

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE ZOOTECNIA**



**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE
MIELES POLIFLORALES PROVENIENTES DE CINCO
REGIONES APÍCOLAS DE GUATEMALA**

CINDY CARINA SÁNCHEZ MAZARIEGOS

LICENCIADA EN ZOOTECNIA

GUATEMALA, ABRIL DE 2015

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE ZOOTECNIA**



**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE
MIELES POLIFLORALES PROVENIENTES DE CINCO REGIONES
APÍCOLAS DE GUATEMALA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

CINDY CARINA SÁNCHEZ MAZARIEGOS

Al conferírsele el título profesional de

Zootecnista

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, ABRIL DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Sergio Amilcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez
VOCAL V:	Br. Juan René Cifuentes López

ASESORES

Lic. Zoot. EDGAR AMÍLCAR GARCÍA PIMENTEL
M.A. MARCO VINICIO GARCÍA SARÁN
MSc. ASTRID JOHANA VALLADARES AREANO
Lic. Zoot. HUGO SEBASTIAN PEÑATE MOGUEL

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE MIELES POLIFLORALES PROVENIENTES DE CINCO REGIONES APÍCOLAS DE GUATEMALA

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

LICENCIADO EN ZOOTECNIA

ACTO QUE DEDICO A:

A DIOS	Por haberme permitido culminar mi carrera.
A MI MADRE	Por todo su amor, paciencia y apoyo a lo largo de mi carrera. Por ser un ejemplo de perseverancia y bondad.
A MI PADRE	Aunque no esté presente físicamente, sé que estarías feliz al verme culminar esta carrera.
A MI HERMANA	Por su cariño y apoyo, por ser mi ejemplo, motivación y siempre tener una palabra de aliento y cariño para mí.
A MI NOVIO	Por siempre estar a mi lado en las buenas y en las malas; por su comprensión, paciencia y amor, y darme ánimos para seguir a delante.
A MIS AMIGOS	Plinio, Faby, Judy, Andrea, JuanCa, Goffy, José por todas las experiencias que juntos compartimos.
A MIS ASESORES	Por el tiempo dedicado en la elaboración de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD

A la Universidad de san Carlos de Guatemala, en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A MIS ASESORES

Lic. Edgar García Pimentel, Lic. Vinicio García, Licda. Astrid Valladares Lic. Hugo Peñate por guiarme durante el desarrollo de esta investigación.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Especialmente al personal del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT, por sus enseñanzas y apoyo para la realización de la fase experimental.

A

Todo el personal administrativo de esta Facultad por brindarme su amistad y colaboración en todo momento.

A

A todas aquellas personas que de una u otra manera me apoyaron a lo largo de mi carrera e hicieron posible alcanzar esta meta.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	5
II. HIPÓTESIS	6
III. OBJETIVOS	7
3.1. General.....	7
3.2. Específicos	7
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	8
4.1. Antioxidante.....	8
4.2. Clasificación	8
4.3. Sistema antioxidante endógeno	9
4.4. Sistema antioxidante exógeno	9
4.5. Radicales libres (RL)	9
4.6. Factores externos.....	10
4.7. Factores internos	10
4.8. Mecanismo de acción.....	10
4.9. Definición de miel	11
4.10. Clasificación de la miel	11
4.11. Composición de la miel.....	12
4.12. Propiedades de la miel	13
4.13. Actividad antioxidante de la miel.....	13
V. MATERIALES Y MÉTODOS	17
5.1. Materiales y equipo	17
5.1.1. Recursos humanos.....	17
5.1.2. Material y equipo para recolección de muestra.	17
5.1.3. Equipo para análisis de muestras en laboratorio.	17
5.1.4. Material y equipo misceláneo	18
5.1.5. Cristalería	18
5.1.6. Reactivos.....	19

5.2. Metodología.....	19
5.2.1. Localización y descripción del área	19
5.2.2. Manejo del estudio.....	21
5.2.3. FASE I. Recolección de muestras.....	22
5.2.4. FASE II. Análisis de laboratorio.....	22
5.2.4.1. Ubicación del área de trabajo	22
5.2.4.2. Método utilizado.....	22
5.2.4.3. Procedimiento para determinación de la actividad antioxidante. ...	23
5.2.5. Determinación de la actividad antioxidante por medio de DPPH	23
5.2.6. Preparación de 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH)	24
5.2.7. Buffer de acetatos:.....	24
5.2.8. Preparación de los tubos de reacción:.....	24
5.2.9. Medición de la actividad antioxidante	25
5.3. FASE III. Interpretación de resultados.	26
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
VII. CONCLUSIONES	34
VII. RECOMENDACIONES.....	35
VIII. RESUMEN	36
SUMMARY	37
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
XI. ANEXOS.....	44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de la miel	12
Cuadro 2. Lugares de recolección de la muestra, regiones y departamento.	19
Cuadro 3. Condiciones Climáticas de Guatemala.....	20
Cuadro 4. Estándar para medición de la capacidad antioxidante	25
Cuadro 5. Determinación de Actividad Antioxidante por medio de Cromatografía en Capa Fina (Ensayo Macrométrico).....	27
Cuadro 6. Resultados de Actividad Antioxidante Total (Ensayo Micrométrico).....	29
Cuadro 7. Identificación botánica de los departamentos de Sacatepéquez y Santa Rosa.....	31

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Regiones de Guatemala.....	20
Figura 2. Resultados de la Actividad Antioxidante Total (mg).	29
Figura 3. FASE I. Recolección de la muestra.....	45
Figura 4. Análisis de laboratorio	45
Figura 5. Determinación de Actividad Antioxidante por medio de Cromatografía Capa Fina (Ensayo Macrométrico)	46

I. INTRODUCCIÓN

La apicultura es una actividad productiva y últimamente ha tomado especial importancia a nivel mundial, por diferentes motivos, entre ellos se menciona, económicas que a través de la diversificación de la misma ha concedido una gama de productos derivados de la colmena como lo son la miel, el polen, los propóleos, cera, apitoxina, etc., la importancia que tiene en el ambiente con la polinización participando en el transporte de material genético lo cual ha permitido la generación de poblaciones botánicas en diferentes regiones del mundo, además de su uso en la producción de medicamentos alternativos para el tratamiento de diversas enfermedades, también posee diferentes propiedades, entre las que se puede mencionar antibacterianas, antiinflamatoria, cicatrizante y antioxidante. (Vit P. et al. 2008)

Los radicales libres pueden producir alteraciones genéticas sobre las células que se dividen continuamente, contribuyendo a aumentar el riesgo de cáncer por mutaciones genéticas y a la aparición de enfermedades asociadas con el proceso de envejecimiento tales como el Alzheimer, trastornos cardiovasculares, cataratas y otras alteraciones. Hay muchas teorías distintas para explicar el envejecimiento de los órganos y entre ellas la más convincente en la actualidad es la de los radicales libres. (Frankel, S; Robinson, GE; Berenbaum, MR. 1998). Por lo cual es de suma importancia conocer la acción que ejercen los antioxidantes sobre los radicales.

