

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE



FACULTAD DE INGENIERÍAS EN CIENCIAS

AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CARACTERIZACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA

MIEL DE ABEJA *Apis mellifera* EN LAS PROVINCIAS CARCHI Y

SUCUMBÍOS

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

AUTOR:

López López Zulma Verenice

DIRECTOR:

Ing. Armando Manosalvas

Ibarra – Ecuador

2021

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y

AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

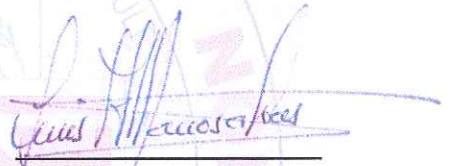
CARACTERIZACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA MIEL DE
ABEJA *Apis mellifera* EN LAS PROVINCIAS CARCHI Y SUCUMBIÓS

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su presentación
como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADA

Ing. Armando Manosalvas



DIRECTOR DE TESIS

FIRMA

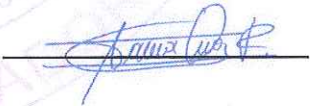
Bioq. Valeria Olmedo



MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA

Ing. Tania Oña



MIEMBRO DEL TRIBUNAL

FIRMA





UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN
A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la ley de educación superior, hago la entrega del presente documento a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO

CÉDULA DE IDENTIDAD: 0401581301

APELLIDOS Y NOMBRES: López López Zulma Verenice

DIRECCIÓN: Priorato

EMAIL: zvlopezl@utn.edu.ec

TELÉFONO FIJO: **TELÉFONO MÓVIL:**
0994264346

DATOS DE LA OBRA

TÍTULO: Caracterización de la Capacidad Antioxidante de la miel de abeja *Apis mellifera* en las Provincias Carchi y Sucumbíos

AUTOR: López López Zulma Verenice

FECHA: 25 de noviembre del 2020

SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO

PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO	<input type="checkbox"/> POSTGRADO
------------------	--	------------------------------------

TÍTULO POR EL QUE OPTA: Ingeniera Agroindustrial

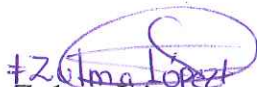
ASESOR / DIRECTO Ing. Armando Manosalvas

2. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra 17 de junio del 2021

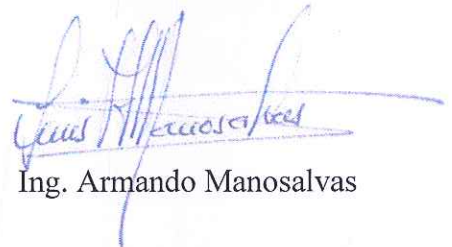
EL AUTOR:


Zulma López

C.I.: 040158130-1

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la señorita López López Zulma Verenice, bajo mi supervisión.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Armando Manosalvas', is written over a horizontal line.

Ing. Armando Manosalvas

DIRECTOR DE TESIS

DEDICATORIA

A Dios por haberme guiado por el camino correcto y permitirme culminar mi formación profesional.

A mi querido abuelo quien en su paso terrenal me enseñó a vencer las adversidades que se presentan en el diario vivir.

A mis padres Flor Del Carmen y José Alfredo por brindarme su amor, consejos, apoyo, ayuda en los momentos difíciles para no desfallecer.

A mi querida hermana y su esposo por brindarme su ayuda incondicional

A mis sobrinas Fernandana y Daniela quienes han sido mi motivación e inspiración.

“El conocimiento se aprende por medio del estudio. La sabiduría por medio de la observación” **Arturo Torres.**

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica del Norte por haberme brindado la oportunidad de formarme profesionalmente.

Al MCs. Armando Manosalvas por ser el mentor en el desarrollo de esta tesis.

A la Bioq. Valeria Olmedo e Ing. Tania Oña por sus conocimientos impartidos en el desarrollo de esta tesis

Al Ing. Lenin Trujillo por su colaboración y apoyo en el desarrollo de este trabajo.

Al Sr. Hugo Villarreal por la colaboración en el desarrollo del presente trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
I CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Problema	1
1.2 Justificación	2
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo general	3
1.3.2 Objetivos específicos	3
1.4 Hipótesis de trabajo.....	3
1.4.1 Hipótesis nula	3
1.4.2 Hipótesis alternativa	3
II CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Generalidades de la miel de abeja.....	4
2.1.1 Composición fisicoquímica de la miel de abeja	5
2.1.2 Clasificación de la miel	5
2.2 Producción de miel en el Ecuador	7

2.3	Origen botánico de la miel.....	7
2.4	Flora Apícola	8
2.5	Flora melífera con potencial antioxidante	9
2.6	Beneficios de la miel de abeja	10
2.6.1	Potenciales terapéuticos de la miel de abeja.....	11
2.7	Los Antioxidantes	11
2.8	Capacidad Antioxidante en la miel de abeja.....	12
2.8.1	Métodos de análisis	13
2.8.2	Antioxidantes contenidos en la miel de abeja	13
2.9	Estrés oxidativo.....	14
2.9.1	Proceso de oxidación y agentes promotores.....	15
2.10	Radicales libres	15
2.11	Fenoles	16
2.12	Flavonoides.....	17
2.13	Beneficios de los fenoles, flavonoides en la salud.....	19
2.14	Estadística Multivariada	19
2.14.1	Análisis de componentes principales (PCA).....	19
2.14.2	Análisis de conglomerados (Clúster).....	20
2.14.3	Correlación lineal	20
III	CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1	Caracterización del área de estudio.....	22

3.2	Trabajo de laboratorio.....	22
3.3	Materiales y Equipos	23
3.4	Descripción de la fase experimental	24
3.4.1	Evaluación del origen botánico de la miel mediante análisis melisopalinológico.	24
3.4.2	Determinación de fenoles o polifenoles totales.....	27
3.4.3	Determinación de flavonoides totales.....	29
3.5	Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS y FRAP de las muestras de miel	31
3.5.1	Principio del método ABTS	31
3.5.2	Principio del método FRAP.....	34
3.6	Identificación de los usos potenciales de la miel mediante análisis multivariado de componentes principales (PCA) y de conglomerados (Clúster).....	36
IV	CAPÍTULO IV	37
4.1	Evaluación del origen botánico de la miel mediante análisis melisopalinológico.	37
4.2	Determinación de los contenidos fenólicos totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en la miel de abeja	42
4.2.1	Polifenoles o fenoles.....	42
4.2.2	Flavonoides.....	43
4.2.3	Capacidad antioxidante.....	44
4.3	Correlación entre los parámetros químicos de la miel de abeja.....	47

4.4	Identificación de los usos potenciales de la miel mediante análisis multivariado de componentes principales (PCA) y de conglomerados de clúster	51
V	CAPÍTULO V	57
5.1	Conclusiones	57
5.2	Recomendaciones	58
VI	BIBLIOGRAFÍA	59
VII	ANEXOS	65
VIII	GLOSARIO	76

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Componentes fisicoquímicos de la miel.....	5
Tabla 2. Flora melífera con propiedades antioxidantes	9
Tabla 3. Ubicación Geográfica de la Provincia del Carchi y Sucumbíos.....	22
Tabla 4. Materia Prima e Insumos y Reactivos Utilizados en la Investigación	23
Tabla 5. Equipos e Instrumentos y Material de Laboratorio	24
Tabla 6. Tipos polínicos relevantes identificados en la miel de abeja	37
Tabla 7. Tipos polínicos en la miel de abeja	41
Tabla 8. Correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante	47
Tabla 9. Componentes principales y la variabilidad explicada para cada componente	51
Tabla 10. Matriz de Componentes Rotados.....	53
Tabla 11. Contenido de fenoles en algunos alimentos	55

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Coloración clara de la miel de abeja.	4
Figura 2. Diagrama de los usos potenciales terapéuticos de la miel recuperado de la reseña en inglés “Biological and therapeutic effects of honey y prodeded by honey bees”	11
Figura 3. Estructura química de los fenoles	16
Figura 4. Estructura básica de un flavonoide	17
Figura 5. Estructura química de la Quercitina	18
Figura 6. Correlación de los valores del coeficiente de correlación de Pearson.	21
Figura 7. Curva de calibración con ácido gálico – Polifenoles totales.....	27
Figura 8. Curva de calibración con catequina – Flavonoides totales	29
Figura 9. Curva de calibración con Trolox – Capacidad Antioxidante - Método ABTS ...	33
Figura 10. Curva de calibración con Trolox – Capacidad antioxidante – Método FRAP...	35
Figura 11. Tipos polínicos relevantes identificados en la miel de abeja <i>Apis mellifera</i> en las Provincias Carchi y Sucumbíos. (A) Eucalipto. (B) Mora. (C) Trébol. (D) Diente de león. (E) Chilca. (F) Malva. (G) Pumamaqui. (H) Aguacate. (I) Pispura. (J) Café. (K) Limón. (L) Naranja.....	38
Figura 12. Relación % de la Miel de Abeja <i>Apis mellifera</i>	39
Figura 13. Contenido de Fenoles totales en distintas muestras de miel expresado como mg de ácido gálico/100g.....	42

Figura 14. Contenido de Flavonoides totales en distintas muestras de miel expresado como mg de catequina/g	43
Figura 15. Capacidad antioxidante medida por el método ABTS en distintas muestras de miel expresado como $\mu\text{MTrolox/g}$	45
Figura 16. Capacidad antioxidante medida por el método FRAP en distintas muestras de miel expresado como $\mu\text{MTrlox/g}$	46
Figura 17. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables Flavonoides totales y antioxidante (ABTS)	48
Figura 18. Diagrama de dispersión y correlación entre la variable Flavonoides totales y antioxidante (FRAP).....	49
Figura 19. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables Polifenoles totales y Flavonoides.....	49
Figura 20. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables capacidad antioxidante (ABTS) y antioxidante (FRAP).....	50
Figura 21. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables polifenoles totales y capacidad antioxidante (ABTS).....	51
Figura 22. Diagrama bidimensional entre los dos componentes principales	52
Figura 23. Dendrograma de clasificación para las mieles estudiadas.	54

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Hoja de registro para la toma de muestras	65
Anexo 2. Registro de apicultores y alturas del lugar de procedencia de la miel de abeja de las provincias Carchi y Sucumbíos.....	66
Anexo 3. Flora melífera.....	68
Anexo 4. Colmenas de abejas de distintas Localidades	69
Anexo 5. Materiales y Equipos de laboratorio utilizados en el Análisis de Polen	70
Anexo 6. Equipos utilizados en el Análisis de Polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante	71
Anexo 7. Polifenoles totales expresado en miligramos de ácido gálico.....	72
Anexo 8. Flavonoides totales expresados en miligramos de Catequina.....	73
Anexo 9. Capacidad antioxidante determinada por el método ABTS.....	74
Anexo 10. Capacidad Antioxidante determinada por el método FRAP.....	75

RESUMEN

Los antioxidantes son sustancias que pueden retardar o inhibir la oxidación y neutralizar los efectos perjudiciales de los radicales libres. En los seres humanos, el estrés oxidativo está implicado en un número de enfermedades crónicas, como las cardiovasculares y el cáncer. El mayor contenido de antioxidantes en el organismo podría ayudar a proteger contra el daño celular y el desarrollo de enfermedades.

La presente investigación se realizó con la finalidad de conocer el contenido total de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante presentes en la miel de abeja *Apis mellifera*, de las provincias Carchi y Sucumbíos para su respectivo uso como materia prima en los diferentes productos alimenticios e industriales. La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de análisis fisicoquímicos de la Universidad Técnica del Norte y en Dpto. de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina INIAP, con el objetivo de determinar parámetros de calidad en función de la capacidad antioxidante de la miel de abeja *Apis mellifera*, proveniente de las provincias antes mencionadas, se referenció 14 muestras de miel de los apiarios debidamente identificados. Las variables que se evaluaron fueron el contenido total de fenoles, flavonoides, capacidad antioxidante y origen botánico floral, usando métodos oficiales e instrumentales. Las mieles registraron un origen monofloral y multifloral, el análisis multivariado por Componentes Principales y Clúster, estableció dos componentes con una varianza total del 95%, donde las variables fenoles totales y capacidad antioxidante por el método ABTS presentaron la mayor variabilidad con el 80,5%.

ABSTRACT

Antioxidants are substances that can slow or inhibit oxidation and neutralize the damaging effects of free radicals. In humans, oxidative stress implicated in a number of chronic diseases, such as cardiovascular disease and cancer. The higher content of antioxidants in the body may help protect against cell damage and the development of disease.

The present investigation was carried out in order to know the total content of phenols, flavonoids and antioxidant capacity present in bee honey *Apis mellifera*, from the Carchi and Sucumbíos provinces for their respective use as raw material in different food and industrial products. The research was carried out in the physicochemical analysis laboratories of the Universidad Técnica del Norte and in the Department of Nutrition and Quality of the Santa Catalina INIAP Experimental Station, in order to determine quality parameters based on the antioxidant capacity of honey *Apis mellifera*, from the aforementioned provinces, 14 honey samples from duly identified apiaries were referenced. The variables evaluated were the total content of phenols, flavonoids, antioxidant capacity and floral botanical origin, using official and instrumental methods. The honeys registered a monofloral and multifloral origin, the multivariate analysis by Principal Components and Cluster, established two components with a total variance of 95%, where the variables total phenols and antioxidant capacity by the ABTS method presented the highest variability with 80,5 %.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Problema

En el Ecuador, no se ha demostrado mayor interés en la apicultura, por no representar el principal ingreso de los apicultores, provocando así, que esta actividad sea poco desarrollada, la tala irracional de bosques, el uso de pesticidas y el cambio climático, han provocado que la producción de miel disminuya y aumente la adulteración de esta en el mercado. Lo que no permite aprovechar sus propiedades antioxidantes, nutricionales, antiinflamatorias, antibacterianas y terapéuticas que posee la miel (Saz Peiró, 2019).

Los antioxidantes de la miel de abeja no se han estudiado detalladamente en la zona norte, especialmente en las provincias de Carchi y Sucumbíos, razón por la cual se desconoce las propiedades funcionales específicas y preventivas contra enfermedades causadas por el sedentarismo y la mala alimentación. La actividad antioxidante contribuye significativamente a la salud humana, en varios estudios realizados en mieles chilenas por Muños y Copaja (2007), se ha demostrado que estas tienen un notable perfil fenólico, posiblemente debido al contenido de metabolitos secundarios de la planta.

1.2 Justificación

La miel de abeja es un producto natural ampliamente disponible en el mundo, se usa considerablemente para diversas aplicaciones, considerada como uno de los alimentos más completos en la historia, fue utilizada como medicina de manera empírica sin tener el conocimiento de sus componentes, que la convierten en un excelente agente terapéutico. Según Ahmed et al., (2013) originalmente la miel fue utilizada como endulzante, hoy en día junto con el propóleo y los diferentes productos apícolas, es consumida por sus propiedades antioxidantes, terapéuticas y nutricionales.

Ha llegado a considerarse como un alimento funcional debido a ciertos oligoelementos, como hierro, azufre, calcio, potasio, sodio, magnesio, fósforo, zinc, cobre y manganeso que contiene este producto. Para Parra et al., (2019) la capacidad antioxidante de la miel de abeja está relacionada con el contenido de fenoles y flavonoides presentes en las plantas y la fuente floral, por ello es importante conocer la presencia de estos compuestos en la miel procedente de las provincias de Carchi y Sucumbíos en la zona norte del país.

Es trascendental conocer la actividad antioxidante de la miel de abeja, para que pueda ser utilizada en el área de producción agroindustrial en la innovación de nuevos alimentos funcionales y que sean de gran escala comercial en el mercado. La finalidad de la presente investigación es caracterizar la capacidad antioxidante de la miel de abeja producida en las provincias de Carchi y Sucumbíos con el fin de identificar potenciales usos en la producción de alimentos, medicamentos y cosméticos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar la capacidad antioxidante de la miel de abeja en las provincias de Carchi y Sucumbíos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Establecer el origen botánico de la miel de abeja mediante análisis melisopalinológicos.
- Determinar los contenidos de flavonoides totales, fenólicos totales y actividad antioxidante en la miel de abeja en los apiarios identificados.
- Identificar los potenciales usos de la miel de abeja en función de la actividad antioxidante mediante análisis estadístico multivariado de componentes principales (PCA) y de conglomerados (Clúster).

1.4 Hipótesis de trabajo

1.4.1 Hipótesis nula

- **H₀** =. La cantidad de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante presentes en la miel de abeja *Apis mellifera* no dependen del origen botánico floral.

1.4.2 Hipótesis alternativa

- **H_a** =. La cantidad de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante presentes en la miel de abeja *Apis mellifera* dependen del origen botánico floral.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades de la miel de abeja

La miel, es una sustancia dulce natural producida por abejas obreras a partir del néctar de flores o de exudaciones de otras partes vivas o presentes en ellas, que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenan y dejan en los panales para que madure. La miel varía en su composición dependiendo de la fuente del néctar, las prácticas de apicultura, el clima y las condiciones ambientales Insuasty et al., (2016).

