



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“CARACTERIZACIÓN NUTRACEÚTICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
DEL POLEN DE DIFERENTES COLMENAS DE ABEJA (*Apis mellifera*) DE LA
EMPRESA APICARE, RIOBAMBA”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

ALEX FERNANDO MENDOZA BUÑAY

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico primeramente a Dios quien fue el creador de todas las cosas y el que me ha dado la fortaleza para continuar cuando estado a punto de caer, con todo mi cariño y mi amor se lo dedico también a las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, a mis padres que han sido pilar fundamental para que este sueño se haga realidad, a mi hermano que siempre me brindo todo su apoyo y fortaleza para seguir adelante, a mis tres ángeles que en el transcurso de mi carrera dejaron un gran vacío en mi corazón pero ahora me cuidan desde un lugar mejor y finalmente a mis maestros, gracias por su tiempo y su sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

Primero que nada quiero agradecer a Dios por estar conmigo en cada paso que doy y por haber puesto en mi camino a personas que siempre estarán en mi corazón.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por los conocimientos brindados en el transcurso de mi formación académica.

A la empresa APICARE de Riobamba por permitir la realización de la investigación además de brindarme todo su apoyo de igual manera al Ing. Raúl Llumiyinga por todos sus conocimientos expuestos en el transcurso de la investigación y a todo el personal que labora en la empresa.

A la Dra. Susana Abdo por su valioso asesoramiento durante el desarrollo y culminación de la presente tesis.

Al Dr. Carlos Pilamunga Miembro del tribunal de tesis por su valiosa colaboración brindada en la elaboración del presente trabajo.

A mi familia por siempre brindarme su apoyo, por creer en mí y ayudarme en todo momento con lindas palabras para nunca caer en mis duros años de carrera profesional.

Mis sinceros agradecimientos a mis padres por ser un ejemplo de lucha, superación y por todo el apoyo brindado en el transcurso de mi carrera, a mi hermano Luis Alberto por haberme dado la fuerza para culminar mi carrera, por haberme compartido sus alegrías, experiencias de las cuales he aprendido mucho y por ser mi ejemplo a seguir.

A mis amigos que fueron mi apoyo incondicional en muchos momentos de mi formación profesional por ser mi familia por muchos momentos de mi vida compartiendo penas y glorias y brindándome una amistad sincera siempre en todo momento.

Y finalmente agradezco a los docentes de la Escuela de Bioquímica y farmacia por compartir todos sus conocimientos que me servirán mucho en mi vida profesional.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**CARACTERIZACIÓN NUTRACEÚTICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL POLEN DE DIFERENTES COLMENAS DE ABEJA (*Apis mellifera*) DE LA EMPRESA APICARE, RIOBAMBA**”, de responsabilidad del señor egresado Alex Fernando Mendoza Buñay, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez DECANO FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dr. Francisco Portero DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	_____	_____
Dra. Susana Abdo DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
Dr. Carlos Pilamunga MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
Bqf. Fausto Contero MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS	_____	

Yo, **Alex Fernando Mendoza Buñay**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

ALEX FERNANDO MENDOZA BUÑAY

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE CUADROS	
ÍNDICE DE GRÁFICOS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
INTRODUCCIÓN	

1.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	Nutracéuticos.....	1
1.1.1	Definición.....	1
1.1.1.1	Valor Nutracéutico.....	2
1.1.1.2	Beneficios.....	2
1.1.1.3	Clasificación de los nutracéuticos.....	3
1.2	Radicales Libres.....	4
1.2.1	Definición.....	4
1.2.2	Clasificación de los Radicales Libres.....	4
1.2.3	Origen de los Radicales Libres.....	5
1.2.4	Enfermedades que producen.....	6
1.2.5	Estrés Oxidativo.....	7
1.3	Antioxidantes.....	8
1.3.1	Definición.....	8
1.3.2	Sistemas de defensa antioxidante.....	10
1.3.3	Clasificación de los antioxidantes.....	11
1.3.3.1	Tipos de antioxidantes.....	11
1.4	Los compuestos fenólicos.....	12
1.4.1	Definición.....	12
1.4.2	Estructura de los compuestos fenólicos.....	13
1.4.3	Actividad biológica de los compuestos fenólicos.....	15
1.5	La Apicultura.....	16
1.5.1	Historia.....	16
1.6	La Abeja Mellífera (<i>Apis mellifera</i>).....	17
1.6.1	Clasificación de la abeja Mellífera.....	17
1.6.1.1	La reina.....	18

1.6.1.2	Los zánganos.....	18
1.6.1.3	Las obreras.....	18
1.7	Productos Apícolas.....	19
1.7.1	La Miel.....	19
1.7.1.1	Composición.....	20
1.7.2	La cera.....	20
1.7.3	Propóleos.....	21
1.7.4	El veneno de abeja (Apitoxina).....	21
1.7.5	La jalea real.....	22
1.8	El polen.....	22
1.8.1	Definición.....	22
1.8.2	Formación del polen.....	23
1.8.3	Polinización.....	24
1.8.3.1	Recolección del polen por la Abeja.....	25
1.8.4	Cosecha del polen.....	25
1.8.4.1	Las trampas de polen.....	26
1.8.5	Secado del polen.....	27
1.8.6	Composición química del polen.....	28
1.8.7	Propiedades y Beneficios del polen.....	30
1.8.8	Valor nutricional del polen.....	31
1.8.9	Valor terapéutico.....	32
1.8.10	Antioxidantes del polen de abeja.....	33
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	34
2.1	Lugar de la investigación.....	34
2.2	Materiales, Equipos y Reactivos.....	34
2.2.1	Muestras de polen.....	34
2.2.2	Materiales de laboratorio.....	35
2.2.3	Equipos.....	37
2.2.4	Reactivos.....	38
2.3	Técnicas y métodos.....	39
2.3.1	Determinación de los Parámetros del Polen.....	39
2.3.1.1	Características Organolépticas.....	39
2.3.2	Determinación del Valor Nutritivo del polen.....	39
2.3.2.1	Determinación de Humedad	39
2.3.2.2	Determinación de Cenizas.....	39

2.3.2.3	Determinación de Proteína.....	39
2.3.2.4	Determinación de Extracto Etéreo.....	39
2.3.2.5	Determinación de Fibra.....	39
2.3.2.6	Determinación de Extracto Libre No Nitrogenado.....	40
2.3.2.7	Determinación de Azúcares Reductores.....	40
2.3.2.8	Determinación de pH.....	40
2.3.2.9	Determinación de Acidéz.....	40
2.3.2.10	Determinación de Vitamina C.....	40
2.4	Control de Calidad del Polen Como Droga Seca.....	42
2.4.1	Determinación de Cenizas Solubles en Agua.....	42
2.4.2	Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico.....	42
2.5	Elaboración y Control de Calidad de los Extracto Etanólicos.....	42
2.5.1	Obtención de los Extractos.....	42
2.5.2	Determinación de los Requisitos Organolépticos.....	42
2.5.3	Determinación de Densidad Relativa.....	42
2.5.4	Determinación del Índice de Refracción.....	43
2.5.5	Determinación del pH.....	43
2.5.6	Determinación de Sólidos Totales.....	43
2.5.7	Tamizaje Fitoquímico.....	43
2.5.8	Análisis Microscópico de las Partículas del Polen.....	45
2.5.9	Evaluación de la Actividad Antioxidante Total (AAT).....	46
2.5.9.1	Análisis Cromatográfico del Marcador Químico Flavonoides Totales Expresados como Porcentaje de Quercetina (TLC).....	46
2.5.9.2	Cuantificación de Flavonoides Totales (Método del AlCl ₃).....	47
2.5.9.3	Cuantificación de Compuestos Fenólicos (Micrométodo de Folin- Ciocalteu).....	49
2.5.9.4	Ensayo de la Capacidad Antioxidante según el Método Enzimático de Inhibición de la Polifenoloxidasa.....	51
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
3.1	Evaluación Sensorial.....	55
3.1.1	Características Organolépticas.....	55
3.1.2	Especificaciones Físico – Químicas (Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04).....	56
3.2	Control de Calidad del polen.....	57
3.2.1	Determinación de Humedad.....	57

3.2.2	Determinación de Cenizas.....	58
3.2.3	Determinación de Proteína.....	59
3.2.4	Determinación de Extracto Etéreo.....	60
3.2.5	Determinación de Fibra.....	61
3.2.6	Determinación de Extracto Libre No Nitrogenado.....	62
3.2.7	Determinación de Azúcares.....	63
3.2.8	Determinación de pH.....	64
3.2.9	Determinación de Acidéz.....	65
3.2.10	Determinación de Vitamina C.....	66
3.3	Análisis del Polen como Droga Seca.....	68
3.3.1	Determinación de Cenizas Solubles en Agua.....	68
3.3.2	Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico.....	69
3.4	Control de Calidad de los Extractos Etanólicos.....	70
3.4.1	Determinación de los Requisitos Organolépticos de los Extractos Etanólicos.....	70
3.4.2	Determinación de los Parámetros Físicos de los Extractos Etanólicos.....	71
3.4.2.1	Determinación del pH del Extracto Etanólico.....	71
3.4.2.2	Determinación del Índice de Refracción del Extracto Etanólico....	72
3.4.2.3	Determinación de la Densidad relativa del Extracto Etanólico.....	73
3.4.2.4	Determinación de los Sólidos Totales del Extracto Etanólico.....	74
3.5	Tamizaje Fitoquímico.....	75
3.6	Análisis Microscópico de las Partículas del Polen.....	75
3.7	Evaluación de la Actividad Antioxidante Total (AAT).....	77
3.7.1	Análisis Cromatográfico Del Marcador Químico Flavonoides Totales Expresado Como Presencia De Quercetina.....	77
3.7.2	Cuantificación De Flavonoides Totales (Método Del $AlCl_3$).....	79
3.7.3	Cuantificación De Compuestos Fenólicos (Micrométodo De Folin-Ciocalteu).....	80
3.8	Ensayo de la capacidad antioxidante según el método enzimático de inhibición de la polifenoloxidasas.....	82
3.8.1	Determinación de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas (PPO).....	82
3.9	Actividad Antioxidante.....	84
4.	CONCLUSIONES	87
5.	RECOMENDACIONES	89

6.	RESUMEN	90
7.	BIBLIOGRAFÍA	92
8.	ANEXOS	107

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
µeq	Microequivalente
µL	Microlitro
¹⁴C	Carbono Catorce
AAT	Actividad Antioxidante Total
ABS	Absorbancia
ABTS	Azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
BITOT	Depósitos Blancos de Epitelio Queratinizado en la Esclerótica
BV	Biológico Aparente
CAT	Catalasa
CAT	Capacidad Antioxidante Total
CIBE	Centro de Investigación Biomédica Eurospes
cm	Centímetros
CoA	Coenzima A
DHA	Ácido Docosaheptaenoico
DPPH	Difenil Picril Hidrazilo
EGA	Equivalentes de Ácido Gálico
ELA	Esclerosis Lateral Amiotrófica
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
ERO	Especie Reactiva de Oxígeno
FDA	Administración de Drogas y Alimentos
g	Gramo
GPx	Glutación Peroxidasa
GSH	Tripéptido Glutación
H	Hidrógeno
H₂O₂	Peróxido de Hidrógeno
HIV	Inmunodeficiencia Humana
HSV	Virus Simplex Humano
Kcal	Kilo Calorías
kg	Kilogramos
Km	Kilómetros
L	Litro
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad
M	Molaridad
mg	Miligramos
min.	Minutos

ml	Mililitro
Mol	Moles
N	Normalidad
NADPH	Nicotina Amino Dinucleótido Fosfato Reducido
nm	Nanómetros
NPU	Utilización Neta Aparente de Proteína
ORAC	Oxygen Radical Absorbing Capacity
PER	Tasa de Eficiencia de Proteína
pH	Potencial de Hidrógeno
PPM	Partes por millón
PPO	Polifenoloxidasa
Q₁₀	Semiquinona-Ubiquinol
RL	Radicales Libres
s	Segundo
SOD	Superóxido Dismutasa
UV	Ultra Violeta
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Clasificación de los Antioxidantes.....	11
TABLA No. 2	Composición de la Miel.....	20
TABLA No. 3	Componentes del Polen.....	28
TABLA No. 4	Aminoácidos Esenciales Contenidos en el Polen.....	29
TABLA No. 5	Composición Mineral del Polen.....	29
TABLA No. 6	Características botánicas de las zonas apícolas.....	34
TABLA No. 7	Técnicas para el Tamizaje Fitoquímico	44
TABLA No. 8	Esquema de Reactivos para la Cuantificación de Flavonoides Totales por el Método del $AlCl_3$	48
TABLA No. 9	Ecuación de la Recta Obtenida para la Curva de Calibración del Estándar de Rutina para la Determinación del Contenido De Flavonoides Totales.....	49
TABLA No. 10	Esquema de Reactivos para la Cuantificación de Compuestos Fenólicos por el Micrométodo de Folin-Ciocaltaeau.....	50
TABLA No. 11	Ecuaciones de la recta obtenidas para las curvas de calibración del estándar de Ácido Gálico para la determinación del contenido de Compuestos Fenólicos Totales.....	50
TABLA No. 12	Esquema para la elaboración del búffer Acetato de Sodio/Ácido Acético a pH 7.....	51
TABLA No. 13	Esquema para el Ensayo de la Capacidad Antioxidante.....	53

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados de la Evaluación Sensorial de las Diferentes Muestras de Polen	55
CUADRO No. 2	Valores Físico – Químicos de las Muestras de Polen y comparación con la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04.....	56
CUADRO No. 3	Resultados de la Determinación de Cenizas Solubles en Agua e Insolubles en HCl de las Muestras de Polen como Drogas Secas.....	68
CUADRO No. 4	Resultados de la Determinación de los Requisitos Organolépticos de los Extractos Etanólicos.....	70
CUADRO No. 5	Resultados de la Determinación de los Parámetros Físicos de los Extractos Etanólicos.....	71
CUADRO No. 6	Resultados del Tamizaje Fitoquímico de los Extractos Etanólicos de las Diferentes Muestras de Polen.....	75
CUADRO No. 7	Resultados del Análisis Microscópico para las Diferentes Muestras de Polen en base a su color.....	75
CUADRO No. 8	Resultado de la Determinación de los Rf de las Manchas Obtenidas para cada Muestra en Cromatografía de Capa Fina (TLC).....	78
CUADRO No. 9	Resultados de la Concentración de Flavonoides Totales Expresados en mg de Rutina/100 g de Muestra determinados en los Extractos Etanólicos de las Diferentes Muestras de Polen.....	79
CUADRO No. 10	Resultados de la Concentración de Compuestos Fenólicos Totales Expresados en mg de Ácido Gálico/100 g de Muestra Determinados en los Extractos Etanólicos de las Diferentes Muestras de Polen.....	80
CUADRO No. 11	Actividad Enzimática (Abs/Minuto) de la Polifenoloxidasas (Ppo) medida para diferentes tiempo de congelación a -6 ° C...	82
CUADRO No. 12	Resultados de la Actividad Antioxidante para 3 Concentraciones Diferentes de 10,100 y 1000 ppm.....	84
CUADRO No. 13	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Humedad.....	124
CUADRO No. 14	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Cenizas.....	124
CUADRO No. 15	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Proteína.....	125
CUADRO No. 16	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Grasa.....	126
CUADRO No. 17	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Fibra.....	126

CUADRO No. 18	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Azúcares.....	127
CUADRO No. 19	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el pH.....	128
CUADRO No. 20	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para la Acidéz.....	128
CUADRO No. 21	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Vitamina C.....	129
CUADRO No. 22	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Cenizas Solubles en H ₂ O.....	130
CUADRO No. 23	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el Porcentaje de Cenizas Insolubles en HCl.....	130
CUADRO No. 24	Curva de Calibración para la Cuantificación de Flavonoides Totales usando Rutina como Patrón en Concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm.....	131
CUADRO No. 25	Curva de Calibración para la Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales usando Ácido Gálico como Patrón en Concentraciones de 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 y 2 000 ppm.....	132
CUADRO No. 26	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para la concentración de Flavonoides...	133
CUADRO No. 27	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para la concentración de Compuestos Fenólicos.....	134
CUADRO No. 28	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el porcentaje de inhibición de los extractos a concentraciones de 10 ppm.....	135
CUADRO No. 29	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el porcentaje de inhibición de los extractos a concentraciones de 100 ppm.....	135
CUADRO No. 30	ANOVA y Test de Tukey a Nivel de Significancia de 0,05 y Confianza del 95,00 % para el porcentaje de inhibición de los extractos a concentraciones de 1000 ppm.....	136

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Relación del Contenido de Humedad en las Diferentes Muestras de Polen.....	58
GRÁFICO No. 2	Relación del Contenido de Cenizas en las Diferentes Muestras de Polen.....	59
GRÁFICO No. 3	Relación del Contenido de Proteína en las Diferentes Muestras de Polen.....	60
GRÁFICO No. 4	Relación del Contenido de Grasa en las Diferentes Muestras de Polen.....	61
GRAFICO No. 5	Relación del Contenido de Fibra en las Diferentes Muestras de Polen.....	62
GRAFICO No. 6	Relación del Contenido del Extracto Libre no Nitrogenado en las Diferentes Muestras de Polen.....	63
GRAFICO No. 7	Relación del Contenido de Azúcares en las Diferentes Muestras de Polen.....	64
GRAFICO No. 8	Relación del Contenido de pH en las Diferentes Muestras de Polen.....	65
GRAFICO No. 9	Relación del Contenido de Acidéz en las Diferentes Muestras de Polen.....	66
GRAFICO No. 10	Relación del Contenido de Vitamina C en las Diferentes Muestras de Polen.....	67
GRAFICO No. 11	Relación de la Determinación de las Cenizas Solubles en Agua en las Diferentes Muestras de Polen.....	68
GRAFICO No. 12	Relación de la Determinación de las Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico en las Diferentes Muestras de Polen.....	69
GRAFICO No. 13	Relación de la Determinación del pH en las Diferentes Muestras de Extractos Etanólicos.....	71
GRAFICO No. 14	Relación de la Determinación del Índice de Refracción en las Diferentes Muestras de Extractos Etanólicos.....	72
GRAFICO No. 15	Relación de la Determinación de la Densidad Relativa en las Diferentes Muestras de Extractos Etanólicos.....	73
GRAFICO No. 16	Relación de la Determinación de los Sólidos Totales en las Diferentes Muestras de Extractos Etanólicos.....	74
GRAFICO No. 17	Concentración de Compuestos Flavonoides Totales Extraídos en los Extractos Etanólicos Expresados en mg de Rutina por 100 g de Muestra.....	79
GRAFICO No. 18	Concentración de Compuestos Fenólicos Totales Extraídos en los Extractos Etanólicos Expresados en mg de Ácido Gálico por 100 g de Muestra.....	81
GRAFICO No. 19	Curvas de la Actividad Enzimática de la Polifenoloxidas (PPO) medidas después de diferentes tiempos de congelación a -6 °C.....	83
GRAFICO No. 20	Actividad Antioxidante para 3 Concentraciones Diferentes de 10,100 y 1000 ppm.....	84

GRAFICO No. 21	Curva de Absorbancia vs Concentración de Rutina en Concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, para la Cuantificación de Flavonoides Totales.....	132
GRAFICO No. 22	Curva de Absorbancia vs Concentración de Ácido Gálico en Concentraciones de 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 y 2 000 ppm para la Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales.....	133

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Neutralización del Radical Libre por un Antioxidante.....	10
FIGURA No. 2	Compuestos Fenólicos.....	13
FIGURA No. 3	Fenol.....	13
FIGURA No. 4	Estructura Básica de los Flavonoides.....	14
FIGURA No. 5	Taninos (Polímeros de Catequina).....	15
FIGURA No. 6	Formación del Polen.....	24
FIGURA No. 7	Esquema de las Reacciones a Realizar en el Extracto Alcohólico	43
FIGURA No. 8	Reacción de Quelación del Ión Al^{3+} con los Flavonoides.....	48
FIGURA No. 9	Reacción de Folin-Ciocalteu.....	49
FIGURA No. 10	Distancias de las Manchas Obtenidas en la Cromatografía De Capa Fina (TIC).....	77

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Fotografía de Abeja (<i>Apis Mellífera</i>).....	18
FOTOGRAFÍA No. 2	La Miel.....	19
FOTOGRAFÍA No. 3	El Polen.....	23
FOTOGRAFÍA No. 4	Abeja Recolectando Polen	30
FOTOGRAFÍA No. 5	Recolección de las Muestras de Polen.....	137
FOTOGRAFÍA No. 6	Determinación de Humedad.....	137
FOTOGRAFÍA No. 7	Determinación de Cenizas.....	138
FOTOGRAFÍA No. 8	Determinación de Proteína.....	138
FOTOGRAFÍA No. 9	Determinación de Grasa.....	139
FOTOGRAFÍA No. 10	Determinación de Fibra.....	139
FOTOGRAFÍA No. 11	Determinación de Azúcares Reductores.....	140
FOTOGRAFÍA No. 12	Determinación de pH y Acidéz.....	140
FOTOGRAFÍA No. 13	Determinación de Vitamina C.....	140
FOTOGRAFÍA No. 14	Determinación de Cenizas Solubles en H ₂ O.....	141
FOTOGRAFÍA No. 15	Determinación de Cenizas Insolubles en HCl.....	141
FOTOGRAFÍA No. 16	Preparación de los Extractos Etanólicos.....	141
FOTOGRAFÍA No. 17	Determinación de IR, pH y Densidad Relativa.....	142
FOTOGRAFÍA No. 18	Ensayos realizados para la Identificación de metabolitos secundarios en los Extractos.....	143
FOTOGRAFÍA No. 19	Cromatografía en Capa Fina de los Extractos.....	143
FOTOGRAFÍA No. 20	Método de Folin-Ciocalteau y AlCl ₃	144
FOTOGRAFÍA No. 21	Obtención de la enzima de la PPO.....	145
FOTOGRAFÍA No. 22	Determinación de la Actividad Antioxidante.....	146

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04.....	107
ANEXO No. 2	Cromatograma del Estándar de Vitamina C.....	116
ANEXO No. 3	Cromatograma de Vitamina C en la Muestra de Polen de la Zona de Gatazo.....	116
ANEXO No. 4	Cromatograma de Vitamina C en la Muestra de Polen de la Zona de Palacio Real.....	117
ANEXO No. 5	Cromatograma de Vitamina C en la Muestra de Polen de la Zona de Nitiluiza.....	117
ANEXO No. 6	Cromatograma de Vitamina C en la Muestra de Polen de la Zona de Chambo.....	118
ANEXO No. 7	Cromatograma de Vitamina C en la Muestra de Polen de la Zona de la Parroquia Virgen de Fátima.....	118
ANEXO No. 8	Cromatogramas del Barrido de los Extractos Etanólicos del Polen de las 5 Zonas: Gatazo, Palacio Real, Nitiluiza, Chambo y la Parróquia Virgen De Fátima a una Longitud de Onda de 200 a 600 nm.....	119
ANEXO No. 9	Análisis Estadístico del Control de Calidad del Polen de las 5 Zonas Apícolas.....	124
ANEXO No. 10	Elaboración de la Curva de Calibración de Rutina como Patrón Para la Cuantificación de Flavonoides Totales.....	131
ANEXO No. 11	Elaboración de las Curvas de Calibración de Ácido Gálico como Patrón para la Cuantificación de Compuestos Fenólicos.....	132
ANEXO No. 12	Análisis Estadístico de la Concentración de Flavonoides y Compuestos Fenólicos. Programa Estadístico spss 19. Software Libre.....	133
ANEXO No. 13	Análisis Estadístico para el Porcentaje de Inhibición de los Extractos a Concentraciones de 10, 100 Y 1 000 ppm. Programa Estadístico spss 19. Software Libre.....	135
ANEXO No. 14	Recolección de las Materias Primas.....	137
ANEXO No. 15	Control de Calidad de las Muestras de Polen.....	137
ANEXO No. 16	Control de Calidad de los Extractos Etanólicos.....	141
ANEXO No. 17	Tamizaje Fitoquímico De Los Extractos Etanólicos.....	142
ANEXO No. 18	Cromatografía en Capa Fina de los Extractos Etanólicos.....	143
ANEXO No. 19	Cuantificación de Compuestos Fenólicos y Flavonoides Totales..	144
ANEXO No. 20	Extracción de la Enzima PPO.....	145
ANEXO No. 21	Determinación de la Actividad Antioxidante.....	146

INTRODUCCIÓN

En la actualidad para tener un mejor estilo de vida, varios consumidores voltean su mirada hacia el uso de elementos naturales y otras terapias para el tratamiento de estas enfermedades. Los productos apícolas (miel, polen y jalea real) al ser considerados como alimentos funcionales, estos constituyen parte de la dieta humana desde hace mucho tiempo y por la misma razón se los ha empleado en la medicina tradicional, debido a sus propiedades nutricionales. (27) El polen procede de diversas plantas tales como trigo, maíz, pino, colza entre otras. A estas no se las debe confundir con el veneno de la abeja, la miel o la jalea real. (60)

El polen apícola es un producto que se generan en las anteras de las flores, es recolectado por las abejas y este es recogido por medio de mallas de recolección, son la única fuente de proteínas de las abejas y también se caracterizan por tener una alta concentración de azúcares. En el polen se concentran la energía vital y la gran cantidad de elementos indispensables para la perpetuación del reino vegetal, de allí su gran cantidad en nutrientes, energizantes y terapéuticas, conocidas y aprovechadas desde hace miles de años por el ser humano. (63)

La composición del polen es tan compleja; hasta ahora sabemos que incluye más de 110 compuestos diferentes, estos están reunidos en un equilibrio biológico, que incluye entre hidratos de carbono, proteínas, aminoácidos, materias grasas, vitaminas, provitaminas, enzimas, co-enzimas, sales minerales, oligoelementos, etc.; sin embargo su análisis dista todavía mucho de ser completo. (63)

El polen se lo considera como uno de los complementos más nutritivos y de mejor efecto sobre el organismo humano, esta acción benéfica y revitalizante radica en que estimula y restablece todas las funciones metabólicas, desintoxicando y potenciando al organismo, este constituye un nutriente regenerador. (63)

En Ecuador se encuentran zonas con condiciones especiales para la producción de polen apícola, debido a sus ventajas climáticas y botánicas que existen para este tipo de actividad, se espera que la producción nacional de polen aumente gracias a la creación de nuevas oportunidades de exportación y a que su consumo interno ha venido creciendo en los últimos años, es por esta razón que la apiterapia y el consumo de derivados de la colmena se han convertido en fuentes de ingreso importantes para los apicultores del país, pasando de ser conocido solamente en círculos vegetarianos a ser distribuidos en almacenes o tiendas apícolas del Ecuador. (27)

La falta de investigación sobre el polen presente en nuestra región y la escasa información sobre sus beneficios en la salud, permitirá que este estudio nos proporcione un sustento científico para promover su consumo a nivel local y regional garantizando de esta manera establecer parámetros que nos ayuden caracterizar cada polen en base a su composición química y al contenido de componentes que puedan presentar un beneficio agregado al organismo de la comunidad que lo consuma , determinando también cuál polen según su procedencia es el que presenta un mayor beneficio para promover su recolección y su aplicación como un posible medicamento natural en el tratamiento de varias patologías de la actualidad como son: anorexia, nerviosismo, anemia, mala digestión, diarrea, estreñimiento, gripes y resfriados. También podremos establecer si estos beneficios se ven potenciados con el consumo de este polen en forma individual o si su acción mejora al consumirlos juntos. (27)

Según Briseño, Y. y col. (1988) afirma q las muestras de polen son diferentes pues depende de la floración de plantas cultivadas o las silvestres existentes en los 5 km a la redonda que cubren las abejas en sus vuelos de visitas a flores, en una determinada época del año.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar y calcular la composición y la actividad antioxidante de las diferentes muestras de polen de distintas zonas de la sierra y de la costa comercializada por la empresa APICARE de la ciudad de Riobamba para lo cual se obtuvieron resultados favorables que lo hacen que sea un producto de calidad y

con altos beneficios por su cantidad de fenoles y flavonoides determinados en la actividad antioxidante.

Esta investigación es importante porque permitirá establecer en base a la rica vegetación determinando cuales son las principales especies vegetales que predominan en las zonas apícolas de la provincia de Chimborazo la calidad y la riqueza nutracéutica de los pólenes que ahí existen. Esto también ayudara a la empresa APICARE a que pueda comercializar dicho producto para ayudar a mejorar el estado de salud de la sociedad y promueva la inversión en la variedad existente de productos apícolas.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 NUTRACÉUTICOS

1.1.1 DEFINICIÓN

Durante los últimos años la población en general, ha reconocido la importancia de mantener la salud. En el año de 1989 surgió el término Nutracéutico por el Dr. Stephen de Felice, Director de la Fundación de Medicina Innovativa. Planteó que sería cualquier sustancia que pueda ser considerada como alimento o como parte de éste y que proporciona beneficios médicos o de salud, incluyendo la prevención o el tratamiento de una enfermedad. Este concepto ha continuado evolucionando hasta llegar a una definición más completa. (15)

El término nutracéutico, fue agrupado en 1990 por la “Fundation for innovation in medicine” para nominar una nueva área de investigaciones biomédicas e desde entonces, se transformó en parte del léxico padrón de la comunidad médico-científica y de las industrias de alimentos y drogas. (71)

La definición precisa de alimento nutracéutico o funcional está en desarrollo, pero en general se refiere a aquel alimento que por sus componentes fisiológicos activos, provee beneficios más allá de la nutrición básica y puede prevenir enfermedades o promover la salud (Vinson, 1999). De acuerdo con la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos, son aquellos alimentos en los cuales la concentración de uno o más ingredientes ha sido manipulada para aumentar su contribución a una dieta saludable (Chaudhari,

1999). En vista de que ambos términos se utilizan indistintamente, en adelante se usará el concepto de alimentos nutraceuticos. (13)

1.1.1.1 Valor Nutraceutico

Según Roberto Sánchez (2012) dice que, “El valor nutricional de los alimentos no es más que el potencial nutritivo o la cantidad de nutrientes que el alimento aporta al organismo. Es un valor difícil de medir, carente de unidad de medición, y que depende de diversos factores tales como la aportación energética, la proporción de los macro y micronutrientes que contienen -carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas, minerales, agua,...-, la capacidad de asimilación de dichos nutrientes -teniendo en cuenta por ejemplo intolerancias y alergias-, el efecto sobre los diferentes sistemas del organismo - especialmente el inmunitario-, etc.” (48)

1.1.1.2 Beneficios

Los nutraceuticos son los alimentos que poseen propiedades beneficiosas para la salud humana, más allá de la nutrición básica.

- En tal sentido, los nutraceuticos son tomados tanto como medicamentos alternativos, así como suplementos nutricionales. De manera natural, encontramos muchos alimentos ricos y nutritivos, considerados como nutraceuticos. Entre ellos, tenemos el yogurt, el queso y las leches fermentadas. (18)
- Como suplementos nutricionales y medicina alternativa, los nutraceuticos son recomendados para la prevención de diversas enfermedades, como el cáncer de colon y el sida, mediante un adecuado balance dietético.
- De igual manera, contribuye a reforzar el sistema inmunológico. Los nutraceuticos se clasifican en nutrientes, como los azúcares y las grasas, y en compuestos químicos, como los antioxidantes y las vitaminas. (45)

1.1.1.3 Clasificación De Los Nutraceuticos

1. Nutrientes

Es una sustancia simple, contenida en los alimentos, y utilizada por el organismo para cubrir sus necesidades. Los alimentos contienen en proporciones variables tres clases de nutrientes energéticos: los prótidos, los lípidos y los glúcidos. Ciertos nutrientes se denominan esenciales o indispensables, porque el organismo no puede fabricarlos. (8)

2. Compuestos químicos

Tenemos como punto de partida los antioxidantes, carotenos, fibra; antioxidantes porque, normalmente los seres humanos estamos expuestos a un gran número de agentes oxidantes como la contaminación, el estrés, humo del cigarro; además nuestro cuerpo produce radicales libres, los cuales van a producir la oxidación de membranas y daño al ADN desencadenando una serie de reacciones no deseables que conocemos con el nombre de cáncer, problemas cardiovasculares y envejecimiento. (11)

3. Probióticos

Una categoría de alimentos funcionales de mucha relevancia es la de los denominados alimentos probióticos que son definidos como aquellos que contienen microorganismos vivos y tienen algún beneficio en la salud debido a que proveen un equilibrio en la flora intestinal. Estos productos contienen bacterias de los géneros *Bifidobacterium* y/o *Lactobacillus* o levaduras del género *Saccharomyces*. Los más utilizados son, sin lugar a dudas, las bacterias formadoras de ácido láctico (Tomasik and Tomasik, 2003). (32)

1.2 LOS RADICALES LIBRES

1.2.1 DEFINICIÓN

Los radicales libres y las especies derivadas del oxígeno (ERO) son continuamente generadas en el organismo como resultado de accidentes de la química, o durante el curso de diversos procesos metabólicos. Las ERO han sido implicadas como iniciadoras de reacciones que conducen a un daño oxidativo, y por lo tanto se considera que dichas especies subyacen al desarrollo de diversas condiciones patológicas. Sin embargo, recientemente, estas especies han sido reconocidas también como importantes mediadores de una serie de eventos de naturaleza fisiológica. El hecho de que las ERO conduzcan a un daño celular, o que sus acciones se limiten a servir como señales biológicas, dependerá en parte de su naturaleza, de los mecanismos y sitios de su generación, y de los sustratos biológicos sobre los que actúan. No obstante, el mayor determinante de que las ERO tengan o no carácter deletéreo está dado por el balance entre la velocidad a la cual estas especies son generadas y aquella a la cual las mismas son removidas por los mecanismos antioxidantes. (68)

1.2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS RADICALES LIBRES

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son: Radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), Anión superóxido (O_2^-), Oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), Oxígeno nítrico (NO), Peróxido (ROO), Semiquinona (Q), Ozono.

