

**ESTUDIO BIBLIOMÉTRICO DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS Y
COMPUESTOS DERIVADOS DE LA BIOMASA DE *Apis mellifera***

DANNA ZULEIMA LOPEZ MONAR



**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA, COLOMBIA
2021**

**ESTUDIO BIBLIOMÉTRICO DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS Y
COMPUESTOS DERIVADOS DE LA BIOMASA DE *Apis mellifera***

DANNA ZULEIMA LOPEZ MONAR

**Trabajo de revisión bibliográfica (revisión) presentada como requisito para
optar al título de Química**

Directores

JOSÉ HERNANDO QUÍNTANA MENDOZA

DIANA ALEXANDRA TORRES SANCHEZ



**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA, COLOMBIA**

2021

DEDICATORIA

Mis padres Maribel y Oscar, por ser los principales promotores de mis sueños, que a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. Los amo con mi vida.

A mis familiares quienes depositaron su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento de mi inteligencia y capacidad.

Mis amigos que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y por haber compartido los buenos y malos momentos. Y todas las personas especiales que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por haberme permitido culminar de manera satisfactoria mis estudios.

En segundo lugar, quiero agradecer a mis tutores José Hernando Quintana Mendoza y Diana Alexandra Torres Sánchez, en especial al profesor José Quintana quien con sus conocimientos y apoyo me guio a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba.

También quiero agradecer a los docentes que me guiaron en el proceso para obtener mi título universitario. A mis compañeros y a mi familia, por apoyarme aun cuando mis ánimos decaían. En especial, quiero hacer mención a mis padres, que siempre estuvieron ahí en darme palabras de apoyo y un abrazo reconfortante para renovar energías.

A la Universidad de Pamplona por confiarnos sus instalaciones de manera incondicional, por brindarnos docentes de calidad, capacitados no solo en lo profesional sino también instruidos en ética y una excelente moral. De verdad satisfecha con la misión, visión y valores de este centro universitario que notoriamente se esfuerza en priorizar una educación superior de calidad.

Muchas gracias a todos.

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN. -----	1
2. INTRODUCCIÓN. -----	2
3. OBJETIVOS. -----	3
4. METODOLOGÍA. -----	4
5. REVISIÓN. -----	5
5.1. LA ABEJA. -----	5
5.1.1. La cabeza. -----	7
5.1.2. El tórax. -----	10
5.1.3. La patas. -----	10
5.1.4. El abdomen. -----	10
5.1.5. Aguijón. -----	11
5.1.6. Las alas. -----	11
5.2. CICLO DE VIDA Y REPRODUCCIÓN. -----	11
5.3. GEOGRAFIA DE LAS ABEJAS. -----	12
5.4. QUÍMICA DE LOS PRODUCTOS APICOLAS. -----	14
5.4.1. POLEN. -----	14
5.4.1.1. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL POLEN. -----	16
5.4.1.1.1. Proteína. -----	16
5.4.1.1.2. Humedad. -----	17
5.4.1.1.3. Ceniza. -----	18
5.4.1.1.4. Lípidos. -----	19
5.4.1.1.5. pH. -----	20
5.4.1.1.6. Carbohidratos. -----	21
5.4.2. PROPOLEO. -----	24
5.4.3. MIEL. -----	29
5.4.3.1. pH. -----	32
5.4.3.2. Acidez. -----	33
5.4.3.3. Humedad. -----	34
5.4.3.4. Ceniza. -----	35
5.5. QUÍMICA DE LAS TOXINAS DE LAS ABEJAS. -----	38

5.6. QUMICA DEL CUERPO DE LAS ABEJAS. -----	41
6. CONCLUSIONES. -----	48
7. RECOMENDACIONES. -----	59
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. -----	50

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ciclo de vida de las tres castas. -----	12
Tabla 2. Técnicas de análisis e instrumentales recopilados de algunos artículos estudiados. ---- -----	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación jerárquica y distinción morfológica de la abeja según la casta. -----	6
Figura 2. Morfología externa del cuerpo de la abeja. -----	9
Figura 3. Compuestos químicos recopilados de algunos artículos estudiados. -----	15
Figura 4. Estudio estadístico de los reportes de proteína en polen: A) porcentaje muestreo por países (12 países) y B) estudio estadístico. -----	17
Figura 5. Estudio estadístico de los reportes de humedad en polen: A) porcentaje muestreo por países (8 países) y B) estudio estadístico (9 países). -----	18
Figura 6. Estudio estadístico de los reportes de ceniza en polen: A) porcentaje muestreo por países (10 países) y B) estudio estadístico. -----	19
Figura 7. Estudio estadístico de los reportes de lípidos en polen: A) porcentaje muestreo por países (9 países) y B) estudio estadístico -----	20
Figura 8. Estudio estadístico de los reportes del pH del polen: A) porcentaje muestreo por países(15 países) y B) estudio estadístico. -----	21
Figura 9. Estudio estadístico de los reportes de carbohidratos en polen: A) porcentaje muestreo por países (7 países) y B) estudio estadístico. -----	23
Figura 10. Análisis PCA bajo en $p=0,05$ y datos comparables para 9 países: A) diagrama de componentes, B) plano factorial -----	24
Figura 11. Compuestos químicos recopilados de algunos artículos estudiados para el propóleo. -----	25
Figura 12. Datos fisicoquímicos reportados para propóleos. -----	27
Figura 13. Estudio estadístico de los reportes de ceniza en propóleos: A) porcentaje muestreo porpaíses (7 países) y B) estudio estadístico. -----	28
Figura 14. Compuestos químicos recopilados de algunos artículos estudiados para la miel. ---- -----	30

Figura 15. Estudio estadístico de los reportes de pH en miel: A) porcentaje muestreo por países (13 países) y B) estudio estadístico. -----	33
Figura 16. Estudio estadístico de los reportes de acidez en miel: A) porcentaje muestreo por países(10 países) y B) estudio estadístico. -----	34
Figura 17. Estudio estadístico de los reportes de humedad en miel: A) porcentaje muestreo por países (13 países) y B) estudio estadístico -----	35
Figura 18. Estudio estadístico de los reportes de ceniza en miel: A) porcentaje muestreo por países(7 países) y B) estudio estadístico. -----	36
Figura 19. Análisis PCA bajo en $p=0,05$ y datos comparables para 9 países. A) diagrama de componentes, B) plano factorial. -----	38
Figura 20. Compuestos químicos recopilados de los artículos estudiados en el veneno de la abeja <i>Apis mellifera</i> . -----	39
Figura 21. Abeja (<i>Apis mellifera</i>): (a) forma del cuerpo entero, (b) cabeza (c) tórax, (d) abdomen, (e) pata y (f) ala. -----	43

1. RESUMEN.

El presente trabajo se enfocó en un conocimiento estructurado de la información publicada de las abejas, enfocada en la búsqueda de las características químicas, la correlación y capacidad comparativa de las propiedades fisicoquímicas publicadas de las abejas y los productos derivados de ellas con mayor circulación comercial.

Del estudio se evidencia la necesidad de investigaciones en Colombia y el mundo en general; en aspectos como la identificación de especies locales, la caracterización morfológica y química, junto con ensayos estandarizados en la determinación de humedad, pH, acidez, ceniza, azúcares, proteínas y carbohidratos, entre otros parámetros.

Palabras claves: Biomasa, *Apis mellifera*, revisión bibliométrica.

SUMMARY

This work focused on a structured knowledge of the published information on bees, specially, on the search for the chemical characteristics, correlation, and comparative capacity of the published physicochemical properties of bees and its products with greater commercial circulation.

The study shows the need for research in Colombia and the world in general; in aspects such as the identification of local species, morphological and chemical characterization, together with standardized tests in the determination of humidity, pH, acidity, ash, sugars, proteins. and carbohydrates, among other parameters.

Keywords: Biomass, *Apis mellifera*, bibliometric review.

2. INTRODUCCION

Las abejas han representado una preocupación mundial, y el estado colombiano no es muy ajeno a ello, el proyecto de ley 103-2019 “Por medio de la cual se crean mecanismos para la defensa de los polinizadores, fomento de cría de abejas y desarrollo de la apicultura en Colombia y se dictan otras disposiciones”. Este proyecto pretendió aportar información para la conservación, protección, propagación, investigación y uso sostenible de las abejas y demás polinizadores. En este trabajo de grado se buscó promover la producción e investigación de productos apícolas y derivados de la abeja *Apis mellifera*. Y para lograr esto, se hace necesario que investigadores del país e identidades reglamentarias promuevan métodos estandarizados de propiedades fisicoquímicas, desarrollar referencias internacionales teniendo en cuenta que dependiendo de la región o país no quede excluidos algunos productos apícolas viables para su comercialización internacional, generando parámetros que den valor agregado y a su vez permitan su consumo seguro.

Lo anterior aportará al ajuste de una norma consolidada para nuestro país. Y como aporte a esta iniciativa en este trabajo se realizó un análisis estadístico de propiedades fisicoquímicas y compuestos químicos derivados de la biomasa de la abeja *Apis mellifera*, a partir de una recolección amplia de reportes que aportaron información clara y actualizada, con el fin de lograr lo esperado en este estudio.

Adicionalmente, se exploró el uso de la biomasa de *Apis mellifera*, identificando la oportunidad de extraer nuevos productos con valor agregado y aprovechamiento de la misma que puedan generar nuevos productos derivados de las abejas, aumentando los ingresos de los apicultores.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio bibliométrico de las propiedades químicas y compuestos derivados de la biomasa de *Apis mellifera*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Recopilar la información reportada sobre las propiedades químicas de las abejas de la especie *Apis mellifera* y sus productos.

Estudiar estadísticamente las características de correspondencia y agrupación que presentan las propiedades químicas reportadas para abejas de la especie *Apis mellifera*.

4. METODOLOGÍA

Se realizó de carácter descriptivo recopilando información de artículos científicos de revistas, libros, trabajos de grado, entre otros, sobre las características morfológicas de las abejas aplicando un enfoque hacia los materiales derivados de ellas, y posibles síntesis de materiales compuestos mediante impregnación o biocompuestos. Para ello, se emplearon las bases de datos proporcionadas por la Universidad de Pamplona tales como; *ScienceDirect*, *Scopus*, *SpringerLink*, *Scielo*, *Pensoft* y *PubMed*, y las de uso libre: esta búsqueda bibliométrica se hizo bajo la aplicación de las palabras claves Bee, Bees, *Apis mellifera*, Phycochemical, chemical, biomaterials and material derivates. Se combinaron y clasificaron las palabras en thresurs con el fin de eliminar sinónimos e identificar posibles combinaciones. La recopilación de artículos científicos estudiados dio inicio el 28/12/2020 finalizando con los publicados hasta el 15/09/2021, en el cual, no se definió una escala tiempo de los reportes literarios ya que se pretendía recopilar información al pasar de los últimos 10 años, de igual forma se trabajó con la información de los últimos 6 años.

Una vez recolectados los artículos y leídos, se clasificaron teniendo en cuenta que proporcionaran información referente a la morfología, ciclo de vida, datos de las especies, propiedades químicas de las secreciones y material recolectado como polen, propóleo, miel, cera, nidos, y biopolímeros derivados.

A partir de los datos de compuestos químicos y propiedades fisicoquímicas se aplicó un estudio PCA desarrollando un algoritmo en el software libre Python (Ver anexo 1), con la finalidad de comparar los reportes por países, altitud y establecer si existía o no correlación entre las variables reportadas en los artículos y forma de organización de los reportes.

Para ello, cada artículo fue estudiado y verificado con los protocolos más comunes y con datos estandarizados para cada propiedad, los artículos que no cumplían parámetros como claridad de la especie estudiada, coordenadas de recolección de la muestra y replicas mínimo 3, no fueron incluidos en el estudio.

5. REVISIÓN

Para iniciar el proceso de profundización en la química asociada a las abejas, se requiere conocer, ¿Qué es una abeja?, ¿Cómo son las abejas?, ¿Qué diferencias tienen entre sí?, ¿Por qué son consideradas los mejores polinizadores?, ¿Qué son y cuáles son los productos que de ella se derivan?, estas son algunas de las preguntas que nos cuestionamos al hablar o preguntar sobre las abejas.

5.1 LA ABEJA

La definición de abeja suele atribuirse a las características de la especie *Apis mellifera* que es un insecto que produce miel, que posee un aguijón cuya picadura suele ser dolorosa y que habita en una colmena compuesta por una reina, muchas obreras y algunos zánganos, sin embargo la mayoría de ellas no tienen ni una reina, ni obreras, ni zánganos; la mayor parte de especies son solitarias, algunas *Apis mellifera* viven en el suelo y son mucho más parecidas a las avispas que a las típicas "abejas" (González et al., 2005). El presente trabajo se focaliza en las características de las abejas sociales.

En los insectos sociales las colmenas se establecen en forma de enjambres y en una organización estricta de jerarquía de tres rangos: la abeja reina la única hembra fértil y fecunda, por lo que se convierte en el centro y vida de la colmena. Se distingue del resto por su longitud, que es de 16 milímetros, y por las alas, que a pesar de ser del mismo tamaño que las de una obrera, se ven cortas en relación al cuerpo (Lazo, 2019). Posee aguijón, pero sólo se utiliza para la lucha contra otras reinas cuando surgen es una batalla a muerte, su función en la colmena, es la reproducción y cohesión del enjambre, controla la población a través de las feromonas de comunicación e inhibición de la fertilidad de las obreras, las cuales son hembras que constituyen casi la totalidad de la población de la colmena y cumplen la mayoría de las funciones como producir miel y cera, fabrican panales, colectan polen, transporte de agua, néctar y resinas hacia la colmena, limpian la colmena, mantienen el orden, (Rubiano, 2016) (Silva, et al., 2006) y son las más pequeñas de enjambre (Ayala, 2012). Los zánganos son los machos de la colmena, nacen de un huevo no fecundado. Cumplen una doble función, fecundar a la reina y proporcionar calor a la cría, su vida es efímera, estos dependen en su totalidad de las obreras para su alimentación, además de depender del clima y la calidad del

alimento para su desarrollo; viven aproximadamente tres meses, pero cuando la colonia no dispone de un suministro adecuado de alimentos, son expulsados de la colmena y las obreras van tras ellos, realizando la matanza masiva de los zánganos, para economizar las reservas (Lazo, 2019). Ver figura 1.

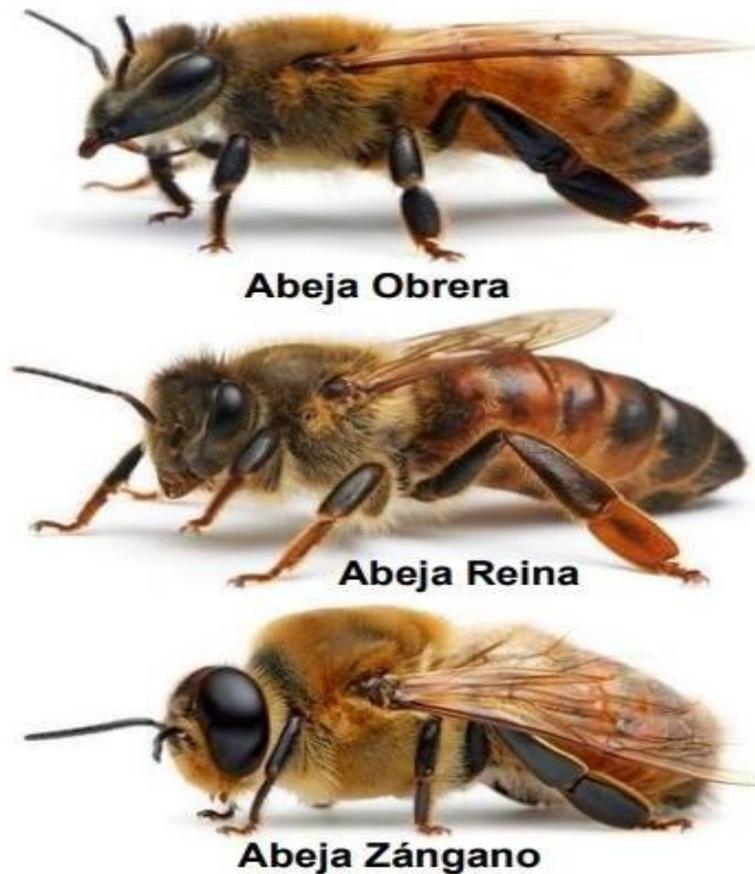


Figura 1. Clasificación jerárquica y distinción morfológica de la abeja según la casta. Fuente: (Lazo, 2019).

Las abejas son los insectos más antiguos del que se sabe pueblan la tierra, hace 30 millones de años (H. Rodríguez, 2020), están agrupadas en el orden Himenóptera. Ellas poseen dos pares de alas membranosas, aparato bucal lamedor-masticador, aguijón funcional (aunque en algunas especies se ha reducido) y variado el tamaño (~ 3-30 mm) (González et al., 2005). Sin embargo, las características determinantes para reconocer una abeja son: pronoto (primer segmento torácico) muy corto, con un lóbulo lateral redondeado que no alcanza la tégula o base de las alas y la presencia de pelos plumosos o ramificados en al menos alguna parte del

cuerpo (González et al., 2005). Los machos se diferencian de las hembras porque no poseen estructuras para cargar polen ni aguijón y tienen las antenas más largas que las hembras.

Las abejas son esencialmente "avispa vegetariana" que cuando surgieron las plantas con flores o Angiospermas, hace alrededor de 120 millones de años (m.a.), comenzaron a usar polen para su propia alimentación y la de sus crías, en lugar de cazar y alimentarse de otros insectos (González et al., 2005).

Haciendo énfasis en las abejas africanizadas (*Apis mellifera africanizadas*), estas son aproximadamente 10% más pequeñas (longitud de 12.7 mm obreras africanizadas contra 13.9 mm europeas) y 33% menos pesadas que las europeas (62 mg obreras africanizadas contra 93 mg europeas); por ello construyen panales con celdas más pequeñas (Winston, 1992). Las dimensiones de las celdas de un panal de abejas europeas van de 5,2 a 5,5 mm de diámetro, mientras que las de los panales de abejas africanizadas miden entre 4,6 y 5,0 mm (Winston, 1992).

La diversidad morfológica y comportamental en este grupo de insectos es enorme. En cuanto a su anatomía, las abejas se conforman de cabeza, tórax y abdomen (Ver figura 2), partes unen por músculos y demás tejidos blandos, el exoesqueleto está compuesto de quitina biopolímero que se usa para extracción y derivación de biomateriales, tal como se mostrará más adelante.

El exoesqueleto, aloja en su interior los órganos blandos, y se halla constituido por la cutícula que la forman dos capas, una exterior muy dura (exocutícula) y otra interior (endocutícula). Las partes internas se hallan recubiertas por la membrana basal, donde se insertan los músculos (Cepero, 2016). Las castas presentan algunas diferencias entre las partes de su cuerpo y la composición química de sus hormonas y estructura de los biopolímeros, según las funciones que realice cada una, aunque fisiológicamente poseen los sistemas respiratorio, reproductivo, digestivo, circulatorio, nervioso y glandular (Silva et al., 2006).

5.1.1 La cabeza

La cabeza de la abeja vista desde el frente tiene forma triangular con sus ojos grandes en los laterales y el par de antenas centrales, las cuales articuladas con la boca donde fluyen glándulas salivales (Productoras de Jalea real) y el olfato, contienen órganos implicados en

la captación de alimento y procesamiento del mismo, así como la cera, esenciales para el mantenimiento de la estructura física de la colmena (Quero et al., 2004) ver Figura 2.

Los ojos son compuestos ya que cada uno está formado por un número variable de estructuras hexagonales llamados ommatidios (3 000 en la reina, 6 000 en la obrera y 13 000 en el zángano) (Lazo, 2019) que son diversas retinas las cuales en los zánganos es mayor debido a su necesidad de ubicar a las hembras (Quero et al., 2004). La importancia de los ojos ocelos u ojos simples es que les permite ver en la oscuridad, ya que son capaces de percibir la intensidad, la longitud de onda y la duración de la acción de la luz (Ver figura 2).

La antena está formada por una parte rígida (escapo) y otra flexible (flagelo) que está dividida en segmentos (artejos) cuyo número varía según la casta. (Lazo, 2019) (véase figura 2). Son las estructuras donde residen los sentidos de tacto y olfato. Cada una de ellas esta recorrida internamente por un nervio doble que procede directamente del cerebro. Los órganos del olfato esta constituidas por estructuras de órganos sensoriales, capaces de recibir el estímulo de diminutas partículas de materia suspendidas en el aire (Quero et al., 2004). El número de estos órganos varía dependiendo de la casta (Obreras cinco o seis mil, reinas dos o tres mil y en los zánganos treinta mil). El órgano del tacto está estructurado por nervios sensoriales, que son pelos de las antenas y el cuerpo.

La boca de las abejas está rodeada por un par de mandíbulas y prolongada por una trompa o probóscide. La mandíbula es útil para amasar la cera, comer polen y sujetar a un posible enemigo, o realizar cualquier trabajo de la colmena, la forma de tubo le permite succionar líquido el cual lo forman de manera provisional al juntar las maxilas y el labio, donde los palpos labiales actúan como órganos del gusto. En las obreras son lisas y redondeadas, mientras que en las reinas y zánganos son pequeños dientecillos en el borde. La lengua que puede acortarse y estirarse para lamer líquidos es como una línea cruzada con pared de aros duros con pelos y separados entre sí por membranas angostas y lisas ver figura 2 (Quero et al., 2004).

