

Conociendo la miel de *Melipona favosa* en la Península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela

Knowing the Melipona favosa honey from Paraguaná Peninsula, Falcon state, Venezuela

PATRICIA VIT¹, ARELIS MEJÍAS¹, LEANDRA RIAL¹, JAVIER RUIZ¹, SONEIDA PEÑA¹, ANA CAROLINA GONZÁLEZ², ANTONIO RODRÍGUEZ-MALAVAR³, MEYLIN ARRÁEZ⁴, CARLA GUTIÉRREZ⁴, ALICIA ZAMBRANO⁴, ORTRUD MONIKA BARTH⁵

RESUMEN

Diversas especies de abejas sin aguijón producen miel de botija en Venezuela, la cual no está incluida en las normas venezolanas de calidad. Una de estas especies, la *Melipona favosa*, vive en la Península de Paraguaná, donde se conoce como erica o maba. A fin de conocer las mieles de *M. favosa*, se realizó la determinación de su origen botánico, su caracterización físicoquímica según los métodos de la norma COVENIN 2136-84 para miel de abejas y contenido de nitrógeno por microkjeldahl, y de actividad biológica con métodos espectrofotométricos y de concentración inhibitoria mínima, en seis mieles. Son mieles claras de color ámbar entre 18 y 79 mm Pfund. La composición físicoquímica varió así: acidez libre 12,72-95,86 meq/kg, pH 3,53-4,44, humedad 25,40-32,00 g agua/100 g, 0,01-0,16 g cenizas/100g, 10,48-57,55 mgN/100 g, 62,60-69,50 g azúcares reductores/100 g, 0,60-5,10 g sacarosa aparente/100 g, flavonoides 0,10-8,15 mgEQ/100g miel, y polifenoles 51,50-217,19 mgEAG/100 g. La actividad antibacteriana (g miel/100 mL medio de cultivo) fue mayor contra *E. coli* (12,50-50,00) que contra *S. aureus* (50,00-50,00). La actividad antioxidante se ubicó en un rango bajo a alto para mieles, con 45,91-227,92 μ moles equivalentes de Trolox/100 g. El análisis melisopalinológico indicó polen dominante del género *Portulaca* y la especie *Carica papaya*.

Palabras clave: análisis físicoquímicos, antioxidante, antibacteriano, *Melipona favosa*, melisopalinología, miel, Venezuela.

ABSTRACT

Diverse species of stingless bees produce por honey in Venezuela, which is not included in the Venezuelan regulations of honey quality. One of these species, the *Melipona favosa*, lives in the Paraguaná Peninsula, where it is known as erica or maba. In order to know the honeys of *M. favosa*, the botanical origin was determined, their physicochemical characterization was done according to the methods of the norm COVENIN 2136-84 for honey, the nitrogen content by microkjeldahl, and biological activity by spectrophotometric and minimum inhibitory concentration methods, in six honeys. They are light honey amber color between 18 and 79 mm Pfund. The physicochemical composition varied as follows: free acidity 12.72-95.86 meq/kg, pH 3.53-4.44, moisture 25.40-32.00 g water/100 g, 0.01-0.16 g ash/100g, 10.48-57.55 mgN/100 g, 62.60-69.50 g reducing sugars/100 g, 0.60-5.10 g apparent sucrose/100 g, flavonoids 0.10-8.15 mgQE/100g honey, and polyphenols 51.50-217.19 mgGAE/100 g. The antibacterial activity (g honey/100 mL culture media) was higher against *E. coli* (12.50-50.00) than *S. aureus* (50.00-50.00). The antioxidant activity was in a low to high range for honeys, with 45.91-227.92 μ moles Trolox equivalents/100 g.

Key words physicochemical analysis, antioxidant, antibacterial, *Melipona favosa*, melissopalynology, honey, Venezuela.

¹ Apiterapia y Bioactividad, Departamento Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

² Laboratorio Roberto Gabaldón, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

³ Laboratorio de Bioquímica Adaptativa, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

⁴ Laboratorio Físicoquímico, Departamento de Registro y Control de Alimentos, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Ciudad Universitaria, Caracas, Venezuela.