Los radicales libres del oxígeno se clasifican de la forma siguiente:

- **Radicales libres inorgánicos o primarios:** Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el óxido nítrico. (16)
- **Radicales libres orgánicos o secundarios:** Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la

reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno. Aquí se incluye un grupo de especies químicas que sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, el hidroperóxidos orgánicos. (16)

1.2.3 ORIGEN DE LOS RADICALES LIBRES

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular. Entre las células relacionadas con la producción de radicales libres del oxígeno tenemos los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales. Las enzimas oxidantes involucradas son la xantin-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofano-dioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipoxigenasa, la monoamino-oxidasa y la NADPH oxidasa. Y entre las sustancias y agentes es conocida ampliamente la relación de los productos cíclicos de naturaleza redox como son el paraquat, diquat, alloxano, estreptozozina y doxorubicina, con los radicales libres. También se producen radicales libres por la administración de paracetamol, tetracloruro de carbono y furosemida; por último no se puede olvidar agentes como el humo de cigarrillos, las radiaciones ionizantes, la luz solar, el shock térmico y las sustancias que oxidan el glutatión (GSH) como fuentes de radicales libres. (16)

Existen algunas circunstancias en que también se producen radicales libres como son:

- Dieta hipercalórica.
- Dieta insuficiente en antioxidantes.
- Procesos inflamatorios y traumatismos.
- Fenómenos de isquemia y reperfusión.
- Ejercicio extenuante. (16)

1.2.4 ENFERMEDADES QUE PRODUCEN (14)

Existen numerosas enfermedades que se han vinculado a la formación de RSOs, e, incluso, el mismo proceso de, envejecimiento. Tenemos aquí algunos ejemplos:

- **Carcinogénesis:** Se ha comprobado la participación de los RSOs en la iniciación y promoción de la carcinogénesis. Pueden actuar como iniciadores y/o promotores, causan daño en el DNA, activan procarcinógenos y alteran el sistema de defensa antioxidante.

- **Infección Crónica, Inflamación y Cáncer:** Los fagocitos usan para combatir contra los organismos patógenos una batería de oxidantes (NO, superóxido, peróxido hidrógeno, hipoclorito). Estas especies pueden causar daño en el DNA, mutaciones y por lo tanto, cáncer. Algunos ejemplos: los virus de la hepatitis A y C son la mayor causa de hepatocarcinoma. La esquistomosis puede provocar cáncer de colon. Parásitos hepáticos. Como el *Opistorchis viverrini* y el *Chlonorchis sinensis*, aumentan el riesgo de colangiocarcinoma. La exposición a asbestos causa inflamación crónica y cáncer de pulmón.

- **Tabaco y Cáncer:** El tabaco posee una gran cantidad de sustancias carcinógenas (como los óxidos de nitrógeno) y es la causa de la tercera parte de los cánceres en EE.UU. Así, el radical NO puede reaccionar con el radical superóxido para dar lugar al peroxinitrilo y con el radical peroxilo para originar el alquil peroxinitrilo, ambas especies fuertemente oxidantes.

- **Enfermedades Cardiovasculares:** Las reacciones de oxidación juegan un importante papel en la aterogénesis y la enfermedad vascular está relacionada con bajas concentraciones en plasma de ascorbato, tocoferol y caroteno. Una mayor evidencia es, que la oxidación de la polipoproteína B100 por productos de la peroxidación lipídica hace que ésta sea reconocida por la LDL, y sea captada por los macrófagos, lo que conduce a la formación de placas ateroscleróticas.

- **Enfermedades Del Sistema Inmunitario:** Por estudios *in vitro*, se ha comprobado que los leucocitos polimorfonucleares y los macrófagos pueden inhibir la proliferación de linfocitos a través de la producción de RSOs PG E₂ y NO y, por tanto, disminuye las defensas del individuo.
- **Cataratas:** Se ha demostrado que, tanto el tabaco como las radiaciones, son las principales causas de aparición de cataratas. En esta patología, las proteínas de los ojos presentan más de un 60% de sus residuos de metionina oxidados. Asimismo se ha visto que los antioxidantes de la dieta retardan los procesos destructivos en la retina y en el epitelio retinal que conducen a la degeneración de la mácula.
- **Disfunciones Generales:** Los RSOs son causa de algunas patologías cerebrales como la isquemia cerebral, la enfermedad de Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica. Así, por ejemplo, tenemos que en los pacientes parkinsonianos se ha encontrado una alta cantidad de DNA en neuronas dopaminérgicas. En la isquemia cerebral, liberan grandes cantidades de hierro, que es un importante catalizador en la formación de RSOs. La mayor evidencia de la relación entre desórdenes neurológicos y formación de RSOs es la fuerte relación entre la esclerosis lateral amiotrófica y las mutaciones en el Cu, Zn-SOD, indicando que los RSOs son los responsables de la degeneración selectiva de las neuronas motoras.

1.2.5 ESTRÉS OXIDATIVO (34)

El Estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. En términos químicos, es un gran aumento en la reducción del potencial celular o una disminución en la capacidad reductora de los pares redox celulares como el glutatión. Un aspecto “destructivo” del estrés oxidativo es la producción de especies reactivas derivadas del oxígeno, incluyen los radicales libres y los peróxidos. La fuente más importante de oxígeno reactivo en condiciones normales en organismos aeróbicos y probablemente la pérdida de oxígeno

activado de las mitocondrias durante el funcionamiento normal de la respiración oxidativa.

Ante el peligro que representa el daño oxidativo, las células se encuentran preparadas con mecanismos de protección: los antioxidantes celulares, las enzimas: -superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Si es, define el estrés oxidativo como una "alteración del equilibrio prooxidante/antioxidante, a favor del primero." Miquel y Weber, mencionan que el aumento del estrés oxidativo que tiene lugar al envejecer se acompaña de un progresivo descenso en los niveles tisulares de glutatión reducido (necesario para la síntesis de DNA y proteínas, actividades enzimáticas, liberación de neurotransmisores y detoxificación de compuestos carcinógenos).

Cuando el estrés oxidativo afecta a sustratos biológicos, el desequilibrio redox que lo caracteriza, se traduce en un daño oxidativo a diversas macromoléculas. Cuando el daño oxidativo es intenso, sostenido en el tiempo, y no logra ser revertido, esto conducirá a la aparición de ciertas patologías. Ejs: enf. Cardiovasculares, cáncer, distrofia muscular, enf. Autoinmunes, esclerosis múltiple, ALZHEIMER, etc.

1.3 ANTIOXIDANTES

1.3.1 DEFINICIÓN

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor). (34)

Los antioxidantes tiene la facultad de contrarrestar el efecto negativo de los radicales libres (producidos por el tabaquismo, contaminantes externos, sustancias químicas, determinados compuestos químicos de sustancias nutritivas, agentes atmosféricos externos...etc.), reducir la aparición de determinadas enfermedades como el cáncer y patologías cardiovasculares, además se ha visto que son un gran aliado para prevenir el envejecimiento precoz. Cuantos más radicales libres (encargados de la oxidación de

nuestro sistema) tengamos más antioxidantes deberemos consumir para contrarrestar el efecto de estos. (53)

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se las denomina Antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células. (19)

Dentro de los antioxidantes destacan del grupo los compuestos fenólicos, una familia grande de nutraceuticos que posee propiedades de beneficio en la salud que van desde la inhibición de la propagación del cáncer, prevención de arterioesclerosis, embolias, inflamaciones, ataques cardíacos, entre otras. Los antioxidantes han recibido atención a través de la evidencia científica existente sobre el beneficio del consumo moderado del vino tinto, debido a su alto contenido de antocianinas y procianidinas, compuestos que ejercen protección al sistema cardiovascular. Además de la uva, estos compuestos se encuentran también en la flor de Jamaica, fresas, maíz morado, y la mayoría de las frutas rojas. Dentro de esta misma familia de compuestos también tenemos a los flavonoides, que han sido asociados con la prevención de cáncer de colon, mismos que pueden encontrarse en los cítricos, frutas amarillas y especias, entre otras fuentes como los productos apícolas. (11)

Otro importante grupo de antioxidantes son los carotenos, que son también conocidos como fuentes de vitamina A y colorantes naturales. Entre los carotenos más importantes destaca la luteína que está siendo adicionada a cereales de desayuno y suplementos nutrimentales con el propósito de prevenir la degradación macular, una de las principales causas de ceguera asociada con la edad (Fullmer and Shao, 2001). Así mismo, el licopeno y las xantofilas están sustituyendo a los colorantes artificiales en pastas de tomate, jugos y productos cárnicos con el propósito de prevenir ciertos tipos de cáncer. Hoy en día, los licopenos se consideran como uno de los compuestos con más reconocida capacidad anticancerígena de próstata. Interesantemente, el procesamiento térmico de los alimentos incrementa significativamente la bioactividad de los licopenos. Las fuentes

ricas de carotenos son la zanahoria, chile, tomate, maíz amarillo y algunas flores. También los carotenos se pueden producir biotecnológicamente mediante el cultivo de microorganismos que expresan altas cantidades de estos antioxidantes. (52)

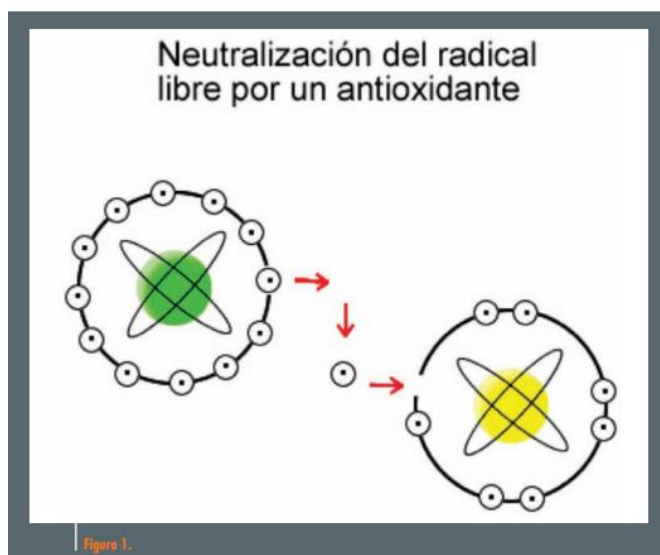


FIGURA No. 1 NEUTRALIZACIÓN DEL RADICAL LIBRE POR UN ANTIOXIDANTE. (7)

FUENTE: CRIADO, C. 2009., Pp. 6-18.

1.3.2 SISTEMAS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. (24)

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente -membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas - lípidos, proteínas, ADN, etc.- funcionalmente vital o más importante. Su acción la

realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Actúan como eliminadoras (Scavengers), con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante a favor de estos últimos. Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen. (16)

1.3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se clasifican en ENDÓGENOS, fabricados por la propia célula, y EXÓGENOS, que ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes (Tabla 1).

TABLA No. 1 CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES. (7)

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Betacaroteno	Ácido Tiáctico	Manganeso
Flavonoides	Enzimas: Superoxidodismutasa (SOD) Catalasa Glutación peroxidasa	Hierro
Licopeno		Selenio

FUENTE: CRIADO, C. 2009., Pp. 6-18.

1.3.3.1 Tipos de Antioxidantes (7)

1. La Vitamina C o Ácido Ascórbico

Es un importante antioxidante hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes tal como sucede con la vitamina E y el selenio. No se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser aportada por la dieta. Sus principales funciones son neutralizar el oxígeno singlete (O₂), capturar radicales hidróxilos y aniones superóxido y regenerar la forma oxidada de vitamina E una vez que ha reaccionado con un RL. Actúa

de forma sinérgica con la vitamina E, y se ha comprobado que se absorbe mejor si se encuentra en una formulación que contenga vitamina E.

Algunos estudios muestran una clara participación de la vitamina C como antioxidante sobre el endotelio vascular evitando la oxidación del óxido nítrico, potenciando su actividad y aumentando su síntesis. Otros estudios sugieren una disminución de la peroxidación lipídica en presencia de vitamina C. Por ambas razones parece demostrado su papel beneficioso en la aparición y progresión de la aterosclerosis.

La principal consecuencia derivada del déficit de vitamina C es el escorbuto, raro en países occidentales en los que la dieta contiene la cantidad mínima necesaria de vitamina C para evitar la enfermedad. Se caracteriza por un defecto en la formación del colágeno, cuya consecuencia es la fragilidad capilar con las consiguientes petequias y gingivorragias, dolores generalizados, anemia multifactorial por la hemorragia, por disminución en la absorción de hierro y por déficit de folato.

Hasta el momento, aunque es evidente su importante papel como potente antioxidante, los ensayos clínicos no aportan datos concluyentes para afirmar que la ingesta de cantidades elevadas de vitamina C aisladamente prevenga la aparición y desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas.

1.4 LOS COMPUESTOS FENÓLICOS (12)

1.4.1 DEFINICIÓN

El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, unido a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles.

Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Los fenoles son sintetizados de nuevo por las plantas y son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además, actúan como fitoalexinas (las plantas

heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta (p. ej. los antocianos son los responsables del color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta que encontramos en las pieles de las frutas y hortalizas). Por otro lado, cuando los fenoles son oxidados, dan lugar a las quinonas que dan un color pardo que muchas veces es indeseable.

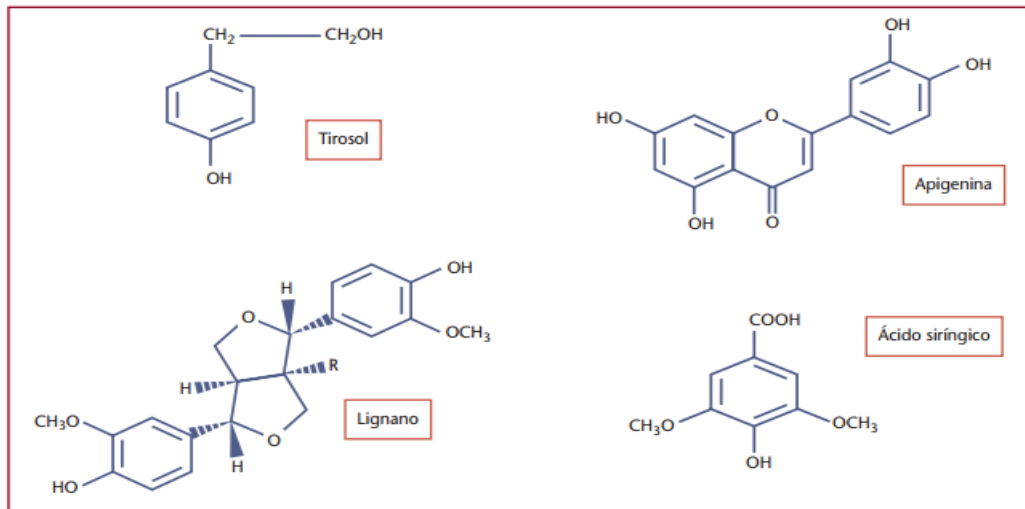


FIGURA No. 2 COMPUESTOS FENÓLICOS. (12)

FUENTE: GIMENO, E., 2004., Pp. 80-84.

1.4.2 ESTRUCTURA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS (28)

El término fenoles comprende aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol -un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo.

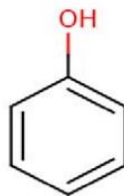


FIGURA No. 3 FENOL.

Los flavonoides son los polifenoles que poseen al menos 2 subunidades fenólicas; los compuestos que tienen 3 o más subunidades fenólicas se denominan taninos Robbins, 2003).

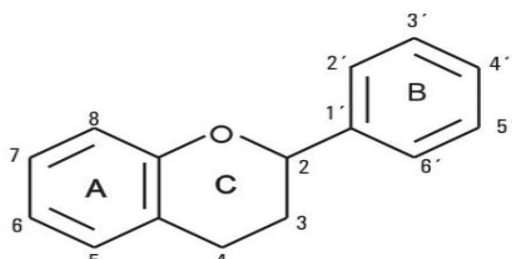


FIGURA No. 4 ESTRUCTURA BÁSICA DE LOS FLAVONOIDES.

Los flavonoides son derivados fenólicos sintetizados en cantidades substanciales por las plantas. Comprenden alrededor de 4000 compuestos identificados, son derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados de la 2 fenil benzo γ pirano, que consiste en dos anillos benceno combinados por mediación del oxígeno contenido en el anillo pirano. Estos compuestos poseen actividad antioxidante y capacidad para capturar radicales libres (Vinson et al, 1995).

La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de oxidrilos sustituyentes, así como del peso molecular. En los flavonoides, esta característica se asocia con la presencia en la molécula de grupos orto dihidroxi en el anillo B, un doble enlace entre el C2 y C3 en conjunto con la posición 4-oxo en el anillo C, y grupos 3-5 hidroxilo, y la función 4 – oxo en los anillos A y C (Velioglu et al, 1998).

Los taninos o polifenoles poliméricos tienen mayor actividad antioxidante que los fenoles monoméricos simples (Hagerman et al, 1998).

1.5 LA APICULTURA.

1.5.1 HISTORIA (36)

Si analizamos etimológicamente Apicultura observamos que la palabra proviene del latín *Apis* (abeja) y *Cultura* (cultivo), es decir, la ciencia que se dedica al cultivo de las abejas o a la cría de las abejas, ya que se trata de animales.

Según Fabián Rodríguez la define como “la ciencia aplicada que estudia la abeja melífera y mediante la tecnología se obtienen beneficios económicos”. Se distinguen dos tipos de beneficios:

- **Directos:** como consecuencia de la venta de los productos apícolas (miel, polen y cera).
- **Indirectos:** debida a la acción que realiza como vector de polen en los cultivos.

La apicultura nace cuando el hombre intenta conocer el mundo de las abejas. Para ello tomó un tronco hueco e intentó mantener una colonia. Se data del año 2500 a. C. la evidencia del aprovechamiento de abejas por parte de los egipcios en sus jeroglíficos. Es en el año 1500 a. C. cuando se escribe sobre las abejas, siendo ésta la primera evidencia escrita (HITITA). En España la primera evidencia escrita de la importancia de la apicultura data del 1100 a. C., en lo que denominamos Imperio Tarteso, asentado en Andalucía. La importancia de esta apicultura es tal que en el S. I d. C. el gaditano COLUMELA describió como era la apicultura de la época. Además hizo referencia al manejo de las colmenas.

Actualmente existen dos tipos de apicultura:

- **Apicultura Sedentaria:** Es aquella en la que la ubicación de la colmena no varía y precisa de un aporte de alimento artificial.

- **Apicultura Transhumante:** Consiste en in cambiando la situación del apiario siguiendo la localización de la zona geográfica con el fin de obtener un máximo de producción.

1.6 LA ABEJA MELLÍFERA (*Apis mellifera*)

La abeja europea, también conocida como la abeja doméstica o melífera lleva el nombre científico de *Apis mellifera*. Es la especie de abeja con mayor distribución en el mundo. Originaria de Europa, África y parte de Asia, fue introducida en América y Oceanía. Fue clasificada por Carolus Linnaeus en 1758. A partir de entonces numerosos taxónomos describieron variedades geográficas o subespecies que, en la actualidad, superan las 30 razas, si bien las mezclas y cruzamientos con el afán de aumentar la productividad, hacen que los diversos eco tipos se homogenicen. (37)

1.6.1 CLASIFICACIÓN DE LA ABEJA MELLÍFERA (30)

La abeja de la miel *Apis mellifera L.* es un insecto que pertenece, dentro del orden de los Himenópteros a la familia *Apidae* y al género *Apis*; este género comprende 4 especies todas ellas sociales:

- ***Apis mellifera L.*** Es la abeja doméstica y se encuentra en zonas tropicales de Europa (Zona Mediterránea) y África, de la que se extendió al resto del mundo (Asia y América).
- ***Apis cerana***: Es esta especie la que se encuentra en Asia. Tiene como parásito a la varroa pero no causa graves problemas a esta especie, aunque sí a *Apis mellifera*. Se trata de un arácnido que se alimenta de estados inmaduros y adultos (hemolinfa). Existen en esta especie referencias tan antiguas como de *Apis mellifera*.

Ambas viven en nidos cerrados (rocas, huecos de árboles). Cabe en este momento hacer la distinción entre nido y colmena. Un nido es el albergue natural de un enjambre, siendo la colmena el albergue artificial, construido por el hombre.



FOTOGRAFÍA No. 1 FOTOGRAFÍA DE ABEJA (*Apis mellifera*). (30)

FUENTE: <http://enelmoncavo.blogspot.com/2012/03/abeja-de-la-miel-apis>

Dentro de una colonia de abejas se pueden encontrar la abeja reina, los zánganos y las obreras, cada una de ellas con una labor determinada:

1.6.1.1 La Reina

Su principal tarea es la de poner huevos y son las obreras las encargadas de alimentarla. Las reinas nacen en unas celdillas llamadas "realeras", que son mayores que las normales y en forma de bellota. Las obreras alimentan esta larva con jalea real lo que hace que sea fértil y se diferencie de las obreras normales. Sólo subsiste una reina por cada colmena. La vida de una reina puede ser de hasta 5 años, aunque normalmente se sustituyen de forma natural a los dos o tres años.

1.6.1.2 Los Zánganos

Los zánganos nacen de huevos sin fecundar, son de mayores dimensiones que la obreras, abdomen más cuadrado y ojos grandes y contiguos. Sus funciones aparte de fecundar a la reina son bastante discutidas, pero se piensa que ayudan a mantener el calor en la colmena y también repartirían el néctar.

1.6.1.3 Las Obreras

Las obreras son las verdaderas trabajadoras de la colmena, desde que nace una obrera va pasando por distintas tareas dentro de la colmena: hacer cera, limpiar, alimentar,

guardianas, y por último pecoreadoras. La vida de una obrera varía, las nacidas en Enero-Febrero viven unos 3 meses, las nacidas en Abril-Mayo de 28-40 días, en Julio-Agosto unos 80 días, en Octubre sobre mes y medio, y en noviembre sobre 140 días. En invierno viven más tiempo ya que el número de abejas que nacen es casi nulo ya que la reina no ponen huevos en esta época y por lo tanto han de sobrevivir hasta que empiecen a nacer nuevas abejas para que la colonia sobreviva.

1.7 PRODUCTOS APÍCOLAS

1.7.1 LA MIEL

La miel es definida por el código alimentario como la sustancia dulce, no fermentada, producida por las abejas del néctar de las flores o de las secreciones sobre o de las plantas vivas; que ellas recolectan, transforman y combinan con sustancias específicas y que finalmente almacenan y maduran en panales. Su composición es variada. Está compuesta por agua, fructosa y glucosa, además de otras sustancias en muy baja proporción como son ácidos, minerales, aminoácidos y proteínas, enzimas, aromas, etc. (51)



FOTOGRAFÍA No. 2 LA MIEL. (51)

FUENTE: <https://www.udemy.com/lectures/la-miel-198067>

1.7.1.1 Composición.

La miel contiene: Minerales como el potasio y el fósforo, este último elemento es muy importante para la metabolización de los hidratos de carbono.

Oligoelementos, como; aluminio, cadmio, silicio, boro, titanio, plomo, níquel, cinc, litio, estaño, cromo y radio. (56)

TABLA No. 2 COMPOSICIÓN DE LA MIEL.

Constituyente	Valor medio (%)	Extremos (%)
Componentes principales (>99%)		
Agua	17,0	13,4 -26,6
Fructosa	39,3	21,7 – 53,9
Glucosa	32,9	20,4 -44,4
Sacarosa	2,3	0,0 – 7,6
Otros azúcares		
Disacáridos (maltosa)	7,3	2,7 -16,0
Cadena Larga	1,5	0,1- 85,
Componentes secundarios (<1%)		
Ácidos (p.e.:gucónico)	0,57	0,17 – 1,17
Minerales	0,17	0,02 – 1,03
Nitrógeno (prot y amino ácidos)	0,04	0,00 – 0,13
Enzimas	Trazas	-
Aromas	Trazas	-

FUENTE: Cabello, T., Apicultura., EPS., UAL., 2006-2007

1.7.2 LA CERA

Es otro producto apícola tradicional. Es una sustancia segregada por las mandíbulas ceríferas de las abejas domésticas en los segmentos 4, 5,6 y 7º en posición ventral, en el segundo periodo de su fase adulta, justo después de ser nodrizas (almacenistas). (41)

Es una sustancia de composición muy compleja con un elevado número de átomos de carbono. Es segregada en forma líquida solidificándose a la temperatura interior de la colonia en forma de escamas. Es de bajo peso pero resiste tracciones o pesos relativamente importantes. Los apicultores extraen la cera fundiendo en agua hirviendo los panales, restos de cuadros, opérculos, etc. Después de un lento enfriamiento y por

diferencia de densidad se extrae un bloque o cerón. También se utilizan para fundir las calderas de vapor de agua y los cerificadores solares. Los bloques o cerones se venden en bruto a las industrias especializadas, que se encargarán de elaborar nuevas láminas estampadas y preparadas para colocar en los cuadros a introducir en la colmena. De este modo se ahorran tiempo y trabajo a las colmenas, permitiendo un aprovechamiento óptimo de las floraciones. (35)

La cera es químicamente muy estable y sus propiedades casi no se alteran con el tiempo. Resiste perfectamente a la hidrólisis o la oxidación natural y es totalmente insoluble en agua. Los ácidos o los jugos digestivos de los animales no pueden destruirla, con excepción de los de las larvas de algunas polillas parásitas de las colmenas o de algunos pájaros como el Indicator Major (pájaro africano que "indica" a los nativos la situación de los enjambres silvestres de abejas). (35)

1.7.3 PROPÓLEOS

Está formado por las propias abejas por la recolección de resinas de especies arbóreas y su mezcla con cera en la colmena. Los propóleos evitan pérdidas de calor durante el invierno al depositarse sobre las grietas del nido o colmena. Reducen la piquera y aíslan las partículas extrañas que se depositan dentro de la colonia para evitar su descomposición. Las aplicaciones de los propóleos son diversas. Se emplean en la fabricación de cosméticos, barnices, pinturas, medicamentos, etc. Tiene propiedades antisépticas especialmente en infecciones de ojos, eczemas, infecciones de garganta, úlceras, enfermedades del tracto urinario, dermatología, odontología, etc. (35)

1.7.4 EL VENENO DE ABEJA (APITOXINA)

La apitoxina es un producto que se emplea en medicina por su poder antiartrítico y en la preparación de antialérgicos. Se produce en las glándulas situadas en la parte posterior del último segmento abdominal de la abeja. El veneno de abeja tiene propiedades bactericidas, hemolíticas, anticoagulantes y tónicas. Es el mayor vasodilatador conocido, fluidifica la sangre al ser anticoagulante, se le reconocen propiedades en casos de

reumatismo y actualmente el veneno es utilizado de forma racional en algunos países.
(35)

1.7.5 LA JALEA REAL

Es un alimento fundamental para de abejas cuando son larvas hasta cumplir los seis días de vida, tres de larva, y de la reina durante toda la vida. La jalea real es fundamentalmente un alimento proteico (12 %), aunque también es rica en azúcares (9 %), vitaminas, etc. La jalea real tiene una actividad antiinflamatoria y regeneradora, presenta efectos hipercolesterolémicos, vasodilatadores, antiinflamatorios. Es empleada por las industrias dietéticas y cosméticas. (9)

1.8 EL POLEN

1.8.1 DEFINICIÓN

Se trata del elemento masculino de la flor. Cuando lo adquirimos se presenta, como un fino polvillo que va del color blanco al negro, aunque generalmente es amarillo o marrón claro: Su sabor es amargo. (6)

Para las plantas, el polen es el gameto masculino indispensable para fecundar los óvulos, que van a generar las semillas responsables de la perpetuación de la especie vegetal. Como término botánico proviene del latín “polleninis” que significa “polvo muy fino” (Saénz de Rivas, 1978).

“El polen apícola es el resultado de la aglutinación del polen de las flores efectuado por las abejas pecoreadoras mediante néctar y sus propias sustancias salivares, que el hombre utiliza tras su recolección en los cazapolenes y subsiguiente elaboración (secado, limpieza y envasado” (Peris, 1984, citado por Baldi Coronel, 1999). (10)

El polen es el nombre colectivo de las microsporas de las plantas con semilla. Son muy pocos los animales que pueden alimentarse del polen. Las abejas melíferas están entre ellos. (59)



FOTOGRAFÍA No. 3 EL POLEN. (59)

FUENTE: <http://www.bonamel.com/pdf/polen.pdf>

1.8.2 FORMACIÓN DEL POLEN (49)

La célula masculina (ANTEROZOIDES) o Núcleos espermáticos se forma por Microgametogénesis. La célula madre de los granos de polen llamada MICROSPOROCITOS originará, por Meiosis 4 microsporas por cada una formándose una TÉTRADA, cada una de las microsporas por MITOSIS originará el GRANO DE POLEN, este está formado por 2 células una de ellas la de mayor tamaño llamada CÉLULA VEGETATIVA y la o tramas pequeña llamada CÉLULA GENERATIVA producirá los gametos masculinos o ANTEROZOIDES.

Cada microspora o grano de polen unicelular sufre una división mitótica cuyo resultado es la formación de 2 células desiguales: una muy grande, la célula vegetativa o célula del tubo polínico que llena el grano casi por completo y una pequeña célula lenticular, la célula generativa o gametogénica, aplicada contra la pared de la microspora.

Luego queda incluida en la célula vegetativa, en suspensión en su citoplasma, rodeada por su membrana plasmática. Luego la célula generativa sufre una división (la segunda mitosis que ocurre) y produce 2 células: los gametos masculinos, que son desnudos, no forman pared celular. Esta división puede producirse aún dentro del saco polínico o recién después que el grano de polen germina, dentro del tubo polínico. Es decir que cuando un grano de polen es liberado, puede ser bicelular (célula vegetativa + célula generativa) o tricelular (célula vegetativa + 2 gametos), condición característica de familias avanzadas como las gramíneas.

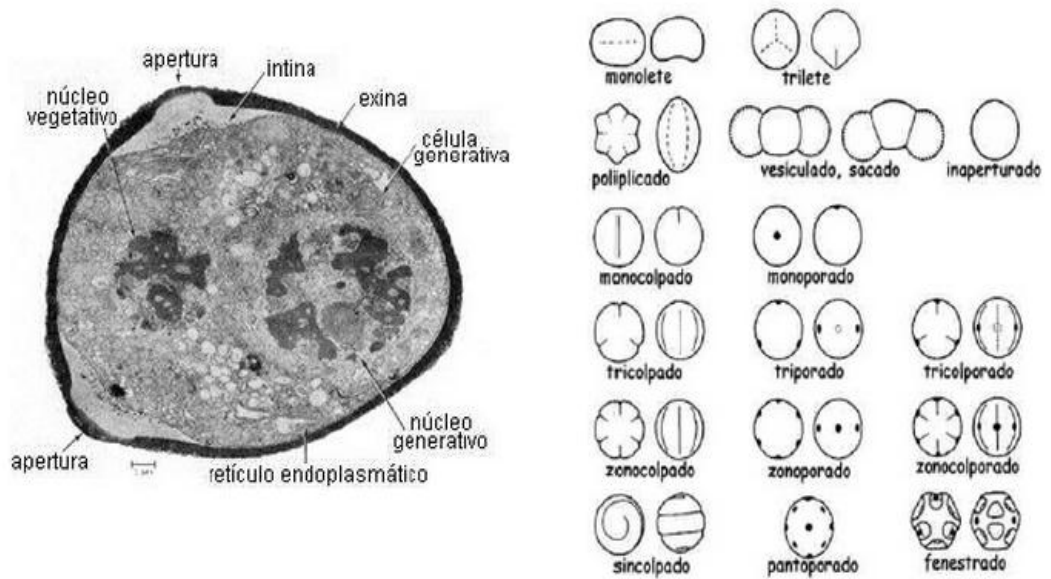


FIGURA No. 6 FORMACIÓN DEL POLEN. (49)

FUENTE: <http://es.scribd.com/doc/62207828/FORMACION-DEL-POLEN>

1.8.3 POLINIZACIÓN

La polinización es la función más importante y vital que las plantas realizan para fecundarse y reproducirse. En este proceso, que depende de factores externos, el elemento masculino o polen, producido en las anteras de las flores, se conduce a los ovarios de las plantas femeninas. Su función es la de generar con su poder fecundante nuevos frutos y semillas, y es precisamente allí donde radican sus extraordinarias virtudes nutritivas y terapéuticas. (6)

La polinización se llama así al proceso de transferencia del polen desde los estambres hasta los estigmas o parte receptiva de las flores en las angiospermas, donde germina y fecunda los óvulos de la flor, haciendo posible la producción de semillas y frutos.

Existen plantas autógamas (aquellas que se auto fecundan) lo pueden hacer sin participación alguna de polen, pero más a menudo dependen de algún mecanismo

polinizador como en la cleistogamia donde las anteras se abren y los estigmas maduran dentro de un capullo cerrado. (64)

Los agentes más ordinarios son los insectos (entomófila) y el viento (anemofilia).

- Otros agentes: El viento es el más importante agente polinizador la mayoría de los árboles destinados a la forestación son anemófilos. Entre todas las gramíneas y cereales el maíz aparece como el más beneficiado por el viento.
- El agua no es beneficioso como polinizador es muy limitante el polen al ponerse en contacto con el agua se vuelve inservible.
- El hombre se convirtió en un agente polinizador cuando trasfiere el polen artificialmente utilizando el polen recogido el año anterior de los frutos cosechados el año anterior que luego distribuye mecánicamente en los estigmas. (65)

1.8.3.1 Recolección del polen por la Abeja

El polen es recolectado por las abejas, principalmente, al final del invierno y en primavera.

Por la mañana, antes de las 10, es cuando se ven, sobre la tabla de vuelo, llegar más pecoreadoras cargadas de polen. En ciertas especies la recolección se prosigue durante toda la jornada.

Con visitas a la recolección de polen las obreras están provistas de útiles especiales: peine, cepillo, cestillo y espina. Aglutinan los granos con saliva, miel o néctar y, durante el vuelo, los amasan con la ayuda de sus patas hasta confeccionar pequeñas bolitas que colocan en los cestillos, situados en las colmenas. (3)

1.8.4 COSECHA DEL POLEN

La cosecha de polen se realiza retirando el cajón recolector de la trampa y volcando el polen en un balde de plástico muy limpio. Una vez retirado el polen de todas las trampas debe trasladarse lo más pronto posible a la planta de secado final. Si esta planta quedara a mucha distancia y para evitar el deterioro del polen es muy recomendable hacer lo que se

llama un presecado. La idea es bajar el tenor de humedad natural con que viene el polen que a veces llega a 60-70% por lo menos a un 10% de humedad. Este porcentaje permite la conservación del polen por un tiempo muy razonable que facilita a su vez su posterior traslado a la sala de procesamiento sin mayores pérdidas. El traslado de polen fresco con alto tenor de humedad provoca pérdidas porque se aglutina y los pellets al estar tan húmedos se rompen y deshacen. También el polen se puede ver afectado si las temperaturas son demasiado altas, esto unido a la humedad puede provocar fermentación.

(31)

1.8.4.1 Las trampas del polen (2)

La abeja acumula en su colmena una cantidad de polen superior a sus necesidades inmediatas, por lo que el apicultor puede, por medio de aparatos especiales, las trampas de polen, apropiarse de una parte del botín reunido por las pecoreadoras de polen.

En la colmena privada de una parte de su polen, la demanda interior se hace más imperiosa: las abejas de vuelo, encargadas de aportar aquello que falta, aumentan de número con el fin de compensar, con los nuevos aportes, el polen capturado por la trampa.

1. Principio en que se basa la trampa

En principio, una trampa está constituida esencialmente por una reja vertical con mallas de 4,5 mm, es decir, suficientemente anchas como para que una obrera las atraviese y lo bastante estrechas como para desprender las bolitas de polen colocadas en la cara externa de las patas posteriores.