Según Paxton (2007), hay una gran variedad de mieles con diferentes aromas, colores y sabores según su origen botánico (Figura 1), los azúcares son los principales componentes del sabor, así por ejemplo la miel con un alto contenido de fructosa es generalmente más dulce que la miel con una concentración alta de glucosa, el aroma de la miel está determinado en gran medida por la cantidad de ácidos y aminoácidos, las mieles oscuras tienen un contenido alto de fenoles y, consecuentemente, una capacidad antioxidante alta.



Figura 1. Coloración clara de la miel de abeja.

2.1.1 Composición fisicoquímica de la miel de abeja

Se conoce diversos tipos de miel de abejas, cuyas características físicas, químicas y organolépticas vienen determinadas por la flor utilizada como fuente de néctar y el tipo de abeja que la produjo (Tabla 1). Además, tiene componentes minoritarios como ácidos orgánicos (ácido cítrico y ácido acético), flavonoides, enzimas, vitaminas, hormonas, minerales, cenizas, proteínas, aminoácidos y residuos de polen Gutiérrez et al., (2008).

Tabla 1

Componentes fisicoquímicos de la miel

Componentes	Rango	Contenido típico
Agua	14 – 22 %	17%
Fructosa	28 – 44 %	38%
Glucosa	22 - 40 %	31%
Sacarosa	0,2 – 7 %	1%
Maltosa	2 - 16 %	7,50%
Otros azúcares	0,1 – 8 %	5%
Proteínas y aminoácidos	0,2 - 2 %	<1 %
Vitaminas, enzimas, hormonas, ácidos orgánicos y otros	0,5 – 1 %	<1 %

Nota: Tomada de Gutiérrez et al., (2008).

2.1.2 Clasificación de la miel

De acuerdo con García (2004) la composición y contextura de la miel de abeja depende de diversos factores, como la planta, suelo, clima y lugar geográfico de procedencia, dependiendo de esto la composición de la miel puede variar, no existen dos tipos de mieles iguales, presentando así diferencias de color, sabor, densidad, viscosidad, cristalización. Las mieles más oscuras tienen mayor estado de acidez, sustancias

minerales muy altos y ricos en polisacáridos; mientras que las mieles claras son más suaves.

De acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN, 2016) clasifica a la miel de abeja según su origen:

- Monofloral. – Procederá principalmente de flores de una misma familia, género o especie y el contenido de néctar es mayor o igual al 45 %.
- Multifloral. - Si el contenido de néctar es mayor o igual al 10%, de las distintas especies florales.
- Miel de mielada. - Obtenida primordialmente de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que se encuentran sobre ellas.

Según el método de extracción:

- Miel centrifugada. - Se obtiene mediante la centrifugación de los panales desoperculados sin larvas.
- Miel prensada. - Se obtenida mediante la compresión de los panales, sin larvas
- Miel escurrida. - Obtenida mediante el drenaje de los panales desoperculados, sin larvas.
- Miel filtrada. - Se obtiene eliminando materia orgánica o inorgánica ajena a la miel de tal manera que se genere una eliminación parcial de polen.

Por su utilización:

- Clase I.- Consumo directo.
- Clase II.- Usos industriales.

2.2 Producción de miel en el Ecuador

De acuerdo con el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2018), en el Ecuador existen 1 760 apicultores y 19 155 colmenas, que proveen al mercado nacional de miel de abeja, polen, propóleo y cera. Las provincias donde la apicultura tiene más influencia son: Loja con 325 apicultores registrados y 2 429 colmenas registradas, Manabí con 146 apicultores registrados y 1 820 colmenas registradas, Santa Elena cuenta con 144 apicultores y 828 colmenas, Azuay tiene 118 apicultores y 854 colmenas registradas, mientras que en Chimborazo hay 1 190 colmenas registradas pertenecientes a 114 apicultores.

Según revista Líderes (26 de junio de 2018). La producción promedio de miel de abeja es de 10,2 kilogramos por colmena al año, pero, con la estrategia que desarrolla el MAG, busca que el país aumente su promedio nacional a 15,2 kilogramos por colmena. En relación con Perú, la producción nacional de miel de abeja asciende a aproximadamente 2 314 toneladas al año, con un rendimiento promedio de 10,8 kilogramos por colmena y con 40 000 apicultores informó el Ministerio de Agricultura y Riego (Carrasco, 2020).

2.3 Origen botánico de la miel

Según Mungsan (2018), las abejas visitan numerosas especies de plantas, colectando polen y néctar, sin dañar las flores al alimentarse, el polen que se encuentra en la miel puede tener diversas procedencias como: el pelo de las abejas, el polen del aire dentro de la colmena y el polen que las abejas empaquetaron en las células y se liberaron durante la extracción de la miel, el origen botánico de la miel se establece por la zona geográfica de producción y la vegetación.

En los últimos años el interés por la palinología botánica dedicada al estudio del polen y las esporas se ha orientado hacia análisis melisopalinológico aplicado al estudio del polen apícola, método utilizado en la determinación del origen botánico y geográfico del polen

que es el resultado de la aglutinación del polen de las flores efectuada por las abejas pecoreadoras, mediante el néctar y sus propias sustancias salivares Saavedra et al., (2013).

De acuerdo con Parra et al., (2013) la miel de abeja proviene del néctar que las abejas recolectan de las plantas alrededor de los apiarios, sus características organol

épticas (color, aroma, sabor), fisicoquímicas, nutricionales y terapéuticas varían dependiendo de la fuente de néctar y de la cantidad de recurso recolectado por las abejas

2.4 Flora Apícola

La flora apícola es fundamental para la conducción racional de los apiarios ya que constituye el recurso con que cuentan las abejas para alimentarse y producir, define la alternativa productiva (miel, cera, polen, jalea real, propóleos, núcleos, paquetes y reinas), y pone límites a la producción, dependiendo de ella las características del producto apícola (Inta, 2017). Así mismo brinda información para determinar pautas de manejo del apiario en general (conveniencia y momento de la trashumancia) y aún del campo en que se encuentra ubicado el colmenar.

Según Montoya et al., (2017) es el conjunto de especies vegetales que producen o segregan sustancias o elementos que las abejas recolectan para su alimentación por ello, se puede considerar la vegetación como el insumo más importante, que sirve como materia prima de la cual las abejas recolectan los recursos que utilizan para la elaboración de su alimento y para la realización de las diferentes labores en la colmena, logrando de esta forma productos como el polen, miel y propóleo, que son aprovechados por el apicultor para beneficio propio.

En el Ecuador, principalmente en la zona templada y en casi la mayor parte del callejón interandino, la miel proviene de especies introducidas, como el eucalipto (*Eucalyptus globulus*), cuando florece origina una gran cantidad de miel. Entre otras especies

cultivadas, la alfalfa (*Medicago sativa*), la mora de castilla (*Rubus sp*), el maíz (*Zea mays*). Entre los pastizales se encuentra el trébol (*Trifolium repens*), el diente de león (*Taraxacum officinale*), el llantén (*Plantago lanceolata*). En forma silvestre una gran cantidad de vegetación, entre ellas la chilca (*Baccharis sp*) de tipo regional (Vivas, 2015).

2.5 Flora melífera con potencial antioxidante

Según Almajano (2016), las plantas han tenido un progresivo interés tanto, en la industria alimentaria como en la investigación científica, siendo poseedoras de vitaminas, fenoles y flavonoides, se las ha denominado fuente natural de antioxidantes, muchas de ellas reconocidas desde el punto de vista científico. En la Tabla 2 se puede evidenciar los beneficios que brindan al organismo.

Tabla 2

Flora melífera con propiedades antioxidantes

Flora melífera	Nombre Científico	Antioxidantes	Beneficios en la salud
Trébol	<i>Trifolium sp</i>	Isoflavonas: genistina, daidzeína y biochanina	Combate los radicales libres
Mora	<i>Rubus sp</i>	Antocianina y pterostillbene Flavonoides y vitaminas C y E	Combate los radicales libres Previene el cáncer
Diente de león	<i>Taraxacum officinale</i>	Polifenoles: Ácidos chicórico, clorogénico y taraxínico Flavonoides: zeaxantina, letuina y cryptozantina	Ayuda a controlar los niveles de azúcar, estimula la secreción de insulina, regula los niveles de glucosa y prevenir el crecimiento de células cancerosas Protegen la retina de los rayos ultravioletas y células cancerosas
Manzanilla	<i>Chamaemelum nobile</i>	Apigenina Flavonoides	Reduce el insomnio, combate células cancerosas. Los flavonoides de la manzanilla reducen la presión arterial y niveles de colesterol. fortalece el sistema inmune y evitan infecciones

Polifenoles

Aguacate	<i>Persea americana</i>	Vitamina C y E (α -tocoferol)	Combate los radicales libres, y protege de enfermedades crónicas (cáncer, cardiovasculares y diabetes)
Limón	<i>Citrus x limon</i>	Vitamina C	Retrasa el envejecimiento celular, elimina los radicales libres y protege las lipoproteínas LDL de la oxidación, reduce el riesgo de padecer aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares
Mandarina	<i>Citrus reticulata</i>	Beta caroteno	Ayuda a mejorar la visión
Café	<i>Coffea arábica</i>	Compuestos fenólicos: Ácido clorogénico, cafeico, ferúlico y cumárico	Protegen a las células de los radicales libres
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	Vitamina C	Previenen el envejecimiento celular y combate los radicales libres
Guayusa	<i>Llex guayusa loes</i>	Polifenoles, carotenoides, quercetina	Previenen el envejecimiento celular prematuro, combate los daños producidos por los radicales libres
Laurel	<i>Laurus nobilis</i>	Vitamina C	Evita que los radicales libres afecten a las células y previene contra el cáncer
Nabo	<i>Brassica rapa</i>	Vitamina C Beta caroteno	Protege las células de los radicales libres y mejora al sistema inmunológico Mejora la visión
Llantén	<i>Plantago major</i>	Derivados de ácido fenólico (ácido cafeico)	Inhibe el estrés oxidativo y reduce el riesgo de daño celular

Fuente: <https://www.arkopharma.com/es-ES/6-frutas-y-plantas>

2.6 Beneficios de la miel de abeja

La miel contiene compuestos biológicos importantes para el beneficio del ser humano, entre los cuales se incluyen retinol, tocoferol, fitomenadiona, tiamina y riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, ácido ascórbico, los cuales son conocidos como

vitaminas (A, E, K, B1, B2, B3, B5, B6 y C) y consecutivamente, los compuestos fenólicos, flavonoides y ácidos grasos Aliyu et al., (2012).

2.6.1 Potenciales terapéuticos de la miel de abeja

Numerosos estudios han centrado su interés en demostrar que las propiedades biológicas y físicas de la miel (Figura 2), le confieren una gran eficacia, presenta un conjunto de propiedades que contribuyen significativamente en el proceso de cicatrización de heridas, muestra un efecto antibacteriano, actividad antioxidante que reduce la alta concentración de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS) y actividad antiinflamatoria, su uso ofrece un tratamiento natural alternativo en la población mundial que reducen el costo de los tratamientos modernos Schencke et al., (2016).

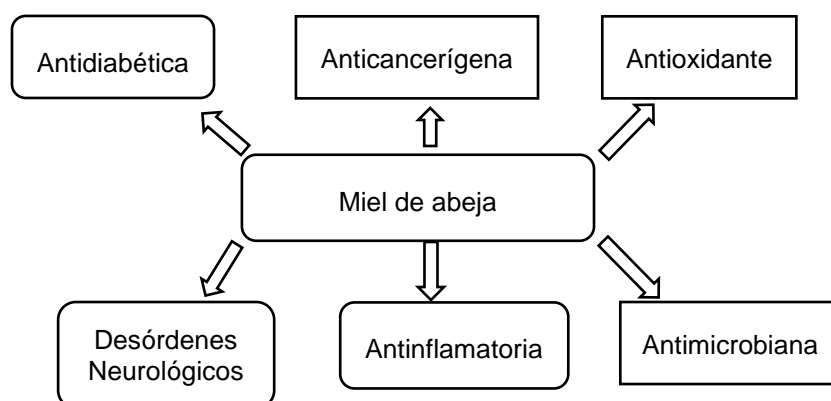


Figura 2. Diagrama de los usos potenciales terapéuticos de la miel recuperado de la reseña en inglés “Biological and therapeutic effects of honey y prodeded by honey bees”.

2.7 Los Antioxidantes

Son sustancias heterogéneas, formado por vitaminas (A, E y C), minerales de cobre, hierro, manganeso, selenio y zinc, pigmentos naturales como flavonoides, carotenoides y polifenoles, coenzimas Q, catalasas y oxidasas, compuestos nitrogenados como el ácido lipoico. Bloquean los efectos dañinos de los radicales libres que pueden producir alteraciones genéticas, contribuyen a reducir el riesgo de cáncer y la aparición de

enfermedades asociadas con el proceso de envejecimiento como el Alzheimer, trastornos cardiovasculares, cataratas y otras alteraciones Quino et al., (2017).

Según Hernández (2013) refiere que los antioxidantes son compuestos que por su estructura química frenan la formación de Radicales Libres (RL), previenen o permiten tratar las enfermedades causadas por el estrés oxidativo, o a su vez los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares. Desde el punto de vista de Ciappini (2013) son sustancias nutritivas y no nutritivas que pueden retardar o inhibir la oxidación y/o neutralizar los efectos perjudiciales de los radicales libres. En los seres humanos, el estrés oxidativo está implicado en un número cada vez mayor de enfermedades crónicas, como las cardiovasculares y el cáncer. Mayor contenido de antioxidantes en el organismo podría ayudar a proteger contra el daño celular y el desarrollo de estas enfermedades.

2.8 Capacidad Antioxidante en la miel de abeja

La capacidad antioxidante varía dependiendo de la fuente floral de la miel, contenido de metabolitos secundarios de la planta como polifenoles y actividades enzimáticas. Se ha encontrado que varios componentes dentro de la miel juegan un papel significativo en la capacidad antioxidante, como la glucosa oxidasa, catalasa, ácido ascórbico, ácidos orgánicos, productos de la reacción de Maillard, aminoácidos, proteínas, ácidos fenólicos y flavonoides Parra et al., (2019).

La actividad antioxidante de los flavonoides, resulta de, una combinación de las propiedades, quelantes del hierro y captadoras de radicales libres, además a la inhibición de oxidasas (lipoxigenasa, ciclooxigenasa, operoxidasa, oxidasa y xantina

oxidasa), que evitan, reacciones del oxígeno (ROS), así como; hidroperóxidos orgánicos; se ha podido establecer, que también inhiben, enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos (Moreno, 2016).

2.8.1 Métodos de análisis

ABTS

Este método se basa en la capacidad antioxidante del ABTS^{•+} para capturar aniones radicales de larga vida. El ABTS^{•+} es oxidado por radical peróxido, persulfato de potasio, peróxido de hidrógeno, u otro oxidante hasta formar el catión radical ABTS^{•+}, el cual presenta un intenso color verde-azul, y en la medición los compuestos con capacidad antioxidante reaccionan directamente disminuyendo el color del catión radical ABTS^{•+}. El radical posee solubilidad en medios polares y apolares y no es afectado por la fuerza iónica Rodríguez et al., (2015).

FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power o Capacidad antioxidante para Reducir el ion Férrico)

Es un método espectrofotométrico que mide la reducción de un complejo formado por un cromógeno, normalmente de TPTZ (2, 4, 6- Formación del radical ABTS mediante el persulfato de potasio¹⁵ tripiridil-s-triazina), y hierro férrico incoloro a un complejo ferroso de un intenso color azul verdoso en presencia de antioxidantes en un medio ácido. Puede reducir diferentes antioxidantes no enzimáticos como la vitamina C (ácido ascórbico) y otros como ácido úrico (Breña, 2017).

2.8.2 Antioxidantes contenidos en la miel de abeja

De acuerdo con Gutiérrez et al., (2008) la composición química (contenido de azúcares individuales, cenizas, nitrógeno, contenido de metales) de la miel de abeja puede variar

según la especie floral que se utiliza como fuente del néctar, dichos autores sugieren que las propiedades antioxidantes de la miel están relacionadas con el color y contenido de humedad, ya que muchos de los pigmentos que contiene (carotenoides y flavonoides), presentan actividad antioxidante y el contenido de agua de la miel puede determinar el grado de acumulación de compuestos antioxidantes solubles en agua.

Frankel (2009) resalta que en estudios realizados en Chile lograron aislar componentes fenólicos y flavonoides de 26 mieles de diferentes trópicos de ese país, obteniendo así que la naturaleza de flavonoides presentes en la miel son: pinocembrina, pinobanksina, quercetina, kaempferol, crisina, galangina, mientras que los compuestos fenólicos identificados en la miel de abeja son ácido gálico, vainillino, cinámico, benzoico, hidroxobenzoico, coumárico, elágico, clorogénico, cafeico, ferulico y siringico.

2.9 Estrés oxidativo

Según Hernández (2013) el estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular.