La naturaleza ofrece una gran oportunidad para el descubrimiento de nuevos compuestos orgánicos, indicando que se pueden obtener antioxidantes de una manera natural que se encuentran en el medio.

Con base en lo anterior, se identificó la actividad antioxidante que posee la miel, recolectada en cinco diferentes áreas apícolas de la República de Guatemala.

II. HIPÓTESIS

- Existe diferencia en la actividad antioxidante de las mieles obtenidas de cinco regiones apícolas de Guatemala. (Petén, San Marcos, Chiquimula, Sacatepéquez y Santa Rosa).

III. OBJETIVOS

3.1. General

- Generar información sobre las propiedades antioxidantes de la miel de abeja melífera (*Apis mellifera*).

3.2. Específicos

- Identificar la actividad antioxidante de las mieles poliflorares provenientes de los departamentos de Petén, San Marcos, Chiquimula, Sacatepéquez y Santa Rosa.
- Comparar la capacidad antioxidante de las muestras de miel colectadas en las cinco regiones apícolas seleccionadas.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Antioxidante

En el organismo humano existen sistemas biológicamente activos conocidos como antioxidantes cuyo mecanismo consiste en proteger y contribuir al equilibrio fisiológico, es decir, que para mantener este equilibrio del organismo los sistemas de oxidación y los de protección antioxidante deben actuar de forma controlada sobre los substratos susceptibles a una oxidación, así con esto tratando de prologar la vida. Estudios epidemiológicos, experimentales y clínicos que se han realizado a nivel latinoamericano (Atalah E, y col 2001) han demostrado que los antioxidantes proveen una eficacia biológica en la prevención y en la disminución de los efectos negativos tales como la degeneración celular, que producen al alterar la permeabilidad de la membrana, produciendo edema y muerte celular, esto origina la formación de enfermedades producidas por el estrés oxidativo (Rodríguez P, 2001.). Estas sustancias deben estar presentes en el organismo en una concentración suficiente que permita prevenir la acumulación de elementos prooxidantes, estado conocido como estrés oxidativo. (Avello M; Suwalsky M, 2006)

4.2. Clasificación

Las células disponen de complejos sistemas antioxidantes que previenen el daño oxidativo originado por las altas concentraciones de radicales libres. Estos sistemas de defensa se dividen en Antioxidantes Endógenos y Antioxidantes Exógenos. (Duthie GG, 2000).

3.5. Sistema antioxidante endógeno

El sistema antioxidante endógeno está compuesto por diversas proteínas, enzimas y algunos cofactores. Que actúan sinérgicamente para disminuir la carga de radicales libres en el organismo y de esta manera, reducir o evitar las enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Una variedad de proteínas y de enzimas sintetizadas en el cuerpo pueden funcionar como antioxidantes. Los niveles de estos compuestos están determinados por su velocidad de síntesis y por lo tanto, no pueden ser manipulados fácilmente.

3.6. Sistema antioxidante exógeno

Son antioxidantes que ingresan al organismo a través de los alimentos. Entre los cuales se destacan: Vitamina E, C, B-caroteno (pro-vitamina A), Polifenoles y flavonoides. (Combs GF, 2001; Halliwell B, 1994).

3.7. Radicales libres (RL)

Un radical (RL) es una especie química que contiene uno o más electrones no apareados, ya sea por la pérdida o ganancia de uno de ellos. Tales electrones modifican la reactividad química de un átomo o de una molécula y la hacen más reactiva que su forma no radical. (Hicks, JJ. 2007).

El organismo está luchando contra los radicales libres constantemente. El problema para la salud se produce cuando el organismo tiene que soportar un exceso de RL durante años, producidos en su mayoría por los contaminantes externos que penetran en el organismo. Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en las células del cuerpo y son necesarias para la salud. Pero, el proceso debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante.

Existen diversas causas para la producción de radicales libres. En algunos casos intervienen factores internos, y en otros casos, factores externos.

3.8. Factores externos

Pueden ser producto de la contaminación atmosférica, el humo del cigarrillo que contiene hidrocarburos aromáticos polinucleares, así como aldehídos que producen distintos tipos de radicales libres en el organismo. El consumo de aceites vegetales hidrogenados tales como la margarina y el consumo de ácidos grasos trans como los de las grasas de la carne y de la leche también contribuye al aumento de los radicales libres.

3.9. Factores internos

El mismo cuerpo humano fabrica los radicales libres por el contacto con el [oxígeno](#) (respiración). También se producen radicales libres por la acción de las enzimas oxidantes y las células fagocitarias. Los radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por el propio sistema. Con este fin, el cuerpo produce enzimas (como la catalasa, peroxidasas, y superóxido dismutasas) que son las encargadas de neutralizarlos. Estas enzimas tienen la capacidad de desarmar los radicales libres sin desestabilizar su propio estado.

3.10. Mecanismo de acción

Los radicales libres actúan en el organismo alterando a las [membranas celulares](#) y atacando las [proteínas](#), los [lípidos](#) o [grasas](#) ("[oxidación](#)") y material genético de las células, como el [ADN](#). (Hicks, JJ. 2007).

En el transcurso de los años, los radicales libres pueden producir una alteración genética sobre las células que se dividen continuamente contribuyendo a aumentar el riesgo de [cáncer](#) por [mutaciones](#) genéticas o bien, disminuyen la funcionalidad de las células que no se dividen tanto, disminuyendo el número de [mitocondrias](#), que es característico del [envejecimiento](#). En los lípidos y proteínas de la membrana celular los radicales libres producen daño al tomar sus electrones, por lo tanto no podrán cumplir sus funciones como el intercambio de nutrientes y descartar los materiales de desecho celular, haciendo imposible el proceso de regeneración y reproducción celular. (Hicks, JJ. 2007).

3.11. Definición de miel

La definición de la miel de acuerdo a la Norma del Codex para la Miel (CODEX STAN 12-1981, Rev. 2001), dice: “Sustancia producida por las abejas obreras a partir del néctar de las flores, de secreciones de partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje” (CODEX STAN 12-1981 Rev. 2001).

Las características organolépticas y fisicoquímicas de la miel están muy asociadas con su origen geográfico y botánico.

3.12. Clasificación de la miel

La miel se origina a partir de las flores (néctar de las flores), y puede provenir de una especie y debe contener un mínimo de un 51 por ciento del néctar de una flor en particular para que se pueda considerar miel monofloral, o puede provenir de varias especies de flores, miel polifloral. (Bogdanov, S. 2003).

3.13. Composición de la miel

La composición de la miel depende de dos factores principales; (1) de la composición del néctar o néctares y (2) de factores externos. La primera va a depender principalmente de la especie o conglomerado de especies de plantas que producen el néctar. Factores externos, ajenos a la especie apibotánica o factores secundarios como: tipo y química del suelo, clima, manejo apícola y manejo de la miel una vez cosechada por apicultor. (Kushnir. 2000) (Ver cuadro No.1).