Bajo la reja vertical, un tamiz horizontal con mallas de 3 mm deja pasar el polen a un cajón que lo recoge. El apicultor se apropia periódicamente del contenido del cajón.

Si la reja tuviera todo el polen, las abejas no podrían alimentar correctamente su pollo, la colonia se debilitaría en poco tiempo. Las rejillas se construyen de forma que solamente una parte del polen sea retenida, de aquí la noción de eficacia de las trampas.

1.8.5 SECADO DEL POLEN (25)

Para el secado y el procesamiento del polen debe contarse con una sala adecuada para ello. Como es un producto alimenticio, esta sala tendrá que cumplir con los requisitos que exijan las autoridades sanitarias locales.

En general el proceso de secado del polen se efectúa por medio de aire caliente a temperatura controlada y existen diferentes métodos para ello.

- Secado solar directo: Este es un método primitivo, lamentablemente usado todavía por algunos productores y que debe descartarse de inmediato. El polen se deteriora rápidamente al recibir directamente los rayos del sol debido a que posee muchos componentes fotosensibles en especial a los rayos ultra violeta.
- Secado solar indirecto: Anteriormente hablé del presecado con calentamiento solar indirecto y esta es la forma económica y práctica de iniciar el proceso de secado. Para este proceso de secado solar indirecto no existen secadores de este tipo a nivel comercial.
- Secadores con aire caliente: Este es el procedimiento más adecuado para el correcto secado del polen. Consiste en el uso de aire calentado a temperatura controlada que no debe exceder de los 40- 45 °C. Los equipos utilizados para este efecto generalmente son fabricados por los propios productores debido a que prácticamente no existen aún en el mercado, excepto un par de fabricación española. Consisten en estructuras o gabinetes donde se acondicionan bandejas cuyo fondo es de malla fina y donde va colocada una capa de polen.

1.8.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL POLEN

El polen encierra de manera muy completa todos los elementos indispensables a la vida, elementos activos en armonía y en sinergia (lo que no puede ser realizado sintéticamente en los laboratorios).

Hay en la naturaleza 22 aminoácidos esenciales (proteínas). Existe un solo alimento conocido que contiene los 22 aminoácidos esenciales: el polen. La cantidad promedio de proteínas por peso en el polen es del 25%. El valor nutritivo o biológico es de 86 superiores al de la carne de ternera y al de la torta de soja. (42)

- Componentes del polen

TABLA N° 3 COMPONENTES DEL POLEN

COMPONENTES DEL POLEN			
a)Según Tabio et al., 1988	Por las abejas		A mano
b)Según Creane,1990	%a	%b	%b
Agua (en polen secado al aire)	7	11	10
Proteína Bruta	20	21	20
Cenizas	3	3	4
Extractos en Éter (grasa bruta)	5	5	5
Carbohidratos	-	-	-
Azúcares Reductores	36	26	3
Azúcares no Reductores	1	3	8
Almidón	-	3	8
Sin determinar	28	29	43

FUENTE: POLAIVO, C., Manual Práctico del Apicultor., 4ta. Ed., Madrid - España., Cultural S.A., 2009., Pp. 289. **(4)**

- Aminoácidos esenciales contenidos en el polen en %.

TABLA N° 4 AMINOÁCIDOS ESENCIALES CONTENIDOS EN EL POLEN (25)

Componente	%
Acido aspártico	12.57
Acido glutámico	12.18
Leucina	9.06
Lisina	7.70
Isoleucina	7.00
Valina	6.91
Prolina	6.21
Fenilalanina	5.94
Alanina	5.38
Arginina	5.35
Serina	4.95
Glisina	4.81
Tirosina	3.69
Metilonina	1.17
Hidroxiprolina	Menos de 1.00
Cistina	Menos de 1.00

FUENTE: DIRECCIÓN DE INDUSTRIA ALIMENTARIA

Contiene, en condiciones de igual peso, 5 veces más isoleucina, leucina, lisina, metionina y treonina y 6 veces más fenilamina y triptófano que la carne de vaca, y 3 veces más que el queso.

- Composición mineral del polen en %.

TABLA N° 5 COMPOSICIÓN MINERAL DEL POLEN (25)

Componente	%
Potasio	0.3 – 1.2
Sodio	0.1 – 0.2
Calcio	0.3 – 1.2
Magnesio	0.1 - 0.4
Fosforo	0.3 – 0.8
Azufre	0.2 – 0.4
Agua	6.0 – 17.0

FUENTE: DIRECCIÓN DE INDUSTRIA ALIMENTARIA

1.8.7 PROPIEDADES Y BENEFICIOS DEL POLEN

Las propiedades del polen, hacen de este producto secretado por las plantas, un excelente complemento de la dieta diaria. El consumo de polen reporta importantes beneficios al organismo, que son notables rápidamente. Entre los efectos del polen se destacan el aumento de la resistencia a la fatiga y de la capacidad intelectual, además de ser beneficioso para muchas enfermedades. (66)



FOTOGRAFÍA No. 4 ABEJA RECOLECTANDO POLEN. (66)

FUENTE: <http://revistadsalud.blogspot.com/2013/05/productos-naturales-mi>

El polen es el producto de secreción de los órganos masculinos de las plantas, cuya función es fecundar los órganos femeninos. Por tal motivo, en su composición, se encuentran elementos indispensables para la vida.

Entre ellos, se destaca su alto contenido en proteínas, vitaminas y hormonas que favorecen el crecimiento. Además, el polen posee hidratos de carbono, lípidos complejos, diastasas y oligoelementos. (66)

Los beneficios del polen derivan de sus propiedades depurativas, energizantes y revitalizantes. Estimula el apetito, eleva la capacidad de trabajo y baja la tensión arterial. Los efectos del consumo de polen se comienzan a notar a los pocos días, aumentando la resistencia a la fatiga y la capacidad intelectual.

Tomar polen es bueno para la anemia, ya que favorece la producción de glóbulos rojos, también ayuda a la cicatrización, por lo que está indicado en caso de úlceras. Además, es ideal para recuperar la vitalidad, razón por la cual se recomienda su consumo a personas débiles, convalecientes, estresadas, de edad avanzada y mujeres embarazadas. En los niños, el polen favorece el crecimiento.

Entre otras propiedades medicinales, el polen es útil para evitar la prostatitis. Por otra parte, hipertensión, várices, problemas intestinales y hepáticos, asma bronquial, eczemas, diabetes, trastornos visuales, estados de ansiedad, irritabilidad y nerviosismo, entre otros trastornos, también se benefician con el consumo de polen.

El polen sólo está contraindicado en personas alérgicas. La dosis de polen recomendada para adultos es de una cucharada al día, que podrás mezclar con las comidas, si te desagrada su sabor. (67)

1.8.8 VALOR NUTRICIONAL DEL POLEN (27)

La mayoría de las investigaciones realizadas sobre la proteína del polen han sido enfocadas en relacionar la composición nutricional del polen con el crecimiento de la colonia (punto de vista zootécnico) más que en su calidad como alimento para humanos.

Sin embargo, es posible encontrar algunas investigaciones en las cuales la calidad y la biodisponibilidad de las proteínas han sido estudiadas (Bell, 1983; Human y Nicolson, 2006; Quicazán, Parra, Tobón y Arango, 1990; Fernandez, da Silva, 2000; Herbert y Shimanuki, 1978). Human y Nicholson (2006) señalan que la composición de aminoácidos puede definir el valor nutricional del polen más adecuadamente que el contenido de proteína; esta afirmación es válida; teniendo en cuenta que, como se mencionó antes en este documento, la capacidad del organismo para metabolizar la proteína está fuertemente influenciado por el perfil de aminoácidos esenciales, tanto en humanos como en abejas (Cook et al, 2003).

Usualmente los perfiles de aminoácidos de los pólenes en general muestran que estos tienen todos los aminoácidos esenciales en relativamente buena proporción, en algunos casos la falta de algún aminoácido puede generar un valor bajo de puntaje de aminoácidos, limitando su uso como única fuente de proteína; esto, al igual que otros factores de la composición física depende en gran medida del origen botánico.

1.8.9 VALOR TERAPÉUTICO

El polen de abeja ha sido comercializado como un estimulante energético y algunas veces es utilizado por los atletas con la creencia de que éste aumentará el rendimiento durante las competencias. Sin embargo, no existe evidencia real de que el polen de abeja sea efectivo y alguna evidencia de que no lo sea. (61)

El polen se utiliza para combatir las siguientes afecciones:

- Anorexia.
- Estrés, nerviosismo, irritación, depresiones habituales, depresiones de otoño-invierno, depresiones post-parto.
- Presenta un efecto reconstituyente y remineralizante para los niños así como para las mujeres embarazadas o lactantes, tanto para las propias madres como para el feto o futuros bebés.
- Anemia.
- Malas digestiones, diarrea y estreñimiento.
- Casos de insuficiencia o debilidad hepática.
- Resfriado, gripe, anginas.
- Hiperplasia prostática benigna (próstata agrandada).
- Ayuda a mejorar algunos problemas del aparato genital masculino (falta de deseo sexual, impotencia).
- En las mujeres es útil para la frigidez.
- Cansancio ocular, degeneración macular, falta de visión nocturna, cataratas.
- Acné, arrugas, exceso de grasa en la piel. (62)

1.8.10 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL POLEN DE ABEJA. (38)

Pero actualmente se le reconoce al polen de abeja su principal beneficio antioxidante, siendo reconocido como el alimento entero con más alta concentración de antioxidantes, lo que lo hace una poderosa arma para combatir distintos tipos de cáncer, el envejecimiento, o cualquiera de los problemas de índole degenerativo que afectan a la salud humana, especialmente causados por la acción de los radicales libres.

Actualmente, este producto se comercia en forma de comprimidos, pastillas u otras presentaciones. Se puede consumir polen de abejas de forma natural si se adquiere a un apicultor, con lo cual estarías consumiendo el polen de abeja en una de sus variedades más puras y, por lo tanto, más beneficiosas.

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Bromatología (Facultad de Ciencias), Bromatología y Nutrición Animal (Facultad de Ciencias Pecuarias), Productos Naturales (Facultad de Ciencias), Química Instrumental (Facultad de Ciencias) y Laboratorio Clínico (Facultad de Ciencias), así como también en la planta de producción de la Empresa APICARE CIA. LTDA ubicada en la ciudad de Riobamba.

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MUESTRAS DE POLÉN

TABLA No. 6 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE LAS ZONAS APÍCOLAS

ZONAS APÍCOLAS	CARACTERÍSTICAS	MÉTODO RECOLECCIÓN	VEGETACIÓN
GATAZO	Esta zona se encuentra ubicada al oeste de la Provincia de Chimborazo, presenta una altitud de 3 193 m.s.n.m y una temperatura que oscila entre 13 a 15 °C.	En finas mallas colocadas en las colmenas de abeja.	<ul style="list-style-type: none">- <i>Cistus ladanifer</i> L.- <i>Capsella bursa-pastoris</i>- <i>Solanum tuberosum</i>- <i>Taraxacum officinale</i>- <i>Cyphomandra betacea</i>- <i>Chenopodium quinoa</i>- <i>Trifolium pratense</i>- <i>Brassica rapa</i> L.- <i>Zea mays</i>- <i>Borago officinalis</i>- <i>Medicago sativa</i>
PALACIO REAL	Palacio Real es una comunidad indígena		<ul style="list-style-type: none">- <i>Chenopodium quinoa</i>- <i>Pelargonium</i>

	kichwa Puruha, en la provincia de Chimborazo, está a una altura de 3 200 msnm., la temperatura está entre 15 y 18°C.	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Lupinus polyphyllus</i> - <i>Baccharis latifolia</i> - <i>Retama sphaerocarpa L.</i> - <i>Medicago sativa</i>
NITILUIZA	Zona ubicada al oeste de la Provincia de Chimborazo, presenta una altitud promedio de 3 056 m.s.n.m y una temperatura entre 12 a 16 °C.	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Medicago sativa</i> - <i>Fourcroia mercadilla</i> - <i>Chenopodium quinoa</i> - <i>Lupinus polyphyllus</i>
CHAMBO	Zona presente al noroeste de la Provincia de Chimborazo, con una altitud entre 2 400 y 4 730 m.s.n.m y una temperatura promedio de 14 °C.	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Trifolium pratense</i> - <i>Rubus ulmifolius</i> - <i>Taraxacum officinale</i> - <i>Brassica rapa L.</i> - <i>Lupinus polyphyllus</i> - <i>Verbena officinalis</i> - <i>Passiflora tarminiana</i> - <i>Cyphomandra betacea</i>
VIRGEN DE FÁTIMA	Se encuentra ubicada al este de Guayaquil, en el Km 26 de la carretera Durán – Tambo, presenta una altitud promedio de 17 m.s.n.m, y una temperatura entre 22 y 25 °C.	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Zea mays</i> - <i>Rosa gallica</i> - <i>Ocimum basilicum</i> - <i>Quercus petraea</i> - <i>Laurus nobilis</i> - <i>Tectona grandis</i> - <i>Citrus sinensis</i> - <i>Mangifera indica L</i>

2.2.2 MATERIALES DE LABORATORIO

- Mortero
- Pistilo
- Capsulas
- Pinza para capsula
- Reverbero
- Pizeta
- Malla
- Frascos de plástico.
- Espátula
- Pera de succión
- Crisoles de Gooch
- Kitasato Embudo Buchnner
- Mangueras
- Vidrio Reloj
- Tubos de Ensayo
- Pinzas para tubos
- Gradilla
- Cronometro
- Pipetas graduadas de 1, 5, 10 y 25 ml.
- Puntas plásticas para pipeta

- Bureta de 25 y 50 ml
- Soporte Universal
- Pinza para Bureta
- Pinzas Universales
- Termómetro
- Papel Filtro
- Papel Aluminio
- Cuchillo
- Goteros
- Toallas Absorbentes
- Canasta
- Olla de Acero inoxidable
- Vasos de Precipitación de 50, 100, 250 y 1000 ml
- Frascos Ambar de 50 ml.
- Placas portaobjetos
- Vaso de Berzellius
- Varilla de agitación
- Erlenmeyer de 50, 100, 250 y 500 ml.
- Picnómetro de 10 ml
- Balones de Kjeldhal de 800 ml
- Trípode
- Probetas de 10, 25, 50 y 100 mL.
- Crisoles
- Embudo de vidrio
- Balones aforados de 50, 100 y 250 mL.
- Micropipetas automáticas de 100 y 500 μ L.

2.2.3 EQUIPOS

- Balanza Analítica ADAM
- Mufla VULCAN y SNOL
- Equipo de MACROKJELDHAL
- Extractor de Fibra LABCONCO
- Ph metro HANNA INSTRUMENT
- Centrifuga CLAY ADAMS
- Baño de Ultrasonido BRANSON 2510
- Bomba
- Refrigeradora DUREX
- Estufa MEMMERT
- Cámara Extractora de Gases MEMMERT
- Extractor de Grasa LABCONCO
- Refractómetro BAUSCH y LOMB
- Espectrofotómetro PERKIN ELMER LAMBDA EZ 201 y HELYOS β
- Cámara DUREX
- HPLC SHIMADZU SIL- 10Ai
- Microscopio
- Cámara SONY

2.2.4 REACTIVOS

- Agua Destilada
- Ácido Bórico al 4%
- Hidróxido de Sodio al 40%, 50%, 0,1 N, 5%, 1 M
- Indicador Mixto (Rojo de metilo y verde de bromocresol)
- Alcohol Amílico
- Solución de Fehling A y B
- Solución Indicadora de Azul de Metileno al 1%
- Ácido Ascórbico
- Agua Bidestilada
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Baljet
- Anhídrido acético
- Tricloruro de Hierro al 5%
- Quercetina
- Ácido Fórmico
- Nitrato de Sodio al 5%
- Rutina
- Ácido Gálico
- Ácido Acético 0,2 M
- Catecol
- Solución Indicadora de Fenolftaleína
- Ácido Sulfúrico Concentrado, 0,3 M, 10%
- Ácido Clorhídrico 1 N, 10%
- Sulfato de Cobre e Hidróxido de Sodio
- Hexano
- Etanol al 96%, 70%
- Solución de Carrez 1 y 2
- Vitamina C
- Ácido Fosfórico 0,5 M
- Reactivo Dragendorf
- Reactivo de Wagner
- Cloroformo
- Carbonato de Sodio 20%
- Magnesio metálico
- Acetona
- Vainillina al 1%
- Tricloruro de Aluminio al 10%
- Reactivo de Folin Cioucalteau
- Enzima PPO
- Acetato de Sodio 0,2 M
- Dimetilsulfoxido

2.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.3.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL POLEN

2.3.1.1 Características Organolépticas

Se ha determinado en base a la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04. (23)

2.3.2 DETERMINACIÓN DEL VALOR NUTRITIVO DEL POLÉN

2.3.2.1 Determinación de Humedad

La Humedad se determino aplicando el Método de desecación en Estufa de aire caliente a 105°C, en base al Método de Wende. (1)

2.3.2.2 Determinación de Cenizas Totales

Las Cenizas se determino aplicando el Método de Incineración en Mufla a 550°C, en base al Método de Wende. (1)

2.3.2.3 Determinación de Proteína

Las Proteínas se determino por el Método de Macro Kjeldhal, en base al Método de Wende. (1)

2.3.2.4 Determinación de Extracto Etéreo

El Extracto Etéreo se determino por el Método de Goldfish. (1)

2.3.2.5 Determinación de Fibra

La Fibra se determino por el Método de Wende. (1)

2.3.2.6 Determinación de Extracto Libre No Nitrogenado

El Extracto Libre No Nitrogenado se determino por el Método de Wende. (1)

2.3.2.7 Determinación de Azúcares Reductores

Los Azúcares Reductores se determinaron por el Método de Fehling (Oxidoreducción), en base a Wende. (1)

2.3.2.8 Determinación de pH

El pH se determino por el Método Potenciométrico en base a Wende. (1)

2.3.2.9 Determinación de Acidéz

La Acidéz se determino por el Método Potenciométrico en base a Wende. (1)

2.3.2.10 Determinación de Vitamina C

Para este ensayo se utilizó el método: Cromatografía líquido de alta resolución (HPLC).

1. Fundamento

En esencia, la fase móvil líquida (constituida por un disolvente adecuado que lleva a la muestra) se bombea a través de un sistema de separación compuesto por un prefiltro y una columna, esta última conteniendo la fase estacionaria, a una elevada presión. Por su distinta interacción entre las dos fases, la muestra es retenida con variable intensidad, eluyendo separada de la columna.

2. Condiciones: 5 µm 120 A° (4.6 *150 mm)

- Columna DIONEX C18

- Flujo 1mL/min
- Detector UV/visible
- Fase móvil H₃PO₄ 0.05 M

3. Preparación del estándar de Vitamina C

- Pesar 0.0025 g de Ácido ascórbico estándar.
- Luego aforar a 50 mL con ácido fosfórico 0.05M grado HPLC (Solución Estándar de Vitamina C 50 ppm).
- Tomar una alícuota de 1mL y aforar a 10mL (solución de trabajo de 5 ppm)
- Filtrar el sobrenadante con acrodiscos de membranas.
- Colocar en vial de vidrio para su inyección.

4. Extracción del principio activo de las muestras de polen

- Pesar exactamente 0.5 g de la muestra.
- Aforar a 10 mL con ácido fosfórico 0.05 M grado HPLC
- Colocar por 10 minutos en el ultrasonido.
- Filtrar mediante papel filtro.
- Filtrar el sobrenadante con acrodiscos de membranas.
- Colocar en vial de vidrio para su inyección.

5. Cuantificación de Vitamina C

$$\text{Concentración de Vitamina C} = \frac{A.M \times C.E \times F.D}{A.E.}$$

Donde:

A.M = Área de la muestra

A.E = Área del Estándar

C.E = Concentración del Estándar

F.D = Factor de dilución

2.4 CONTROL DE CALIDAD DEL POLEN COMO DROGA SECA (22)

2.4.1 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

Se determino las Cenizas Solubles en Agua en base a las Normas Ramales NRSP 312.

2.4.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

Se determino las Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico en base a las Normas Ramales NRSP 312.

2.5 ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTO ETANÓLICOS (20)

2.5.1 OBTENCION DE LOS EXTRACTOS

- Para la elaboración de los extracto se utilizó el proceso de maceración de las muestras, para ello se procedió a pesar 10 g de cada muestra y se añadieron 100 mL de etanol al 70 % (extracto al 10 % en p/v).
- Estos extractos se dejaron en reposo en ausencia de luz y con agitación diaria por el lapso de 48 horas.
- Se filtraron los extractos y se guardaron en frascos ámbar para protegerlos de la acción de la luz.

2.5.2 DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

Se determinaron los requisitos organolépticos en base a las Normas Ramales NRSP 313.

2.5.3 DETERMINACIÓN DE DENSIDAD RELATIVA

Se determino la densidad relativa de los extractos en base a las Normas Ramales NRSP 313.

2.5.4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Se determino el Índice de Refracción de los extractos en base a las Normas Ramales NRSP 313.

2.5.5 DETERMINACIÓN DEL pH

Se determino el pH de los extractos en base a las Normas Ramales NRSP 313.

2.5.6 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

Se determinaron los Sólidos Totales de los extractos en base a las Normas Ramales NRSP 313.

2.5.7 TAMIZAJE FITOQUÍMICO (20) (21) (22)

1. FUNDAMENTO

El estudio fitoquímico tiene como finalidad aislar e identificar los diferentes tipo de compuestos que biosintetiza la planta (los que podrá tener o no alguna actividad o toxicidad).

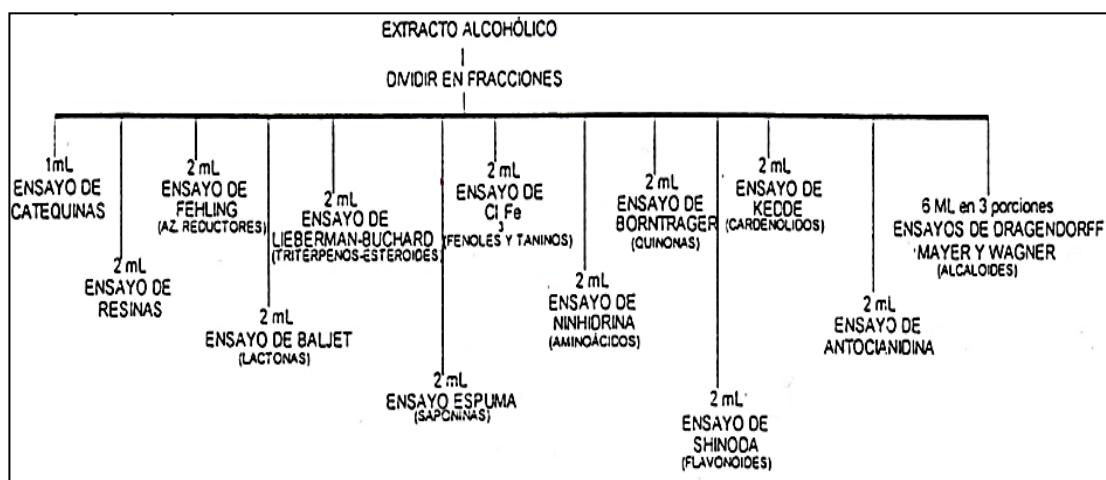


FIGURA No.7 ESQUEMA DE LAS REACCIONES A REALIZAR EN EL EXTRACTO ALCOHÓLICO.

FUENTE: NORMAS RAMALES MINSAP 1992.

2. PROCEDIMIENTO

Se aplicaron solo las pruebas destinadas a la determinación de Metabolitos presentes en el extracto alcohólico en base a las técnicas descritas en la TABLA No. 6.

TABLA No. 7 TÉCNICAS PARA EL TAMIZAJE FITOQUÍMICO.

Ensayo	Metabolito	Procedimiento	Resultado
Dragendorff	Alcaloides.	Si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse, en un baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo.	Si hay opalescencia se considera (+) turbidez definida (++) , precipitado (+++).
Wagner y Mayer		Se parte de igual manera en los casos anteriores de la solución acida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo.	
Baljet	Lactonas.	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1mL). En estas condiciones se adiciona 1mL de reactivo.	La aparición de una coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.
Borntrager	Quinonas.	Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.	Si la fase acuosa alcalina se colorea de rosado o rojo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o esteroides.	Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.	1. Rosado 2. Verde intenso – visible 3. Verde oscuro – negro
Catequinas	Catequinas	Tome una gota de la fracción alcohólica, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio.	Verde carmelita a la luz UV.

Fehling	Azúcares Reductores.	Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1–2 mL de agua. Se adicionan 2mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5–10 min la mezcla.	Solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.
Cloruro Férrico	Compuestos fenólicos y/o taninos.	Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica a una alícuota del extracto alcohólico se adiciona el reactivo.	Coloración rojo – vino, verde intenso, azul.
Shinoda	Flavonoides.	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.	Cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.
Antocianidinas	Estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides.	Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases.	La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica.
Resinas	Resinas.	Adicione a 2mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada.	Precipitado.
Espuma	Saponinas.	Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5–10 min.	Si aparece espuma en la superficie del líquido.

2.5.8 ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS PARTÍCULAS DEL POLEN

1. Fundamento

La mayoría de las células y las bacterias son demasiado pequeñas para ser vistas a simple vista. Para estudiarlas y describirlas, los biólogos utilizan el microscopio. Los microscopios compuestos de luz enfocan los rayos de luz visible para formar una imagen real ampliada.

2. Procedimiento

- Coloca una muestra triturada en la placa portaobjetos visionado al microscopio.
- Mirar a través del ocular del microscopio para ver la muestra preparada con el lente de 10x y 40 x.
- Finalmente observamos la muestra.

2.5.9 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT)

2.5.9.1 Análisis Cromatográfico del marcador químico Flavonoides Totales expresados como porcentaje de Quercetina (TLC).

1. Fundamento

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte con 2 fases, la fase móvil es líquida y la fase estacionaria en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares.

2. Procedimiento

- Se preparan la mezcla de Sílica gel en un vaso de precipitación.
- Esparcimos la sílica gel en una placa de vidrio limpia y seca, procurando una distribución homogénea por toda la superficie de la placa.
- Colocamos la placa de sílica en la estufa por el lapso de 1 hora para su activación.
- Retiramos las placas de la estufa y esperamos a que se enfríen.
- Se preparó el sistema de solventes para el corrido en la siguiente relación: Cloroformo - Acetona - Ácido fórmico (75:16,5:8,5 en v/v) en relación a 30 mL, y se colocó en una cuba de vidrio.

- Las gotas de los extractos se colocaron sobre la placa a 1 cm de distancia del borde inferior con la ayuda de capilares, esperando que las manchas se sequen se repite el procedimiento por 3 a 4 veces, evitando que se mezclen.
- Se introdujo la placa dentro de la cuba y se dejó correr el sistema de solventes hasta que alcancen las $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Se retira la placa de la cuba y esperamos a que se sequen por 5 minutos.
- Preparamos el equipo para el revelado de las placas, encendemos la bomba y la conectamos al aspersor con la salida adecuada de aire para que el revelador sea expulsado en la cantidad suficiente.
- Colocamos la placa en la cámara extractora de gases y rosemos la vainillina al 1 % a una distancia adecuada evitando que se dañe la placa y esperamos hasta que se seque.
- Roseamos el ácido sulfúrico al 10 % a una distancia adecuada y esperamos a que se seque la placa.
- Colocamos la placa en el reverbero a temperatura baja y esperamos a que las manchas resalten por acción del calor.
- Procedemos a medir la distancia de recorrido del sistema de solventes y de cada mancha desde el centro de la misma hasta el origen de la misma.

3. Cálculos

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por los solventes}}$$

2.5.9.2 Cuantificación de Flavonoides Totales (Método del AlCl_3)

1. Fundamento

El AlCl_3 anhidro forma quelatos con flavonoides orto-dihidroxiados, 3-hidroxiados y 5-hidroxiados en medio básico (FIGURA No. 8). Estos quelatos presentan una coloración rosada indicando la presencia de flavonoides. Los valores de flavonoides totales son expresados en valores de mg del flavonoide empleado como estándar equivalente por gramo de muestra.

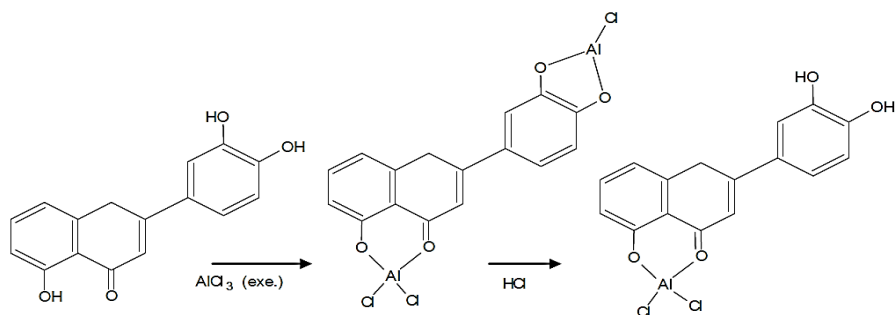


FIGURA No. 8 REACCIÓN DE QUELACIÓN DEL IÓN Al^{3+} CON LOS FLAVONOIDES.

FUENTE: MARKHAM, 1968.

2. Procedimiento

Se realizó el ensayo en los extractos siguiendo el siguiente esquema:

TABLA No. 8 ESQUEMA DE REACTIVOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES POR EL MÉTODO DEL $AlCl_3$.

Reactivos		Volumen (μL)
Muestras (Extractos de Polen por zonas)	Gatazo	500
	Palacio Real	
	Nitiluzia	
	Chambo	
	Parróquia Virgen de Fátima	
Agua	400	
$NaNO_2$ al 5 %	38	
Reposo cerrado a Temperatura ambiente por 5 minutos.		
$AlCl_3$ al 10 %	38	
Reposo cerrado a Temperatura ambiente por 6 minutos.		
$NaOH$ 1 M	250	
Agua	24	

La absorbancia de la reacción fue medida a una longitud de onda de 510 nm.

3. Cálculos

La concentración de Flavonoides totales fue establecida mediante una curva de calibración de Rutina a concentraciones que fueron desde 20 a 100 ppm, aplicando el

mismo esquema de preparación de las muestras. Se determinó la ecuación de la recta para la curva de calibración en base al estándar de Rutina preparado a diferentes concentraciones medidas a 510 nm y obteniendo la siguiente ecuación para la recta:

TABLA No. 9 ECUACIÓN DE LA RECTA OBTENIDA PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ESTÁNDAR DE RUTINA PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FLAVONOIDES TOTALES.

Concentración de Rutina (ppm)	Ecuación de la Recta	R ²	R
20 - 100	$y = 0,0106x - 0,0093$	1	1

2.5.9.3 Cuantificación de Compuestos Fenólicos (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)

1. Fundamento

Los compuestos fenólicos son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y el ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se reduce por oxidación de los fenoles, originando óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}), de color azul. La coloración azul producida es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes, y posee una absorción máxima a 765 nm.

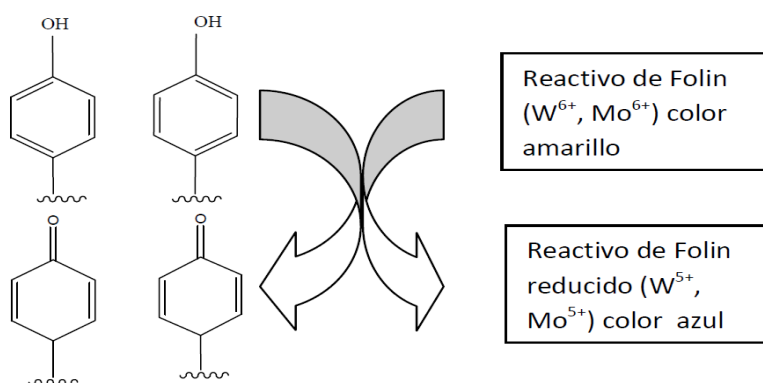


FIGURA No. 9 REACCIÓN DE FOLIN-CIOCALTEAU.

2. Procedimiento

- Se realizó el ensayo en los extractos siguiendo el siguiente esquema:

TABLA No. 10 ESQUEMA DE REACTIVOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR EL MICROMÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEAU.

Muestras	Zonas Apícolas	Extracto	Agua	Folin-Ciocalteau	Carbonato de Sodio al 20 %
Volumen (µL)					
Polen	Gatazo	100	5 000	500	2 000
	Palacio Real	100			
	Nitiluiza	100			
	Chambo	100			
	Parróquia Virgen de Fátima	100			

- Se aforó a 10 mL con agua destilada y se dejó en reposo por 30 minutos, en oscuridad.
- Se realizó la lectura de la absorbancia a 765 nm.

3. Cálculos

La concentración de Compuestos Fenólicos Totales se determinó mediante la elaboración de 1 curva de calibración usando el ácido gálico como estándar de referencia, se prepararon soluciones en concentraciones de 500, 800, 1 100 y 1 400, 1 700 y 2 000 ppm y se aplicó el mismo esquema que en la preparación de las muestras (ANEXO No.11). Se determinó la ecuación de la recta para la curva de calibración en base al estándar de ácido gálico preparado a diferentes concentraciones medidas a 765 nm y obteniendo las siguientes ecuaciones para la recta:

TABLA No. 11 ECUACIONES DE LA RECTA OBTENIDAS PARA LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DEL ESTÁNDAR DE ÁCIDO GÁLICO PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES.

Concentración de ácido Gálico (ppm)	Ecuación de la Recta	R ²	R
500 – 2 000	$y = 0,0008x + 0,1921$	0,9982	0,9991

2.5.9.4 Ensayo de la Capacidad Antioxidante según el Método Enzimático de Inhibición de la Polifenoloxidasas

1. Fundamento

Los métodos disponibles para determinar la susceptibilidad de pardeamiento son la espectrometría de absorción o métodos de reflectancia. Las técnicas de absorción involucran la medida espectrofotométrica sobre soluciones obtenidas después de separar los tejidos y remover los sólidos. Tales medidas estiman los pigmentos solubles y suelen estar presentes cerca de 400 nm, correspondientes a la absorción máxima del Catecol. La medida de los pigmentos polimerizados y solubles unidos a membranas puede ser evaluada por medidas de reflectancia sobre la fracción insoluble.