De acuerdo con Sánchez (2013) el exceso de radicales libres acelera el envejecimiento en el cuerpo y da pauta a la aparición de patologías degenerativas. La incapacidad del cuerpo por neutralizar los radicales libres a los que se expone diariamente, obliga a recurrir a alimentos que ayuden a esta neutralización. Diversos estudios realizados por Kamul et al., (2008) indican que la miel actúa sobre las especies reactivas de oxígeno, mejora el

estrés y reduce la hiperglucemia, la administración con suplementos de miel, aminoran el estrés oxidativo renal y efecto hipo glucémico, reduce varios trastornos metabólicos comúnmente observados en la diabetes.

2.9.1 Proceso de oxidación y agentes promotores

Según Coronado et al., (2015) la función antioxidante se considera el proceso de óxido-reducción que remite dos momentos básicos como la oxidación que implica la pérdida de electrones de hidrógeno con la ganancia de oxígeno en la molécula y la reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno, así el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida.

2.10 Radicales libres

Un radical libre es una molécula orgánica o inorgánica extremadamente inestable y muy reactiva debido a que posee un electrón desapareado, muy susceptible de establecer un enlace con otro átomo o molécula. Estas moléculas se pueden sintetizar en un laboratorio, se pueden formar en la atmósfera como resultado de la radiación y también se forman en los organismos vivos (incluyendo el cuerpo humano) por el contacto con el oxígeno Frankel et al., (2015).

Los radicales libres actúan como mediadores fisiológicos que incluye: regulación del tono vascular, percepción de la presión de oxígeno, regulación de funciones que son controladas por concentración de oxígeno, así como potenciar la transducción de señales intracelulares de varios receptores de la membrana, incluyendo el receptor de antígeno de linfocitos y respuestas de estrés oxidante que aseguran el mantenimiento del sistema redox (reacciones de oxidación-reducción) Coronado et al., (2015).

2.11 Fenoles

Son metabolitos secundarios que están ampliamente distribuidos en las plantas, desempeñan un papel importante en el crecimiento y reproducción de las mismas, brindan protección contra patógenos y depredadores, contribuyen al color y a lo sensorial, su estructura comprende un anillo aromático, que contiene uno o más sustituyentes hidroxilo. Debido a su diversidad estructural (Figura 3), existe una amplia gama de compuestos fenólicos. que ocurren en la naturaleza. Actualmente, se conocen más de 8000 estructuras de compuestos fenólicos (Watson, 2014).

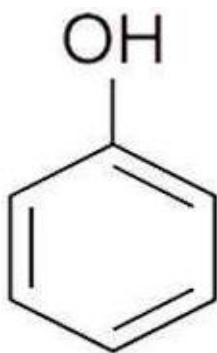


Figura 3. Estructura química de los fenoles

Fuente: www//estructuramolecularfenoles

Se ha demostrado que los polifenoles juegan un papel importante en la salud humana, se ha reportado que la ingesta de verduras, frutas, cereales integrales y algunas bebidas (té, jugos, vinos) son ricos en polifenoles que previenen o retrasan una serie de enfermedades crónicas, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, inflamación crónica y muchas enfermedades degenerativas. Muchas de las actividades biológicas de los compuestos fenólicos se atribuyen a su capacidad antioxidante (Castro, 2019).

Según Mohammed (2014) el contenido de compuestos fenólicos en mieles de diversos climas, podría no solo ser un marcador de origen floral sino también un indicador potencial de su capacidad biológica. Se han analizado en diversos estudios, la

composición y naturaleza de los flavonoides presentes en muestras de miel de diversas áreas geográficas como Argentina y Chile, dichos estudios revelaron que los flavonoides son una serie considerable de pigmentos fenólicos de la planta y su contenido en el vegetal, alcanza normalmente niveles de 0.5% en polen, 10% en propóleos y casi 6 000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e la miel.

La ingesta adecuada en la dieta diaria de estos compuestos debería ser en valores superiores a 600mg/p/d, para adquirir un efecto protector (preventivo) frente a las enfermedades Navarro (2017). En la miel de abeja los polifenoles presentan su acción antioxidante debido a que las abejas recolectan el néctar de las plantas, que será transformado en miel en un proceso de concentración donde se reducirá el contenido de agua desde el 92% hasta un 17% aproximadamente, tratándose de un proceso fisicoquímico en el que se reduce la sacarosa y se transforma en fructosa y glucosa mediante la encima invertasa que contiene la saliva de las abejas Muñoz et al., (2014).

2.12 Flavonoides

Son compuestos que actúan como antioxidantes, dependiendo de su estructura molecular, de la cantidad y posición de sus grupos hidroxilos (Figura 4). Están presentes en la mayoría de las plantas, especialmente en las frutas y hortalizas. Su actividad antioxidante ha atraído fuertemente la atención de las industrias de procesamiento de alimentos, cosméticas y farmacéuticas (Ochoa, Claudia y Ayala, Adolfo, 2004).

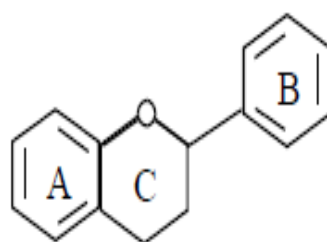


Figura 4. Estructura básica de un flavonoide

Fuente: <https://estructuramolecular/Flavonoide>

Según Ciappini et al., (2013) poseen una acción protectora y la imposibilidad del organismo humano de producirlos, merecen ser incorporados al grupo de los nutrientes esenciales. Son pigmentos fenólicos de las plantas y su contenido alcanza niveles de 500 mg/kg en el polen, 1000 mg/kg en el propóleo y 6 mg/kg en la miel, donde mayoritariamente están presentes flavanonas, flavononas y flavonoles.

Los flavonoides presentes en la miel se dividen en tres clases con estructuras similares: flavonoles, flavonas y flavanonas. Estos flavonoides son importantes debido a su contribución al color y el sabor de la miel y también por sus efectos beneficiosos para la salud Estevinho et al., (2008). El flavonoide más común que se reporta en la miel de abeja es la quercetina (Figura 5), esta es, la estructura base de otros compuestos fenólicos. Cumple con los principales determinantes para una buena reactividad frente a los radicales libres y actividad antioxidante Czepas et al., (2014).

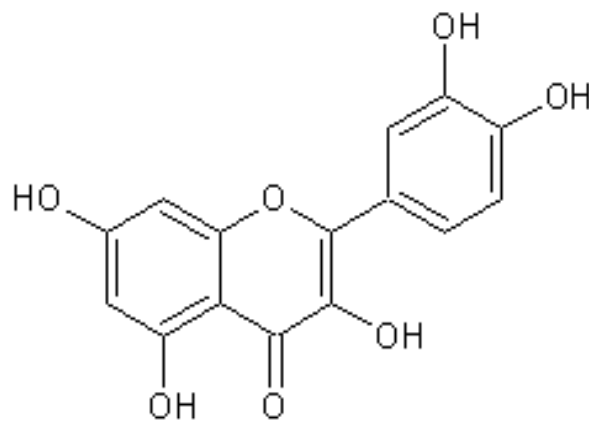


Figura 5. Estructura química de la Quercitina

Fuente: <https://estructura+basica+de+la+quercetina&rlz>

Los flavonoides deben ser incorporados al grupo de los nutrientes esenciales, por su acción protectora y la imposibilidad del organismo humano de producirlos, se estima que el valor promedio de ingesta es de 358 – 413 mg/día, siendo predominantes los flavonoles especialmente la quercitina. Los alimentos en el cual se puede encontrar son: el té negro,

cebollas, manzanas, pimienta negra y bebidas alcohólicas como: vino y cerveza (Castro, 2019).

2.13 Beneficios de los fenoles, flavonoides en la salud

De acuerdo con García (2016) en los últimos años, un número creciente de estudios han atraído la atención combinada de los nutricionistas y médicos sobre la importancia de los polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante presente en la miel de abeja, que sirven como alternativa en la prevención de varias enfermedades degenerativas, la ingesta de este producto ha ayudado en la mejora de enfermedades en los seres humanos. Actualmente, se ha tomado en cuenta el potencial antioxidante de la miel como un parámetro elegible para la calidad, parámetro que se correlaciona estrictamente a la presencia de eliminadores de radicales de oxígeno eficientes.

2.14 Estadística Multivariada

El análisis multivalente es la parte de la estadística que estudia, analiza, representa e interpreta los datos que resultan al observar más de una variable estadística sobre una muestra de individuos. Las variables observables son homogéneas y correlacionadas, sin que alguna predomine sobre las demás. La información estadística es de carácter multidimensional, por lo tanto, la geometría, el cálculo matricial y las distribuciones multivalentes juegan un papel fundamental (Cuadras, 2014).

2.14.1 Análisis de componentes principales (PCA)

Es una técnica estadística de síntesis de la información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un menor número perdiendo la menor cantidad de información posible.

Los nuevos componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables originales, y además serán independientes entre sí (Terrádez, 2017).

El método consiste en buscar combinaciones lineales de las variables originales que representen lo mejor posible a la variabilidad presente en los datos. De este modo, con unas pocas combinaciones lineales, que serán las componentes principales, sería suficiente para entender la información contenida en los datos. Al mismo tiempo, la forma en que se construyen las componentes, y su relación con unas u otras variables originales, sirven para entender la estructura de correlación inherente a los datos (Sánchez, 2015).

2.14.2 Análisis de conglomerados (Clúster)

Es una técnica estadística multivariante que busca agrupar variables, tratando de lograr la máxima homogeneidad en cada grupo y la mayor diferencia entre los grupos. Es un método basado en criterios botánicos y se utiliza fundamentalmente como una técnica exploratoria descriptiva. El análisis clúster se puede utilizar para agrupar individuos (casos) y también para agrupar variables. En adelante, cuando se hace una referencia a grupos de individuos (o casos) debe sobreentenderse que también se hace a un conjunto de variables (Terrádez, 2017).

2.14.3 Correlación lineal

De acuerdo con Vinuesa (2016), el análisis de relación lineal y proporcionalidad “Correlación” es una prueba estadística, que consiste en calcular el coeficiente de correlación Pearson (r), es decir describir la magnitud de la relación entre dos o más variables que interactúan linealmente. Donde r (índice de correlación) puede variar entre (-1 y +1), de acuerdo con la figura 16 la correlación puede interpretarse como:

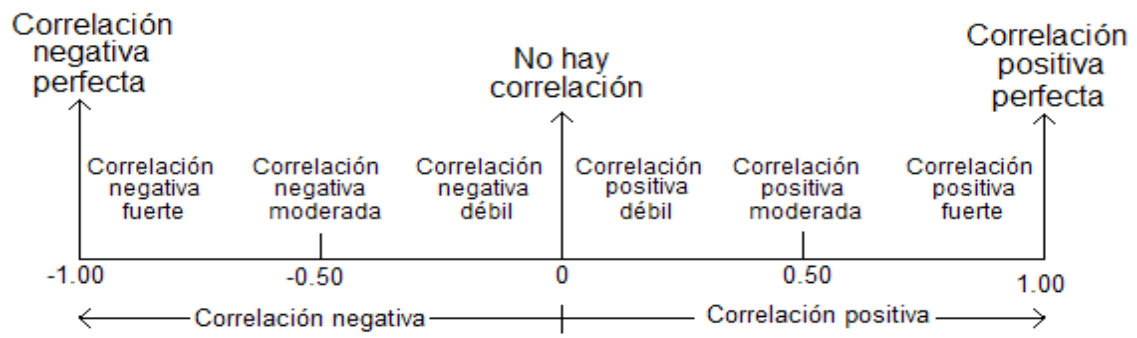


Figura 6. Correlación de los valores del coeficiente de correlación de Pearson.

-1 será el valor de la correlación negativa perfecta y +1 su inversa (correlación positiva perfecta).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Caracterización del área de estudio

El trabajo de campo se realizó en las provincias de Carchi (C) y Sucumbíos (S), su ubicación se detalla a continuación en la Tabla 3:

Tabla 3

Ubicación Geográfica de la Provincia del Carchi y Sucumbíos

Condiciones climatológicas	Descripción	
Provincia	Carchi	Sucumbíos
Longitud	77° 31´ 36" W	77° 15´ 30" W
Altitud	3461 msnm.	303 msnm
Superficie	3783 km	18084 km
Temperatura promedio	11.4 °C	24°C
HR promedio	65%	90%

Fuente: (INAMHI, 2014)

3.2 Trabajo de laboratorio

La identificación del origen botánico de la miel se realizó en los laboratorios de análisis fisicoquímicos y microbiológicos de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Técnica del Norte. La determinación de polifenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante se realizó en el laboratorio del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina de la ciudad de Quito.

El muestreo se realizó en los distintos apiarios de la provincia del Carchi (C), las muestras de miel obtenidas fueron específicamente de los cantones: Tulcán, en la ciudadela Bolívar

y en la Ciudadela Velotax, San Pedro de Huaca, en los sectores de Chauchin y San Francisco del Troje. En Montúfar en los sectores del Capulí, Pioter, Cristóbal Colón y la Paz. En Mira en el sector de San Nicolás. En Bolívar en el sector los Andes y en Espejo en el sector las Juntas. En la provincia de Sucumbíos (S) en los cantones: Sucumbíos, sector el Playón y sector la Bretaña y en Gonzalo Pizarro, sector Lumbaqui.

3.3 Materiales y Equipos

Los materiales, equipos, insumos, y materia prima que se utilizaron en la presente investigación se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4

Materia Prima e Insumos y Reactivos Utilizados en la Investigación

Materia prima e insumos	Reactivos
- Miel de abeja líquida.	- Ácido acético glacial
- Frascos de vidrio color ámbar con tapa de 1000g de capacidad	- Ácido sulfúrico
	- Anhídrido acético
	- Ácido gálico monohidratado
	- Reactivo de Folin y Ciocalteu
	- Carbonato de sodio 99,5%
	- Cloruro de aluminio
	- Nitrito de sodio
	- Hidróxido de sodio
	- Catequina
	- Fosfato de sodio monobásico grado reactivo
	- Fosfato de sodio di básico grado reactivo
	- Ferrocianada de potasio
	- Ácido tricloroacético
	- Cloruro férrico
	- Trolox
	- ABTS
	- Persulfato de potasio
	- Agua destilada
	- Glicerina
	- Gelatina

Los equipos e instrumentos y material de laboratorio que se utilizaron en el desarrollo de la investigación se describen en la Tabla 5.

Tabla 5

Equipos e Instrumentos y Material de Laboratorio

Equipos	Instrumentos y materiales
- Cámara fotográfica	- Tubos de ensayo de 15 ml
- Equipo de GPS.	- Tubos para centrifuga
- Equipo de baño maría.	- Balanza analítica.
- Centrifuga.	- Agitador magnético
- Espectrofotómetro UV-VIS	- Balones volumétricos de 100ml
- Refrigeradora.	- Vasos de precipitación de diferente capacidad de volumen
- Microscopio binocular	- Pipetas de 10ml
	- Micropipeta automática de 100 a 1000 uL
	- Probetas de 100ml
	- Termómetro
	- Varilla de vidrio
	- Peras
	- Puntas para micro pipetas

3.4 Descripción de la fase experimental

A continuación, se detalla la metodología que se utilizó en la determinación del origen botánico floral, cuantificación de polifenoles, flavonoides totales y capacidad antioxidante en la miel de abeja *Apis mellifera*.

3.4.1 Evaluación del origen botánico de la miel mediante análisis melisopalinológico.

Previo al análisis melisopalinológico, se identificó 11 apiarios activos con 324 colmenas que pertenecen a la provincia del Carchi, con una producción anual de 11,27 Kg de miel por colmena. A diferencia de la provincia de Sucumbíos donde solo se logró identificar 3

apiarios activos con una producción de 0,73 Kg de miel por colmena, dando un total de 14 apiarios activos con 345 colmenas. Estos datos se obtuvieron de la encuesta que se realizó a cada apicultor (Anexo 1). Los nombres de los apicultores y la altura de las localidades de procedencia de la miel se presentan en el anexo 2.

- **Muestreo de la flora apícola**

La identificación de la flora apícola, se realizó en los apiarios previamente identificados en las provincias Carchi y Sucumbíos. Se utilizó la metodología radial referida por Insuasty (2016), se tomó como referencia un radio de 300 metros alrededor de la colmena, donde se identificaron las especies de plantas melíferas que contenían el polen, se procedió a recolectar y posteriormente, almacenarles y etiquetarles en fundas de papel, con los respectivos datos para su identificación previa en el laboratorio.

El polen extraído de las flores fue colocado directamente en un portaobjetos y observado en el microscopio binocular marca GREETMED y el objetivo 100X aumentos. Se procedió a fotografiar los granos de polen con una cámara marca SONY y se realizó una guía polínica que ayudará en la identificación y cuantificación de los granos de polen observados en la miel de abeja.

- **Muestreo de la miel de abeja**

La obtención de las muestras se realizó en los meses de febrero a mayo del 2019. El muestreo se ejecutó en cada apiario identificado como productor de miel, la muestra obtenida fue de 1000g por cada unidad experimental en estudio.