⁵ Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz and Department of Botany, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.
Autor principal: Tlf. 0274-2403565 (of) Fax 0274-2711802 vitolivier@gmail.com

INTRODUCCIÓN

En Venezuela hay normas de calidad sólo para la miel de abejas producida por *Apis mellifera*^(1,2), las cuales no han sido revisadas desde el año 1984; sin embargo, también se produce y se comercializa la miel de abejas sin aguijón. Estas abejas habitan en las regiones tropicales y subtropicales del plantea⁽³⁾, se conocen como Meliponini, y están representadas por casi 400 especies en el Neotrópico⁽⁴⁾.

El primer registro de abejas sin aguijón fue publicado en el año 1557 por el mercenario alemán Hans Staden en Brasil⁽⁵⁾. La *Melipona favosa* fue la primera abeja sin aguijón descrita por el entomólogo danés Fabricius, en el año 1798⁽⁴⁾; en Venezuela, esta abeja se conoce coloquialmente como erica y maba, la cual también habita en la Península de Paraguaná del estado Falcón, Venezuela.

La composición de la miel de *M. favosa* producida en Venezuela ha sido estudiada previamente en 14 mieles de los estados Apure, Barinas, Bolívar, Guárico, Lara Nueva Esparta y Sucre⁽⁶⁾, cinco mieles de los estados Apure, Barinas y Mérida⁽⁷⁾ y apenas tres mieles del estado Falcón^(7,8,9), donde se indica la necesidad de normas requeridas para comercializar estas mieles.

En este trabajo se caracterizaron trece mieles paraguayanas de *M. favosa* según su composición fisicoquímica y actividad biológica,

METODOLOGÍA

Miel

En un meliponario ubicado cerca de Moruy, se recolectaron aproximadamente 250 g de miel de botijas (Ver Figura 1) por succión con una inyectora de 10 mL, la cual se almacenó en un envase plástico hermético y se congeló hasta su análisis.

Análisis físico-químicos

Se evaluó color en mm Pfund, con el colorímetro Hanna Honey Color 221; pH, acidez libre, humedad, azúcares reductores y sacarosa aparente, por el método de Lane y Eynon, según se indica en la norma para miel de abejas⁽¹⁾. El contenido de nitrógeno se midió por microKjeldahl⁽¹⁰⁾. Se realizaron mediciones cualitativas de hidroximetilfurfural, según reacción de Fiehe, y la actividad de la diastasa⁽¹¹⁾. Se utilizaron métodos espectrofotométricos para medir el contenido de flavonoides to-

tales⁽¹²⁾ expresados en equivalentes de quercetina (EQ) y de polifenoles⁽¹³⁾ expresados en equivalentes de ácido gálico (EAG).

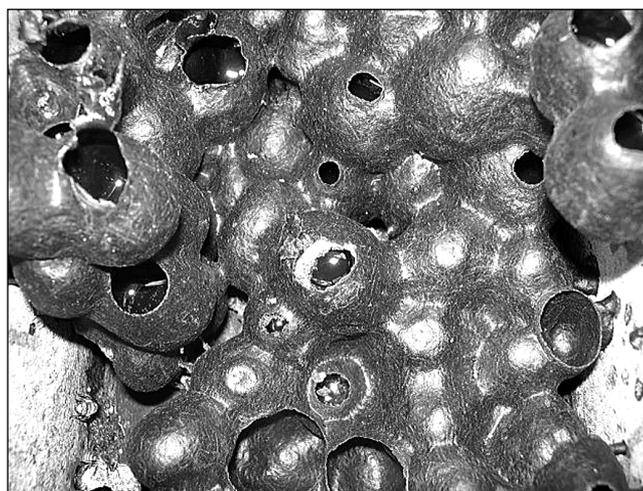


Figura 1. Miel de botijas en colmena de *Melipona favosa*.