2. Procedimiento

a. BÚFFER

- Se preparó el búffer de acetato de sodio/ácido acético glacial a un pH 7, las 2 soluciones de acetato de sodio y ácido acético se prepararon por separado a una concentración de 0,2 M.
- *ÁCIDO ACÉTICO 0,2 M* (Solución A): Se aforó 11,55 mL de ácido acético (CH_3COOH) hasta 1 L con agua destilada.
- *ACETATO DE SODIO 0,2 M* (Solución B): Se diluyó 16,41 g de acetato de sodio anhidro (CH_3COONa) en 1 L de agua destilada.
- Se mezclaron las 2 soluciones y se aforaron a 100 mL con agua destilada para obtener el pH de 7 en base al siguiente esquema:

TABLA No. 12 ESQUEMA PARA LA ELABORACIÓN DEL BÚFFER ACETATO DE SODIO/ÁCIDO ACÉTICO A PH 7.

mL Solución A	mL Solución B	pH
1	175	7

- El búffer se mantuvo en refrigeración a una temperatura de -6°C hasta su utilización.

b. SUSTRATO

- Se usó como sustrato una solución de Catecol 0,5 M preparado en el búffer, pesando exactamente 0,275 2 g de Catecol (PM = 110,06 g/mol).
- Se diluyó en 5 mL de búffer acetato de sodio/ácido acético, cantidad que es suficiente para los ensayos.
- Cabe destacar que el Catecol se preparó para cada análisis ya que se degrada fácilmente por factores ambientales tales como la luz y el oxígeno del aire.

c. EXTRACTO ENZIMÁTICO

- Se homogenizó 10 g de pulpa de manzana (variedad chilena [*Red delicious*]), mantenida en refrigeración de 4 a 14 °C en 20 mL de búffer acetato de sodio/ácido acético frío, dentro de un mortero colocado en baño de hielo.
- Se filtró en un embudo frío con algodón y se recolectó en tubos de ensayo fríos que se taparon.
- Se guardó el extracto enzimático en refrigeración hasta su utilización.

d. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA POLIFENOLOXIDASA

- En la celda limpia y seca del espectrofotómetro se agregaron 2 400 µL del búffer preparado.
- Se añadió 300 µL de la solución de Catecol.
- Añadimos 300 µL del extracto enzimático descongelado en baño de hielo, mezclamos e inmediatamente introducimos en el espectro y medimos el aumento en la absorbancia a 420 nm por 4 minutos en intervalos de 30 segundos.
- Este proceso se repitió al minuto, a los 30 minutos, 60 minutos y 2 horas.
- Calculamos la actividad de la enzima con base a la pendiente de la proporción lineal de la curva Absorbancia vs Tiempo.

e. MUESTRAS A ENSAYAR

- Las muestras se prepararon a 3 diferentes concentraciones 10 000 ppm, 1 000 ppm y 100 ppm, de modo que al ser agregadas las otras soluciones las concentraciones finales fueron de 1 000, 100 y 10 ppm.
- Se pesó 0,05 g de extracto (muestra) en un balón de aforo de 10 mL limpio y seco y se diluyó con 5 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO), dando como resultado una solución de concentración a 10 000 ppm.
- Se realizaron diluciones al décimo para obtener las soluciones a 1 000 y 100 ppm con el búffer.

f. ANTIOXIDANTE ESTÁNDAR (VITAMINA C)

- Se usó la vitamina C como agente antioxidante positivo preparada a las mismas concentraciones que las muestras a ensayar (10 000, 1 000 y 100 ppm).
- Se diluyó 0,05 g de vitamina C en 5 mL de búffer obteniendo la solución a 10 000 ppm, se realizaron diluciones al décimo para obtener las otras concentraciones a 1 000 y 100 ppm.

g. MEDIDA DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

- Se aplicó el siguiente esquema para medir la capacidad antioxidante:

TABLA No. 13 ESQUEMA PARA EL ENSAYO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.

Muestras	Blanco	1 000 ppm	100 ppm	10 ppm	Vitamina C
Reactivos	Volumen (mL)				
Búffer	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1
Sustrato	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Muestra	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3*
Extracto Enzimático	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

***Se debe usar 0,3 mL de DMSO en el Estándar de Vitamina C.**

- Se encendió el espectrofotómetro UV con el búffer acetato.

- La adición del búffer, el sustrato, la muestra y las enzimas se realizó en un balón de 10 mL, la reacción se dio inicio mediante la adición del extracto enzimático y se comenzó a leer inmediatamente la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm.
- Se anotó las lecturas de la absorbancia cada 30 segundos desde el comienzo del ensayo hasta que hayan transcurrido 120 segundos obteniéndose 4 lecturas de absorbancia.
- Se leyó primero el blanco, luego las diluciones de las muestras desde la menor a la mayor concentración, finalmente la vitamina C como testigo positivo.
- Se repitió este procedimiento por 2 ocasiones en cada muestra en ensayo.
- Se consideró como inhibición nula la absorbancia correspondiente al blanco, en el que las enzimas actuaron libremente sobre el Catecol. Asimismo, se tomó como inhibición absoluta la que presenta la cubeta con el antioxidante de poder previamente probado.
- El porcentaje de inhibición se determinó relacionando la lectura del blanco con la lectura de cada uno de los extractos.

3. Cálculos

$$\% \text{ INHIBICIÓN} = \frac{\Delta A_{420 \text{ nm BLANCO}} - \Delta A_{420 \text{ nm MUESTRA}}}{\Delta A_{420 \text{ nm BLANCO}}} \times 100$$

Siendo:

$\Delta A_{420 \text{ nm}}$ = Diferencia entre la absorbancia final e inicial a 420 nm.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación a través de métodos cualitativos y cuantitativos determinaremos la caracterización nutracéutica y la actividad antioxidante de las diferentes muestras de polen comercializada en la empresa APICARE CIA. LTDA de la ciudad de Riobamba, los resultados presentados son el promedio de tres repeticiones.

En este capítulo se expondrán en cuadros los datos experimentales con una media de los valores obtenidos de cada uno de las determinaciones analizadas.

3.1 EVALUACION SENSORIAL

3.1.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Se evaluó parámetros de color, olor, sabor, textura utilizando los órganos de los sentidos, así como también su origen botánico y están representados en el siguiente cuadro:

CUADRO No. 1 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DE LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

ANÁLISIS	GATAZO	PALACIO REAL	NITILUIZA	CHAMBO	PARROQUIA VIRGEN DE FÁTIMA
COLOR	Variado según el origen botánico (Lila, Anaranjado, Amarillo, Verde, Habano).	Variado según el origen botánico (Anaranjado, Amarillo, Verde, Habano).	Variado según el origen botánico (Anaranjado, Amarillo, Verde, Habano).	Variado según el origen botánico (Lila, Anaranjado, Amarillo, Marrón).	Variado según el origen botánico (Anaranjado, Amarillo, Marrón, Habano).
OLOR	Característico, floral.	Característico, floral.	Característico, floral.	Característico, floral.	Característico, floral.

SABOR	Dulce y ligeramente amargo.	Dulce y ligeramente amargo.	Dulce y ligeramente amargo.	Dulce y ligeramente amargo.	Dulce.
TEXTURA	Granulosa y pulverizable al tacto.	Granulosa, y pulverizable al tacto.	Granulosa, y pulverizable al tacto.	Granulosa, y pulverizable al tacto.	Granulosa, y pulverizable al tacto.

En el Cuadro No. 1 se encuentran reportados los resultados obtenidos para la evaluación sensorial de las diferentes muestras de polen las cuales presentaron un color variado según el origen botánico (Lila, Anaranjado, Amarillo, Marrón, Verde, Habano) para las 5 zonas de origen del polen. El olor para las 5 muestras fue característico y floral para las 5 zonas. El sabor determinado fue dulce para las 5 zonas y ligeramente amargo exceptuando la zona de la parroquia Virgen de Fátima que no presentó un sabor amargo. La textura para las muestras de polen de las 5 zonas granulosa y pulverizable al tacto. Todos estos resultados obtenidos se asemejan a los reportados por la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04, por Vit, P. y col. (2008) en muestras de polen de Venezuela. (23) (17)

3.1.2 ESPECIFICACIONES FÍSICO – QUÍMICAS (NORMA SALVADOREÑA NSO 65.38.01:04) (23)

CUADRO No. 2 VALORES FÍSICO – QUÍMICOS DE LAS MUESTRAS DE POLEN Y COMPARACION CON LA NORMA SALVADOREÑA NSO 65.38.01:04.

MUESTRAS	GATAZO	PALACIO REAL	NITILUIZA	CHAMBO	PARROQUIA VIRGEN DE FÁTIMA	ESPECIFICACIÓN
HUMEDAD (%)	7,03%	7,13%	7,18%	6,69%	9,75%	4%
CENIZA (%)	3,37%	3,62%	2,88%	3,4%	2,7%	4%
PROTEINA (%)	26,31%	27,18%	25,31%	24,96%	23,93%	-
EXTRACTO ETÉREO (%)	1,84%	1,86%	1,44%	2,52%	3,5%	-
FIBRA (%)	2,4%	3,6%	3,8%	5,2%	5,47%	-
EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO (%)	59,05%	56,61%	59,39%	57,23%	54,65%	-
AZUCARES REDUCTORES (%)	60,92%	66,83%	75,67%	33,47%	34,76%	-
PH	4,93	5	5,05	5,7	5,79	DE 4 a 6
ACIDEZ (mEq/kg)	0,33 mEq/kg	0,31 mEq/kg	0,32 mEq/kg	0,38 mEq/kg	0,31 mEq/kg	300 mEq/kg
VITAMINA C (%)	0,169%	0,289%	0,593%	0,196%	0,895%	-

FUENTE: LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2013.

3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL POLEN

3.2.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

En el ANOVA para el porcentaje de Humedad indicado en el Cuadro No.13 nos indica que existe diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 3 grupos., en el grupo 1 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de Gatazo y Chambo., en el grupo 2 no hay diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Gatazo, Palacio Real y Nitiluiza y en el grupo 3 solo se encuentra la muestra de polen de la zona de la Parroquia Virgen de Fátima.

En el GRÁFICO No. 1 observamos que los resultados promedios obtenidos para la humedad fueron de 7,03% para el polen de la zona de Gatazo, 7,13% para la zona de Palacio Real, 7,18% para la zona de Nitiluiza, 6,69% para la zona de Chambo y de 9,75% para la Parróquia Virgen de Fátima. Estos resultados son mayores al máximo de 4% establecido por la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04 y también al valor encontrado de 5,82% por Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina y menores al rango determinado entre 14,88% y 17,93% por Vit, P. y col. (2008) en muestras de polen de Venezuela. (23) (10) (17)

Podemos decir también que la humedad del polen de la costa fue de 9,75% mayor que el resto de muestras, esto puede deberse ya que en la zona de la costa existe una mayor humedad en el ambiente lo que hace que el polen absorba parte de agua de la atmósfera y que las muestras de polen de Gatazo, Palacio Real y Nitiluiza presentan valores muy similares entre sí.

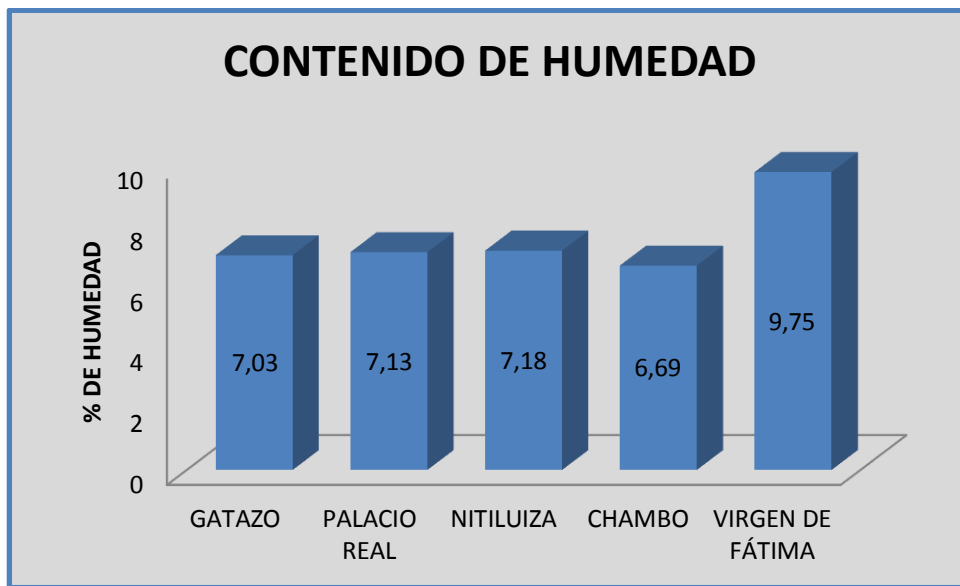


GRÁFICO No. 1 RELACION DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

En el Cuadro No. 14 se indica el ANOVA realizado para el porcentaje de cenizas, que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 4 grupos, en el grupo 3 se encuentran agrupados las muestras de polen de las zonas de Gatazo y Chambo entre las cuales no existe diferencia estadísticamente significativa, en este caso las demás muestras de polen son independientes y difieren estadísticamente del resto.

En el GRÁFICO No. 2 podemos observar que los resultados encontrados para cenizas fueron de 3,37% para el polen de la zona de Gatazo, 3,62% para la zona de Palacio Real, 2,88% para la zona de Nitiluiza, 3,4% para la zona de Chambo y de 2,7% para la Parróquia Virgen de Fátima y cumplen con lo establecido por la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04. Estos resultados son mayores al rango determinado entre 1,60% y 2,18% por Vit, P. y col. (2008) en muestras de polen de Venezuela y al valor encontrado de 2,47% por Fuenmayor, C. (2009) en muestras de polen de Colombia y se aproxima al valor de 3,04% por Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina. (23) (17) (27) (10)

El polen de la zona de Palacio Real fue el que presentó mayor porcentaje de cenizas pero podemos establecer que no existe una diferencia significativa entre los porcentajes determinados para cada zona.

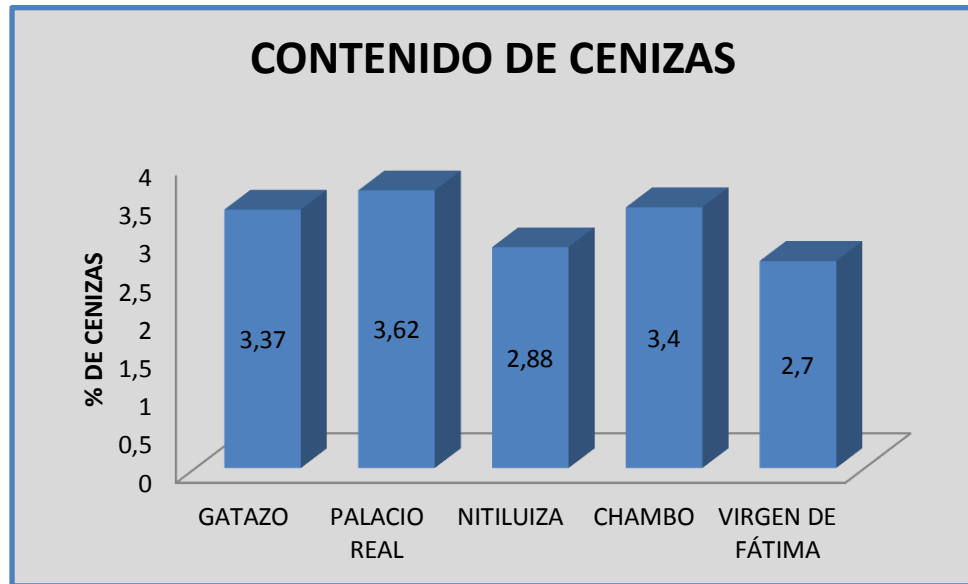


GRÁFICO No. 2 RELACION DEL CONTENIDO DE CENIZAS EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.3 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

En el ANOVA para el porcentaje de proteína representado en el Cuadro No. 15 nos muestra que existe diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0,000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 3 grupos, en el grupo 1 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de la Parroquia Virgen de Fátima y Chambo, en el grupo 2 no hay diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Chambo, Nitiluiza y Gatazo y en el grupo 3 no existe diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Gatazo y Palacio Real.

En el GRÁFICO No. 3 reportamos que los resultados analizados para proteína fueron de 26,31% para el polen de la zona de Gatazo, 27,18% para la zona de Palacio Real, 25,31% para la zona de Nitiluiza, 24,96% para la zona de Chambo y de 23,93% para la Parróquia Virgen de Fátima. Estos resultados están entre los rangos de 24,17% y 52,56%

establecidos por Vit, P. y col. (2008) en muestras de polen de Venezuela exceptuando la de la Parróquia Virgen de Fátima que es menor a estos valores, otros valores de proteína fueron los reportados por Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina con un valor de 24,03% y de 23,08% por Fuenmayor, C. (2009) en muestras de polen de Colombia. (17) (10) (23)

Se puede observar que el porcentaje de proteína de las muestras de polen de la sierra es mayor que el de la costa.

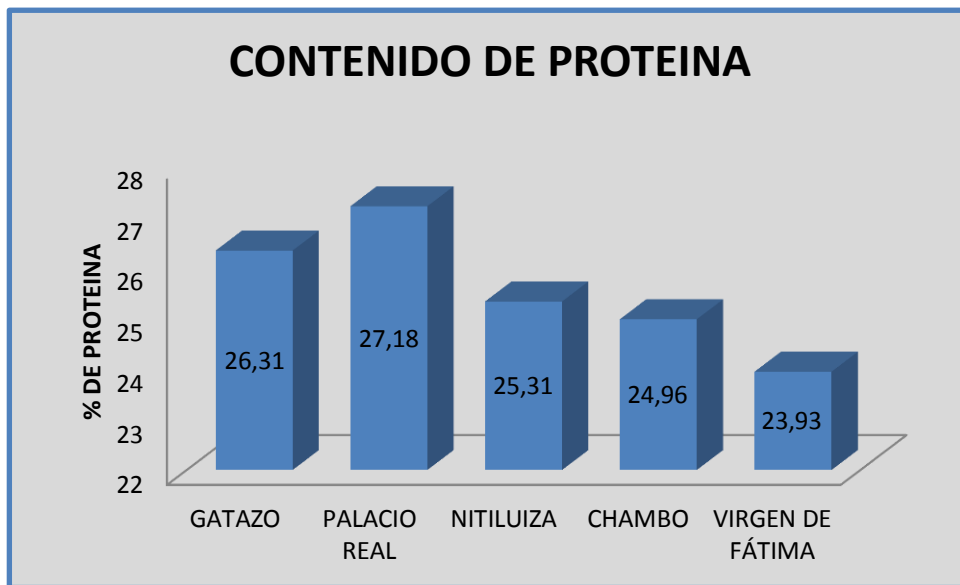


GRÁFICO No. 3 RELACION DEL CONTENIDO DE PROTEINA EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.4 DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO

En el Cuadro No. 16 se indica el ANOVA para el porcentaje de Extracto Etéreo que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 4 grupos, en el grupo 2 observamos que se encuentran agrupados las muestras de polen de las zonas de Gatazo y Palacio Real lo que nos indica que no existe diferencia significativa entre estas muestras, en este caso las demás muestras de polen son independientes y difieren estadísticamente del resto.

En el GRÁFICO No. 4 se pudo reportar que los resultados que se obtuvieron para grasa fueron de 1,84% para el polen de la zona de Gatazo, 1,86% para la zona de Palacio Real, 1,44% para la zona de Nitiluiza, 2,52% para la zona de Chambo y de 3,5% para la Parróquia Virgen de Fátima. Estos resultados se encuentran en los rangos de 1,73% y 5,37% indicados por Vit, P. y col. (2008) en muestras de polen de Venezuela y son menores a los valores determinados por Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina que son de 4,55% y de Fuenmayor, C. (2009) en muestras de polen de Colombia con un valor de 6,14%. (17) (10) (27)

Se puede decir que el polen de la costa tiene mayor contenido de grasa y que los valores de las zonas de Gatazo, Palacio Real y Nitiluiza se aproximan entre ellas.

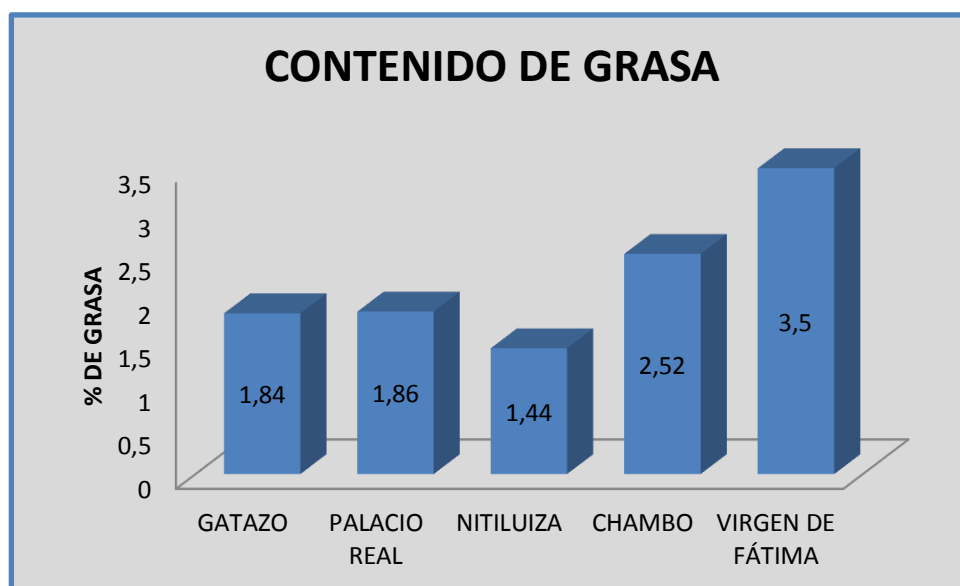


GRÁFICO No. 4 RELACION DEL CONTENIDO DE GRASA EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.5 DETERMINACION DE FIBRA

En el Cuadro No. 17 se indica el ANOVA para el porcentaje de Fibra que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 3 grupos, en el grupo 1 la muestra de polen de la zona de Gatazo es estadísticamente diferente al resto, en el grupo 2 no hay diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de

Palacio Real y Nitiluiza y en el grupo 3 no existe diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Chambo y la Parroquia Virgen de Fátima.

En el GRÁFICO No. 5 se puede observar que los resultados que se determinaron para fibra fueron de 2,4% para el polen de la zona de Gatazo, 3,6% para la zona de Palacio Real, 3,8% para la zona de Nitiluiza, 5,2% para la zona de Chambo y de 5,47% para la Parroquia Virgen de Fátima estos resultados son mayores a los reportados por Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina que son de 0,97% y menores a los reportados por Fuenmayor, C. (2009) en muestras de polen de Colombia con un valor de 7,6%. (10) (27)

Podemos decir que las muestras de polen de las zonas de Chambo y la Parroquia Virgen de Fátima podrían ser utilizados como buenos suplementos alimentarios por el alto contenido de fibra que presentan.

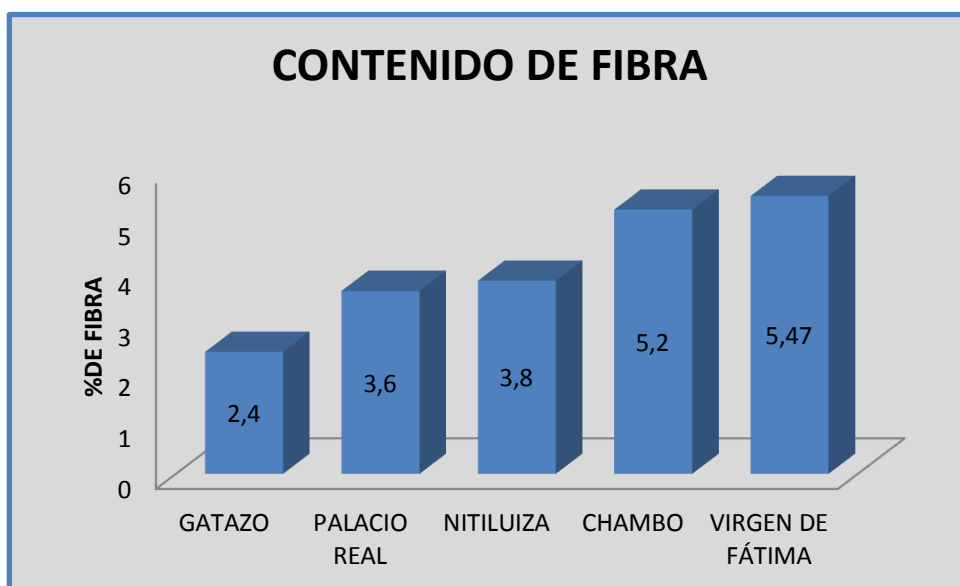


GRÁFICO No. 5 RELACION DEL CONTENIDO DE FIBRA EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.6 DETERMINACIÓN DE EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO

En el GRÁFICO No. 6 observamos que los resultados que se obtuvieron para el extracto libre no nitrogenado fueron de 59,05% para el polen de la zona de Gatazo, 56,61% para

la zona de Palacio Real, 59,39% para las zona de Nitiluiza, 57,23% para la zona de Chambo y de 54,65% para la Parróquia Virgen de Fátima.

Observamos que las muestras de polen de Gatazo y Nitiluiza tienen valores aproximados y que la que presenta menor extracto libre no nitrogenado es la de la Parróquia Virgen de Fátima.

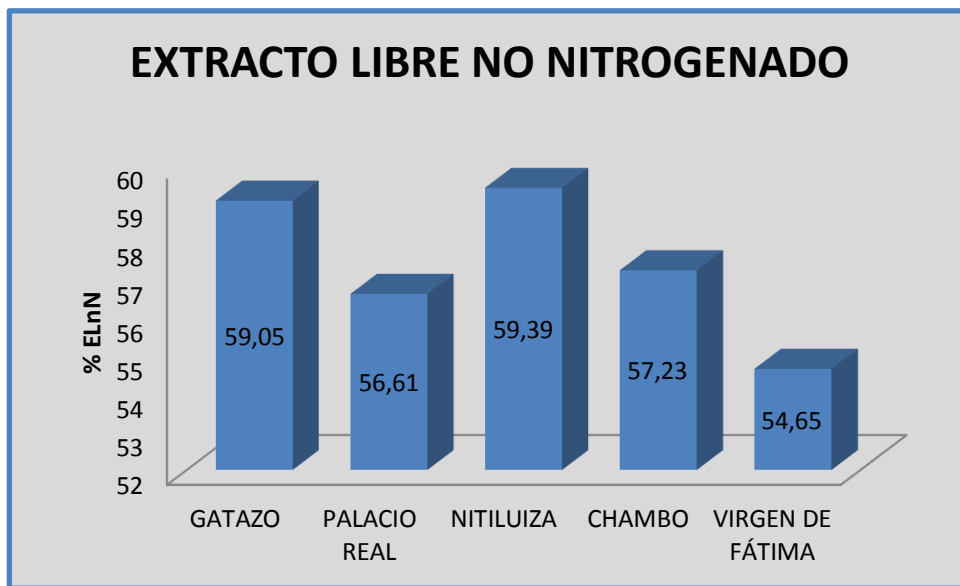


GRÁFICO No. 6 RELACION DEL CONTENIDO DEL EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.7 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES

En el ANOVA para el porcentaje de Azúcares representado en el Cuadro No. 18 nos indica que existe diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0,000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 4 grupos, en el grupo 1 se encuentran agrupadas las muestras de polen de las zonas de Chambo y la Parroquia Virgen de Fátima entre las cuales no existe diferencia estadísticamente significativa, en este caso las demás muestras de polen son independientes y difieren estadísticamente del resto.

En el GRÁFICO No. 7 reportamos que los resultados analizados para azúcares fueron de 60,92% para el polen de la zona de Gatazo, 66,83% para la zona de Palacio Real, 75,67%

para la zona de Nitiluiza, 33,47% para la zona de Chambo y de 34,76% para la Parróquia Virgen de Fátima otras investigaciones como las de Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina establecen valores entre 8,57% y 46,93% y también de Fuenmayor, C. (2009) en muestras de polen de Colombia con un valor de 42% mayores solo a los valores determinados en las muestras de polen de Chambo y Virgen de Fátima en tanto que los de las zonas de Gatazo, Palacio Real y Nitiluiza presentan mayor cantidad de azúcares lo que puede deberse a que en estas zonas existen mayor abundancia de flores dulces. (10) (27)

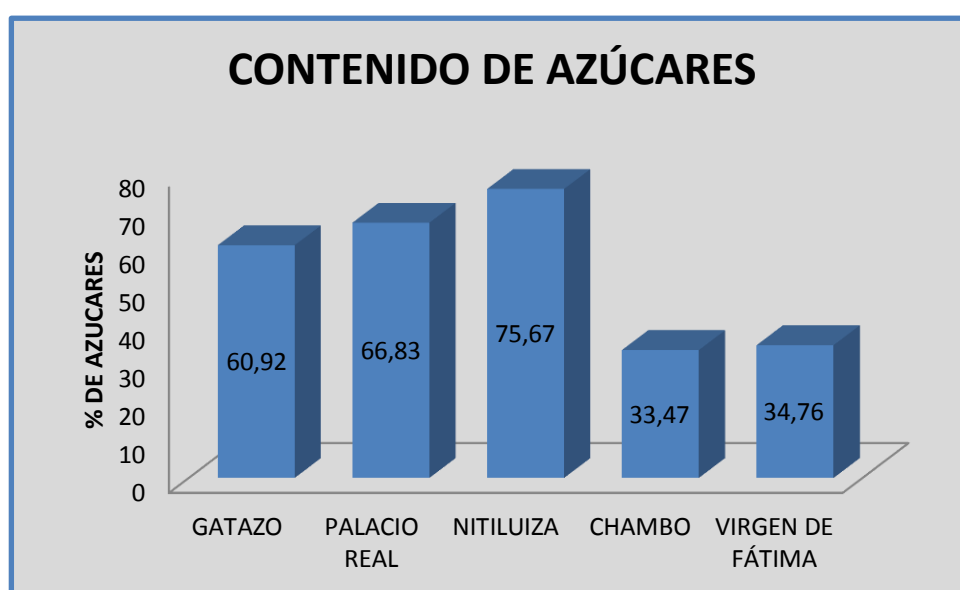


GRÁFICO No. 7 RELACION DEL CONTENIDO DE AZÚCARES EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.8 DETERMINACIÓN DE pH

En el Cuadro No. 19 se indica el ANOVA para el pH que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 2 grupos, en el grupo 1 observamos que no hay diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Gatazo, Palacio Real y Nitiluiza y en el grupo 2 se puede observar que no existe diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Chambo y la Parroquia Virgen de Fátima.

En el GRÁFICO No. 8 se puede observar que los resultados obtenidos para pH fueron de 4,93 para el polen de la zona de Gatazo, 5 para la zona de Palacio Real, 5,05 para la zona de Nitiluiza, 5,7 para la zona de Chambo y de 5,79 para la Parróquia Virgen de Fátima estos resultados están entre los rangos de 4 a 6 determinados por la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04, otras investigaciones son las de Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina que establece un valor de 4,85. (23) (10)

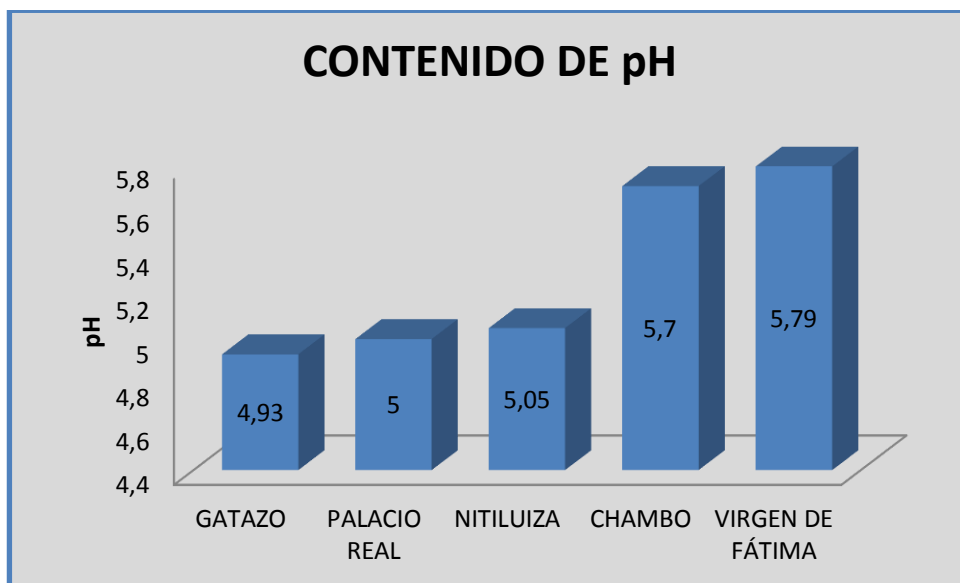


GRÁFICO No. 8 RELACION DEL CONTENIDO DE pH EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.9 DETERMINACIÓN DE ACIDÉZ

En el ANOVA para Acidéz representado en el Cuadro No. 20 nos muestra que existe diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0,021 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 2 grupos, en el grupo 1 observamos que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de la Parroquia Virgen de Fátima, Palacio Real, Nitiluiza y Gatazo, en el grupo 2 no hay diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Nitiluiza, Gatazo y Chambo.

En el GRÁFICO No. 9 reportamos que los resultados encontrados para acidéz fueron de 0,33meq/kg para el polen de la zona de Gatazo, 0,31 meq/kg para la zona de Palacio

Real, 0,32 meq/kg para la zona de Nitiluiza, 0,38 meq/kg para la zona de Chambo y de 0,31 meq/kg para la Parróquia Virgen de Fátima estos resultados son menores a los de la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04 con un valor de 300 meq/kg y de 248,84 meq/kg reportados por Fuenmayor, C. (2009) en muestras de polen de Colombia, con lo cual podríamos decir que el polen de las diferentes zonas aun se mantienen en estado de frescura. (23) (27)

El pH del polen húmedo es ligeramente mayor así como la acidez ligeramente menor, sugiriendo que posiblemente durante el manejo poscosecha el polen sí puede acidificarse, aunque levemente.

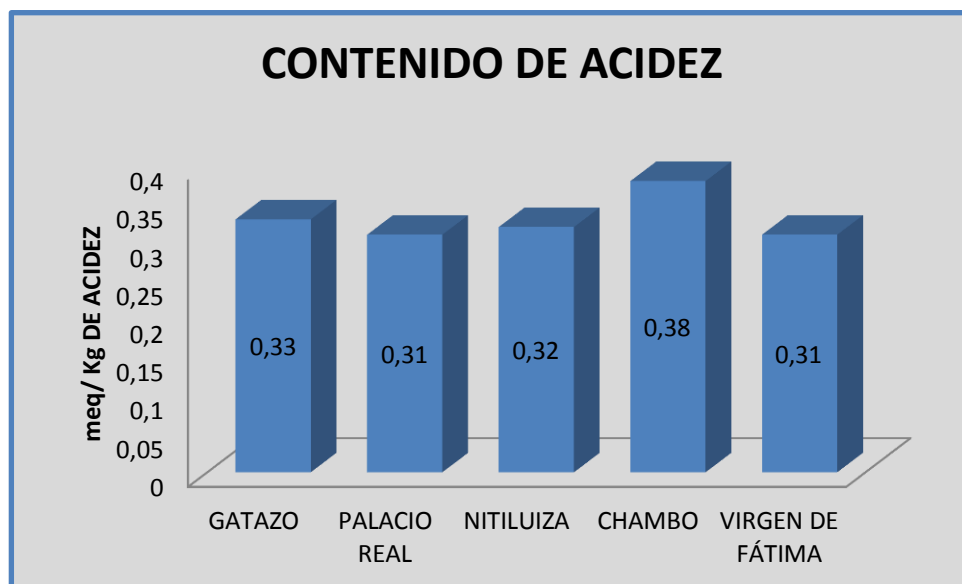


GRÁFICO No. 9 RELACION DEL CONTENIDO DE ACIDÉZ EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.2.10 DETERMINACIÓN DE VITAMINA C

En el Cuadro No. 21 se indica el ANOVA para el porcentaje de Vitamina C que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 3 grupos, en el grupo 1 observamos que se encuentran agrupadas las muestras de polen de las zonas de Gatazo, Chambo y la Palacio Real entre las cuales no existe diferencia

estadísticamente significativa, en este caso las demás muestras de polen son independientes y difieren estadísticamente del resto.