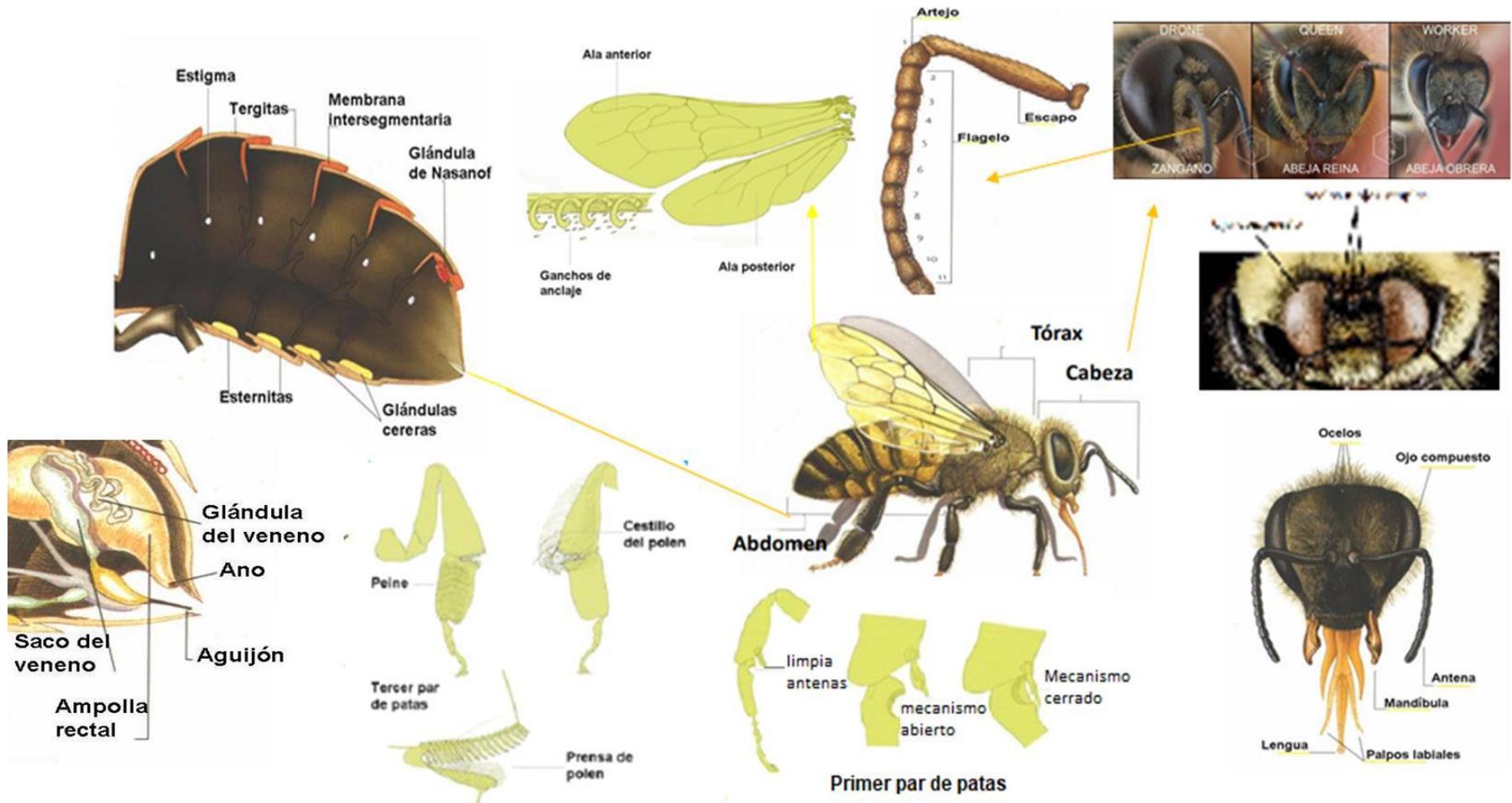


Figura 2. Morfología externa del cuerpo de la abeja. Fuente: (Lazo, 2019), detalles de la boca Arizona State University, Ask A Biologist

5.1.2 Tórax

Es la parte central del cuerpo que soporta las patas y las alas. Su cavidad está ocupada en mayor parte por la musculatura con los apéndices locomotores, los músculos que mueven la cabeza y el abdomen. Está formado por 4 segmentos (véase figura 2): protórax, mesotórax, metatórax y propódeo. Posee un par de patas en cada segmento y un par de alas ensambladas que se forman a partir del segundo segmento y tercer segmento (Quero et al., 2004).

5.1.3 Las patas

Son tres pares y son las responsables de la locomoción y otras funciones; el primer par que está en el protórax tiene una serie de dispositivos que les permite a las abejas la limpieza de sus ojos y antenas gracias a los espolones de la tibia; el segundo par está en el mesotórax y en su extremo del tarso un espolón que les permite arrancar el polen para conectarlo con el tercer par de patas, ellas también se encuentran en el mesotórax, son las más grandes y tiene la característica de almacenar polen y propóleo en las corbículas de la tibia, característica que tiene solo las obreras. Las reinas y zánganos en este lugar tienen una pinza para recoger las laminillas de cera y pasarlas a las mandíbulas para construir los panales (Lazo, 2019).

5.1.4 El abdomen

El abdomen se compone de nueve segmentos, pero sólo son visibles seis en las hembras y siete en los machos. Los segmentos abdominales poseen dos placas cada uno, llamándose a los dorsales tergitas y a los ventrales esternitas, unidos por membranas flexibles, lo que les permite una gran variedad de movimientos, como alargarse o acortarse y también curvarse en cualquier dirección. En cada tergita se ubica un pequeño agujero que se denomina estigma o espiráculo, por donde entra el aire en el interior del insecto, adicionalmente aquí se encuentran las glándulas cereras, de Nasonov y el aparato de defensa, existen características de color que permitan clasificar las castas (Café marrón obreras, zánganos cercanos al negro y tonos claros para la reina) (Lazo, 2019).

5.1.5 El aguijón

El aguijón cumple una función de defensa y es la única estructura visible del abdomen. Se compone de una glándula ácida y una alcalina, un saco de veneno y el aguijón propiamente dicho, el cual se forma por dos lancetas y un estilete. El veneno o apitoxina de las abejas es una mezcla de proteína y péptidos; sus principales componentes son la melitina (50%) y la hialuronidasa (3%) que producen, la fosfolipasa (12%) que causa dolor y además es tóxica, la fosfatasa ácida (1%) causa la acción alérgica y la histamina (1%) responsable del prurito y el dolor. La acción del veneno en el humano se puede clasificar según su nivel de reacción y efecto en el organismo. La reacción al veneno se manifiesta en el cuerpo a nivel local, sistemático y anafiláctico. En cuanto al efecto en el organismo, tenemos neurótico (por sus efectos sobre el sistema nervioso), hemorrágico (por la elevación en la permeabilidad de los capilares sanguíneos) y hemolítico (por causar la destrucción de glóbulos rojos) hambre (D. G. Silva et al., 2006).

5.1.6 Las alas

Las alas están formadas por una serie de nervaduras a modo de venas que son en realidad tubos quitinosos por el interior de los cuales circula la hemolinfa con nervios y un entramado de celdas, son dos pares en cada lado del cuerpo adaptadas para el vuelo rápido y para mantener una carga, el segundo par suele ser de menor tamaño, se encuentra unido en el medio de una serie de garfios que se enganchan a un repliegue situado en la parte posterior del ala delantera (Quero et al., 2004).

5.2 CICLO DE VIDA Y REPRODUCCIÓN

Las abejas tienen un ciclo de vida (huevo, larva, pupa y adulto) común a todos los demás insectos. Los tres primeros estados de su ciclo se realizan en las celdas de los panales y se denominan cría. Los huevos y larvas se encuentran en celdas abiertas, las cuales son cuidadas por las abejas adultas y se les conocen como cría abierta. Las abejas, además de proteger a la cría también la alimentan hasta el final de su fase larval; posteriormente operculan o sellan la celda, permitiendo la transformación de larva a pupa y finalmente en adulto, el cual emerge por sí solo (D. G. Silva et al., 2006). La formación de una abeja adulta ocurre como en otros insectos holometábolos, mediante un proceso de desarrollo y transformación que inicia con

la postura de un huevo por una reina y concluye con la salida de un adulto de una celda del panal. Las abejas obreras de razas europeas tardan, en promedio, 21 días en desarrollarse y emerger desde que una reina pone un huevo, mientras que las obreras africanizadas emergen a los 18.5 días a partir de que el huevo es puesto (Guzmán-Novoa et al., 2011) .

Una consecuencia de estas diferencias en su tiempo de desarrollo es que las colonias de abejas africanizadas producen obreras a un ritmo más rápido que las colonias de abejas europeas, la cual facilita su predominancia al invadir una colonia. Para el caso de reinas y zánganos no hay diferencias significativas ver tabla 1.

Tabla 1. *Ciclo de vida de las tres castas* (D. G. Silva et al., 2006), (Barrera et al., 2012)

Dato	Reina (día)	Obreras (días)	Zángano (días)
Huevo	3	3	3
Larva	5,5	6,5	6,5
Operculación de la celda	8	7,8	10
Periodo de transformación en pupa	1	1	1
Emergencia del adulto en días	15-16	19-20	24
Vida adulta	1825-2920	35-40 activa, inactiva	90 Después del apareamiento

De la Tabla 1 se puede evidenciar que los 20 mil o 30 mil individuos de la colonia se renuevan constantemente en ciclos de vida de 90 días, lo cual demuestra su potencial para el uso de su biomasa.

5.3 GEOGRAFÍA DE LAS ABEJAS

Según el portal DiscoverLife.org alimentado con los estudios compilatorios del profesor de la universidad Nacional de Singapur Ascher y su colega Alice Hughes en el planeta existen alrededor de 20.000 especies abejas registradas, con ausencia de datos completos y con potencial de descubrir nuevas especies en las zonas tropicales de sur américa entre las que se

resalta Colombia, Perú, Ecuador y Bolivia, de la región Brasil es el país con mayor cantidad de estudios y registros en el portal (Orr et al., 2021).

Entre los hallazgos de los investigadores reportados en (Orr et al., 2021) se puede resaltar que existen más especies de abejas en el hemisferio norte que en hemisferio sur; son más abundantes en ambientes áridos y templados que en los trópicos. Muchas plantas y animales siguen un patrón conocido como gradiente latitudinal donde la diversidad aumenta hacia los trópicos y el ecuador y disminuye hacia los polos. Otros investigadores han establecido que existen muchas menos especies de abejas en los bosques y selvas que en los ambientes áridos del desierto debido a que los árboles tienden a proporcionar menos fuentes de alimento para estas que las plantas y flores bajas o menos robustas (H. Rodríguez, 2020).

Los anteriores registros o tendencias se ven afectados debido a la falta de muestreo de los territorios a nivel mundial, que vincule la identificación y el estudio de las propiedades químicas a nivel estructural, exclusiva de compuestos y caracterización fisicoquímica, los reportes en general denotan que solo el 5% de territorio de identificación (Orr et al., 2021) (Nates-Parra & Rosso-Londoño, 2013). y de ese porcentaje la mayoría tiene pocos estudios relacionados con las propiedades químicas, lo cual muestra un alto potencial para el desarrollo de investigación de alto nivel en el área. Si bien, existe una preocupación mundial por la seguridad alimentaria y su conservación interés y financiación para el desarrollo la articulación de equipos interdisciplinarios que estructuren mejor la información que se publica, de tal modo que pueda ser comparable.

En Colombia, el registro mundial reporta unas 1.000 especies, señalando que la apicultura colombiana dedica su práctica únicamente al trabajo de *Apis mellifera* o abeja doméstica, por lo cual, la mayoría de abejas domésticas (*Apis mellifera*) que son utilizadas en la apicultura, son híbridos entre abejas alemanas (*Apis mellifera mellifera*) e italianas (*Apis mellifera ligustica*), caucasianas (*Apis mellifera caucasica*) y africanas (*Apis mellifera scutellata*). Debido a que estas abejas híbridas presentan características más similares a las africanas que a las demás, han sido denominadas como abejas africanizadas. De las especies que habitan en Colombia también se considera dentro del género *Apis* la existencia de cuatro especies: abeja melífera gigante (*Apis dorsata*), abeja melífera enana (*Apis florea*), abeja melífera

oriental (*Apis cerana*) y la abeja melífera occidental (*Apis mellifera*). Dados los diferentes factores ambientales existentes en las diversas regiones, tales como clima, flora y fauna, se desarrollan grupos de individuos pertenecientes a una misma especie, pero adaptados a un medio particular, siendo estos denominados como subespecies o razas geográficas (Natesparra et al., 2013; D. G. Silva et al., 2006)

5.4 QUÍMICA DE LOS PRODUCTOS APÍCOLAS

La miel, el propóleo, el polen de abeja, el pan de abeja, la jalea real, la cera de abeja y el veneno de abeja son productos naturales que se utilizan en medicina desde la antigüedad. Hoy en día, los estudios indican que los productos naturales de las abejas pueden utilizarse para el tratamiento y el cuidado de la piel (Hurtado Lozano & Rugel García, 2019). La miel, el propóleo y el polen se utilizan para curar las heridas por quemaduras, y poseen numerosas propiedades funcionales como: antibacterianas, anti-inflamatorias, antioxidantes, desinfectantes, anti-fúngicas y antivirales con aplicaciones en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Salamanca & Osorio, 2019; Vargas et al., 2019). La cera de abeja se utiliza para la producción de cosméticos y ungüentos en la farmacia. Los estudios de las propiedades en cada uno de los productos se analizaron para *Apis mellifera* que es la especie con mayor uso comercial.

5.4.1 Polen

El polen de abeja, también conocido como polen apícola, es la principal fuente de proteína para las colonias de abejas (Fuenmayor B et al., 2014). El polen de abeja resulta de la aglutinación del néctar floral y del polen con las sustancias salivales de las abejas, acumulándose en las cestas de polen (corbículas) de las abejas (estructuras como pequeñas bolsas), y con unas 250 sustancias en su composición química (Duarte et al., 2018). También representa un complemento dietario funcional, especialmente debido a sus capacidades antioxidantes y antimicrobianas, su composición de micronutrientes, su perfil de ácidos grasos y sus funciones terapéuticas o preventivas de enfermedades (Fuenmayor B et al., 2014). El polen de abeja es una fuente natural de hidratos de carbono, fibras brutas, proteínas y lípidos, así como de componentes menores como aminoácidos, minerales, oligoelementos, vitaminas carotenoides, compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, terpenos, etc. (véase la

figura 3.) (Aličić et al., 2020; Isik et al., 2019; Kostić et al., 2015; A. A. Machado et al., 2018a; Anna F.H. Modro et al., 2009). Por ello, el polen de abeja se considera el "único alimento perfectamente completo. Los polifenoles, especialmente los ácidos fenólicos y los flavonoides, y los carotenoides son los componentes bioactivos más importantes del polen de abeja (Aličić et al., 2020; A. A. Machado et al., 2018a). Es habitual que los parámetros fisicoquímicos del polen de abeja varíen en función del origen botánico, ya que está compuesto principalmente por granos de polen (A. A. Machado et al., 2018b). Aunque, existen muchas investigaciones de la composición del polen debido a la amplia variedad de productos comercializados, las propiedades fisicoquímicas de muchos de ellos siguen siendo desconocidas (A. A. Machado et al., 2018b). A partir de este interés se han desarrollado procesos con el fin de determinar el perfil fenólico del polen de abeja a través de la implementación de técnicas instrumentales como la espectrometría de masas, siendo un área poco investigada, Por lo tanto, la importancia de identificar con precisión los compuestos fenólicos presentes en este producto, por HPLC-MS, y su capacidad antioxidante y antimicrobiana. (Duarte et al., 2018; A. A. Machado et al., 2018b).

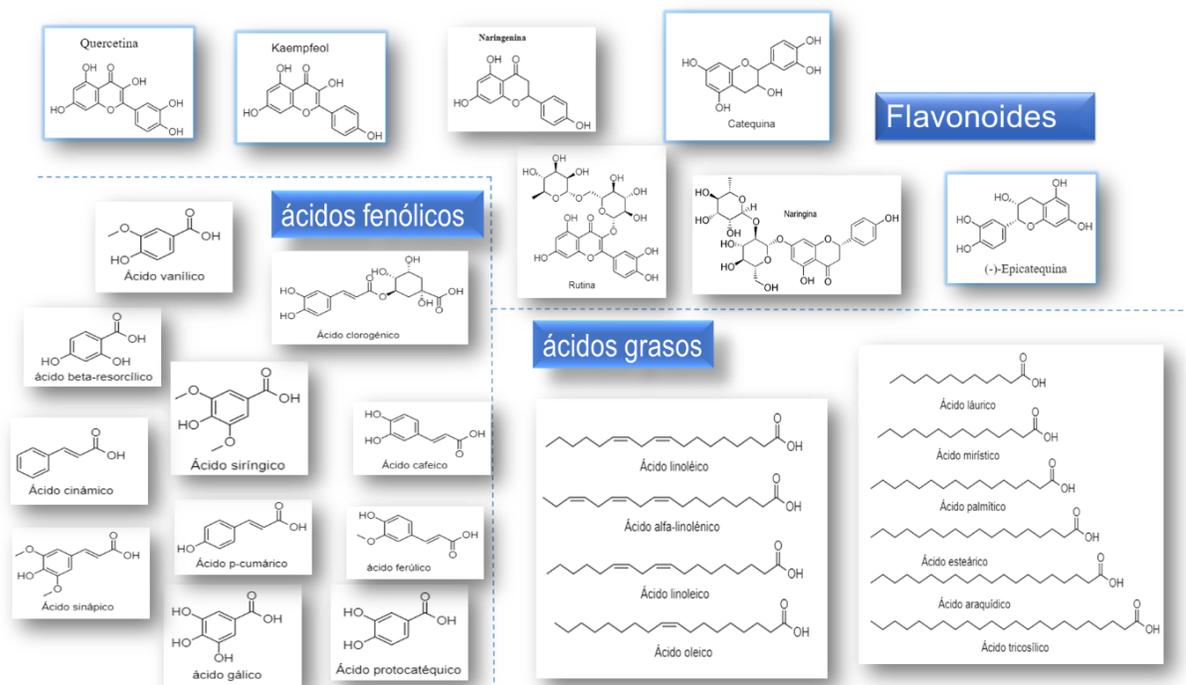


Figura 3. Compuestos químicos recopilados de algunos artículos estudiados para el polen.

5.4.1.1 **Propiedades fisicoquímicas del polen.**

Para este apartado, se analizaron 60 artículos científicos que reportaban de manera directa los datos de propiedades fisicoquímicas, excluyendo los reportes que no tenían un procedimiento claro de la propiedad determinada. Las propiedades fisicoquímicas que se estudiaron se enmarcaron en 27 artículos científicos, las cuales fueron: proteína, humedad, ceniza, lípidos pH, carbohidratos. (A. A. Machado et al., 2018b) (A. A. Machado et al., 2018a) (Kostić et al., 2015) (Duarte et al., 2018) (Anna Frida Hatsue Modro et al., 2007) (Anna Frida Hatsue Modro et al., 2009) (Isik et al., 2019) (Rodrigues de S. et al., 2018) (Nogueira et al., 2012) (Fuenmayor B et al., 2014) (Zuluaga-Domínguez et al., 2018) (Aličić et al., 2020) (Asmae et al., 2021) (E.-K. A. Taha et al., 2017) (Rebelo et al., 2016) (Thakur & Nanda, 2019) (M. C. T. Martins et al., 2011) (Gonçalves et al., 2017) (Bleha et al., 2019) (Spulber et al., 2018) (Ghosh & Jung, 2020) (Yan et al., 2021) (Carpes et al., 2009) (Adaškevičiūtė et al., 2019) (de Arruda et al., 2013) (de Arruda et al., 2017).

5.4.1.1.1 **Proteína**

Se estableció como parámetro estándar la determinación por el método de Kjeldahl, para establecer la normalización de la proteína mediante la determinación total de nitrógeno, para que los datos se consideren comparables se estableció que se hubieran realizado con muestras deshidratadas.

Los resultados obtenidos se describen en la Figura 4, donde se puede apreciar que se recolectaron datos de doce países, un total de 195 muestras las cuales reportaron análisis por triplicado, en los que el mayor porcentaje de muestreo se evidenció en Brasil con más de la mitad de los estudios y, los cuales están distribuidos en más de 15 regiones diferentes. Le siguen en porcentaje de muestreo Serbia y Bosnia y Herzegovina con en el 13,3% y 13,8%. En nuestro país los estudios comparables son escasos, lo que denota la necesidad de aumentar el interés de los químicos en aplicar caracterizaciones fisicoquímicas en esta área.

Los rangos de proteína en polen según el gráfico estarían entre 9 al 68% en muestras de polen, con una media de 18,65%, con un rango de validez bajo un límite de confianza del 95% del 10 al 35%, donde el reporte de Colombia daría como no válido o fuera de tendencia. Además, las diferencias encontradas en el contenido de proteína en el polen se deben a las plantas de las que este fue colectado. El mayor valor (44,44%) se reportó para plantas de la familia Anadenanthera y el menor (10,6%) para la familia Alternanthera. Según la Normativa n.3 de

2001: Reglamento técnico para la fijación de la identidad y la calidad del polen apícola que reporta como mínimo 8 % de proteína presente en la muestra de polen (Brasil, 2001), por lo tanto, este rango cumple con dicha normativa.

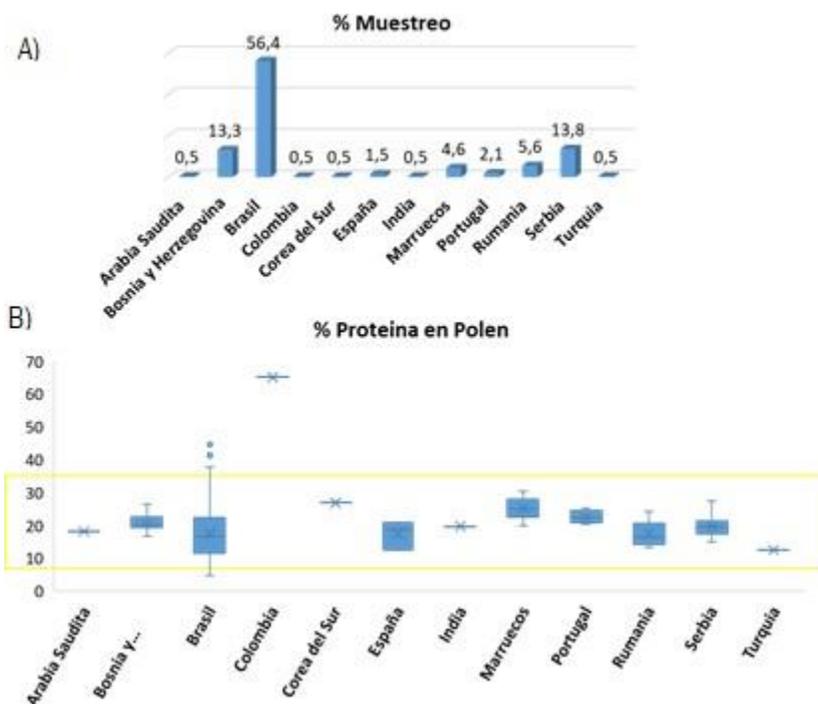


Figura 4. Estudio estadístico de los reportes de proteína en polen: A) porcentaje muestreo por países (12 países) y B) estudio estadístico.

5.4.1.1.2 Humedad

En esta propiedad se estableció que las muestras fueran registradas en muestras que se recolectaron y secaron a 40 a 50°C, dato que no es muy homogéneo en los artículos, por lo que se recomendaría establecer una sola temperatura con el fin de facilitar la comparación. El procedimiento aceptado fue análisis termogravimétrico o secado en el rango de 80 a 85°C con seguimiento gravimétrico. Se tomaron en cuenta los datos de 8 países, 88 muestras medidas cada una por triplicado, obteniendo que el mayor porcentaje de muestreo se encuentra en Europa, y, en nuestro continente sigue Brasil, Ver figura 5.

Como resultado se estableció una media de 8,15% para los datos comparados con un rango del 4,6 al 13,2%, bajo un nivel de confianza del 95%, lo que muestra que los datos de Marruecos no aprueban el test de tendencia. La Normativa n.3 de 2001: Reglamento técnico

para la fijación de la identidad y la calidad del polen apícola que reporta como máximo de humedad 4 % en la muestra de polen (Brasil, 2001), pero por otro lado la norma NMX-FF-094-SCFI-2008: Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - polen - (pollinis), reporta como mínimo 4 % y máximo 8% (México, 2008), por lo cual, esta media no cumple con dichas normativas.

