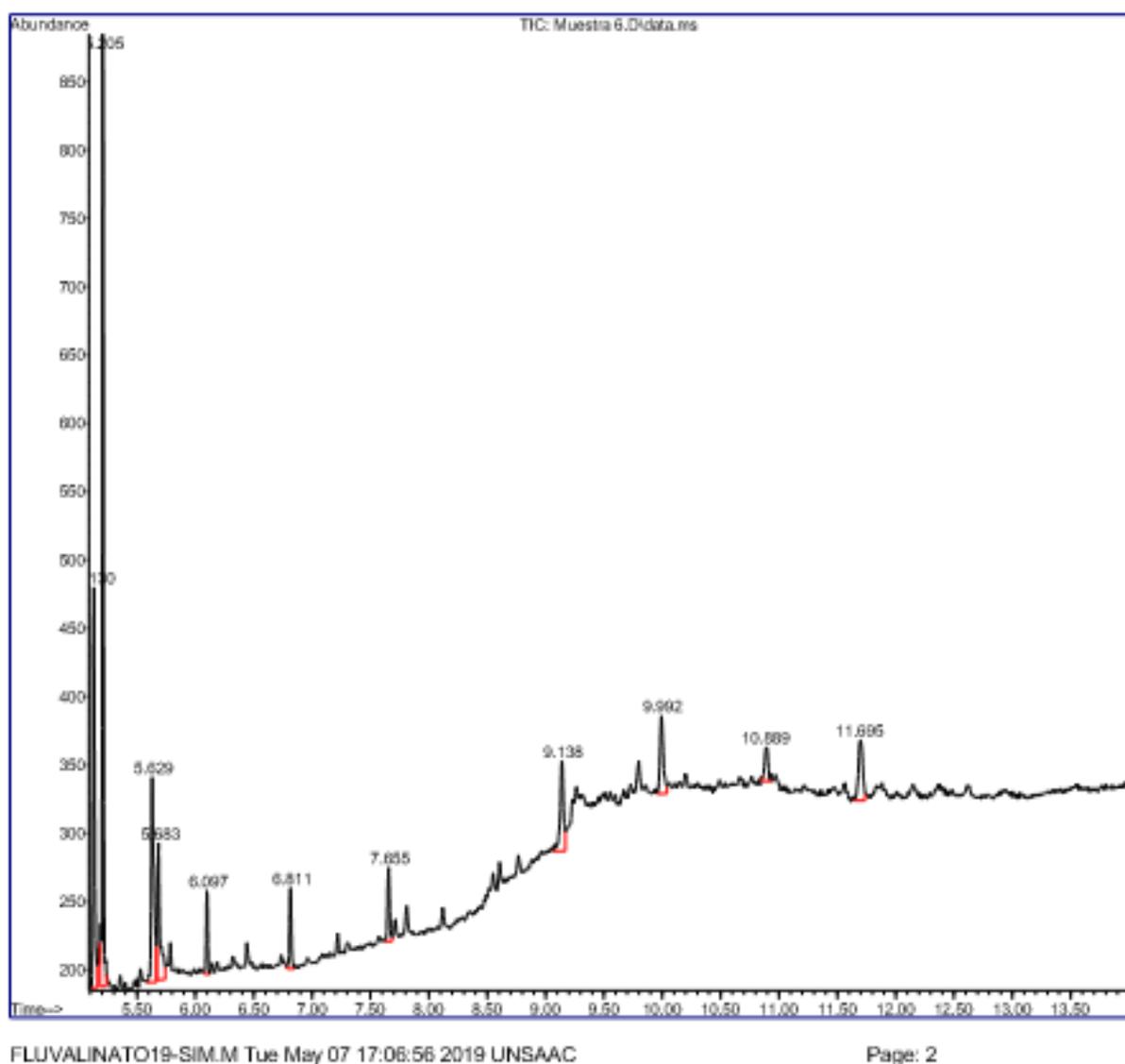


Figura 11. Cromatogramas GC de la muestra Atumpata (M2), curva de calibración de la respuesta del detector al fluvalinato.

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico denominado Cromatógrafo de gases.

En las figuras 10, 11, y 12 se muestra los cromatogramas de acuerdo al método de análisis y a las condiciones de laboratorio empleado, no se detectó residuos de fluvalinato en una muestra (Atumpata M1) y Atumpata (M2) de un total de 6, lo que corresponde al 33.3%. En tanto, 4 (Pachachaca M1, Pachachaca M2, Quitasol M1, Quitasol M2) muestras (66.7%) se encontraron sobre el límite Máximo de Residuos (LMR) de 10 µg/kg o 50 µg/kg (MARTIN, 1999).

Las muestras de Pachachaca M1, Pachachaca M2, Quitasol M1, Quitasol M2 presentan un alto nivel de presencia de fluvalinato, para poder asegurar los resultados obtenidos se hizo dos repeticiones por muestra tal como muestra la tabla 13.

El resultado obtenido expresa el contenido en microgramos de fluvalinato por kg de miel.

Tabla 13. Presencia de fluvalinato en las 6 muestras por duplicado.

Lugar de procedencia	Fluvalinato
Pachachaca M1	286.32
Pachachaca M1	288.43
Pachachaca M2	24.95
Pachachaca M2	23.55
Quitasol M1	14.91
Quitasol M1	14.06
Quitasol M2	62.23
Quitasol M2	60.15
Atumpata M1	3.03
Atumpata M1	2.97
Atumpata M2	0.05
Atumpata M2	0

Fuente: Data MSD/acaricida/fluvalinato/apistan-8-D. Equipo tecnológico Cromatógrafo de gases.

4.1.2. Presencia de metales pesados en la miel

Método: Pb Miel (Llama)

Determinación de Plomo en Miel

Elemento - Matriz:	Pb - Miel
Tipo de instrumento:	Llama
Unidades de Conc.:	mg/L
Modo del instrumento:	Absorbancia
Modo de muestreo:	Manual
Modo de calibración:	Concentración
Modo de medida:	Integración
Réplicas Patrones:	3
Réplicas muestras:	3
Factor de expansión:	1.0
Lectura mínima:	Desactivado
Suavizado:	7 puntos
Cifras Decimales Conc:	2
Longitud de onda:	217.0 nm
Anchura de rendija:	1.0 nm
Ganancia:	48 %
Corriente de lámpara:	10.0 mA
Posición de la lámpara:	3
Corrección de fondo:	C. Fondo activado
PATRÓN 1:	2.50 mg/L
PATRÓN 2:	5.00 mg/L
PATRÓN 3:	10.00 mg/L
Frec. de ajuste de pendiente:	50

Nº Patrón para ajuste de pendiente: 2

Límite Inf. Ajuste de Pendiente: 75.0 %
 Límite Sup. Ajuste de Pendiente: 125.0 %
 Frec. De recalibración: 100
 Algoritmo de calibración: Racional
 Nuevo Límite inferior de calibración: 20.0 %
 Límite superior de calibración: 150.0 %
 SIPS: Desactivado

Tiempo de medida: 5.0 s
 Retraso previo a la lectura: 5 s
 Tipo de llama: Aire/Acetileno
 Flujo de Aire: 13.50 L/min
 Flujo de acetileno: 2.00 L/min
 Altura del quemador: 0.0 mm

Tabla 14. Principios generales de la absorción atómica.