Actividad biológica

La actividad antioxidante se evaluó con el método del catión radical ABTS, el cual utiliza una curva patrón con Trolox (14) (Re y col., 1999). La actividad antibacteriana se midió con el método de concentración inhibitoria mínima (CIM) según los estándares del CLSI⁽¹⁵⁾, utilizando cepas de la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y de la Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922. Ambas bacterias son de interés en humanos; *S. aureus* en infecciones intrahospitalarias, *E. coli* porque causa infecciones urinarias y en el enterón.

Análisis melisopalinológico

Se diluyeron las mieles con agua, se centrifugaron y se montaron con la técnica de polen natural⁽¹⁶⁾. El polen se identificó con ayuda de una palinoteca de referencia y sus recuentos permitieron asignar clases de frecuencia.

Análisis estadísticos

Se realizó estadística descriptiva con medias \pm desviación estándar, utilizando SPSS 12.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan la composición fisicoquímica de la miel de *M. favosa*, junto con su actividad biológica antibacteriana y antioxidante. La gran variabilidad

en algunos parámetros de calidad de las mieles ocurre debido quizás a la variabilidad ocasionada por el tipo de flores visitadas. Simplemente se cosecharon mieles de *Melipona favosa* muy claras y mieles más oscuras. La acidez libre es otra variable con elevada desviación estándar, la cual también puede variar con la estacionalidad.

Tabla 1
Composición y bioactividad de mieles de *Melipona favosa*, n=13

Parámetros	Media - DE	Min	Max
Fisicoquímicos			
Color (unidades Pfund)	34,92 ± 18,70	18	79
Humedad (g/100 g miel)	29,37 ± 1,58	25,40	32,00
Cenizas (g/100 g miel)	0,08 ± 0,05	0,01	0,16
Hidroximetilfurfural (cualitativo)	negativo	negativo	negativo
pH	3,86 ± 0,33	3,53	4,44
Acidez libre (miliequivalentes/kg miel)	55,38 ± 28,34	12,72	95,86
Nitrógeno (mg/100 g miel)	42,19 ± 13,19	10,48	57,55
Actividad de la diastasa (cualitativo)	negativa	negativa	negativa
Azúcares reductores(g/100g miel)	66,06 ± 2,43	62,60	69,50
Sacarosa aparente (g/100 g miel)	2,57 ± 1,43	0,60	5,10
Flavonoides (mg EQ/100 g miel)	1,97 ± 1,96	0,10	8,15
Polifenoles (mg EAG/100 g miel)	127,14 ± 55,75	51,50	217,19
Actividad biológica			
Actividad antibacteriana contra <i>E. coli</i> (g miel/100 mL medio de cultivo)	35,58 ± 13,91	12,50	50,00
Actividad antibacteriana contra <i>S. aureus</i> (g miel/100 mL medio de cultivo)	50,00 ± 0,00	50,00	50,00
Actividad antioxidante total (mmoles equivalentes de Trolox/100 g)	118,37 ± 50,67	45,91	227,92

Los valores representan la media ± DE.

En un trabajo de revisión se sugieren estándares generales para diversas especies de abejas sin aguijón⁽¹⁷⁾, entre las cuales se incluyó la *M. favosa*. Aquí se muestran referenciales de 55,38 meq/kg, 0,08 g cenizas/100 g, 42,19 mg nitrógeno/100g, 66,06 g azúcares reductores/100 g, 2,57 g sacarosa aparente/100 g y 29,37 g agua/100 g. Los valores que allí se presentan para HMF y actividad de la diastasa, corresponden a los resultados cualitativos negativos encontrados aquí.

A continuación se comparan los resultados obtenidos en este trabajo con los siete requisitos de calidad de miel de abejas en la norma venezolana COVENIN 2191-84 1984 (1), que se refieren a miel de *Apis mellifera*: 1. Humedad (max 20%). 2. Azúcares reductores (min 65%). 3. Sacarosa (max 5%). 4. Acidez libre (max 40 meq/100 g). 5. Cenizas (max 0.5%). 6. Hidroximetilfurfural (negativo). 7. Actividad de la diastasa (positiva).

El contenido de flavonoides y de polifenoles fue similar a mieles de *A. mellifera* (18), pero no se correlacionó con la actividad antioxidante, la cual varió entre 45,91-227,92 μ moles equivalentes de Trolox/100 g, pertenecientes a las categorías baja (0-100) y alta (200-300) encontradas en mieles de *A. mellifera* (19).

