

Universidad Nacional de Costa Rica

Sistema de Estudios de Posgrado (SEPUNA)

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)

Maestría en Apicultura Tropical (MAT)

Determinación de la capacidad antioxidante de la miel producida por *Tetragonisca angustula*, procedente de los productores asociados a la red de meliponicultores de "Alianza Campesina Flora Nueva"

Juan Francisco Soto González

Heredia, Agosto 2021

Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Cumple con los requisitos establecidos para el sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional.

Heredia. Costa Rica.

Tutor

M.Sc. Eduardo Umaña Rojas

Asesores

PhD. Luis Gabriel Zamora Fallas
M.Sc. Natalia Fallas Matamoros

Este trabajo se realizó bajo el auspicio del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), de la Universidad Nacional.

Agradecimiento

Al personal académico y administrativo del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), quienes me brindaron su apoyo en el proceso de formación durante la maestría.

A mi familia, quienes siempre me han brindado su apoyo y motivación para alcanzar mis logros más importantes, a nivel personal y profesional.

Resumen

Las abejas sin aguijón cumplen un papel fundamental en los ecosistemas, ya que, en su labor de recolección de recursos alimenticios para el óptimo desarrollo de una colonia, brindan a su vez un servicio de polinización, que contribuye con la preservación de muchas especies botánicas. En Costa Rica se reportan 20 géneros y 59 especies, entre las cuales se encuentra *Tetragonisca angustula*, la cual es utilizada ampliamente en la actividad meliponícola tanto en Costa Rica como en muchos otros países. Esta especie se distribuye desde Brasil a México en altitudes máximas de 1500 msnm. La miel de esta especie ya ha sido objeto de otras investigaciones en las que se ha demostrado que presenta una importante capacidad antioxidante. Es por esta razón que esta investigación tiene como objetivo determinar la capacidad antioxidante que presentan las mieles procedentes de los meliponarios de la empresa Alianza Campesina Flora Nueva. Las muestras analizadas fueron brindadas por dicha empresa, correspondientes a cosechas de los años 2018, 2019, 2020 y 2021. A las diferentes muestras se le realizaron inicialmente pruebas de humedad y densidad, las cuales fueron necesarias para obtener concentraciones conocidas, para la preparación tanto de las pruebas de determinación de la capacidad antioxidante (valor ORAC) y Contenido Fenólico Total. Según los resultados obtenidos con estas pruebas se logró determinar que existe una correlación mediana / altamente significativa entre el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante. Además, se logró determinar que no existía diferencia estadísticamente significativa con la capacidad antioxidante entre las diferentes zonas de análisis, ni diferencia estadísticamente significativa en la capacidad antioxidante entre los diferentes años de cosecha. Por último, se logró determinar mediante la prueba de color Lovibond, que el color de una miel no es un parámetro válido para poder determinar la capacidad antioxidante de una miel, ya que tanto muestras con alta capacidad como mieles con baja capacidad antioxidante compartían la misma tonalidad, según la escala utilizada en la prueba. En conclusión, se puede afirmar que, al no existir diferencias entre la capacidad antioxidante entre zonas geográficas, ni entre años de cosecha, las mieles con las cuales se trabajó pueden ser utilizadas y estandarizadas para la formulación de productos con valor agregado.

Índice general

| | |
|--|-----------|
| Agradecimiento | 1 |
| Resumen | 2 |
| 1. Introducción | 6 |
| 1.1. Justificación | 7 |
| 1.2. Objetivo general | 8 |
| 1.3. Objetivos específicos | 8 |
| 1.4. Hipótesis | 8 |
| 2. Marco Teórico | 8 |
| 2.1. <i>Tetragonisca angustula</i> | 8 |
| 2.2. Miel de abejas sin aguijón..... | 9 |
| 2.3. Composición de la miel de abejas | 10 |
| 2.4. Capacidad antioxidante de la miel..... | 11 |
| 2.5. Alianza Campesina Flora Nueva | 12 |
| 3. Materiales y Métodos | 12 |
| 3.1. Colecta de las muestras..... | 12 |
| 3.2. Prueba de humedad..... | 12 |
| 3.3. Prueba de densidad..... | 13 |
| 3.4. Prueba ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno) para determinación de la capacidad antioxidante | 13 |
| 3.5. Contenido de fenólicos totales mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu | 13 |
| 3.6. Prueba color Lovibond (Comparator 2000)..... | 13 |
| 3.7. Análisis estadístico..... | 14 |
| 4. Resultados y Discusión | 14 |
| 5. Conclusiones y recomendaciones | 25 |
| 6. Bibliografía: | 27 |
| 7. Anexos | 32 |

Índice de Cuadros

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Determinación de densidad y humedad de muestras de miel de <i>T. angustula</i> procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva..... | 15 |
| Cuadro 2. Valores estadísticos de las pruebas ORAC y contenido fenólico total de las muestras de miel de <i>T. angustula</i> procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva..... | 16 |
| Cuadro 3. Correlaciones entre Valores ORAC y Fenólicos Totales de las muestras de <i>T. angustula</i> procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva. Análisis de correlación para cosechas de los años 2018 al 2021 y análisis de correlación para los periodos del 2018 al 2019 y de los años 2020 al 2021..... | 18 |
| Cuadro 4. Prueba "t de 2 muestras" para medias de contenidos fenólicos totales y valor ORAC de las muestras de miel de <i>T. angustula</i> procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva, ubicados en Zona Sur y Península de Nicoya. (Zona Sur: μ_1 , Península de Nicoya: μ_2)..... | 21 |
| Cuadro 5. Determinación del comportamiento de la capacidad antioxidante en el tiempo mediante pruebas "t de 2 muestras", para las muestras de miel de <i>T. angustula</i> procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva..... | 22 |
| Cuadro 6. Determinación del color Lovibond según la capacidad antioxidante de 20 muestras de miel de <i>T. angustula</i> procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva. (10 muestras con alta capacidad antioxidante y 10 muestras con baja capacidad antioxidante)..... | 23 |

Índice de Figuras

- Figura 1.** Gráficos de caja para valor ORAC y contenido fenólico total de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva.....17
- Figura 2.** Gráficos de caja para contenido fenólico total de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva, ubicados en Zona Sur y Península de Nicoya.....20
- Figura 3.** Gráficos de caja para contenido fenólico total de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva ubicados en Zona Sur y Península de Nicoya.....21
- Figura 4.** Distribución del porcentaje de muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva, por color, según su capacidad antioxidante.....24

1. Introducción

Las abejas sin aguijón son un grupo monofilético muy diverso de especies eusociales, para las cuales se reportan más de 500 especies, encontrándose la mayor parte de estas en los trópicos y subtropicos de América, con 300 especies reportadas aproximadamente. Específicamente, en Costa Rica se reportan 20 géneros y 59 especies, de las cuales en su mayoría se distribuyen en altitudes por debajo de los 1500 msnm (Figuerola et al., 2015); además se distribuyen en otras regiones como Australia (10 especies), África (50 especies), el sudeste de Asia (60 especies) y Madagascar (4 especies).

Las abejas sin aguijón pertenecen al orden de los himenópteros, tribu Meliponini, familia Apidae. En cuanto a sus hábitos de nidificación, las mismas pueden establecer sus colonias debajo de la tierra, en grietas o espacios disponibles en rocas, en estructuras vegetales como troncos de árboles, entre otros sitios (Chuttong et al., 2016). Cabe mencionar que las abejas sin aguijón viven en colonias, presentando desde decenas hasta cientos de miles de individuos, obreras principalmente, además de machos (que a diferencia de las abejas de la especie *Apis mellifera*, suelen ser similares a las obreras en su tamaño y apariencia), y una abeja reina (Michener, 2012).

La miel producida por *T. angustula*, es frecuentemente utilizada para el tratamiento de padecimientos oculares tales como cataratas y pterigión (De Almeida, 2012). Además, por sus propiedades se utiliza para el tratamiento de afecciones estomacales, heridas y úlceras, además como ingrediente en la preparación de productos en la industria alimenticia y cosmética. Su miel generalmente presenta un color amarillo a naranja, y un aroma que puede percibirse como floral-afrutado, fermentado, amaderado o meloso. (Dardon et al., 2012).