Muestra ID	Concentración mg/L	%RSD	SD	Abs media	Abs fondo
CERO CAL	0	12.3	0.0002	0.0013	0.0023
	Lecturas				
	0.0014	0.0011	0.0014		
PATRON 1	2.5	0.6	0.0007	0.1094	-0.0006
	Lecturas				
	0.1094	0.1101	0.1088		

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

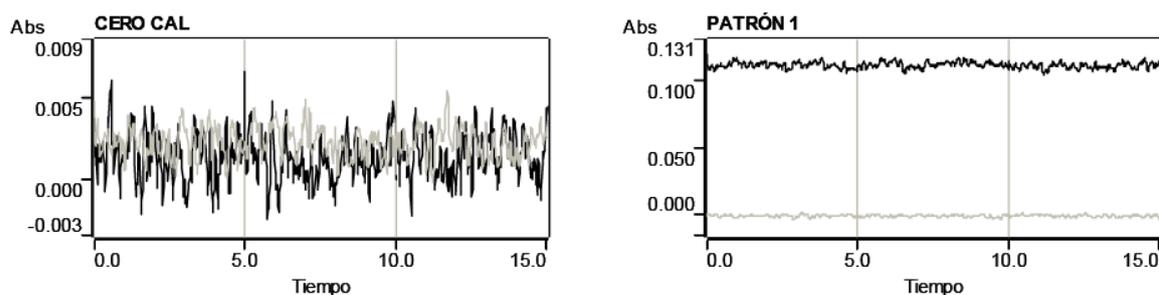


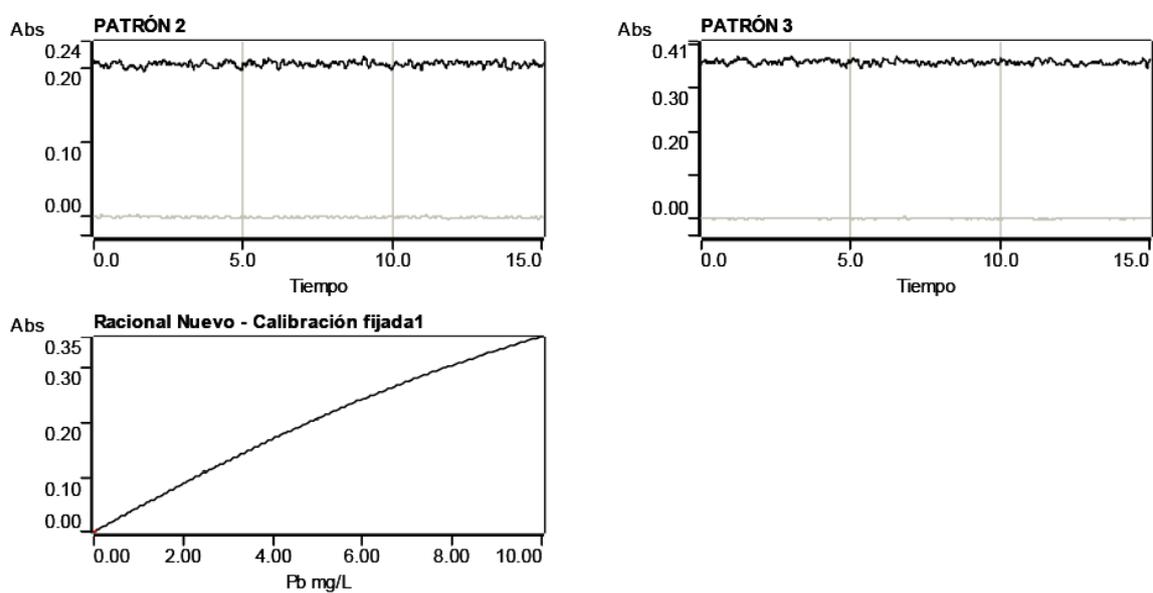
Figura 12. Principios del patrón para determinación de plomo.

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

Tabla 15. Otros patrones a tener en cuenta.

PATRÓN 2	5	0.4	0.0008	0.2036	-0.0008
	Lecturas				
	0.2028	0.2044	0.2037		
PATRÓN 3	10	0.3	0.0012	0.3549	-0.0006
	Lecturas				
	0.3562	0.3546	0.3539		

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

**Figura 13.** Tiempo de retención del patrón 1, 2 y 3.

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

Tabla 16. Resultados de presencia de plomo en la miel procedente de las seis muestras por triplicado.

Muestra 1-1	-0.03	15.1	0.0002	-0.0012	0.057
	Lecturas				
	0.0012	0.0014	0.001		
Muestra 1-2	-0.02	27.4	0.0003	-0.0009	0.0564
	Lecturas				
	0.0007	0.0012	0.001		
Muestra 1-3	-0.03	10.2	0.0001	-0.0012	0.0563
	Lecturas				
	0.0013	0.0011	0.0011		
Muestra 2-1	-0.03	10.3	0.0002	-0.0015	0.061
	Lecturas				
	0.0016	0.0013	0.0015		
Muestra 2-2	-0.03	21.7	0.0002	-0.0012	0.061
	Lecturas				
	0.0014	0.0012	0.0009		
Muestra 2-3	-0.03	5.6	0.0001	-0.0014	0.0614
	Lecturas				
	0.0015	0.0014	0.0015		
Muestra 3-1	-0.03	15.5	0.0002	-0.0013	0.0707
	Lecturas				
	0.0011	0.0015	0.0012		
Muestra 3-2	-0.03	11.9	0.0002	-0.0014	0.0708
	Lecturas				
	0.0013	0.0016	0.0013		
Muestra 3-3	-0.03	17.5	0.0002	-0.0013	0.0704
	Lecturas				
	0.0011	0.0012	0.0016		
Muestra 4-1	-0.02	34	0.0003	-0.001	0.0709
	Lecturas				
	0.0008	0.0014	0.0009		
Muestra 4-2	-0.02	17.7	0.0001	-0.0008	0.0711
	Lecturas				
	0.0007	0.0007	0.001		
Muestra 4-3	-0.01	20	0.0001	-0.0006	0.0711
	Lecturas				
	0.0006	0.0007	0.0005		
Muestra 5-1	-0.01	26.1	0.0002	-0.0006	0.0461
	Lecturas				
	0.0005	0.0008	0.0007		
Muestra 5-2	-0.01	67.7	0.0003	-0.0005	0.046
	Lecturas				
	0.0009	0.0004	0.0002		
Muestra 5-3	-0.01	37.7	0.0002	-0.0005	0.0458
	Lecturas				