Cuadro 1. Composición química de la miel

Elementos	Unidades	Rango
Glucosa	%	22.0 - 40.7
Fructosa	%	27.2 – 44.3
Maltosa	%	2.7 – 16.0
Sacarosa	%	0.2 – 7.6
pH		3.5 – 4.5
Acido total	Meq/kg	0.17 – 1.17
Cenizas	%	0.02 – 0.028
Nitrógeno	%	0.00 – 0.133
Humedad	%	14 – 22
Aminoácidos	%	0.44%
Minerales	%	0.5 – 1.5
Vitaminas, enzimas	%	0.5 – 1

(Fuente: Gómez D. et al. 2004; Bogdanov, S. et al. 2003, Kushnir. 2000.)

3.14. Propiedades de la miel

Entre las aplicaciones medicinales de la miel de abejas, resaltan sus cualidades antigripales y bucofaríngeas, su acción cicatrizante, laxante, sedativa, antibiótica, antidiarréica, para tratar gastritis, úlceras y afecciones oftalmológicas. Estas propiedades son utilizadas en diferentes formas farmacéuticas a base de miel de abejas, como jarabes, infusiones, cremas, pastillas, etc. Y recientemente se caracteriza por sus propiedades antibacterianas, inmunomoduladoras, anti-inflamatorias, estimulantes del crecimiento celular y antioxidantes. (Jean-Prost, P; Medori, P; Le Conte, Y. 2006).

3.15. Actividad antioxidante de la miel

Los polifenoles, los flavonoides y los ácidos fenólicos participan en el sistema antioxidante de la miel, junto con una variedad de compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos), carotenoides y vitamina C, que son ampliamente conocidos por su actividad antioxidante. (Frankel y col., 1998).

La miel de abejas contiene antioxidantes y su actividad antioxidante ha sido comparada con la del ácido úrico, potente antioxidante en los seres vivos. El néctar de las flores contiene polifenoles, flavonoides y ácidos fenólicos que participan en el sistema antioxidante de la miel de abejas. Además de esto, la miel presenta una variedad de compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos), carotenoides y vitamina C, que son ampliamente conocidos por su actividad antioxidante. (Pérez E; 2006; Koracevic D. et al. 2001).

Entre otras de las cualidades antioxidantes que resaltan de la miel es el

Cierto porcentaje de vitamina C (ácido ascórbico) que posee. La propiedad química más importante del ácido ascórbico es su oxidación, por la transferencia de uno o dos electrones; debido a esto ayuda a prevenir la oxidación de las moléculas solubles en agua. También, indirectamente, protege a las vitaminas A y E de la oxidación, así como a algunas vitaminas del grupo B; tales como la riboflavina, tiamina, ácido fólico, y ácido pantoténico. Actúa como un desintoxicante y puede reducir los efectos colaterales de drogas como la cortisona, aspirina e insulina y puede reducir la toxicidad de metales pesados como el plomo, mercurio y arsénico.

3.16. Polifenoles:

Los polifenoles han ganado mucha atención recientemente debido a sus propiedades antioxidantes y a sus posibles beneficios en la salud humana como el tratamiento y prevención del cáncer, la enfermedad cardiovascular y otras patologías. (Tomás, F. 2003).

La función principal de los polifenoles se encuentra asociada a la prevención de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, como son los procesos degenerativos de la memoria. El grupo de polifenoles incluye los fenoles simples, ácidos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos, estilbenos, flavonoides y proantocianidinas.

Dentro de los polifenoles, uno de los grupos más estudiado ha sido el de los flavonoides, por su gran capacidad antioxidante. Se han descrito numerosas acciones terapéuticas para un gran número de ellos, tales como efectos antivirales, antiinflamatorios, antiateroescleróticos, anticancerígenos y antialérgicos (Wollgast J, 2000).

3.17. Flavonoides

La acción mejor caracterizada de los flavonoides es la de actuar como antioxidante. Los flavonoides son eficientes captadores de radicales libres de oxígeno, protegen al ADN del daño oxidativo y además evitan la oxidación de la vitamina E y la vitamina C. (Bravo L. 1998. Duthie G, 2000).

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer. (Delgado O. et al. 2010).

3.18. Tipos y fuentes de flavonoides

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, miel de abeja, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. Los flavonoides se encuentran también en extractos de plantas como arándano. Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre.

Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo.

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y además captura radicales libres (RL). (Bohm H, 1998). Los flavonoides inhiben también los efectos degenerativos provocados por el peróxido de hidrogeno (H_2O_2).

Los flavonoides pueden aumentar la disponibilidad de antioxidantes endógenos, así como la actividad de enzimas antioxidantes. Al mismo tiempo que son capaces de inhibir enzimas involucradas en la generación de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO). (ADAM-VIZI, V. 2005).

3.19. Estudios realizados sobre el poder antioxidante de la miel

Muñoz, O. et al. en el año 2007, realizaron un estudio para medir el contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante, el estudio se llevó a cabo en diferentes regiones del país (del norte, centro y sur), y el análisis fue por Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Y a la conclusión que llegaron fue, que los niveles de fenólicos y de flavonoides en estas mieles chilenas, es relativamente alta respecto a otras mieles, y por otra parte, debido a la compleja composición de la miel, la capacidad antioxidante es el resultado de la actividad y de la interacción combinadas de una amplia gama de los compuestos (fenólicos, péptidos, ácido orgánico y otros componentes minoritarios).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales y equipo

5.1.1. Recursos humanos

- Investigadora
- Asesores

5.1.2. Material y equipo para recolección de muestra.

- Frascos ámbar con tapón de rosca de 100 ml
- Etiquetas para la identificación de las muestras.
- Miel de abeja
- Hielera.
- Lapiceros
- Cuaderno para apuntes
- Cámara fotográfica.
- Vehículo.

5.1.3. Equipo para análisis de muestras en laboratorio.

- Sonicador
- Balanza Analítica
- Baño de maría
- Refrigeradora a 5°C.
- Vortex
- Micropipetas Automáticas
- Campana de Extracción.

- Espectrofotómetro.

5.1.4. Material y equipo misceláneo

- Papel aluminio
- Papel mayordomo
- Pizetas con agua destilada
- Gradilla para tubos de ensayo
- Espátulas
- Cromatoplaca de silica gel.
- Papel encerado
- Cronometro

5.1.5. Cristalería

- Pipetas automáticas de volumen variable
- Tubos de ensayo con sus respectivos tapones.
- Beakers
- Pipetas aforadas
- Pipetas graduadas
- Varilla de agitación
- Embudo
- Cámara de vidrio
- Tubos capilares
- Erlenmeyer de 25 ml.
- Probeta graduada 10 ml.
- Asperjadores
- Tubos con tapón de rosca 15 ml.