Según Zamora et al, (2015b), las mieles producidas por *T. angustula* procedentes de Costa Rica presentan capacidad antioxidante. Se comprobó que cuentan con actividad de captación de radicales de especies reactivas de oxígeno e inhibición de la xantina oxidasa; por lo que investigar acerca de sus aportes en el tratamiento y cicatrización de heridas es fundamental para su utilización con un fin médico y cosmético.

1.1. Justificación

En general la miel de abeja presenta un gran número de propiedades importantes para el ser humano, que hacen de la misma un gran alimento y un ingrediente sumamente valioso en la elaboración de diferentes productos, por ejemplo, cosméticos, medicinales, alimenticios, entre otros. De las principales propiedades que presentan en general la miel de abejas está su capacidad antioxidante, en la cual se centra esta investigación. Además de la capacidad antioxidante, cabe destacar su actividad antimicrobiana, donde investigaciones demuestran que la miel de *T. angustula* es eficiente para contrarrestar el efecto de diferentes microorganismos (Zamora et al., 2014).

Diversas investigaciones han demostrado que la miel producida por meliponinos, presenta una capacidad antioxidante mayor que la miel tradicional producida por *Apis mellifera* (Machado, 2019; Sánchez et al., 2019; Nufio, 2018). Existen diferentes especies de abejas sin aguijón utilizadas a nivel productivo en la meliponicultura, siendo *T. angustula* y *M. beecheii*, las más utilizadas en Costa Rica (Figuroa et al., 2015). Cabe destacar, que existen otras especies de abejas sin aguijón que están siendo estudiadas para determinar las propiedades de sus productos (principalmente miel y propóleos), y así aprovechar en general el potencial de estos para diferentes usos.

Es importante destacar la importancia que brindan el realizar trabajos de este tipo, trabajos que se realizan de forma conjunta entre instituciones dedicadas a la investigación (CINAT) y empresas (Flora Nueva) que fomentan el apoyo a pequeños y medianos productores principalmente, los cuales ofrecen un producto de excelente calidad, y con un potencial de aprovechamiento en diferentes áreas. Por lo que es de suma importancia destacar que trabajos como este fomentan la actividad melipónica, pues se pone en evidencia las propiedades importantes que presentan las mieles de abejas sin aguijón, en este caso se determinó la capacidad antioxidante de diferentes mieles de *T. angustula*, y su potencial uso en la formulación de productos con valor agregado.

1.2. Objetivo general

- Determinar la capacidad antioxidante de las muestras de miel de *Tetragonisca angustula* producida en los meliponarios procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva, para darles un valor agregado.

1.3. Objetivos específicos

- Medir el contenido de fenólicos totales y valor ORAC de las muestras de la miel de *Tetragonisca angustula* mediante ensayos, para valorar la relación entre la actividad antioxidante y su composición química.
- Comparar la relación que existe entre la capacidad antioxidante de los diferentes sitios de colecta.
- Comparar mediante la prueba de color Lovibond, la relación que existe entre la capacidad antioxidante y el color de las diferentes muestras.

1.4. Hipótesis

La capacidad antioxidante de las muestras de miel de *T. angustula* varía según las diferentes zonas geográficas del país.

2. Marco Teórico

2.1. *Tetragonisca angustula*

La especie *T. angustula* es una abeja de tamaño pequeño y de temperamento dócil, es una de las especies más comunes y abundantes de abejas sin aguijón, que se distribuye desde Brasil a México en altitudes máximas de 1500 msnm. (Braghini et al., 2020). Puede formar grandes colonias, pero debido a su tamaño, la cantidad de miel producida es considerablemente menor

que las obtenidas por otras especies de abejas sin aguijón tales como *M. beecheii*. Esta última, construye y almacena potes de miel y polen de mayor tamaño.

Diversas investigaciones han demostrado que la miel de *T. angustula* de Costa Rica presenta una importante actividad antimicrobiana, mostrando una acción inhibidora de amplio espectro contra diferentes microorganismos gram positivos y gram negativos; independientemente si presentan una alta o baja resistencia a los antibióticos (Zamora et al., 2015a).

En el caso de mieles de *T. angustula*, investigaciones demuestran mayor presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y prolina (los cuales son responsables en gran parte de la capacidad antioxidante), en comparación con mieles de otras especies de abejas sin aguijón, como por ejemplo con *Plebeia. wittmanni*. Por lo que las mieles de *T. angustula* presentan mayores beneficios en posibles usos medicinales, y un mayor aporte nutricional (Vattuone et al., 2007).

2.2. Miel de abejas sin aguijón

Las características sensoriales de la miel juegan un papel importante en la calidad que presenta. Los atributos sensoriales en términos de apariencia, aroma, sabor y textura son muy variables entre especies de abejas, y entre mieles de la misma especie; esto por factores que influyen en sus características y propiedades, principalmente su origen botánico. En general, la miel producida por abejas sin aguijón comparte propiedades con la miel de *A. mellifera*, pero difiere en aspectos tales como el contenido de agua (el cual tiende a ser mayor en abejas sin aguijón) y la acidez libre o pH. El mayor contenido de agua provoca una menor viscosidad visual, y tiene diferentes implicaciones en la percepción de sabores y aromas (Deliza y Vit, 2012).

Investigaciones demuestran que la miel de *Melipona beecheii* cuenta con un gran número de sustancias bioactivas, las cuales de igual manera pueden variar dependiendo de factores principalmente botánicos y geográficos (Genaro y Lóriga, 2018). Compuestos como flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas glucosa oxidasa y catalasa se encuentran presentes en la miel de esta especie, por lo que juegan un papel sumamente importante en su capacidad

antioxidante y su función en la prevención de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo (Cauich et al., 2015).

Además, estudios revelan que los ácidos fenólicos y flavonoides que se encuentran en la miel de *M. becheii* están estrechamente relacionados con las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Mediante ensayos DPPH, el efecto quelante de los cationes prooxidantes y el ensayo de poder reductor, se reveló el potencial antioxidante y la capacidad para eliminar radicales libres (Ruiz et al., 2017; Sánchez et al., 2019). Se ha determinado en estudios que la miel producida por *M. becheii* presenta una capacidad antioxidante mayor que en otras especies de abejas del mismo género (Gutiérrez et al., 2009).

La miel producida por abejas sin aguijón en general se caracteriza por presentar mayor concentración de glucósidos flavonoides (di-C-glucósidos de flavona y O-glucósidos de flavonoides) que la miel de *A. mellifera*. Esta característica se le atribuye a la actividad de la diastasa, la cual es menor en abejas sin aguijón (Tomás-Barberán et al., 2012).

Se ha demostrado que en general, las mieles de abejas sin aguijón presentan una capacidad antioxidante mayor que la miel de *A. mellifera*, ya que compuestos como aminoácidos, ácido ascórbico, flavonoides y algunas proteínas se encuentra en mayor concentración en las mieles de meliponinos (Álvarez y Suárez, 2018).

2.3. Composición de la miel de abejas

La miel es una sustancia rica en compuestos tales como enzimas, aminoácidos, vitaminas y minerales, ácidos orgánicos, oligoelementos como calcio, potasio, magnesio, sodio, hierro, cobre, zinc, entre otros compuestos, además azúcares y agua, siendo estos dos últimos los compuestos principales (Visweswara et al., 2016).

De la totalidad de sus compuestos, los azúcares representan del 95 al 99% de la materia seca de la miel, siendo la fructosa el azúcar predominante constituyendo del 32 al 38% de los azúcares totales, seguido por la glucosa. Además de estos azúcares principales también presentan algunos disacáridos y oligosacáridos como sacarosa, maltosa, maltotriosa (Ediriweera y Premarathna, 2016).