	0.0004	0.0003	0.0007		
Muestra 6-1	-0.02	10.7	0.0001	-0.0008	0.0573
	Lecturas				
	-0.0007	-0.0009	-0.0009		
Muestra 6-2	-0.02	23.2	0.0002	-0.0009	0.0573
	Lecturas				
	0.0012	0.0007	0.001		
Muestra 6-3	-0.02	37.3	0.0004	-0.001	0.0581
	Lecturas				
	0.0006	0.001	0.0013		
2.5ppm	2.45	0.2	0.0002	0.1062	-0.0015
	Lecturas				
	0.1061	0.106	0.1064		
5ppm	4.84	0.1	0.0002	0.1999	-0.0014
	Lecturas				
	0.1997	0.1998	0.2001		
10ppm	9.75	0.7	0.0025	0.3481	-0.0011
	Lecturas				
	0.3473	0.3508	0.3461		

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

Método: Cu Miel (Llama)

Elemento – Matriz:	Cu - Miel
Tipo de instrumento:	Llama
Unidades de Conc.:	mg/L
Modo del instrumento:	Absorbancia
Modo de muestreo:	Manual
Modo de calibración:	Concentración
Modo de medida:	Integración
Réplicas Patrones:	3
Réplicas muestras:	3
Factor de expansión:	1.0
Lectura mínima:	Desactivado
Suavizado:	7 puntos
Cifras Decimales Conc:	3
Longitud de onda:	324.8 nm
Anchura de rendija:	0.5 nm
Ganancia:	44 %
Corriente de lámpara:	4.0 mA
Posición de la lámpara:	1
Corrección de fondo:	C. Fondo activado
PATRÓN 1:	1.000 mg/L
PATRÓN 2:	2.000 mg/L
PATRÓN 3:	4.000 mg/L
Frec. de ajuste de pendiente:	50
Nº Patrón para ajuste de pendiente:	2
Límite Inf. Ajuste de Pendiente:	75.0 %

Límite Sup. Ajuste de Pendiente:	125.0 %
Frec. De recalibración:	100
Algoritmo de calibración:	Racional
Nuevo Límite inferior de calibración:	20.0 %
Límite superior de calibración:	150.0 %
SIPS:	Desactivado
Tiempo de medida:	5.0 s
Retraso previo a la lectura:	5 s
Tipo de llama:	Aire/Acetileno
Flujo de Aire:	13.50 L/min
Flujo de acetileno:	2.00 L/min
Altura del quemador:	0.0 mm

Tabla 17. Principios generales de los patrones en absorción atómica para el cobre.

Muestra ID	Concentración mg/L	%RSD	SD	Abs media	Abs fondo
CERO CAL	0	7.9	0.0001	0.0019	-0.0003
	Lecturas				
	0.0018	0.0018	0.0021		
PATRON 1	1	0.7	0.001	0.1405	0.0023
	Lecturas				
	0.1403	0.1397	0.1416		

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

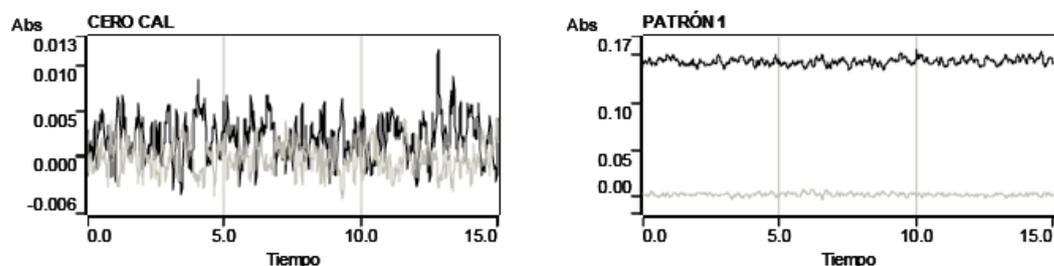


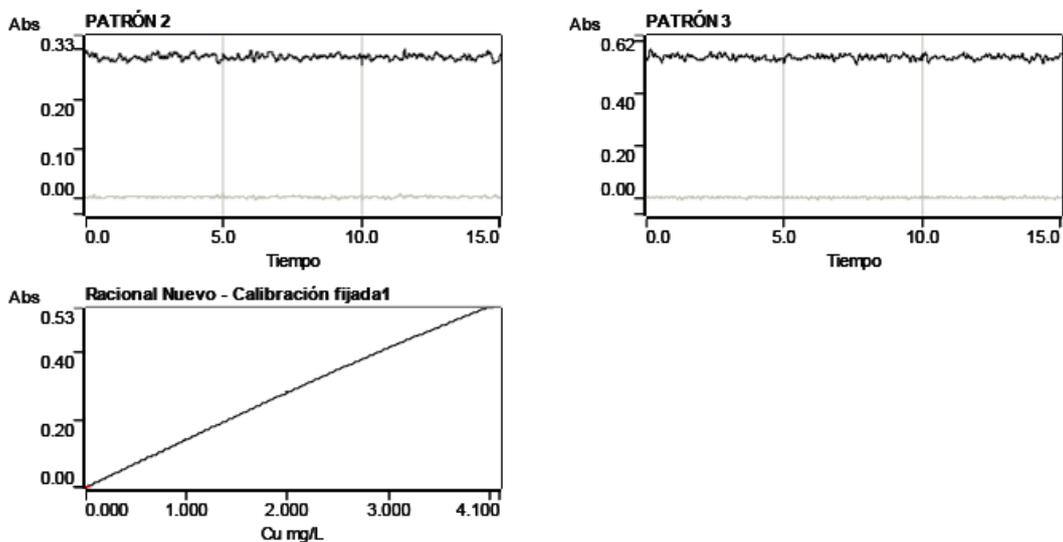
Figura 14. Tiempo de retención del patrón 1.

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

Tabla 18. Lecturas de los patrones 2 y 3.

PATRON 2	2	0.1	0.0002	0.2814	0.0021
	Lecturas				
	0.2815	0.2817	0.2812		
PATRON 3	4	0.2	0.0008	0.533	0.0034
	Lecturas				
	0.5335	0.5335	0.5321		

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

**Figura 15.** Tiempo de retención del patrón 2 y 3.

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

Tabla 19. Resultados de la presencia de cobre de las seis muestras por triplicado.