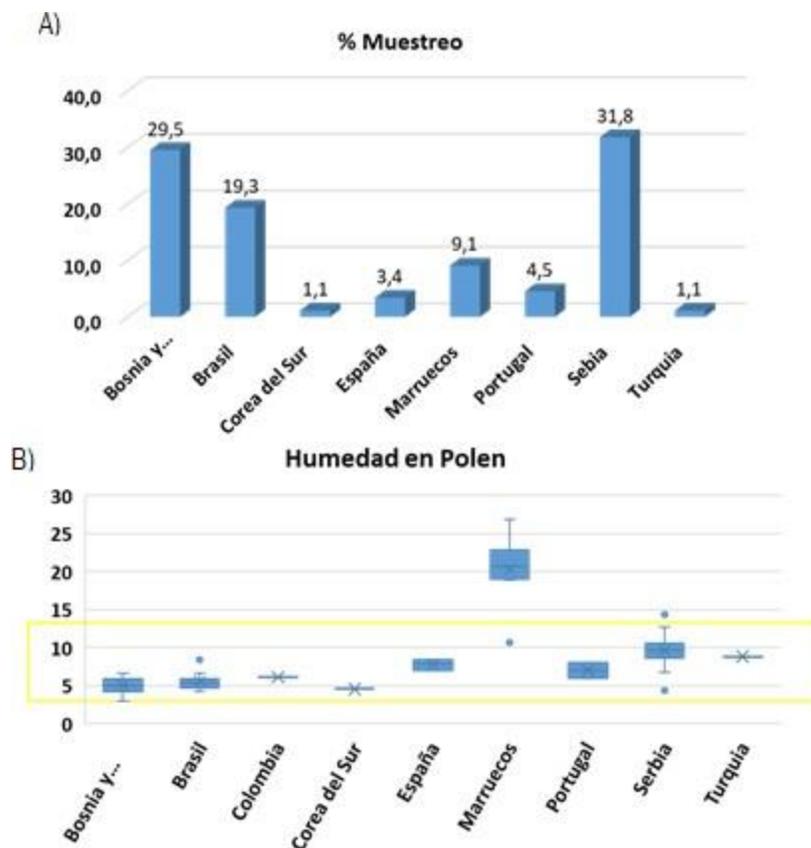


Figura 5. Estudio estadístico de los reportes de humedad en polen: A) porcentaje muestreo por países (8 países) y B) estudio estadístico (9 países).

5.4.1.1.3 Ceniza

Para este parámetro se estableció que la determinación se realizara por métodos termogravimétricos en atmósfera de nitrógeno o por calcinación a temperatura de 500 a 550°C realizando seguimiento gravimétrico. Las muestras seleccionadas fueron 192 con registro de sus triplicados, las cuales corresponden a 10 países en donde Brasil representa más del 50% de los datos comparables, ver Figura 6.

Los resultados indican una media del 2,65% de ceniza en una muestra de polen con un rango valido al 95% de confianza de 0,9 a 5,3%, todos los datos seleccionados son aprobados

estadísticamente. En nuestro país no se encontró un reporte comparable lo cual muestra la necesidad de investigar en esta área. El rango reportado por la normativa NSO 67.03.01:01: calidad de propóleo crudo (propóleo puro)(Norma Salvadoreña, 2005) es de máximo 4 % de ceniza, de igual forma la norma Hondureña N-CIN 67.01.121:05. POLEN. (*Apis mellifera L*), (Concepción, 2006) y La Normativa n.3 de 2001: Reglamento técnico para la fijación de la identidad y la calidad del polen apícola (Brasil, 2001), se cumple con el valor que se reportan en las normativas citadas.

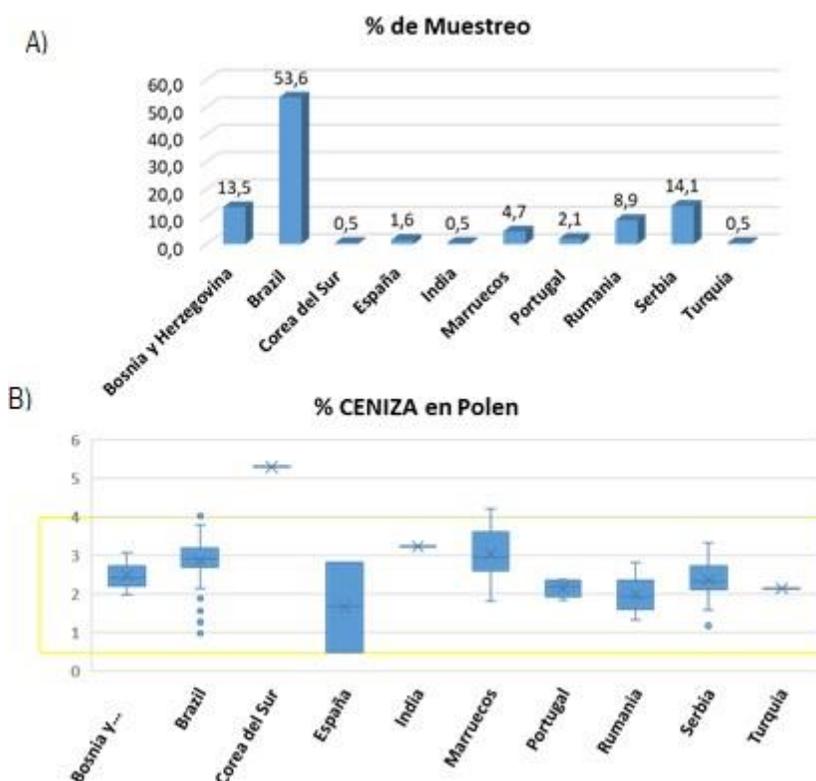


Figura 6. Estudio estadístico de los reportes de ceniza en polen: A) porcentaje muestreo por países (10 países) y B) estudio estadístico.

5.4.1.1.4 Lípidos

El parámetro comparable son estudios realizados por extracción Soxhlet o directa con ultrasonido con solventes apolares como éter etílico y fracción secada por destilación o rota-evaporación, analizando los datos de 9 países con un total de 188 muestras medidas por triplicado como mínimo; Evidenciando que Brasil presenta el mayor porcentaje de muestreo en sus diferentes regiones con el 59,6%; como es una constante en estos estudios las otras

naciones del continente carecen de reportes comparables, lo cual no es bueno para la conservación y aprovechamiento de la apicultura como actividad económica sostenible.

Los resultados muestran una media de 5,33% de lípidos en las muestras con un rango de 1,8 a 9,3% bajo el límite de confianza del 95%, considerando fuera de la tendencia los datos de España e India, lo anterior invita a realizar análisis de la homogeneidad de la muestra o características particulares del entorno en el que viven las abejas. La Normativa n.3 de 2001: Reglamento técnico para la fijación de la identidad y la calidad del polen apícola (Brasil, 2001) reporta un mínimo 1,8% de lípidos en el polen, cumpliendo se así con la normativa.

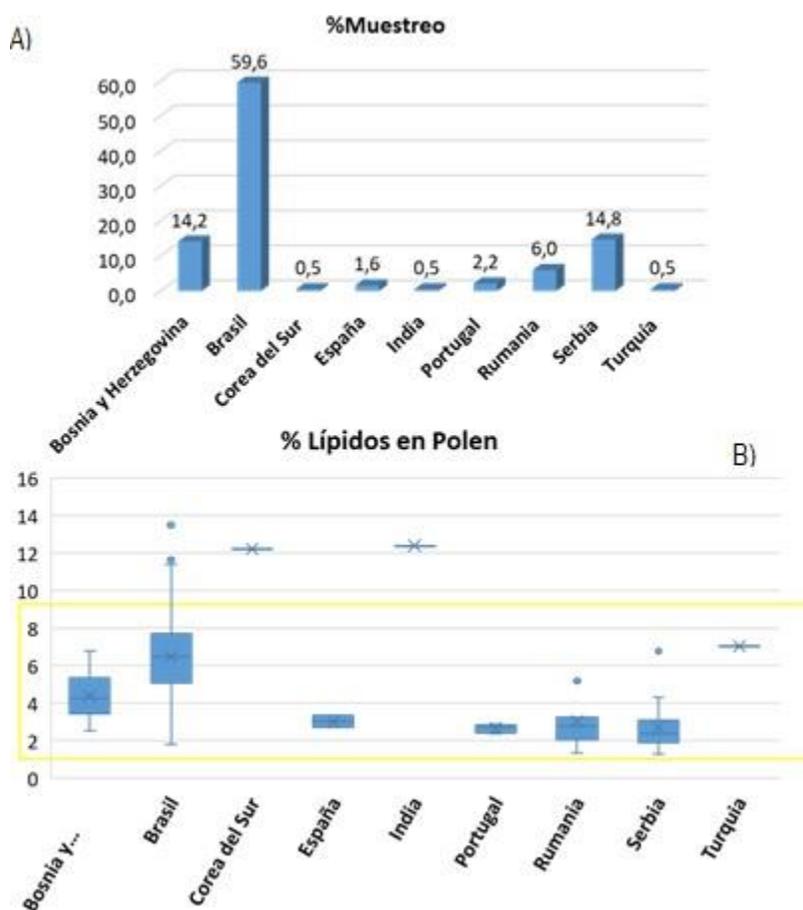


Figura 7. Estudio estadístico de los reportes de lípidos en polen: A) porcentaje muestreo por países (9 países) y B) estudio estadístico.

5.4.1.1.5 pH

Se compararon datos en los que se hubiera determinado el pH por extracción con agua bi-distilada o agua tipo 1, medido en la solución obtenida por filtración de membrana y con

electrodo potenciométrico, logrando comparar 38 muestras de 15 países, con datos por triplicado como mínimo y con mayor participación de Marruecos. En el caso de Colombia los reportes son de buena calidad, pero pocos, lo cual es una tendencia mundial en esta propiedad, lo cual es preocupante, ya que, el pH define la capacidad de consumir o no de manera segura un producto. Ver figura 8.

Los resultados reportan una media de pH de 4,6, con una aceptabilidad del 95% el rango es de 3,4 a 5,1. El rango reportado por la normativa NSO 67.03.01:01: calidad de propóleo crudo (propóleo puro) (Norma Salvadoreña, 2005), la norma Hondureña N-CIN 67.01.121:05. Polen. (*Apis mellifera L.*). Especificaciones (Concepción, 2006) y La Normativa n.3 de 2001: Reglamento técnico para la fijación de la identidad y la calidad del polen apícola (Brasil, 2001) es de 4- 6, por ende, se cumple con la normativa citada.

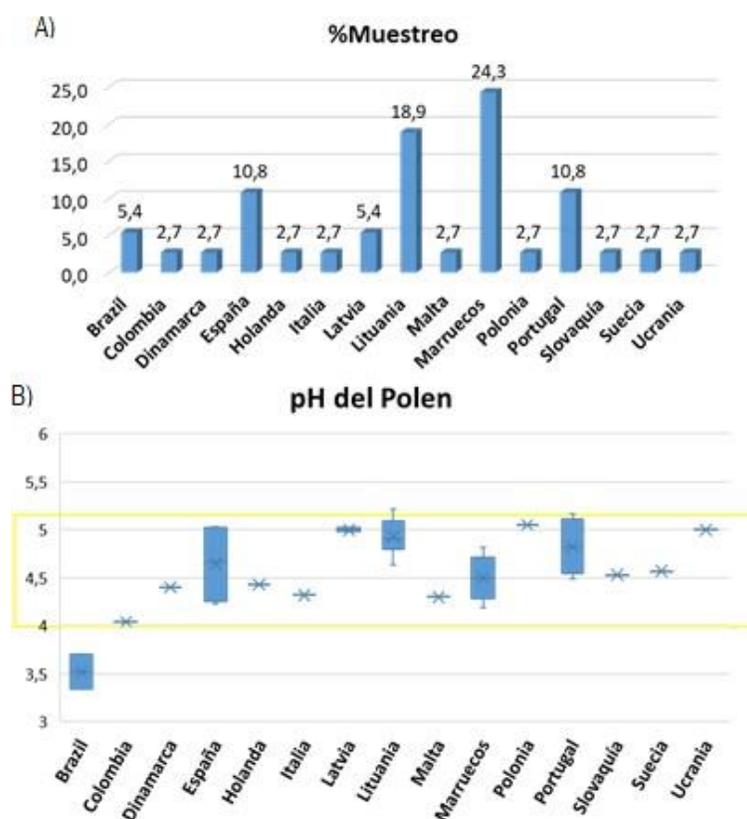


Figura 8. Estudio estadístico de los reportes del pH del polen: A) porcentaje muestreo por países (15 países) y B) estudio estadístico.

5.4.1.1.6 Carbohidratos

Se evaluaron los datos calculados por métodos cromatográficos, reducción de azúcares y estudios colorimétricos o a partir de la fibra total, lo cual, permitió incluir los reportes de 7

países, con total de 90 muestras con datos mayoritarios de la zona Euro-Asia y Brasil. Ver figura 9.

Los resultados señalan una media de 63,96% de carbohidratos presentes en el polen de todas las muestras, con un rango amplio de aceptabilidad bajo el 95% de confianza del 20 al 85%, lo anterior se debe a la varianza en las plantas que visitan las abejas. Las diferencias encontradas en el porcentaje de carbohidratos (64,42% -81,84 %) valores máximo y mínimo respectivamente, son debidas a que la mayoría de la literatura revisada reporta que el polen analizado (base seca) corresponde a una mezcla (recolectado de muchas plantas), mientras que, en un estudio, se separó el polen por color antes de su análisis, por lo que fue posible determinar el contenido de carbohidratos en el polen de cada familia de plantas, encontrando que plantas de la familia Brassicaceae tiene menor porcentaje de carbohidratos, mientras que plantas de la familia Sophora presentaron el mayor contenido. Lo recomendable en estos estudios sería proponer un método estandarizado de determinación para muestras secas de polen, lo cual permitiría comparar y hacer seguimiento nutricional a nivel mundial del producto.

La norma Hondureña N-CIN 67.01.121:05. POLEN. (*Apis mellifera L*), (Concepción, 2006) indica, un rango de carbohidratos en la muestra de 31% a 70% y La Normativa n.3 de 2001: Reglamento técnico para la fijación de la identidad y la calidad del polen apícola (Brasil, 2001) reporta 14,5% a 55,0 % este valor obtenido de la figura 9, con lo cual esta cumple con la norma.

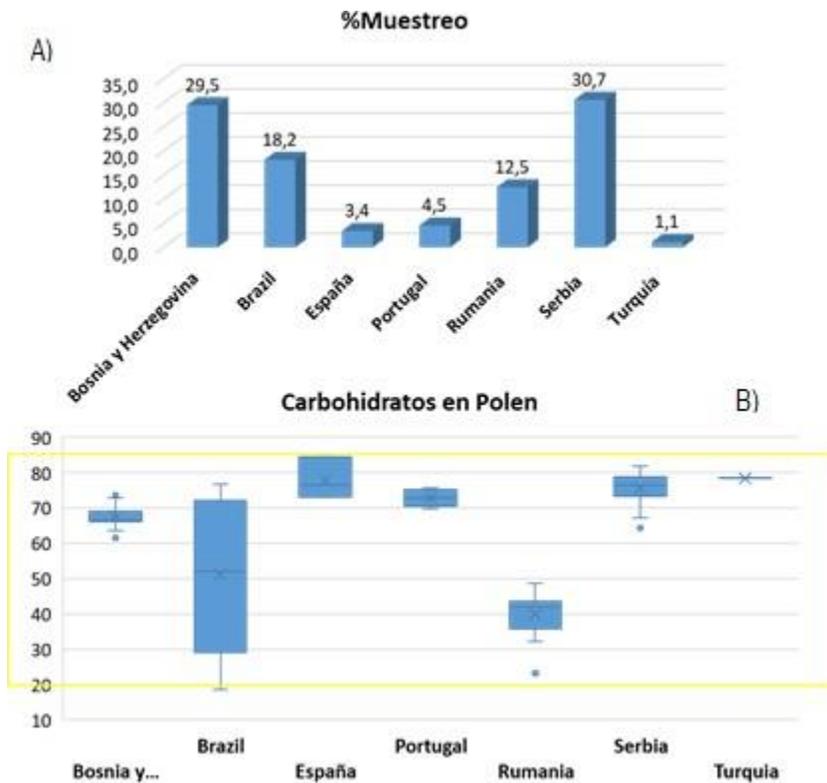


Figura 9. Estudio estadístico de los reportes de carbohidratos en polen: A) porcentaje muestreo por países (7 países) y B) estudio estadístico.

Para culminar la revisión de las tendencias en las propiedades fisicoquímicas más estudiadas y reportadas en artículos científicos que publicaron datos completos y comparables de lípidos, proteínas, humedad y ceniza en polen, se realizó el PCA obteniendo los datos descritos en la Figura 10 para 110 muestras analizadas. A partir de los cuales se puede establecer que no existe una amplia correlación entre las variables, que para un porcentaje de aceptabilidad superior al 90% se requiere un plano factorial tridimensional, donde las muestras no tienen una organización por país, lo cual denotaría que dependen de la floración local donde se haya recolectado el polen y que las muestras son diversas y aglomeradas en el centro del plano factorial, eso indica que se puede diseñar una regulación basada en los rangos medidos bajo los mismos parámetros para las propiedades del polen.

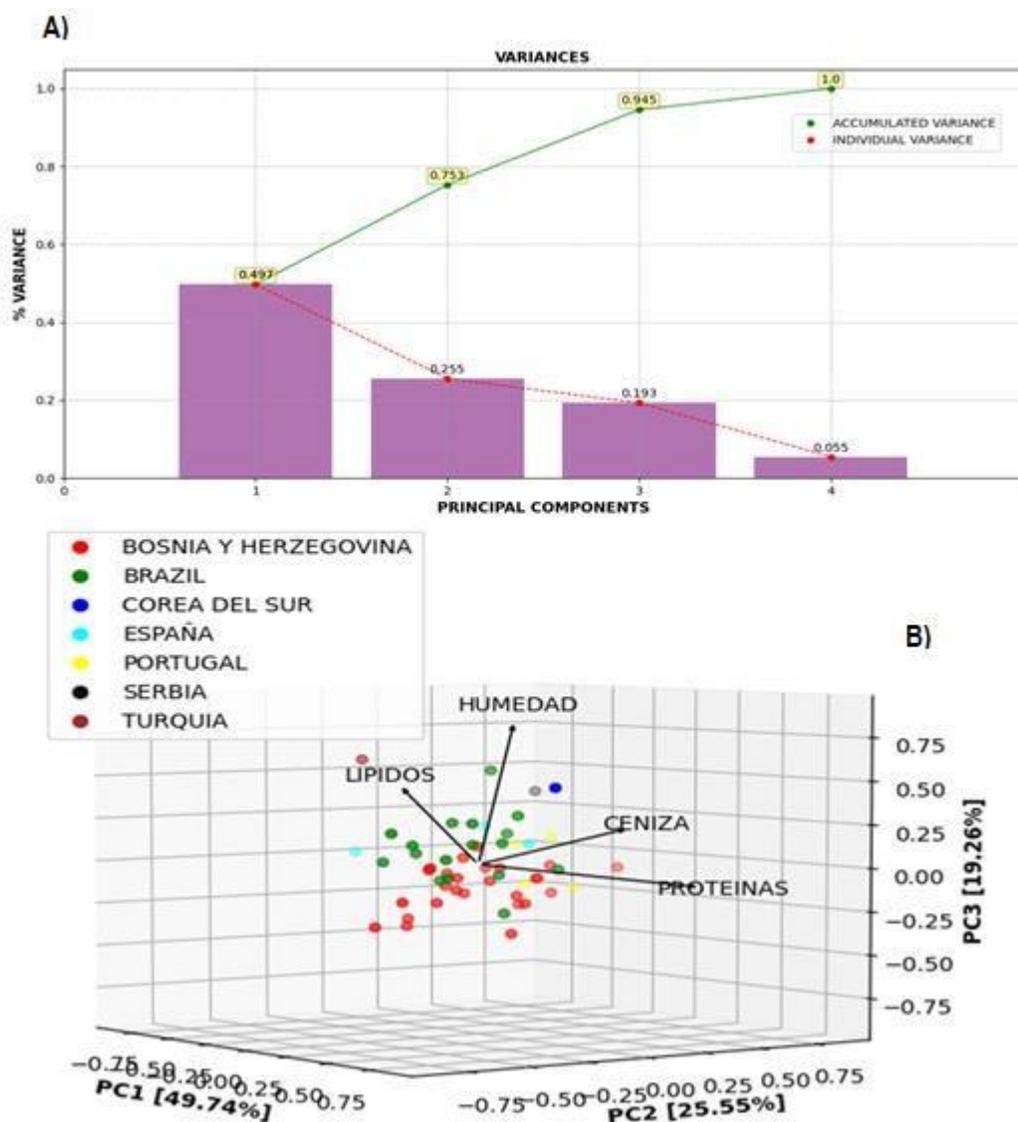


Figura 10. Análisis PCA bajo en $p=0,05$ y datos comparables para 9 países: A) diagrama de componentes, B) plano factorial.

5.4.2 Propóleo

El propóleo es un producto natural elaborado por distintos géneros de abejas, a partir de exudaciones y material resinoso de plantas, que transportan a su colmena, y mezclan con cera, arcilla o tierra según sean sus hábitos; se produce mezclando cera de abeja y resinas recogidas de diversas partes de plantas por las abejas *Apis mellifera*. (Nordin et al., 2018; Salamanca, 2017). Presenta tonalidades de color castaño, marrón, pardo, rojizo y verde, y, en algunos casos, negros, según sea el origen botánico y geográfico (Salamanca, 2017). En general, los propóleos se presentan de forma heterogénea, debido a su consistencia dura,

semidura y/o blanda, posterior a la cosecha, estos se mezclan con otros elementos propios de la colmena que hacen que lleven consigo impurezas llamadas masas mecánicas que se han mezclado con cera. Las propiedades del propóleo, dependen de la composición está influenciada por factores de entorno geográfico, por las necesidades y por la oferta de gomas, resinas y exudaciones de las plantas, de la forma de colecta, de las condiciones climáticas y del periodo en el cual este ha sido beneficiado (Salamanca, 2017).

Salamanca (2017), reporto la presencia de flavonoides, ácidos aromáticos, ésteres, aldehídos y cetonas, agliconas, ésteres de ácidos grasos, terpenos, esteroides, aminoácidos, polisacáridos, hidrocarburos y alcoholes, entre otros que podrían alcanzar alrededor de 300 compuestos (véase figura 11) (Salamanca, 2017). Los compuestos fenólicos, incluidos, los ácidos fenólicos y los flavonoides, están altamente asociados con posibles efectos beneficiosos para la salud humana, como propiedades antiinflamatorias, inmunológicas, antimicrobianas, antitumorales y antioxidantes (Vargas et al., 2019). Estas propiedades biológicas están relacionadas con los flavonoides que contienen como: crisina, apigenina, kaempfeol, quercetina, galangina, pinocembrina o naringenina (Salamanca & Osorio, 2019). Una de las técnicas más implementadas para la identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos del extracto de propóleo (PE) es la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) equipada con un detector de matriz de diodos (Vargas et al., 2019).