Entre las múltiples propiedades que presenta la miel de abejas se encuentran la actividad antimicrobiana, antialérgica, antitóxica, antianémica, cicatrizante, hidratante, depuradora de la sangre, antiinflamatoria, antiséptica, antioxidante, entre otros beneficios como estimular el sistema inmune, presenta beneficios en la digestión y tratamiento de diferentes enfermedades de la piel, inclusive existen investigaciones que determinan la capacidad de la miel para interactuar con la compleja función celular para llevar a cabo la reparación de los tejidos, promoviendo la angiogénesis, granulación y epitelización, estimulación de linfocitos y fagocitos, además de inducir la expresión de marcadores moleculares de reparación de tejidos (Ediriweera y Premarathna, 2012; Parra et al., 2019)

2.4. Capacidad antioxidante de la miel

Dentro de los principales compuestos que determinan la capacidad antioxidante de la miel se encuentran los flavonoides, los cuales son compuestos fenólicos presentes en la mayoría de las plantas, principalmente en hortalizas y frutas. Los compuestos fenólicos cuentan con una estructura química con gran capacidad de captura de radicales libres, por lo que brinda una gran capacidad antioxidante (Angarita y Conos, 2017). Los productos que se obtienen de las abejas como miel, propóleo, jalea real, cera, etc; presentan un contenido alto de compuestos polifenólicos, brindando así una importante capacidad antioxidante (Arroyo, 2017).

La capacidad antioxidante de la miel puede variar por factores como: la región geográfica, especie de abeja y la fuente floral de donde proviene el néctar, esto por el contenido de metabolitos secundarios de actividades enzimáticas. Compuestos tales como ácido ascórbico, ácidos orgánicos, ácidos fenólicos, catalasa, glucosa oxidasa, aminoácidos, proteínas y flavonoides juegan un papel importante en la capacidad antioxidante (Otero et al, 2016; Fonte et al., 2019).

Los antioxidantes se pueden agrupar en dos clases, primero están los que tienen actividad enzimática, en los cuales hay compuestos capaces de bloquear el inicio de la oxidación, en este caso son enzimas que eliminan las especies reactivas al oxígeno. La segunda clase serían los no enzimáticos, donde se encuentran moléculas que interactúan con especies de radicales y que se consumen durante la reacción, los mismos pueden ser naturales (compuestos fenólicos, flavonoides, ácidos fenólicos, ácido ascórbico) o sintéticos (butil hidroxianisol

(BHA) y butil hidroxitolueno (BHT)) que son formados en el metabolismo. Compuestos como flavonoles, flavonas, flavononas y ácido benzoico son los responsables del color, astringencia y aroma en muchos alimentos, en el caso de la miel permite además determinar aspectos como el origen geográfico y floral (Prestes, 2019).

2.5. Alianza Campesina Flora Nueva

Alianza Campesina Flora Nueva es una empresa que busca promover la autonomía de las familias campesinas en el ámbito rural, con el objetivo de crear alianza con las comunidades campesinas para desarrollar proyectos productivos diferenciados. El proyecto de meliponicultura desarrollado por Flora Nueva está basado en el aprendizaje del manejo racional de abejas sin aguijón, específicamente las especies *Tetragonisca angustula* y *Scaptotrigona pectoralis*. Así mismo, se cumple con la misión de darle un acompañamiento y capacitación continua a todos aquellos productores que forman parte de la red de meliponicultores, buscando siempre que la actividad se desarrolle de la manera más consciente y que permita a su vez obtener un producto de calidad y diferenciado, para el aprovechamiento en formulación de productos con valor agregado.

3. Materiales y Métodos

3.1. Colecta de las muestras

Las muestras que se utilizaron en el estudio forman parte del banco de muestras colectadas en la cosecha de los años 2018, 2019, 2020 y 2021, procedentes de los meliponarios de Flora nueva; se trabajó con un total de 113 muestras.

3.2. Prueba de humedad

La determinación del porcentaje de humedad de las muestras se realizó por medio de refractometría utilizando un refractómetro Abbé. El reporte de los datos obtenidos se expresó según los métodos estandarizados de la Comisión Europea de la Miel, los cuales se describen en Bogdanov (2009).

Se colocó la muestra de miel, la cual debió estar líquida, en el refractómetro y se esperó entre 2 a 5 minutos para hacer la lectura del índice de refracción. Se repitió dos veces para cada muestra y se tomó el valor promedio.

3.3. Prueba de densidad

Se determinó por el método de gravedad específica a $25.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ la densidad de cada muestra de miel. Para ello, se procedió a utilizar un picnómetro de 11.00 ml (Cole-Parmer; USA), el mismo se pesó vacío (precisión ± 0.0001 g), una vez completado el volumen total con agua destilada, se colocó en un baño maría a $25.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ por 5 minutos, posteriormente se secó y pesó; una vez realizado este proceso se completó con la muestra de miel y se colocó en baño maría por 5 minutos para posteriormente pesarlo. Ambos parámetros se realizaron por duplicado y posteriormente, se calculó el valor promedio, los resultados se expresaron como g/ml.

3.4. Prueba ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno) para determinación de la capacidad antioxidante

La prueba ORAC o ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno, se utiliza ampliamente para determinar la capacidad antioxidante neta resultante (o capacidad de absorción de radicales piróxilo) de muestras botánicas y otras muestras biológicas como en el caso de la miel de abeja. Para esta investigación, la prueba ORAC se realizó acorde al método descrito por Zamora et al (2015b).

3.5. Contenido de fenólicos totales mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu

La prueba de fenólicos totales se realizó con el fin de determinar la propiedad de los fenoles de reaccionar frente a agentes oxidantes. Esta prueba se realizó acorde al método descrito por Zamora et al (2015b).

3.6. Prueba color Lovibond (Comparator 2000)

Para esta prueba se seleccionó el disco de prueba Lovibond apropiado y se insertó en el comparador con los valores hacia la parte frontal del instrumento, posteriormente se procedió

a ajustar el compartimento de la celda y / o el espaciador opaco adaptado al tamaño de la celda que se utilizó. Una vez realizado este procedimiento, se colocó la celda que contenía la muestra preparada en el lado derecho (visto desde el frente del instrumento), posteriormente se utilizó una fuente de luz blanca estandarizada como una unidad de iluminación, se giró el disco hasta obtener el indicador de color más cercano con la muestra. Finalmente, el valor se mostró en la ventana o cuadrícula de la esquina inferior derecha del comparador (según instrucciones del fabricante).

Para realizar la prueba se tomaron en cuenta 20 muestras, del total analizadas, 10 presentaban alta capacidad antioxidante y 10 baja capacidad antioxidante.

3.7. Análisis estadístico

Para el análisis de los parámetros de humedad, densidad y capacidad antioxidante se realizó un análisis descriptivo e inferencial para determinar las tendencias de los datos y comparar las medias de las variables entre las diferentes muestras de miel. Una vez realizadas las pruebas de capacidad antioxidante (ORAC) y contenido fenólico total, se procedió a realizar una prueba de correlación de Pearson entre los resultados de ambas pruebas para el total de muestras, además se realizó esta misma prueba para los diferentes años de cosecha. Posteriormente, se realizó una prueba de "t para 2 muestras" para determinar si existió diferencia estadísticamente significativa entre las muestras de las diferentes zonas en estudio. El análisis de los datos se realizó utilizando el programa Minitab.

4. Resultados y Discusión

Conocer el valor de la humedad de una muestra de miel es fundamental. Al ser una sustancia con un alto contenido de azúcares, el porcentaje de humedad nos permite conocer su susceptibilidad al proceso de fermentación, lo cual afecta su calidad. Según Zamora et al (2014), las mieles de *T. angustula* en Costa Rica presentan un valor promedio de 22,1% de humedad, lo cual, al comparar con el valor promedio de las muestras analizadas en esta investigación (22,3% de humedad), nos permite observar que se obtuvo un valor similar al encontrado en la literatura.

La densidad de una sustancia es igual a su masa por unidad de volumen. Según Zamora et al, (2014) los valores promedio de densidad para las mieles de *T. angustula* en Costa Rica son de 1,381 g/ml, lo cual, al observar el valor promedio de las muestras analizadas podemos determinar que se encuentra cercano al valor establecido en la literatura (ver cuadro 1).