5.1.6. Reactivos

- DPPH(1,1-difenil-2 picrilhidrazina)
- Metanol 95%
- Estándares antioxidantes comparativos
 - Terc-butil-hidroquinona (TBHQ)
 - Quercitina
 - Vitamina C
 - Vitamina E
 - Trolox
 - **Fase Móvil**
 - Acetato de etilo
 - Ácido acético
 - Ácido fórmico
 - Agua desmineralizada

5.2. Metodología

5.2.1. Localización y descripción del área

La miel que se utilizó para llevar a cabo este estudio, fue recolectada de los centros de acopio en Petén, Chiquimula, San Marcos, Santa Rosa y Sacatepéquez. (Cuadro No. 2).

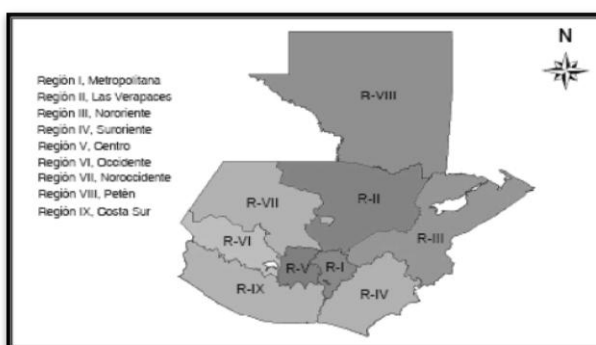
Cuadro 2. Lugares de recolección de la muestra, regiones y departamento.

REGIÓN	DEPARTAMENTO	ACOPIO
III	Chiquimula	Asociación de Apicultores de Chiquimula
IV	Santa Rosa	Asociación de Apicultores de Santa Rosa (APIROSA)

V	Sacatepéquez	Asociación de Apicultores Sacatepéquez
VI	San Marcos	Cooperativa de producción Integral Apicultores del Suroccidente (COPIASURO)
VIII	Petén	Cooperativa Agrícola de Apicultore de Petén R.L. (COADAP).

(Fuente: Elaboración Propia.)

Figura 1. Regiones de Guatemala



(Fuente: Hurtarte E, et

al.)

Las regiones apícolas bajo estudio abarcan diferentes zonas de vida, altitudes y condiciones climáticas (Cuadro. No. 3).

Cuadro 3. Condiciones Climáticas de Guatemala.

San Marcos	
Zona de vida	Bosques muy húmedos subtropicales cálidos (bmn-s(c))
Altitud	500 a 3000 msnm.
Precipitación pluvial	1000 a 4327 mm.
Temperatura	11 a 27 °C
Petén	
Zona de vida	Bosque muy húmedo subtropical cálido (bmh s-(c))

	Bosque húmedo subtropical calido (bhs-(bhs-(c))).
Altitud	127 msnm
Precipitación pluvial	215 mm
Temperatura	22.3 a 29.76 °C
Santa Rosa	
Zona de vida	Bosque muy húmedo subtropical cálido (bmhs.(c)) Bosque húmedo subtropical cálido (bhs-(c)).
Altitudes	214 a 1330 msnm.
Precipitación pluvia	1000 a 1499 mm.
Temperatura	25 a 27 °C
Chiquimula	
Zona de vida	Bosque húmedo subtropical calido (bhs-(bhs-(c))).
Altitudes	80 a 1600 msnm.
Precipitación pluvial	2,136 a 4,327 mm.
Temperatura	21 a 25
Sacatepéquez	
Zona de vida	Bosque muy húmedo Montano Bajo Subtropical (bmh-MB)
Altitudes	1,800 a 3,000 msnm.
Precipitación	2,065 a 3,900 mm.
Temperatura	12.5 a 18.6

(Fuente: De La Cruz S.)

5.2.2. Manejo del estudio

Para la realización del presente estudio, fue dividido en tres fases:

5.2.3. FASE I. Recolección de muestras.

Las muestras de miel fueron recolectadas durante la época de cosecha, en el transcurso de los meses de Diciembre 2011 a Febrero 2012, en cada centro de acopio. Para la recolección de las muestras se utilizaron frascos estériles, debidamente identificados con fecha, nombre del centro de acopio, número de muestra etc.

Se tomaron cinco muestras de 100 ml. de cada región apícola, estas fueron trasladadas al laboratorio en una hielera a temperatura ambiente, cada muestra se cubrió con papel mayordomo y se colocaron en una bolsa color negro, con el propósito de evitar cambios en las características físicas y químicas de la miel a causa de factores externos, como la luz y calor durante el periodo de transporte hacia el laboratorio.

5.2.4. FASE II. Análisis de laboratorio.

5.2.4.1. Ubicación del área de trabajo

El estudio se llevó a cabo en el LIPRONAT (Laboratorio de Investigación de Productos Naturales), ubicado en el edificio T10 de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.2.4.2. Método utilizado

El método que se utilizó para ejecutar este estudio fue el Test con 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH). Este método de DPPH es un ensayo colorimétrico simple basado en la capacidad de absorbancia de la luz UV-Visible del radical DPPH (púrpura profundo) después de la adición de un compuesto antioxidante, el rango de evaluación de la solución es a 490 nm. La adición de un antioxidante

determina el debilitamiento de este color, y la proporción se relaciona con la eficacia neutralizadora del radical.

5.2.4.3. Procedimiento para determinación de la actividad antioxidante.

- Identificación de muestras: Cada tubo de ensayo se rotuló indicando la región de cada muestra de miel.
- Determinación de la actividad antioxidante por cromatografía en capa fina (CCF) por muestra de cada departamento (Ensayo Macrométrico)
- Se pesó 1.0 g de miel, y se agregó 1 ml de metanol al 95%, se calentó en baño de María durante 25 minutos aproximadamente.
- Se aplicó 10µL de la muestra preparada en el paso anterior, y 5µL del estándar antioxidante (Terc-Butil-Hidroquinona (TBHQ), Rutina, Quercitina, Vitamina C, Vitamina E y Trolox) en una placa cromatográfica de silica gel 60F254.
- Se colocó la placa en una cámara de vidrio saturada previamente con acetato de etilo (ml): ácido acético (ml): ácido fórmico (ml): agua (ml) (33.3:3.6:3.6:8.6), durante aproximadamente 30 minutos.
- Se asperjó con DPPH (1mg/ml en metanol).
- Y se observó la reacción.¹
- Se utilizó un medidor de color. (LIPRONAT, 2005)

5.2.5. Determinación de la actividad antioxidante total por medio del reactivo de DPPH (Ensayo Micrométrico)

Se preparó la muestra pesando aproximadamente 2.5 g de miel, luego se procedió a diluirlo en 5 ml de metanol, y finalmente se agitó vigorosamente hasta

¹ Se observó cambio en la coloración de la placa.

diluir completamente la miel. (muestra madre). (LIPRONAT, 2005)

5.2.6. Preparación de 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH)

Se pesó, 5.5 mg de DPPH y en un balón se aforó hasta 25 ml con metanol, el reactivo se preparó el mismo día de su utilización se mantuvo aislado de la luz cubriendo el recipiente con papel aluminio.