Muestra 1-1	-0.001	>100	0.0002	-0.0001	0.0026
	Lecturas				
	0.0004	0.0001	0		
Muestra 1-2	-0.02	27.4	0.0003	0.0009	0.0564
	Lecturas				
	0.0005	0.0001	0.0002		
Muestra 1-3	0.001	74.6	0.0002	-0.0002	0.0027
	Lecturas				
	0.0004	0.0001	0.0001		
Muestra 2-1	0.004m	45.4	0.0003	0.0006	0.0023
	Lecturas				
	0.0008	0.0007	0.0003		
Muestra 2-2	0.000m	>100	0.0002	0.0000	0.0027
	Lecturas				
	0.0001	0.0002	0.0001		
Muestra 2-3	0.000m	>100	0.0004	0.0000	0.0023
	Lecturas				
	0.0003	0.0004	0.0003		
Muestra 3-1	0.015	10.4	0.0002	0.002	0.005
	Lecturas				
	0.0019	0.0019	0.0023		
Muestra 3-2	0.001	34.9	0.0001	0.0002	0.0033
	Lecturas				
	0.0002	0.0002	0.0001		
Muestra 3-3	0.003	31.2	0.0001	0.0004	0.0035
	Lecturas				
	0.0003	0.0004	0.0005		
Muestra 4-1	-0.004	57.3	0.0003	-0.0006	0.0034
	Lecturas				
	0.0009	0.0006	0.0002		
Muestra 4-2	-0.008	22.8	0.0003	-0.0011	0.0035
	Lecturas				
	0.0012	0.0013	0.0008		
Muestra 4-3	-0.003	>100	0.0009	-0.0004	0.0027
	Lecturas				
	0.0006	0.0012	0		
Muestra 5-1	0.003	>100	0.0004	0.0004	0.0012
	Lecturas				
	0.0005	-0.0001	0.0007		
Muestra 5-2	0.001	>100	0.0005	0.0001	0.0015
	Lecturas				
	0.0002	0.0006	0.0001	27/06/2019	
Muestra 5-3	0.002	27	0.0001	0.0003	0.0014
	Lecturas				
	0.0003	0.0002	0.0002	27/06/2019	
Muestra 6-1	0.009	35.8	0.0005	0.0013	0.0023
	Lecturas				
	0.0014	0.0017	0.0008	27/06/2019	
Muestra 6-2	0.004	23.8	0.0001	0.0006	0.0019
	Lecturas				

Muestra 6-3	0.0007	0.0006	0.0005	27/06/2019	
	0.008	53.9	0.0006	0.0011	0.0023
	Lecturas				
	0.0011	0.0006	0.0018	27/06/2019	
1 ppm	0.94	0.5	0.0007	0.1327	0.0017
	Lecturas				
	0.1333	0.133	0.132	27/06/2019	
2 ppm	1.862	0.4	0.0012	0.2615	0.0015
	Lecturas				
	0.2604	0.2615	0.2627	27/06/2019	

Fuente: Equipo tecnológico denominado Espectrofotometría de absorción atómica.

Las concentraciones de plomo y cobre en la miel de *Apis mellifera* en las seis zonas de estudio (100%) es < a 0,04 mg/kg

Respectivamente.

La concentración de plomo < a 0,04 no superan los límites máximos.

El contenido de plomo en la miel puede ser consecuencia de residuos de fumigaciones, contactos de la miel con los equipos de elaboración y procesamiento⁴⁵ así mismo la contaminación de miel tiene que ver con el uso de pinturas⁴⁶, y mediante sustancias suministradas para la nutrición de las abejas.⁴⁷

Por lo tanto, el nivel de presencia de plomo y cobre presentes en la miel de las muestras de Pachachaca M1, Pachachaca M2, Quitasol M1, Quitasol M2, Atumpata M1 y Atumpata M2 es muy bajo tal como se muestra en la tabla 19.

⁴⁵ TORRENTE LL.; 2007“parámetros de la calidad de miel”

⁴⁶ PADILLA, M. A.; 1999 “protocolos de vigilancia sanitaria. Plomo. Instituto vasco de seguridad y salud laborales”

⁴⁷ CHACHIN P. C.; 2012, La miel como indicador de malos hábitos de apicultura

Tabla 20. Resultados de cobre y plomo de las seis muestras de miel por triplicado.

LUGAR DE PROCEDENCIA	METALES PESADOS	
	PLOMO (Pb)	COBRE (Cu)
Pachachaca M1	0.001	0
Pachachaca M1	0.001	0.0002
Pachachaca M1	0.0011	0.0001
Pachachaca M2	0.0015	0.0003
Pachachaca M2	0.009	0.0001
Pachachaca M2	0.0015	0
Quitason M1	0.0012	0.0023
Quitason M1	0.0013	0.0001
Quitason M1	0.0016	0.0006
Quitason M2	0.009	0.0002
Quitason M2	0.001	0.0008
Quitason M2	0.0005	0.0007
Atumpata M1	0.0007	0.0007
Atumpata M1	0.0002	0.0001
Atumpata M1	0.0007	0.0002
Atumpata M2	0.0009	0.0008
Atumpata M2	0.001	0.0005
Atumpata M2	0.0013	0.0018

Fuente: Equipo tecnológico Espectrofotometría de absorción atómica.

4.2. Contrastación de hipótesis.

Se aplicó estadística descriptiva a todas las muestras, obteniendo tabla de frecuencia, y se calculó media aritmética y desviación estándar para las muestras con concentraciones sobre el límite máximo. Se estimó la proporción de muestras sobre los LMRs, para esto se consideraron dos concentraciones que se han establecido hasta la fecha, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Fluvalinato

Las 6 muestras analizadas para la determinación de fluvalinato presentaron un valor mínimo y máximo de 0 y 288.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente, con una media de extremadamente alto. La mayor parte, 66.7%, mostró concentraciones en un rango de 5 hasta 25845.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$, lo que se detalla en la siguiente figura.

Tabla 21. Análisis de la varianza para Fluvalinato.

F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	123486.43	5	24697.29	25845.02	<0.0001
Lugar de procedencia	123486.43	5	24697.29	25845.02	<0.0001
Error	5.73	6	0.96		
Total	123492.17	11			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=3.89047

Error: 0.9556 gl: 6

Tabla 22. Prueba de Tukey para Fluvalinato.

Lugar de procedencia	Medidas	N	E.E.	
Pachachaca M1	287.38	2	0.69	A
Quitason M2	61.19	2	0.69	B
Pachachaca M2	24.25	2	0.69	C
Quitason M1	14.49	2	0.69	D
Atumpata M1	3.00	2	0.69	E
Atumpata M2	0.03	2	0.69	E

Medidas con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

En la tabla 21 se muestra el análisis de varianza para Fluvalinato en el que se puede apreciar diferencias altamente significativas entre los lugares de procedencia ($p < 0.05$).