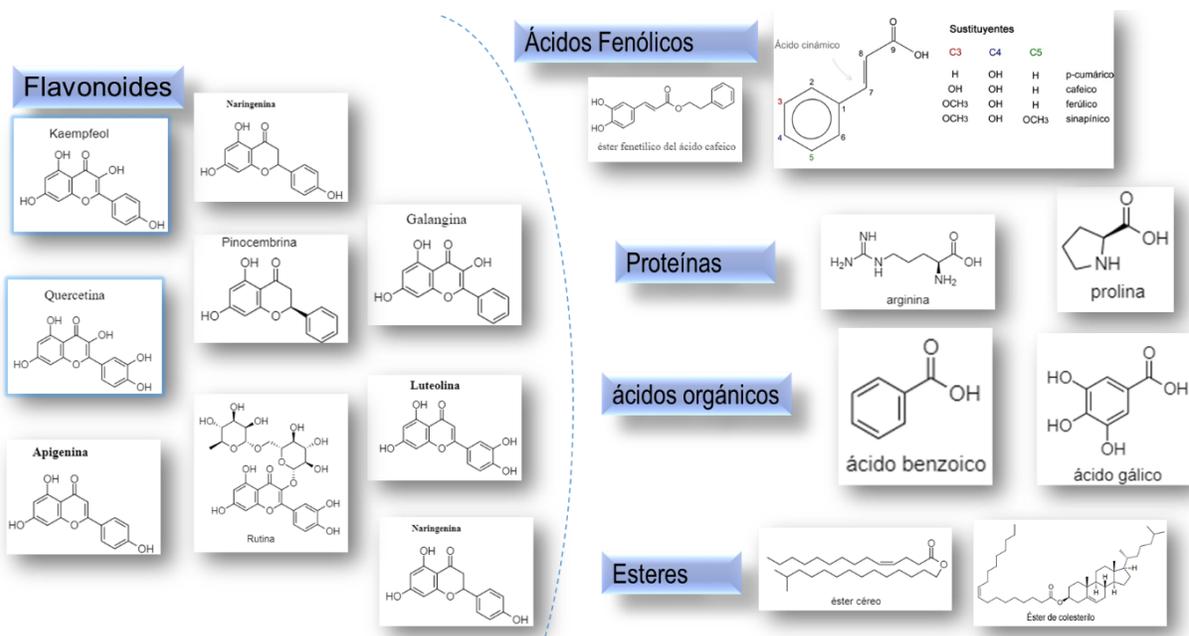


Figura 11. Compuestos químicos recopilados de algunos artículos estudiados para el propóleo.

Los reportes de 30 artículos de las propiedades fisicoquímicas en el propóleo de *Apis mellifera* no reportan datos homogéneos ya que se emplean métodos diferentes en los tratamientos de la muestra, protocolos de recolección y método de medida y seguimiento, lo anterior hace que realizar comparaciones entre los resultados de los artículos no sea posible, sin embargo se logró realizar un porcentaje de muestreo y estudio estadístico para la propiedad fisicoquímica ceniza (%) para dos países (Brasil y Colombia) . En la figura 12, se resumen los resultados de los artículos publicados que reúne datos de Colombia (32 muestras), Indonesia (3 reportes), Brasil (6 reportes) y México (9 reportes).

Las propiedades reportadas son humedad en rangos de 60 a 90°C, Cera extraída en diversos solventes apolares que incluyen éteres, benceno y diclorometano, o insolubles en etanol o agua, impurezas visibles, resinas, proteínas en diversos métodos, índice de oxidación con parámetros de UV-Vis secundario y algunos reportes por reacciones secundarias, acidez libre por titulación en algunos casos y extracción y medida, también se reporta el punto de fusión.

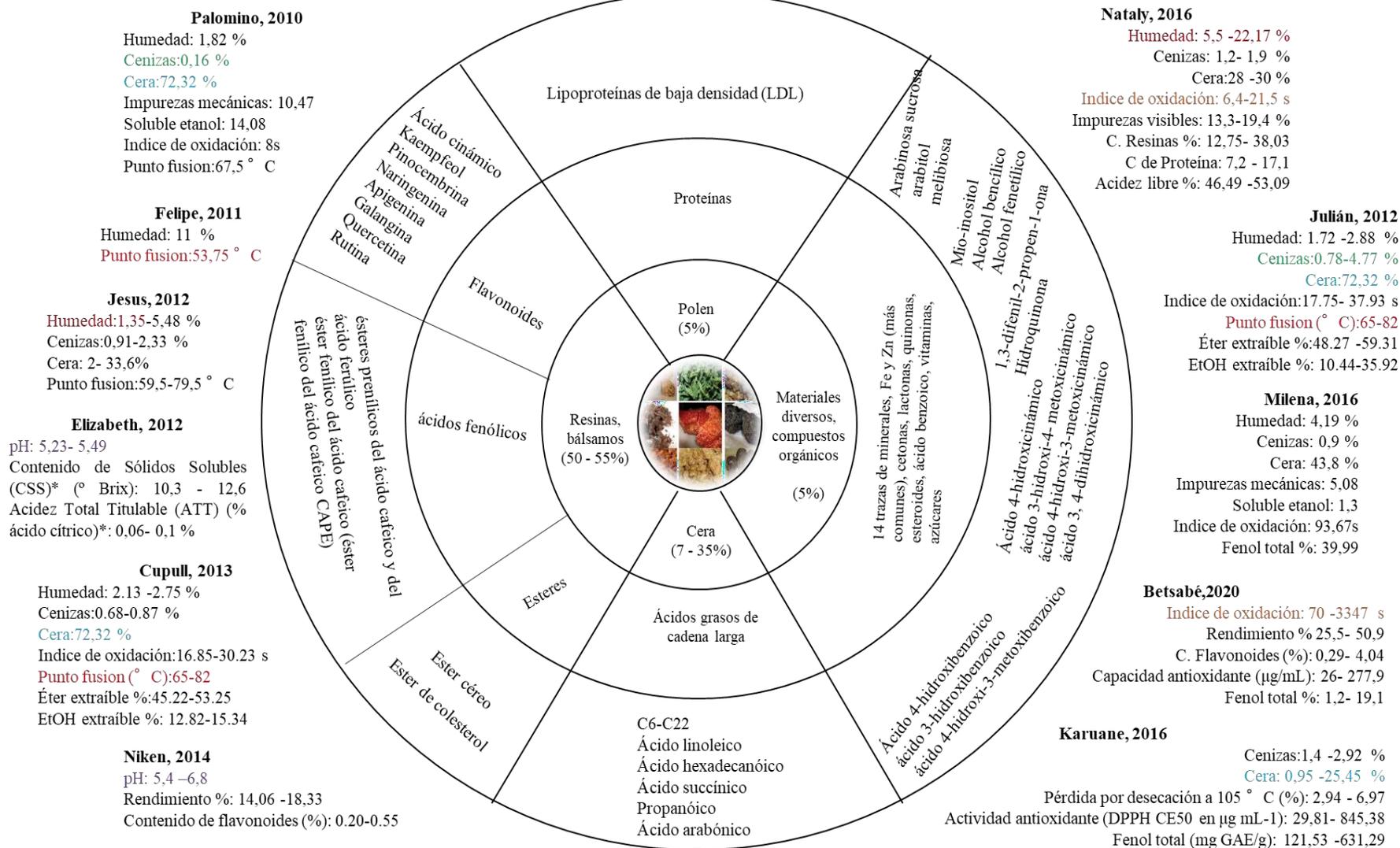


Figura 12. Datos fisicoquímicos reportados para propóleos (Autoría).

De la figura 12, un dato comparable es la ceniza en el cual se ejecuta en promedio por degradación térmica controlada a 10°C/min, aplicando rampas de permanencia a 200 y 300°C por 12h, luego se sigue aumentando hasta alcanzar temperaturas de 500-550°C. Se evidencia que los 4 reportes (A. K. S. da Silva et al., 2016; F. C. da Silva et al., 2011; Puerto Galindo et al., 2016; Vilorio B et al., 2012), analizan 28 muestras de las cuales la mayoría del muestreo es en Colombia tal como se ve en la figura 13, un factor a resaltar es que las muestras de Colombia son tomadas en diferentes regiones y presentan una menor dispersión de los datos agrupándose todas en el rango de 0,8 a 2,3% de ceniza, para el caso de Brasil con menos datos su grado de dispersión es muy alto, para lo cual se sugiere realizar más análisis para corroborar. La normativa IRAM-INTA 15935-1 (Instituto Argentino de Normalización, 2004), Norma Ramal Cubana: Apicultura NRAG-1135-94 (Propóleos Materia Prima) (Ministerio de Agricultura de Cuba, 1994) y el Reglamento técnico para fijar la identidad y calidad de propóleos (Ministerio de Agricultura de Brasil-Apacame, 1999), reportan un rango máximo de 5% de cenizas en la muestra de propóleo, cumpliéndose con la normativa.

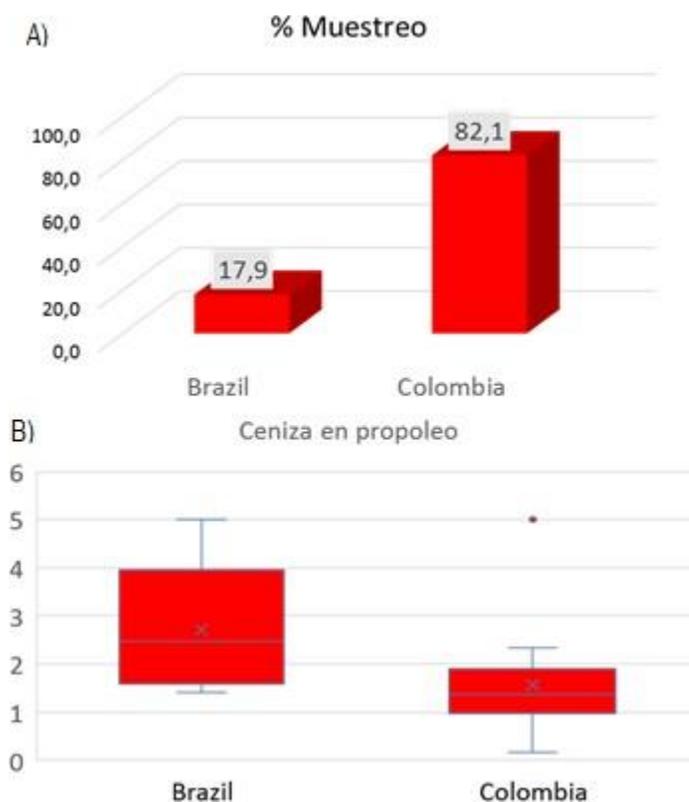


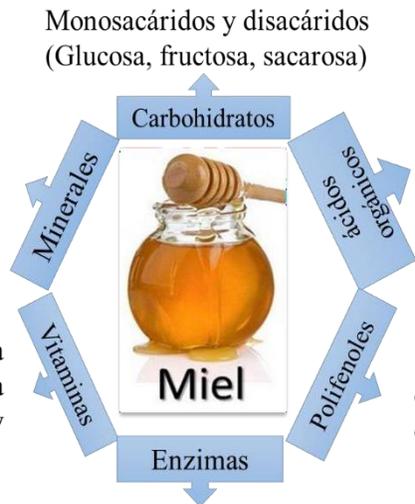
Figura 13. Estudio estadístico de los reportes de ceniza en propóleos: A) porcentaje muestreo por países (7 países) y B) estudio estadístico.

5.4.3 Miel

La miel es una mezcla de sustancias de origen animal producida por las abejas a partir del néctar de las flores, o segregada de partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos chupadores de plantas, que las abejas recogen, combinan y maduran en los panales de las colmenas y, en consecuencia, la composición de la miel puede variar enormemente (Ormeño Luna, 2019; Ribani et al., 2021). Las principales características físicas y el comportamiento químico de la miel son debidos particularmente a la glucosa y fructosa, los constituyentes menores tales como compuestos del sabor, pigmentos coloreados, ácidos, entre otros, participan en gran parte de las diferencias que se establecen en la individualidad de las mieles (Ormeño Luna, 2019). Contienen una mezcla compleja de carbohidratos y pequeñas cantidades de otros componentes; como minerales, proteínas, vitaminas, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, enzimas, pigmentos, granos de polen y otros fitoquímicos (véase figura 14) (Ciucure & Geană, 2019; Li et al., 2012). También puede definirse como una solución sobresaturada de azúcares, como la fructosa y glucosa (Rodríguez et al., 2012).

Potasio, calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo sodio, zinc y selenio.

Ácido ascórbico (C), tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3), ácido pantoténico (B5) y piridoxina (B6)



Monosacáridos y disacáridos (Glucosa, fructosa, sacarosa)

- Ácido glucónico
- Ácido aspártico
- Ácido cítrico
- Ácido acético
- Ácido fórmico
- Ácido fumárico
- Ácido galacturónico
- Ácido malónico,
- Ácido acetoglutárico
- Ácido glutámico
- Ácido láctico.

- Flavonoides
- no flavonoides: ácidos fenólicos.

- Diastasa (α -amilasas, β -amilasas)
- Glucosa oxidasa
- Invertasa

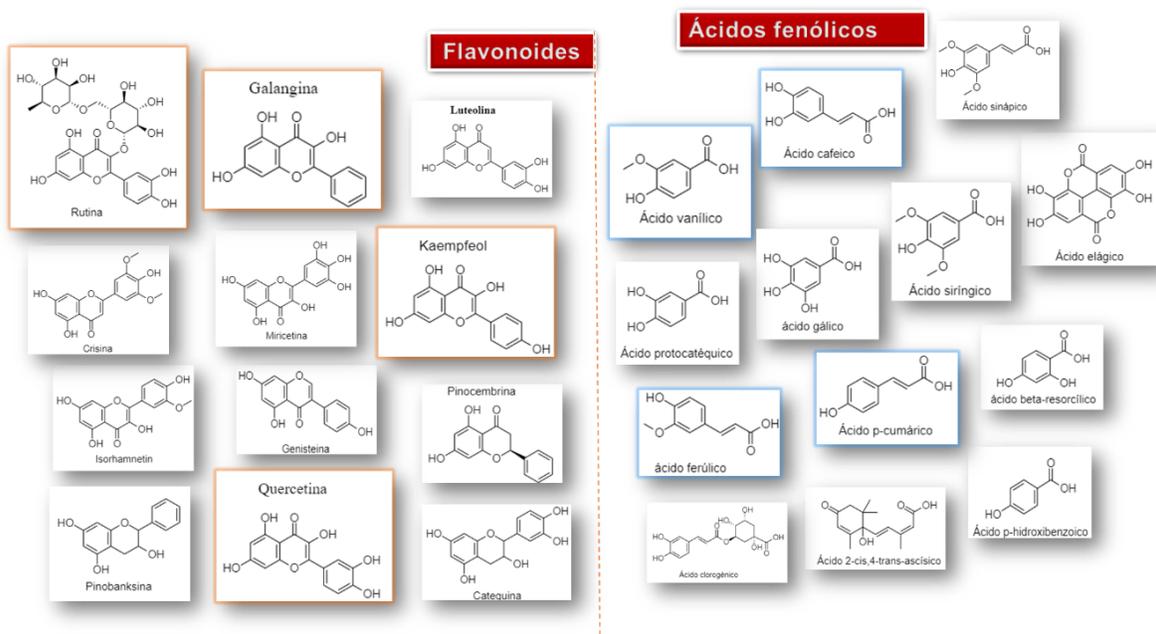


Figura 14. Compuestos químicos recopilados de algunos artículos estudiados para la miel.

Las características fisicoquímicas de la miel, como su alta viscosidad y densidad, su consistencia y su dulzor, se deben a que en realidad es una solución con una alta concentración de azúcares, y esta puede variar en su composición, debido a la contribución de la planta, el clima, las condiciones ambientales y la capacidad del apicultor (Azeredo et

al., 2003; Menezes et al., 2018). Por ejemplo, Menezes indica que la alta humedad tropical de las amazonas haría que la miel de *Apis mellifera* de esta región tenga mayores valores de humedad y alto crecimiento microbiano en periodos prolongados de conservación (Menezes et al., 2018). Por lo tanto, su composición puede evaluarse mediante análisis fisicoquímicos y sensoriales; como lo es la utilización parámetros de sabor y calidad con el fin de diferenciar entre mieles monoflorales y poliflorales, así como la identificación y el recuento de los granos de polen (Bandeira et al., 2018), Otros parámetros son el color, la velocidad de cristalización (relacionada con el contenido de glucosa) y la higroscopicidad (relacionada con el contenido de fructosa) (Venir et al., 2010).

Por otro lado, los parámetros comúnmente reportados en la caracterización de las propiedades fisicoquímicas de la miel (Bandeira et al., 2018) son caracterizados por algunas técnicas analíticas e instrumentales para el análisis de la composición, como, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), análisis térmico y métodos espectroscópicos moleculares y atómicos. Los compuestos fenólicos, principalmente los ácidos fenólicos y los flavonoides son los principales componentes responsables de las propiedades beneficiosas para la salud de la miel, como antimicrobianas, antiinflamatorias, antimutagénicas, antitumorales, antivirales, actividad antioxidante y muchos otros efectos sobre la salud humana (Bandeira et al., 2018; Ciucure & Geană, 2019). Numerosos estudios sobre los ácidos fenólicos y los flavonoides de la miel se han centrado en la extracción de los compuestos fenólicos de la misma, utilizando la resina Amberlite XAD-2, haciendo uso de procedimientos de extracción en fase sólida (SPE) con cartuchos comerciales (Bond Elut octadecyl C18, Sep-Pak RP C18, Oasis HLB y Strata-X) o métodos de extracción líquido-líquido antes de su identificación y cuantificación (Ciucure & Geană, 2019).

Las propiedades fisicoquímicas que se estudiaron se enmarcaron en 56 artículos científicos de los 98 98 artículos científicos analizados, las cuales fueron: pH, acidez, humedad, cenizas. Porque aplicaban medidas reproducibles, con métodos estándar, indicaban la ubicación de recolección de la muestra y reportaban protocolo de conservación y eran de *Apis mellifera*. (Gela et al., 2021) (Nordin et al., 2018) (Bandeira et al., 2018) (A. A. D.-M. Machado et al., 2018) (Al-Ghamdi et al., 2019) (Guler et al., 2014) (Gregorio et al., 2020) (Ribani et al.,

2021) (Chuttong et al., 2016) (Azeredo et al., 2003) (Menezes et al., 2018) (Ciucure & Geană, 2019) (Cianciosi et al., 2018) (Braga et al., 2020) (Alexandra et al., 2019) (Castro et al., 2021) (Pineda et al., 2019) (Schievano et al., 2021) (E. K. A. Taha et al., 2021) (Braghini et al., 2020) (Biluca et al., 2016) (Braghini et al., 2021) (Codling et al., 2016) (Tenore et al., 2012) (Pucholobek et al., 2022) (Ghramh et al., 2020) (Mokaya et al., 2020) (Karabagias et al., 2020) (Paim et al., 2021) (Ramón-Sierra et al., 2015) (Wu et al., 2020) (Alvarez-Suarez et al., 2018) (Nascimento et al., 2018) (Fonte et al., 2018) (Sun et al., 2020) (Marcolin et al., 2021) (Coronado et al., 2019) (dos Santos et al., 2020) (Yayinie et al., 2021) (Moguel et al., 2005) (Nemo & Bacha, 2021) (Ismail et al., 2021) (Torquato et al., 2018) (Martínez et al., 2018) (Kadri et al., 2022) (Kavanagh et al., 2019) (Seraglio et al., 2019) (Echeverrigaray et al., 2021) (Seraglio et al., 2021) (Ávila et al., 2018) (Rizelio et al., 2020) (de Lima et al., 2020) (Zhang et al., 2019) (Wang et al., 2021) (Juliano & Magrini, 2019)

5.4.3.1 pH

Se tomaron los artículos que emplearan agua bi-destilada o tipo 1 para la extracción y mediadas por potenciómetro, los datos comparados son de 13 países que vinculan 382 muestras las cuales en su mayoría son de diversos lugares del territorio brasilero, vinculando Países de África, Europa y Asia. Los resultados muestran que el rango de pH de 360 muestras es de 3,0 a 4,9 con una media de 3,94 en un nivel de confianza del 95%, Ver Figura 15. La Norma del Codex para la miel (Codex Alimentarius, 2001a) reporta un rango de pH para la muestra de miel de 3,30 - 4,60, por ende, podemos concluir que se cumple con la Norma.

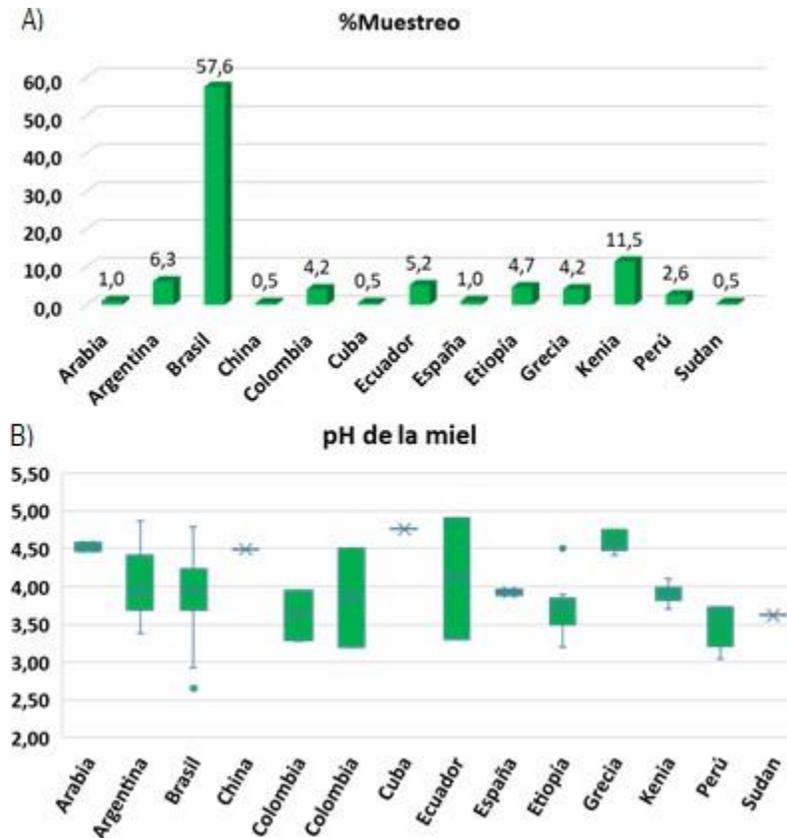


Figura 15. Estudio estadístico de los reportes de pH en miel: A) porcentaje muestreo por países (13 países) y B) estudio estadístico.

5.4.3.2 Acidez

Los datos que se seleccionaron fueron en los que aplicaron titulación con una base fuerte mono-catiónica al extracto con agua bi-destilada o tipo 1, para muestras deshidratadas como base de cálculo de la concentración. La anterior permitió recolectar datos de 430 muestras de 10 países con el mayor muestreo en Brasil, como resultado se resalta que la media es de 33,18 mEquivalente/g de miel con un rango de 17 a 65 mEquivalente/g dejando por fuera los datos de Arabia y 20 registros de Brasil, lo anterior es dentro de un nivel de concordancia del 95%. Ver figura 16. En cuanto a las diferencias reportadas en los valores de acidez (6 a 83,50 mEq/kg) de mieles de *Apis mellifera*, la metodología reportada de muestreo no es homogénea, es decir, los investigadores no fueron quienes recolectaron las muestras, sino que, las recibieron de apicultores o fueron adquiridas en almacenes de productos apícolas. Esto indica la importancia que en las normas se detalle la metodología de muestreo. El rango

de acidez está dentro de un máximo de 40 mEquivalente/g reportada en la Norma revisada del Codex para la miel (Codex Alimentarius, 2001b), no cumple con la normativa.