Cuadro 1. Determinación de densidad y humedad de muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva.

| Determinación de Humedad (%) | | | |
|---|---------|--------|--------|
| Media | Mediana | mínimo | Máximo |
| 22,3 | 21,8 | 19,0 | 28,4 |
| Determinación de Densidad (g/ml) | | | |
| Media | Mediana | Mínimo | Máximo |
| 1,3750 | 1,3800 | 1,3339 | 1,4435 |

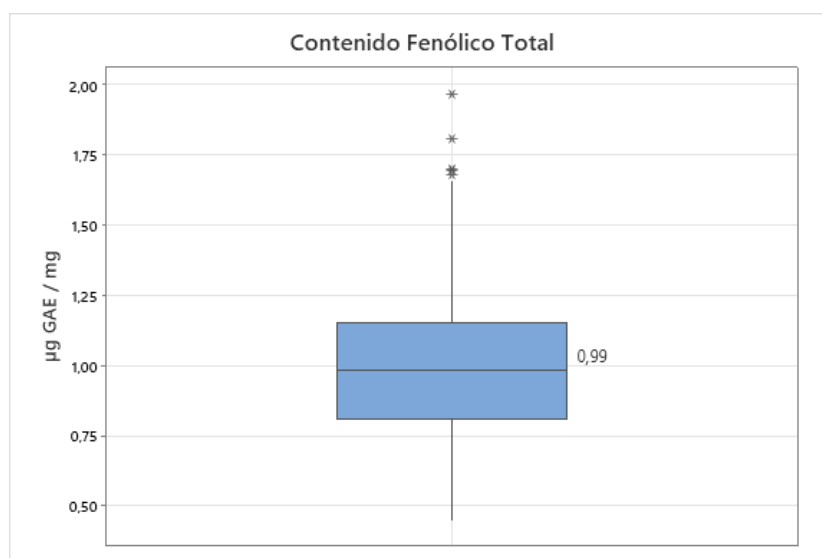
La determinación de los parámetros fisicoquímicos es indispensable para poder establecer concentraciones conocidas en las diferentes muestras y para realizar las posteriores pruebas que permitieron determinar la capacidad antioxidante de las mieles analizadas.

Es importante, tomar en cuenta que al comparar los valores obtenidos en cuanto a la mediana estadística, tanto para la prueba de determinación de la capacidad antioxidante ORAC como para la prueba de contenido fenólico total mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu en esta investigación, se obtuvo en ambos casos un valor menor en comparación a la obtenida por Zamora et al (2015b), los cuales fueron de 1,77 ($\mu\text{g GAE/mg}$ de miel) para el contenido fenólico total y un valor de 1070 ($\mu\text{MOL TE/ 100 g}$ de miel) en el caso de ORAC (ver cuadro 2 y figura 1).

Cuadro 2. Valores estadísticos de las pruebas ORAC y contenido fenólico total de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva.

| PRUEBAS CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | Media | Mediana | Máximo | Mínimo |
|---|-------|---------|--------|--------|
| Valor ORAC μMOL TE/ 100 g de miel | 705 | 668 | 2635 | 243 |
| Contenido fenólico total μg GAE/mg de miel | 1,02 | 0,99 | 1,97 | 0,45 |

TE: equivalentes de trolox (vitamina E), GAE: equivalentes de ácido gálico.



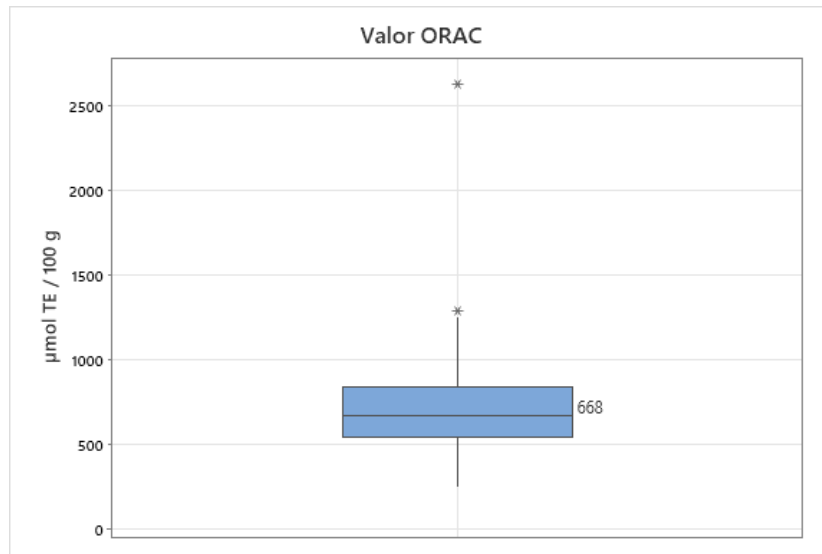


Figura 1. Gráficos de caja para valor ORAC y contenido fenólico total de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva.

En comparación al estudio realizado por Zamora et al (2015b), los valores obtenidos son menores. Entre los factores que se pueden considerar son el aumento del número de colmenas por productor y el aumento de meliponarios por zona. Lo que hace que *T. angustula* deba visitar diferentes fuentes florales, modificando así la capacidad antioxidante de su miel.

Cabe destacar que un 16% de los productores incluidos en esta investigación tuvieron muestras que presentaron valores en la prueba de capacidad antioxidante ORAC por encima de la mediana obtenida por Zamora et al (2015b), los cuales tuvieron una distribución por zona muy similar ya que de los 12 productores que presentaron muestras por encima de la mediana, 7 proceden de la Zona Sur y 5 de la península de Nicoya. Estos resultados son de suma importancia, ya que permiten caracterizar por zona geográfica la capacidad antioxidante y emplear esta cualidad para formular productos con valor agregado.

Mediante el análisis de correlación de Pearson, se determinó que existe una mediana correlación altamente significativa entre el valor ORAC y el contenido fenólico total de las muestras analizadas. Se obtuvo un valor de $r = 0,559$, $p < 0,001$, lo cual al compararlo con el

valor de correlación obtenido por Zamora *et al.*(2015b) ($r = 0,848$, $p < 0,001$), se puede observar que se obtuvo un valor menor en la presente investigación.

Estos valores nos permiten afirmar que existe una correlación entre el contenido de fenólicos totales y la capacidad antioxidante de las mieles, dadas por la prueba de valor ORAC. Ciertamente, al ser una correlación mediana, no debemos obviar que existen otros compuestos además de los fenólicos que influyen en la capacidad antioxidante de estas mieles (Zamora *et al.*, 2015b).

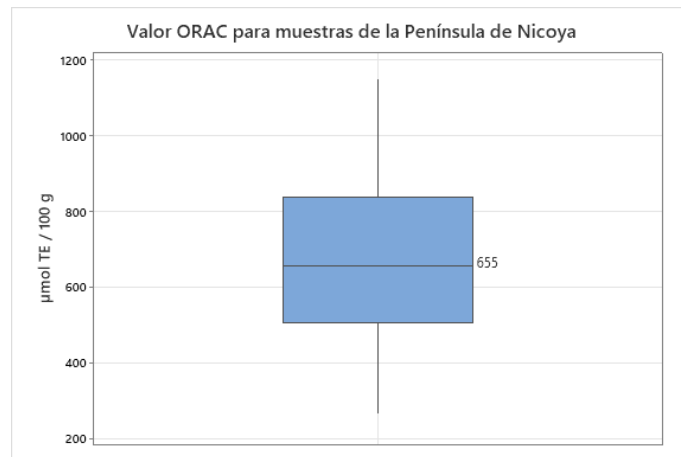
Se realizaron análisis de correlación de Pearson para determinar cómo se comportaba la capacidad antioxidante en relación con el contenido de fenólicos totales en los diferentes años; siendo el 2018 el año con una alta correlación / altamente significativa. También, al analizarlo por pares de años, se pudo observar que para los años 2018 y 2019 existe una alta correlación, altamente significativa, mientras que para los años 2020 y 2021, tiende a ser una correlación mediana / altamente significativa (ver cuadro 3).