En la literatura, Peter Molan (20) reporta valores CIM contra *S. aureus* entre 1,5 y 50,00. Al igual que con las mieles venezolanas de *Apis mellifera* (21), también con las mieles de *M. favosa* resultó *E. coli* más sensible que *S. aureus*. Las mieles de *M. favosa* tienen baja actividad antibacteriana, como puede apreciarse en la Tabla 1.

El origen botánico de las mieles quedó asignado de la siguiente manera: Cuatro mieles con polen dominante del género *Portulaca*, seis mieles con polen dominante de *Carica papaya*, acompañadas de *Medicago denticulata*, una con polen de *Alternanthera*, una de Rubiaceae, y una con polen desconocido acompañado de *Myrcia*. En las trece mieles analizadas no se puede generalizar sobre características atribuidas según el origen botánico; sin embargo, se pudo observar que las mieles de *Carica papaya* fueron más claras que las mieles de *Portulaca*.

CONCLUSIONES

Con este trabajo se caracterizó la miel de la abeja sin aguijón *M. favosa* del estado Falcón, la cual merece la atención de las autoridades sanitarias para proponer una norma de calidad. Nuestra contribución podría ser utilizada por el CT10 (Comité Técnico de Alimentos) de Fondo-norma, para iniciar la elaboración de la norma de control de calidad de miel de botija, producida por las diferentes especies de abejas sin aguijón de Venezuela. Además de *M. favosa*, un estudio reciente de la diversidad de abejas sin aguijón en San Juan de los Morros, permitió identificar tres especies (*Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* y *Trigona amaltea*), y se reportaron seis especies sin identificar de cuatro géneros (*Partamona*, *Plebeia*, *Trigona*, *Trigonisca*) de Meliponini⁽²²⁾, lo cual

es indicativo de la riqueza entomológica de las mieles venezolanas producidas en botija y no en panal.

CONSIDERACIONES FINALES

La composición de la miel genuina puede variar mucho, algunos de los factores que causan tal variación se conocen, pero otros no: por eso la consideré "enigmatic honey" en el libro *Melissopalynology Venezuela*⁽²³⁾. La miel no es un producto genérico sino variable. A veces la variación es pequeña, otras veces no. Por ejemplo, en la investigación preliminar sobre actividad anticáncer de dos mieles de *M. favosa* recolectadas en el meliponario del presente trabajo, se obtuvieron valores con diferencias de cuatro veces los valores de IC₅₀ (concentración de miel que ocasiona 50% de letalidad) en un modelo de cultivo celular de cáncer de ovario humano con el Prof. Fazlul Huq (Discipline of Biomedical Science, The Sydney University, Australia)⁽²⁴⁾. Detrás de cada miel aparentemente homogénea, hay un ramillete de flores que las distingue y caracteriza. No sólo en la composición del producto, sino también en su percepción por el consumidor. En la última edición del Simposio Pangborn sobre Ciencias Sensoriales (Toronto, Canadá, septiembre 2011), se presentaron numerosos trabajos sobre métodos y evaluaciones de las emociones generadas al consumir un alimento. Así, surge una línea novedosa para investigar las emociones percibidas por el consumidor de miel de botijas, como un componente adicional de sus propiedades medicinales.