5.2.7. Buffer de acetatos:

- En un balón aforado de 250 ml se agregó 2.72 g de acetato de sodio anhidro en 100 ml de agua destilada.
- Se agregó 2.4 ml de ácido acético a 47.5 ml de la solución de acetato de sodio.
- Se ajustó la solución a un pH 6.0 con una solución de NaOH (se disolvió 24 g de NaOH en 100 ml de agua destilada) y se aforó con agua destilada hasta 250 ml. (LIPRONAT, 2005).

5.2.8. Preparación de los tubos de reacción:

- Se utilizaron tubos de ensayo con capacidad de 10 ml, en los cuales se lavaron correctamente agregando agua desmineralizada después de su lavado para evitar que interfirieran otras sustancias ajenas.
- Los tubos se recubrieron completamente con papel aluminio para proteger la reacción de la luz, la cual puede degradar la vitamina C. (LIPRONAT, 2005).

5.2.9. Medición de la actividad antioxidante

- Se realizó una prueba preliminar de la actividad antioxidante total de la muestra. Para ello se preparó un blanco, el tubo control, el blanco de muestra. Se incubó a temperatura ambiente por 30 min, en oscuridad. Se leyó la absorbancia del extracto a 517 nm. Y se calculó el porcentaje de disminución de la absorbancia causada por la muestra. Con este resultado se estableció las diluciones de trabajo.
- Se rotuló los tubos de ensayo y se midió las cantidades de los reactivos que se indican en el Cuadro No. 5.
- Para cada muestra se realizó un blanco de muestra, y se trabajó las muestras por triplicado. Se repitió el ensayo con diluciones de la muestra de 1:5, 2:5, 3:5, 4:5. Las diluciones se realizaron con metanol absoluto.
- Luego de haber medido las sustancias anteriormente descritas, se agitó en un vortex por 30 seg.
- Luego se incubó a temperatura ambiente por 30 min, protegiéndolas de la luz.
- Posteriormente se realizó la medición de absorbancia en espectrofotómetro a 517 nm contra el blanco respectivo.
- Se tomó el tiempo (min), durante se llevaba a cabo la reacción del DPPH con la muestra. (LIPRONAT, 2005)

Cuadro 4. Estándar para medición de la capacidad antioxidante

	Blanco Control	Control	Blanco Ensayo	Ensayo
Buffer de acetatos	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Metanol	2 ml	1.5 ml	1.9 ml	1.4 ml
Solución de DPPH		0.5 ml		0.5 ml
Muestra			0.1 ml	0.1 ml

LIPRONAT, 2005)

5.3. FASE III. Interpretación de resultados.

Los resultados obtenidos en el laboratorio, fueron analizados y comparados, para determinar la diferencia estadística en la actividad antioxidante de las muestras provenientes de los cinco departamentos, utilizando la prueba de t de Student.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El principal objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la actividad antioxidante de la miel, esto con la finalidad de resaltar otra de las cualidades que posee la miel de abeja *Apis mellifera*, y así lograr obtener de una manera fácil y sencilla una alternativa de antioxidantes en alimentos naturales para el consumo humano.

En el Cuadro 6, se detallan los resultados de la cromatografía de capa fina, evaluando cualitativamente la actividad antioxidante, donde se observa el color inicial del radical libre DPPH (púrpura) y la decoloración final, en las bandas respectivas. Tomando como muestra positiva, la que disminuye en mayor cantidad la tonalidad del DPPH y tomando como negativa la muestra en la cual no varía de tonalidad. (LIPRONAT, 2005).

Cuadro 5 Determinación de Actividad Antioxidante por medio de Cromatografía en Capa Fina (Ensayo Macrométrico)

Departamento	Decoloración	Variación de color	
Sacatepéquez	+++	Disminución de intensidad	Muestra positiva
Santa Rosa	++	Disminución de intensidad	Muestra positiva
Petén	+	Sin variación	Muestra negativa
Chiquimula	+	Sin variación	Muestra negativa
San Marcos	+	Sin variación	Muestra negativa

Elaboración Propia.

Fuente: Datos experimentales.

Nota: +: Bajo ; ++: Medio; +++: Fuerte

Los resultados en la tabla 4, se muestran en orden descendente según la intensidad de decoloración de la banda. Sacatepéquez mostró una decoloración fuerte (+++), Santa Rosa decoloración media (++) , Petén, Chiquimula y San Marcos mostró una decoloración baja (+).

Las muestras de miel, de los departamentos de Sacatepéquez y Santa Rosa, presentaron mayor intensidad en la decoloración del DPPH², lo cual indica una mayor capacidad para absorber los radicales libres, Las muestras de los departamentos de Petén, Chiquimula, San Marcos no presentaron una decoloración significativa en las bandas, por lo tanto demuestra que los antioxidantes presentes en las diversas mieles analizadas, no operan de la misma manera inhibiendo al radical DPPH.

Para esta prueba se utilizaron como estándares comparativos, el Terc-butil-hidroquinona (TBHQ), Quercitina, Vitamina C, Vitamina E y Trolox debido a que estos compuestos poseen actividad antioxidante conocida.

Así mismo, se procedió a realizar un ensayo micrométrico, este se basa en la utilización de un espectrofotómetro que mide las variaciones de color y determina valores de absorbancia, dirigiendo el haz de luz de forma horizontal, el cual atraviesa una celda individual, y además el equipo permite establecer la longitud de onda específica a la cual se realizaron las determinaciones. (Olave D. 2007).

Los valores de la concentración aproximada de la Actividad Antioxidante Total (AAT) se obtuvieron por medio de un análisis de regresión lineal.

² DPPH (1,1-difenil-2 picrilhidrazina), radical libre utilizado en el estudio.

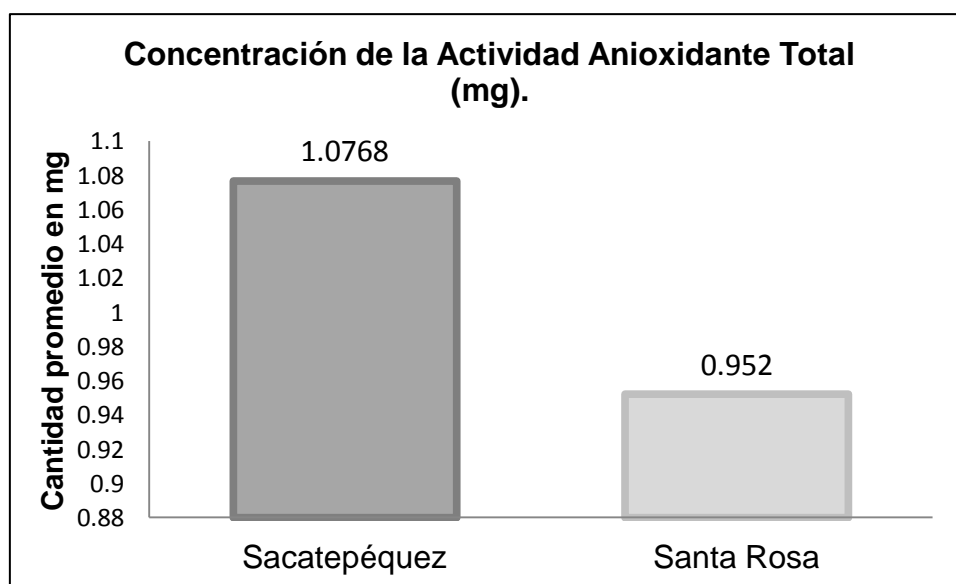
Cuadro 6. Resultados de la Actividad Antioxidante Total (mg), (Ensayo Micrométrico)

Departamento	Actividad Antioxidante Total Expresada como (IC) ³		
	Promedio (mg.)	Valor Min	Valor Máx
Sacatepéquez	1.0768	0.702	1.913
Santa Rosa	0.952	0.873	0.997

Elaboración propia.