El muestreo se basó en la norma INEN 1631 (1989), las muestras fueron almacenadas en condiciones óptimas para evitar su deterioro y conservar sus propiedades nutricionales y funcionales. El registro de las muestras se realizó en una hoja de registro donde constó la

información del apicultor y del apiario que se encuentra en el anexo 1.” Hoja de registro para identificar las muestras de miel”.

- **Análisis de polen contenido en la miel de abeja**

Una vez colectado las muestras se procedió almacenar a temperatura ambiente, la identificación del polen se determinó aplicando la metodología referida por Erdtman 1960, que se describe a continuación:

- Se homogenizó cada muestra de miel y se pesó 10g en tubos para centrífuga de 50ml de capacidad, se agregó 20ml de agua destilada, posteriormente se centrifugó durante 5 minutos a 2500 rpm.
- Se procedió a realizar la acetólisis de la miel, agregando 5ml de la mezcla acetólica que consistió en (9 ml de anhídrido acético + 1ml de ácido sulfúrico), se sometió a baño maría a una temperatura de 70°C durante 3 minutos y se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos.
- Se eliminó el sobrante y se lavó con agua destilada para eliminar el resto de azúcares, se agregó 5ml de agua destilada y se centrifugó, el sedimento obtenido fue colocado en un portaobjetos y cubierto con glicerina posteriormente se sometió a calor hasta que se disolvió y se cubrió la muestra con una lámina cubreobjetos.
- Las placas obtenidas fueron observadas en el microscopio binocular con el lente de 100X aumentos, donde se identificó el polen previamente observado en las flores reportadas como flora melífera
- Se procedió a cuantificar e identificar los granos de polen para determinar si las mieles son monoflorales o multiflorales, según el método de Erdtman 1960 describe que el conteo se hace en base a 600 granos de polen por cada placa, en

vista que el conteo de polen era mínimo, se tomó como referencia un estudio sobre el origen geográfico y botánico de miel de abeja en cuatro departamentos de Colombia Parra et al., (2013) quienes mencionan que el conteo se hace en 300 granos de polen.

3.4.2 Determinación de fenoles o polifenoles totales

Según Zalibera et al., (2008) el contenido de fenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu basado en la medida de 760 nm de la intensidad de coloración azul que se genera por la reacción del reactivo.

Preparación de la muestra. -Se pesó 1 gramo de miel de abeja, que posteriormente fue diluido en 100ml de agua destilada, esta dilución fue denominada muestra madre.

Curva de calibración con ácido gálico. - Se pesó 0,020g de ácido gálico, se aforó en un balón volumétrico de 100ml con agua destilada, a partir de esta solución se procedió a realizar la curva de calibración en concentraciones de 5, 10, 40, 80 y 100 ppm respectivamente, como se muestra en la figura 7.

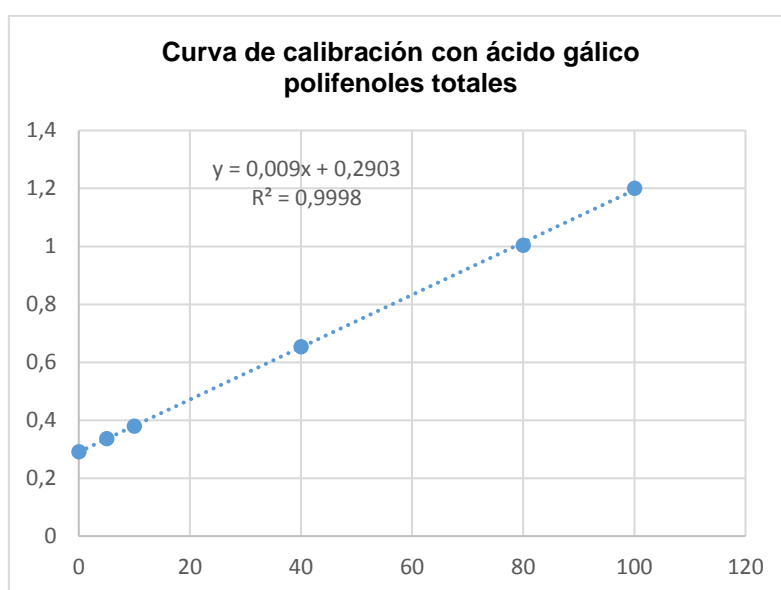


Figura 7. Curva de calibración con ácido gálico – Polifenoles totales

Solución carbonatada. – En una balanza analítica se procedió a pesar 20g de carbonato de sodio al 20% de concentración, se aforo en un balón volumétrico de 100ml con agua destilada.

Procedimiento. – En un tubo de ensayo se colocó 6ml de agua destilada y un 1 ml de muestra madre, se agregó 1 ml del reactivo Folin Ciocalteu , se agito durante 30 segundos, y se dejó reposar aproximadamente 3 minutos, se agregó 2 ml de solución carbonatada al 20% nuevamente se agito, se coloca en el equipo de baño maría a 40 °C durante 2 minutos se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV a 760nm a temperatura ambiente, los resultados se expresaron en mg equivalente de ácido gálico por gramo de muestra (mg ácido gálico/g).

Cálculos y expresión de los resultados

La cuantificación se realizó utilizando una curva de calibración realizada previamente en el equipo y utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{mg}{g} \text{ ÁcidoGálico} = \frac{a*b*d*f}{p} \quad (1)$$

Donde:

a = Concentración de ácido gálico obtenida a partir de la curva de calibración (mg/g)

b = Volumen total de extracto (100ml)

d = Factor de dilución

f = Factor para transformar unidades (f = 0.001)

p = peso de la muestra g.

3.4.3 Determinación de flavonoides totales

Según la metodología de Zhishen et al., (1999) los flavonoides totales son compuestos que presentan al menos tres hidroxilos fenólicos, condición que facilita su clasificación y reactividad frente al tricloruro de aluminio (Salamanca Grosso, Correa Carvajal y Principal 2007). La reacción de los flavonoides con cloruro de aluminio forma un complejo de color rosa en medio básico.

Preparación de la muestra. - Se pesó 10 gramos de miel abeja en una balanza analítica, los mismos que fueron diluidos en 25ml de agua destilada, esta dilución se la denominó muestra madre.

Curva de calibración con catequina. - Se pesó 0,01g de estándar catequina de 98% de pureza, se diluyó y aforó con metanol en un balón volumétrico de 100ml, se realizó la curva de calibración con la solución patrón de catequina en diferentes concentraciones 0, 10, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm y se aforo a 10 ml con metanol, como se indica en la figura 8.

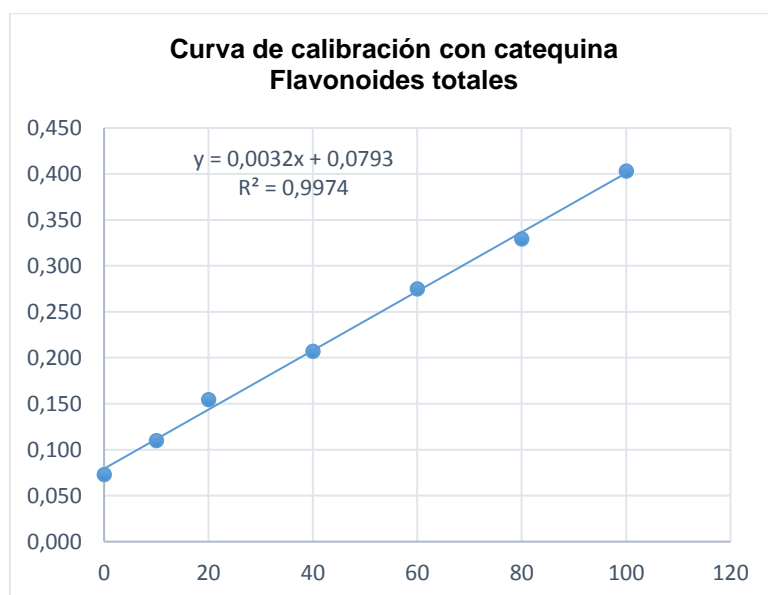


Figura 8. Curva de calibración con catequina – Flavonoides totales

Preparación de soluciones:

- **Cloruro de aluminio (10%).** – En una balanza analítica se pesó 18,214g de cloruro de aluminio el mismo que se disolvió y aforo a 100ml con agua destilada.
- **Nitrito de sodio (5%).** – Se pesó 5g de Nitrito de Sodio en una balanza analítica, se disolvió y aforo a 100ml en un balón volumétrico con agua destilada.
- **Hidróxido de sodio (1N).** – En una balanza analítica se pesó 8g de Hidróxido de sodio, se disolvió con la ayuda del ultrasonido y se aforó a 200ml en un balón volumétrico con agua destilada.

Procedimiento. - Se colocó, 1ml de la muestra madre en un tubo de ensayo, se adicionó 4ml de agua destilada y se homogenizó, se añadió 0,3ml de nitrito de sodio al 5% y se agitó en un vortex, se dejó reposar durante 5 minutos, transcurrido este tiempo se agregó 0,3ml de cloruro de aluminio al 10% y se dejó reposar 5 minutos, se adicionó 2ml de hidróxido de sodio 1N, reactivo con el que las soluciones pasan de color amarillo a rosado y se aforó a 10ml con agua destilada (2,4ml de agua destilada), homogenizar bien la muestra y medir una longitud de onda de 490nm, los resultados se expresan como mg de catequina, por interpolación de la absorbancia obtenida.

Cálculos y expresión de los resultados

La cuantificación se realizó utilizando una curva de calibración realizada previamente en el equipo y utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{mg}{g} \text{ Catequina} = \frac{a*b*d*f}{p} \quad (2)$$

Donde:

a = Concentración de catequina obtenida a partir de la curva de calibración (mg/g)

b = Volumen total de extracto (100ml)

d = Factor de dilución

f = Factor para transformar unidades (f = 0.001)

p = peso de la muestra g.

3.5 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS y FRAP de las muestras de miel

La capacidad antioxidante en la miel de abeja se evaluó por los métodos ABTS y FRAP, a continuación, se puntualizará cada uno de ellos.

3.5.1 Principio del método ABTS

Es un método indirecto que permite medir la habilidad del antioxidante para estabilizar el catión radical *ABTS*^{transf}*. Dicha estabilización provoca disminución de la absorbancia del catión radical.

El radical catión *ABTS** una vez generado por medio de enzimas (peroxidasa, mioglobina) o químicamente (dióxido de magnesio, per sulfato potásico), presenta características con máximos de absorción a 414, 645, 734 y 815nm. El que, frente a un agente antioxidante dador de electrones, se reduce provocando la decoloración de la disolución del radical y que es determinado espectrofotométricamente. Henríquez et al., (2002).

Preparación de reactivos:

Solución amortiguadora de fosfatos 75mmol/L (pH = 7.00)

- **Solución A (0,2 mol/L).** – Se pesó 1,037g de fosfato de sodio monobásico y se aforó con agua destilada a 100 mL en un balón de aforo.

- **Solución B (0,02mol/L).** – Se procedió a pesar 5,33g de fosfato de sodio dibásico y se aforó con agua destilada a 500mL en un balón de aforo.
- **Obtención del Buffer fosfato**

Se mezcló 95 mL de la solución A con 405 mL de solución B, aforar hasta 900mL con agua destilada y se midió el pH. Se procedió a ajustar el pH con la solución A hasta alcanzar un pH de 7, se envaso la solución en una botella limpia y se almaceno a temperatura ambiente.

Solución Stock ABTS

- **Solución de ABTS (7mM).** - En una balanza analítica se pesó 0,0960g de **ABTS** (548,68g/mol), se disolvió en agua ultrapura completamente y se aforó en un volumen de 25ml, refrigeramos a 4°C.
- **Solución de Persulfato de Potasio $K_2S_2O_8$ (2,45mM).**- Se pesó en una balanza analítica 0,01655g de $K_2S_2O_8$, se disolvió en agua ultrapura con la ayuda del equipo ultrasonido y se aforó a 25mL, almacenar la solución en refrigeración a 4°C.
- **Solución activa de ABTS. +**

Se mezcló en proporciones 1:1 la solución **ABTS (7mM)** con la solución de persulfato de potasio $K_2S_2O_8$ (2,5mM) y se dejó reposar durante 16 horas antes de su uso.

- **Solución de Trabajo ABTS. +**

En un frasco color ámbar se diluyó la solución activa de ABTS. + con buffer fosfato hasta obtener una lectura de absorbancia de $1,1 \pm 0,01$ a una longitud de onda de 734nm.

Preparación de la Curva de calibración:

- **Solución Madre de Trolox (200 μ mol/L).** - Se pesó 0,05g de Trolox (PM 250,32g/mol), se adicionó de 15-20 gotas de etanol al 95%, se disolvió todos los cristales y se aforo a 100mL con la solución amortiguadora en un balón volumétrico color ámbar. La preparación y manipulación del Trolox, se realizó en la obscuridad para evitar su degradación.
- **Curva de calibración (0-800 μ mol/L).** - Se preparó la solución patrón con Trolox, en concentraciones de 0, 200, 300, 400, 500, 600 y 700 μ MTrolox y un blanco, como se detalla en la figura 9.

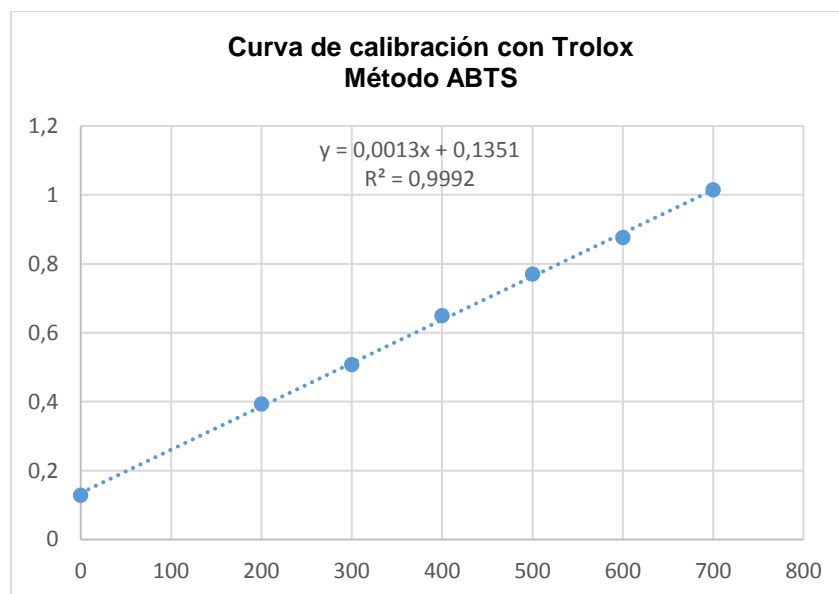


Figura 9. Curva de calibración con Trolox – Capacidad Antioxidante - Método ABTS

Procedimiento. – Se colocó en un tubo de ensayo 200 μ L de muestra debidamente diluida con buffer fosfato con pH 7, se añadió 3800 μ L de la solución de trabajo de **ABTS**. + estabilizada y se procedió agitar en vortex durante 30 segundos, se dejó en reposo durante de 45 minutos en un lugar oscuro, transcurrido este tiempo se midió la absorbancia final de cada muestra por triplicado a una longitud de onda de 734nm.

Determinación de la absorbancia neta

Para la curva de calibración se calcula la absorbancia neta como se indica en la ecuación y se grafica en función de la concentración.

$$ABTS\ muestra \frac{y}{o} patrón\ trolox = ABS\ solución\ de\ trabajo\ inicial - ABS\ muestra\ 45\ min - ABS\ blanco \quad (3)$$

El valor obtenido se interpola en la curva de calibración y se interpreta los resultados en $\mu\text{MTrolox/mL}$ o $\mu\text{MTrolox/g}$ muestra.

3.5.2 Principio del método FRAP

El poder reductor del hierro se determinó mediante la cuantificación de un complejo cloruro férrico-ferricianada de potasio (Oyaizu, 1986), debido a la reacción entre el antioxidante y el ion férrico provocando su reducción a Fe^{2+} .

Preparación de reactivos:

Solución amortiguadora de fosfatos pH 6,6

- **Solución A.-** Pesamos en una balanza analítica 2,3998g de Fosfato de sodio dibásico, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$, diluimos con agua destilada y aforamos a 100mL en un balón volumétrico.
- **Solución B.-** Se pesó 7,1035g de Fosfato de sodio monobásico NaH_2PO_4 , se disolvió en agua destilada y aforo hasta 250mL en un balón volumétrico.

Buffer fosfato pH 6,6

Se adiciono a la solución **A**, 100mL de la solución **B**, llevar a 220mL con agua destilada ajustando el **pH a 6,6** y aforar a 250mL. **Solución de ferricianida de potasio 1%**

- En una balanza analítica se pesó 1g de ferricianida de potasio protegida debidamente de la luz y se diluyó con agua destilada, se aforo a 100mL en un balón volumétrico.