Cuadro 3. Correlaciones entre Valores ORAC y Fenólicos Totales de las muestras de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva. Análisis de correlación para cosechas de los años 2018 al 2021 y análisis de correlación para los periodos del 2018 al 2019 y de los años 2020 al 2021.

| Año de cosecha | Contenido fenólico total (Promedio) | Valor ORAC (Promedio) | Correlación de Pearson (Valor "r" ; Valor "p") | Interpretación |
|-------------------------|--|------------------------------|---|--|
| Cosecha del 2018 | 1,20 | 758 | (0,800 ; 0,000) | Alta correlación / Altamente significativa |
| Cosecha del 2019 | 1,08 | 739 | (0,704 ; 0,000) | Alta correlación / Altamente significativa |

| | | | | |
|---------------------------------|------|-----|-----------------|---|
| Cosecha del 2020 | 1 | 736 | (0,407 ; 0,118) | Mediana correlación / No significativa |
| Cosecha del 2021 | 0,95 | 654 | (0,535 ; 0,000) | Mediana correlación / Altamente significativa |
| Periodo del 2018 al 2019 | 1,12 | 746 | (0,731 ; 0,000) | Alta correlación / Altamente significativa |
| Periodo del 2020 al 2021 | 0,93 | 674 | (0,510 , 0,000) | Mediana correlación / Altamente significativa |

Al observar las figuras sobre la capacidad antioxidante (ORAC) obtenidas de las muestras en las diferentes zonas, podemos observar que presentan valores muy similares. Esto respaldado por las pruebas "t de 2 muestras" que reportaron ausencias de diferencias estadísticamente significativas (ver figura 2, figura 3y cuadro 4).



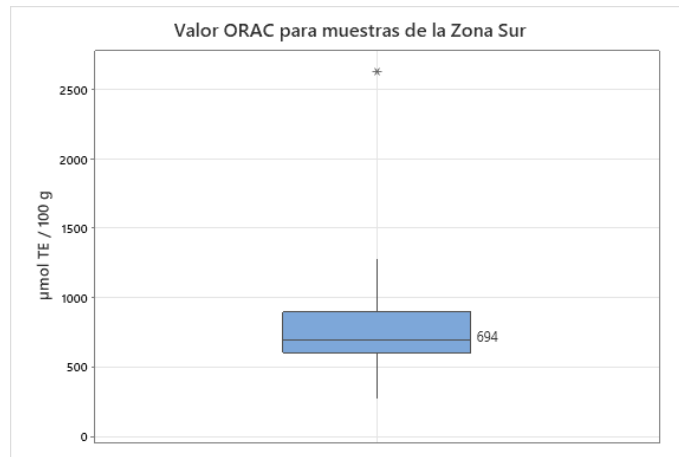
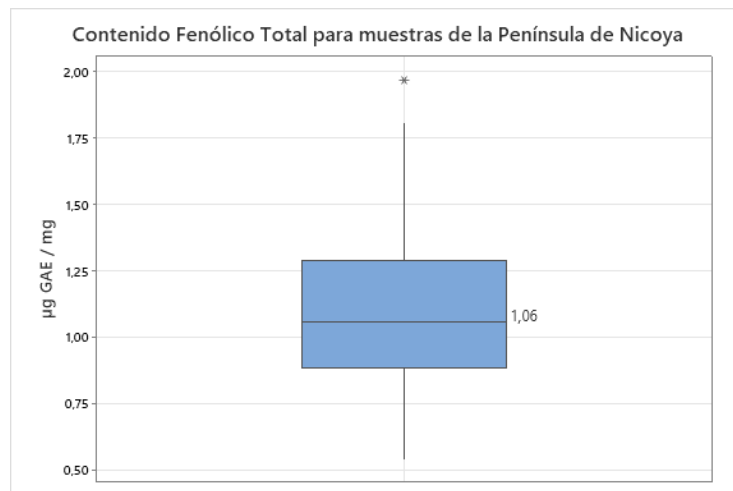


Figura 2. Gráficos de caja para contenido fenólico total de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva, ubicados en Zona Sur y Península de Nicoya.



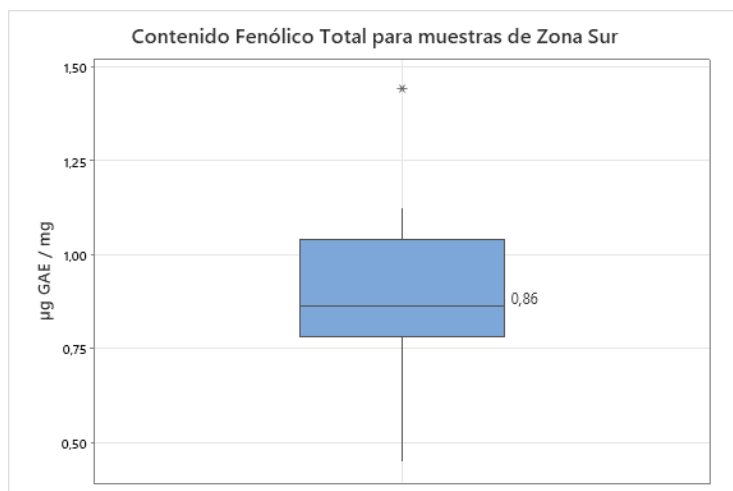


Figura 3. Gráficos de caja para contenido fenólico total de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva ubicados en Zona Sur y Península de Nicoya

Cuadro 4. Prueba “t de 2 muestras” para medias de contenidos fenólicos totales y valor ORAC de las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva, ubicados en Zona Sur y Península de Nicoya. (Zona Sur: μ_1 , Península de Nicoya: μ_2)

| Contenido fenólico total | |
|--------------------------|-----------------------------|
| Hipótesis nula | $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ |
| Hipótesis alterna | $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$ |
| Valor p | |
| 0,000 | |
| Valor ORAC | |
| Hipótesis nula | $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ |
| Hipótesis alterna | $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$ |
| Valor p | |
| 0,062 | |

El resultado obtenido para la prueba de “t de 2 muestras” del contenido fenólico total, muestra que en este caso se acepta la hipótesis de que existe diferencia entre las dos zonas analizadas. Con esto podemos observar, que existe una correlación entre el contenido fenólico total y la

capacidad antioxidante, sin obviar que existen además otros compuestos que pueden influir en la capacidad antioxidante de las diferentes mieles.

La prueba estadística "t de 2 muestras" indica que no existe diferencia estadísticamente significativa de la capacidad antioxidante a través del tiempo. Al comprar los valores de capacidad antioxidante promedio del total de muestras por año, observamos que los valores obtenidos en la prueba estadística están por encima de ($p = 0,05$), por lo que se rechaza la hipótesis de que existe diferencia estadísticamente significativa en la capacidad antioxidante con el paso del tiempo (ver cuadro 5).

Cuadro 5. Determinación del comportamiento de la capacidad antioxidante en el tiempo mediante pruebas "t de 2 muestras", para las muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva.

| 2018 - 2019 | |
|-------------------|-----------------------------|
| Hipótesis nula | $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ |
| Hipótesis alterna | $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$ |
| Valor p | |
| 0,848 | |
| 2019 - 2020 | |
| Hipótesis nula | $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ |
| Hipótesis alterna | $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$ |
| Valor p | |
| 0,971 | |
| 2020 - 2021 | |
| Hipótesis nula | $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ |
| Hipótesis alterna | $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$ |
| Valor p | |
| 0,326 | |

| 2018 - 2021 | |
|-------------------|-----------------------------|
| Hipótesis nula | $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ |
| Hipótesis alterna | $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$ |
| Valor p | |
| 0,334 | |

La prueba de determinación de color Lovibond se realizó con el objetivo de poder establecer si existía una relación entre el color de la miel y su capacidad antioxidante, seleccionando 10 muestras que presentaron valores bajos de capacidad antioxidante y 10 muestras con valores altos de capacidad antioxidante (ver cuadro 6 y figura 4).