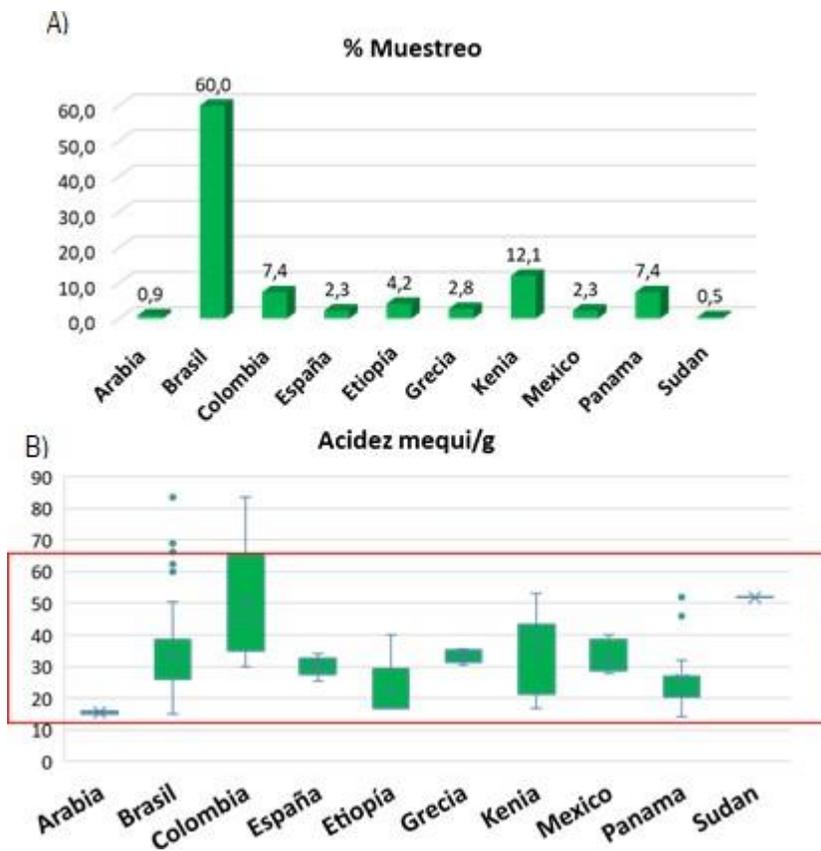


Figura 16. Estudio estadístico de los reportes de acidez en miel: A) porcentaje muestreo por países (10 países) y B) estudio estadístico.

5.4.3.3 Humedad

Se tomó las muestras con un tratamiento térmico de 50-60°C o estudio termogravimétrico y con seguimiento gravimétrico apropiado y por triplicado. Se analizaron 488 datos, de 13 países de diferentes continentes, aunque es un buen volumen de datos es recomendable que cada nación aplique métodos estándar de determinación ya que esta propiedad afecta la conservación y propiedades estructurales en las muestras. Los resultados indican una media de 21,11%, con un rango de 12 a 35%, retirando como datos con límite de confianza menor a 95% (4 datos de Brasil y 5 de Kenia). Ver figura 17. La Norma del Codex para la miel (Codex Alimentarius, 2001a), la Norma revisada del Codex para la miel Codex Stan 12-1981

(Codex Alimentarius Commission, 1987) y Norma revisada del Codex para la miel (Codex Alimentarius, 2001b). reportan el valor máximo de humedad en la miel del 20 %, por lo cual el rango definido no cumple por completo con las normas.

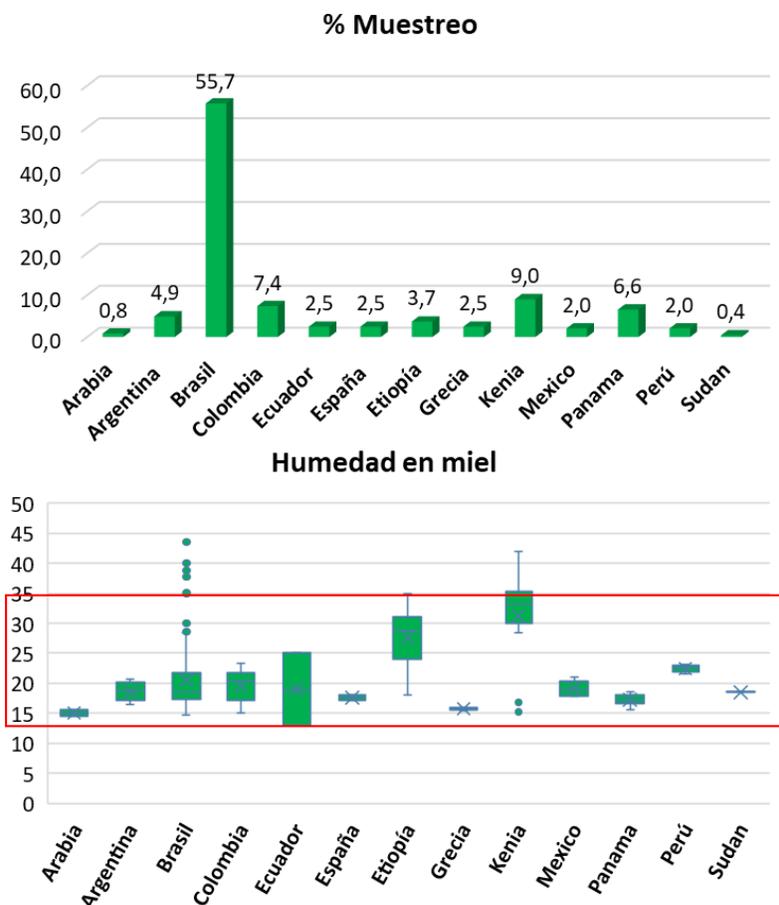


Figura 17. Estudio estadístico de los reportes de humedad en miel: A) porcentaje muestreo por países (13 países) y B) estudio estadístico

5.4.3.4 Ceniza

Se seleccionaron las muestras tratadas con rampas de calentamiento y procesos isotérmicos prolongado con el objeto de evitar la caramelización de la muestra, adicionalmente calcinación a 500 a 530°C. Se estudiaron 116 datos de 7 países, la media 0,31% con un rango 0,15 a 0,60% con las 4 muestras de Arabia por fuera de la tendencia comparativa bajo un nivel de confianza del 95%. Ver figura 18. El reporte de cenizas de la Norma del Codex para la miel (Codex Alimentarius, 2001a) es del 0,5 % y la Norma revisada del Codex para la miel Codex Stan 12-1981 (Codex Alimentarius Commission, 1987) reportan un valor máximo de

ceniza en la miel del 0,6 %, por lo cual, el rango definido cumple por completo con las normas.

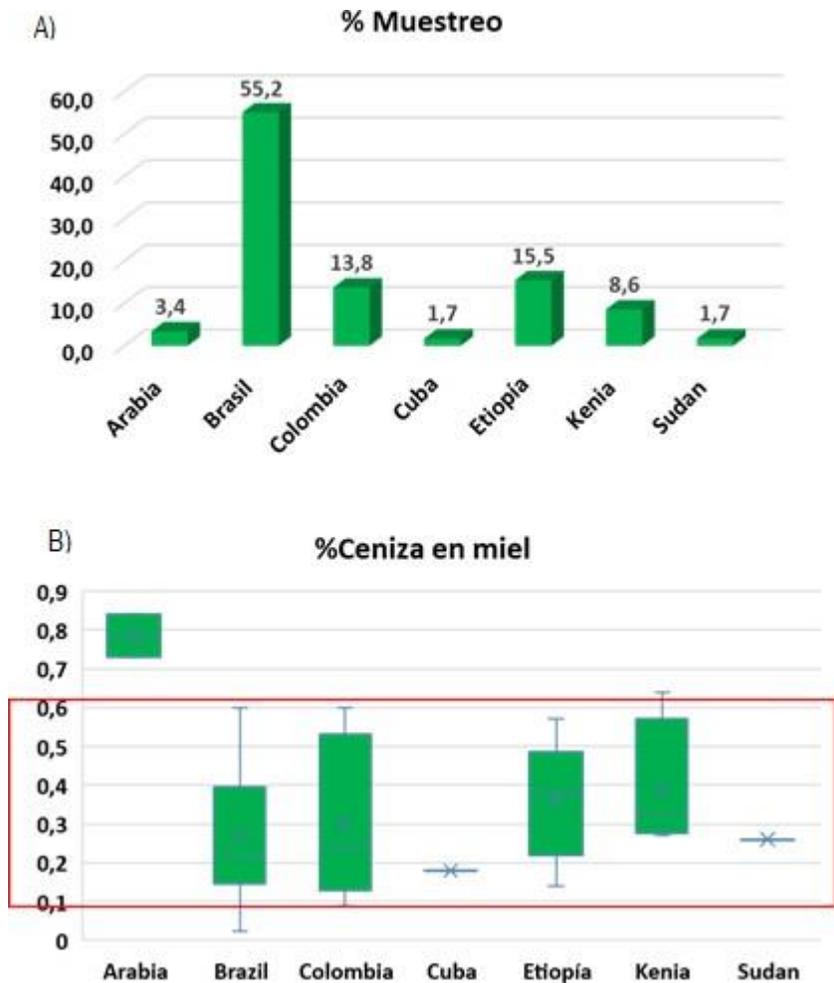


Figura 18. Estudio estadístico de los reportes de ceniza en miel: A) porcentaje muestreo por países (7 países) y B) estudio estadístico.

Con los datos anteriores se buscó determinar la posible correlación existente para ello se compararon los vectores Altitud del lugar de recolección de la muestra, la humedad, el pH y la acidez, donde los vectores mostraron una correlación tridimensional superior al 90%, en el cual se puede evidenciar que, para las 302 muestras la mayoría de ellas se ubica en el centro del plano factorial, al observar la figura 19, donde algunos de los datos referentes a la variables acidez, humedad, y altitud que están un poco más alejadas del centro factorial, como lo son los casos de Etiopía, Kenia y Sudan en lo cual estos datos puede presentar una

fuerte variabilidad debido a su altitud comparada con las demás, así mismo, Colombia, presenta incidencia en la variable pH. Para establecer las causas de estas desviaciones, se recomienda investigarlas con el objeto de diseñar normas y técnicas de caracterización adaptadas al medio, los reportes comparables son pocos, esto podría ser un factor determinante en la clasificación, lo que deja la puerta abierta para realizar más investigaciones. Ver figura 19.

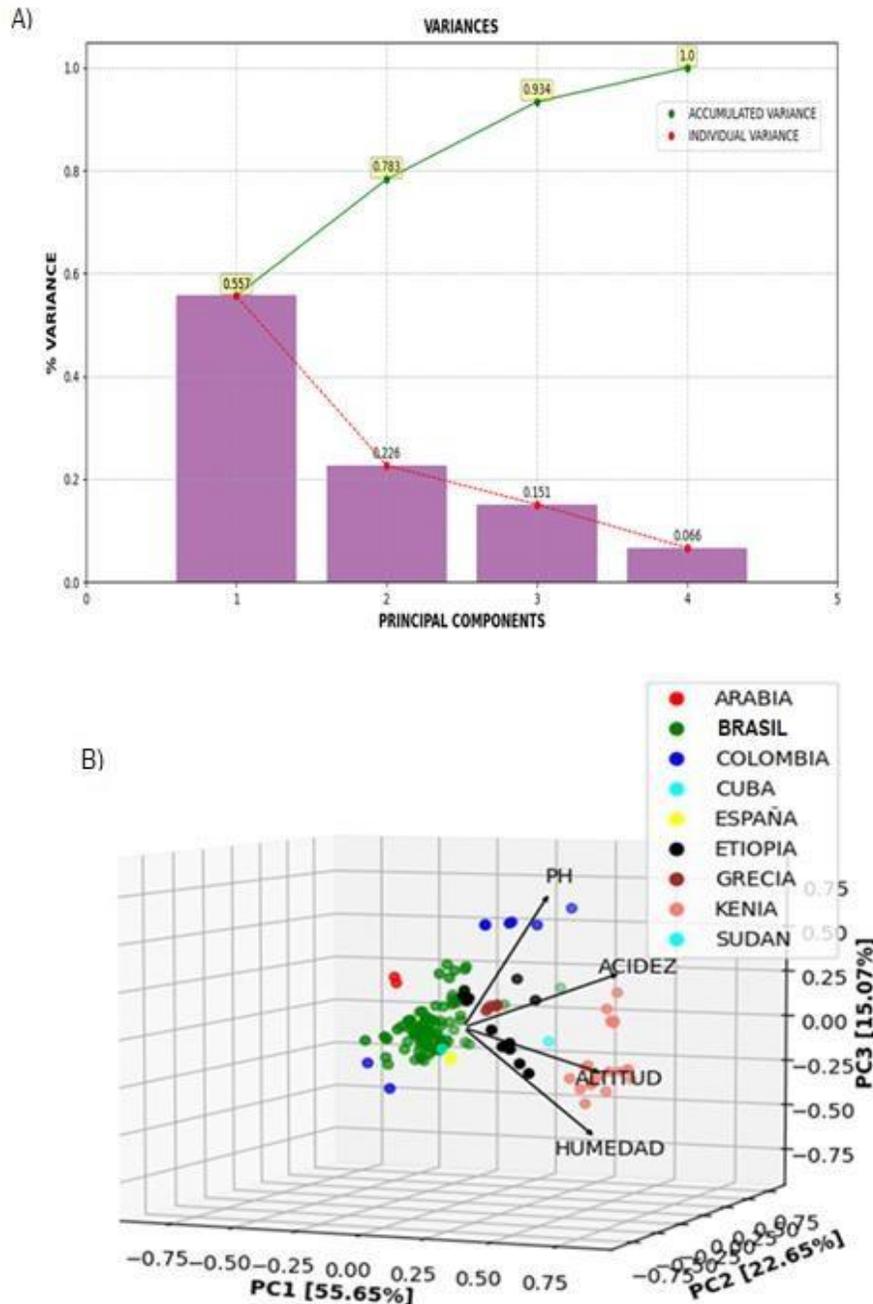


Figura 19. Análisis PCA bajo en $p=0,05$ y datos comparables para 9 países. A) diagrama de componentes, B) plano factorial.

5.5 QUÍMICA DE LAS TOXINAS DE LAS ABEJAS

El veneno secretado por las abejas obreras se conoce como apitoxina, éstas lo emplean como mecanismo de defensa ante sus depredadores naturales, al igual que contra otras especies de abejas (Nates-Parra, 2011). Contiene diferentes péptidos, como la melitina, la apamina, la adolapina, la sekapina, la prokamina y el péptido degranulador de mastocitos (véase figura 20) (Kurek-Górecka, Górecki, et al., 2020; Leandro et al., 2015). Los péptidos son los principales componentes del veneno de abeja. Entre los péptidos, la melitina desempeña un papel importante en la inducción de las reacciones asociadas a las picaduras de abeja (De Souza & Ruvolo-takasusuki, 2019). La melitina induce la permeabilización de la membrana lisa las células. También posee aminas biológicamente activas como la histamina, la epinefrina, la dopamina, la norepinefrina y enzimas como la fosfolipasa A2, la hialuronidasa, la fosfomonoestearasa ácida y la lisofosfolipasa (De Souza & Ruvolo-takasusuki, 2019; Leandro et al., 2015) y otras sustancias químicas que presentan diversas actividades farmacéuticas (E. C. Brandão et al., 2021). El veneno de abeja tiene otros componentes además de los péptidos, incluyendo lípidos, carbohidratos y aminoácidos (Kim et al., 2019; Kurek-Górecka, Górecki, et al., 2020; Kurek-Górecka, Komosinska-Vassev, et al., 2020). La abeja africanizada es la más común en la apicultura colombiana y su veneno (apitoxina) (Pineda Guerra et al., 2016) suele asociarse con el dolor, ya que, cuando el ser humano es picado por las abejas, puede producirse una inflamación local e incluso una reacción alérgica. El veneno de abeja se ha utilizado tradicionalmente en la medicina antigua y en la acupuntura (Carpena et al., 2020).

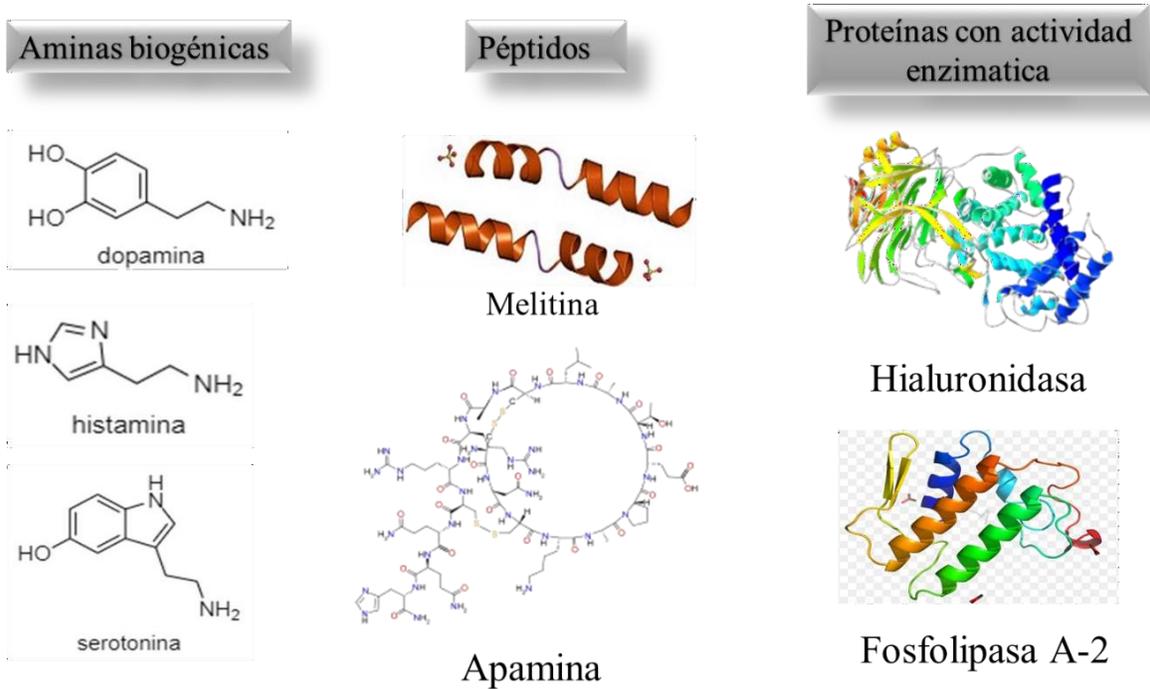


Figura 20. *Compuestos químicos recopilados de los artículos estudiados en el veneno de la abeja *Apis mellifera*. (autoría)*

Carpena et al., (2020), menciona en su artículo de revisión que las principales actividades biológicas ejercidas por el veneno muestran que la mayoría de los estudios se centran en la comprensión y prueba de los efectos antiinflamatorios y sus mecanismos de acción. También se evalúan otras propiedades como los efectos antioxidantes, antimicrobianos, neuroprotectores o antitumorales, tanto in vitro como in vivo. Sin embargo, a pesar del potencial terapéutico, existen ciertos problemas relacionados con su seguridad y la posible aparición de efectos adversos (Carpena et al., 2020). Desde esta perspectiva, se han desarrollado nuevos enfoques para evitar estas complicaciones. Almeida-Muradian et al., (2020), considera el método trampa con el fin de recoger el veneno de la abeja, ya que induce la picadura de las abejas con el mínimo impacto en la salud de la colmena y de las abejas. A nivel investigativo, los estudios científicos buscan definir métodos extracción con rendimiento alto, en este caso (Pineda Guerra et al., 2016), reporta cuatro métodos para el análisis proteómico de la apitoxina y así determinar el método con el mejor resultado en cuanto a la concentración e integridad obtenida de las proteínas. Reportando que encontraron los mejores resultados en cuanto a concentración de proteínas mediante la resuspensión de

apitoxina en buffer de lisis, y precipitación con acetona y con el método de resuspensión de apitoxina en agua destilada y precipitación con acetona.

Si bien se sabe que la melitina y la fosfolipasa A2 (PLA2) son los compuestos más abundantes y estudiados del veneno de abeja (VB, sigla en inglés), la melitina es un pequeño péptido de 2,84 kDa, y representa aproximadamente el 50% del veneno en base seca. Sin embargo, compuestos alergénicos como la fosfolipasa A2 y la hialuronidasa, enzimas con un peso molecular de 19 y 38 kDa, respectivamente, impiden el uso directo de la apitoxina (E. Brandão et al., 2021). A partir de esto Brandão, et al. 2021, utilizó la separación de membranas como enfoque potencial para el fraccionamiento de sus componentes. Los resultados condujeron a un 70% de recuperación de melitina y a un 99% de rechazo de fosfolipasa A2. La limpieza de la membrana supuso una recuperación de alrededor del 92% del flujo y redujo el 94% de la resistencia al transporte. Los autores concluyeron “que los resultados muestran valores significativos en cuanto a la recuperación de la melitina y la eliminación de la fosfolipasa A2, indicando que la ultrafiltración de flujo cruzado de apitoxina es una opción atractiva para el aislamiento de la melitina, que tiene un alto valor en el mercado”. Finalmente se recopilaron las técnicas de análisis e instrumentación reportadas en los artículos estudiados, utilizadas para la identificación de algunos de estos compuestos presentes en el veneno de abeja *Apis mellifera* (véase tabla 2.).

Tabla 2. *Técnicas de análisis e instrumentales recopilados de algunos artículos estudiados.*

Técnica	Detecta
HPLC acoplada con un detector de matriz de diodos	Melitina y apamina
HPLC acoplada con un detector ultravioleta (UVD)	Melitina y apamina
HPLC acoplada a la espectrometría de masas en tándem.	Apamina, el péptido degranulador de mastocitos (MCD) y los oligosacáridos liberados por el PLA2

Electroforesis capilar (EC) utilizando un UVD	Fosfolipasa A2(PLA2) y melitina
Electroforesis capilar de alto rendimiento (HPCE)	Melitina, PLA2, MCD y apamina
La espectroscopia ultravioleta, la espectroscopia infrarroja, la espectrofotometría, la resonancia magnética nuclear protón (1HNMR), la calorimetría diferencial de barrido y la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente.	

5.6 QUÍMICA DEL CUERPO DE LAS ABEJAS

Los insectos son un recurso vivo utilizado para la nutrición humana, la medicina y la industria. Poseen varias fuentes potenciales de proteínas, péptidos y biopolímeros, como la seda, la quitina y el quitosano, se utilizan en la industria y para aplicaciones biotecnológicas (Mohan et al., 2020). La quitina, y en especial su variante desacetilada, el quitosano, tiene muchas aplicaciones, una de ellas, es su uso como material de soporte para fármacos o como floculante en el tratamiento de aguas residuales y sus propiedades fisicoquímicas dependen de su origen y del método de extracción (Casadidio et al., 2019). Actualmente, las principales fuentes comerciales de quitina y quitosano son los caparazones de crustáceos que se acumulan como un importante producto de desecho de la industria alimentaria marina. Los recursos de quitina existentes presentan algunos problemas naturales, como el suministro insuficiente, la disponibilidad estacional y la contaminación ambiental.