Solución de Cloruro Férrico $FeCl_3$ al 1%

- Se pesó 1g de cloruro férrico $FeCl_3$, diluir con agua destilada y aforar hasta 100mL en un balón volumétrico.

Solución de Ácido Tricloroacético al 10%

- En una balanza analítica se pesó 10g de TCA y se disolvió con agua destilada en un vaso de precipitación, posteriormente se transvaso en un balón volumétrico y se aforo con agua destilada hasta 100mL.

Curva de calibración

- Se preparó la solución patrón con Trolox, en concentraciones de 0, 200, 300, 400, 500, 600 y 700 μ MTrolox y un blanco, como se muestra en la figura 10.

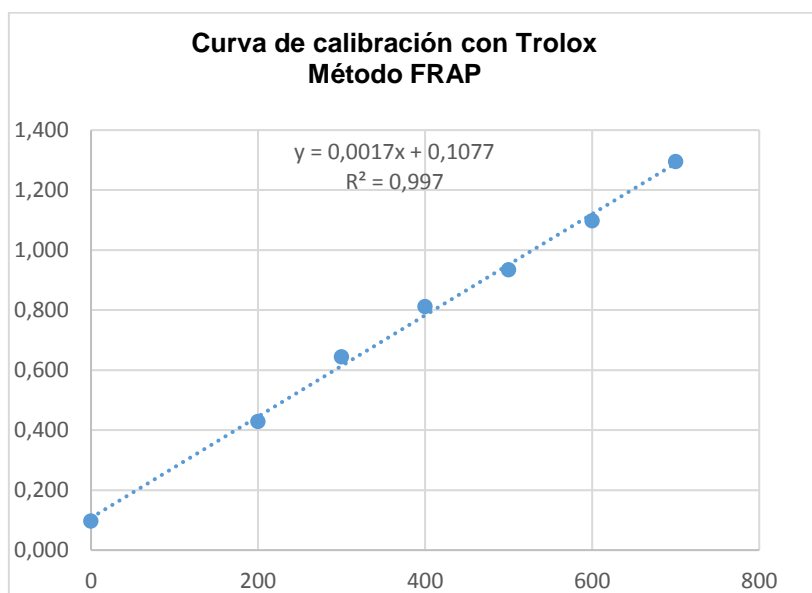


Figura 10. Curva de calibración con Trolox – Capacidad antioxidante – Método FRAP

Procedimiento. - Se agregó 1mL de muestra y/o estándar en un tubo de ensayo de 10mL, en el cual se adiciono 2,5 de buffer fosfato pH 6,6 y 2,5mL de la solución Ferrocianada de potasio al 1%, posteriormente se dejó incubar a baño María a 50°C durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo se añadió 2,5mL de solución de Ácido tricloácetico al 10%, se agregó 2,5mL de agua destilada y 0,5mL de cloruro férrico $FeCl_3$ al 1% el mismo que se dejó reposar 20 minutos en la obscuridad, posteriormente se midió cada una de las muestras por triplicado a 700nm.

3.6 Identificación de los usos potenciales de la miel mediante análisis multivariado de componentes principales (PCA) y de conglomerados (Clúster)

El análisis multivariado y de componentes principales (PCA), se realizó con la ayuda del programa estadístico Restudio. Se evaluaron 14 muestras de miel, distribuidas en las dos provincias antes mencionadas, con el fin de evaluar la variabilidad en función del origen botánico floral, para determinar la presencia de compuestos bioactivos (polifenoles totales, flavonoides totales) y capacidad antioxidante por los ensayos (ABTS y FRAP).

El análisis multivariado de componentes principales (PCA), permitió ordenar e identificar los factores que aportan mayor variación en los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, también se utilizó la prueba de análisis de conglomerados (Clúster) el cual permitió asociar los datos en grupos de mayor similitud entre sí, es decir muestras de miel que tienen propiedades en común.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación del origen botánico de la miel mediante análisis melisopalínológico.

Los resultados obtenidos del análisis melisopalínológico para las 14 muestras de miel de la abeja *Apis mellifera*, arrojó un total de 37 tipos polínicos, se determinaron a nivel de especie floral, de este total, solo 13 fueron de real importancia entre los que se destacan el eucalipto, mora, trébol, diente de león, chilca, malva, pumamaqui, aguacate, naranja, limón, moquillo y dalia, cuyos porcentajes polínicos se expresan en la tabla 6.

Tabla 6

Tipos polínicos relevantes identificados en la miel de abeja

Especie floral	Nombre científico	Media de los Tipos polínicos identificados en la miel de abeja expresada (%)
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulos</i>	31,28
Mora	<i>Rubus sp</i>	17,71
Trébol	<i>Trifolium sp</i>	12,9
Diente de león	<i>Taraxacum officinale</i>	13,11
Chilca	<i>Amaranthaceae</i>	10,78
Malva	<i>Malva sylvestris</i>	10,33
Pumamaqui	<i>Oreopanax ecuadorensis</i>	14,18
Aguacate	<i>Persea americana</i>	43,89
Naranja	<i>Citrus X sinensis</i>	14,41
Mandarina	<i>Citrus reticulata</i>	16,11
Limón	<i>Citrus X limón</i>	17,44
Moquillo	<i>Saurauia tomentosa</i>	11,14
Dalia	<i>Dahlia ssp</i>	15,89

La caracterización botánica de la miel de abeja se basó en la cantidad de granos de polen identificados en esta y cuyos porcentajes fueron relevantes para clasificar en monoflorales cuando en su composición presentó una especie con porcentaje superior o igual al 45% y multiflorales cuando tres o más especies se presentaron con porcentajes mayores o iguales al 10% (Tabla 7), dichos granos de polen se muestran en la figura 10. Para (Loveaux J, 1978) estos valores definen el origen botánico y la carga polínica presentes en la miel.



Figura 11. Tipos polínicos relevantes identificados en la miel de abeja *Apis mellifera* en las Provincias Carchi y Sucumbíos. **(A)** Eucalipto. **(B)** Mora. **(C)** Trébol. **(D)** Diente de león. **(E)** Chilca. **(F)** Malva. **(G)** Pumamaqui. **(H)** Aguacate. **(I)** Pispura. **(J)** Café. **(K)** Limón. **(L)** Naranja.

De la consideración de los resultados del análisis cuantitativo se dedujo la existencia de dos grupos bien definidos de muestras polínicas, por un lado, las mieles monoflorales que se codificaron como **C1**, **C2** y **C4** y las mieles multiflorales codificadas como **C3**, **C5**,

C6, C7, C8, C9, C10, C11, S1, S2 y S3, para su respectiva identificación. En la Figura 11 se observa la relación porcentual para mieles monoflorales y multiflorales.

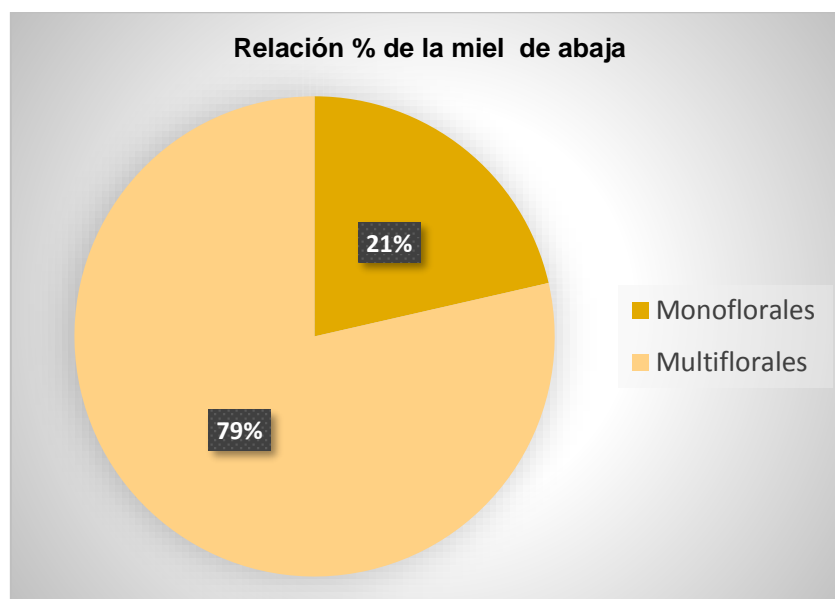


Figura 12. Relación % de la Miel de Abeja *Apis mellifera*

Las muestras **C1 y C2**, proceden de una zona templada fría donde la vegetación registrada como flora melífera dominante son el eucalipto (*Eucalyptus globulus*) con el 49,22% y palo de rosa (*Aspidosperma polyneuron*) con el 49,78%. La muestra **C4**, procede de una zona templada donde la vegetación arbórea fue el aguacate (*Persea americana*), que alcanzó un porcentaje del 52,67% el cholán (*Tecoma stans*) se presentó dentro de la categoría de polen aislado raro con 7,11%.

Las muestras **C3, C5, C6, C7, C8, C10, S1 y S2**, proceden de una zona templada fría donde se reportó flora melífera en común como la mora (*Rubus sp*) con el 17,71%, diente de león (*Taraxacum officinale*) 13,11%, trébol (*Trifolium sp*) 12,90%, chilca (*Bacchari sp*) 10,78%, moquillo (*Saurauia tomentosa*) 11,14% y nabo (*Brassica rapa*) 12,56%, hace pensar que las muestras corresponden a polen de origen regional por las semejanzas encontradas.

La muestra **C9**, procedió de una zona templada donde la vegetación se caracteriza por la presencia de árboles frutales como: aguacate (*Persea americana*), limón (*Citrus x limón*), mandarina (*Citrus*) y naranja (*Citrus x sinensis*), el análisis melisopalinológico arrojó que no hay presencia dominante de ningún tipo polínico. La muestra **C11**, proviene de una zona climática subtropical seca donde las plantas reportadas como flora melífera limón (*Citrus x limón*), mandarina (*Citrus reticulata*), naranja (*Citrus x sinensis*) y café (*Coffea arábica*), después de realizar los análisis respectivos no se deduce porcentajes dominantes de tipos polínicos.

La muestra **S3**, procedió de una zona climática cálida húmeda donde la vegetación reportada como flora melífera: flor de pitón (*Grias neuberthii*), guayacán (*Tabebuia chrysantha*), trébol tropical (*Trifolium repens*), tamburo (*Vochysia leguiana*) y malva (*Malva Silvestreis*), no alcanzó porcentajes de tipos polínicos dominantes.

De esta manera se puede inferir que, de las catorce muestras analizadas en las provincias Carchi (C) y Sucumbíos (S), las muestras **C1, C2 y C4** son de origen botánico monofloral por presentar porcentajes polínicos de una misma especie botánica superior al 45% y las 11 muestras restantes **C3, C5, C6, S1, S2, C7, C8, C9, C10, S3 y C11** son de origen botánico multifloral por presentar porcentajes polínicos de distintitas especies botánicas mayor o igual al 10%, como se indica en la Tabla 7.

Tabla 7

Tipos polínicos en la miel de abeja

TIPO POLÍNICO	NOMBRE CIENTÍFICO	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	S1	S2	S3
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	49,22	5,33	32	-	24,33	33,11	32,78	33,78	-	41,78	-	26,11	26,33	-
Trébol	<i>Trifolium sp</i>	7,11	5,22	16,89	-	9,44	15,67	8,44	16,44	-	9,22	-	14,22	-	-
Mora	<i>Rubus sp</i>	13,89	23,33	33,44	-	14,44	15,33	-	13,56	-	11,78	-	-	-	-
Calabaza	<i>Cucurbita ficifolia</i>	2,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tomate de árbol	<i>Solanum betaceum</i>	1,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pumamaqui	<i>Oreopanax ecuadorensis</i>	14,78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Frutilla	<i>Fragaria sp</i>	3,22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Palo rosa	<i>Aspidosperma polyneuron</i>	-	49,78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arrayán	<i>Luma apiculata</i>	-	3,78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,89	-	-
Diente de león	<i>Taraxacum officinale</i>	-	10,11	15,44	-	10	15,78	10,89	26	4,44	15	-	13,56	6,89	-
Aguacate	<i>Persea americana</i>	-	-	-	52,67	-	-	-	-	35,11	-	-	-	-	-
Limón	<i>Citrus x limón</i>	-	-	-	14,11	-	-	-	-	23,33	-	14,89	-	-	-
Cholan	<i>Tecoma stans</i>	-	-	-	7,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mandarina	<i>Citrus reticulata</i>	-	-	-	14,67	-	-	-	-	17,44	-	16,22	-	-	-
Naranja	<i>Citrus X sinensis</i>	-	-	-	10,67	-	-	-	-	17,33	-	15,22	-	-	-
Pispura	<i>Dalea astragalinus</i>	5,44	-	17,11	-	17,11	-	-	9,22	-	-	-	-	-	-
Ruda	<i>Ruta graveolens</i>	-	-	-	-	12,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Manzanilla	<i>Chamaemelum nobile</i>	-	-	-	-	2,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chilca	<i>Baccharis sp</i>	-	-	-	-	6,89	14,22	-	-	-	-	-	11,56	10,44	-
Laurel	<i>Laurus nobilis</i>	-	-	-	-	-	4,33	-	-	-	-	-	4,22	-	-
Encinos	<i>Quercus polymorpha</i>	-	-	-	-	-	-	19,11	-	-	-	-	-	-	-
Moquillo	<i>Saurauia tomentosa</i>	-	-	-	-	-	-	11,44	-	-	-	-	-	13	-
Nabo	<i>Brassica rapa</i>	-	-	-	-	-	-	12,67	-	-	7,56	-	-	-	-
Maravilla	<i>Marabalis jalapa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,89	-	-	-	-
Rábano	<i>Raphanus sativus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,67	-	-	-	-
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14,89	-	-	-
Café	<i>Coffea arábica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,44	-	-	-
Guaba	<i>Inga feuilleei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,56	-	-	-
Flor de mayo	<i>Plumeria rubra</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17,78	-	-
Llantén	<i>Plantago major</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,67	-	-
Guayusa	<i>Llex guayusa loes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	-
Dalias	<i>Dahlia ssp</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,89	-
Maíz	<i>Zea mays</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-
Flor de pitón	<i>Grias neuberthii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33,22
Guayacán	<i>Tabebuia chrysantha</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14,78
Trébol tropical	<i>Trifolium repens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,22
Tamburo	<i>Vochysia leguian</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
Malva	<i>Malva sylvestris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,33
Otras		2,67	2,44	0,33	0,78	3,11	1,56	3,11	1	2,33	3,11	1,78	-	-	4,89

4.2 Determinación de los contenidos fenólicos totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en la miel de abeja

Los resultados para cada variable evaluada se detallan a continuación:

4.2.1 Polifenoles o fenoles

Los resultados obtenidos de las catorce muestras de miel de abeja procedentes de las provincias Carchi (C) y Sucumbíos (S), se expresan en la figura 13, donde se indica la concentración de fenoles totales para cada una de ellas.

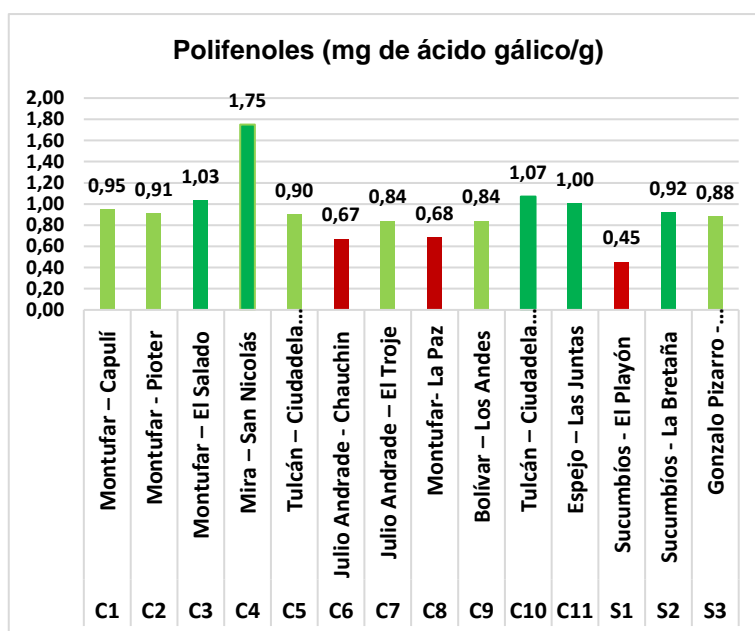


Figura 13. Contenido de Fenoles totales en distintas muestras de miel expresado como mg de ácido gálico/100g.

Las mieles con mayor contenido de fenoles totales están representadas por las muestras: **C4**, que representa a Mira sector San Nicolás con 175,30 mg de ácido gálico/100g, **C10** Tulcán ciudadela Bolívar 107,00 mg de ácido gálico/100g, **C3** Montúfar sector el Salado (103,00 mg de ácido gálico/100g), y **C11** Espejo sector Las Juntas 100 mg de ácido gálico/100g. Predominando la muestra **C4**. Las muestras **C6** del cantón San Pedro de Huaca, sector Chauchin y **C8** del cantón Montúfar, sector la Paz, presentaron menor contenido fenólico con una media de 67,50 mg de ácido gálico/100g muestra.