En vista de las diferencias encontradas se realizó la comparación de medias por Tukey (tabla 22) en donde se aprecian grupos diferentes para lugar de procedencia, siendo la muestra Pachachaca M1 la que presentó el mayor valor de Fluvalinato, seguido de Quitason M2, a continuación, le sigue Pachachaca M2 y Quitason M1, se observa que las muestras de Atumpata M1 M2 son iguales estadísticamente y presentaron escasa o nula presencia de Fluvalinato.

De acuerdo a esos resultados se puede inferir que al parecer el método de extracción de la miel por prensado y el mal manejo del uso del Apistan sobre las colmenas influye directamente en la presencia del pesticida, es decir que los apicultores de Pachachaca utilizan mucho más Apistan que en Quitason y Atumpata y extraen la miel por prensado.

Rechazando la hipótesis nula y aceptando la hipótesis de investigación.

Cobre

Las 6 muestras analizadas para la determinación de metales pesados (cobre) presentaron un valor mínimo y máximo de 0 y 0.001mg/kg respectivamente, con una media de extremadamente alto. La mayor parte, 84%, mostró concentraciones en un rango de 5 hasta 0.00029mg/kg, lo que se detalla en la siguiente figura.

Tabla 23. Análisis de la varianza para Cobre.

F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.6E-06	5	5.1E-07	1.52	0.2564
Lugar de procedencia	2.6E-06	5	5.1E-07	1.52	0.2564
Error	4.1E-06	12	3.4E-07		
Total	2.6E-06	17			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00160

Error: 0.0000 gl: 12

Tabla 24. Prueba de Tukey para Cobre.

Lugar de procedencia	Medidas	n	E.E.	
Atumpata M1	1.0E-03	3	3.4E-04	A
Quitatosol M1	1.0E-03	3	3.4E-04	A
Quitatosol M2	5.7E-04	3	3.4E-04	A
Atumpata M2	3.3E-04	3	3.4E-04	A
Pachachaca M2	1.3E-04	3	3.4E-04	A
Pachachaca M1	1.0E-04	3	3.4E-04	A

Medidas con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

En la tabla 23 se muestra el análisis de varianza para Cobre en el que se puede apreciar que no existen diferencias entre los lugares de procedencia ($p > 0.05$).

Lo que se puede corroborar en la comparación de medias por Tukey (tabla 24) en donde se aprecian grupos iguales (con la misma letra) para lugar de procedencia.

De acuerdo a esos resultados se puede inferir que el contenido de Cobre en los diferentes lugares de procedencia es el mismo y es mínimo.

Aceptando la hipótesis nula. de y rechazando la hipótesis de investigación.

Plomo

Las 6 muestras analizadas para la determinación de metales pesados (plomo) presentaron un valor mínimo y máximo de 0 y 0.001mg/kg respectivamente, con una media de extremadamente bajo. La mayor parte, 95%, mostró concentraciones en un rango de 5 hasta 0.00029mg/kg, lo que se detalla en la tabla 25.

Tabla 25. Análisis de la varianza para Plomo.

F.V	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	3.2E-05	5	6.3E-06	0.91	0.5047
Lugar de procedencia	3.2E-05	5	6.3E-06	0.91	0.5047
Error	8.3E-05	12	6.3E-06		
Total	1.2E-04	17			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00723

Error: 0.0000 gl: 12

Tabla 26. Prueba de Tukey para Plomo.

Lugar de procedencia	Medidas	N	E.E.	
Pachachaca M2	4.0E-03	3	1.5E-03	A
Quitason M2	3.5E-03	3	1.5E-03	A
Quitason M1	1.4E-04	3	1.5E-03	A
Atumpata M2	1.1E-04	3	1.5E-03	A
Pachachaca M1	1.0E-04	3	1.5E-03	A
Atumpata M1	5.3E-04	3	1.5E-03	A

Medidas con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)

En la tabla 25 se muestra el análisis de varianza para Plomo en el que se puede apreciar que también no existen diferencias para este metal pesado entre los lugares de procedencia ($p > 0.05$).

Lo que se puede corroborar en la comparación de medias por Tukey (tabla 26) en donde se aprecian grupos iguales (con la misma letra) para lugar de procedencia,

De acuerdo a esos resultados se puede inferir que el contenido de Plomo en los diferentes lugares de procedencia es el mismo y es mínimo.

Aceptando la hipótesis nula y rechazando la hipótesis de investigación.

4.2.1. Hipótesis estadísticas

a) Hipótesis estadísticas (nula y alterna)

H₀: No existe diferencias en la concentración de fluvalinato y metales pesados en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

H₁: Existe diferencias en la concentración de fluvalinato y metales pesados en miel de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

b) Estadístico

La prueba estadística empleada fue la F de Fisher mediante un análisis de varianza ANOVA.

c) Nivel de significancia

A un nivel de significancia $\alpha = 0.05$

d) Región crítica y decisión

Se acepta la hipótesis nula cuando $F_0 < F_{\alpha}$ caso contrario se rechaza la hipótesis nula.

4.3. Discusión de resultados

En esta investigación se encontró que existe concentraciones altas de presencia de fluvalinato en la miel procedente de Quitasol y Pachachaca con un contenido de 288.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 62.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente, de acuerdo a la entrevista realizada (Anexo 14) y basándonos en los datos del proyecto TECNOLOGÍAS MAS EFECTIVAS PARA EL MANEJO APÍCOLA EN APURÍMAC promocionado por el CENTRO DE PROMOCIÓN Y DESARROLLO RURAL CEPRODER-APURÍMAC EN EL AÑO 2013, afirman que más del 80 % de los apicultores de la región Apurímac utilizan el método de prensado para la extracción de miel corroborando con las respuestas de los apicultores entrevistados, estos resultados nos permiten respaldar lo manifestado por SANCHO et al.; 1991 y FERNANDEZ MUIÑO et al.; 1997 que aseveraron que las posibles causas de la presencia de residuos de fluvalinato en las muestras de miel puede deberse a la extracción por prensado, que deja partículas de cera contaminada entre la miel. Así mismo el fluvalinato se fija preferentemente en la cera, debido a su alta liposolubilidad, y sus residuos no son degradados en los procesos de manufactura de cera estampada, incrementándose de un año a otro (NEIRA, 2001). Por lo tanto, cabe mencionar que los sectores de Pachachaca y Quitasol están emplean el método artesanal de prensado en la extracción de miel de manera inadecuada, provocando de esta manera el incremento de la presencia del fluvalinato. Siendo este un método no recomendable para obtener miel libre de fluvalinato, puesto que para garantizar la calidad de la miel el método adecuado sería el centrifugado y decantación.