En el GRÁFICO No. 10 podemos observar que los resultados obtenidos para la Vitamina C fueron de 0,169% para el polen de la zona de Gatazo, 0,289% para la zona de Palacio Real, 0,593% para la zona de Nitiluiza, 0,196% para la zona de Chambo y de 0,895% para la Parróquia Virgen de Fátima estos resultados son menores a los analizados por Baldi, B. y col. (2004) en muestras de polen de Argentina que son de 4,1 mg/100g. (10)

Se observa que la muestra del polen de la costa tiene mayor cantidad de Vitamina C y una disminución de la Vitamina C puede deberse al tratamiento térmico al que fue sometida las muestras de polen para secarlas ya que según el autor Yufera, P. (2007), provoca pérdidas por el calor ya que la Vitamina C es termosensible. (5)

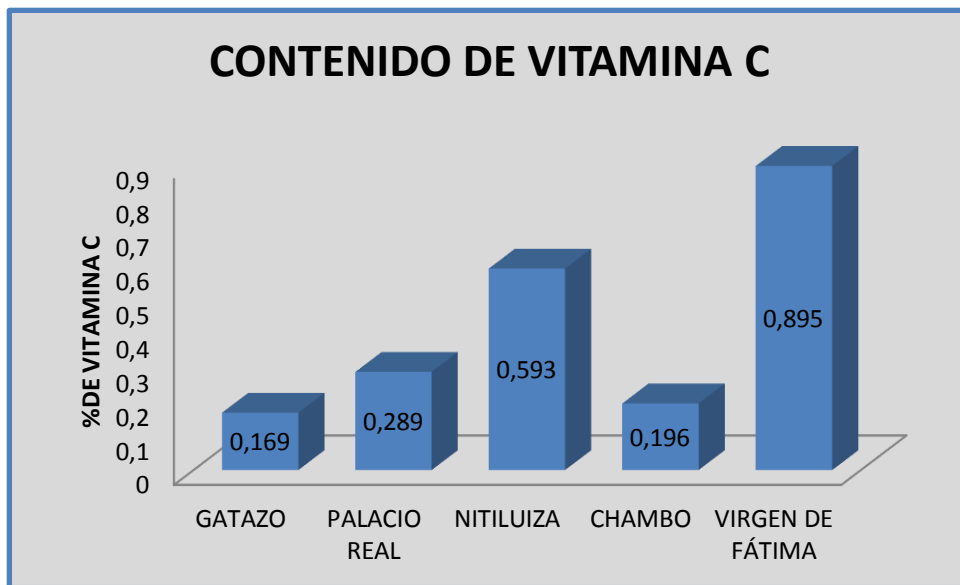


GRÁFICO No. 10 RELACION DEL CONTENIDO DE VITAMINA C EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

3.3 ANÁLISIS DEL POLEN COMO DROGA SECA

CUADRO No. 3 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA E INSOLUBLES EN HCl DE LAS MUESTRAS DE POLEN COMO DROGAS SECAS.

	GATAZO	PALACIO REAL	NITILUIZA	CHAMBO	PARROQUIA VIRGEN DE FATIMA
DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA (%)	1,22%	0,71%	1,19%	2,12%	1,74%
DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO (%)	1,4%	2,55%	0,87%	0,42%	0,25%

FUENTE: LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DEL 2013.

3.3.1 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

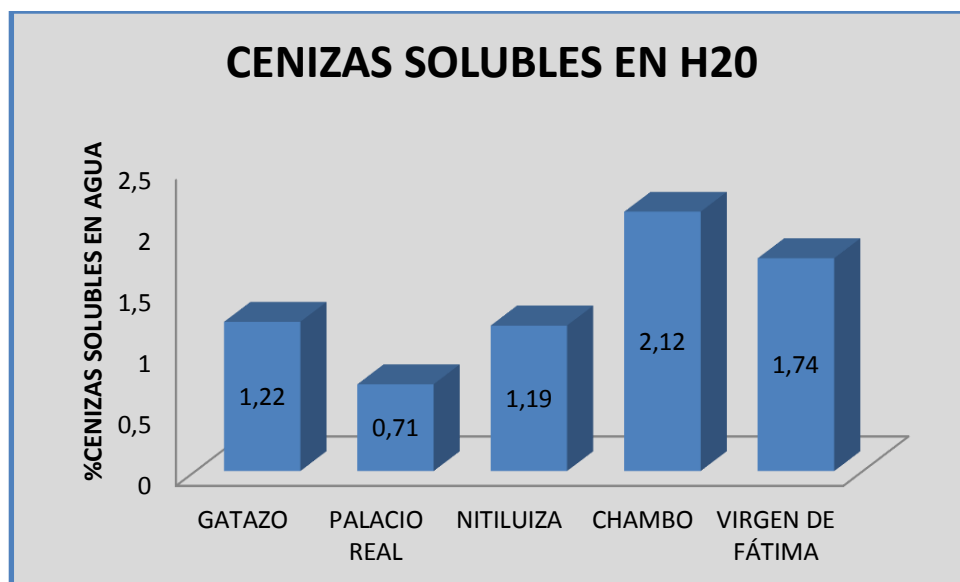


GRÁFICO N° 11 RELACION DE LA DETERMINACION DE LAS CENIZAS SOLUBLES EN AGUA EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

En el ANOVA para porcentaje de Cenizas Solubles en Agua representado en el Cuadro No. 22 nos indica que existe diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0,000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se

obtuvieron 3 grupos, en el grupo 1 la muestra de polen de la zona de Palacio Real es estadísticamente diferente al resto, en el grupo 2 observamos que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de Nitiluiza y Gatazo, en el grupo 3 no hay diferencia significativa entre las muestras de las muestras de polen de las zonas de la Parroquia Virgen de Fátima y Chambo.

En el GRÁFICO No. 11 reportamos que los resultados determinados para Cenizas Solubles en Agua fueron de 1,22% para el polen de la zona de Gatazo, 0,71% para la zona de Palacio Real, 1,19% para la zona de Nitiluiza, 2,12% para la zona de Chambo y 1,74% para la Parróquia Virgen de Fátima, la Zona de Chambo es la que presento mayor contenido de Cenizas solubles en agua, las zonas de Gatazo, Nitiluiza y la Parróquia Virgen de Fátima tienen valores similares y la muestra de Palacio Real tiene menor cantidad de cenizas solubles en agua.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

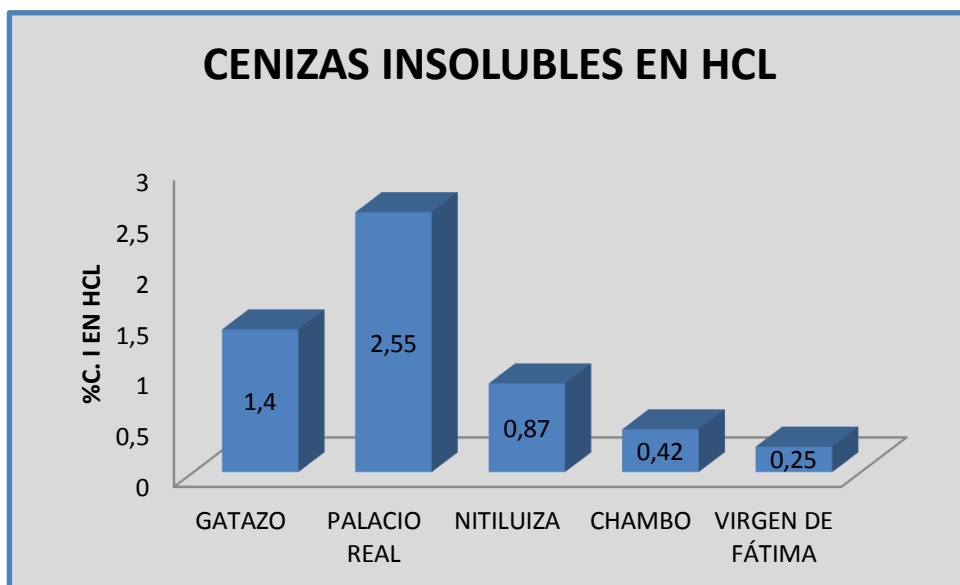


GRÁFICO No. 12 RELACION DE LA DETERMINACION DE LAS CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHIDRICO EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

En el Cuadro No. 23 se indica el ANOVA para el porcentaje de Cenizas Insolubles en HCl que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se

obtuvieron 3 grupos., en el grupo 1 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de la Parroquia Virgen de Fátima, Chambo y Nitiluiza., en el grupo 2 no existe diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Chambo, Nitiluiza y Gatazo mientras que en el grupo 3 solo se encuentra la muestra de la zona de Palacio Real.

En el GRÁFICO No. 12 se puede reportar que los resultados obtenidos para Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico fueron de 1,4% para el polen de la zona de Gatazo, 2,55% para la zona de Palacio Real, 0,87% para la zona de Nitiluiza, 0,42% para la zona de Chambo y de 0,25% para la Parróquia Virgen de Fátima. La muestra de Palacio Real tiene la mayor cantidad de cenizas insolubles en HCl ya que puede tener mayor cantidad de Sílice lo que da indicativo a que se hizo una mala recolección o contaminación del polen por otros componentes térreos.

3.4 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS

3.4.1 DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS

CUADRO No. 4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS.

	GATAZO	PALACIO REAL	NITILUIZA	CHAMBO	PARRÓQUIA VIRGEN DE FÁTIMA
COLOR	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
OLOR	Aromático característico a solvente intenso	Aromático característico a solvente intenso	Aromático característico a solvente más intenso	Aromático característico a solvente más intenso	Aromático característico a solvente intenso
SABOR	Ligeramente dulce, picante	Ligeramente dulce, mas picante	Ligeramente dulce, picante	Ligeramente dulce, mas picante	Ligeramente dulce, picante
ASPECTO	Homogéneo sin precipitado	Homogéneo sin precipitado	Homogéneo sin precipitado	Homogéneo sin precipitado	Homogéneo sin precipitado

FUENTE: LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DEL 2013.

3.4.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS

CUADRO No. 5 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS.

	GATAZO	PALACIO REAL	NITILUIZA	CHAMBO	PARRÓQUIA VIRGEN DE FÁTIMA
pH	6.51	6.47	6.46	6.38	6.4
Índice de Refracción	1.369	1.368	1.367	1.369	1.367
Densidad Relativa	0,93 g/ ml	0,92 g/ ml	0,92 g/ ml	0,93 g/ ml	0,92 g/ ml
Sólidos Totales (%)	4,469%	4,435%	4,669%	4,379%	4,454%

FUENTE: LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. AGOSTO DEL 2013.

3.4.2.1 Determinación del pH del Extracto Etanólico

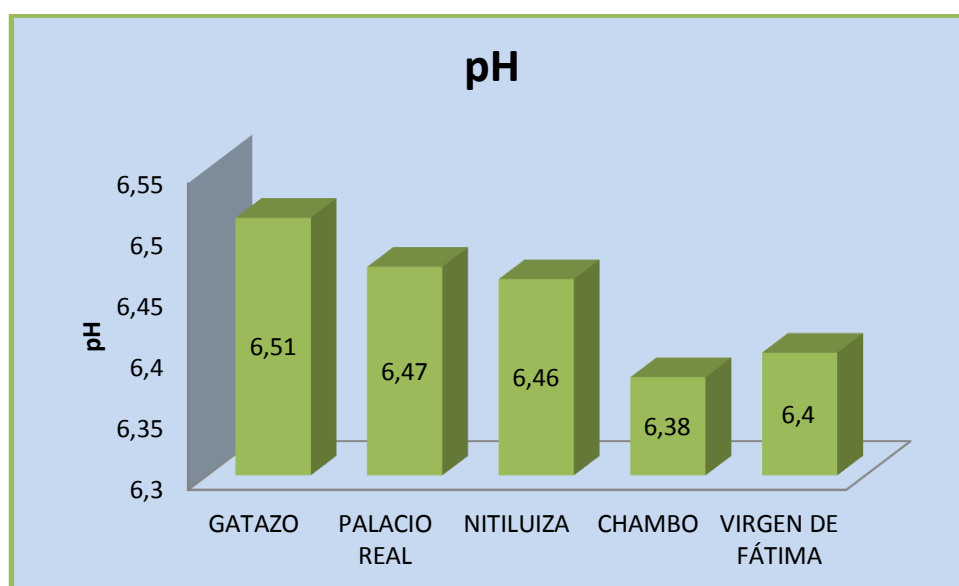


GRÁFICO No. 13 RELACION DE LA DETERMINACION DEL pH EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE EXTRACTOS ETANÓLICOS.

Los resultados obtenidos para la determinación del pH del Extracto Etanólico, se aprecia en el GRÁFICO No. 13, en la que los resultados obtenidos fueron de 6,51 para el

extracto de la zona de Gatazo, 6,47 para la zona de Palacio Real, 6,46 para la zona de Nitiluiza, 6,38 para la zona de Chambo y de 6,4 para la Parróquia Virgen de Fátima.

Todas los extractos de las 5 zonas presentaron pH ligeramente ácido, el de mayor pH es el de la zona de Gatazo lo que se puede decir que presenta un mayor contenido de sustancias solubles en etanol que son ácidas y el que presenta menor pH es el de Chambo y este valor se aproxima a los de las zonas de Palacio Real, Nitiluiza y la Parróquia Virgen de Fátima.

3.4.2.2 Determinación del Índice de Refracción del Extracto Etanólico

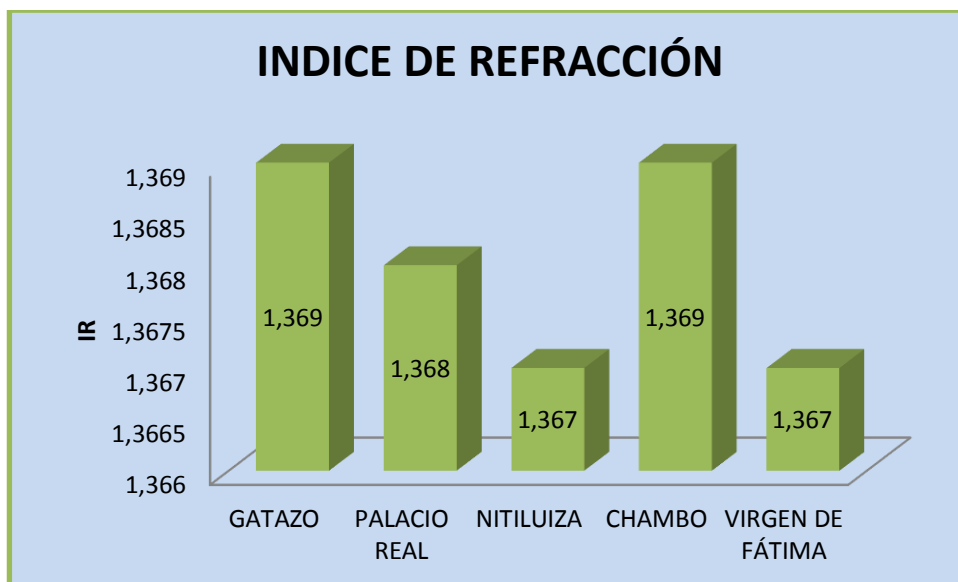


GRÁFICO No. 14 RELACION DE LA DETERMINACION DEL INDICE DE REFRACCIÓN EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE EXTRACTOS ETANÓLICOS.

En el GRÁFICO No. 14 se puede reportar que los resultados obtenidos para la determinación del Índice de Refracción del Extracto Etanólico de las diferentes muestras fueron de 1,369 para el extracto de la zona de Gatazo, 1,368 para la zona de palacio Real, 1,367 para la zona de Nitiluiza, 1,369 para la zona de Chambo y de 1,367 para la Parróquia Virgen de Fátima. En comparación con el Índice de refracción del Etanol que es de 1,361 se puede observar que los extractos que presentan mayor Índice de Refracción con un valor de 1,369 son las de las zonas de Gatazo y la de Chambo esto nos indica que hay mayor cantidad de componentes solubles en el Etanol.

3.4.2.3 Determinación de la Densidad relativa del Extracto Etanólico

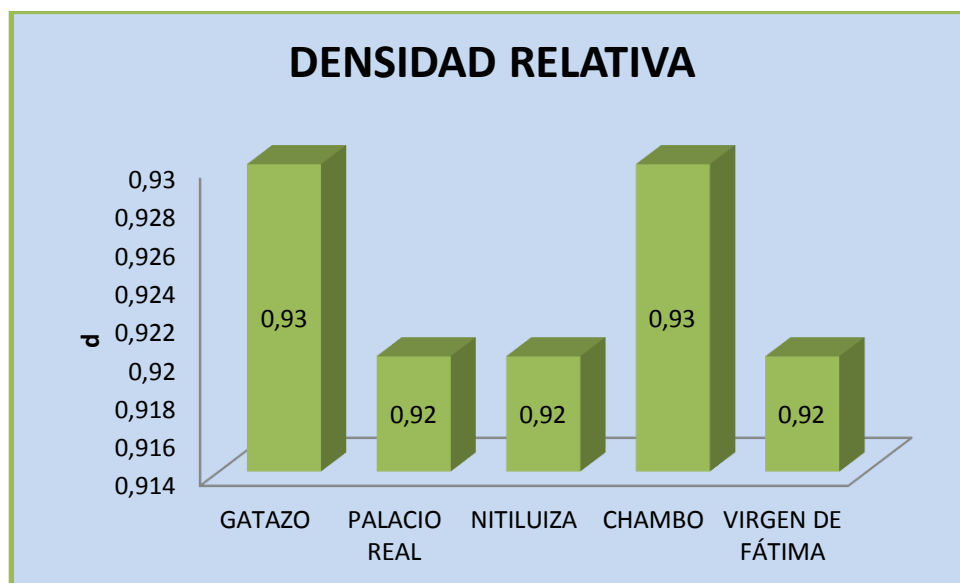


GRÁFICO N° 15 RELACION DE LA DETERMINACION DE LA DENSIDAD RELATIVA EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE EXTRACTOS ETANÓLICOS.

Los resultados reportados para la determinación de la Densidad Relativa del Extracto Etanólico de las diferentes muestras, se aprecia en el GRÁFICO No. 15, en la que los resultados determinados fueron de 0,93 g/ ml para el extracto de la zona de Gatazo, 0,92 g/ ml para la zona de Palacio Real, 0,92 g/ ml para la zona de Nitiluiza, 0,93 g/ ml para la zona de Chambo y de 0,92 g/ ml para la Parróquia Virgen de Fátima.

Comparando la densidad relativa de las muestras con la del Etanol que es de 0,789g/ ml podemos observar que las densidades de las muestras son mayores a la misma lo que es indicativo que existen solutos solubilizados en el Etanol.

3.4.2.4 Determinación de los Sólidos Totales del Extracto Etanólico

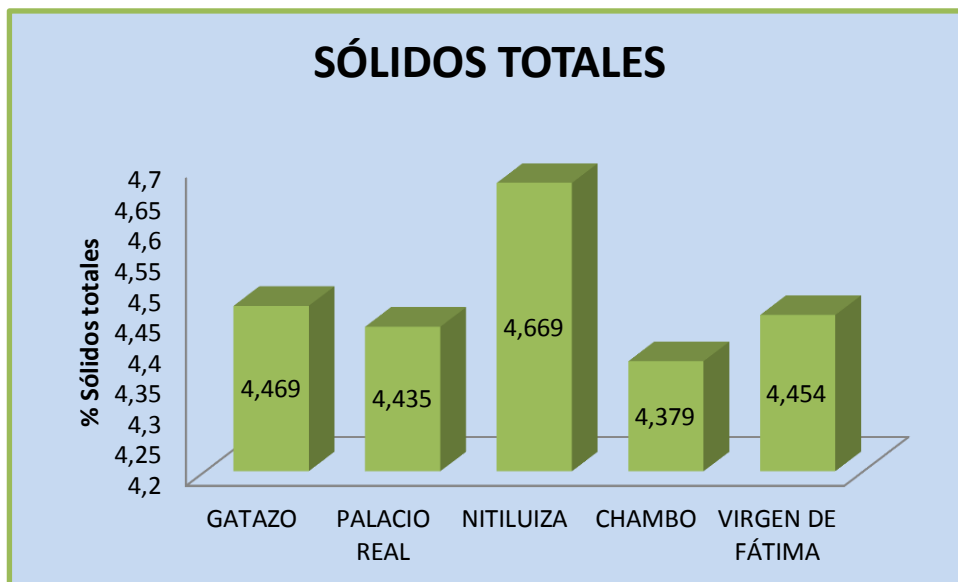


GRÁFICO No. 16 RELACION DE LA DETERMINACION DE LOS SÓLIDOS TOTALES EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE EXTRACTOS ETANÓLICOS.

En el GRÁFICO No. 16 se puede observar que los resultados obtenidos para la determinación de los Sólidos Totales del Extracto Etanólico de las diferentes muestras, fueron de 4,469% para el extracto de la zona de Gatazo, 4,435% para la zona de Palacio Real, 4,669% para la zona de Nitiluiza, 4,379% para la zona de Chambo y de 4,454% para la Parróquia Virgen de Fátima.

Podemos observar que el extracto de la zona de Nitiluiza es la que presenta mayor cantidad de Sólidos Totales lo que es posible que exista una mala recolección del extracto.

3.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

CUADRO No. 6 RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS. DE LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

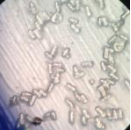
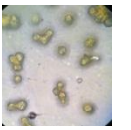
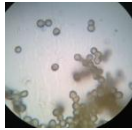
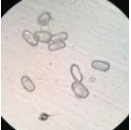

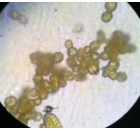
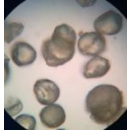

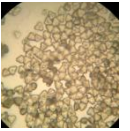
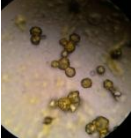

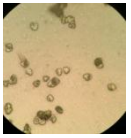
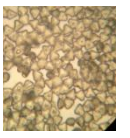
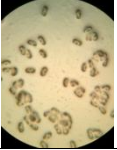
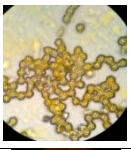
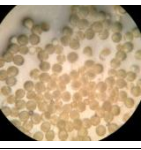
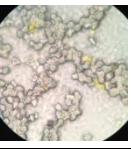
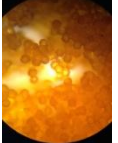
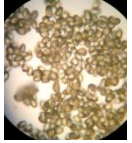

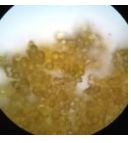
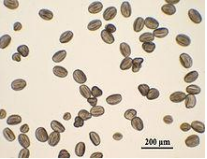


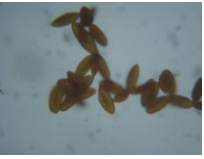


EXTRACTOS						
Ensayos	Metabolitos	Gatazo	Palacio Real	Nitiluiza	Chambo	Parróquia Virgen De Fátima
Dragendorff		-	-	-	-	-
Wagner	Alcaloides	++	++	++	++	++
Meyer		++	++	++	++	++
Baljet	Lactonas y Cumarinas	+++	+++	+++	+++	+++
Borntrager	Antraquinonas	+	+	+	+	+
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o Esteroides	-	-	-	-	-
Catequinas	Catequinas	+	+	+	+	+
Fehling	Azúcares reductores	+++	+++	+++	+++	+++
Tricloruro Férrico	Taninos	++	++	++	++	++
Shinoda	Flavonoides	+	+	+	+	+
Antocianidinas		+	+	+	+	+
Resinas	Resinas	+	+	+	+	+
Espuma	Saponinas	-	-	-	-	-

FUENTE: LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

Se puede observar en el CUADRO No. 6 que al realizar el Tamizaje Fitoquímico de los extractos de las diferentes muestras de polen nos dio resultados positivos en los ensayos de Wagner, Meyer, Baljet, Borntrager, Catequinas, Fehling, Tricloruro Férrico, Shinoda, Antocianidinas, y Resinas lo que puede decirnos que el polen es un alimento rico en Metabolitos secundarios y pueden ser de alto beneficio para la salud.

3.6 ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS PARTÍCULAS DEL POLEN

CUADRO No. 7 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROSCÓPICO PARA LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN EN BASE A SU COLOR.

	LILA	ANARANJADO	AMARILLO	VERDE	HABANO	MARRÓN
GATAZO						-
PALACIO REAL	-					-
NITILUIZA	-					-
CHAMBO				-	-	
PARRÓQUIA VIRGEN DE FÁTIMA	-			-		
COMPARACIÓN						

FUENTE: LABORATORIO ANÁLISIS CLINICOS. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. OCTUBRE DEL 2013.

En el CUADRO No. 7, observamos los resultados obtenidos del análisis microscópico del polen en el cual podemos resaltar la presencia de variedad de formas y tamaños como triangulares, ovalados, estrelladas, redondas, etc., que van a depender del origen floral del polen, estas formas también fueron reportadas por Romero, A. y col. (2010) en muestras de polen Ecuatorianas y también a los indicados por Vit, P. y col. (2008) en muestras de polen de Venezuela.(33) (17)

3.7 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT)

3.7.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL MARCADOR QUÍMICO FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PRESENCIA DE QUERCETINA

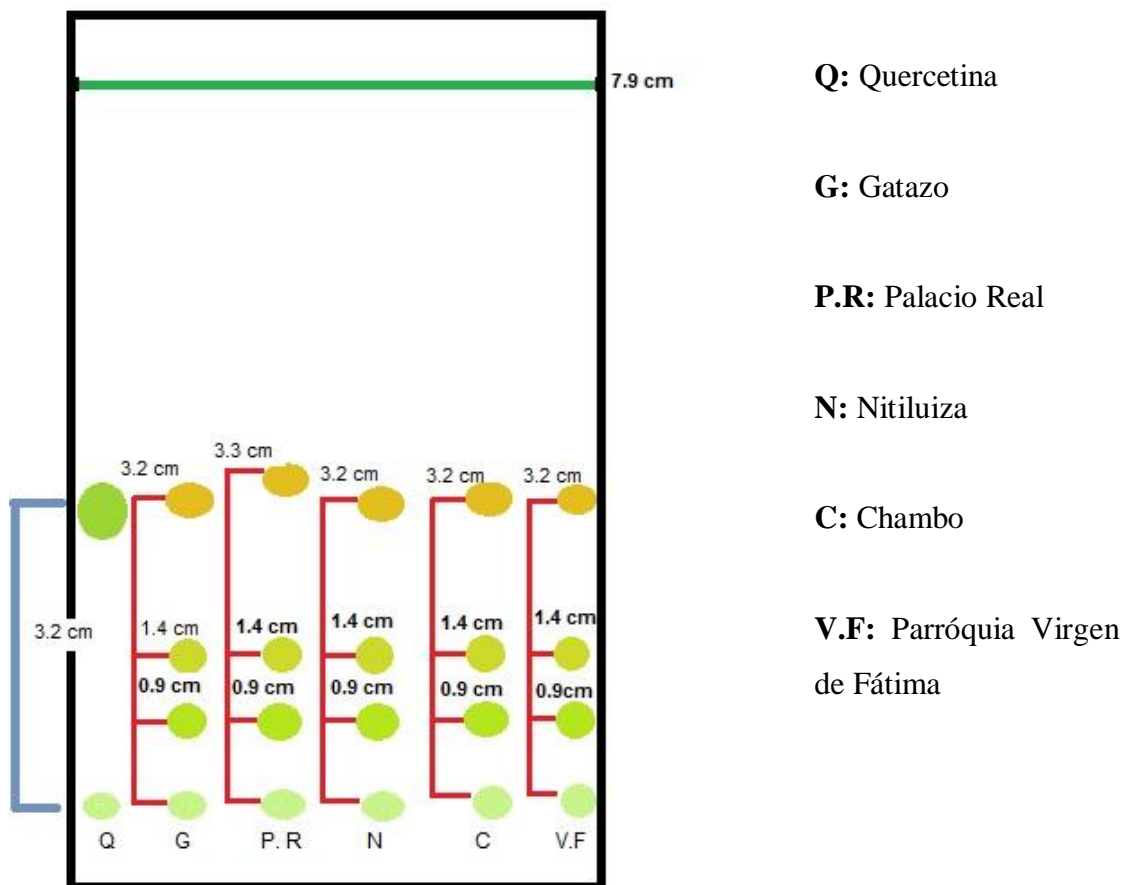


FIGURA No. 10 DISTANCIAS DE LAS MANCHAS OBTENIDAS EN LA CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC).

CUADRO No. 8 RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE LOS R_f DE LAS MANCHAS OBTENIDAS PARA CADA MUESTRA EN CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC).

MUESTRA	MANCHA	DISTANCIA (cm)	COLOR	R_f	COMPUESTO
Quercetina	1	3,2	Pardo	0,41	Quercetina
Gatazo	1	0,9	Marrón	0,11	-
	2	1,4	Verde	0,18	-
	3	3,2	Amarillo Parduzco	0,41	Quercetina
Palacio Real	1	0,9	Marrón	0,11	-
	2	1,4	Verde	0,18	-
	3	3,3	Amarillo Parduzco	0,42	Quercetina
Nítiluiza	1	0,9	Marrón	0,11	-
	2	1,4	Verde	0,18	-
	3	3,2	Amarillo Parduzco	0,41	Quercetina
Chambo	1	0,9	Marrón	0,11	-
	2	1,4	Verde	0,18	-
	3	3,2	Amarillo Parduzco	0,41	Quercetina
Parróquia Virgen de Fátima	1	0,9	Marrón	0,11	-
	2	1,4	Verde	0,18	-
	3	3,2	Amarillo Parduzco	0,41	Quercetina

FUENTE: LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

En base a los resultados expresado en el CUADRO No. 8 luego de realizar la cromatografía en capa fina usando los solventes Cloroformo - Acetona - Ácido fórmico (75:16,5:8,5 en v/v), se reporta la presencia del flavonoide Quercetina en los 5 extractos de polen de las distintas zonas cuyo R_f fue de 0,41 comparable al R_f del estándar que se hizo correr en el mismo sistema de solventes de Quercetina.

3.7.2 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES (MÉTODO DEL $AlCl_3$)

CUADRO No. 9 RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS EN mg DE RUTINA/100 g DE MUESTRA DETERMINADOS EN LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

MUESTRAS	ABSORVANCIA	Contenido de Flavonoides Totales en mg de Rutina por g de Muestra	Flavonoides Totales (mg/100g de muestra)
GATAZO	0,343	0,315	31,5±0,34
PALACIO REAL	0,495	0,458	45,8±0,71
NITILUIZA	0,478	0,442	44,2±0,30
CHAMBO	0,524	0,486	48,6±0,19
PARRÓQUIA VIRGEN DE FÁTIMA	0,564	0,523	52,3±0,09

± DESVIACIÓN ESTÁNDAR PARA TRES MEDICIONES.
p-Valor < 0,05.

FUENTE: LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

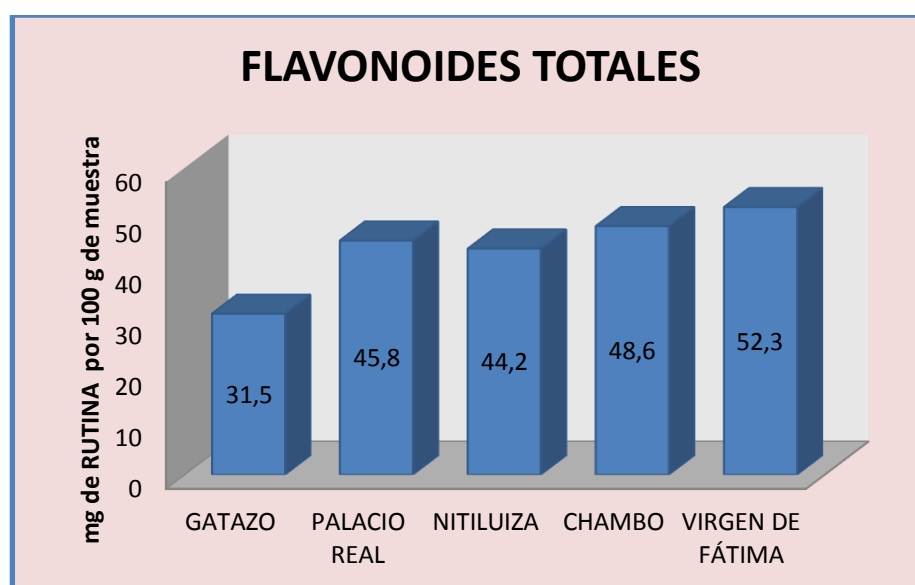


GRÁFICO No. 17 CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FLAVONOIDES TOTALES EXTRAÍDOS EN LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS EXPRESADOS EN mg DE RUTINA POR 100 g DE MUESTRA.

FUENTE: LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2013.

En el ANOVA para porcentaje de Flavonoides Totales representado en el Cuadro No. 26 nos indica que existe diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de

0,000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 5 grupos, y se observa que todas las muestras de polen son estadísticamente diferentes.

En el GRÁFICO No.18, observamos que los resultados obtenidos para determinar Flavonoides Totales de los extractos Etanólicos que fueron expresados en mg de Rutina/ 100g de muestra, fueron de 31,5 para el extracto de la zona de Gatazo, 45,8 para la zona de Palacio Real, 44,2 para la zona de Nitiluiza, 48,6 para la zona de Chambo y de 52,3 para la Parróquia Virgen de Fátima, siendo el último el que presento mayor valor de Flavonoides Totales, otros valores expresados en mg / g fueron los reportados por Medina, A. y col. en muestras de polen de Argentina con un rango de 1,5 a 2,7.

3.7.3 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (MICROMÉTODO DE FOLIN–CIOCALTEAU)

CUADRO No. 10 RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EXPRESADOS EN mg DE ÁCIDO GÁLICO/100 g DE MUESTRA DETERMINADOS EN LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE LAS DIFERENTES MUESTRAS DE POLEN.