Cuadro 6. Determinación del color Lovibond según la capacidad antioxidante de 20 muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva. (10 muestras con alta capacidad antioxidante y 10 muestras con baja capacidad antioxidante).

| COLOR LOVIBOND | ALTA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | BAJA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| White | - | 30% |
| Extra-Light Amber | - | 30% |
| Light Amber | 70% | 40% |
| Amber | 30% | - |

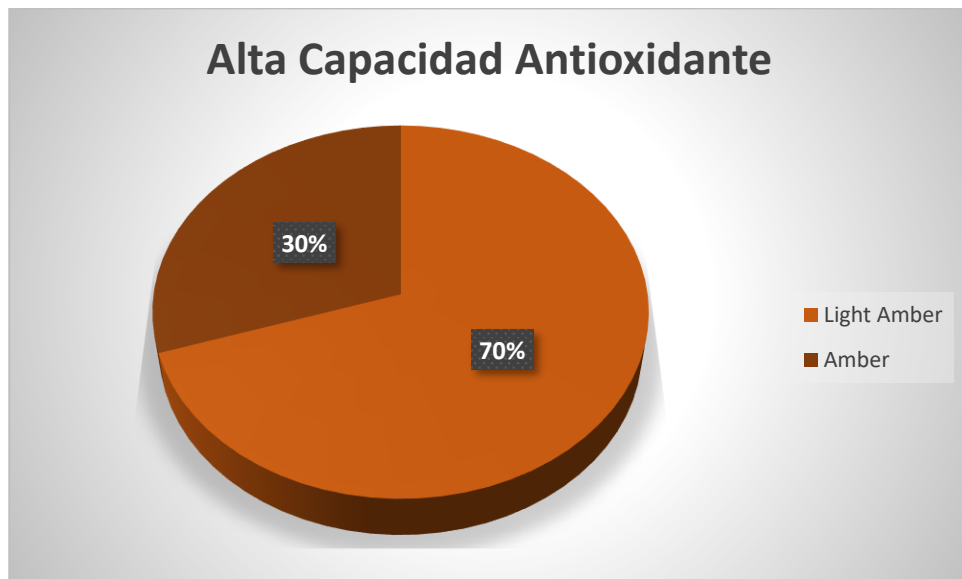
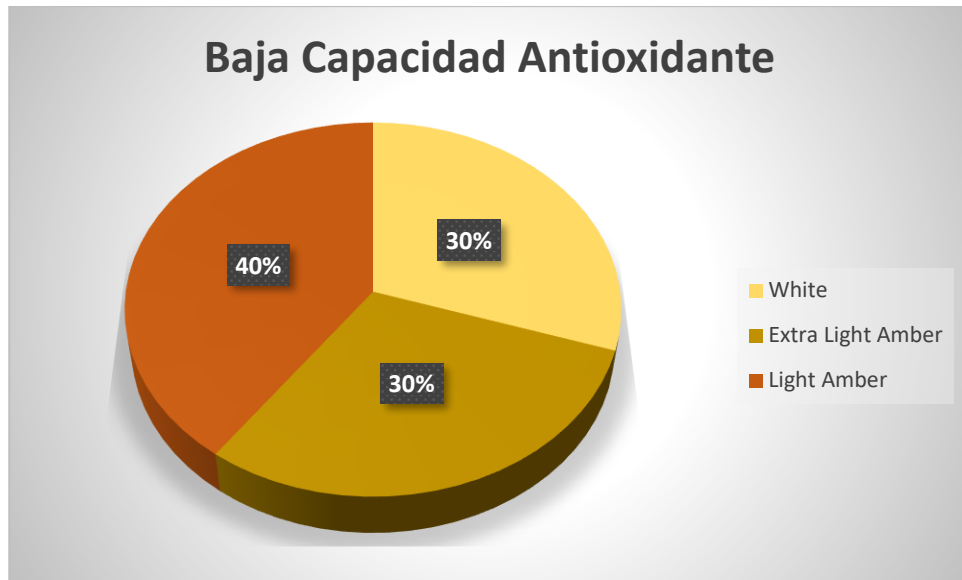


Figura 4. Distribución del porcentaje de muestras de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva, por color, según su capacidad antioxidante.

Con relación a la prueba de color Lovibond cabe mencionar, que existe una ligera tendencia en cuanto al color de la miel y su capacidad antioxidante, siendo ligeramente más oscuras aquellas que presentaron mayor capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que un porcentaje importante de las mieles que presentan alta capacidad antioxidante comparten la tonalidad con aquellas que presentaron baja capacidad

antioxidante; por lo que no se puede afirmar que esta prueba nos permita determinar que una miel presenta o no alta capacidad antioxidante. No es posible predecir la capacidad antioxidante en la miel de *T. agustula* únicamente empleando el color como parámetro. Es importante, tener en cuenta que, utilizar una miel para determinado fin; asumiendo que por su color se puede establecer la capacidad antioxidante, no nos brinda realmente una información confiable sobre sus propiedades, por lo que su aprovechamiento no se dará de la manera más adecuada.

No obstante, es importante también tomar en cuenta que existen investigaciones en otras especies de abejas como *Apis mellifera*, que establecen que existe cierta tendencia en cuanto a la capacidad antioxidante y su color; presentando mayor capacidad antioxidante la mieles con tonalidades más oscuras (Özkök y Silici, 2017; D'Oliveira et al., 2013).

5. Conclusiones y recomendaciones

Los valores de humedad y densidad de las muestras de miel analizadas se pudieron comparar con los estudios de Zamora et al (2014). Los valores de parámetros fisicoquímicos de las mieles de *T. angustula* analizadas en el presente estudio arrojan valores promedio muy similares a los reportados por el autor.

Es fundamental determinar los parámetros fisicoquímicos de las mieles, para poder así obtener concentraciones conocidas de las muestras y poder realizar posteriores pruebas, como el determinar la capacidad antioxidante mediante las pruebas de valor ORAC y contenido de fenólicos totales.

Con respecto a los datos obtenidos en las pruebas de capacidad antioxidante ORAC y el contenido fenólico total pudimos observar que existe una mediana correlación altamente significativa, esto nos permite afirmar que el contenido fenólico total de las muestras está relacionado con su capacidad antioxidante. Pero, no se puede obviar que además de estos compuestos fenólicos, existe otros compuestos que contribuyen con esta capacidad. Esto también se pudo respaldar con la correlación que existe entre la capacidad antioxidante y el

contenido fenólico total por zona, ya que estadísticamente se pudo observar que no existía diferencia significativa entre las diferentes zonas con respecto a la capacidad antioxidante, pero si en cuanto al contenido fenólico total.

Al comparar el comportamiento de la capacidad antioxidante entre los diferentes años se pudo establecer que no existía diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Esto es de suma importancia conocerlo, ya que al ser un producto que se destina para la formulación de diferentes productos tales como fármacos, cosméticos, entre otros, conocer el comportamiento de esta miel a través del tiempo nos permite garantizar y aprovechar sus propiedades.

El determinar la capacidad antioxidante de las diferentes mieles es fundamental para poder conocer las propiedades que se pueden aprovechar de ellas. Es por esto, que investigaciones de este tipo permiten caracterizar y estandarizar la miel para poder aprovechar de la mejor manera sus características según sea su mercado meta, y el propósito que se desee alcanzar.

En cuanto a la diferencia entre la capacidad antioxidante según la zona geográfica en análisis, se determinó mediante pruebas estadísticas que no existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas, por lo que se rechaza la hipótesis que se planteó inicialmente en la presente investigación con respecto a las diferencias que se podía presentar en cuanto a la capacidad antioxidante según la zona geográfica.

Lo que respecta a la caracterización de la miel según su color y su relación con la capacidad antioxidante, se logró determinar que la prueba de color Lovibond no es una herramienta que permite establecer esto, ya que las muestras analizadas con una baja y una alta capacidad antioxidante compartían tonalidades.

6. Bibliografía:

- Alvarez, J., Giampieri, F., Brenciani, A., Mazzoni, L., Gasparrini, M. y González, A. (2018). *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie Food Science and Technology*, 87, 272–279.
- Angarita, L. y Cobos, D. (2017). Estudio cromatográfico por HPLC-UV, cuantificación de fenoles, flavonoides y evaluación de la capacidad antioxidante en miel de abejas. Proyecto curricular de Licenciatura en química, Bogotá, Colombia.
- Arnold, N., Zepeda, R., Vásquez, M. y Aldasoro, M. (2018). Las abejas sin aguijón y su cultivo en Oaxaca, México (Con catálogo de especies). Primera edición. CONABIO. Ciudad de México.
- Arroyo, O. y Arroyo, J. (2017). Estudio comparativo de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de la miel de abeja procedentes del departamento de Junín. Tesis para el grado de Bachiller Ingeniería Agroindustrial. Tarma, Perú.
- Braghini, F., Biluca, F., Gonzaga, L., Vital, L., Costa, A. y Fett, R. (2020). Effect thermal processing in the honey of *Tetragonisca angustula*: profil physicochemical, individual phenolic compounds and antioxidant capacity. *Journal of Apicultural Research*, DOI: 10.1080/00218839.2020.1737362
- Bogdanov, S. (2009). Harmonized methods of the International Honey Commission.
- Cauich, R., Ruiz, J., Ortiz, E. y Segura, M. (2015). Potencial antioxidante de la miel de *Melipona beecheii* y su relación con la salud: una revisión. *Nutrición Hospitalaria*. 32(4): 1432-1442.