En la provincia de Sucumbíos (S) las mieles con mayor contenido fenólico proceden del Cantón Sucumbíos sector la Bretaña 92,00 mg de ácido gálico/100g y la miel procedente del Playón 45,00 mg de ácido gálico/100g, es la de menor contenido fenólico.

Los datos hallados en esta investigación son superiores a los registrados por Chávez (2019), en mieles del estado de Hidalgo, que alcanzaron rangos desde 16,61 y 101,92 mg de ácido gálico/100 g muestra y similares a los resultados de las mieles procedentes de diferentes regiones de Bolivia registrados por Quino (2017), con un rango comprendido entre 55,86 y 267,51mg de ácido gálico/100g muestra. Esto se debe al origen botánico y lugar geográfico de donde proceden las distintas muestras.

4.2.2 Flavonoides

En la figura 14 se indica el contenido de flavonoides totales de las catorce muestras de miel analizadas en las provincias Carchi (C) y Sucumbíos (S).

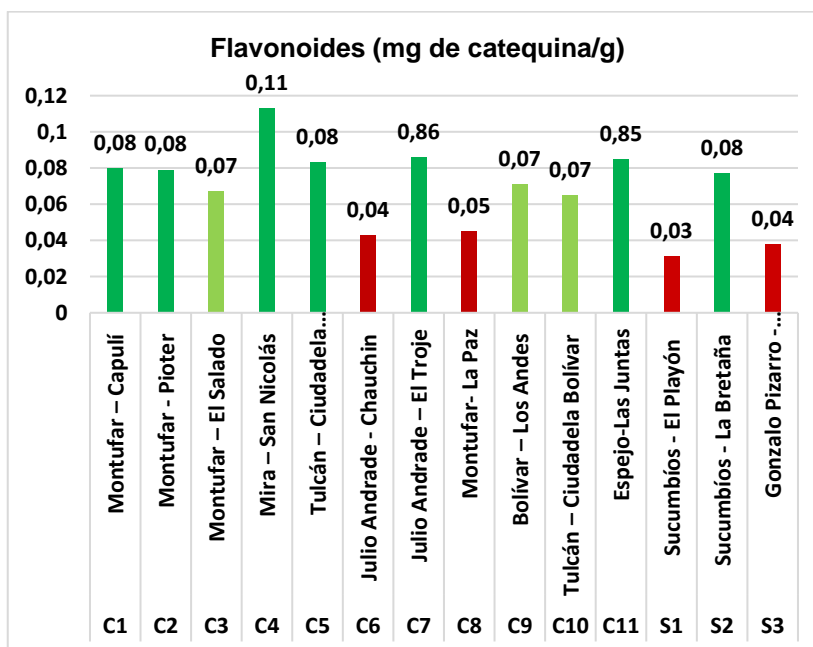


Figura 14. Contenido de Flavonoides totales en distintas muestras de miel expresado como mg de catequina/g

Las mieles con mayor contenido de flavonoides totales proceden de los cantones: Mira, sector San Nicolás 11,00 mg de catequina/100g muestra, San Pedro de Huaca, sector el Troje 8, 60 mg de catequina/100g muestra y Espejo sector Las Juntas 8,50 mg de catequina/100g muestra, predominando la muestra del Cantón Mira sector San Nicolás con la concentración más alta. A diferencia de las encontradas en el cantón San Pedro de Huaca, sector Chauchin 4,30 mg de catequina/100g muestra, que exponen un menor contenido de flavonoides totales.

La miel procedente del cantón: Gonzalo Pizarro (S) sector Lumbaqui 7,00 mg de catequina/100 g muestra, presenta la concentración más alta de flavonoides, la muestra de el Playón (S), presentó una concentración menor de flavonoides de 3,00 mg de catequina/100g.

El contenido de flavonoides para mieles procedentes de las provincias Carchi (C) y Sucumbíos (S) reportó valores entre 3,00 y 11, 00 mg de catequina/100g muestra, estos resultados fueron comparados con mieles procedentes de la región del Chaco Húmedo de Argentina, analizadas por Cabrera et al., (2017) donde se expresa valores desde 6,94 y 67,76 mg de catequina/100g muestra, superando los resultados registrados en esta investigación. Del mismo modo se comparó con mieles originarias del estado de Tabasco México, reportados por Balcázar et al., (2019) donde los valores alcanzaron rangos desde 7,13 y 18,86 mg de catequina/100g muestra, no obstante, cabe mencionar que estos valores son similares a los resultados registrados en esta investigación.

4.2.3 Capacidad antioxidante

En la miel de abeja la actividad antioxidante se presenta a través de los fenoles y los flavonoides que se encuentran en las plantas de donde las abejas recolectan el néctar para la producción.

Ensayo ABTS

Los resultados obtenidos por el ensayo ABTS, de las 15 muestras de miel provenientes de las provincias antes mencionadas, cuya nomenclatura es (C) y (S) respectivamente, se detallan en la figura 14.

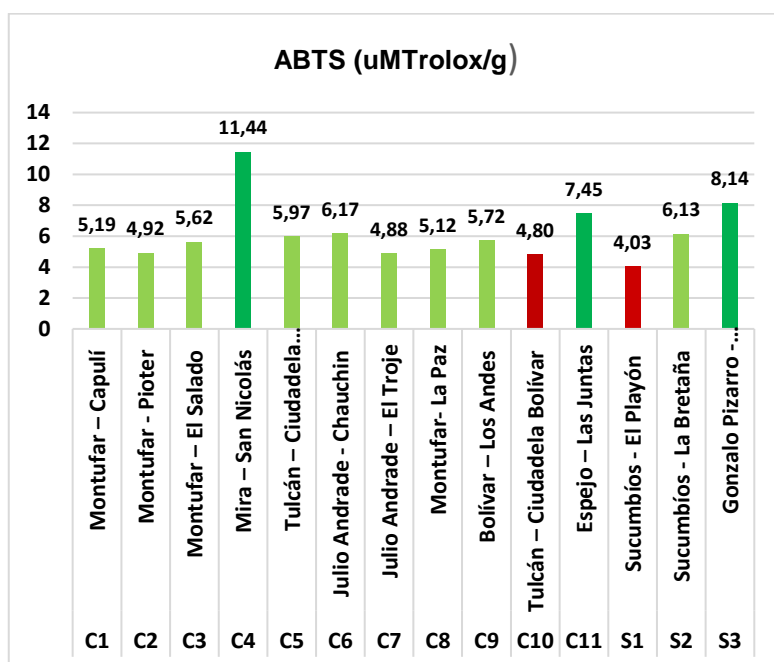


Figura 15. Capacidad antioxidante medida por el método ABTS en distintas muestras de miel expresado como $\mu\text{MTrolox/g}$.

La cuantificación de antioxidantes captados por el radical ABTS, presentó la concentración más relevante la miel procedente del Cantón: Mira Sector San Nicolás 114,40 $\mu\text{MTrolox}/100\text{g}$ muestra y la miel de menor concentración fue del Cantón Tulcán, ciudadela Bolívar 48,01 $\mu\text{MTrolox}/100\text{g}$ muestra. En la provincia de Sucumbíos, la muestra que arrojó mayor concentración procede del Cantón Gonzalo Pizarro, Sector Lumbaqui 81,43 $\mu\text{MTrolox}/100\text{g}$ muestr y la de menor concentración se registró en el Cantón Sucumbíos sector el Playón 40,31 $\mu\text{MTrolox}/100\text{gmuestra}$.

Los valores observados son superiores a los registrados en otras investigaciones, al no existir valores estándar para la capacidad antioxidante de la miel de abeja la comparación de los resultados se basó en aquellos obtenidos en mieles procedentes de diferentes regiones de

Bolivia estudiadas por Quino et al., (2017) donde expresan valores entre 26,44 y 41,25 μ MTrolox/100g de muestra. De esta manera se hace referencia que las mieles claras poseen menor actividad antioxidante que las mieles oscuras y se deduce que las muestras C4 y S3 alcanzan los valores más altos para esta variable ya que su coloración es oscura.

Ensayo FRAP

La investigación realizada en la miel de abeja procedente de los diferentes cantones presentó valores de actividad antioxidante por el método FRAP que se observan en la figura 16.

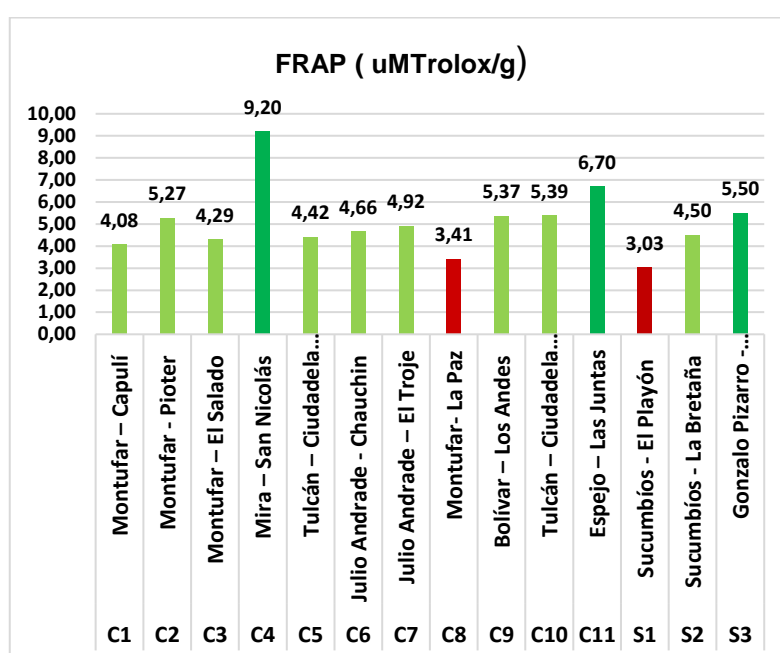


Figura 16. Capacidad antioxidante medida por el método FRAP en distintas muestras de miel expresado como μ MTrolox/g

La concentración más alta se presentó en la muestra de miel **C4** procedente de la provincia del Carchi, Cantón Mira sector San Nicolás 92,03 μ MTrolox/100g muestra, esta miel mostró capacidad intermedia para secuestrar al radical FRAP y la muestra de miel **C8** del Cantón Montúfar, parroquia la Paz presentó menor capacidad antioxidante de 34,08 μ MTrolox/100g muestra, capacidad inferior para inhibir al radical FRAP.

En la provincia de Sucumbíos la muestra que arrojó mayor capacidad antioxidante procede del Cantón Gonzalo Pizarro, Sector Lumbaqui 55,00 μ MTrolox/100g muestra y la menor

concentración se registró en el Cantón Sucumbíos sector el Playón 30,27 $\mu\text{MTrolox}/100\text{g}$ muestra, esto se debe al lugar geográfico de procedencia y origen botánico de la miel. Las muestras **C1, C2, C3, C5, C7, C9 y C10** que pertenecen a la provincia del Carchi, de acuerdo con su capacidad para inhibir al radical FRAP presentaron una media de de 4.8 $\mu\text{MTrolox}/\text{g}$ muestra.

4.3 Correlación entre los parámetros químicos de la miel de abeja

Considerando las variables estudiadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r), se puede apreciar que la relación de las fuerzas entre variables fue significativa en algunos casos, la tabla 8 muestra como tiende a compararse la correlación de las variables entre sí:

Tabla 8

Correlación de Pearson entre los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante

CORRELACIÓN PEARSON	ABTS	FLAVONOIDES	FRAP	POLIFENOLES
ABTS	1	0,4468	0,8643	0,785
FLAVONOIDES	0,4468	1	0,6661	0,7744
FRAP	0,8643	0,6661	1	0,8678
POLIFENOLES	0,785	0,7744	0,8678	1

4.3.1.1 Correlación de Pearson entre Flavonoides y Capacidad antioxidante (ABTS)

En la figura 17, se observa que la correlación lineal entre flavonoides totales y la actividad antioxidante por el método ABTS, es mínimamente proporcional adquiriendo valores de ($r = 0,4468$) respectivamente, esto quiere decir que la cantidad total de flavonoides no influye directamente en la actividad antioxidante. De acuerdo con Balcázar et al., (2019) este comportamiento se debe a que la capacidad antioxidante no está ligada en su totalidad con la cantidad de flavonoides totales, sino que está sujeta a otros factores propios de la

polinización como: la presencia de ácidos orgánicos, enzimas y a la fotosíntesis misma que realizan las plantas (flora melífera).

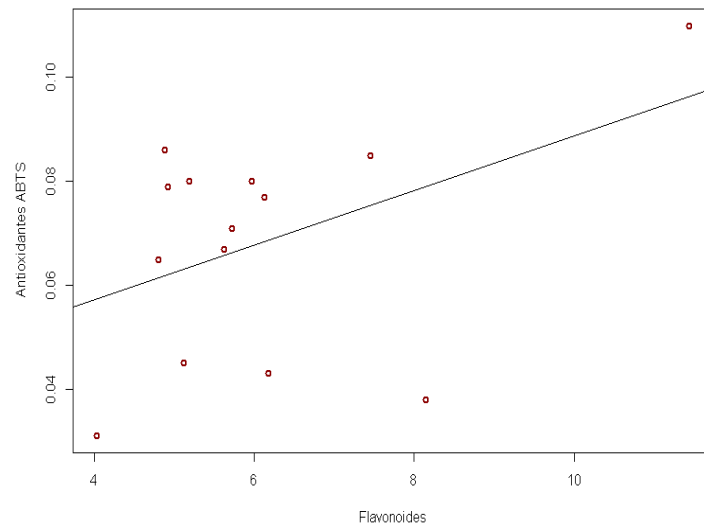


Figura 17. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables Flavonoides totales y antioxidante (ABTS)

4.3.1.2 Correlación de Pearson entre Flavonoides y Capacidad antioxidante (FRAP)

La correlación lineal entre flavonoides y la capacidad antioxidante por el método FRAP es medianamente proporcional, alcanzando valores de ($r = 0,6661$) como se indica en la figura 18 respectivamente, lo que expresa que el componente flavonoide reacciona más. De acuerdo con Carbonel et al., (2016), este comportamiento se debe a la capacidad reductora del hierro frente al componente flavonoide presente en las plantas reportadas como flora melífera.

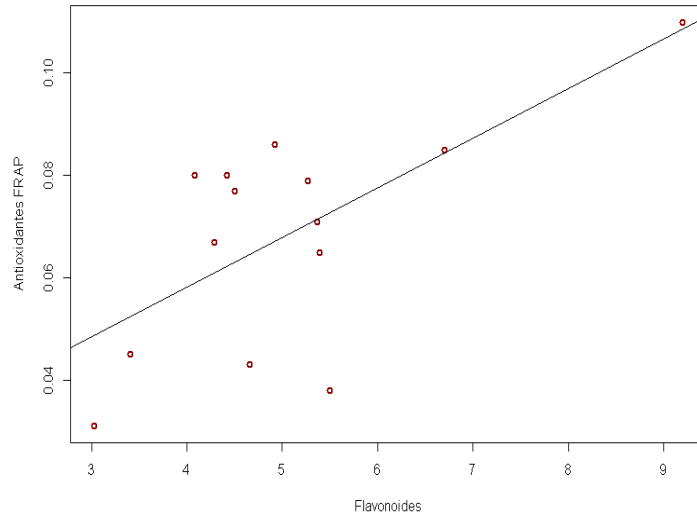


Figura 18. Diagrama de dispersión y correlación entre la variable Flavonoides totales y antioxidante (FRAP)

4.3.1.3 Correlación de Pearson entre Polifenoles y Flavonoides

En la figura 19 se examinó la correlación lineal entre las variables polifenoles totales y flavonoides totales observándose entre ellas alta significación estadística ($r = 0,7744$), esto expresa, que a mayor cantidad de polifenoles totales, mayor cantidad de flavonoides totales presentes en la miel, para García (2018) esta relación entre variables es nata de una miel de calidad y dependerá intrínsecamente del origen botánico floral y no del mecanismo de polinización de las abejas.