MUESTRAS	ABSORVANCIA	Contenido de Compuestos Fenólicos Totales en mg de Ácido Gálico por g de Muestra	Fenoles Totales (mg/100g de muestra)
GATAZO	2,447	28,149	2814,9±4,39
PALACIO REAL	2,208	25,199	2519,9±3,75
NITILUIZA	2,822	32,874	3287,4±2,17
CHAMBO	2,268	25,949	2594,9±3,15
PARRÓQUIA VIRGEN DE FÁTIMA	2,099	23,836	2383,6±1,44

± DESVIACIÓN ESTÁNDAR PARA TRES MEDICIONES.
p-Valor < 0,05.

FUENTE: LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2013.

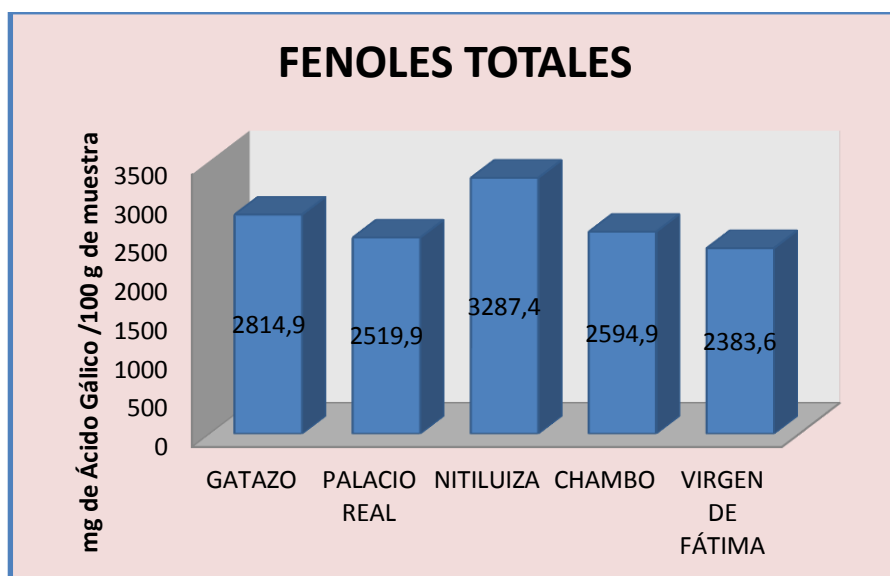


GRÁFICO No. 18 CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EXTRAÍDOS EN LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS EXPRESADOS EN mg DE ÁCIDO GÁLICO POR 100 g DE MUESTRA.

FUENTE: LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2013.

En el Cuadro No. 27 se indica el ANOVA para el porcentaje de Fenoles Totales que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que el p-valor es de 0.000 que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey se obtuvieron 5 grupos, y podemos observar que todas las muestras de polen son estadísticamente diferentes.

En el GRÁFICO No. 20 observamos que los resultados reportados para determinar Fenoles Totales de los extractos Etanólicos que fueron obtenidos en mg de Ácido Gálico/ 100g de muestra, fueron de 2814,9 para el extracto de la zona de Gatazo, 2519,9 para la zona de Palacio Real, 3287,4 para la zona de Nitiluiza, 2594,9 para la zona de Chambo y de 2383,6 para la Parróquia Virgen de Fátima, siendo el de la zona de Nitiluiza el que presento mayor cantidad de Fenoles Totales, otros valores expresados en mg / g con un rango de 14 a 31,5 fueron los reportados por Medina, A. y col. en muestras de polen de Argentina, y se puede decir que solamente la muestra de la zona de Nitiluiza se encuentra fuera de este rango, esta diversidad de compuestos fenólicos puede deberse a la variedad floral que existe en las zonas donde se recolecto la muestra.

3.8 ENSAYO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE SEGÚN EL MÉTODO ENZIMÁTICO DE INHIBICIÓN DE LA POLIFENOLOXIDASA.

3.8.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA POLIFENOLOXIDASA (PPO)

La determinación de la Actividad Enzimática de la Polifenoloxidasa permitió establecer el tiempo durante el cual la actividad de la enzima se mantuvo constante para realizar las mediciones del ensayo con un mismo extracto y en las mismas condiciones para cada prueba.

CUADRO No. 11 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (Abs/minuto) DE LA POLIFENOLOXIDASA (PPO) MEDIDA PARA DIFERENTES TIEMPOS DE CONGELACIÓN A -6 °C.

Tiempo (min)	Absorbancia				
	Inicio	1 min	10 min	30 min	2 Horas
0	0,205	0,209	0,250	0,309	0,265
0,5	0,275	0,319	0,354	0,479	0,416
1	0,364	0,427	0,46	0,604	0,509
1,5	0,44	0,514	0,551	0,733	0,585
2	0,51	0,592	0,626	0,794	0,64
2,5	0,567	0,656	0,688	0,842	0,685
3	0,615	0,708	0,735	0,877	0,717
3,5	0,66	0,75	0,771	0,903	0,741
4	0,697	0,784	0,8	0,923	0,759
4,5	0,727	0,81	0,823	0,936	0,77
5	0,751	0,833	0,839	0,945	0,777

FUENTE: LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN ANIMAL. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. OCTUBRE DEL 2013.

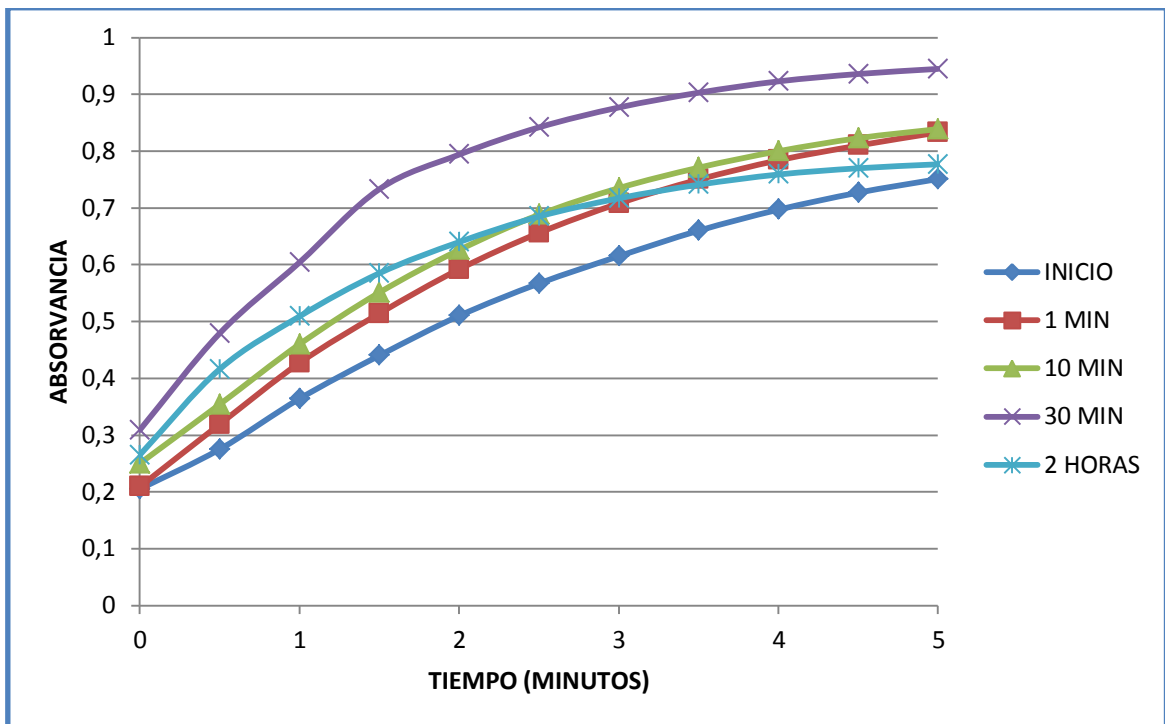


GRÁFICO No. 19 CURVAS DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA POLIFENOLOXIDASA (PPO) MEDIDAS DESPUES DE DIFERENTES TIEMPOS DE CONGELACIÓN A -6 °C.

FUENTE: LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN ANIMAL. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. OCTUBRE DEL 2013.

En el GRÁFICO No. 21 se observa la actividad de la PPO después de diferentes periodos de congelación a -6 °C, se puede establecer que la actividad se logró mantener ligeramente estable hasta un lapso de 2 horas, produciéndose un leve incremento a los 10 minutos de congelación y a las 2 horas se produjo un ligero descenso, pero todas las curvas presentaron una aproximación en la tendencia exceptuando la de los 30 minutos cuya actividad no se apega a la tendencia de las demás curvas, hay que indicar que el tiempo de congelación es un factor determinante para mantener la estabilidad.

Se recomienda determinar la actividad de la enzima estableciendo distintos periodos de tiempo en minutos por el lapso de 2 horas con el fin de establecer los factores que influyen en su actividad y lograr un mejor control de los mismos.

3.9 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

CUADRO No. 12 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE PARA 3 CONCENTRACIONES DIFERENTES DE 10,100 Y 1000 ppm.

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN	ABSORVANCIA	% INHIBICIÓN
BLANCO	-	0,798 ± 0,00	0,00
GATAZO	10 ppm	0,5±0,005	37,34
	100 ppm	0,466±0,019	41,64
	1000 ppm	0,473±0,001	40,77
PALACIO REAL	10 ppm	0,463±0,007	42,02
	100 ppm	0,458±0,003	42,61
	1000 ppm	0,542±0,009	32,12
NITILUIZA	10 ppm	0,456±0,011	42,86
	100 ppm	0,442±0,03	44,61
	100 ppm	0,464±0,013	41,89
CHAMBO	10 ppm	0,41±0,015	48,62
	100 ppm	0,40±0,005	50,17
	1000 ppm	0,384±0,073	51,88
PARRÓQUIA VIRGEN DE FÁTIMA	10 ppm	0,41±0,006	48,62
	100 ppm	0,385±0,023	51,80
	1000 ppm	0,351±0,031	56,02
VITAMINA C	10 ppm	0,002±0,00	99,75
	100 ppm	0,00±0,00	100
	1000 ppm	0,005±0,00	99,37

± DESVIACIÓN ESTÁNDAR PARA TRES MEDICIONES.
p-Valor < 0,05.

FUENTE: LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN ANIMAL. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. OCTUBRE DEL 2013.

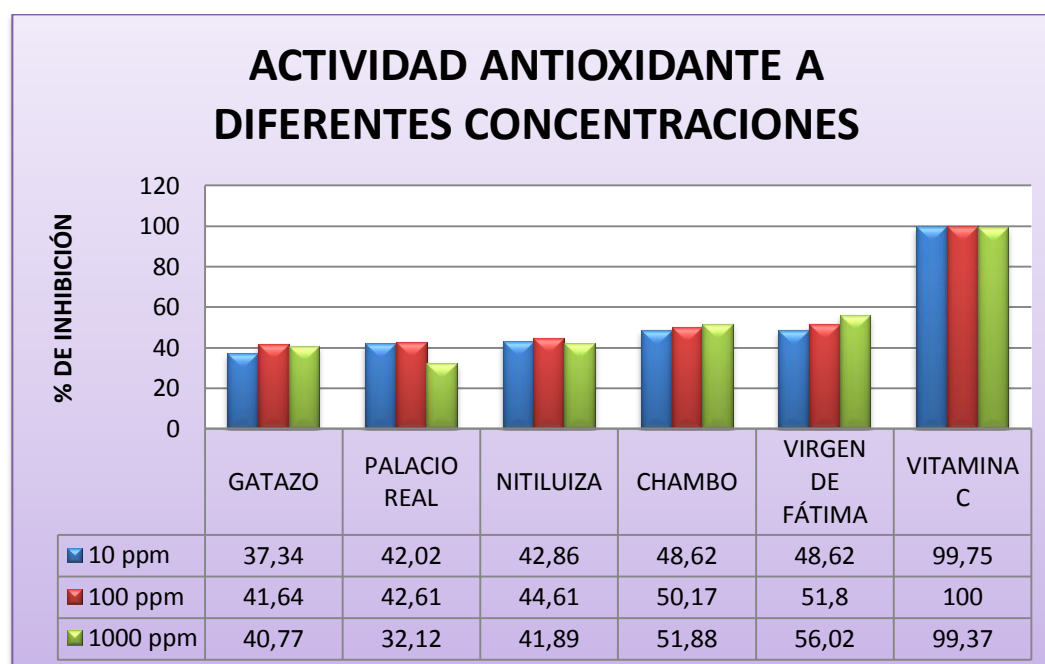


GRÁFICO No. 20 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE PARA 3 CONCENTRACIONES DIFERENTES DE 10,100 Y 1000 ppm.

FUENTE: LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN ANIMAL. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESPOCH. OCTUBRE DEL 2013.

En el ANEXO No.13 se indica el ANOVA para la Actividad Antioxidante a concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm., a los 10 ppm tenemos que el p-valor es de 0.000, a los 100 ppm nos indica que el p-valor es de 0.001 y a 1000 ppm nos indica que el p-valor es de 0.001 que nos indica que hay diferencia estadística entre las muestras ya que es menor al 0,05 del nivel de significancia. En el test de Tukey representado en el ANEXO No. 13 a los 10 ppm se obtuvieron 3 grupos., en el grupo 2 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de Palacio Real y Nitiluiza., en el grupo 3 no existe diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de la Parroquia Virgen de Fátima y Chambo, en este caso las demás muestras son independientes y difieren estadísticamente del resto; mientras que a los 100 ppm se obtuvieron 3 grupos., en el grupo 1 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de Gatazo, Palacio Real y Nitiluiza., en el grupo 2 no existe diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Nitiluiza y Chambo y en el grupo 3 observamos que no existe diferencia significativa entre las muestras de polen de las zonas de Chambo y la Parroquia Virgen de Fátima; y finalmente a los 1000 ppm se obtuvieron 3 grupos; observamos que en el grupo 1 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de Palacio Real, Gatazo y Nitiluiza, en el grupo 2 observamos que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de Gatazo, Nitiluiza y Chambo y en el grupo 3 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de polen de las zonas de Chambo y la Parroquia Virgen de Fátima.

En base al GRÁFICO No. 22 se obtuvieron los siguientes valores de actividad antioxidante para la concentración de 10 ppm que fueron de 37,34% para la zona de Gatazo, 42,02% para la zona de Palacio Real, 42,86% para la zona de Nitiluiza, 48,62% para la zona de Chambo y de 48,62% para la Parróquia Virgen de Fátima, para la concentración de 100 ppm se obtuvieron los siguientes valores para las mismas zonas, 41,64%, 42,61%, 44,61%, 50,17% y de 51,8% y finalmente para las concentraciones de 1000 ppm se obtuvieron valores de 40,77%, 32,12%, 41,89%, 51,88% y de 56,02% para las mismas zonas.

En investigaciones realizadas en muestras de polen de Argentina se obtuvieron actividad antioxidante en un rango de 16% a 54% reportado por Medina, A. y col. en cambio en muestras de polen de Colombia en base al método DPPH se obtuvieron valores en un rango de 0,395 mg/ ml a 0,736 mg/ ml reportados por Fuenmayor, C. (2009). Se indica que en las muestras de Gatazo, Palacio Real y Nitiluzza hubo mejor actividad antioxidante a concentraciones de 10 ppm, mientras que las muestras de Chambo y la Parróquia Virgen de Fátima presento mejor actividad antioxidante a concentraciones de 1000 ppm, relacionando esta alta actividad de la Parróquia Virgen de Fátima con el alto contenido de Flavonoides determinados para la muestra de esta zona. (25) (27)

En comparación a la Vitamina C, para las concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm la muestra de la Parróquia Virgen de Fátima fue la que presento mayor Actividad Antioxidante llegando alcanzar casi 50%.

En base a los resultados obtenidos podemos decir que el polen de la Parróquia Virgen de Fátima es el que aporta mayor cantidad de nutrientes de alto beneficio para la salud, siendo también el que presenta la Actividad antioxidante más alta a la concentración de 1000 ppm lo que se debe al alto contenido de flavonoides y de Vitamina C que son compuestos con la actividad antioxidante comprobada, el elevado contenido de extracto etéreo en esta muestra se debe a la presencia de pigmentos liposolubles como carotenoides y antoxianos que incrementan este valor y también depende de la variedad de la vegetación ya que en esta zona predominaba el cacao, por su alto contenido de fibra se puede emplear como suplemento alimenticio para mejorar la digestión y su pH ligeramente ácido puede ser ocasionado por una variedad de compuestos propios de las plantas de la zona que lo acidifican lo cual significa que existe una fermentación de los azúcares que produzcan una disminución en el contenido de los mismos.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se determinó el valor Nutracéutico y la Actividad Antioxidante de distintas muestras de polen de diferentes zonas apícolas de la Sierra y de la Costa comercializado en la Empresa APICARE de la ciudad Riobamba, utilizando métodos analíticos estandarizados lo que permitió establecer que dicho polen posee una gran cantidad de propiedades nutracéuticas y farmacológicas siendo un producto con un alto beneficio para la salud, además en base a la aplicación de normas Internacionales como la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04, concluimos que el polen cumplió con lo establecido en la misma lo que lo ubica como un polen de calidad.
2. Los análisis realizados en el polen nos permitieron establecer diferencias en el contenido de componentes nutritivos como proteína, grasa, fibra, minerales, carbohidratos, vitaminas así como en el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides que en base a la investigación bibliográfica realizada son los responsables de la actividad antioxidante objeto de nuestra investigación, y de otras propiedades que benefician al organismo al momento de su consumo.
3. Las muestras de polen analizadas demostraron ser una fuente rica de nutrientes y de poseer un alto contenido de componentes como flavonoides y compuestos fenólicos que presentaron actividad farmacológica en este caso la actividad antioxidante; sobresale la muestra de la costa de la Parróquia Virgen de Fátima que fue la que mayor efecto inhibitorio de la enzima polifenoloxidasas presentó a las 3 diferentes concentraciones estudiadas lo que es indicativo de una relación entre el contenido de flavonoides y compuestos fenólicos y la actividad antioxidante., además que dicha

actividad se ve potenciada por la presencia de un alto contenido en Vitamina C que presenta esta muestra, dicha vitamina presenta un poder antioxidante ya comprobado.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar un estudio de las muestras de polen con el tiempo de secado y de acuerdo a eso ver como se ve afectado la actividad antioxidante.
2. La investigación realizada se puede aplicar para otras muestras de polen y compararles entre zonas del Ecuador.
3. Se sugiere un mayor control en el proceso de secado del polen que se recolecta en la empresa.
4. Se recomienda realizar el análisis microbiológico del polen para así poder tener mayor información sobre el origen botánico.
5. Se recomienda al realizar el estudio de la actividad antioxidante tomar las precauciones necesarias para la extracción de la enzima controlando la luz y la temperatura para evitar que afecte el resultado del análisis.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

En la investigación se realizó la Caracterización Nutracéutica y Actividad Antioxidante del Polen de diferentes colmenas de abeja (*Apis mellifera*) de la Empresa Apicare, Riobamba, en laboratorios de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, aplicando la Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04 para el control de calidad. Se aplicó técnicas analíticas y bromatológicas para determinar componentes nutricionales; pruebas colorimétricas en cuantificación de principios activos y ensayos enzimáticos que midieron la actividad antioxidante de las muestras.

Los resultados obtenidos fueron: 6,69 a 9,75% para Humedad; 2,7 a 3,62% para Cenizas, 23,93 a 27,18% para Proteína; 1,44 a 3,5% para Grasa; 2,4 a 5,47% para Fibra; 54,65 a 59,39% para Extracto Libre no Nitrogenado; 33,47 a 75,67% para Azúcares; 4,93 a 5,79 para pH, 0,31 a 0,38 meq/kg para Acidez y 0,169 a 0,895% para Vitamina C. En compuestos fenólicos los resultados fueron: 2,4 a 3,3 mg de Ácido Gálico/ 100 g de muestra, en Flavonoides obteniéndose valores entre 0,032 a 0,053 mg de Rutina/ 100 g de muestra. La actividad Antioxidante como porcentaje de inhibición de la polifenoloxidasas, usando extractos a concentraciones de 10ppm, 100ppm y 1000 ppm, reportó resultados de 41,64% en la zona de Gatazo, 42,61% en la zona de Palacio Real, 44,61% en la zona de Nituiza en concentración de 100ppm, a 1000 ppm las muestras de Chambo y Parróquia Virgen de Fátima presentaron valores de 51,88% y 56,02%.

Se concluyó que el polen cumplió con los parámetros de calidad establecidos, siendo un alimento muy completo con aporte de componentes nutritivos esenciales como Vitaminas y Proteínas y otros compuestos que presentan actividad farmacológica. Recomendando su consumo para mejorar el estado de salud de la sociedad.

SUMMARY

In this research a Nutraceutical Characterization and Antioxidant Activity of Pollen from different beehives (*Apis mellifera*) in Apicare company, Riobamba, in the laboratories of the Faculty of Sciences were performed through the application of the Salvadorian Norm NSO 65.38.01:04 for quality control. Analytics and bromatological techniques were applied in order to determine nutritional compounds, colorimetric test in quantification of active principles and enzymatic essays that helped the antioxidant activity of the sample. The result obtained were: 6,69 to 9,75% for humanity; 2,7 to 3,62% for ashes; 23,93 to 27,18% for protein; 1,44 to 3,5% for fat; 2,4 to 5,47% for fiber; 54,65 to 53,39% for no nitrogenous free extract ; 33,47 to 75,67% for sugar; 4,93 to 5,79 for HP, 0,31 to 0,38 meq/kg for acidity and 0,169 to 0,895% for vitamin C. In phenological compounds the results were: 2,4 to 3,3 mg of galactic acid/100 g of sample. The antioxidant activity as inhibition percentage of polyphenoloxidase by using extract at concentrations of 10ppm, 100ppm, 1000ppm reported results of 41,64% in the zone of Gatazo, 42,61% in the zone of Palacio Real, 44,65% in the zone of Nituiza in concentration of 100ppm, to 1000 ppm the sample of Chambo and Virgen de Fátima town presented values of 51,88% and 56,02%.

It was concluded that pollen accomplished all the quality parameters established, being a very complete food with contribution of essential nutritional components such as vitamins, proteins and other compounds that present pharmacological activity, its consume is recommended in order to better society health status.

CAPITULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

- 1. LUCERO, O.,** Guía de Prácticas de Bromatología I, s. ed., Riobamba - Ecuador., Editorial ESPOCH., 2011., Pp. 8-16.
- 2. MACE, H.,** Manual Completo de Apicultura., 2a. ed., México D.F. - México., Continental S.A., 1985., Pp. 317.
- 3. PIERRE, J.,** Apicultura., 2a. ed., Madrid – España., Mundi - Prensa., 1985., Pp. 142.
- 4. POLAIVO, C.,** Manual Práctico del Apicultor., 4a. ed., Madrid - España., Cultural S.A., 2009., Pp. 289.

5. **PRIMO, Y.,** Productos para el campo y propiedades de los alimentos., 1a ed., Madrid - España., Editorial síntesis., 1997., P.p. 280-283.

6. **VILLAMAR, B.,** Producción y Comercialización de la miel de Abeja., 1a. ed., Lima - Perú., Palomino E. I. R. L., 2001., Pp. 80-81.

7. **CRIADO, C. y otros.,** Vitaminas y Antioxidantes., s. ed., Madrid - España., Sanidad y Ediciones., 2009., Pp. 6-18.
<http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAM>

8. **DOROSZ.,** Tabla de Calorías., 13a. ed., Barcelona - España., Editorial HISPANO EUROPEA., 2010., Pp. 7.
http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=RW0zo5c_Y48C

9. **KOZEL, C.,** Guía de Medicina Natural., 2a. ed., Barcelona - España., Edición Omedin., 1980., Pp. 60-62.
<http://es.scribd.com/doc/17379118/Guia-de-Medicina-Natural->

10. **BALDHI, B. y otros.,** Revista Científica., Caracterización bromatológica del polen apícola argentino., Revista Redalyc., No. 29., Vol. 15., Buenos Aires - Argentina., 2004., Pp. 145-181.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14502906>

11. **BIRUETE, A. y otros.,** Revista Científica., Los nutraceuticos: Lo que es conveniente saber., Revista Mexicana de Pediatría., No. 3., Vol. 76., México D.F. - México., 2009., Pp. 136-145.
<http://es.scribd.com/doc/52179970/nutraceuticos>

12. **GIMENO, E.,** Revista Científica., Compuestos Fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud., Revista OFFARM., No. 6., Vol. 23., Madrid - España., 2004., Pp. 80-84.
http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?f=10&pid=art

13. **GUZMÁN, S. y otros.,** Revista Científica., Calidad alimentaria y potencial nutraceutico del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*), Revista Redalyc., No. 2., Vol. 18., México D.F. - México., 2002., Pp. 159-173.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60828206>

14. **MONTERO, M.,** Revista Científica., Los Radicales Libres y las defensas Antioxidantes. Revisión., Revista BVS., No. 4., Vol. 57., Madrid - España., 1996., Pp. 1-10.
http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/anales/v57_n4/radicale

15. **PÉREZ, H.,** Revista Científica., Nutraceuticos: Componente emergente para el beneficio de la salud., Revista Redalyc., No. 3., Vol. 40., Habana - Cuba., 2006., Pp. 20-28.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120665003&idp=1>

- 16. VENEREO, J.,** Revista Científica., Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes., Revista Cubana de Medicina Militar., No. 2., Vol.31., Habana - Cuba., 2002., Pp. 1-10.
<http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S013865572002000200009>
- 17. VIT, P. y otros.,** Revista Científica., Composición química de polen apícola fresco recolectado en el páramo de Misintá de los Andes Venezolanos., Revista ALAN., No. 4., Vol. 58., Caracas - Venezuela., 2008., Pp. 413-415.
<http://www.scielo.org.ve/pdf/alan/v58n4/art14.pdf>
- 18. ZEZOLA, T. y otros.,** Revista Científica., Nutracéuticos., Revista de la OFIL., No. 18., Vol. 3., Granada - España., 2008., Pp. 37-42.
<http://www.revistadelaofil.org/Articulo.asp?Id=122>
- 19. ZORRILLA, A.,** Revista Científica., El envejecimiento y el estrés oxidativo., Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas., No. 3., Vol. 21., Habana - Cuba., 2002., Pp. 1-10.
<http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S086403002002000300006>
- 20. CUBA., MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA., (MINSAP).,** Droga Cruda., Métodos de Ensayo., Norma Técnica NRSP 309., La Habana - Cuba., (MINSAP)., 1992., Pp. 1-7.

- 21. CUBA., MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA., (MINSAP).,**
Extractos Fluidos y Tinturas., Procesos tecnológicos., Norma
Técnica NRSP 311., La Habana - Cuba., (MINSAP)., 1992.,
Pp. 1-6.
- 22. CUBA., MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA., (MINSAP).,**
Extractos Fluidos y Tinturas., Métodos de Ensayo., Norma
Técnica NRSP 312., La Habana - Cuba., (MINSAP)., 1992.,
Pp. 1-5.
- 23. EL SALVADOR., CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y
TECNOLOGÍA., (CONACYT).,** Calidad del Polen de
Abejas., Norma Técnica NSO 65.38.01:04., San Salvador - El
Salvador., (CONACYT)., 2004., Pp.1-6.
- 24. ROJAS, B.,** Control de Calidad y Evaluación Nutricional de las
Chichas (Jora y Morada), elaboradas en la Fundación
Andinamarca, Calpi-Riobamba., Facultad de Ciencias.,
Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior
Politécnica de Chimborazo., Riobamba - Ecuador., **TESIS.,**
2013., Pp.32-33.

25. ARAQUE, R., Implementación de dos dietas alimenticias como sustituto del polen en dos colonias de abejas ubicadas en el Hangar Vereda Guatigura del Municipio de Piedecuesta., Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia., Producción Agroindustrial., Universidad Industrial de Santander., Bucaramanga - Colombia., **TESIS.,** 2012., Pp. 29-30.

<http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/11660/>

26. CIFUENTES. I. y otros., Diseño de un Secador de Polen con Sistema de Control y Supervisión de Temperatura., Facultad de Ingeniería de Diseño y Automatización., Escuela de Electrónica., Universidad de la Salle., Bogotá D.C - Colombia., **TESIS.,** 2006., Pp. 35-36.

<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/10185/16475/1/00781>

27. FUENMAYOR, C., Aplicación de Bioprocesos en Polen de Abejas para el desarrollo de un Suplemento Nutricional Proteico., Facultad de Ingeniería., Departamento de Ingeniería Química y Ambiental., Universidad Nacional de Colombia., Bogotá, D.C. - Colombia., **TESIS.,** 2009., Pp. 22-89.

<http://www.bdigital.unal.edu.co/8522/1/293729.2010.pdf>

28. PALADINO, S., Actividad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos contenidos en las Semillas de la Vid (*Vitis vinifera L.*), Facultad de Ciencias Agrarias - UNCuyo., Universidad Nacional del Cuyo., Mendoza – Argentina., **TESIS.**, 2006., Pp. 12-15.
http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/2627/tesispaladino

29. TOBAR, A. y otros., Descripción de granos de polen de algunas plantas del Municipio de Querétaro., Facultad de Ciencias Naturales., Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada., Universidad Nacional Autónoma de México., Querétaro - México., **TESIS.**, 2003., Pp. 1-4.
<http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2>

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

30. ABEJA DE LA MIEL (*Apis mellifera L.*)

<http://enelmoncayo.blogspot.com/2012/03/abeja-de-la-miel-2013/07/25>

31. ABEJAS SANAS EN EL INCREMENTO DE LA PRODUCTIVIDAD

<http://www.anmvea.com/imagenes/congresos/Memorias%20C>
2013/10/14

**32. ALIMENTOS FUNCIONALES. APROXIMACIÓN A UNA
NUEVA ALIMENTACIÓN**

<http://www.publicaciones-isp.org/productos/t065.pdf>

2013/09/12

**33. ANÁLISIS DE POLEN: CONSTRUYENDO UNA COLECCIÓN
DE POLEN FRESCO**

<file:///F:/POLEN%20INVESTIGACIONES/revista%20micros>

2013/09/13

**34. ANTIOXIDANTES: CAPTADORES DE RADICALES LIBRES
Ó SINÓNIMO DE SALUD**

<http://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdf>

2013/07/25

35. APICULTURA

http://www.abcagro.com/agriculturas_alternativas/apicultura4

2013/09/10

36. APICULTURA PARA PEQUEÑOS EMPRENDEDORES

http://issuu.com/fbmel/docs/libro_apicultura_fabian_rodriguez

2013/08/20

37. *Apis mellifera* (ABEJA DOMÉSTICA)

<http://www.mielarlanza.com/es/contenido/?iddoc=122>

2013/09/13

38. BENEFICIOS DEL POLEN DE ABEJA PARA LA SALUD

<http://vivirsalud.imujer.com/4382/beneficios-del-polen-de->

2013/08/14

**39. CALIDAD ALIMENTARIA Y POTENCIAL NUTRACÉUTICO
DEL FRIJOL (*Phaseolus vulgaris L.*)**

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60828206>

2013/10/14

**40. CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA DEL POLEN
APÍCOLA ARGENTINO**

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14502906>

2013/09/10

41. CERA

<http://www.mancomunidadhurdes.org/index.php?opcion=cera>

2013/10/14

42. COMPOSICIÓN DEL POLEN DE ABEJA

<http://www.mielarlanza.com/es/contenido/?iddoc=73>

2013/11/29

43. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE POLEN APÍCOLA FRESCO RECOLECTADO EN EL PÁRAMO DE MISINTÁ DE LOS ANDES VENEZOLANOS

<http://www.scielo.org.ve/pdf/alan/v58n4/art14.pdf>

2013/11/29

44. COMPUESTOS FENÓLICOS .UN ANÁLISIS DE SUS BENEFICIOS PARA LA SALUD

http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet? f=10&pident_art

2013/08/21

45. CONOZCA LOS BENEFICIOS DE LOS NUTRACÉUTICOS

<http://guiafitness.com/conozca-los-beneficios-de-los->

2013/11/29

46. DAÑO OXIDATIVO, RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES

<http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S013865572002000200009>

2013/10/29

47. EL ENVEJECIMIENTO Y EL ESTRÉS OXIDATIVO

<http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S086403002002000300006>

2013/10/14

48. EL VALOR NUTRICIONAL DE LOS ALIMENTOS

<http://escuchatucuerpo.xocs.es/2012/01/el-valor-nutricional-2013/10/26>

49. FORMACIÓN DEL POLEN

<http://es.scribd.com/doc/62207828/FORMACION-DEL-2013/09/14>

50. GUIA DE MEDICINA NATURAL

<http://es.scribd.com/doc/17379118/Guia-de-Medicina-Natural-2013/11/10>

51. LA MIEL

<https://www.udemy.com/lectures/la-miel-198067>
2013/11/28

52. LOS ALIMENTOS NUTRACEÚTICOS, EL FUTURO ALIMENTICIO

<http://www.alimentacionsana.org/PortalNuevo/actualizaciones/2013/09/20>

53. LOS ANTIOXIDANTES

<http://www.salusline.com/index.php?SEC=modulos&MOD=N2013/10/15>

54. LOS NUTRACÉUTICOS. LO QUE ES CONVENIENTE SABER

<http://es.scribd.com/doc/52179970/nutraceuticos>

2013/11/14

55. LOS RADICALES LIBRES Y LAS DEFENSAS ANTIOXIDANTES. REVISIÓN

http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/anales/v57_n4/radicale

2013/10/28

56. MIEL

<http://www.mancomunidadhurdes.org/index.php?opcion=miel>

2013/08/24

57. NUTRACÉUTICOS

<http://www.revistadelaofil.org/Articulo.asp?Id=122>

2013/09/20

58. NUTRACÉUTICOS: COMPONENTE EMERGENTE PARA EL BENEFICIO DE LA SALUD

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120665003&idp=1>

2013/10/20

59. POLEN

<http://www.bonamel.com/pdf/polen.pdf>

2013/11/27

60. POLEN DE ABEJAS

<http://salud.univision.com/es/hierbas-y-suplementos-a-z/polen-2013/10/20>

61. POLEN DE ABEJA

<http://www.med.nyu.edu/content?ChunkIID=124810>
2013/10/20

62. POLEN: PROPIEDADES Y BENEFICIOS

<http://misremedios.com/sustancias/polen/>
2013/09/19

63. POLEN RECONVERTIDO CRINWAY

http://www.crinway.com/Crinway_Cast/EI%20Laboratorio.ht
2013/10/20

64. POLINIZACIÓN

<http://www.acapicenter.com.pe/servicios.html>
2013/10/24

65. POLINIZ@CIÓN

http://polinizacionbio.blogspot.com/2008_11_01_archive.html
2013/11/29

66. PRODUCTOS NATURALES

<http://revistadsalud.blogspot.com/2013/05/productos-naturales-2013/09/18>

67. PROPIEDADES DEL POLEN

<http://www.innatia.com/s/c-propiedades-de-la-miel/a-2013/10/21>

68. RADICALES LIBRES

<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScrip-2013/12/01>

69. RELACIÓN ENTRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y EL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y FLAVONOIDES DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE POLEN DE DISTINTO ORIGEN FLORAL

<http://www.fcai.uncu.edu.ar/upload/47atc-medina-unse.pdf>
2013/12/01

70. TABLA DE CALORIAS

http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=RW0zo5c_Y48C-2013/11/20

**71. TE CONTAMOS QUÉ SON LOS NUTRACÉUTICOS Y CÓMO
FUNCIONAN**

<http://www.revistamaru.com/1547703-sabes-lo-que-son-los->
2013/12/01

72. VITAMINAS Y ANTIOXIDANTES

<http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAM>
2013/11/15

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No. 1 NORMA SALVADOREÑA NSO 65.38.01:04

Calidad del polen de abejas

CORRESPONDENCIA: Esta norma es una adaptación del Reglamento Técnico Mercosur Para la Calidad del Polen Apícola.