- Chuttong, B., Chanbang, Y., Sringarm, K. y Burgett M. (2016). Effects of long-term storage on stingless bee (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) honey. *Journal of Apicultural Research Journal* 54: 441-451.
- Dardón, M., Maldonado-Aguilera, C. y Enríquez, E. (2012). La miel de abejas guatemaltecas. *Pot-Honey*, 395-408
- D'Oliveira, L., Baird, A., Affonso, M., Lauro, R. y Nora, R. (2013). Correlation of total phenolic and flavonoid contents of Brazilian honeys with colour and antioxidant capacity, *International Journal of Food Properties*, DOI:10.1080/10942912.2011.614368
- De Almeida-Muradian, L. (2012). *Tetragonisca angustula* Pot-Honey en comparación con la miel de *Apis mellifera* de Brasil. *Pot-Honey*, 375-382.
- Deliza, R. y Vit, P. (2012). Evaluación sensorial de miel de abejas sin aguijon. *Pot- Honey*. 349-361.
- Ediriweera, E. y Premarathna, N. (2012). Medicinal and cosmetic uses of Bee's Honey- A review. *AYU Journal*. (33). 178-182.
- Figueroa, G., Prendas, J., Ramírez, M., Aguilar, I., Herrera, E. y Travieso, C. (2015). Identificación de abejas sin aguijón (Apidae; Meliponini) a partir de la clasificación de los descriptores SIFT de una imagen de ala derecha anterior. *Tecnología en marcha*. Edición especial. *Matemática aplicada*. 51-63
- Fonte, L., Aparecida, J., Díaz, M., Sande, D., Durán, N., Blandón, A., Castro, I., Lugo, Y. y Altunaga, N. (2019). Actividad antioxidante de extractos etanólicos, aceites esenciales de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. Y propóleos de *Melipona beecheii* Bennett. *Revista Cubana de plantas medicinales* 24(4): e725.
- Genaro, J. y Lóriga, W. (2018). *Melipon beecheii* Bennett (Hymenoptera: Apidae): origen,

estudios y meliponicultura en Cuba. *Insecta Mundi* 0643: 1-18.

- Gutierrez, G., Enríquez, E., Lusco, L., Rodríguez, A., Persano, L. y Vit, P. (2009). Caracterización de mieles de *Melipona beecheii* y *Melipona solani* de Guatemala. *Rev Fac Farm.* 50(1): 2-6.
- Huang, D., Ou, B. y Prior, R L. (2005). The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric. FoodChem.* 2005 Mar 23; 53(6):41-56.
- Machado, L. (2019). Comparação físico-química entre amostras de mel de *Apis mellifera* africanizada e *Tetragonisca angustula*. Paraná. Camp Mourao. Brasil. pp50.
- Michener, C. (2012). Los Meliponini. Pot-honey. 3-17.
- Nufio, M. (2018). Comparación del efecto cicatrizante de la miel de abeja maya (*Melipona beecheii*) Versus la miel de abeja melífera (*Apis mellifera*) en heridas post-castración en conejos (*Oryctolagus cuniculus*). Tesis en el grado de Licenciatura, Medicina Veterinaria. Guatemala.
- Otero, A., Meneses, J. y Águila, K. (2016). Propiedades curativas de la miel: Un edulcorante natural proveniente de los principales polinizadores de las plantas. Puebla. México. pp 15.
- Özkök, D. y Silici, S. (2017) Antioxidant activities of honeybee products and their mixtures. *Food SciBiotechnol* (26), 201–206
- Parra, P., Blasco, G., Morteo, E. y Bolado, V. (2019). Miel de abeja: Propiedades antioxidantes y antimicrobianas. *Revista de divulgación científica de nutrición ambiental y seguridad alimentaria.* 8(2). 14-18.
- Pat, L., Anguebes, F., Pat, J., Hernández, P. y Ramos, R. (2018). Condición y perspectivas de la meliponicultura en comunidades mayas de la reserva de biósfera Los Petenes, Campeche, México. *Estudios de cultura Maya* LII: 227-254.
- Prestes, A. (2019). Caracterização físico-química e atividade antioxidante do mel da

- abelhajataí (*Tetragosnisca angustula*) proveniente de diferentes regiones do estado do Paraná. Londrina. pp63.
- Ruiz, J., Matus, A., Acereto, P. y Segura, M. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* Honey. *Food and Agricultural Immunology*. 28(6), 1424-1437.
- Sánchez, X., Jiménez, C., Ramírez, E., Martínez, J., Corzo, L. y Godínez, L. (2019). Actividad antioxidante y quelante de metales de las mieles de *Melipona beecheii* y *Frieseomelitta nigra* originarias de Tabasco, México. *Revista Especializada en Ciencias químico-Biológicas*, 22: 1-7.
- Tomás-Barberán, F., Truchado, P. y Ferreres, F. (2012). Flavonoids in stingless-Bee and Honey-bee honeys. *Pot-honey*. 461-474.
- Vattuone, M., Quiroga, E., Sgariglia, M., Soberón, J., Jaime, G., Martínez, M. y Sampietro, D. (2007). Compuestos fenólicos totales, flavonoides, prolina y capacidad captadora de radicales libres de mieles de *Tetragonisca angustula* Fiebrigi (Schwarz, 1938) y de *Plebeia wittmanni*. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas*. 6(5).
- Visweswara, P., Thevan, K., Salleh, N. y Hua, S. (2016). Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* (26). 657-664.
- Vit, P., Enriquez, E., O Barth, M., Matsuda, A. y Almeida, L. (2006). Necesidad del control de calidad de la miel de abejas sin aguijón. *Revista de Facultad de Medicina, Venezuela*. 15(2). 89-95.
- Zamora, L., Beukelman, K., Van den Berg, B., Arias, M., Umaña, E., Aguilar, I., Quarles van Ufford, L., Van den Worm, E., Fallas, N. y Solórzano, R. (2014). The antimicrobial activity and microbiological safety of stingless bee honeys from Costa Rica. *Journal of Apicultural Research* 53(5): 503-513.

Zamora, L., Beukelman, C., van den Berg, A., Arias, M., Umaña, E., Aguilar, I. y Fallas, N. (2015a). Stingless bee honeys from Costa Rica exhibit antimicrobial activity against antibiotic-resistant clinical isolates. *Journal of Biologically Active Products Natura* 5(2): 144-149.

Zamora, L., Beukelman, K., Van den Berg, B., Arias, M., Umaña, E., Aguilar, I., Quarles van Ufford, L., Van den Worm, E., Fallas, N. y Solórzano, R (2015b). The antioxidant capacity and immunomodulatory activity of stingless bee honeys proceeding from Costa Rica. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 4(1), 49-55

7. Anexos

Anexo 1. Porcentaje de Humedad de las muestras analizadas de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva (cosechas de los años 2018,2019 y 2020)

| Muestra # | Humedad (%) ± 0,2 | Muestra # | Humedad (%) ± 0,2 |
|------------------|------------------------------|------------------|------------------------------|
| 1 | 22,4 | 34 | 20,6 |
| 2 | 21,6 | 35 | 22,8 |
| 3 | 21,8 | 36 | 20,6 |
| 4 | 21,2 | 37 | 21,2 |
| 5 | 20,2 | 38 | 20,8 |
| 6 | 23,2 | 39 | 20,8 |
| 7 | 24,4 | 40 | 23,2 |
| 8 | 23,4 | 41 | 22,8 |
| 9 | 23,8 | 42 | 21,2 |
| 10 | 21,8 | 43 | 21,4 |
| 11 | 21,8 | 44 | 21,4 |
| 12 | 22 | 45 | 21,8 |
| 13 | 23,2 | 46 | 21,8 |
| 14 | 22,4 | 47 | 21,4 |
| 15 | 22,2 | 48 | 26 |
| 16 | 24,4 | 49 | 23,8 |
| 17 | 22,2 | 50 | 22,8 |
| 18 | 23,2 | 51 | 21,4 |
| 19 | 20,8 | 52 | 22,2 |
| 20 | 20,6 | 53 | 24,6 |
| 21 | 21,8 | 54 | 25 |
| 22 | 21,8 | 55 | 22,6 |
| 23 | 21,2 | 56 | 22,6 |

| | | | |
|----|------|----|------|
| 24 | 21,4 | 57 | 27,2 |
| 25 | 21,4 | 58 | 25,6 |
| 26 | 19,6 | 59 | 22,2 |
| 27 | 21 | 60 | 22,6 |
| 28 | 21 | 61 | 21,6 |
| 29 | 21,4 | 62 | 28,4 |
| 30 | 20,8 | 63 | 22,2 |
| 31 | 20,2 | 64 | 25,4 |
| 32 | 21,6 | 65 | 21,2 |
| 33 | 19 | 66 | 24,2 |