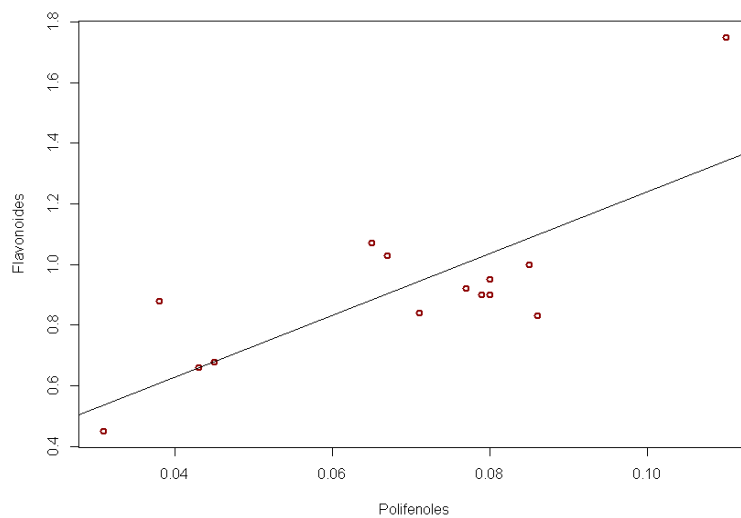


Figura 19. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables Polifenoles totales y Flavonoides

4.3.1.4 Correlación de Pearson entre las variables antioxidante (ABTS) y antioxidante (FRAP)

El análisis de Pearson para la capacidad antioxidante estimada mediante los métodos (ABTS y FRAP), se muestra en la figura 20; presentado una correlación altamente significativa ($r = 0,8643$), esto se relacionaría directamente con los polifenoles y flavonoides que a su vez serían los responsables de la capacidad antioxidante que presenta la miel de abeja, de acuerdo con Parra et al., (2019) la capacidad antioxidante está ligada a la fuente floral, que está asociada al contenido de metabolitos secundarios de la planta como los polifenoles y actividad enzimática.

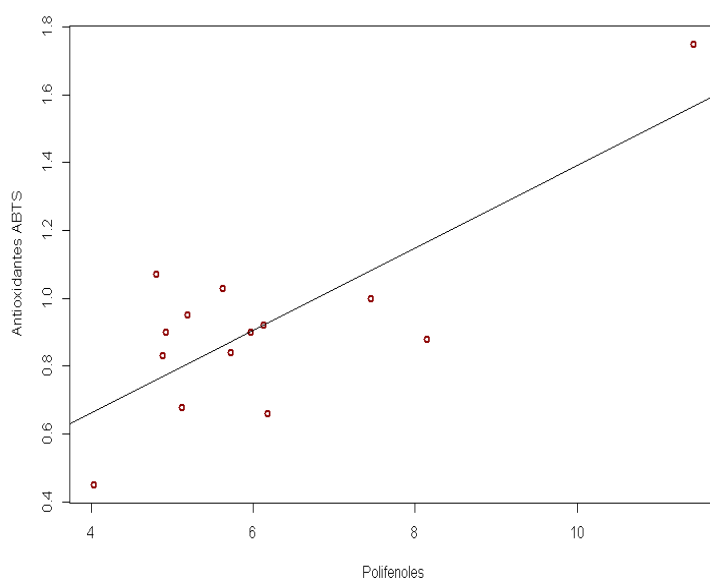


Figura 20. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables capacidad antioxidante (ABTS) y antioxidante (FRAP)

4.3.1.5 Correlación de Pearson entre las variables polifenoles y antioxidantes (ABTS)

La correlación lineal entre polifenoles totales y la capacidad antioxidante por el método ABTS como se indica en la figura 21, proyectó valores de ($r = 0,8678$). Para Londoño (2016), esta actividad antioxidante, les permite estabilizar radicales libres donando electrones o átomos de hidrógeno. No obstante, se argumenta que estas son características propias de la miel que están ligadas al lugar geográfico de procedencia y flora melífera.

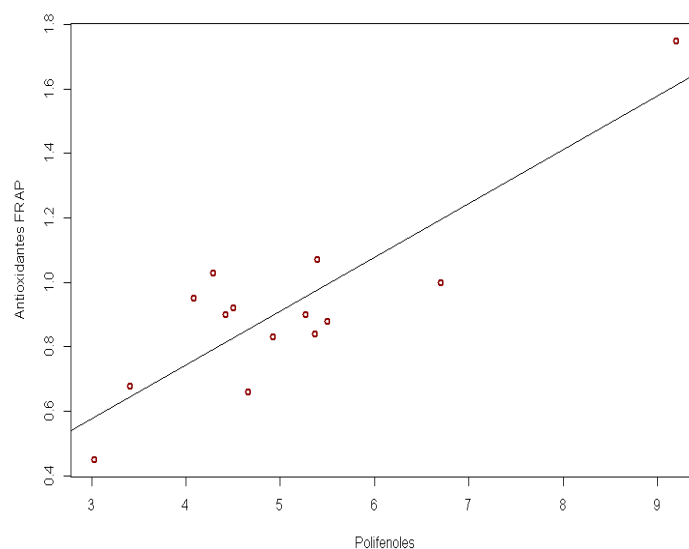


Figura 21. Diagrama de dispersión y correlación entre las variables polifenoles totales y capacidad antioxidante (ABTS)

4.4 Identificación de los usos potenciales de la miel mediante análisis multivariado de componentes principales (PCA) y de conglomerados de clúster

El análisis multivariado de componentes principales evaluó la variabilidad del contenido de polifenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante de los radicales ABTS y FRAP y en función de estas variables se determinó los posibles usos de la miel de abeja. En la tabla 9, se indican los autovalores y la variabilidad explicada para cada componente.

Tabla 9

Componentes principales y la variabilidad explicada para cada componente

Componente	Autovalores		
	Total	Varianza (%)	Varianza acumulada (%)
Dim.1	32188	80,47	80,47
Dim.2	0,581	14,53	94,995
Dim.3	0,1126	2,81	97,809
Dim.4	0,0876	2,19	100

En la figura 22, se muestra la correlación del primer componente (CP1), formado por las variables Polifenoles y Flavonoides totales, están altamente correlacionadas entre sí, de esta manera se agrupan las muestras **C1, C2, C3, C5, C9, C10 y S2** que presentaron flora melífera en común y capacidad antioxidante (ABTS) representa el 80.5% de la variabilidad de las 14 muestras analizadas. Así mismo, la capacidad de inhibición al radical FRAP, (CP2), representó el 14.53% de la variabilidad y los componentes juntos (CP1 y CP2) representan el 95% de la variación total de los datos.

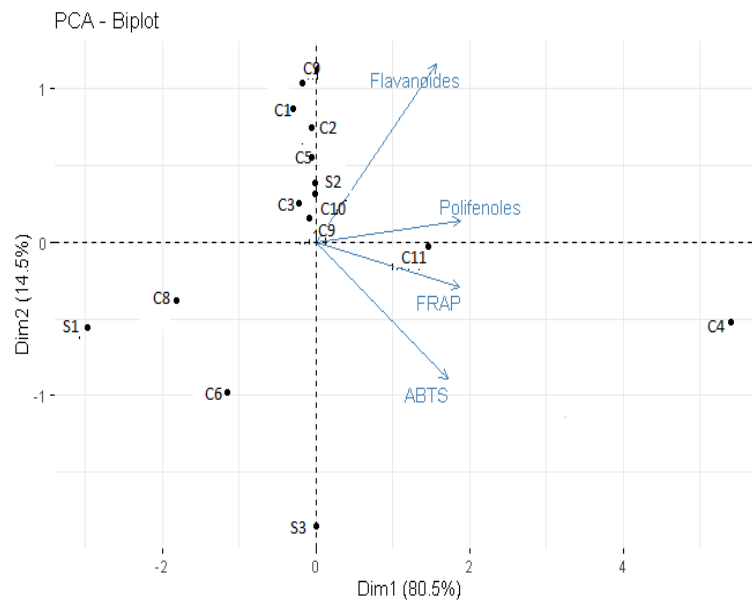


Figura 22. Diagrama bidimensional entre los dos componentes principales

La matriz de componentes rotados, permitió identificar de mejor manera los valores de correlación entre las variables originales y cada uno de sus factores, expresando valores situados por encima de $\pm 0,5$ y lograr una mejor exhibición de las variables obtenidas para cada componente como se indica en la tabla 10.

Tabla 10*Matriz de Componentes Rotados*

Matriz de Componentes Rotados			
Factores	Componentes		
	1	2	3
ABTS	0,952		
FRAP	0,702		
FLAVONOIDES			
POLIFENOLES			0,581

El uso potencial para las mieles se determinó mediante el análisis de conglomerados de clúster, se derivó un dendrograma de 2 conglomerados a un nivel de distancia de 3 vínculos como se muestra en la figura 23. El primer conglomerado se compone de dos grupos representados por la muestra **C4**, del extremo izquierdo y las muestras **C11, C3, C1, C5, S2, C10, C9, C2 y C7** del extremo derecho y el segundo conglomerado lo componen las muestras **S3, S1, C6 y C8**, esta clasificación se basó en parámetros químicos según el contenido total de polifenoles, flavonoides y origen botánico floral, responsables de la capacidad antioxidante.

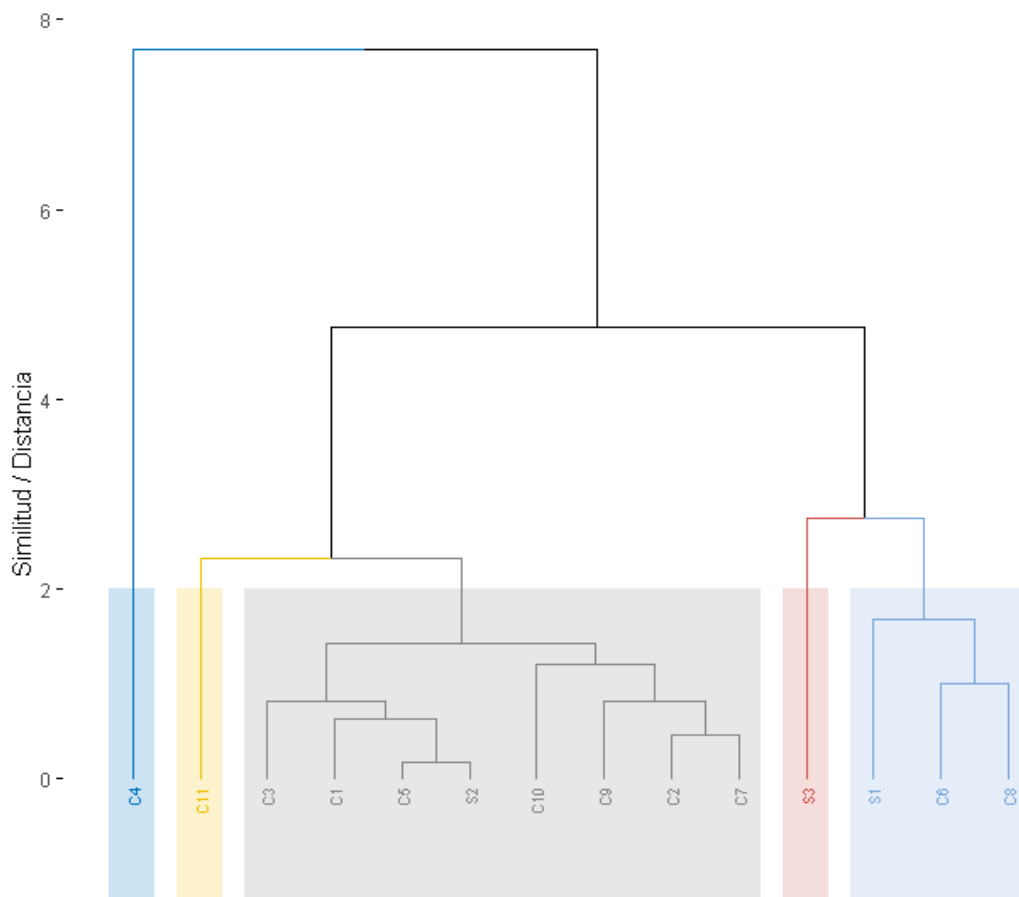


Figura 23. Dendrograma de clasificación para las mieles estudiadas.

Grupo 1.- Se puede argumentar que el Grupo 1 está representado por la muestra de miel **C4**, que representa el 7,15% del total, la misma que pertenece a la provincia del Carchi, cantón Mira, sector San Nicolás de la Sierra Norte. Esta miel procede la florescencia de la planta de aguacate (*Persea americana*) y fue caracterizada como monofloral, alcanzó el mayor contenido de polifenoles 175 mg de ácido gálico/100g de muestra y capacidad antioxidante por el ensayo ABTS 114,40 μ MTrolox/100g muestra, en comparación con la miel de eucalipto (*Eucaliptus globulus*), estudiada por Muños et al., (2014) procedente de la Sierra central de Perú donde se obtuvo valores para polifenoles de 83,15mg de ácido gálico/100g muestra y una capacidad antioxidante de 68,45 μ MTrolox/100g muestra.

Los polifenoles y capacidad antioxidante de la miel de abeja procedente de las flores de aguacate son responsables de las propiedades nutraceuticas, preventivas frente a enfermedades catastróficas. Por tal razón se la considera como fuente potencial en antioxidantes naturales. Para Coronado et al., (2015) los alimentos con propiedades antioxidantes deberían incorporarse en la dieta diaria para proteger al organismo del daño causado por los agentes oxidantes. Siendo la miel de abeja poseedora de estos atributos, se la debería incluir en la industria farmacéutica y de alimentos.

En la tabla 11 se aprecia algunos alimentos a los que se les atribuye capacidad antioxidante por el contenido de fenoles como: el té verde, té negro, chocolate y vino.

Tabla 11

Contenido de fenoles en algunos alimentos

Alimento	Contenido de fenoles mg AGE/100g.
Té verde	165
Té negro	124
Chocolate	611
Vino	340
Miel de abeja	175

Fuente: <http://ve.scielo.org/scielo.php?script>

Se menciona que para obtener estos nutrientes de la miel de abeja se debe consumir 100g superando así la porción de ingesta adecuada que es de 30g/día. Sin embargo, la miel de abeja sin procesar es favorable para la salud, y puede ser incorporada en la dieta diaria como endulzante natural y en la elaboración de alimentos nutraceuticos Ciappini et al., (2013).

Grupo 2.- Representó el 64,29% y estuvo conformado por nueve muestras de miel: **C1, C2, C3, C5, C7, C9, C10, C11 y S2**, estas muestras tuvieron capacidad intermedia para inhibir a los radicales ABTS y FRAP. De acuerdo con Ordoñez (2018), su capacidad antioxidante está relacionada a su propiedad redox, donde los compuestos bioactivos actúan como agentes

reductores, considerándose así, como un alimento funcional de buena calidad, para consumo directamente y prevenir enfermedades.

Cabe recalcar que la muestra de miel **C11**, posee propiedades funcionales que se le atribuyen a los pigmentos naturales presentes en la planta del café la misma que reporta propiedades antioxidantes que reduce la incidencia de cáncer, diabetes y enfermedad hepática, protege contra la enfermedad de Parkinson y reduce el riesgo de mortalidad (Velásquez, 2018).

Grupo 3.- Está conformado por las muestras de miel: **C6, C8, S1 y S3** que representan el 28,57% del total. La capacidad antioxidante de las muestras de miel **C6, C8 y S2** fue mínima para inhibir a los radicales libres ABTS y FRAP, por tal razón se asume que las especies florales de donde proceden no presentan cantidades altas de compuestos bioactivos (polifenoles y flavonoides totales), a quienes se les atribuye la capacidad antioxidante. No obstante, la muestra de miel **S3**, presentó una capacidad antioxidante intermedia la misma que está relacionada con la flora melífera y lugar geográfico de procedencia. Por tal razón a esta miel se le atribuye propiedades funcionales y se la debería destinar a la industria de alimentos y consumo directo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El análisis melisopalinológico permitió identificar el origen botánico de la miel de abeja y clasificarlas en monofloral y multifloral, según la cantidad del tipo de polen encontrado.
- Las mieles monoflorales están representadas por el eucalipto con el 49,22%, el palo rosa con el 49,78% y el aguacate con el 52,67%.
- Las mieles multiflorales presentaron flora melífera común propias de la zona de origen, como eucalipto con el 31.28%, trébol con el 12.90%, mora con el 17.71%, diente de león con el 13.11%, pispura con el 14.48% y chilca con el 10.78%.
- El análisis de polifenoles, flavonoides totales y origen botánico floral responsables de la Actividad antioxidante, determinó que el método ABTS fue más efectivo con relación al FRAP para capturar a los radicales libres, presentado una media de 6,11 uMTrolox/g muestra.
- El análisis estadístico multivariado de componentes principales (PCA) y de conglomerados (Clúster) permitió identificar tres grupos de mieles, según la actividad antioxidante, que determina los usos potenciales de la miel de abeja en la formulación de productos en la industria farmacéutica y de alimentos.