Según BECERRA, L. (2001). Otros factores a considerar en la presencia de residuos son: el uso de fluvalinato en forma artesanal y las dificultades para la preparación de tablillas con dosis homogéneas del producto, el uso de alimentación suplementaria a fines de invierno con miel que no ha sido analizada para determinación de residuos, y la ausencia de tratamientos alternativos, como ácidos orgánicos o aceites esenciales, probados para esta zona, que puedan integrarse al manejo en forma eficiente. Cabe destacar que, en general, las técnicas de análisis de residuos son de alto costo, debido a la implementación que se requiere para ponerlas en marcha, por lo que todavía no constituyen una práctica común entre los apicultores. En las muestras analizadas de las zonas de Pachachaca y Quitasol presentan un alto nivel de presencia de fluvalinato alcanzado el más alto nivel con presencia de fluvalinato de 288.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de la zona de Pachachaca, Quitasol con 24.95 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y Atumpata con 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Es fundamental tener en cuenta lo anterior, ya que como señala BECERRA, L. (2001), Que no hay un debido conocimiento de los usos adecuados por parte de los apicultores al utilizar pesticidas para contrarrestar alguna plaga que ataca a los apiarios, así mismo indicar que la falta de conocimiento del uso adecuado del Apistan por parte de los apicultores de las zonas de Pachachaca y Quitasol hacen que el producto que cosechan tenga un alto contenido de fluvalinato, por ende, obtienen un producto contaminado. Las posibles causas del bajo contenido de presencia de fluvalinato en miel de la zona de Atumpata. Posiblemente sea a causa del uso adecuado del Apistan en las colmenas.

Según MERCOSUR (2011), el contenido de metales pesados como es el plomo y cobre en la miel puede ser consecuencia de residuos de fumigaciones, contactos de la miel con los equipos de elaboración y procesamiento, TORRENTE (2007), así mismo la contaminación de miel tiene que ver con el uso de pinturas, PADILLA (1999), y mediante sustancias suministradas para la nutrición de las abejas CHACHÍN, (2012). Sin embargo, podemos observar que las seis muestras analizadas de las zonas de Pachachaca M1, Pachachaca M2, Quitasol M1, Quitasol M2, Atumpata M1 y Atumpata M2 no presentan presencia de cobre y plomo, así mismo constatar que los apicultores de dicha zona ofrecen un producto libre de metales pesados como es el cobre y plomo.

CAPÍTULO V

Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

Las concentraciones de fluvalinato en mieles de las zonas de Pachachaca y Quitasol son 288.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 62.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente, sus concentraciones son altas debido al uso de Apistan en tratamientos artesanales para el control de varroa, por lo que los niveles de fluvalinato detectados son superiores a los límites de tolerancia establecidos, por ende, se constituye como un producto de riesgo para la salud. Mientras que en el sector de Atumpata se determinó la concentración de 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de fluvalinato indicando que su presencia es bajo y se encuentran dentro de los límites de tolerancia establecida, por lo que su consumo no provocaría daños en la salud.

Las concentraciones de metales pesados (Plomo y Cobre) en la miel de los tres sectores de estudio como son Pachachaca, Atumpata y Quitasol es baja, puesto que en la investigación se obtuvo que el nivel de concentración es inferior a 0.04 mg/kg, dicho resultado no supera los límites máximos permisibles para la miel que es 0.30 mg/kg como lo señala MERCOSUR (2011).

En la investigación se obtuvo que el fluvalinato y los metales pesados son residuos contaminantes que se encuentran presentes en la miel obtenida de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol en diferentes proporciones, el nivel de presencia de metales pesados es bajo y se encuentra dentro de los límites permisibles, por otro lado el fluvalinato tiene una marcada presencia en la miel de los sectores de Pachachaca y Quitasol, mientras que Atumpata el nivel de presencia de este residuo es baja. En base a la investigación realizada cabe aseverar que la miel del sector de Atumpata se constituye como un producto saludable para el consumo humano.

5.2. Recomendaciones

Para garantizar el uso apropiado del Apistan en el control de la varroa de la miel de los sectores de Pachachaca, Quitasol y Atumpata, la Dirección Regional de Agricultura debe implementar cursos de capacitación en el uso apropiado de este producto dirigido específicamente a los apicultores de estos sectores, además de brindarles asesoramiento y monitoreo continuo, para de esta manera evitar la presencia del fluvalinato en la miel y tener una miel de mejor calidad, por lo que con estos resultados obtenidos en el trabajo de investigación se debe concientizar a los apicultores de los distintos sectores en estudio que realicen sus actividades apícolas de manera más responsable.

Se recomienda a la Asociación de apicultores de la ciudad de Abancay a formar Equipos Especializados en Capacitación y Asesoramiento, los cuales tendrán la función principal de brindar acompañamiento técnico y asesoramiento a los apicultores de nuestra ciudad.

Ampliar las investigaciones de la contaminación de miel por otros metales pesados y/o pesticidas.