Corresponderá a las nuevas generaciones hacer el trabajo de mieles uniflorales de *Melipona favosa*, como el realizado con las mieles uniflorales de *Apis mellifera* en Europa durante más de un siglo. Ello implicará muchos años de especialización, muestreo esmerado, dedicación y trabajo en equipo, con la certeza de algún descubrimiento importante ante tanta biodiversidad tropical.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes (CDCHT-ULA), por el apoyo recibido para los grupos de investigación Apiterapia y Bioactividad (APIBA), proyecto (ZD-CAL-FA-02-93) y Bioquímica Adaptativa, proyecto (ADG-M-09-05). A la memoria del Prof. JMF Camargo, Departamento de Biología, Universidad de São Paulo, Brasil, por la identificación entomológica de esta abeja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Comisión Venezolana de Normas Industriales. Miel de Abejas. Métodos de Ensayo. COVENIN 2136-84. Caracas: Fondonorma; 1984.
- (2) Comisión Venezolana de Normas Industriales. Miel de Abejas. COVENIN 2194-84. Caracas: Fondonorma; 1984.
- (3) Crane E. Bees and Beekeeping. Science, Practice and World Resources. Bath, UK: Heinemann Newnes; 1990.
- (4) Camargo J, Pedro S. Meliponini Lepageletier 1836. En: J Moure, D Urban, G Melo (Eds.) Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region. Curitiba, Brasil: Sociedade Brasileira de Entomologia; 2007, p. 272-578.
- (5) Engels W. The first record on Brazilian stingless bees published 450 years ago by Hans Staden. Gen Mol Res 2009; 8 (2): 738-743.
- (6) Vit P, Bogdanov S, Kilchenman V. Composition of Venezuelan honeys from stingless bees and *Apis mellifera* L. Apidologie 1994; 25(3):278-288.
- (7) Vit P, Persano Oddo L, Marano M, Salas de Mejías E. Venezuelan stingless bee honeys characterised by multivariate analysis of compositional factors. Apidologie 1998; 29:377-389.
- (8) Vit P, Enríquez E, Barth O, Matsuda A, Almeida-Muradian L. Necesidad del control de calidad de la miel de abejas sin aguijón. MedULA 2006; 15(2): 36-42.
- (9) Vit P, Rodríguez-Malaver A, Almeida D, Souza B, Marchini LC, Fernández Díaz C, et al. A scientific event to promote knowledge regarding honey from stingless bees: 1. Physical-chemical composition. Magistra 18(4): 270-276.
- (10) AOAC. Official Methods of Analysis. 14th ed. Arlington, USA: Association of Official and Analytical Chemists, INC; 1984.
- (11) Rodríguez B, Martín E. Análisis de Alimentos. Apuntes Mimeografiados. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1980.
- (12) Woisky R, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for. chemical quality control. J Apic Res. 1998; 37:99-105.
- (13) Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Meth Enzymol. 1999; 299: 152-178.
- (14) Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Rad Biol Med. 1999; 26(9/10) 1231-1237.
- (15) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth Informational Supplement; M100-S18, 25(1). Wayne, USA: CLSI; 2008.
- (16) Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G. 1978. Methods of melissopalynology. Bee World 1978; 59(4): 139-157.

- (17) Souza B, Roubik D, Barth O, Heard T, Enríquez E, Carvalho C, et al. Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. *Interciencia* 2006; 31(12): 867-875.
- (18) Frankel S, Robinson G, Berembaum M. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *J Apic Res.* 1998; 37(1):27-31.
- (19) Vit P, Gutiérrez M, Titera D, Bednár M, Rodríguez-Malaver A. Mielles checas categorizadas según su actividad antioxidante. *ABCL* 2008; 42(2): 237-244.
- (20) Molan P. Manuka honey as a medicine. 2001. Disponible en: www.bio.waikato.ac.nz/pdfs/honeyresearch/bioactives.pdf (consultado el 15.11.10).
- (21) Vit P, Rodríguez-Malaver A, Roubik D, Moreno E, Souza B, Sancho M, et al. Expanded parameters to assess the quality of honey from Venezuelan bees (*Apis mellifera*). *JAAS* 2008; 1(3):72-81.
- (22) Rodríguez Parilli R, Manrique A, Velásquez M. Diversidad de la comunidad de abejas sin aguijón (Hymenoptera: Apidae: Meliponina) en bosque seco tropical en Venezuela. *Zoot Trop.* 2008; 26(4):523-530.
- (23) Vit P. *Melissopalynology Venezuela*. Mérida, Venezuela: APIBA-CDCHT Universidad de Los Andes; 2005.
- (24) Vit P, Yu J, Huq F. Use of honey in cancer prevention and therapy. En: Vit P, Pedro SRM (Eds.) *Pot honey: A legacy of stingless bees*. New York, USA: Springer; submitted.