Por lo tanto, los insectos son considerados una fuente alternativa viable de quitina, pero no se han explotado en el pasado debido a su limitada disponibilidad. Sin embargo, hoy en día, para la producción sostenible, la cría de insectos se está desarrollando considerablemente (Hahn, Tafi, et al., 2020). La disponibilidad de grandes cantidades de biomasa de insectos y de productos secundarios ricos en quitina, como las exuvias y los exoesqueletos, ha ido en aumento. Donde la quitina se emplea como materia prima para toda la producción comercial de quitosano y glucosamina, con una producción anual estimada de 2.000 y 4.000 toneladas,

respectivamente (I. & Rabea, 2011). En los insectos su exoesqueleto es una cubierta externa normalmente dura/resistente producida por la actividad secretora de las células epidérmicas (Sultankulov et al., 2019) y está conformada de 20- 60% por dos principales sustancias: la quitina (polisacárido nitrogenado) de estructura parecida a la celulosa y proteínas, asociadas con la anterior en forma compleja. Está compuesto por el polisacárido quitina, un polímero formado por cadenas rectas y simples (no ramificadas) de N-acetil-2-Dglucosamina. La quitina, que se encuentra como polisacárido estructural en el esqueleto externo de los animales pertenecientes al filo Arthropoda (animales con exoesqueletos como: los insectos, artrópodos y de algunos otros animales) y como componente de las paredes celulares de ciertos hongos y algas, en abundancia (Nouri et al., 2016). Este polisacárido formado por N-acetilglucosamina, de la misma forma que la glucosa compone la celulosa, la gran diferencia está en el incremento de los enlaces de hidrógeno que aportan una mayor resistencia al material (Sultankulov et al., 2019; Tharanathan & Kittur, 2003). Gracias a sus buenas cualidades la quitina ha sido siempre un compuesto bastante estudiado y utilizado, además su obtención es fácil, ya que es el segundo polímero natural más abundante en la Tierra, tras la celulosa. Su estructura parecida a la celulosa y la proteína, la quitina al hidrolizarse puede convertirse en ácido acético y glucosamina, conocida como un polisacárido nitrogenado o un polímero de residuos de anhidro-acetil- glucosamina de alto poder molecular, que están unidos por enlaces β -glicosídicos. También lo producen otros organismos vivos de los reinos vegetal y animales inferiores, y sirve para muchas funciones en las que se requiere refuerzo y resistencia.

En general, los insectos están compuestos por un 30-45% de proteínas, un 25-40% de grasas y un 10-15% de quitina (Spranghers et al., 2017). Se ha reportado que el contenido de quitina y quitosano de especies de himenópteros como la abeja de la miel, *Apis mellifera*, oscilan entre el 2,5 y 40% (Narguess et al., 2019; Nemtsev et al., 2004). Mohan et al., (2020), en su artículo se centraron en la extracción de quitina y quitosano de insectos, especialmente de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera, Orthoptera, Hymenoptera, Diptera, Hemiptera, Dictyoptera y Odonata. En el cual, discute los métodos de extracción, caracterización, las propiedades físicas y actividades biológicas de la quitina y el quitosano de la abeja *Apis mellifera*. Además, se señala que la quitina y el quitosano de los insectos tienen numerosas

actividades biológicas y podrían utilizarse para aplicaciones alimentarias, biomédicas e industriales. Donde se manifiesta las superficies morfológicas de la abeja (*Apis mellifera*) caracterizadas por análisis microscopía electrónica de barrido (SEM); analizando se las alas (superficie rugosa regular), cabeza (muy fibrosa y raramente porosa), patas (muy fibrosas y raramente porosas), tórax (escamas superpuestas), abdomen (sólo poroso sin fibras). Por otro lado, Mohan et al., (2020) en la tabla 5 (análisis termogravimétrico (TGA) de la quitina y el quitosano de los insectos), cita a Kaya et al., (2015), donde se reporta las pérdidas de masa de las quitinas aisladas de cinco partes diferentes de las abejas melíferas (véase figura 21), que se registraron en dos fases; la primera fase se atribuirse a la evaporación del agua de las moléculas de quitina, mientras que la segunda pérdida de masa se debe a la descomposición de las moléculas de quitina. En consecuencia, se obtuvieron porcentajes de pérdidas de masa en la primera fase se registraron como el 6% para la quitina de la cabeza, el 4% para la quitina del tórax, el 3% para la quitina del abdomen, el 5% para la quitina de las patas y el 3% para la quitina de las alas y porcentajes de segunda pérdida de masa del 67% para la cabeza, 56% para el tórax, 68% para el abdomen y la pata, y 60% para la quitina del ala. Teniéndose en cuenta, las temperaturas máximas de degradación (DTG_{max}): de 308 °C para la cabeza, 360 °C para el tórax, 367 °C para el abdomen, 359 °C para las quitinas de las patas y las alas (Kaya et al., 2015; Mohan et al., 2020).

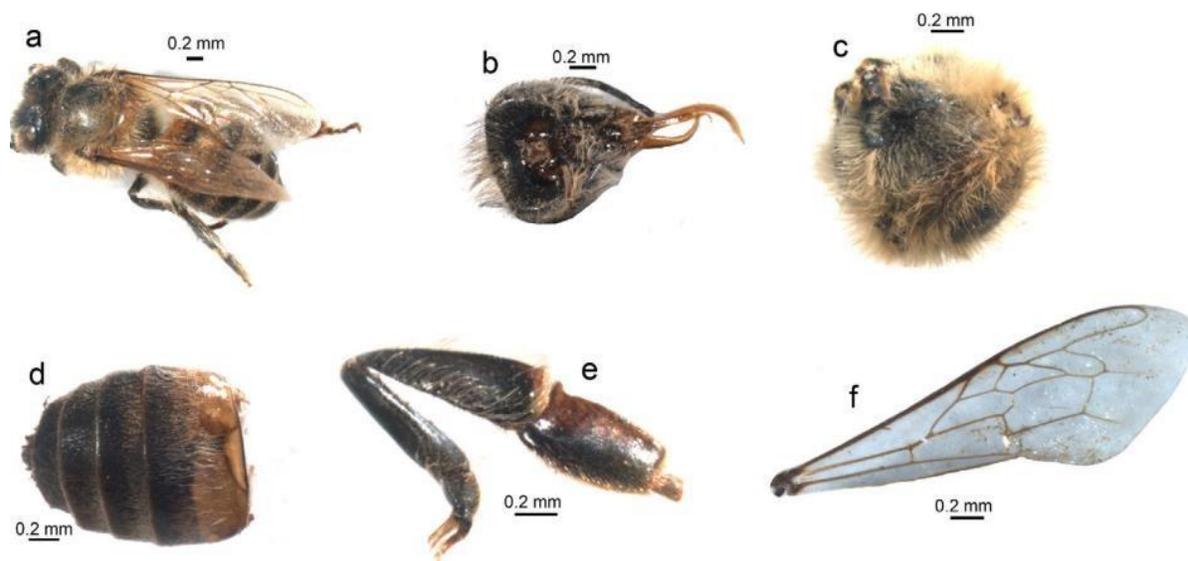


Figura 21. Abeja (*Apis mellifera*): (a) forma del cuerpo entero, (b) cabeza (c) tórax, (d) abdomen, (e) pata y (f) ala. (Kaya et al., 2015).

Hahn et al., 2020 en su revisión “Estado actual de la purificación de la quitina y la producción de quitosano a partir de insectos”, mostraron una visión general de los estudios recientemente publicados sobre la extracción de quitina de los insectos, su posterior conversión en quitosano y los principales métodos analíticos utilizados para caracterizar la quitina y el quitosano de los insectos. Los métodos analíticos utilizados para obtener las características fisicoquímicas, la información estructural y la composición química cumplen los requisitos cualitativos básicos, pero sin satisfacer la necesidad de una evaluación más cuantitativa, para biomasa (cuerpo completo) de la especie *Apis mellifera* (adulta), reporto un rendimiento de quitina (peso seco de quitina/peso seco de la biomasa) de 51.0–77.2 % y de 11,4- 36,8. También, se reportó el rendimiento de quitina para cinco partes del cuerpo de la abeja *Apis mellifera*: un 13,2 % para las patas 13,2%, 6,8% en el tórax, 8,9% en la cabeza, 8,6% en el abdomen, y en las alas de 7.6% (Hahn, Tafi, et al., 2020).

Por otro lado, el quitosano es mucho menos abundante en la naturaleza que la quitina y hasta ahora sólo se ha encontrado en las paredes celulares de ciertos hongos (I. & Rabea, 2011). Este se considera de la familia de copolímeros binarios lineales de (1 → 4) unidades enlazadas y 2-amino-2-deoxi-β-D-glucopiranosas (GlcN; unidad D). El término quitosano no se refiere a un compuesto definido de forma única; simplemente se refiere a polisacáridos con diferente composición de unidades A y D, blanco, duro, inelástico y nitrogenado. Se ha propuesto definir la quitina y el quitosano en función de su solubilidad en ácido acético acuoso, es decir, el quitosano como soluble y la quitina como insoluble (I. & Rabea, 2011; Triunfo et al., 2021). Además, la quitina es hidrofóbica, es insoluble en agua y en disolventes orgánicos comunes y resulta ser soluble sólo en hexafluoroisopropanol, hexafluoroacetona, cloroalcoholes cuando se conjugan con soluciones acuosas de ácido y dimetilacetamida en cloruro de litio al 5% (Rinaudo, 2006) y en líquidos iónicos (Singh, 2019). Los grupos amino del quitosano mejoran su solubilidad a valores de pH inferiores a 6,5, que es su valor de pKa. Por lo tanto, el problema de solubilidad de la quitina puede superarse desacetilándola en quitosano, que es así soluble a pH ácido (Triunfo et al., 2021).

Debido a que la quitina está asociada a otros componentes, requiere de tratamientos severos para eliminarlos del material quitinoso para preparar quitina y luego quitosano a gran escala.

Las proteínas se eliminan de las muestras molidas (biomasa, cascarones, entre otros) tratándolas con hidróxido de sodio o mediante la digestión con enzimas proteolíticas como la papaína, la pepsina, la tripsina y la pronasa (I. & Rabea, 2011). Los minerales como el carbonato de calcio y el fosfato de calcio se extraen con ácido clorhídrico. Los pigmentos como la melanina y los carotenoides se eliminan con permanganato potásico al 0,02% a 60°C o con peróxido de hidrógeno o hipoclorito de sodio. La conversión de la quitina en quitosano se consigue generalmente mediante la hidrólisis de los grupos acetamida de la quitina (Hahn, et al., 2020). Esto se lleva a cabo normalmente mediante un tratamiento severo de hidrólisis alcalina debido a la resistencia de dichos grupos impuesta por el trans-arreglo de los sustituyentes C2-C3 en el anillo de glucosa (Pandey et al., 2018).

Los tratamientos térmicos de la quitina bajo álcalis acuosos fuertes suelen ser necesarios para dar quitina parcialmente desacetilada (grado de acetilación, DA < 30%), considerada como quitosano. Por lo general, este proceso se logra mediante el tratamiento con una solución concentrada de hidróxido de sodio o de potasio (40-50%) a 100°C o más para eliminar algunos o todos los grupos acetilo del polímero (I. & Rabea, 2011). Este proceso, denominado desacetilación, libera grupos aminos (NH₂) y confiere al quitosano una característica catiónica. Esto es especialmente interesante en un entorno ácido, donde la mayoría de los polisacáridos suelen ser neutros o estar cargados negativamente. Se lleva a cabo a temperatura ambiente (desacetilación homogénea) o a temperatura elevada (desacetilación heterogénea), dependiendo de la naturaleza del producto final deseado. Sin embargo, se prefiere este último para fines industriales. En algunos casos, la desacetilación se lleva a cabo en presencia de tiofenol como secuestrador de oxígeno o bajo atmósfera de N₂ para evitar la degradación de la cadena que se produce invariablemente debido a reacción de pelado en condiciones alcalinas fuertes (I. & Rabea, 2011). Otro método empleado para obtener quitosano de mayor pureza se logra al disolver la muestra en un ácido (por ejemplo, ácido acético) y filtrar para eliminar los materiales extraños. El producto clarificado es entonces liofilizado para dar una sal ácida de quitosonio soluble en agua o precipitado con NaOH, lavado y secado para dar un producto en forma de amina libre (Casadidio et al., 2019).

Nemtsev et al., (2004), aisló la quitina y quitosano a partir de abejas muertas (biomasa), empleando desproteínización a la biomasa, además desarrolló la decoloración del complejo quitina-melanina, la desacetilación y la hidrólisis enzimática del quitosano. reportando una humedad del 8-10%, las abejas contenían un 35- 45% de proteína, 23-32% de quitina, 30-40% de melanina y 2-3% de compuestos minerales (Nemtsev et al., 2004). Tsaneva et al., 2018, plantearon en su artículo, el aislamiento y la caracterización de abejas *Apis mellifera* (biomasa). En el que señala porcentajes de propiedades fisicoquímicas en la muestra tales como, las proteínas con un 56,2%, los hidratos de carbono al 11,3%, los componentes lipídicos en un 10,4%, 0,5% de minerales e identificaron trece ácidos grasos principales: el oleico (56,0%), el palmítico (22,6%) y el esteárico (11,6%). También se determinó la composición de esteroides, siendo el campesterol el principal componente con un porcentaje de 50,2%. Cabe recalcar que se trabajó con un rendimiento del 8,8% de la quitina, y para la caracterización se utilizó espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (Tsaneva et al., 2018).

Silva et al., (2015), en su trabajo “*Actividad antifúngica del quitosano microbiológico y tratamiento de recubrimiento en tomate cherry (Solanum lycopersicum var. Cerasiforme) para protección poscosecha*”, menciona que el quitosano se encuentra naturalmente en la pared celular de los hongos (*Zygomycetes*) y se puede obtener de la quitina por desacetilación para formar una mayor proporción de unidades de cadena de polímero β 1,4-2-amino-2-desoxi-D-glucosa, y un menor número de unidades de β 1,4-2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa. En este estudio los autores evaluaron el efecto de la actividad microbiana del quitosano (Ch) y recubrimientos bioactivos en tomate cherry para proteger contra la infección por *Botrytis cinerea*. El quitosano obtenido de *Rhizopus arrhizus* mostró un grado de desacetilación (DD) del 68% y pesos moleculares de $1,40 \times 10^4$ g / mol. Los estudios de viabilidad de las esporas con el patógeno *B. cinerea* por microscopía óptica mostraron que el 70% de los tubos germinativos se formaron en 16 horas de incubación. Se realizaron investigaciones con quitosano (Ch) evaluando su concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima de fungicida (MFC) de 100 μ g / ml contra *B. cinerea*. Los recubrimientos bioactivos en tomate cherry con quitosano (Ch) a una concentración de 100 μ g / mL mostraron una mayor protección contra la infección por *B. cinerea*. Obteniendo

resultados prometedores que muestran el potencial del quitosano microbiológico (Ch) para el patógeno *B. cinerea*, lo que sugiere que es una protección importante para los cultivos (A. Silva et al., 2015).

A lo largo del estadio larvario, el cuerpo graso de los insectos holometábolos sintetiza y secreta una gran cantidad de proteínas. Estas proteínas de almacenamiento larvario, que aumentan considerablemente en la hemolinfa hasta el último estadio larvario, se han identificado principalmente hexamerinas, ya que estas generalmente están compuestas por seis subunidades polipeptídicas (Juliana Ramos Martins & Gentile, 2016). Utilizando un anticuerpo específico en experimentos de inmunolocalización y microscopía confocal de barrido láser, se investigó previamente la localización subcelular de HEX 110 en el cuerpo graso de la abeja melífera durante el ápice metamórfico, es decir, la transición larval-pupal. La HEX 110 se localizó en el citoplasma y el núcleo de las células del cuerpo graso (Juliana Ramos Martins & Bitondi, 2012). Apoyando los hallazgos de Martins & Bitondi, 2012, sobre la localización nuclear de la HEX 110, Begna et al. 2012 detectaron la HEX 110 en el proteoma nuclear de las larvas de abeja obrera y reina en el cuarto y quinto instar, utilizando el enriquecimiento de proteínas nucleares, la electroforesis bidimensional y la espectrometría de masas (Begna et al., 2012). Además, para combatir la opinión de que las hexamerinas son exclusivamente proteínas de almacenamiento de las larvas, también se detectaron transcritos del HEX 110 en el cuerpo graso de las abejas obreras adultas, en las gónadas en desarrollo de las obreras y los zánganos, y en los ovarios de las reinas que ponen huevos, como se demostró mediante RT-PCR (Juliana R Martins et al., 2010). Estos hallazgos llevaron a (Juliana Ramos Martins & Gentile, 2016) estudiar estas proteínas con la expectativa de descubrir funciones adicionales en el desarrollo de los insectos. Mostrando que una Hexamerina de abeja, HEX 110, se localiza en el citoplasma y el núcleo de las células ováricas. Además, en el núcleo de las células somáticas y de la línea germinal, la HEX 110 se localiza con una proteína nucleolar, la fibrilarina, lo que sugiere una función estructural o incluso reguladora en el nucléolo. La RNasa A (RNasa pancreática bovina) provocó la pérdida de señales de HEX 110 en los ovarios, lo que indica que la localización subcelular depende del ARN. Esto se vio reforzado al incubar los ovarios con pironina Y, un colorante específico del ARN. En conjunto, la co-localización con fibrilarina y pironina Y, y la

sensibilidad a la RNasa, ponen de relieve las funciones sin precedentes de HEX110 en el nucléolo, la estructura nuclear que alberga el grupo de genes implicado en la producción de ARN ribosómico. Sin embargo, los patrones similares de distribución de los focos de HEX 110 en los ovarios activos e inactivos de reinas y obreras excluyen su asociación con el estado funcional de estos órganos.

Hay que tener en cuenta que las diferencias específicas de casta relacionadas con la estructura y función del ovario son cuestiones centrales en el tema de la evolución de la sociabilidad de los insectos (Hoover et al., 2003). Las obreras de las abejas melíferas presentan una marcada reducción del número de ovariolas, las unidades estructurales de los ovarios, en comparación con las reinas. En condiciones regulares, es decir, en colonias encabezadas por una reina, el crecimiento de los ovocitos está en general inhibido en los ovariolos restantes de las obreras. Sólo excepcionalmente, en caso de pérdida de la reina, las obreras se liberan del efecto inhibitorio de la feromona de la reina (Hoover et al., 2003).

6. CONCLUSIONES

Se denota la falta de muestreo para determinar la caracterización, identificación y más aún la composición química de especies de abejas regionales, en el país y varios países del mundo, ya que los estudios revelan que la mayoría de los reportes morfológicos y de especies se concentran en Estados Unidos y Brasil.

En las propiedades fisicoquímicas de la miel, polen y propóleos que son los productos mayormente comercializados para *Apis mellifera* es imprescindible la necesidad de unificar protocolos de determinación de las propiedades que faciliten estudios de comparación más allá de las normas o un artículo base. De los datos que se lograron comparar se debe profundizar en estudios en las diferentes regiones del mundo, ya que Brasil es el país que más aporta estudios en esta área.

En los estudios de correlación se logra evidenciar que los vectores escogidos no tienen una buena reducción lo cual se traduce en una baja relación entre ellos, eso se puede explicar debido a la amplia diversidad de flora en las que tienen incidencia las abejas.

La extracción del quitosano se ha enfocado en *Apis mellifera* bajo condiciones de extracción básica es más favorable, se ha identificado diversas potencialidades como su capacidad antibacteriana y bactericida, se requieren estudio más direccionados, que midan el impacto en la recolección de la biomasa, la incidencia de los lugares de recolección de la biomasa, lo cual podría ser útil para conocer también los cambios a los que se someten las abejas por la incidencia ambiental.

7. RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones referentes al tema, a la hora de desarrollar un método estándar de determinación de las propiedades fisicoquímicas, se recomienda tener en cuenta los parámetros propuestos entre este trabajo.

Se requiere la estandarización de los protocolos de muestreo para garantizar la reproducibilidad de los análisis.

Los resultados de los diferentes parámetros fisicoquímicos evidencian la importancia de ajustar la normativa dependiendo de la vegetación del lugar, por ello se sugiere realizar estudios en regiones donde se carece de ellos.

Teniendo en cuenta que de la vegetación dependen los valores para las diferentes propiedades fisicoquímicas, se sugiere realizar análisis palinológicos exhaustivos.

En cuanto a la biomasa que podría utilizarse para preparar derivados con diferentes propiedades, se requieren estudios de afectación de la recolección de esta biomasa.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adaškevičiūtė, V., Kaškonienė, V., Kaškonas, P., Barčauskaitė, K., & Maruška, A. (2019). Comparison of physicochemical properties of bee pollen with other bee products. *Biomolecules*, 9(12), 1–22. <https://doi.org/10.3390/biom9120819>
- Al-Ghamdi, A., Mohammed, S. E. A., Ansari, M. J., & Adgaba, N. (2019). Comparison of physicochemical properties and effects of heating regimes on stored *Apis mellifera* and *Apis florea* honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 845–848. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.06.002>
- Alexandra, D., Sánchez, T., Hernando, J., & Mendoza, Q. (2019). *Estudio bibliométrico de las propiedades químicas y compuestos derivados de la biomasa de Apis mellifera* Codirector de investigación *En la actualidad se está prestando mucha atención a los insectos como nueva fuente de moléculas valiosas y útiles , como l.* 1–28.
- Aličić, D., Flanjak, I., Ačkar, Đ., Jašić, M., Babić, J., & Šubarić, D. (2020). Physicochemical properties and antioxidant capacity of bee pollen collected in tuzla canton (B&H). *Journal of Central European Agriculture*, 21(1), 42–50. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/21.1.2533>
- Almeida-Muradian, L. B. de, Monika Barth, O., Dietemann, V., Eyer, M., Freitas, A. da S. de, Martel, A.-C., Marcazzan, G. L., Marchese, C. M., Mucignat-Caretta, C., Pascual-Maté, A., Reybroeck, W., Sancho, M. T., & Gasparotto Sattler, J. A. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* honey research. *Journal of Apicultural Research*, 59(3), 1–62. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1738135>
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Brenciani, A., Mazzoni, L., Gasparrini, M., González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., Morroni, G., Simoni, S., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Giovanetti, E., & Battino, M. (2018). *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. *Lwt*, 87, 272–279. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.079>
- Asmae, E. G., Nawal, E. M., Bakour, M., & Lyoussi, B. (2021). Moroccan Monofloral Bee Pollen: Botanical Origin, Physicochemical Characterization, and Antioxidant Activities. *Journal of Food Quality*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8877266>
- Ávila, S., Beux, M. R., Ribani, R. H., & Zambiazzi, R. C. (2018). Stingless bee honey: Quality

- parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies. *Trends in Food Science and Technology*, 81(March), 37–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.002>
- Ayala, G. M. R. (2012). *Implementación, mejoramiento y desarrollo en la parroquia de Puellaró , provincia de pichincha* [UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR ESCUELA DE CONTABILIDAD Y AUDITORIA]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1557/1/T-UCE-0003-254.pdf>
- Azeredo, L. D. C., Azeredo, M. A. A., De Souza, S. R., & Dutra, V. M. L. (2003). Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80(2), 249–254. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00261-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00261-3)
- Bandeira, A. M. P., Gomes, V. V., Vasconcelos, A. A., Taube, P. S., de Barros, E. C., Costa, S. C., Lima, A. K. O., Boligon, A. A., Waczuk, E. P., & Rocha, J. B. T. (2018). Antioxidant activity and physicochemical characteristics of honeys from the eastern Amazon region, Brazil. *Acta Amazonica*, 48(2), 158–167. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201702721>
- Begna, D., Han, B., Feng, M., Fang, Y., & Li, J. (2012). Differential Expressions of Nuclear Proteomes between Honeybee (*Apis mellifera* L.) Queen and Worker Larvae: A Deep Insight into Caste Pathway Decisions. *Journal of Proteome Research*, 11(2), 1317–1329. <https://doi.org/10.1021/pr200974a>
- Biluca, F. C., Braghini, F., Valdemiro, L., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 50, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.05.007>
- Bleha, R., Shevtsova, T., Kružík, V., Brindza, J., & Sinica, A. (2019). Morphology, physicochemical properties and antioxidant capacity of bee pollens. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(1), 1–8. <https://doi.org/10.17221/139/2018-CJFS>
- Braga, D. C., Liberato, M. da C. T. C., Lima, V. L. F., & de ARAÚJO NETO, J. A. M. (2020). Analytical study of the physicochemical characteristics from melipona subnitida d. Honey in adequation to brazilian law. *Food Science and Technology*, 40(June), 217–221. <https://doi.org/10.1590/fst.08919>

- Braghini, F., Biluca, F. C., Ottequir, F., Gonzaga, L. V., da Silva, M., Vitali, L., Micke, G. A., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2020). Effect of different storage conditions on physicochemical and bioactive characteristics of thermally processed stingless bee honeys. *Lwt*, *131*(April), 109724. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109724>
- Braghini, F., Biluca, F. C., Schulz, M., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2021). Stingless bee honey: a precious but unregulated product - reality and expectations. *Food Reviews International*, *00*(00), 1–30. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1884875>
- Brandão, E. C., Silva, R. I., Brito, J. C., & Figueiredo, K. C. (2021). Melittin recovery with efficient phospholipase A2 removal of apitoxin from cross-flow ultrafiltration process. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *96*(3), 801–808. <https://doi.org/10.1002/jctb.6593>
- Brandão, E., da Silva, R. I., Brito, J. C. M., & Figueiredo, K. C. S. (2021). Melittin recovery with efficient phospholipase A2 removal of apitoxin from cross-flow ultrafiltration process. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *96*(3), 801–808. <https://doi.org/10.1002/jctb.6593>
- Brasil. (2001). *Instrução Normativa n.3 de 2001: Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Pólen Apícola*. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/52/polen.htm>.
- Carpenter, M., Nuñez-Estevez, B., Soria-Lopez, A., & Simal-Gandara, J. (2020). Bee Venom: An Updating Review of Its Bioactive Molecules and Its Health Applications. *Nutrients*, *12*(11), 3360. <https://doi.org/10.3390/nu12113360>
- Carpes, S. T., Cabral, I. S. R., Luz, C. F. P., Capeletti, J. P., Alencar, S. M., & Masson, M. L. (2009). Palynological and physicochemical characterization of *Apis mellifera* L. bee pollen in the Southern region of Brazil. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.7, 7(3 y 4), 667–673.
- Casadidio, C., Peregrina, D. V., Gigliobianco, M. R., Deng, S., Censi, R., & Di Martino, P. (2019). Chitin and chitosans: Characteristics, eco-friendly processes, and applications in cosmetic science. *Marine Drugs*, *17*(6). <https://doi.org/10.3390/md17060369>
- Castro, E., Quicazán, M., Mojica, A., & Zuluaga-Domínguez, C. (2021). Bioactive and physicochemical profile of honey collected from Colombian organic and conventional coffee growing areas. *Journal of Apicultural Research*, *0*(0), 1–12.