Referencias bibliográficas

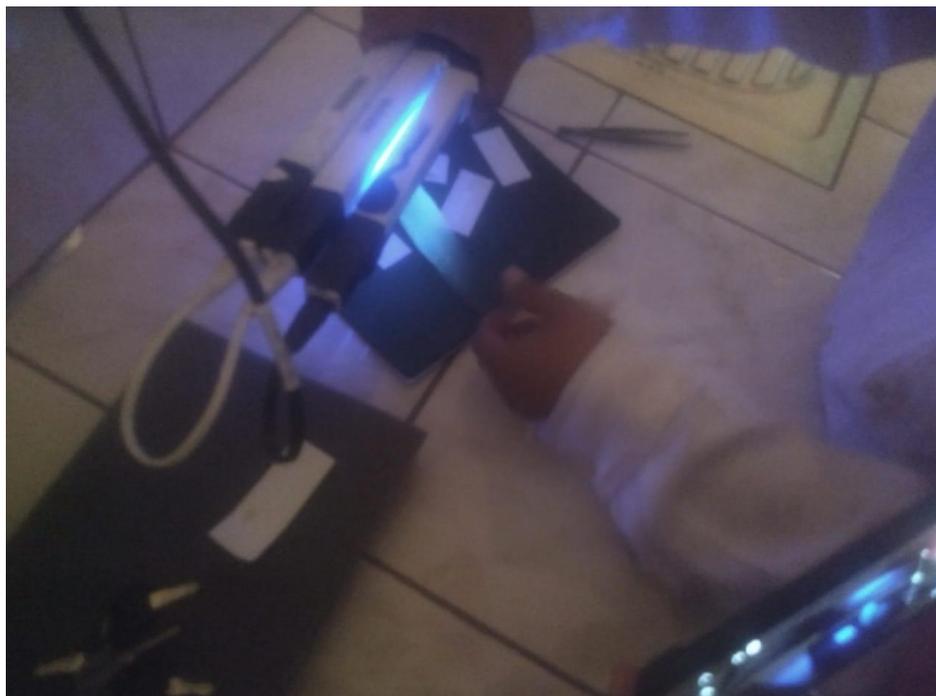
1. AGENCIA DE PROTECCIÓN AMBIENTAL DE ESTADOS UNIDOS. (actualizado 25 de octubre de 2016) (fecha de consulta 27 de marzo del 2018). Disponible en: <https://espanol.epa.gov/espanol/plaguicidas>.
2. AGENCY OF TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Case studies in environmental medicine. Lead toxicity. US Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA: The Agency; 2007
3. ALVAREZ, A.R., SALOMON, M.V., BORELLI, R. y MALDONADO, L.M. INTA PROAPI (2018) –Argentina, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.
4. BECERRA, L. (2001). Ing. Agr. empresa APICOOP Ltda. Comunicación personal.
5. BLANES, Patricia S. - Benítez, Mónica E. - Giménez, María C. (2004). Validación de una metodología para la extracción y determinación de cobre en aguas naturales subterráneas por espectrometría de absorción atómica. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Disponible en pdf: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/8-Exactas/E-069.pdf>
6. CÁMARA DE SEGURIDAD AGROPECUARIA Y FERTILIZANTES (CESAFE). Informe: Insecticidas y acaricidas. Buenos Aires, Argentina, 2014.
7. CANALES, M.L. La miel en la Alimentación humana. Hojas divulgadoras, 1-20, 1989.
8. CARAVIA, L 1997. Determinación de residuos de fluvalinato en miel, producto del control estival de *Varroa jacobsoni* Oud. (mesostigmata: Varroidae), con acaricidas aplicados en el alza mielaria. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 82p.
9. CHACHIN P. C (2012).; La miel como indicador de malos hábitos de apicultura [En Línea] disponible en: <http://repositorio.uis.edu.co> [fecha de consulta 04 de julio del 2019].
10. CORNELL UNIVERSITY; OREGON STATE UNIVERSITY; UNIVERSITY OF IDAHO; UNIVERSITY OF CALIFORNIA AT DAVIS AND MICHIGAN STATE UNIVERSITY. 1996. Fluvalinate. In: Extension toxicology network. Pesticide information profile. (On Line) (20 Dic. 2000).
11. CORTES CORTES, M. E. & IGLESIAS LEÓN, M. Generalidades sobre Metodología de la Investigación. Unidad Autónoma del Carmen. México, 2004.
12. DEAN. (2003, May 7). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud: PESTICIDAS [Scielo.org.ve; 2003]. Recuperado de <http://www.Scielo.org.ve>.
13. DE GREEF, M.; DE WAEL, L. y VAN LAERE, O. 1994. The determination of the fluvalinate residues in the Belgian honey and beeswax. *Apiacta* 31:83-87.
14. DULSKI, T. (1996). A Manual for the Chemical Analysis of Metals: RMNL25.ISBN-EB:

978-0-8031-4532-0. pp. 158 – 167.

15. EROSTEGUI REVILLA, D.P. Contaminación por metales pesados, revista científica ciencia médica, Vol 12 (K.P. Ledezma, Entrevistador). 2009.
16. FERNANDEZ-MUIÑO, M.; SANCHO, M.; MUNIATEGUI, S.; HUIDOBRO, F. y SIMAL-LOZANO, J. 1995. Acaricide residues in honey: analytical methods and levels found. *Journal of Food Protection* 58(4): 449-454.
17. FAO. 2015c. El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2015. La protección social y la agricultura: romper el ciclo de pobreza rural. Roma
18. FRISON, S.; BREITKREITZ, W.; CURRIE, R.; NELSON, D., y SPORNS, P. 1999. The analysis of fluvalinate in beeswax using GC/MS. *Food Research International* 32: 35-41
19. HERNÁNDEZ SAMPIERI, R. et al. Metodología de la Investigación. Hill Interamericana de México S.A. de C.V. Ciudad de Mexico, 1997.
20. LONDOÑO FRANCO, LUIS FERNANDO, PAULA TATIANA LONDOÑO-MUÑOZ. Los riesgos de los metales en la salud humana y animal: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2016.
21. MERCOSUR. 2011, Mercado Común del Sur, “reglamento técnico MERCOSUR sobre los límites máximos de contaminantes inorgánicos en alimentos” [En Línea] Disponible en: www.aladi.org/nsfaladi [fecha de consulta: 10 de junio 2019].
22. MILLER, JC. y MILLER, JN. 1993. Estadística para química analítica. 2ª ed. Wilmington, USA, Addison-Wesley Iberoamericana. 211p.
23. MORENO C, GARCIA M. (2008). Nuevas alternativas para la simplificación y mejora de la metodología de análisis de metales pesados en muestras ambientales:<http://minerva.uca.es/publicaciones/asp/docs/tesis/JJPintoGanforina.pdf>.
24. NEIRA, Carolina Kauzlarich R.; Gonzalo Navarro . Residuos del Tau Fluvalinato (piretroide) en la cera de la cámara de cria y su efecto sobre larvas de abejas de la casta obrera (*Apis mellifera* L.): Agro Sur. Valdivia, Chile, 2011.
25. NEIRA, M. 2001. Residuos que contaminan la miel, origen, detección y formas de evitar su presencia. In: Seminario Internacional Sanidad Apícola. 4 de octubre de 2001, Temuco, Chile. pp 46 – 56.
26. OIE. Fichas de información general sobre enfermedades animales: Enfermedades de las Abejas. Paris, Francia, 2015.Morrison INRA.
27. PADILLA, M. A.; 1999. “protocolos de vigilancia sanitaria. plomo. Instituto vasco de seguridad y salud laborales” [En Línea] disponible en: <http://www.zerbitzu-orokorrak.ehu.es/p258>
28. RODRÍGUEZ J. C.; 2010, “La miel como indicador ambiental”.
29. SABENCH, J. Pesticidas y abejas - Confederation Paysanne – Francia, 2011.
30. SÁNCHEZ MARTIN, M.L y SÁNCHEZ CAMAZANO, M. Los plaguicidas: Absorción y

- evolución en el suelo. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología (CSIC). Salamanca, 2015.
31. SANCHO, M. Análisis de residuos de fluvalinato en la miel mediante GC/ECD: Agroquímica Tecnológica Alimenticia. La Coruña, España, 1991.
 32. SILLARD PÉREZ, S.A. Residuos de Fluvalinato en era de abejas de colmenares de la Décima Región. Valdivia, Chile, 2002.
 33. SKOOG, W. H. (2005). Química analítica. Octava edición. México. Thomson. pp. 870 – 876.
 34. THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS, (EMA), 1995.
 35. TORRENTE LI.; 2007, “parámetros de la calidad de miel” En Linea] disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101007.html> [fecha de consulta 14 de julio del 2013].
 36. ULLOA, J.A. et al. La miel de abeja y su importancia: Revista fuente. 2010.