Fuente: Datos experimentales.

Figura 2 Resultados de la Actividad Antioxidante Total (mg).



Elaboración propia.

Fuente: Datos experimentales.

Para este método los resultados fueron expresados en base al valor de IC (porcentaje de inhibición), el cual indica la cantidad de antioxidantes que puede disminuir el porcentaje del color de una solución del radical libre DPPH. En base a lo anterior, en el Cuadro 6, se observa que el departamento de Sacatepéquez

³ IC: Porcentaje de inhibición.

presentó mayor actividad antioxidante total debido a que poseen valores de IC más alto.

Estas diferencias en los departamentos pueden ser causadas por las variaciones propias de cada muestra de miel, entre los factores que pudieron influir esta: la diversidad de especies vegetales y florales de las cuales las abejas obtienen el néctar. (Gutiérrez MG; Rodríguez A; Vit P. 2008)

Entre otros factores que influyen en la actividad antioxidante de las mieles de abeja se encuentran: la humedad, condiciones climáticas, azúcares presentes en la miel (fructosa) y color. Este último está relacionado con el contenido de minerales, polen y compuesto fenólicos. Un estudio realizado en México, menciona que las mieles oscuras tienen un alto contenido de fenoles y consecuentemente una alta capacidad antioxidante. (Ulloa JA. et al. 2010).

Según un estudio similar realizado por (Frankel, et al. 1998), se comprobó actividad antioxidante en miel de abeja *Apis mellífera*, explicando que la composición química de la miel, varía según la especie floral que se utiliza como fuente del néctar, sugiriendo que las propiedades antioxidantes de la miel están relacionadas con su color. Cabe resaltar que las mieles de los departamentos de Sacatepéquez y Santa Rosa mostraron tener una coloración más oscura que las mieles de los departamentos de Chiquimula, San Marcos y Petén. Los pigmentos que contiene la miel (carotenoides y flavonoides), pueden ser los factores responsables de las variaciones en la actividad antioxidante total encontradas dentro de cada grupo botánico. (Gutiérrez MA, 2008).

Por su origen vegetal la miel contiene flavonoides y polifenoles muy diversos según las condiciones climáticas de cada departamento (Ulloa JA. et al. 2010). En general en el departamento de Santa Rosa existen diferentes zonas de vida vegetal, según, De la Cruz basado en el sistema Holdridge, en donde

predomina Bosque Muy Húmedo Subtropical Templado bmh - S (t). Al igual que el departamento de Sacatepéquez, presenta diferentes zonas de vida en la cual predomina Bosque muy húmedo Montano Bajo Subtropical templado (bmh-MB), por lo tanto la vegetación de estos departamentos es muy variada, a continuación se mencionan los árboles frutales, cultivos y árboles más predominantes de cada departamento.

Cuadro 7. Identificación botánica de los departamentos de Sacatepéquez y Santa Rosa.

Variedad Botánica	Sacatepéquez	Santa Rosa
Árboles Comunes	<ul style="list-style-type: none"> • Corozo (<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.) • Ceiba (<i>Ceiba pentandra</i>), • Conacaste (<i>Enterolubium cyclocarpum</i>.) • Pino ocote (<i>Pinus psedustrobus</i>) • Pinabete (<i>Abies guatemalensis</i>) • Ciprés común (<i>Cupressus lusitanica</i>) • Cedro blanco (<i>Cupressus lusitanica</i>) • Gravilea (<i>Gravillea robusta</i>) 	<p>Predominando Coníferas y Encinas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pino (<i>Pinus psedustrobus</i>). • Ciprés (<i>Cupressu L.</i>) • Conacaste (<i>Enterolubium Cyclocarpum</i>.) • Ceiba (<i>Ceiba pentandra</i>.) • Cushin (<i>Inga paterno harms</i>). • Guachipilín (<i>Rhynchosia discolor M. Martens & Galeotti</i>) • Roble (<i>Nothofagus obliqua</i> (Mirb.) Oerst). • Pito (<i>Erythrina berteroana Urb</i>).
Frutales	<ul style="list-style-type: none"> • Banano (<i>Musa paradisiaca</i> L.) • Naranja (<i>Citrus sinensis</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • Mango (<i>Mangifera indica</i> L). • Manzana rosa (<i>Syzygium</i>

	<ul style="list-style-type: none"> • Limón (<i>Citrus limon</i>). • Fresa (<i>Fragaria vesca</i>.) • Durazno (<i>Prunus persica L.</i>) • Manzana (<i>Malus domestica</i>). • Aguacate (<i>Persea americana Mill.</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> <i>jambos</i>) • Jocote (<i>Spondias purpurea</i>). • Paterna (<i>Inga paterno</i>). • Aguacate (<i>Persea americana Mill</i>). • Limón (<i>Citrus limon</i>). • Naranja (<i>Citrus sinensis</i>). • Banano (<i>Musa paradisiaca L.</i>)
Cultivos	<ul style="list-style-type: none"> • Café (<i>Coffea arabica L.</i>) • Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) • Maíz (<i>Zea mays L.</i>) • Frijol (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • Maíz (<i>Zea mays L.</i>) • Frijol (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>) • Hortensia (<i>Hydrangea</i>).

Fuente: (Rivera WD; Vasquez JF. 2004; Alvarado AJ. 2011)

Las abejas recolectan usualmente materiales lipofílicos, como gomas y resinas que producen muchos árboles, generalmente en heridas de las planta. Según estudio realizado por Calderon en el año 2009, sucede en propóleos, en el que las abejas recolectan resinas de árboles de climas templados, particularmente los [árboles](#) del tipo [conífera](#), por tal razón, se ha comprobado que el propóleo contiene flavonoides del tipo flavonas, flavanonas y ácidos fenólicos. En el trópico este tipo de árboles es menos común, por lo que las abejas han tenido que buscar otras fuentes de resinas, de tipo florales, con lo cual, se comprueba que hay mayor capacidad antioxidantes en propóleos recolectados en climas templados (Calderon RA, 2009). Así mismo, en las zonas templadas de Guatemala se observa en los apiarios mayor cantidad de propóleos, que en apiarios de la costa Sur. ⁴ Por tal razón, concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde se comprueba que hay mayor actividad antioxidante en mieles recolectadas en los departamentos con una condición climática más templada.