<https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1889221>

- Cepero, A. R. (2016). *Monitorización de los principales patógenos de las abejas para la detección de alertas y riesgos sanitarios* [UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID]. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/38839/1/T37640.pdf>
- Chuttong, B., Chanbang, Y., Sringarm, K., & Burgett, M. (2016). Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). *Food Chemistry*, *192*, 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.089>
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodríguez, P., Manna, P. P., Zhang, J., Lamas, L. B., Flórez, S. M., Toyos, P. A., Quiles, J. L., Giampieri, F., & Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, *23*(9), 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>
- Ciucure, C. T., & Geană, E. I. (2019). Phenolic compounds profile and biochemical properties of honeys in relationship to the honey floral sources. *Phytochemical Analysis*, *30*(4), 481–492. <https://doi.org/10.1002/pca.2831>
- Codex Alimentarius. (2001a). Codex standard for honey. *Rome, IT: FAO*.
- Codex Alimentarius. (2001b). Revised codex standard for honey. Standards and Standard Methods 11. *Food and Agriculture Organization – FAO, & World Health Organization – WHO. Rome: FAO*.
- Codex Alimentarius Commission. (1987). Revised Codex Standard for Honey Codex Stan 12-1981. *Rev, 1*, 1–7.
- Codling, G., Al Naggar, Y., Giesy, J. P., & Robertson, A. J. (2016). Concentrations of neonicotinoid insecticides in honey, pollen and honey bees (*Apis mellifera* L.) in central Saskatchewan, Canada. *Chemosphere*, *144*, 2321–2328. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.135>
- Concepción, M. (2006). Norma técnica Hondureña N-CIN 67.01.121:05. *COMISIÓN INTERINSTITUCIONAL NORMALIZACIÓN*.
- Coronado, J. F., Ormeño, L., Barrera, M. L., & Castillo, D. T. (2019). Caracteres fisicoquímicos en mieles del ecosistema del Bajo Mayo, región San Martín, Perú. *Arnaldoa*, *26*(2), 607–622. <http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/view/1200/1054>
- da Silva, A. K. S., dos Santos Júnior, J. F., Sato, M. O., Finco, F. D. B. A., Soares, I. M.,

- Barbosa, R. dos S., Alvim, T. D. C., Ascêncio, S. D., & Mariano, S. M. B. (2016). Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and apis from two regions of Tocantins, Brazil. *Acta Amazonica*, 46(1), 61–68. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201501045>
- da Silva, F. C., Favaro-Trindade, C. S., de Alencar, S. M., Thomazini, M., & Balieiro, J. C. C. (2011). Physicochemical properties, antioxidant activity and stability of spray-dried propolis. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(2), 94–100. <https://doi.org/10.3896/ibra.4.03.2.05>
- de Arruda, V. A. S., Pereira, A. A. S., de Freitas, A. S., Barth, O. M., & de Almeida-Muradian, L. B. (2013). Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(2), 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.11.004>
- de Arruda, V. A. S., Viera dos Santos, A., Figueiredo Sampaio, D., da Silva Araújo, E., de Castro Peixoto, A. L., Estevinho, M. L. F., & Bicudo de Almeida-Muradian, L. (2017). Calidad microbiológica y caracterización fisicoquímica del polen de abeja. *Journal of Apicultural Research*, 56(3), 231–238. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1307715>
- de Lima, W. T., Vilvert, J. C., Carvalho, A. T., de Lima Leite, R. H., Dos Santos, F. K. G., & Aroucha, E. M. M. (2020). Quality of Apis mellifera honey after being used in the feeding of jandaira stingless bees (Melipona subnitida). *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 43(1), 1–10. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v43i1.50383>
- De Souza, P. M., & Ruvolo-takasusuki, M. C. C. (2019). *Apitoxina : Utilização do veneno da abelha Apis mellifera Apitoxin : Use of Apis mellifera bee poison Apitoxina : Uso del veneno de la abeja Apis mellifera*. 1–7.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J.-M. (2007). The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52(1), 81–106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- dos Santos, M. B. S., Quinhone Júnior, A., Delamuta, B. H., Nakamura, J. M., Baudraz, M. C., Reis, M. O., Kato, T., Pedrão, M. R., Dias, L. F., dos Santos, D. T. R., Kitzberger, C. S. G., & Bianchini, F. P. (2020). Indication of the geographical origin of honey using its physicochemical characteristics and multivariate analysis. *Journal of Food Science*

- and Technology*, 57(5), 1896–1903. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04225-3>
- Duarte, A. W. F., Vasconcelos, M. R. D. S., Oda-Souza, M., de OLIVEIRA, F. F., & López, A. M. Q. (2018). Honey and bee pollen produced by meliponini (Apidae) in alagoas, brazil: Multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. *Food Science and Technology*, 38(3), 493–503. <https://doi.org/10.1590/fst.09317>
- Echeverrigaray, S., Scariot, F. J., Foresti, L., Schwarz, L. V., Rocha, R. K. M., da Silva, G. P., Moreira, J. P., & Delamare, A. P. L. (2021). Yeast biodiversity in honey produced by stingless bees raised in the highlands of southern Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 347(January). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109200>
- Fonte, L., Díaz, M., & Blanco, A. G. D. (2018). Caracterización físico-química y organoléptica de miel de *Melipona beecheii* obtenida en sistemas agroforestales. *Pastos y Forrajes*, 36(3), 345–349.
- Fuenmayor B, C., Zuluaga D, C., Díaz M, C., Quicazán de C, M., Cosio, M., & Mannino, S. (2014). Evaluation of the physicochemical and functional properties of Colombian bee pollen. *Revista MVZ Córdoba*, 19(1), 4003–4014. <https://doi.org/10.21897/rmvz.120>
- Gela, A., Hora, Z. A., Kebebe, D., & Gebresilassie, A. (2021). Physico-chemical characteristics of honey produced by stingless bees (*Meliponula beccarii*) from West Showa zone of Oromia Region, Ethiopia. *Heliyon*, 7(1), e05875. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05875>
- Ghosh, S., & Jung, C. (2020). Changes in nutritional composition from bee pollen to pollen patty used in bumblebee rearing. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(3), 701–708. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.04.008>
- Ghramh, H. A., Khan, K. A., Ahmed, Z., & Ansari, M. J. (2020). Quality evaluation of Saudi honey harvested from the Asir province by using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(8), 2097–2105. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.04.009>
- Gonçalves, P. J. S., Estevinho, L. M., Pereira, A. P., Sousa, J. M. C., & Anjos, O. (2017). Computational intelligence applied to discriminate bee pollen quality and botanical origin. *Food Chemistry*, 267, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.014>
- González, V. H., Ospina, M., & Bennett, D. j. (2005). Abejas Altoandinas de Colombia. Guía de campo. In *Instituto de investigación de recursos biológicos Alexander von Humboldt*

(p. 80). Instituto de Investigacion De Recursos Biologicos Alexander Von Humboldt.
<http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/31359/74.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Gregorio, A., GALHARDO, D., SEREIA, M. J., WIELEWSKI, P., GAVAZZONI, L., SANTOS, I. F. dos, SANGALETI, G. S. S. G. M. G., CARDOSO, E. C., BORTOTI, T. L., ZANATTA, L. A., GONÇALVES, L. M., SUZIN, M. A., SANTOS, A. A., & TOLEDO, V. de A. A. de. (2020). Antimicrobial activity, physical-chemical and activity antioxidant of honey samples of *Apis mellifera* from different regions of Paraná, Southern Brazil. *Food Science and Technology*, *2061*, 1–8. <https://doi.org/10.1590/fst.32820>
- Guler, A., Kocaokutgen, H., Garipoglu, A. V., Onder, H., Ekinci, D., & Biyik, S. (2014). Detection of adulterated honey produced by honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies fed with different levels of commercial industrial sugar (C3 and C4 plants) syrups by the carbon isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, *155*, 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.033>
- Guzmán-Novoa, E., Benítez, A. C., Espinosa Montaña, L. G., & Novoa, G. G. (2011). Colonización, impacto y control de las abejas melíferas Africanizadas en México. *Veterinaria Mexico*, *42*(2), 149–178. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922011000200005&lng=es&tlng=es.
- Hahn, T., Roth, A., Ji, R., Schmitt, E., & Zibek, S. (2020). Chitosan production with larval exoskeletons derived from the insect protein production. *Journal of Biotechnology*, *310*, 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.12.015>
- Hahn, T., Tafi, E., Paul, A., Salvia, R., Falabella, P., & Zibek, S. (2020). Current state of chitin purification and chitosan production from insects. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *95*(11), 2775–2795. <https://doi.org/10.1002/jctb.6533>
- Hoover, S. E. R., Keeling, C. I., Winston, M. L., & Slessor, K. N. (2003). The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Naturwissenschaften*, *90*(10), 477–480. <https://doi.org/10.1007/s00114-003-0462-z>
- Hurtado Lozano, J., & Rugel García, K. (2019). *Formulación Y Evaluación De Una Crema Humectante Que Contiene Aceite De Oliva Virgen Extra , Jalea Real Y Cera De Abejas*.

- I., M. E., & Rabea, E. I. (2011). A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2011, 1–29. <https://doi.org/10.1155/2011/460381>
- Instituto Argentino de Normalización. (2004). Norma IRAM-INTA 15935-1 Scheme 1. In *Subcomité de productos agroalimentarios del NOA*. Buenos Aires, Argentina.
- Isik, A., Ozdemir, M., & Doymaz, I. (2019). Effect of hot air drying on quality characteristics and physicochemical properties of bee pollen. *Food Science and Technology*, 39(1), 224–231. <https://doi.org/10.1590/fst.02818>
- Ismail, N. F., Maulidiani, M., Omar, S., Zulkifli, M. F., Mohd Radzi, M. N. F., Ismail, N., Jusoh, A. Z., Roowi, S., Yew, W. M., Rudyanto, R., & Ismail, W. I. W. (2021). Classification of stingless bee honey based on species, dehumidification process and geographical origins using physicochemical and ATR-FTIR chemometric approach. *Journal of Food Composition and Analysis*, 104(December 2020), 104126. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104126>
- Juliano, C., & Magrini, G. A. (2019). The anti-aging potential of extracts from *Chaenomeles sinensis*. *Cosmetics*, 6(1), 1–8. <https://doi.org/10.3390/cosmetics6010001>
- Kadri, S. M., Ribolla, P. E. M., Alonso, D. P., de Jong, D., & Orsi, R. de O. (2022). Supering *apis mellifera* (Hymenoptera, apidae) beehives impairs honey production and biomarker genes. *Scientia Agricola*, 79(2). <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2020-0283>
- Karabagias, I. K., Karabournioti, S., Karabagias, V. K., & Badeka, A. V. (2020). Palynological, physico-chemical and bioactivity parameters determination, of a less common Greek honeydew honey: “dryomelo.” *Food Control*, 109(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106940>
- Kavanagh, S., Gunnoo, J., Marques Passos, T., Stout, J. C., & White, B. (2019). Physicochemical properties and phenolic content of honey from different floral origins and from rural versus urban landscapes. *Food Chemistry*, 272(January 2018), 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.035>
- Kaya, M., Mujtaba, M., Bulut, E., Akyuz, B., Zelencova, L., & Sofi, K. (2015). Fluctuation in physicochemical properties of chitins extracted from different body parts of

- honeybee. *Carbohydrate Polymers*, 132, 9–16.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.008>
- Kim, H., Park, S.-Y., & Lee, G. (2019). Potential Therapeutic Applications of Bee Venom on Skin Disease and Its Mechanisms: A Literature Review. *Toxins*, 11(7), 374.
<https://doi.org/10.3390/toxins11070374>
- Kostić, A. T., Barać, M. B., Stanojević, S. P., Milojković-Opsenica, D. M., Tešić, Ž. L., Šikoparija, B., Radišić, P., Prentović, M., & Pešić, M. B. (2015). Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *Lwt*, 62(1), 301–309. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.031>
- Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., Balwierz, R., & Stojko, J. (2020). Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules*, 25(3), 556.
<https://doi.org/10.3390/molecules25030556>
- Kurek-Górecka, A., Komosinska-Vassev, K., Rzepecka-Stojko, A., & Olczyk, P. (2020). Bee Venom in Wound Healing. *Molecules*, 26(1), 148.
<https://doi.org/10.3390/molecules26010148>
- Lazo, J. M. L. (2019). Biología, Toxinología Y Terapéutica De Especies Venenosas De Interés Veterinaria En Nicaragua [UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA]. In *FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL- Universidad Nacional Agraria*.
<https://cenida.una.edu.ni/Monografias/tnl60l318.pdf>
- Leandro, L. F., Mendes, C. A., Casemiro, L. A., Vinholis, A. H. C., Cunha, W. R., Almeida, R. de, & Martins, C. H. G. (2015). Antimicrobial activity of apitoxin, melittin and phospholipase A2 of honey bee (*Apis mellifera*) venom against oral pathogens. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 87(1), 147–155. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520130511>
- Li, S., Shan, Y., Zhu, X., Zhang, X., & Ling, G. (2012). Detection of honey adulteration by high fructose corn syrup and maltose syrup using Raman spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.07.006>
- Machado, A. A. D.-M., Almeida-Muradian, L. B. de, Sancho, M. T., & Pascual-Maté, A. (2018). Composición y propiedades de la miel de *Apis mellifera*: una revisión. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5–37. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444>
- Machado, A. A., Estevinho, L. M., Moreira, M. M., Delerue-Matos, C., Freitas, A. da S. de,

- Barth, O. M., & Almeida-Muradian, L. B. de. (2018a). A multivariate approach based on physicochemical parameters and biological potential for the botanical and geographical discrimination of Brazilian bee pollen. *Food Bioscience*, *25*, 91–110. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.08.001>
- Machado, A. A., Estevinho, L. M., Moreira, M. M., Delerue-Matos, C., Freitas, A. da S. de, Barth, O. M., & Almeida-Muradian, L. B. de. (2018b). Phenolic profile by HPLC-MS, biological potential, and nutritional value of a promising food: Monofloral bee pollen. *Journal of Food Biochemistry*, *42*(5), e12536. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12536>
- Marcolin, L. C., Lima, L. R., de Oliveira Arias, J. L., Berrio, A. C. B., Kupski, L., Barbosa, S. C., & Primel, E. G. (2021). Meliponinae and *Apis mellifera* honey in southern Brazil: Physicochemical characterization and determination of pesticides. *Food Chemistry*, *363*(January), 130175. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130175>
- Martínez, R. A., Schvezov, N., Brumovsky, L. A., & Román, A. B. P. (2018). Influence of temperature and packaging type on quality parameters and antimicrobial properties during Yateí honey storage. *Food Science and Technology*, *38*, 196–202. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.17717>
- Martins, Juliana R, Nunes, F. M., Cristino, A. S., Simões, Z. L., & Bitondi, M. M. (2010). The four hexamerin genes in the honey bee: structure, molecular evolution and function deduced from expression patterns in queens, workers and drones. *BMC Molecular Biology*, *11*(1), 23. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-11-23>
- Martins, Juliana Ramos, & Bitondi, M. M. G. (2012). Nuclear Immunolocalization of Hexamerins in the Fat Body of Metamorphosing Honey Bees. *Insects*, *3*(4), 1039–1055. <https://doi.org/10.3390/insects3041039>
- Martins, Juliana Ramos, & Gentile, M. M. B. (2016). The HEX 110 Hexamerin Is a Cytoplasmic and Nucleolar Protein in the Ovaries of *Apis mellifera*. *PLOS ONE*, *11*(3), e0151035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151035>
- Martins, M. C. T., Morgano, M. A., Vicente, E., Baggio, S. R., & Rodriguez-Amaya, D. B. (2011). Physicochemical composition of bee pollen from eleven Brazilian states. *Journal of Apicultural Science*, *55*(2), 107–116.
- Menezes, B. do A. D., Mattietto, R. de A., & Lourenço, L. de F. H. (2018). Avaliação Da Qualidade De Méis De Abelhas Africanizadas E Sem Ferrão Nativas Do Nordeste Do

- Estado Do Pará. *Ciência Animal Brasileira*, 19(0), 1–13. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-46578>
- Mexico. (2008). *NMX-FF-094-SCFI-2008 PRODUCTOS: Productos Alimenticios no Industrializados para Consumo Humano - Polen -(Pollinis). Especificaciones*. 16. https://caisatech.net/uploads/XXI_2_MXD_C107_NMX-FF-094-SCFI-2008_R0_7AGO2008.pdf
- Ministerio de Agricultura de Brasil-Apacame. (1999). Reglamento técnico para fijar la identidad y calidad de propóleos. *Revista Mensagem Doce* 52.
- Ministerio de Agricultura de Cuba. (1994). *Norma Ramal Cubana: Apicultura NRAG-1135-94 (Propóleos Materia Prima) Especificaciones*. La Habana, Cuba.
- Modro, Anna F.H., Silva, I. C., Luz, C. F. P., & Message, D. (2009). Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 81(2), 281–285. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652009000200014>
- Modro, Anna Frida Hatsue, Maia, E., Silva, I. C. da, Luz, C. F. P. da, & Message, D. (2009). Subamostragem de pólen apícola para análise melissopalínológica. *Hoehnea*, 36(4), 709–714. <https://doi.org/10.1590/s2236-89062009000400009>
- Modro, Anna Frida Hatsue, Message, D., Luz, C. F. P. da, & Meira Neto, J. A. A. (2007). Composição e qualidade de pólen apícola coletado em Minas Gerais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(8), 1057–1065. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2007000800001>
- Moguel, Y. B. O., Echazarreta, G., & Mora, E. R. (2005). Physicochemical quality of honey from honeybees *Apis mellifera* produced in the State of Yucatan during different stages of the production process and blossoms. *Técnica Pecuaria En México*, 43(3), 323–334. <http://www.redalyc.org/pdf/613/61343303.pdf>
- Mohan, K., Ganesan, A. R., Muralisankar, T., Jayakumar, R., Sathishkumar, P., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., & Revathi, N. (2020). Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 17–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.016>
- Mokaya, H. O., Njeru, L. K., & Lattorff, H. M. G. (2020). African honeybee royal jelly: Phytochemical contents, free radical scavenging activity, and physicochemical

- properties. *Food Bioscience*, 37(March), 100733. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100733>
- Narguess, M., Elwahy, A. H. M., Salah, T. A., El Sherif, Y., & El-Samie, E. A. (2019). Enhanced antibacterial activity of Egyptian local insects' chitosan-based nanoparticles loaded with ciprofloxacin-HCl. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 262–272. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.204>
- Nascimento, K. S. do, Gasparotto Sattler, J. A., Lauer Macedo, L. F., Serna González, C. V., Pereira de Melo, I. L., da Silva Araújo, E., Granato, D., Sattler, A., & de Almeida-Muradian, L. B. (2018). Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. *LWT - Food Science and Technology*, 91(January), 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.016>
- Nates-Parra, G. (2011). Genética del comportamiento: Abejas como modelo. *Acta Biologica Colombiana*, 16(3), 213–229.
- Nates-parra, G., Montoya, M. P., Chamorro, F. J., Ramírez, N., Giraldo, C., & Obregón, D. (2013). Origen geográfico y botánico de mieles de *Apis mellifera* (Apidae) en cuatro departamentos de Colombia. *Laboratorio*, 421(3), 427–437. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/38290/42405>
- Nates-Parra, G., & Rosso-Londoño, J. M. (2013). DIVERSIDAD DE ABEJAS SIN AGUIJÓN (Hymenoptera:Meliponini) UTILIZADAS EN MELIPONICULTURA EN COLOMBIA. *Molecules*, 23(10), 415–423. <https://doi.org/10.3390/molecules23102491>
- Nemo, R., & Bacha, K. (2021). Microbial quality, physicochemical characteristics, proximate analysis, and antimicrobial activities of honey from Anfilo district. *Food Bioscience*, 42(February), 101132. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101132>
- Nemtsev, S. V., Zueva, O. Y., Khismatullin, M. R., Albulov, A. I., & Varlamov, V. P. (2004). Isolation of Chitin and Chitosan from Honeybees. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40(1), 39–43. <https://doi.org/10.1023/B:ABIM.0000010349.62620.49>
- Nogueira, C., Iglesias, A., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2012). Commercial bee pollen with different geographical origins: A comprehensive approach. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(9), 11173–11187. <https://doi.org/10.3390/ijms130911173>
- Nordin, A., Sainik, N. Q. A. V., Chowdhury, S. R., Saim, A. Bin, & Idrus, R. B. H. (2018).

- Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 73, 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.06.002>
- Norma Salvadoreña. (2005). NSO 67.03.01:01: CALIDAD DE PROPOLEO CRUDO. *FAO, FAOLEX*, 11. https://www.oirsa.org/contenido/2017/El_Salvador_INOCUIDAD/8.NSO_65_19_02_03_-_CALIDAD_DE_PROPOLEO_CRUDO.pdf
- Nouri, M., Khodaiyan, F., Razavi, S. H., & Mousavi, M. (2016). Improvement of chitosan production from Persian Gulf shrimp waste by response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 59, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.027>
- Ormeño Luna, J. (2019). Valoraciones melitopanológicas, físico-químicas y sensorial de mieles obtenida por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en ecosistemas de la cuenca del Bajo Mayo-San Martín [Universidad Nacional de San Martín]. In *Universidad Nacional de San Martín*. <http://hdl.handle.net/11458/3509>
- Orr, M. C., Hughes, A. C., Chesters, D., Pickering, J., Zhu, C.-D., & Ascher, J. S. (2021). Global Patterns and Drivers of Bee Distribution. *Current Biology*, 31(3), 451-458.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.10.053>
- Paim, I. S., Caldas, M. J. M., Machado, C. S., Nascimento, A. S. do, Lordêlo, M. S., Bárbara, M. F. S., Evangelista-Barreto, N. S., Estevinho, L. M., & Carvalho, C. A. L. de. (2021). Antioxidants activity and physicochemical properties of honey from social bees of the Brazilian semiarid region. *Journal of Apicultural Research*, 60(5), 797–806. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1823671>
- Pandey, P., Kumar Verma, M., & De, N. (2018). Chitosan in Agricultural Context-A Review. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, July, 87–96.
- Pineda, B. E., Castellanos Riveros, A., & Téllez Acuña, F. R. (2019). Determinantes físicoquímicos de la calidad de la miel: una revisión bibliográfica. *Cuadernos de Desarrollo Rural*, 16(83). <https://doi.org/10.11144/javeriana.cdr16-83.dfc>
- Pineda Guerra, Y., Betancur Echeverri, J., Pedroza-Díaz, J., Delgado-Trejos, E., & Röthlisberger, S. (2016). Análisis proteómico del veneno de la abeja africanizada: comparación de métodos de extracción. *Acta Biológica Colombiana*, 21(3), 619. <https://doi.org/10.15446/abc.v21n3.54046>
- Pucholobek, G., de Andrade, C. K., Rigobello, E. S., Wielewski, P., de Toledo, V. de A. A.,

- & Quináia, S. P. (2022). Determination of the Ca, Mn, Mg and Fe in honey from multiple species of stingless bee produced in Brazil. *Food Chemistry*, 367(July 2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130652>
- Puerto Galindo, N. J., Prieto Suárez, G. A., & Castro Guerrero, S. R. (2016). Análisis Proximal Y Fisicoquímico De Propóleos (Propolis) Provenientes De Apiarios Boyacenses. *Bistua Revista De La Facultad De Ciencias Basicas*, 14(2), 126. <https://doi.org/10.24054/01204211.v2.n2.2016.2189>
- Quero, A. M. M., Real, S. M., Rodríguez, L. F., García, R. R., Ibarra, R. O., Menéndez, J. J. L., Madera, J. F., Llana, F. C., García, E. M., & González, T. E. D. (2004). Las abejas y la apicultura. *Univercidad de Oviedo*, 1–125. https://www.miieldemalaga.com/data/Las_abejas_y_la_apicultura.pdf
- Ramón-Sierra, J. M., Ruiz-Ruiz, J. C., & De La Luz Ortiz-Vázquez, E. (2015). Electrophoresis characterisation of protein as a method to establish the entomological origin of stingless bee honeys. *Food Chemistry*, 183, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.015>
- Rebelo, K. S., Ferreira, A. G., & Carvalho-Zilse, G. A. (2016). Physicochemical characteristics of pollen collected by Amazonian stingless bees. *Ciência Rural*, 46(5), 927–932. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150999>
- Ribani, A., Utzeri, V. J., Taurisano, V., Galuppi, R., & Fontanesi, L. (2021). Analysis of honey environmental DNA indicates that the honey bee (*Apis mellifera* L.) trypanosome parasite *Lotmaria passim* is widespread in the apiaries of the North of Italy. *Journal of Invertebrate Pathology*, 184(March). <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107628>
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Rizelio, V. M., Tenfen, L., Gonzaga, L. V., Borges, G. da S. C., Biluca, F. C., Schulz, M., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2020). Physicochemical and bioactive properties of Southern Brazilian *Apis mellifera* L. honeys. *Journal of Apicultural Research*, 59(5), 910–916. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1735760>
- Rodrigues de S., B., Gasparotto S., J., De-Melo, A. A. M., Granato, D., Da Silva A., E., Da Silva De F., A., Monika B., O., Sattler, A., & Bicudo de A. M., L. (2018). Physicochemical parameters and content of b-complex vitamins: An exploratory study

- of bee pollen from southern Brazilian states. *Revista Chilena de Nutricion*, 45(3), 232–242. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182018000400232>
- Rodríguez, B. A., Mendoza, S., Iturriga, M. H., & Castaño-Tostado, E. (2012). Quality Parameters and Antioxidant and Antibacterial Properties of Some Mexican Honeys. *Journal of Food Science*, 77(1), C121–C127. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02487.x>
- Rodríguez, H. (2020). *Científicos elaboran el primer mapa de la biodiversidad de las abejas*. National Geographic España. https://www.nationalgeographic.com.es/naturaleza/cientificos-elaboran-primer-mapa-biodiversidad-abejas_16105
- Rubiano, M. V. (2016). *Análisis virológico y epidemiológico del síndrome de despoblamiento de las colmenas en España (Tesis)* [UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID]. <https://eprints.ucm.es/38831/1/T37638.pdf>
- Salamanca, G. G. (2017). *Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo* (Sello Editorial Universidad del Tolima (ed.); Primera ed). Universidad del Tolima.
- Salamanca, G. G., & Osorio, M. P. T. (2019). Palynological analysis of red propolis from San Andrés insular zone, Colombia. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(169), 689–698. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.897>
- Schievano, E., Dettori, A., Piana, L., & Tessari, M. (2021). Floral origin modulates the content of a lipid marker in *Apis mellifera* honey. *Food Chemistry*, 361(March), 130050. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130050>
- Seraglio, S. K. T., Schulz, M., Brugnerotto, P., Silva, B., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2021). Quality, composition and health-protective properties of citrus honey: A review. *Food Research International*, 143(February), 110268. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110268>
- Seraglio, S. K. T., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2019). An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. *Food Research International*, 119(January), 44–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.028>
- Silva, A., Stamford, T., Souza, P., Berger, L., Leite, M., Nascimento, A., & Campos-

- Takaki, G. (2015). Actividad antifúngica del quitosano microbiológico y tratamiento de recubrimiento en tomate cherry (*Solanum lycopersicum* var. *Cerasiforme*) para protección poscosecha. *Revista Internacional de Microbiología Actual y Ciencias Aplicadas*, 4(9), 228–240.
- Silva, D. G., Arcos Dorado, A. L., & Gómez Díaz, J. A. (2006). *Guía ambiental apícola* (1a ed.). COLOMBIA, DIVERSA POR NATURALEZA. http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/32938/GUIA_AMBIENTAL_APICOLA_Bogota_-Colombia.pdf?sequence=1
- Singh, S. K. (2019). Solubility of lignin and chitin in ionic liquids and their biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 265–277. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.182>
- Sprangers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Obyn, A., Deboosere, S., De Meulenaer, B., Michiels, J., Eeckhout, M., De Clercq, P., & De Smet, S. (2017). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2594–2600. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8081>
- Spulber, R., Doğaroğlu, M., Băbeanu, N., & Popa, O. (2018). Physicochemical characteristics of fresh bee pollen from different botanical origins. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(10), 1–9.
- Sultankulov, B., Berillo, D., Sultankulova, K., Tokay, T., & Saparov, A. (2019). Progress in the Development of Chitosan-Based Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Biomolecules*, 9(9), 470. <https://doi.org/10.3390/biom9090470>
- Sun, L. P., Shi, F. F., Zhang, W. W., Zhang, Z. H., & Wang, K. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory activities of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) honey extract. *Foods*, 9(8), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods9081039>
- Taha, E.-K. A., Al-Kahtani, S., & Taha, R. (2017). Protein content and amino acids composition of bee-pollens from major floral sources in Al-Ahsa, eastern Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(2), 232–237. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.06.003>
- Taha, E. K. A., Al-Kahtani, S., & Taha, R. (2021). Comparison of the physicochemical characteristics of sidr (*Ziziphus* spp.) honey produced by *Apis florea* F. and *Apis*

- mellifera L. *Journal of Apicultural Research*, 60(3), 470–477.
<https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1746036>
- Tenore, G. C., Ritieni, A., Campiglia, P., & Novellino, E. (2012). Nutraceutical potential of monofloral honeys produced by the Sicilian black honeybees (*Apis mellifera* ssp. *sicula*). *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 1955–1961.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.03.067>
- Thakur, M., & Nanda, V. (2019). Process optimization of polyphenol-rich milk powder using bee pollen based on physicochemical and functional properties. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13148>
- Tharanathan, R. N., & Kittur, F. S. (2003). Chitin — The Undisputed Biomolecule of Great Potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1), 61–87.
<https://doi.org/10.1080/10408690390826455>
- Torquato, R. F., Garros, I. R., & Conti-Silva, A. C. (2018). Microbiological and physicochemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. *Ciencia Rural*, 48(5), 1–8. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180025>
- Triunfo, M., Tafi, E., Guarnieri, A., Scieuzo, C., Hahn, T., Zibek, S., Salvia, R., & Falabella, P. (2021). *and Cosmeceuticals*. 1–20.
- Tsaneva, D., Petkova, Z., Petkova, N., Stoyanova, M., Stoyanova, A., & Denev, P. (2018). Isolation and characterization of chitin and biologically active substances from honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4), 884–888.
- Vargas, S. R. D., Martínez Benavidez, E., Hernández, J., Torrescano Urrutia, G. R., & Sánchez Escalante, A. (2019). Effect of physicochemical properties and phenolic compounds of bifloral propolis on antioxidant and antimicrobial capacity. *Nova Scientia*, 12(24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2134>
- Venir, E., Spaziani, M., & Maltini, E. (2010). Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chemistry*, 122(2), 410–415.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.012>
- Viloria B, J. D., Gil G, J. H., Durango R, D. L., & García P, C. M. (2012). Caracterización Físicoquímica Del Propóleo De La Región Del Bajo Cauca Antioqueño (Antioquia,

- Colombia) Physicochemical Characterization of Propolis From the Region of Bajo Cauca Antioqueño (Antioquia, Colombia) Caracterização Físico-Química Da Própolis D. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), 77–86.
- Wang, Y., Gou, X., Yue, T., Ren, R., Zhao, H., He, L., Liu, C., & Cao, W. (2021). Evaluation of physicochemical properties of Qinling *Apis cerana* honey and the antimicrobial activity of the extract against *Salmonella Typhimurium* LT2 in vitro and in vivo. *Food Chemistry*, 337(August 2020), 127774. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127774>
- Winston, M. L. (1992). *Killer bees: The Africanized honey bee in the Americas* (Cambridge: Harvard University Press (ed.); 1a ed.).
- Wu, J., Duan, Y., Gao, Z., Yang, X., Zhao, D., Gao, J., Han, W., Li, G., & Wang, S. (2020). Quality comparison of multifloral honeys produced by *Apis cerana cerana*, *Apis dorsata* and *Lepidotrigona flavibasis*. *Lwt*, 134(September), 110225. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110225>
- Yan, S., Wang, K., Wang, X., Ou, A., Wang, F., Wu, L., & Xue, X. (2021). Effect of fermented bee pollen on metabolic syndrome in high-fat diet-induced mice. *Food Science and Human Wellness*, 10(3), 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.02.026>
- Yayinie, M., Atlabachew, M., Tesfaye, A., Hilluf, W., & Reta, C. (2021). Quality authentication and geographical origin classification of honey of Amhara region, Ethiopia based on physicochemical parameters. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), 102987. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.102987>
- Zhang, Y. Z., Chen, Y. F., Wu, Y. Q., Si, J. J., Zhang, C. P., Zheng, H. Q., & Hu, F. L. (2019). Discrimination of the entomological origin of honey according to the secretions of the bee (*Apis cerana* or *Apis mellifera*). *Food Research International*, 116(866), 362–369. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.049>
- Zuluaga-Domínguez, C., Serrato-Bermudez, J., & Quicazán, M. (2018). Influence of drying-related operations on microbiological, structural and physicochemical aspects for processing of bee-pollen. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, 11(2), 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.eaef.2018.01.003>

Anexo 1. Algoritmo de Python.

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from sklearn import datasets
from sklearn.decomposition import PCA
import pandas as pd
from sklearn.preprocessing import StandardScaler
from matplotlib.colors import ListedColormap

from mpl_toolkits.mplot3d import Axes3D
from matplotlib.patches import FancyArrowPatch
from mpl_toolkits.mplot3d import proj3d

class Arrow3D(FancyArrowPatch):
    def __init__(self, xs, ys, zs, *args, **kwargs):
        FancyArrowPatch.__init__(self, (0,0), (0,0), *args, **kwargs)
        self._verts3d = xs, ys, zs

    def draw(self, renderer):
        xs3d, ys3d, zs3d = self._verts3d
        xs, ys, zs = proj3d.proj_transform(xs3d, ys3d, zs3d, renderer.M)
        self.set_positions((xs[0],ys[0]),(xs[1],ys[1]))
        FancyArrowPatch.draw(self, renderer)

    def do_3d_projection(self, renderer=None):
        xs3d, ys3d, zs3d = self._verts3d
```

```
xs, ys, zs = proj3d.proj_transform(xs3d, ys3d, zs3d, self.axes.M)
self.set_positions((xs[0],ys[0]),(xs[1],ys[1]))
```

```
return np.min(zs)
```

```
X = np.loadtxt('D:/Respaldo Informacion/Documents/PCA/MIEL/ens3/DATA.txt')
y = np.loadtxt('D:/Respaldo Informacion/Documents/PCA/MIEL/ens3/LABEL.txt')
print(X)
print(y)
```

```
#X=np.array([[1.4,1.2,1.6],[9.5,9.3,9.1],[7.4,7.3,7.6],[0.4,0.3,0.6],[40.4,40.3,40.6]])
#Caracteristicas
#y=np.array([0,1,2,3,4]) #clases
```

```
carac=['ALTITUD', 'PH', 'ACIDEZ', 'HUMEDAD'] #observaciones 1 por cada columna de
la data
classes = ['ARABIA', 'BRAZIL', 'COLOMBIA', 'CUBA','ESPAÑA', 'ETIOPIA',
'GRECIA','KENIA', 'SUDAN'] #Se colocan las etiquetas de las clases
```

```
colours = ListedColormap(['red','green','blue','cyan','yellow','black','brown','salmon','aqua'])#colores
por clases 1 por cada 1
color = ['black','black','black','black']#colores de las características
```

```
#print(y)
#X=np.delete(X, 0, axis=1) #0 borra individuo 1 borra característica
#X=np.delete(X, 0, axis=1) #0 borra individuo 1 borra característica
#X=np.delete(X, 1, axis=1) #0 borra individuo 1 borra característica
# In general, it's a good idea to scale the data prior to PCA.
```

```

#####
plot3d=1
eigenvector=1
plot_eigenvector=1
#####

scaler = StandardScaler()
scaler.fit(X)
X=scaler.transform(X)
pca = PCA()

pca.fit(X)
varianza = pca.explained_variance_ratio_
var_acum= np.cumsum(varianza)

fig, ax = plt.subplots(nrows=1, ncols=1, figsize=(6, 4))

for x in range(0, len(varianza)):
    ax.annotate(round(varianza[x],3),(x+1,varianza[x]),textcoords="offset points",
xytext=(0,5),ha='center')

for x in range(0, len(varianza)):
    ax.annotate(round(var_acum[x],3),(x+1,var_acum[x]),textcoords="offset points",
xytext=(0,5),ha='center', bbox=dict(boxstyle='round,pad=0.2', fc='yellow', alpha=0.3))

colors = ["g", "r"]
texts = ["ACCUMULATED VARIANCE", "INDIVIDUAL VARIANCE" ]

```

```

patches = [ plt.plot([],[], marker="o", ms=5, ls="", mec=None,
color=colors[i],label="{:s}".format(texts[i]))[0] for i in range(len(texts)) ]
plt.legend(handles=patches,loc=(0.76,0.8), ncol=1, facecolor="None", numpoints=1)

```

```

plt.xlim(0,len(varianza)+1)
ax.bar(range(1,len(varianza)+1), varianza, color = (0.5,0.1,0.5,0.6))
ax.plot(range(1,len(varianza)+1), var_acum ,color='green', marker='o', linestyle='-',
linewidth=1, markersize=5)
ax.plot(range(1,len(varianza)+1), varianza ,color='red', marker='o', linestyle='--',
linewidth=1, markersize=5)

```

```

ax.set_title ('VARIANCES', fontsize=12,fontweight = 'bold')
ax.set_xlabel ('PRINCIPAL COMPONENTS', fontsize=12,fontweight = 'bold')
ax.set_ylabel ('% VARIANCE', fontsize=12,fontweight = 'bold')
ax.grid(color='#95a5a6', linestyle='--', alpha=0.7)
plt.show()

```

```

x_new = pca.fit_transform(X)

```

```

def myplot2d(score,coeff): #los coeff son las cordenada de las características

```

```

    xs = score[:,0] #datos pc1
    ys = score[:,1] #datos pc2
    n = coeff.shape[0] #numero de características
    #Normalizacion y grafico
    scalex = 1.0/(xs.max() - xs.min())
    scaley = 1.0/(ys.max() - ys.min())

```

```

    scatter=plt.scatter(xs * scalex,ys * scaley, c = y, cmap=colours)
    plt.legend(handles=scatter.legend_elements()[0], labels=classes)

```

```

#####
if eigenvector==1:
    for i in range(n):
        plt.arrow(0, 0, coeff[i,0], coeff[i,1],color = 'k',alpha = 0.6)
        plt.text(coeff[i,0]* 1.1, coeff[i,1] * 1.1, str(carac[i]), color = str(color[i]), ha = 'center',
va = 'center')
        #plt.text(coeff[i,0]* 1.1, coeff[i,1] * 1.1, "Class"+str(i+1), color = 'g', ha = 'center',
va = 'center')

plt.title('PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS', fontsize=12,fontweight = 'bold')
plt.xlim(-1.5,1.5)
plt.ylim(-1.5,1.5)
plt.xlabel("PC{}".format(1)+' '+'[{}%]'.format(round(varianza[0]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
plt.ylabel("PC{}".format(2)+' '+'[{}%]'.format(round(varianza[1]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
plt.grid(color='#95a5a6', linestyle='--', alpha=0.7)
plt.show()

if plot_eigenvector==1:
    for i in range(n):
        plt.arrow(0, 0, coeff[i,0], coeff[i,1],color = 'k',alpha = 0.6)
        plt.text(coeff[i,0]* 1.1, coeff[i,1] * 1.1, str(carac[i]), color = str(color[i]), ha = 'center',
va = 'center')
        #plt.text(coeff[i,0]* 1.1, coeff[i,1] * 1.1, "Class"+str(i+1), color = 'g', ha = 'center',
va = 'center')

plt.title('VARIABLES FACTOR MAP (PCA)', fontsize=12,fontweight = 'bold')
plt.xlim(-1.5,1.5)
plt.ylim(-1.5,1.5)

```

```

plt.xlabel("PC{}".format(1)+'          '+'[{}%]'.format(round(varianza[0]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
plt.ylabel("PC{}".format(2)+'          '+'[{}%]'.format(round(varianza[1]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
plt.grid(color='#95a5a6', linestyle='--', alpha=0.7)
plt.show()

```

```

def myplot3d(score,coeff): #los coeff son las cordenada de las caracteristicas
    xs = score[:,0] #datos pc1
    ys = score[:,1] #datos pc2
    zs = score[:,2] #datos pc2
    n = coeff.shape[0] #numero de caracteristicas
    #Normalizacion y grafico
    scalex = 1.0/(xs.max() - xs.min())
    scaley = 1.0/(ys.max() - ys.min())
    scalez = 1.0/(zs.max() - zs.min())

    fig = plt.figure()
    ax = fig.add_subplot(projection='3d')

    scatter=ax.scatter(xs * scalex,ys * scaley, zs * scalez,c = y, cmap=colours )
    ax.legend(handles=scatter.legend_elements()[0], labels=classes)

    if eigenvector==1:
        for i in range(n):
            a = Arrow3D([0, coeff[i,0]], [0, coeff[i,1]],[0, coeff[i,2]],mutation_scale=5,
arrowstyle="->", color="k")
            ax.text(coeff[i,0]* 1.1, coeff[i,1] * 1.1,coeff[i,2]* 1.1, str(carac[i]), color =
str(color[i]), ha = 'center', va = 'center')
            ax.add_artist(a)

```

```

ax.set_title('PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS', fontsize=12,fontweight = 'bold')
ax.set_xlim(-1,1)
ax.set_ylim(-1,1)
ax.set_zlim(-1,1)
ax.set_xlabel("PC{}".format(1)+'          '+'[{}%]'.format(round(varianza[0]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
ax.set_ylabel("PC{}".format(2)+'          '+'[{}%]'.format(round(varianza[1]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
ax.set_zlabel("PC{}".format(3)+'          '+'[{}%]'.format(round(varianza[2]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
ax.grid(color='#95a5a6', linestyle='--', alpha=0.7)

plt.show()

if plot_eigenvector==1:
    fig = plt.figure()
    ax = fig.add_subplot(projection='3d')
    for i in range(n):
        a = Arrow3D([0, coeff[i,0]], [0, coeff[i,1]], [0, coeff[i,2]],mutation_scale=5,
arrowstyle="->", color="k")
        ax.text(coeff[i,0]* 1.1, coeff[i,1] * 1.1,coeff[i,2]* 1.1, str(carac[i]), color =
str(color[i]), ha = 'center', va = 'center')
        ax.add_artist(a)
    ax.set_title('VARIABLES FACTOR MAP (PCA)', fontsize=12,fontweight = 'bold')
    ax.set_xlim(-1,1)
    ax.set_ylim(-1,1)
    ax.set_zlim(-1,1)
    ax.set_xlabel("PC{}".format(1)+'          '+'[{}%]'.format(round(varianza[0]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')

```

```

        ax.set_ylabel("PC{}".format(2)+' '+'[{}%]'.format(round(varianza[1]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
        ax.set_xlabel("PC{}".format(3)+' '+'[{}%]'.format(round(varianza[2]*100,2)),
fontsize=10,fontweight = 'bold')
        ax.grid(color='#95a5a6', linestyle='--', alpha=0.7)
        plt.show()

#print(x_new)
#print(pca.components_)

if plot3d==0:
    #Call the function. Use only the 2 PCs.
    # filas y columnas
    myplot2d(x_new[:,0:2],np.transpose(pca.components_[0:2, :]))

else:
    #Call the function. Use only the 3 PCs.
    myplot3d(x_new[:,0:3],np.transpose(pca.components_[0:3, :]))

```