Anexos



Tiras de Apistan en el flourescence.



Pesado de muestras en la balanza analítica.



Equipo del cromatógrafo de gases



Sistema de funcionamiento del cromatógrafo de gases



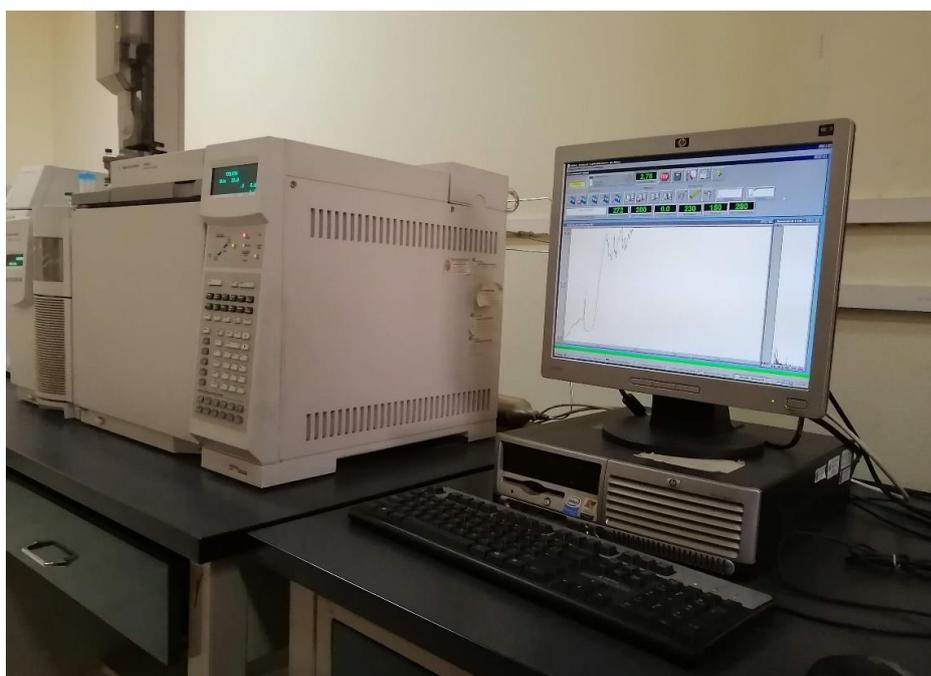
Rotavapor



Tratamiento de muestra con hexano



Tratamiento de muestra de miel.



Lectura de resultados en el equipo del cromatógrafo de gases



Almacenamiento de las muestras de miel.



Laboratorio de química de la universidad nacional San Antonio Abad del Cusco.



Pesado de las muestras de miel en la balanza analítica.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA - Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

Condiciones de Análisis

Cromatógrafo : Agilent 6890N
Detector Espectrometro de Masas : Agilent 5975B.
Línea de transferencia : 280°C
Modo de Ionización : Impacto Electrónico 70 electron voltios
Modo de registro de masas : SIM

Inyector Automático Agilent: **7683B**
Columna: **Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano.**

Condiciones del cromatografo.

Temperatura del Horno **inicial 80°C**

Rampa:

Relacion °C/min	temp °C	Final time min
Inic	0	80
1	40.00	280
2	10.00	310

Tiempo de Análisis: **14.00 min**

Puerto de Inyección

Modo : Splitless
Temp. Inicial : 200 °C
Tipo de Gas : Helio
Flujo : 1 mL/min
Volumen de Inyección : 0.1uL Control, 20uL Muestra

Quim. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNSAAC.
CQP - 914

Certificado de resultados de la UNSAAC.





UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 07 de Mayo del 2019

Solicitantes : Jonilda Merino Torres
Tipo de Análisis : Determinación de Fluvalinato por Cromatografía de Gases
Tipo de Muestras : Frasco con miel
Cantidad de Muestra : 6, aproximadamente 1 kilo de cada uno
Almacenamiento : Temperatura ambiente

Nombre	Fluvalinato ug/100g Miel
Muestra 1	288.43
Muestra 2	24.95
Muestra 3	14.91
Muestra 4	62.23
Muestra 5	3.03
Muestra 6	N.D

Nota: El resultado obtenido expresa el contenido en microgramos de Fluvalinato por 100 gramos de miel.
La metodología desarrollada es de acuerdo con la literatura descrita (con modificaciones)

- Frison, S., Breitzkreitz, W., Currie, R., Nelson, D., & Sporns, P. (1999). The analysis of fluvalinate in beeswax using GC/MS. Food Research International, 32(1), 35-41. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00071-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00071-X)
- Wu, J., & Wang, W. (s. f.). 2013 Pesticides Analysis Using the Agilent 5977A Series GC/MSD. 6 Application Note Food Testing and Agriculture © Agilent Technologies, Inc., Printed in the USA April 12, 2013 5991-2212EN

Quim. Jorge Choquenaira Parí
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

Certificado de los Resultados

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE
APURÍMAC
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



FORMATO DE ENTREVISTA APLICADO A LOS APICULTORES DE
ABANCAY.

Sector:	Atumpata		
Edad:	54	Sexo:	Masculino

1. ¿Qué pesticidas usted usa para el control de la varroa en las colmenas?

Apiston

2. ¿cómo aplica usted el pesticida en la colmena?

Se aplica tiras de apiston por colmena, separandolas e introduciendolas entre los cuadros del grupo o cuerpo de la colmena, Basta con separarles e introducir las entre los cuadros del cuerpo de la colmena, se debe asegurar que las tiras estan en contacto con los cuadros de cria.

3. ¿Cómo realiza usted la extracción de la miel de la colmena?

Los panales se extraen uno por uno, hay que mirar que no tengan demasiada cria y seguidamente se quitan las abejas o por sacudida, o barriendolas con un cepillo. Es un trabajo tedioso, molesta mucho a las abejas y desorganiza toda la colonia. Los panales, una vez libres de abejas, son introducidos de nuevo en la colmena o metidos en bidones, luego se extrae la miel de los panales en el campo

4. ¿Usted tiene conocimiento de la contaminación de miel por metales pesados?

No

Entrevista Realizada por: Jonilda Merino Torres Y Luis Antonio Pillaca Vilca.

Entrevista realizada a los apicultores de los sectores de Pachachaca, Atumpata y Quitasol.