ICS 65.140

NSO 65.38.01:04

Editada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, Colonia Médica, Avenida Dr. Emilio Alvarez, Pasaje Dr. Guillermo Rodríguez Pacas, # 51, San Salvador, El Salvador, Centro América. Teléfonos: 226- 2800, 225- 6222; Fax. 225-6255; e-mail: infoq@conacyt.gob.sv.

Derechos Reservados

INFORME

Los Comités Técnicos de Normalización del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, son los organismos encargados de realizar el estudio de las normas. Están integrados por representantes del Sector Productor, Gobierno, Consumidor y Académico.

Con el fin de garantizar un consenso nacional e internacional, los proyectos elaborados por los Comités se someten a un período de consulta pública durante el cual puede formular observaciones cualquier persona.

El estudio elaborado fue aprobado como NSO 65.38.01:04, por el Comité Técnico de Normalización de Productos Apícolas. La oficialización de la norma conlleva la ratificación por Junta Directiva y el Acuerdo Ejecutivo del Ministerio de Economía.

Esta norma está sujeta a permanente revisión con el objeto de que responda en todo momento a las necesidades y exigencias de la técnica moderna. Las solicitudes fundadas para su revisión merecerán la mayor atención del organismo técnico del Consejo:

Departamento de Normalización, Metrología y Certificación de la Calidad.

MIEMBROS PARTICIPANTES DEL COMITÉ 19

<i>Nombre</i>	Institución / Empresa
Mayra García de Vela	MSPAS / Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos y Aguas
Edith Concepción Hernández	MSPAS. Higiene de Alimentos
Roberto Armando Perdomo	MAG. DGSVA
José German Vides	Apiarios Vides Silva
Sandra Arévalo	Dirección de Protección al Consumidor, MINEC
Napoleón Edgardo Paz Quevedo	Facultad de Ingeniería Agronómica, UES
Elisa Peña de Valiente	VAPE S.A. de C.V.
Jaime Díaz	Don Alvaro S.A.
Raquelina de Huevo	SwissContact / ProEmpresa
Claudia Verónica Alfaro	Laboratorio de Servicios De Química Agrícola. Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, UCA
Aracely Artiga Machuca	Laboratorio de Servicios De Química Agrícola. Universidad Centroamericana José Simeón Cañas, UCA
Zoila Isabel de Alarcón	Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. UES
Marta Alicia de Portillo	Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador UES
Evelyn Xiomara Castillo	CONACYT

1. OBJETO

Establecer las características y requisitos mínimos de calidad que debe tener el polen de abejas para consumo humano.

2. CAMPO DE APLICACION

La presente norma se refiere al polen de abejas destinado al comercio nacional e internacional.

3. DEFINICIONES

3.1 Impurezas: son partículas macroscópicas tales como: resto de vegetales, abejas y otros insectos o partes de ellos, larvas, piedras, metales, excretas de insectos o roedores, etc.

3.2 Polen de abejas: gameto masculino producido por las anteras de las flores, colectado y transportado por las abejas, aglutinado con saliva y néctar que el apicultor recolecta en trampas especiales para este fin.

3.3 Polen de abejas deshidratado: es el producto sometido a un proceso de deshidratación a una temperatura no superior a 42 °C y con un contenido de humedad no superior al 4%

3.4 Polen de abejas en polvo: es el polen seco formado por gránulos (menor o igual a 1 mm de diámetro) y polvo de polen procedente de la disgregación de gránulos mayores separados durante el proceso de secado y limpieza del polen granulado.

3.5 Polen de abejas fresco: es aquel recién recolectado que no ha sido sometido a procesos de deshidratación y conservado por congelación.

3.6 Polen de abejas granulado: comprende gránulos entre 1 y 4 mm de diámetro, seleccionados después del proceso de secado y limpieza.

3.7 Polen monocolor: es el polen granulado o en polvo con una coloración natural predominante en un mínimo del 85%.

3.8 Polen multicolor: es el polen granulado o en polvo, que presenta gránulos de diferente coloración natural de acuerdo a su origen botánico.

4. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

Símbolo / Abreviatura	Significado
°C	Grado Celsius
%	Porcentaje
AOAC	Asociación Oficial de Química Analítica
CAC	Comisión del Codex Alimentarius
ELISA	Prueba de inmunoabsorbancia ligada a enzimas
FAO	Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
ICS	Código Internacional Normado
MEq / kg	Miliequivalentes por kilogramo
Mm	Milímetro
NSO	Norma Salvadoreña Obligatorio
NSR	Norma Salvadoreña Recomendada
OMS	Organización Mundial de la Salud
PET	Tereftalato de Polietileno
Ppb	Partes por billón
UFC / g	Unidades Formadoras de Colonias por gramo

5. CLASIFICACION Y DESIGNACION

5.1. CLASIFICACION

Todo polen de abejas, independientemente de su clasificación, deberá cumplir los requisitos indicados en el punto 6.2.

5.1.1. Por su contenido de humedad

- a) Fresco
- b) Deshidratado

5.1.2. Por su presentación

- a) Granulado
- b) En polvo

5.1.3. Por su origen geográfico: detallando el país, zona, lugar o localidad de donde haya sido recolectado.

5.1.4. Por su origen botánico: especificando la(s) especie(s) o tipo de vegetación de donde procede.

5.1.5. Por su coloración

- a) Monocolor
- b) Multicolor

5.2. DESIGNACION

Podrá designarse como Polen de abejas, Polen apícola o Polen, pudiéndose agregar su clasificación, según lo indicado en el punto 5.1, en caracteres no mayores a los de la palabra "Polen".

6. COMPOSICION Y REQUISITOS

6.1. COMPOSICION

El polen de abejas está compuesto de proteínas, lípidos, azúcares, fibra, sales minerales, aminoácidos, vitaminas, enzimas y flavonoides.

6.2. REQUISITOS

6.2.1. Características sensoriales

- a) Olor: característico dependiendo de su origen botánico, pudiendo variar de leve a intenso.
- b) Color: puede presentar las siguientes coloraciones: blanco, negro, amarillo, naranja, rojo, verde y violeta, variando tonalidad conforme su origen botánico.
- c) Sabor: puede ser amargo, picante o dulce.
- d) Consistencia: el polen granulado debe ser pulverizable al tacto.

6.2.2. Características físico químicas

- a) Humedad
 - Polen de abejas fresco: máximo 30%
 - Polen de abejas deshidratado: máximo 4%
- b) Cenizas: máximo 4% en base seca
- c) Acidez Libre: máximo 300 mEq/kg
- d) pH: 4 a 6

6.2.3. Aditivos

Se prohíbe expresamente la utilización de cualquier tipo de aditivos.

6.2.4. Higiene

El polen deberá estar exento de impurezas y no exceder los niveles tolerables para contaminantes microbiológicos o residuos tóxicos, establecidos en el punto 6.2.5, 6.2.6 y 6.2.7.

Su obtención y manipulación deberá realizarse de conformidad con los aspectos recomendados por la NRS 67.00.241:99 “Código de Prácticas de Principios Generales de Higiene de los Alimentos”

6.2.5. Criterios microbiológicos

El polen de abejas debe cumplir con las siguientes características microbiológicas:

- Recuentos de colonias aerobias mesófilas (31 ± 1 °C): máximo 1 x 10⁴ UFC/g
- Hongos y Levaduras: 3 x 10² UFC/g
- Salmonella sp: ausencia
- Coliformes totales y fecales: ausencia

6.2.6. Criterios macroscópicos

El producto no deberá contener impurezas de cualquier naturaleza.

6.2.7. Residuos

GRUPO DE SUSTANCIAS	SUSTANCIAS	Limite Máximo de Residuo	USO EN LA APICULTURA	POSIBLE FUENTE
ANTIBIOTICOS	Cloranfenicol	No Detectable	Antibiotico	Productos Veterinarios
	Estreptomicina	200 ppb		
	Sulfonamidas	No Detectable		
	Tetraciclina	100 ppb		
	Nitrofuranos	No Detectable		
	Otros Antibióticos	100 ppb		
PIRETROIDES	Flumetrina	No Requiere	Varroicida	Productos Veterinarios
	Tau Fluvalinato	No Requiere		
ORGANOCLORADOS	Aldrín	No Detectable	Ninguno	Agroquímicos
	Alfa BHC	No Detectable		
	DDT	No Detectable		
	Dieldrín	No Detectable		
	Endrín	No Detectable		
	Heptacloro	No Detectable		
	Heptacloro Epoxido	No Detectable		
	Lindano	No Detectable		
	Mirex	No Detectable		
	TDE	No Detectable		
ORGANOFOSFORADO	Coumaphos	100 ppb	Varroicida	Productos Veterinarios
	Diazón	No Detectable	Ninguno	Agroquímicos
	Ethión	No Detectable		
	Malathión	No Detectable		

	Methyl Parathión	No Detectable		
DERIVADOS DE LA TIAZOLIDINA	Ciamizol	1000 ppb	Varroicida	Productos Veterinarios
CLORADO	Bromopropilato	No Detectable	Varroicida	Productos Veterinarios
FORMAMIDINA	Amitraz	200 ppb	Varroicida	Productos Veterinarios
ACIDOS ORGANICOS	Acido Fórmico	No Requiere	Varroicida	Productos Veterinarios
	Acido Láctico	No Requiere		
	Acido Oxálico	No Requiere		
METALES PESADOS	Mercurio	No Detectable	Ninguno	Contaminación Ambiental
	Plomo	No Detectable		

6.2.8 Envasado

El polen de abejas se envasará en recipientes con cierre que impida que el producto absorba humedad. Los envases podrán ser de vidrio o pet.

6.2.9 Acondicionamiento

El polen de abejas debe ser embalado con materiales adecuados y mantenerse en ambiente fresco y seco, que le confieran al producto una protección adecuada.

7. MUESTREO

7.1 Planes de muestreo

Se realizará de acuerdo con el procedimiento establecido en la norma del Codex Alimentarius FAO/OMS. Planes de Muestreo para alimentos Preenvasados (CAC/RM 42-1969) Volumen XIII.

8. METODOS DE ANALISIS

Los parámetros correspondientes a los puntos 6.2.2, 6.2.5 y 6.2.7 de esta norma, serán determinados según se indica a continuación:

- Humedad: AOAC, 17ª Edición, 2003
- Cenizas (Minerales): AOAC, 17ª Edición, 2003.
- Acidez libre: AOAC, 17ª Edición, 2003
- pH: AOAC, 17ª Edición, 2003
- Recuentos de colonias aerobias mesófilas: AOAC, Bacteriological Analytical Manual, 8ª Edición, 1995
- Hongos y Levaduras: AOAC, Bacteriological Analytical Manual, 8ª Edición, 1995
- Salmonella s.p.: AOAC, Bacteriological Analytical Manual, 8ª Edición, 1995
- Coliformes Totales y Fecales: AOAC, Bacteriological Analytical Manual, 8ª Edición, 1995
- Antibioticos: ELISA

- Piretroides: HPLC
- Organoclorados, Organofosforados, Derivados de la Tiazolidina, Clorado y Formamidina: Cromatografía de Gases.
- Metales pesados: Absorción atómica.

9. ROTULADO

Se aplicarán los requisitos establecidos en la NSO 67.10.01:03 “Etiquetado General para Alimentos Preenvasados”. Primera Actualización.

Se aplicarán los requisitos establecidos en la NSO 67.10.02:99 “Directrices del Codex Alimentarius sobre Etiquetado Nutricional”.

La vida útil del producto será tal que se garantice el cumplimiento de los factores esenciales de calidad e higiene establecidos en esta norma.

La etiqueta debe incluir la siguiente leyenda: **"Personas alérgicas al polen deben abstenerse de consumir este producto"**.

10. APÉNDICE

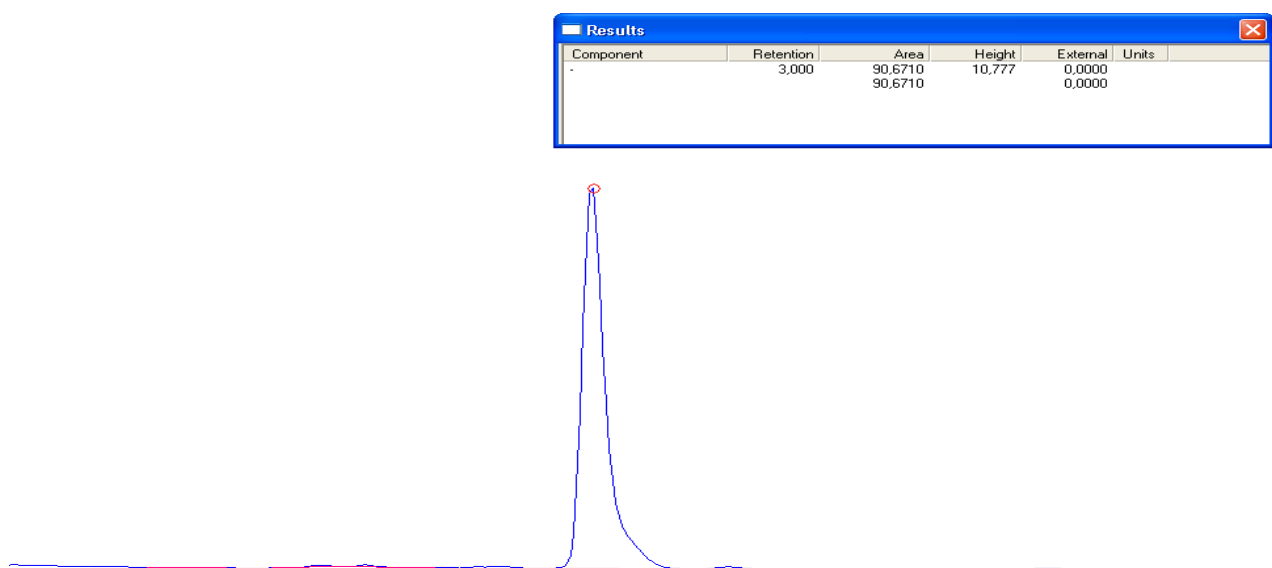
10.1 NORMAS QUE SE DEBEN CONSULTAR

- NSO 67.10.01:03 “Etiquetado General para Alimentos Preenvasados”
- NSO 67.10.02:99 “Directrices del Codex Alimentarius sobre Etiquetado Nutricional”
- NSR 67.00.241:02 “Código de Prácticas de Principios Generales de Higiene de los Alimentos”
- Codex Alimentarius FAO/OMS. Planes de Muestreo para Alimentos Preenvasados (CAC/RM 1995) Volumen XIII

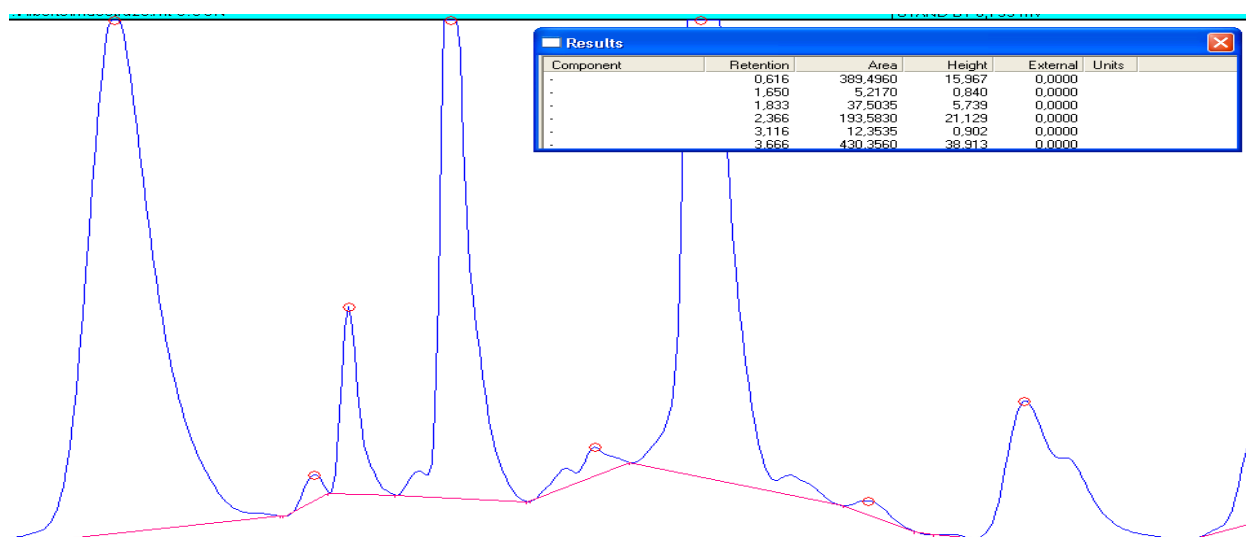
11. CUMPLIMIENTO Y VERIFICACIÓN

Corresponde al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, a la Dirección de Sanidad Vegetal y Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería y a la Dirección de Protección al Consumidor del Ministerio de Economía, velar por el cumplimiento de esta norma obligatoria.

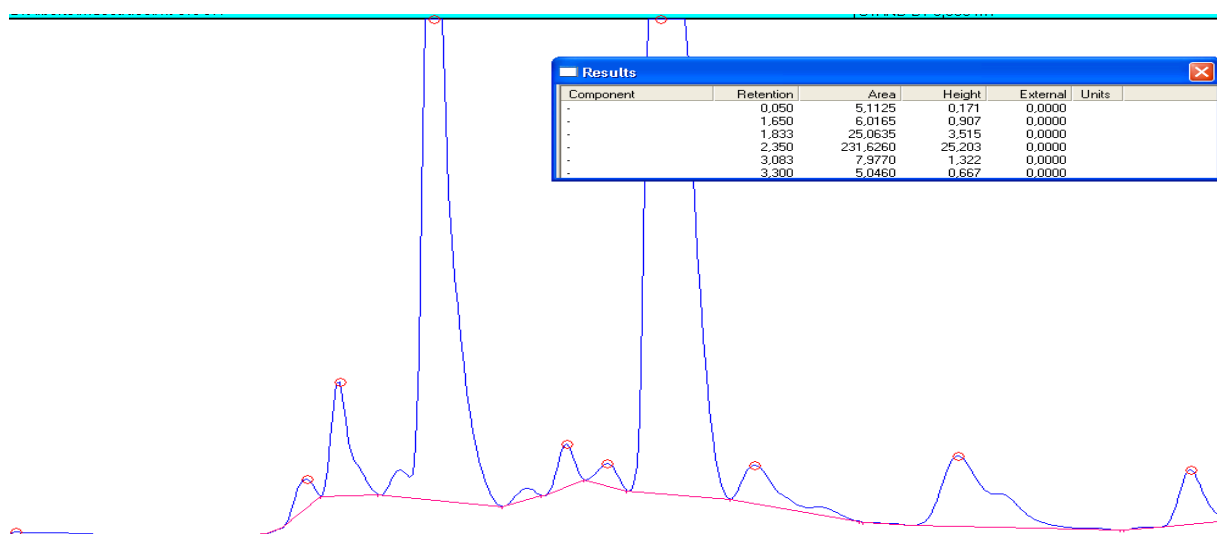
ANEXO No. 2 CROMATOGRAMA DEL ESTÁNDAR DE VITAMINA C.



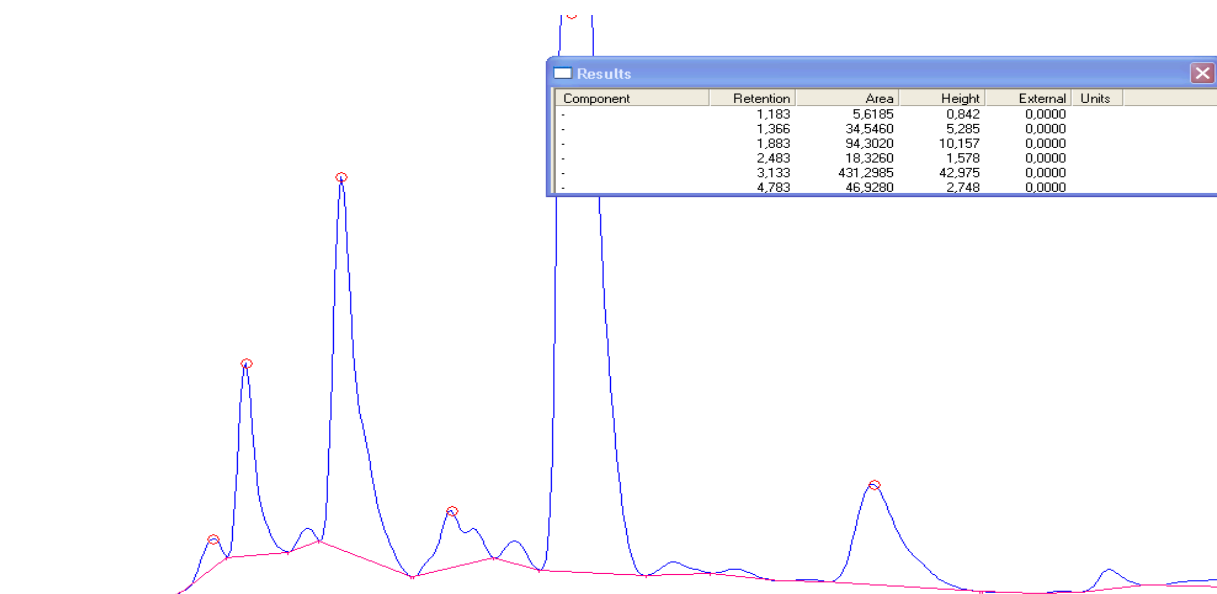
ANEXO No. 3 CROMATOGRAMA DE VITAMINA C EN LA MUESTRA DE POLEN DE LA ZONA DE GATAZO.



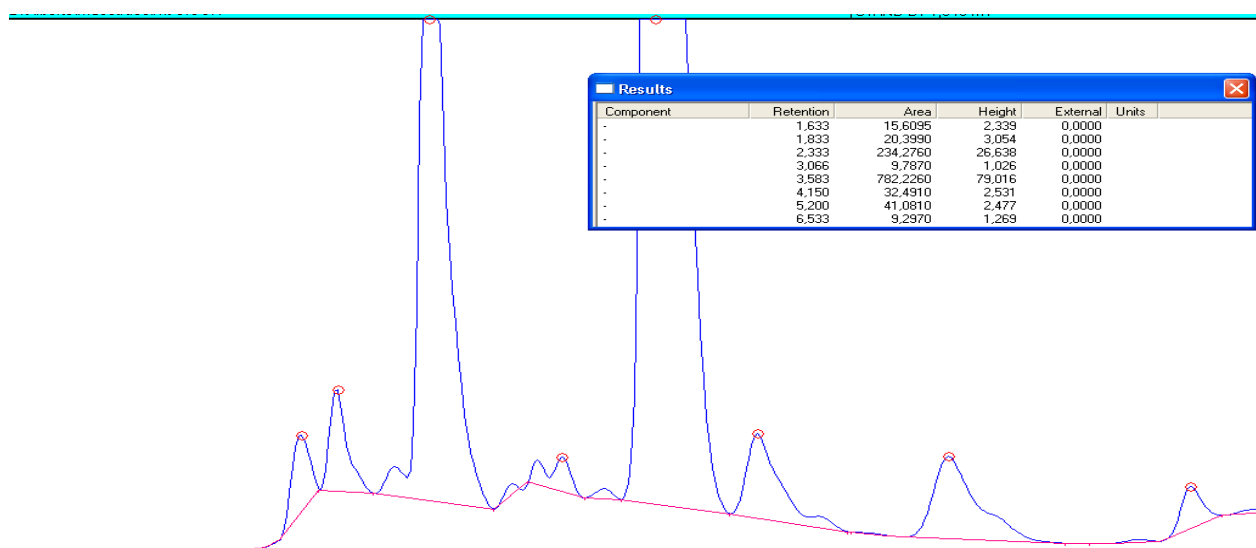
ANEXO No. 4 CROMATOGRAMA DE VITAMINA C EN LA MUESTRA DE POLEN DE LA ZONA DE PALACIO REAL.



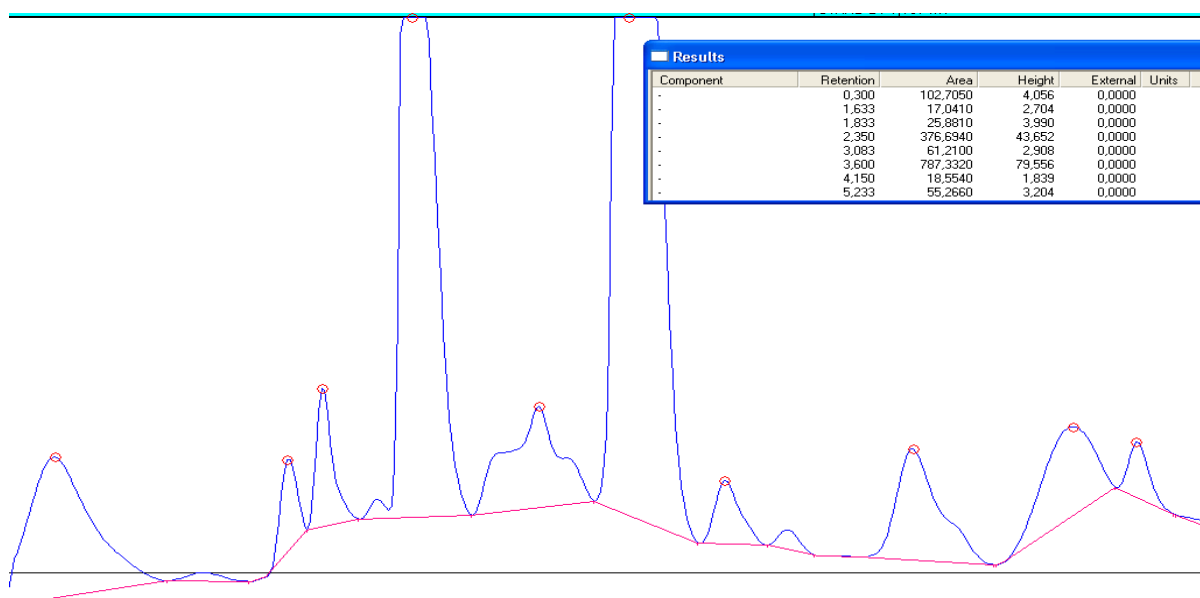
ANEXO No. 5 CROMATOGRAMA DE VITAMINA C EN LA MUESTRA DE POLEN DE LA ZONA DE NITILUIZA.



ANEXO No. 6 CROMATOGRAMA DE VITAMINA C EN LA MUESTRA DE POLEN DE LA ZONA DE CHAMBO.



ANEXO No. 7 CROMATOGRAMA DE VITAMINA C EN LA MUESTRA DE POLEN DE LA ZONA DE LA PARROQUIA VIRGEN DE FÁTIMA.



ANEXO No. 8 CROMATOGRAMAS DEL BARRIDO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DEL POLEN DE LAS 5 ZONAS: GATAZO, PALACIO REAL, NITILUIZA, CHAMBO Y LA PARRÓQUIA VIRGEN DE FÁTIMA A UNA LONGITUD DE ONDA DE 200 A 600 nm.

GATAZO

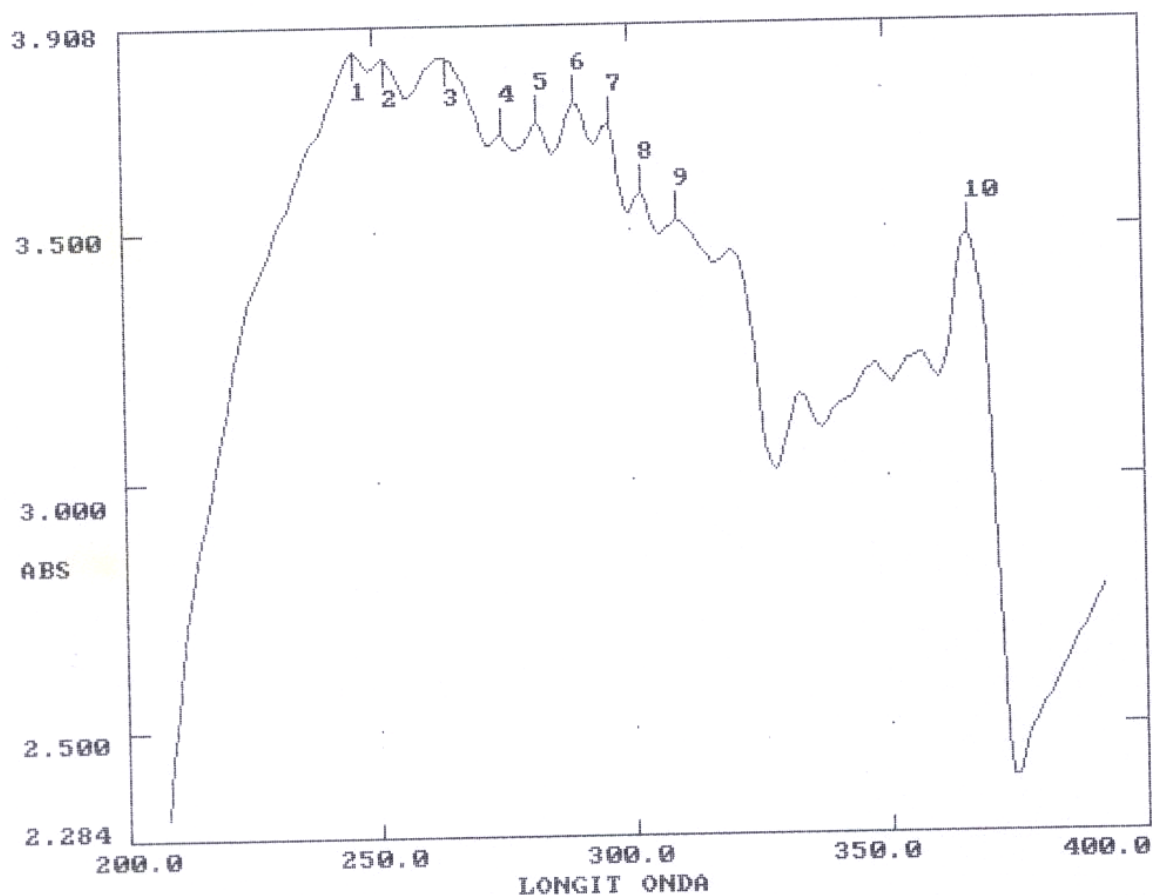
HEXIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60

PAGI. 1

FECHA:14/11/13 SERIE No:140113 ID :
HORA :11:29:12 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
LIN BASE:USUARIO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:325nm
SUAVIZANDO: MEDIO

		PICOS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
λnm	246.0	252.0	264.0	275.0	282.0	289.0	296.0	302.0	309.0	366.0	
ABS	3.863	3.846	3.847	3.689	3.715	3.753	3.709	3.574	3.518	3.483	



PALACIO REAL

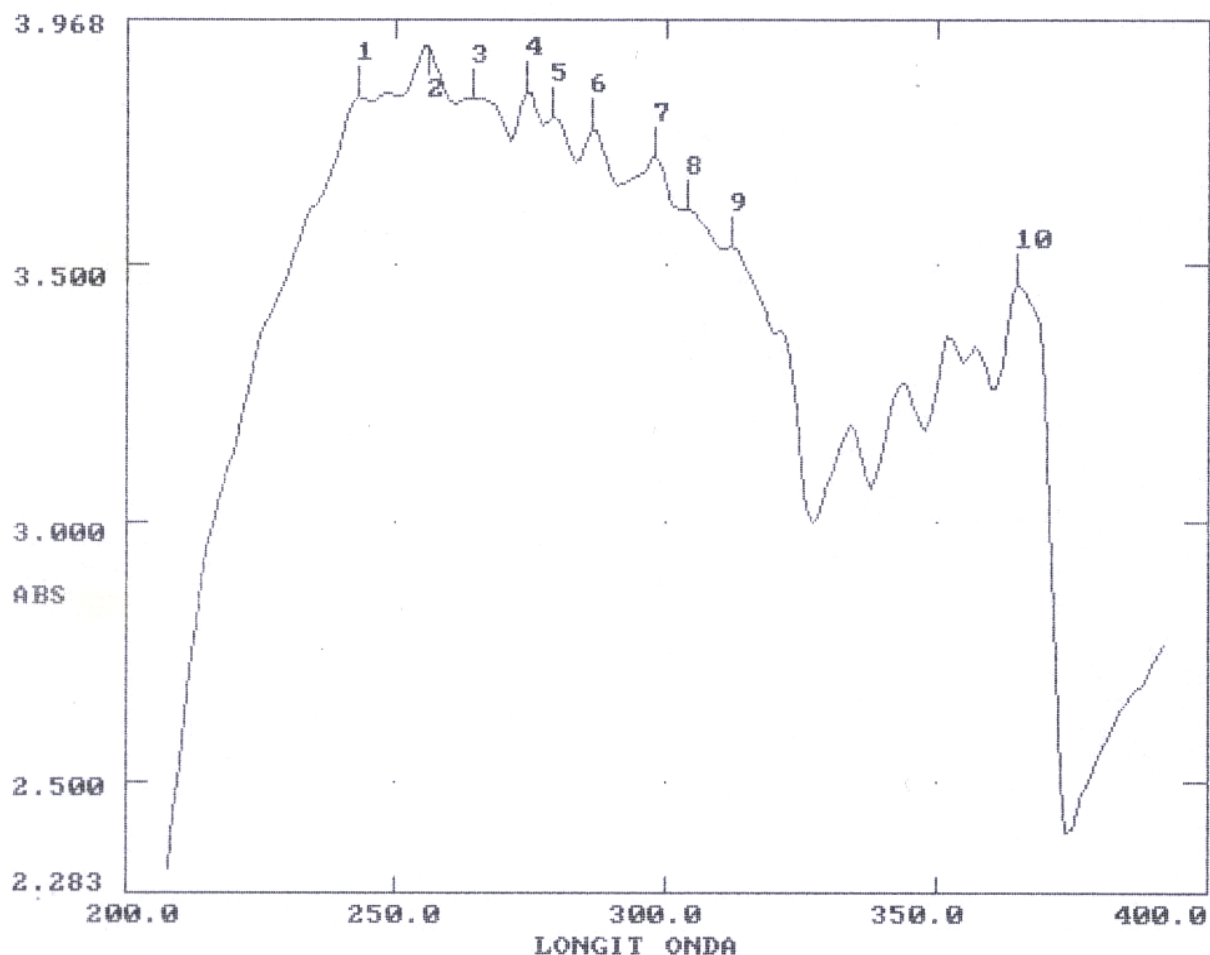
HEXIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60