5.2 Recomendaciones

- Hacer de la apicultura un medio útil para el fortalecimiento de los sistemas de vida y desarrollo, incentivando a los apicultores de las provincias del Carchi y Sucumbíos a desarrollar esta actividad como una fuente de ingresos y conservación botánica de las especies florales, ya que es indispensable para que la vida continúe.
- Determinar un perfil de fenoles y flavonoides contenidos en la miel de abeja y de esta manera aprovechar los beneficios que tienen para la salud, basados en sus propiedades específicas de cada uno de estos compuestos y su capacidad antioxidante.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, Sarfarz y Othman, Hayati. (2013). Review of the medicinal effects of tualang honey and a comparasion whit Manuka honey. *Malaysian Journal of Medicinal Sciences*, 6-13. doi:10.1100/tsw.2008.64
- Aliyu, M. O. (2012). Fractionation of acacia honey affects its antioxidant potencial. *Jornal of Acute Diasease*, 115-119. doi:10.1016/S2221-6189(13)60070-0
- Almajano, M. (2016). *Actividad antioxidante de diversas plantas*. Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona.
- Balcázar, Cruz L., Valadez, Villarreal A., López, Naranjo J., Ochoa, Flores A. y Rodríguez, Blanco L. (2019). Relación del contenido de flavonoides y color en la miel de abeja (*Apis mellifera*) originaria del estado de Tabasco México. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 818-825.
- Breña, C. (2017). *Métodos analíticos para Determinación de Antoxidantes* .
- Cabrera, M. P. (2017). Colour, antioxidant capacity, phenolic and flavonoid content of honey from the Humid Chaco Region, Argentina. *Internacional Journal of experimental Botany*, 86, 124-130.
- Carbonel, Nora y Suárez, Silvia. (2016). *Características Fisicoquímicas y capacidad antioxidante del extracto de Gentianella nitida*. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Lima.
- Carrasco, J. C. (2020). Produccion de miel en Perú. *Agencia Agraria de Noticias*. Recuperado el 6 de 10 de 2020, de <https://agraria.pe/noticias/peru-produce-cerca-de-2-314-toneladas-de-miel-de-abeja-al-an-21527>

- Castro, M. (2019). Polifenoles: Compuestos Biactivos con Efectos Beneficos. *Ciencia y Nutrición*, I(3), 14-18.
- Chávez, Borges D., Quintero, Lira A., López, Oliveira A., Martínez, Juárez V. y Jiménez, Alvarado R. (2019). Determinación de compuestos biactivos y contenido de selenio en diversas mieles del estado de Hidalgo. *JEEOS*, 1-18. doi:10.19136/Jeeos.a3n2.3405
- Ciappini, M. Stoppani, F. Martinet, R. y Alvares, M. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenolicos y flavanoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Ciencia Tecnologia*, 45-51.
- Coronado, Marta. Vega, Salvador y Gutiérrez, León. (2015). Antioxidantes Perspectiva actual para la Salud. *Chil Nutr*, 206-209. Recuperado el 17 de 2 de 2020, de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
- Cuadras, C. (2014). *Nuevos Métodos de Análisis Multivariado*. Barcelona.
- Czepas, J. y Gwozdziński, K. (2014). The flavanoid quercetin. Possible solution for anthracycline - induced cardiotoxicity and multidrug resistance. *Biomedicine y Pharmacotherapy*, 68, 1149-1159. doi:10.1016/j.biopha.2014.10.013
- Frankel, Robinson y Berenbaum MR. (2009). Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14. Obtenido de http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16255/1/ff2008_gutierrez.pdf
- Frankel, Robinson y Berenbaum, M. (2015). Antioxidant in wax capacity and honey bee brood. *Journal of Apicultural Research*. doi:10.3896/IBRA/1.49.4.01
- Ganadería, M. d. (2018). Apicultores registrados en Ecuador. Recuperado el 6 de 10 de 2020, de <https://www.agricultura.gob.ec/ecuador-tiene-1760-apicultores-registrados/>

- García, Á. (2018). *Contenido total de flavonoides y medida del color en mieles*. Universidad Zaragoza.
- García, M. (2016). *contenido en Antocianos y compuestos Fenolicos en diferentes Frutos secos deshidratados*.
- Gutiérrez, M. A. (Enero de 2008). Miel de abeja una fuente de antioxidantes. *12*(11).
- Hernández, L. (2013). *Determinación del potencial Nutraceutico y la Actividad Antioxidante de la miel propolizada*. Tesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba.
- INAMHI. (2014). *Anuario Meteorologico Nro. 51-2011*. Quito - Ecuador.
- Insuasty, Efrén., Martínez, Javier y Jurado, Henry. (2016). Identificación de flora y análisis nutricional de la miel para producción apícola. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *14*(1), 37- 44. doi:10.18684/BSAA(14)
- Inta. (17 de octubre de 2017). <http://www.bio-nica.info/Biblioteca/Apinet%20INTA%20-%20flora%20apicola.PDF>. Obtenido de <http://www.bio-nica.info/Biblioteca/Apinet%20INTA%20-%20flora%20apicola.PDF>
- Kamul, R. R. (2008). Potencial antioxidante de la miel de *Melipona beecheii* y su relación con la salud. *Nutrición Hospitalaria*.
- Londoño, J. (2016). *Antioxidantes importancia biologica y métodos para medir su actividad*.
- Loveaux J, M. V. (1978). Methods in melissopalynology. *Bee world*, 137-157.
- Montoya, Patricia., Baca, Aida Y Bonilla, Blanca. (2017). Flora melifera y su oferta de recursos. *Biotecnología en el sector agropecuario y agrondustral*, *1*, 1-9.
- Moreno, C. (2016). *Estudio de capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y actividad microbiana*.

- Mungsan, N. (2018). *Origen y diversidad de polen apícola*. Obtenido de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/NOOSIN%20MUNGSAN.pdf>
- Muños, A. Ortiz, C. Blanco, T. y Castañeda, B. (2014). Determinación de compuestos fenolicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles Peruanas de diferentes tipos florales. *Sociedad química del Perú*, 287-297. doi:1810634X201400400008&script=sci
- Muños, Orlando y Copaja Silvia. (2007). Contenido de Flavonoides y Compuestos Fenólicos de mieles Chilenas e Índice Antioxidante. *Nutrición y Tecnología Alimentos*, 841-858.
- Navarro L, Periago MJ, y García Alonso. (2017). Estimacion de la Ingesta diaria de compuestos Fenolicos en la población española. *Rev Esp Nutr Hum Diet*.
- Ochoa, Claudia y Ayala, Adolfo. (2004). Los Flavonoides y su Aplicación en la industria de Alimentos. *Ingeniería de Alimentos - Facultad de Ingeniería - Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia*, 94-104. Obtenido de https://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria_y_competitividad/article/view/2280/3030
- Ordoñez, E., Reáttegui, D y Villanueva, T. (2018). Total Polyphenols and antioxidant capacity of peel and leaves in twelve citrus. *Scientia Agropecuaria*, 113-121.
- Parra, Guiomar ., Montoya, Paula y Chamorro, Fermín. (2013). Origen Geográfico y Botánico de Miel de Apis mellifera en cuatro Departamentos de Colombia. *Universidad Nacional de Colombia*, 427-438.
- Parra, Yanette., Blasco, Gabriela., Mortero, Eduardo y Bolado, Eugenia. (2019). Miel de abeja: propiedades antioxidantes y antimicrobianas. *REDICINySA*, 8, 1-12.

Recuperado el 15 de Enero de 2020, de file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Parra-Ga

Paxton, R. J. (2007). *Nosema ceranae has infected Apis mellifera in Europe*. Europe. doi.org/10.1051/apido

Quino, Marco y Alvarado, Juan. (2017). Capacidad Antioxidante y Contenido Fenólico Total de Miel de Abeja Cosechada en Diferentes Regiones de Bolivia. *Revista Boliviana de Química*, 34(3), 65-71. Recuperado el 10 de 10 de 2020, de http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v34n3/v34n3_a01.pdf

Rodríguez, Eduardo. Andrade, William y Diaz, Fabio. (2015). Antioxidant activity of extracts from leaves of *Bocconia frutescens* L. *Journal of Technology*, 14, 21-36.

Saavedra, C. K. (Marzo de 2013). Características polínicas y Composición química del polen apícola colectado. *Rev Chil*, 40(1).

Sánchez, C. (2015). *Análisis de componentes principales*.

Sanchez, E. (2013). <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112550.pdf>.

Schencke, C. Vásquez, B. y Sandoval, C. (2016). El Rol de la Miel en los Procesos morfofisiológicos de reparación de heridas. *Int. J. Morphol*, 34(1), 385-395.

Terrádez, M. (2017). Análisis de componentes principales. Obtenido de https://www.uoc.edu/in3/emath/docs/Componentes_principales.pdf

Velásquez, C. M. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante y detección de marcadores químicos en extractos de hojas y granos de siete variedades de café comercializados en Guatemala*. Informe de Investigación . doi:10.1016/j.maturitas.2013.02.002

Vinuesa, P. (2016). *Correlación: teoría y práctica*. Recuperado el 13 de enero de 2020, de [http:// www.unam.mx](http://www.unam.mx)

Vivas, L. (2015). *Flora melifera en la región norte y centro norte de Ecuador*.

ANEXOS

Número de identificación de la muestra: _____		
<i>Datos generales:</i>		
Nombre del apicultor: _____		
Zona de producción: _____		
Localidad: _____	Provincia: _____	
Número de apicultores por zona: _____		
Vegetación visitada por las abejas: _____		
Sistema de extracción: _____		
Manual	Centrifugación	Prensado
Fecha de recolección: _____		
Tipo de explotación: Familiar		Industrial
<i>Aspectos de producción:</i>		
Número de colmenas: _____	Tipo de colmenas usadas: _____	
Cuántas épocas de producción tiene: 1.	2.	Varias.
Producción/colmena/época: _____		
Cuál es el destino de la producción: _____		
Venta en el mercado local: _____	nacional: _____	
Exportación: _____		
Precio de comercialización directo: _____	Intermediarios: _____	
<i>Aspectos sanitarios:</i>		
Condiciones de almacenamiento sobre la miel: _____		
Tiene agua potable: _____		
Tratamientos sanitarios efectuados por el apicultor: _____		
Hay alguna enfermedad identificada de las abejas: _____		
<i>Personal:</i>		
Nivel conocimiento del personal: _____		
Tipo material o equipamiento usado: _____		
Tipo de control de calidad realizado: _____		
Tipos de análisis de control: _____		
OBSERVACIONES: _____		

Anexo 1. Hoja de registro para la toma de muestras

Localidad	Apicultor	Altura (msnm)
C1 – Capulí	Víctor Hugo Villarreal	2785
C2 – Pioter	Jorge Villarreal	2818
C3 - El salado	Gonzalo Manrique	2783
C4 - San Nicolás	UYAMA	2011
C5 - Ciudadela Velotax	Jaime Romo	2941
C6 - Chauchin	Luis Hernández	3086
C7 - El Troje	Bolívar Mejía	3315
C8 - La Paz	Álvaro Pastas	2809
C9 - Los Andes	Adalberto Ramírez	2556
C10 - Ciudadela Bolívar	Antonio Maldonado	2942
C11- Las Juntas	Arturo Quiroz	890
S1 - El playón	Lidio Villarreal	3008
S2 - La Bretaña	Bolívar Chanspuengal	2816
S3 - Lumbaqui	Carlos Ávila	750

Anexo 2. Registro de apicultores y alturas del lugar de procedencia de la miel de abeja de las provincias Carchi y Sucumbíos



Eucalypto



Mora



Trébol



Arrayán



Diente de león



Chilca



Laurel



Malva



Pumamaqui



Aguacate



Naranja



Limón



Moquillo



Dalia



Calabaza



Maravilla



Ruda



Mayo

Anexo 3. Flora melífera



Montúfar - Pioter



Montúfa - Capulí



Montúfar - El Salado



Mira - San Nicolás



Tulcán – Ciudadela Velotax

Anexo 4. Colmenas de abejas de distintas Localidades



GPS

Centrifuga

Microscopio electrónico

Microscopio Estéreo

Pinzas

Material de laboratorio

Anexo 5. Materiales y Equipos de laboratorio utilizados en el Análisis de Polen



Balanza analítica



Equipo de Baño María



Ultra sonido



Espectrofotómetro UV

Anexo 6. Equipos utilizados en el Análisis de Polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante

Provincia	Procedencia	Media (mg de ácido gálico/g)	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
C1	Montúfar – Capulí	0,95	0,005	0,005
C2	Montúfar – Pioter	0,91	0,005	0,006
C3	Montúfar – El Salado	1,03	0,02°	0,020
C4	Mira – San Nicolás	1,75	0,01°	0,006
C5	Tulcán – Ciudadela Velotax	0,90	0,010	0,011
C6	Julio Andrade – Chauchin	0,67	0,020	0,030
C7	Julio Andrade – El Troje	0,84	0,015	0,018
C8	Montúfar- La Paz	0,68	0,010	0,015
C9	Bolívar – Los Andes	0,84	0,015	0,018
C10	Tulcán – Ciudadela Bolívar	1,07	0,015	0,014
C11	Espejo – Las Juntas	1,00	0,005	0,005
S1	Sucumbíos - El Playón	0,45	0,005	0,011
S2	Sucumbíos - La Bretaña	0,92	0,002	0,002
S3	Gonzalo Pizarro – Lumbaqui	0,88	0,005	0,005

Anexo 7. Polifenoles totales expresado en miligramos de ácido gálico.

Provincia	Procedencia	Media (mg de catequina/g)	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
C1	Montúfar – Capulí	0,08	0,001	0,013
C2	Montúfar – Pioter	0,08	0,0006	0,007
C3	Montúfar – El Salado	0,067	0,0006	0,009
C4	Mira – San Nicolás	0,11	0,0025	0,022
C5	Tulcán – Ciudadela Velotax	0,08	0,0015	0,018
C6	Julio Andrade - Chauchin	0,04	0,001	0,023
C7	Julio Andrade – El Troje	0,08	0,001	0,012
C8	Montufar- La Paz	0,04	0,001	0,022
C9	Bolívar – Los Andes	0,07	0,001	0,014
C10	Tulcán – Ciudadela Bolívar	0,06	0,001	0,015
C11	Espejo-Las Juntas	0,08	0,0015	0,018
S1	Sucumbíos - El Playón	0,03	0,0015	0,05
S2	Sucumbíos - La Bretaña	0,07	0,0006	0,007
S3	Gonzalo Pizarro – Lumbaqui	0,03	0,0006	0,015

Anexo 8. Flavonoides totales expresados en miligramos de Catequina.

Provincia	Procedencia	Media (μMTrolox/g)	Desviación	Coficiente de Variación
C1	Montúfar – Capulí	5,19	0,005	0,001
C2	Montúfar – Pioter	4,92	0,020	0,004
C3	Montúfar – El Salado	5,62	0,029	0,005
C4	Mira – San Nicolás	11,44	0,025	0,002
C5	Tulcán – Ciudadela Velotax	5,97	0,015	0,002
C6	Julio Andrade – Chauchin	6,17	0,019	0,003
C7	Julio Andrade – El Troje	4,88	0,005	0,001
C8	Montúfar- La Paz	5,12	0,015	0,003
C9	Bolívar – Los Andes	5,72	0,015	0,003
C10	Tulcán – Ciudadela Bolívar	4,80	0,010	0,002
C11	Espejo – Las Juntas	7,45	0,036	0,005
S1	Sucumbíos - El Playón	4,03	0,273	0,068
S2	Sucumbíos - La Bretaña	6,13	0,020	0,003
S3	Gonzalo Pizarro – Lumbaqui	8,14	0,010	0,001

Anexo 9. Capacidad antioxidante determinada por el método ABTS.

Provincia	Procedencia	Media (μMTrolox/g)	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
C1	Montúfar – Capulí	4,08	0,008	0,002
C2	Montúfar – Pioter	5,27	0,008	0,001
C3	Montúfar – El Salado	4,29	0,015	0,003
C4	Mira – San Nicolás	9,20	0,022	0,002
C5	Tulcán – Ciudadela Velotax	4,42	0,011	0,003
C6	Julio Andrade – Chauchin	4,66	0,007	0,002
C7	Julio Andrade – El Troje	4,92	0,011	0,002
C8	Montúfar- La Paz	3,41	0,026	0,008
C9	Bolívar – Los Andes	5,37	0,011	0,002
C10	Tulcán – Ciudadela Bolívar	5,39	0,011	0,002
C11	Espejo – Las Juntas	6,70	0,014	0,002
S1	Sucumbíos - El Playón	3,03	0,011	0,004
S2	Sucumbíos - La Bretaña	4,50	0,012	0,003
S3	Gonzalo Pizarro – Lumbaqui	5,50	0,004	0,001

Anexo 10. Capacidad Antioxidante determinada por el método FRAP

GLOSARIO

- Abeja melífera: Insecto productora de miel.
- Alimento nutracéutico: Producto de origen natural con propiedades biológicas activas beneficiosas para la salud y con capacidad preventiva y/o terapéutica definida.
- C: Abreviatura para identificar a la Provincia del Carchi
- Colmena: Lugar dispuesto por el hombre como albergue del enjambre de abejas.
- Dim: Dimensión de un espacio vectorial.
- Enjambre: Grupo numeroso de abejas.
- Fenoles: Metabolitos secundarios que están ampliamente distribuidos en las plantas.
- Flavonoides: Son metabolitos secundarios, se encuentran ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se localizan en partes aéreas: hojas, flores, y frutos.
- Flora Apícola: Recurso con el que cuentan las abejas para alimentarse.
- Radicales libres (RL): Molécula orgánica o inorgánica extremadamente inestable y muy reactiva.
- S: Abreviatura para identificar a la provincia de Sucumbíos.