⁴ García E. 2014. Comunicación Personal.

Una de las características que presentan los departamentos de Sacatepéquez y Santa Rosa, donde se obtuvieron las muestras de mayor actividad antioxidante es que ambos departamentos poseen clima templado, prevaleciendo en su vegetación los árboles coníferos, así como los cítricos, cultivos de café, entre otros, de acuerdo a los resultados se encuentra una relación similar al estudio realizado con otro producto de la colmena.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico de prueba de t de Student para las muestras. Con un 95% de confianza, encontrando una diferencia estadísticamente significativa al 5%, en la cual, las muestras de miel del departamento de Sacatepéquez presentaron mayor actividad antioxidante frente a las mieles del departamento de Santa Rosa, con una diferencia de las medias de 0.1248 mg a favor de las mieles de Sacatepéquez.

VII. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente estudio se concluye:

- Las muestras de miel recolectadas en regiones de clima templado, presentaron actividad antioxidante, mientras que en las mieles de clima cálido no se detectó actividad antioxidante.
- Las mieles provenientes del departamento de Sacatepéquez presentaron mayor actividad antioxidante, frente a las mieles de Santa Rosa, tanto en ensayos macrométricos como micrométricos, mientras que en las de Chiquimula, Petén y San Marcos no se detectó actividad antioxidante.

VII. RECOMENDACIONES

- Determinar la actividad antioxidante de otros productos que recolecta o produce la abeja *Apis mellifera*, como posible fuente alternativa de antioxidantes.

VIII. RESUMEN

La apicultura es una actividad productiva y últimamente ha tomado especial importancia a nivel mundial, por diferentes motivos, entre ellos se menciona, económicos debido a los productos derivados de la colmena, la importancia en el ambiente con la polinización, además como medicamento alternativo para el tratamiento de diversas enfermedades, entre las que se puede mencionar antibacterianas, antiinflamatoria, cicatrizante y antioxidante.

La miel de abeja, posee diversas propiedades que ayudan a los seres humanos, a contrarrestar daños que factores externos ocasionan, es habitual que en la actualidad se mencionen los daños que provocan los radicales libres, produciendo alteraciones genéticas sobre las células que se dividen continuamente, contribuyendo a aumentar el riesgo de cáncer, a la aparición de enfermedades asociadas con el proceso de envejecimiento como el Alzheimer, trastornos cardiovasculares, cataratas y otras alteraciones.

Con base a lo anterior, el propósito de este estudio fue identificar la actividad antioxidante que posee la miel de abeja, recolectada en cinco diferentes áreas apícolas de la República de Guatemala, (San Marcos, Petén, Santa Rosa, Chiquimula; Sacatepéquez). El estudio se dividió en tres fases: 1. Recolección de muestra, 2. Análisis de laboratorio, 3. Interpretación de resultados.

Conforme a los resultados obtenidos, las mieles de climas templados como Sacatepéquez y Santa Rosa poseen mayor actividad antioxidante, que las mieles de clima cálido como Chiquimula, Petén y San Marcos, así mismo, las mieles recolectadas de Sacatepéquez presentaron mayor actividad antioxidante, frente a las mieles de Santa Rosa tanto en ensayos macrométricos como micrométricos, mientras que en las de Chiquimula, Petén y San Marcos no se detectó actividad antioxidante.

SUMMARY

Beekeeping is a productive activity and has recently taken special importance worldwide, for various reasons, including mentions, economic because the products of the hive, the importance in the environment with pollination, as well as alternative medicine for treatment of various diseases, among which can be mentioned antibacterial, anti-inflammatory, healing and antioxidant.

The honey bee, has several properties that help humans to counteract external factors cause damage, it is common today for damage caused by free radicals are mentioned, producing genetic changes on cells continually divide, contributing to increased cancer risk, the onset of diseases associated with aging such as Alzheimer's, cardiovascular disease, cataracts and other disorders diseases.

Based on the above, the purpose of this study was to identify the antioxidant activity that has the honey, bee collected in five different areas of the Republic of Guatemala (San Marcos, Petén, Santa Rosa, Chiquimula, Sacatepéquez). The study was divided into three phases: 1. Sample collection, 2. Laboratory analysis 3. Interpretation of results.

According to the results, the honey temperate as Sacatepéquez and Santa Rosa have greater antioxidant activity than honey warm weather as Chiquimula, Petén and San Marcos, also, the honey collected from Sacatepéquez showed higher antioxidant activity against honeys Santa Rosa macrometer both trials as micrometer, while the Chiquimula, Petén and San Marcos antioxidant activity is not detected.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarado AJ. 2011. Caracterización de la flora apibotánica en la zona de influencia de la asociación de apicultores del Sur occidente de Guatemala (adasog) en el municipio de Coatepeque, departamento de Quetzaltenango, Guatemala (en línea). Consultado 22 abr. 2014. Disponible en línea http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1221.pdf
2. Avello M; Suwalsky M, 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección (en línea). Consultado 23 oct. 2011. Disponible http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s071804622006000200010&script=sci_arttext.
3. Bogdanov, S. 2003. Honey Quality and International Regulatory Standards: Review of the Work of the International Honey Commission. (en línea). Consultado 26 oct. 2011. Disponible en http://www.beekeeping.com/articles/us/honey_quality.htm
4. Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary source, metabolism, and nutritional significance. Nutrition reviews 56(11):317-333. (en línea). Consultado 13 Oct. 2011. Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.17534887.1998.tb01670.x/referenc>
5. Calderón RA; Sánchez LA; Ramírez F. 2012. Un quehacer con impacto social. El sistema productivo apícola: una alternativa para el desarrollo sostenible de la Región Central Sur de Costa Rica. (en línea). Consultado 16 abr. 2014. Disponible en www.revistas.una.ac.cr/index.php/dialogo/article/download/5607/5483

6. CODEX NORMA PARA LA MIEL. CODEX STAN 12-1981. sf. (en línea). Consultado 29 oct. 2011. Disponible en www.codexalimentarius.net/download/standards/310/cxs_012s.pdf
7. Combs GF. 1998. Vitaminas. En: nutrición y dietoterapia de Krause. 10ª ed. Mc Graw Hill, México (en línea). Consultado 13 oct. 2011. Disponible en http://books.google.com.gt/books?id=Kr7IFsN2DboC&pg=PA337&dq=:+nutricion+y+dietoterapia.++Mc+Graw+Hill&hl=es&ei=LSCbTok_h7i3B_elhfAD&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2&ved=0CDQQ6AEwAQ#v=onepage&q&f=false.
8. Cruz S., JR. De la 1982. Clasificación de Zonas Vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala. Instituto Nacional Forestal. 42 p.
9. Delgado O. et al. 2010. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo.50: 10-15 (en línea). Consultado 24 oct. 2011. Disponible en http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/674/674157440_03.pdf
10. Delmoro SO *et al.* 2010. El color en los alimentos: Determinación de color en mieles. p. 145-152. (en línea). Consultado 31 oct. 2011. Disponible en http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/877/877151_16010.pdf
11. Duthie GG; Duthie SJ. 2000. Plant polyphenols in cáncer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. (en línea). Consultado 13 oct. 2011. Disponible en http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FNRR%2FNRR13_01%2FS095442240000056a.pdf&code=93ea2207e59223dc6cb28dbfe6e39fd