Anexo 2. Valores de densidad de las muestras analizadas de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva (cosechas de los años 2018,2019 y 2020)

| Muestra # | Densidad (g/ml) ± 0,001 | Muestra # | Densidad (g/ml) ± 0,001 |
|------------------|------------------------------------|------------------|------------------------------------|
| 1 | 1,383 | 34 | 1,379 |
| 2 | 1,381 | 35 | 1,363 |
| 3 | 1,382 | 36 | 1,382 |
| 4 | 1,381 | 37 | 1,360 |
| 5 | 1,381 | 38 | 1,378 |
| 6 | 1,381 | 39 | 1,376 |
| 7 | 1,381 | 40 | 1,361 |
| 8 | 1,381 | 41 | 1,364 |
| 9 | 1,381 | 42 | 1,374 |
| 10 | 1,381 | 43 | 1,372 |
| 11 | 1,381 | 44 | 1,377 |
| 12 | 1,380 | 45 | 1,378 |
| 13 | 1,381 | 46 | 1,381 |
| 14 | 1,381 | 47 | 1,380 |

| | | | |
|-----------|-------|-----------|-------|
| 15 | 1,381 | 48 | 1,365 |
| 16 | 1,368 | 49 | 1,381 |
| 17 | 1,377 | 50 | 1,376 |
| 18 | 1,373 | 51 | 1,385 |
| 19 | 1,360 | 52 | 1,381 |
| 20 | 1,335 | 53 | 1,359 |
| 21 | 1,334 | 54 | 1,443 |
| 22 | 1,380 | 55 | 1,371 |
| 23 | 1,385 | 56 | 1,376 |
| 24 | 1,381 | 57 | 1,357 |
| 25 | 1,384 | 58 | 1,357 |
| 26 | 1,381 | 59 | 1,373 |
| 27 | 1,385 | 60 | 1,364 |
| 28 | 1,381 | 61 | 1,383 |
| 29 | 1,385 | 62 | 1,357 |
| 30 | 1,383 | 63 | 1,362 |
| 31 | 1,381 | 64 | 1,355 |
| 32 | 1,376 | 65 | 1,393 |
| 33 | 1,352 | 66 | 1,368 |

Anexo 3. Valores ORAC y contenido fenólico total de las muestras analizadas de miel de *T. angustula* procedentes de los productores asociados a la red de meliponicultores de Flora Nueva (cosechas de los años 2018,2019, 2020, 2021)

| CÓDIGO DE MUESTRA | VALOR ORAC μMOL TE/ 100 g de miel | CONTENIDO FENÓLICO TOTAL μg GAE/mg de miel |
|-------------------|---|--|
| 1 | 461 | 0.74 |
| 2 | 639 | 1.18 |
| 3 | 385 | 0.71 |
| 4 | 965 | 1.51 |
| 5 | 961 | 1.58 |
| 6 | 697 | 0.93 |
| 7 | 730 | 0.94 |
| 8 | 768 | 1.15 |
| 9 | 1080 | 1.29 |
| 10 | 628 | 1.06 |
| 11 | 764 | 1.06 |
| 12 | 879 | 1.05 |
| 13 | 700 | 1.23 |
| 14 | 803 | 1.42 |
| 15 | 668 | 1.16 |
| 16 | 819 | 1.45 |
| 17 | 590 | 1.21 |
| 18 | 1105 | 1.97 |
| 19 | 505 | 0.90 |
| 20 | 1061 | 1.68 |
| 21 | 547 | 1.02 |
| 22 | 589 | 0.91 |
| 23 | 843 | 1.46 |
| 24 | 585 | 0.98 |
| 25 | 549 | 0.92 |
| 26 | 656 | 1.29 |
| 27 | 617 | 0.96 |

| | | |
|----|------|------|
| 28 | 580 | 1.15 |
| 29 | 584 | 1.05 |
| 30 | 962 | 1.59 |
| 31 | 655 | 0.79 |
| 32 | 839 | 1.13 |
| 33 | 836 | 1.01 |
| 34 | 698 | 1.18 |
| 35 | 897 | 1.16 |
| 36 | 949 | 1.26 |
| 37 | 1150 | 1.70 |
| 38 | 1116 | 1.33 |
| 39 | 1143 | 1.33 |
| 40 | 559 | 0.91 |
| 41 | 918 | 0.89 |
| 42 | 685 | 0.81 |
| 43 | 671 | 0.95 |
| 44 | 606 | 0.76 |
| 45 | 683 | 0.93 |
| 46 | 720 | 0.79 |
| 47 | 783 | 0.80 |
| 48 | 680 | 1.05 |
| 49 | 406 | 0.83 |
| 50 | 578 | 1.13 |
| 51 | 436 | 0.84 |
| 52 | 656 | 1.06 |
| 53 | 688 | 0.84 |
| 54 | 498 | 0.58 |
| 55 | 1285 | 1.09 |
| 56 | 699 | 0.78 |
| 57 | 537 | 0.81 |
| 58 | 596 | 0.75 |
| 59 | 605 | 1.13 |
| 60 | 654 | 1.03 |

| | | |
|----|------|------|
| 61 | 1078 | 0.81 |
| 62 | 1202 | 0.96 |
| 63 | 575 | 0.86 |
| 64 | 633 | 0.81 |
| 65 | 749 | 0.99 |
| 66 | 892 | 1.05 |
| 67 | 752 | 1.11 |
| 68 | 997 | 1.11 |
| 69 | 1259 | 1.06 |
| 71 | 1198 | 1.08 |
| 72 | 437 | 0.61 |
| 73 | 644 | 0.87 |
| 74 | 603 | 0.71 |
| 75 | 770 | 0.82 |
| 76 | 732 | 0.73 |
| 77 | 1182 | 0.95 |
| 78 | 925 | 0.83 |
| 79 | 642 | 1.02 |
| 80 | 728 | 1.04 |
| 81 | 862 | 1.08 |
| 83 | 545 | 0.78 |
| 84 | 2635 | 1.44 |
| 85 | 705 | 0.80 |
| 86 | 341 | 0.58 |
| 87 | 306 | 0.54 |
| 88 | 439 | 1.04 |
| 89 | 551 | 0.91 |
| 90 | 373 | 0.59 |
| 91 | 482 | 0.87 |
| 92 | 763 | 0.99 |
| 93 | 676 | 0.92 |
| 94 | 567 | 1.25 |
| 95 | 564 | 1.05 |

| | | |
|-----|-----|------|
| 96 | 846 | 1.70 |
| 97 | 522 | 1.66 |
| 98 | 415 | 0.76 |
| 99 | 265 | 0.67 |
| 100 | 803 | 1.81 |
| 101 | 957 | 1.37 |
| 102 | 785 | 1.22 |
| 103 | 626 | 1.09 |
| 104 | 397 | 0.86 |
| 105 | 869 | 1.45 |
| 106 | 467 | 0.85 |
| 107 | 437 | 0.74 |
| 108 | 380 | 0.79 |
| 109 | 706 | 1.17 |
| 110 | 510 | 1.10 |
| 111 | 506 | 0.87 |
| 112 | 400 | 0.81 |
| 113 | 286 | 0.68 |
| 114 | 243 | 0.49 |
| 115 | 269 | 0.52 |