PAGI. 1

FECHA:14/11/13 SERIE No:140113 ID :
HORA :11:33:40 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
LIN BASE:USUARIO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:325nm
SUAVIZANDO: MEDIO

PICOS										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λ_{nm}	243.0	256.0	264.0	274.0	279.0	286.0	298.0	304.0	312.0	365.0
ABS	3.823	3.921	3.820	3.834	3.784	3.761	3.707	3.606	3.536	3.463



NITILUIZA

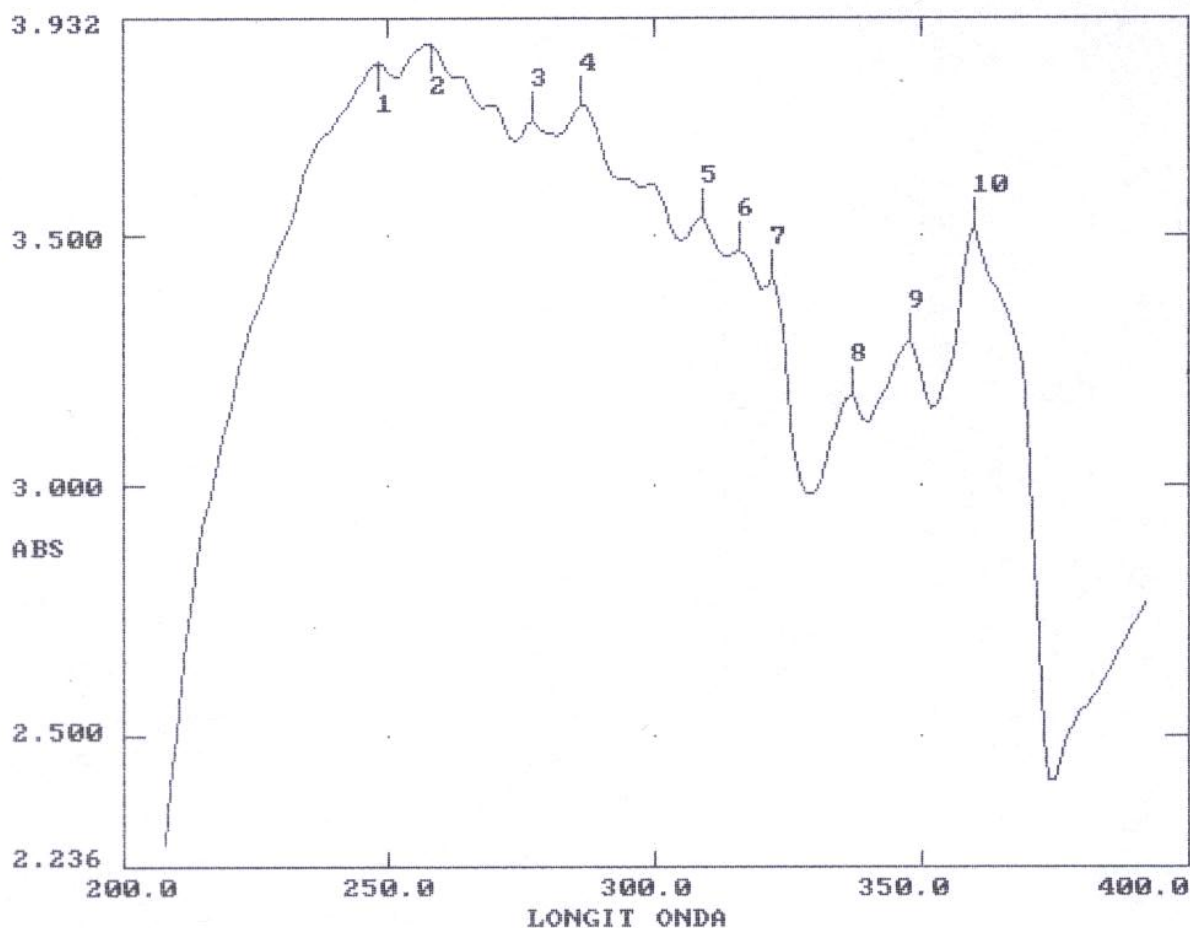
HEXIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60

PAGI. 1

FECHA:14/11/13 SERIE No:140113 ID :
HORA :11:36:52 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
LIN BASE:USUARIO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:325nm
SUAUIZANDO: MEDIO

PICOS										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
λnm	248.0	258.0	277.0	286.0	309.0	316.0	322.0	337.0	348.0	360.0
ABS	3.846	3.884	3.728	3.763	3.537	3.468	3.414	3.176	3.283	3.516



CHAMBO

HEXIOSB ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60

PAGI. 1

FECHA:14/11/13

SERIE No:140113

ID :

HORA :11:40:10

OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN

VELOC:NORMAL

INT DATO:1.0nm

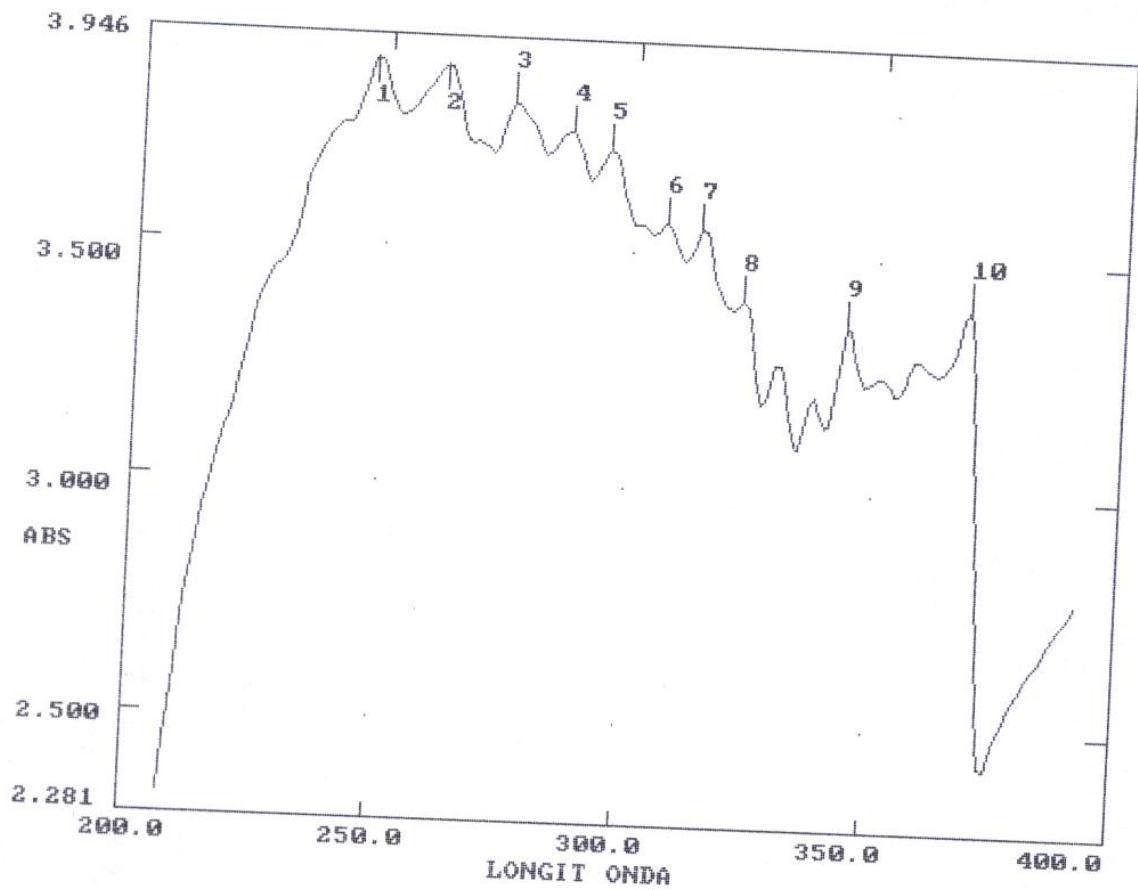
LIN BASE:USUARIO

ANCHOBANDA:2.0nm

CAMBIAR LAMP:325nm

SUAVIZANDO: MEDIO

		PICOS									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λ nm		247.0	261.0	275.0	287.0	295.0	307.0	314.0	323.0	344.0	369.0
ABS		3.899	3.888	3.816	3.753	3.719	3.566	3.556	3.408	3.359	3.409



PARROQUIA VIRGEN DE FÁTIMA

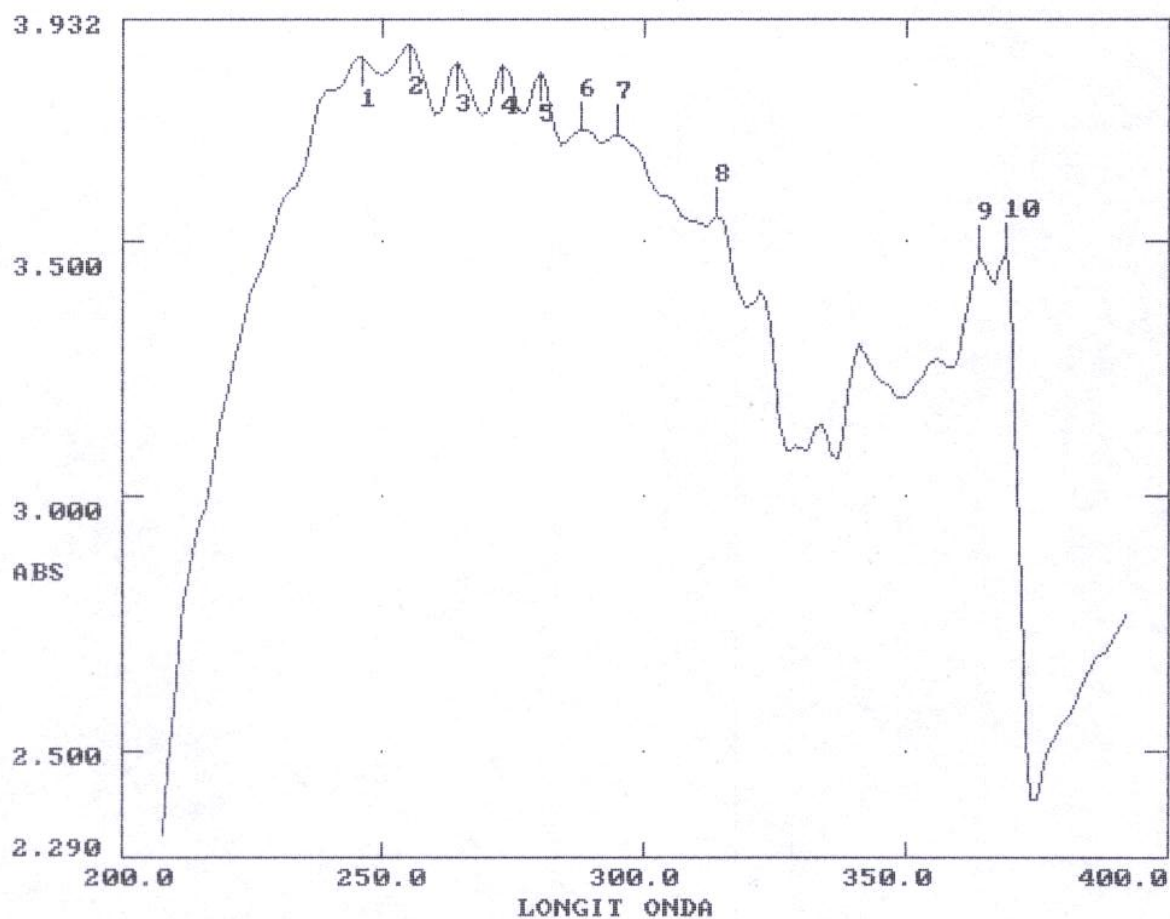
HELIOSP ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE v4.60

PAGI. 1

FECHA:14/11/13 SERIE No:140113 ID :
HORA :11:44:44 OPERARIO :

TIPO BARR:INTELIGEN VELOC:NORMAL INT DATO:1.0nm
LIN BASE:USUARIO ANCHOBANDA:2.0nm CAMBIAR LAMP:325nm
SUAVIZANDO: MEDIO

PICOS										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λ nm	246.0	255.0	264.0	273.0	280.0	288.0	295.0	314.0	364.0	369.0
ABS	3.860	3.886	3.849	3.848	3.833	3.718	3.709	3.549	3.472	3.480



ANEXO No. 9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTROL DE CALIDAD DEL POLEN DE LAS 5 ZONAS APÍCOLAS.

CUADRO No.13 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE HUMEDAD.

ANOVA

PORCENTAJE HUMEDAD

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	18,508	4	4,627	191,731	,000
Intra-grupos	,241	10	,024		
Total	18,750	14			

PORCENTAJE HUMEDAD

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CHAMBO	3	6,6900		
GATAZO	3	7,0267	7,0267	
PAL. REAL	3		7,1267	
NITILUIZA	3		7,1800	
VIRGEN DE FAT.	3			9,7500
Sig.		,133	,747	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 14 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE CENIZAS.

ANOVA

PORCENTAJE DE CENIZAS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,799	4	,450	269,830	,000
Intra-grupos	,017	10	,002		
Total	1,816	14			

PORCENTAJE DE CENIZAS

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
VIRGEN DE FAT.	3	2,7000			
NITILUIZA	3		2,8767		
GATAZO	3			3,3700	
CHAMBO	3			3,4000	
PAL. REAL	3				3,6200
Sig.		1,000	1,000	,891	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 15 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE PROTEINA.

ANOVA

PORCENTAJE DE PROTEINA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	18,759	4	4,690	17,864	,000
Intra-grupos	2,625	10	,263		
Total	21,384	14			

PORCENTAJE DE PROTEINA

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
VIRGEN DE FAT.	3	23,9300		
CHAMBO	3	24,9600	24,9600	
NITILUIZA	3		25,3100	
GATAZO	3		26,3100	26,3100
PAL. REAL	3			27,1767
Sig.		,176	,055	,302

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 16 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE GRASA.

ANOVA

PORCENTAJE DE GRASA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	7,807	4	1,952	294,826	,000
Intra-grupos	,066	10	,007		
Total	7,873	14			

PORCENTAJE DE GRASA

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
NITILUIZA	3	1,4400			
GATAZO	3		1,8367		
PAL. REAL	3		1,8600		
CHAMBO	3			2,5167	
VIRGEN DE FAT.	3				3,4967
Sig.		1,000	,996	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 17 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE FIBRA.

ANOVA

PORCENTAJE DE FIBRA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	19,324	4	4,831	24,902	,000
Intra-grupos	1,940	10	,194		
Total	21,264	14			

PORCENTAJE DE FIBRA

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
GATAZO	3	2,3667		
PAL. REAL	3		3,6000	
NITILUIZA	3		3,7667	
CHAMBO	3			5,2000
VIRGEN DE FAT.	3			5,4667
Sig.		1,000	,989	,941

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 18 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE AZÚCARES.

ANOVA

PORCENTAJE DE AZÚCARES

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4418,812	4	1104,703	331,604	,000
Intra-grupos	33,314	10	3,331		
Total	4452,126	14			

PORCENTAJE DE AZÚCARES

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
CHAMBO	3	33,4667			
VIRGEN DE FAT.	3	34,7633			
GATAZO	3		60,9167		
PAL. REAL	3			66,8267	
NITILUIZA	3				75,6667
Sig.		,902	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 19 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL pH.

ANOVA

pH

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,054	4	,513	43,002	,000
Intra-grupos	,119	10	,012		
Total	2,173	14			

pH

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
GATAZO	3	4,9267	
PAL. REAL	3	5,0067	
NITILUIZA	3	5,0500	
CHAMBO	3		5,7000
VIRGEN DE FAT.	3		5,7867
Sig.		,651	,862

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 20 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA LA ACIDEZ.

ANOVA

ACIDEZ

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,011	4	,003	4,759	,021
Intra-grupos	,006	10	,001		
Total	,017	14			

ACIDEZ

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
VIRGEN DE FAT.	3	,3067	
PAL. REAL	3	,3067	
NITILUIZA	3	,3200	,3200
GATAZO	3	,3267	,3267
CHAMBO	3		,3800
Sig.		,842	,072

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 21 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE VITAMINA C.

ANOVA

PORCENTAJE VITAMINAC

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,158	4	,289	67,873	,000
Intra-grupos	,043	10	,004		
Total	1,200	14			

PORCENTAJE VITAMINAC

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
GATAZO	3	,1693		
CHAMBO	3	,1960		
PAL. REAL	3	,2890		
NITILUIZA	3		,5937	
VIRGEN DE FAT.	3			,8953
Sig.		,239	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 22 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE CENIZAS SOLUBLES EN H2O.

ANOVA

PORCENTAJE CEN.SOL.H2O

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,557	4	,889	35,184	,000
Intra-grupos	,253	10	,025		
Total	3,810	14			

PORCENTAJE CEN.SOL.H2O

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
PAL. REAL	3	,7100		
NITILUIZA	3		1,1867	
GATAZO	3		1,2200	
VIRGEN DE FAT.	3			1,7367
CHAMBO	3			2,1200
Sig.		1,000	,999	,084

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 23 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE CENIZAS INSOLUBLES EN HCL.

ANOVA

PORCENTAJE CEN.INSOL.HCL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	10,291	4	2,573	17,902	,000
Intra-grupos	1,437	10	,144		
Total	11,728	14			

PORCENTAJE CEN.INSOL.HCL

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
VIRGEN DE FAT.	3	,2467		
CHAMBO	3	,4167	,4167	
NITILUIZA	3	,8667	,8667	
GATAZO	3		1,3967	
PAL. REAL	3			2,5467
Sig.		,330	,061	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

ANEXO No. 10 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA COMO PATRÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES.

CUADRO No. 24 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES USANDO RUTINA COMO PATRÓN EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60, 80 Y 100 PPM.

Concentración (ppm)	Absorbancia a 510 nm
20	0,222
40	0,435
60	0,647
80	0,86
100	1,073

FUENTE: LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

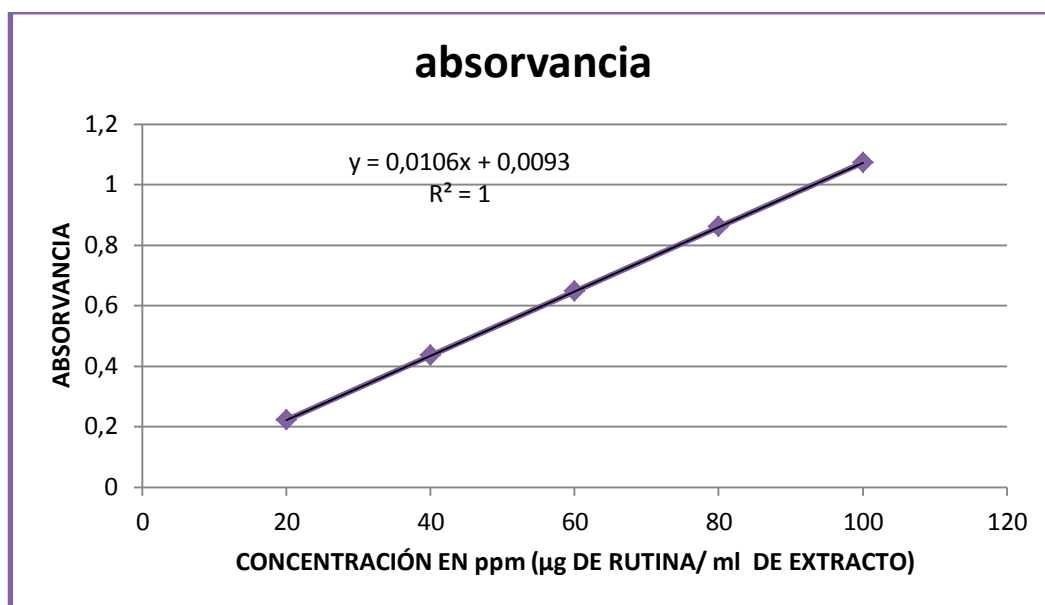


GRÁFICO No. 21 CURVA DE ABSORBANCIA VS CONCENTRACIÓN DE RUTINA EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60, 80 Y 100 PPM, PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES.

FUENTE: LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

ANEXO No. 11 ELABORACIÓN DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO COMO PATRÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS.

CUADRO No. 25 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES USANDO ÁCIDO GÁLICO COMO PATRÓN EN CONCENTRACIONES DE 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 Y 2 000 PPM.

Concentración (ppm)	Absorbancia a 765 nm
500	0,558
800	0,819
1 100	1,055
1 400	1,287
1 700	1,476
2 000	1,735

FUENTE: LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2013.

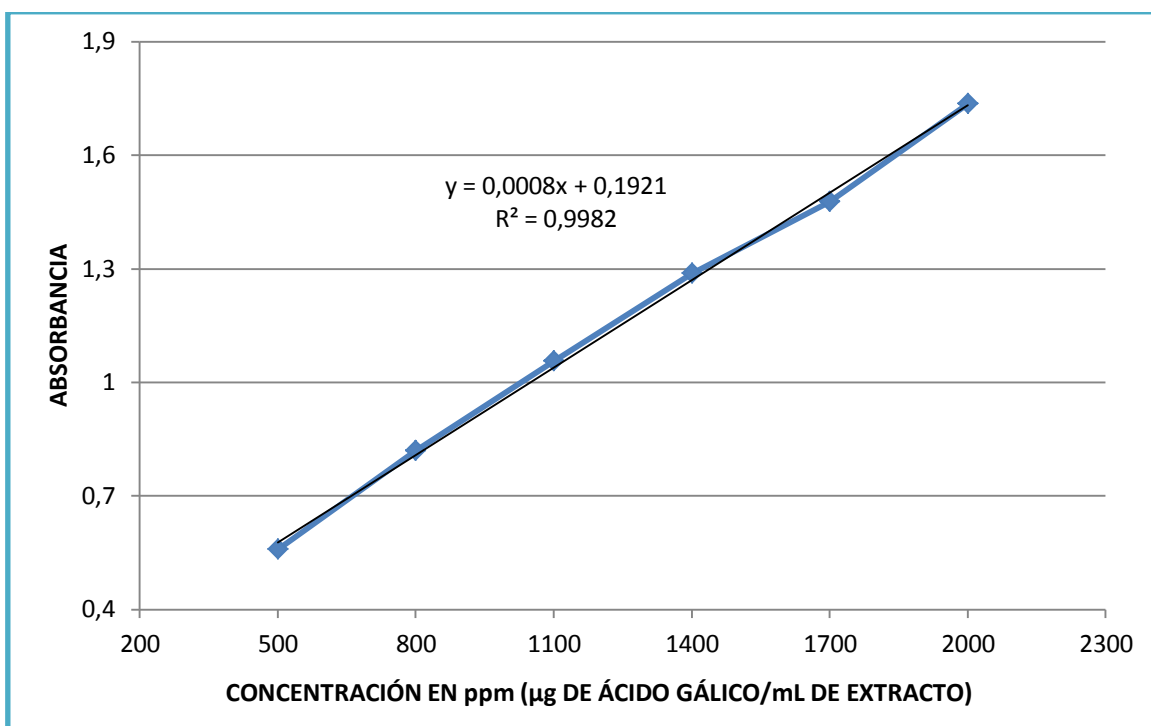


GRÁFICO No. 22 CURVA DE ABSORBANCIA VS CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO EN CONCENTRACIONES DE 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 Y 2 000 PPM PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES.

FUENTE: LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2013.

ANEXO No. 12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES Y COMPUESTOS FENÓLICOS. PROGRAMA ESTADÍSTICO SPSS 19. SOFTWARE LIBRE.

CUADRO No. 26 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES.

ANOVA

PORCENTAJE FLAVONOIDES

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	747,365	4	186,841	1237,359	,000
Intra-grupos	1,510	10	,151		
Total	748,875	14			

PORCENTAJE FLAVONOIDES

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
GATAZO	3	31,4833				
NITILUIZA	3		44,2467			
PAL. REAL	3			45,8533		
CHAMBO	3				48,5600	
VIRGEN DE FAT.	3					52,3300
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 27 ANOVA Y TEST DE TUKEY A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DE 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS.

ANOVA

PORCENTAJE FENOLES

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1501193,333	4	375298,333	37529,833	,000
Intra-grupos	100,000	10	10,000		
Total	1501293,333	14			

PORCENTAJE FENOLES

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
VIRGEN DE FAT.	3	2384,0467				
PAL. REAL	3		2519,8800			
CHAMBO	3			2594,4633		
GATAZO	3				2819,0467	
NITILUIZA	3					3287,3800
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

ANEXO No. 13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LOS EXTRACTOS A CONCENTRACIONES DE 10, 100 Y 1 000 ppm. PROGRAMA ESTADÍSTICO SPSS 19. SOFTWARE LIBRE.

CUADRO No. 28 ANOVA Y TEST DE TUKEY Y A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DEL 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LOS EXTRACTOS A CONCENTRACIÓN DE 10 ppm.

ANOVA

PORCENTAJE ANTIOX.10PPM

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	276,450	4	69,112	48,963	,000
Intra-grupos	14,115	10	1,412		
Total	290,565	14			

PORCENTAJE ANTIOX.10PPM

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
GATAZO	3	37,3433		
PAL. REAL	3		42,0233	
NITILUIZA	3		42,8600	
VIRGEN DE FAT.	3			48,6200
CHAMBO	3			48,6200
Sig.		1,000	,904	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 29 ANOVA Y TEST DE TUKEY Y A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DEL 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LOS EXTRACTOS A CONCENTRACIÓN DE 100 ppm.

ANOVA

PORCENTAJE ANTIOX.100PPM

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	249,763	4	62,441	11,159	,001
Intra-grupos	55,956	10	5,596		
Total	305,719	14			

PORCENTAJE ANTIOX.100PPM

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
GATAZO	3	41,6433		
PAL. REAL	3	42,6067		
NITILUIZA	3	44,6100	44,6100	
CHAMBO	3		50,1667	50,1667
VIRGEN DE FAT.	3			51,7967
Sig.		,564	,095	,911

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

CUADRO No. 30 ANOVA Y TEST DE TUKEY Y A NIVEL DE SIGNIFICANCIA DEL 0,05 Y CONFIANZA DEL 95,00 % PARA EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LOS EXTRACTOS A CONCENTRACIÓN DE 1000 ppm.

ANOVA

PORCENTAJE ANTIOX.1000PPM

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1082,942	4	270,736	13,219	,001
Intra-grupos	204,814	10	20,481		
Total	1287,756	14			

PORCENTAJE ANTIOX.1000PPM

HSD de Tukey^a

MUESTRAS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
PAL. REAL	3	32,1233		
GATAZO	3	40,7700	40,7700	
NITILUIZA	3	41,8933	41,8933	
CHAMBO	3		51,8800	51,8800
VIRGEN DE FAT.	3			56,0167
Sig.		,135	,078	,793

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

ANEXO No. 14. RECOLECCIÓN DE LAS MATERIAS PRIMAS.

RECOLECCIÓN



FOTOGRAFÍA No. 5 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE POLEN

ANEXO No. 15. CONTROL DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS DE POLEN.

HUMEDAD



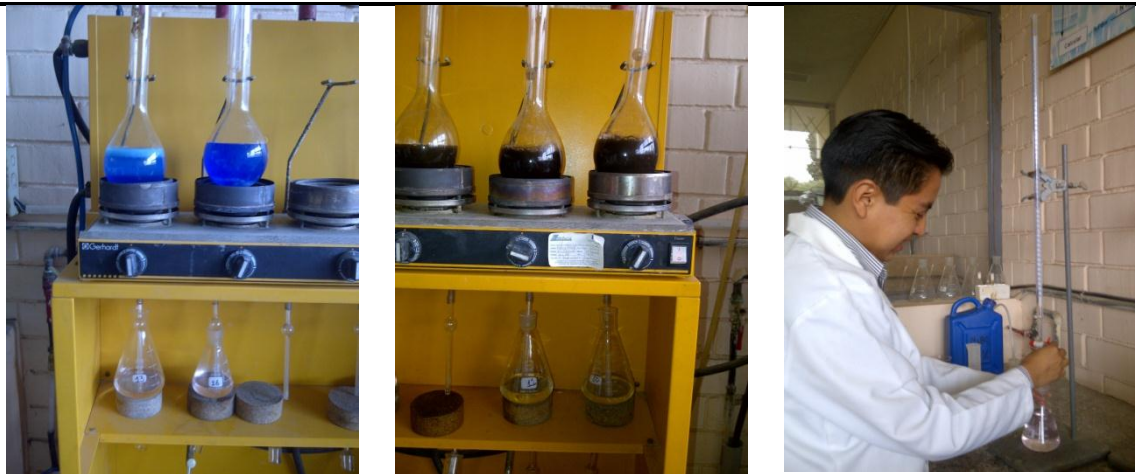
FOTOGRAFÍA No. 6 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

CENIZAS



FOTOGRAFÍA No. 7 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

PROTEÍNA



FOTOGRAFÍA No. 8 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

GRASA





FOTOGRAFÍA No. 9 DETERMINACIÓN DE GRASA

FIBRA



FOTOGRAFÍA No. 10 DETERMINACIÓN DE FIBRA

AZÚCARES REDUCTORES



FOTOGRAFIA No. 11 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

pH Y ACIDEZ



FOTOGRAFIA No. 12 DETERMINACIÓN DE pH Y ACIDEZ

VITAMINA C



FOTOGRAFIA No. 13 DETERMINACIÓN DE VITAMINA C

ANEXO No. 16 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS.

CENIZAS SOLUBLES EN AGUA



FOTOGRAFIA No. 14 DETERMINACION DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

CENIZAS INSOLUBLES EN HCL



FOTOGRAFIA No. 15 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN HCL

EXTRACTOS ETANÓLICOS



FOTOGRAFIA No. 16 PREPARACION DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS

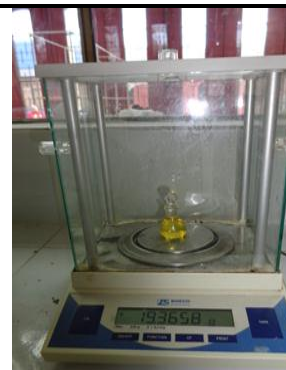
ÍNDICE DE REFRACCIÓN, pH Y DENSIDAD RELATIVA



INDICE DE REFRACCION



PH



DENSIDAD RELATIVA

FOTOGRAFÍA No. 17 DETERMINACION DE IR, pH Y DENSIDAD RELATIVA

ANEXO No. 17 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS.

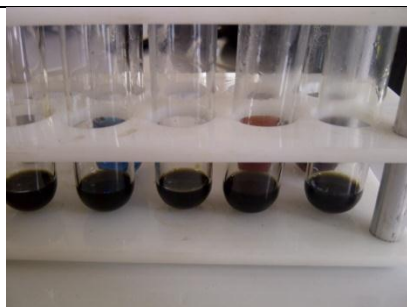
TAMIZAJE FITOQUÍMICO



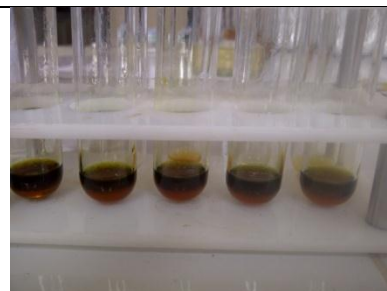
RESINAS



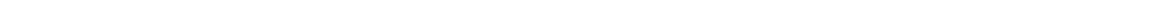
CATEQUINAS



SHINODA

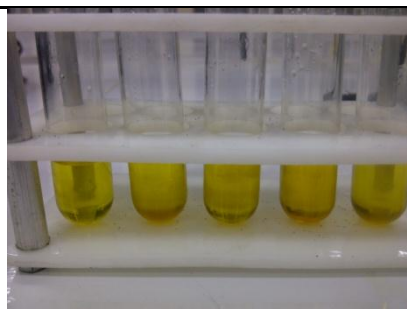


AICI3

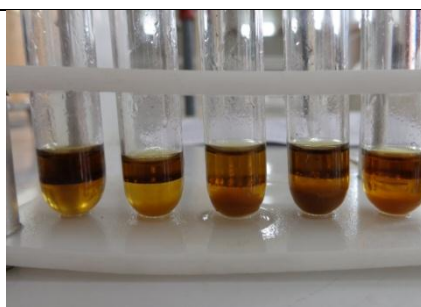




DRAGENDORFF



ESPUMA (NEGATIVA)

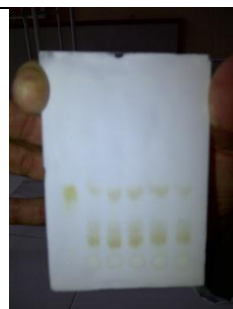
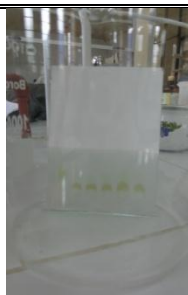


ANTOCIANIDINAS

FOTOGRAFIA No. 18 ENSAYOS REALIZADOS PARA LA IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS EXTRACTOS

ANEXO No. 18 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS.

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA



FOTOGRAFIA No. 19 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DE LOS EXTRACTOS

ANEXO No. 19 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y FLAVONOIDES TOTALES.

CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS Y FLAVONOIDES



PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS



ENSAYO DE FOLIN-CIOCALTEAU



PATRÓN DE ÁCIDO GÁLICO PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN



ENSAYO DE $AlCl_3$



PATRÓN DE RUTINA PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN



MEDICIÓN DE LA ABSORVANCIA A 765 nm PARA FOLIN Y 520 nm PARA $AlCl_3$

ANEXO No. 20 EXTRACCIÓN DE LA ENZIMA PPO.

EXTRACCIÓN DE LA ENZIMA DE LA POLIFENOLOXIDASA



PESADO DE LA MANZANA



MACERADO DE LA MANZANA



FILTRADO DEL EXTRACTO



REFRIGERACIÓN A -6°C

FOTOGRAFÍA No. 21 OBTENCIÓN DE LA ENZIMA DE LA PPO

ANEXO No. 21 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE



PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

DILUCIONES



DILUCIONES A 10, 100 Y 1000 ppm

LECTURA EN EL UV



MEDICIÓN A 420 nm

FOTOGRAFÍA No. 22 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