12. Frankel, S; Robinson, GE.; Berenbaum, MR. 1998. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 uniflora honeys. (en línea). Consultado 3 nov. 2011. Disponible en <http://www.fstadiirect.com/GetRecord.aspx?AN=1998-10-Lg0464>
13. Gómez D; Navaza JM; Quintáns LC. 2004. Estudio viscosimétrico preliminar de mieles de bosque denominación específica. (en línea). Consultado 26 oct. 2011. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/724/72440401.pdf>
14. Gutiérrez MG; Rodríguez A; Vit P. 2008. Miel de abejas: Una fuente de antioxidantes. (en línea). Consultado 22 feb. 2013. Disponible en línea http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16255/1/ff2008_gutierrez.pdf
15. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? Lab Clin Med 119:598-620 (en línea). Consultado 24 oct. 2011. Disponible en <http://www.auraresearch.com/hall2.htm>
16. Hicks JJ. 2007. Bioquímica. México. edit. McGRAW-HILL Interamericana S.A. Segunda edición. 39:690-692.(en línea). Consultada 13 Oct. 2011. Disponible en <http://es.scribd.com/doc/6869194/RADICALES-LIBRES>
17. Hurtarte EO; Hernández ES; García IB. 2006. Programa forestal nacional de Guatemala - agendas de integración procedentes de diversas regiones forestales del país. (en línea). Consultado 13 oct. 2013. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/009/a0970s/a0970s08.htm>
18. Jean-Prost, P; Medori, P; Le Conte, Y. 2006. Apicultura: Conocimiento de la abeja, Manejo de la colmena. 4ta edición. Edición Mundi-Prensa. México. p. 771. (en línea). 3 nov. 2011. Disponible en <http://books.google.com>.

gt/books?id=NRnVIm_rp6kC&pg=PA440&dq=composicion+de+la+miel&hl=e&ei=7Oy5Ttr4Gd
GXtwfGI_TMBw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=8&ved=0CEwQ6AEwBw#v=onepag
e&q&f=false

19. Koracevic D, et al. 2001. Method for measurement of antioxidant activity in human fluids (en línea). Consultado 31 oct. 2011. Disponible en <http://jcp.bmj.com/content/54/5/356.abstract>
20. Kushnir. 2000. Composición de la miel de abeja, (en línea). Consultado 3 nov. 2011. Disponible en <http://academic.uprm.edu/dpesante/5355/lamieldeaabejas.PDF>
21. LIPRONAT. 2005. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
22. Molan P. 2001. Why honey is effective as a medicine. 2. The scientific explanation of its effects. En: Honey and Healing. (en línea). Consultado 31 oct. 2011. Disponible en http://researchcommons.waikato.ac.nz/handle/10_289/2060
23. Olave D. 2007. Espectrofotometría. (en línea). Consultado 7 Oct. 2013. Disponible en línea <http://www.metrologiaindust.com.ar/Servicios/Capacitacion/Curso2/Material/Diapositivas/5-Espectrofotometria.pdf>
24. Pérez E, Rodríguez, AJ, Vit P. 2006. Antioxidant capacity of Venezuelan honey in Wistar rat homogenates. (en línea). Consultado 31 oct. 2011. Disponible en <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/jmf.2006.9.510>
25. Rivera WD; Vasquez JF. 2004. Parques ecoturísticos para el departamento de Sacatepéquez: Propuesta para los municipios de Santiago Sacatepéquez, Santo Domingo Xenacoj y San

- Miguel Dueñas. (en línea). Consultado 3 nov. 2013. Disponible en línea http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/02/02_1230.pdf
26. Rodríguez AJ; Pérez E; Vit P. 2007. Capacidad antioxidante de mieles venezolanas de los géneros Apis, Melipona y Tetragonisca, evaluada por tres métodos (en línea). Consultado 31 oct. 2011. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S079804772007000200002&script=sci_arttext.
27. Salamanca, GG. Sf. El sistema de puntos críticos en la actividad apícola extracción y beneficio de la miel. (en línea). Consultado 26 oct. 2011. Disponible en http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/miel/88_sistema_puntos_critico_mil_colombia.PDF
28. Tomás, F. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. (en línea). Consultado 3 nov. 2011. Disponible en <http://digital.csic.es/handle/10261/18042>.
29. Ulloa FA. et al. 2010. La miel de abeja y su importancia. (en línea). Consultado 22 nov. 2013. Disponible en línea <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf>
30. Vit P. et al. 2009. Comparación de mieles producidas por la abeja yateí (Tetragonisca fiebrigi) en Argentina y Paraguay. (en línea). Consultado 5 feb. 2013. Disponible en línea http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572009000200007&script=sci_arttext
31. Vit P. et al. 2008. Mieles checas categorizadas según su actividad antioxidante. (en línea). Consultado 27 feb. 2014. Disponible en línea <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032529572008000200009&script=s>

32. Vit, P. 2006. Iniciación a la apiterapia. Primera edición. Venezuela. (en línea). Consultado 26 oct. 2011. Disponible en http://herbogeminis.com/IMG/pdf/apiterapia_iniciacion.pdf#page=16
33. Vizi, AV. 2005. Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: Contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources, Antioxidants and Redox Signaling. p 1140-1149 (en línea). Consultado 23 oct. 2011. Disponible en http://scholar.google.com.gt/scholar?hl=es&q=Production+of+reactive+oxyge+species++in+brain+mitochondria:+Contribution+by+electron+transport+chain+and+nonelectron+transport+chain+sources,++Antioxidants+and+Redox+Signaling.&gs_sm=e&gs_upl=2754135861014462110101010101010101010&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.,cf.osb&biw=819&bih=563&um=1&ie=UTF8&sa=N&tab=ws.
34. Wollgast, J; Anklam, E. 2000. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. (en línea). Consultado 3 nov. 2011. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000685>.

XI. ANEXOS

Figura 3. FASE I. Recolección de la muestra



Muestras recolectadas en Centros de Acopio, durante la época de cosecha Diciembre 2011-febrero 2012

Figura 4. Análisis de laboratorio



Aplicando los Estándares Comparativos

Aspersión con Radical DPPH.

Análisis realizados en LIPRONAT, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC.

Figura 5. Determinación de Actividad Antioxidante por medio de Cromatografía en Capa Fina (Ensayo Macrométrico)



SAC SR.

