

COMPONENTES FENOLICOS DEL POLEN CORBICULAR COLOMBIANO Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIRRADICALARIA

PHENOLIC COMPOSITION ANTIOXIDANT AND FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF COLOMBIAN CORBICULAR BEE POLLEN

Guillermo Salamanca Grosso¹, July A. Hernández López¹, Mónica P. Osorio Tangarife¹

¹. Grupo de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Físicoquímicas de Alimentos

². Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. Campus Universitario de Santa Elena Parte Alta. Ibagué, Tolima.

Recibido: Agosto 1 de 2017

Aceptado: Octubre 2 de 2017

*Correspondencia del autor: Guillermo Salamanca Grosso. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima, E-mail: salamancagrosso@gmail.com

RESUMEN

El polen corbicular es un producto natural resultado de la actividad de las abejas que aglutinan los granos removidos de las anteras de las flores para el sustento de la colonia. El propósito de éste trabajo se ha centrado en la cuantificación de las fracciones fenólicas presentes en extractos hidroalcohólicos del polen de tres consociaciones biogeográficas en zona cafetera y la estimación de su capacidad antioxidante y antirradicalaria. La fracción fenólica observada varía entre $(11,8 \pm 2,22$ y $30,6 \pm 7,10)$ mg EAG/g, los flavonoides desde $5,67 \pm 2,35$ a $12,1 \pm 1,13$ mg Eq. Quercetina/g polen. La capacidad reductora $(11,8 \pm 2,22$ a $30,6 \pm 7,10)$ y $(9,00 \pm 3,43$ y $17,9 \pm 4,30)$ μ M de Trolox/g para FRAP y ABTS respectivamente. Los resultados son reveladores de un aporte significativo de fenoles y flavonoides, en muestras de polen corbicular de zonas altoandinas colombianas, su extracción y concentración posibilita la incorporación como aditivo en suplementos alimenticios o productos farmacéuticos.

Palabras claves: Antioxidantes. Fenoles. Flavonoides. Polen corbicular

ABSTRACT

Corbicular bee pollen is a natural product result from the activity of bees that removed pollen grains from anthers and agglutinate it into tiny pellets, as a nutritional sustenance of the colony. The aim of this work has focused on phenolic fraction and total flavonoids in colombian corbicular bee pollen: antioxidant and free radical scavenging activity. Phenolic fraction observed varies between 11.8 ± 2.22 and 30.6 ± 7.10 mg EAG/g, and flavonoids from 5.67 ± 2.35 to 12.1 ± 1.13 mg Eq. Quercetin/g pollen. The reducing capacity (11.8 ± 2.22 to 30.6 ± 7.10) and (9.00 ± 3.43 and 17.9 ± 4.30) μ M Trolox/g for FRAP and ABTS respectively. The results are indicative of a significant contribution of phenols and flavonoids, in colombian bee pollen from Andean zones, its removal and concentrations allows the incorporation as additive in food supplements or pharmaceutical products.

Keywords: Antioxidants. Phenols. Flavonoids. Corbicular pollen.

INTRODUCCIÓN

El polen, es un producto natural generado a partir de las anteras de las flores de las plantas superiores, considerado como alimento de alto valor biológico, por su aporte en proteínas, vitaminas y minerales; el polen corbicular y alveolar corresponde a un aglomerado de granos de polen de diferentes fuentes botánicas, que son recogidos por las abejas y al que le han adicionado néctar y secreciones de las glándulas hipofaríngeas entre ellas la enzima α -glucosidasa; se le considera una buena fuente nutricional, beneficiosos para la salud, en particular debido a la presencia de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes, (Salamanca, *et al.*, 2011). Es un producto nutracéutico de gran demanda en el mercado de los productos naturales, en virtud a sus propiedades nutricionales, (Mohdaly, *et al.*, 2015; Feás, *et al.*, 2012). Constituye la principal fuente proteica y de alimentación de las abejas en su ciclo larval y se representa funcionalmente por su elevado valor biológico, con aporte de proteínas, vitaminas, minerales, carotenos y xantofilas como también derivados fenólicos, carbohidratos y ácidos grasos insaturados, (Kostic, *et al.*, 2015; Ketkar, *et al.*, 2014; Ciappinni, *et al.*, 2013; Cimpoi, *et al.*, 2013; Graikou, *et al.*, 2011; Salamanca, *et al.*, 2011; Vit, 2009; Silva, *et al.*, 2009; Sayas y Huamán, 2009; Guo, *et al.*, 2009; Del Risco, 2004; Bogdanov, 2004; 2011; Kacániova, *et al.*, 2012; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a,b).

Desde el punto de vista de los componentes del polen, los flavonoides y polifenoles, juegan un papel preponderante en la protección y fisiología de las plantas, (Hernández y Reyes, 2012; Chantarudee, *et al.*, 2012; LeBlanc, *et al.*, 2009; Silva, *et al.*, 2009; Guo, *et al.*,

2009; Marchini, *et al.*, 2006; Almeida-Muradian, *et al.*, 2005; Campos, *et al.*, 2003). La capacidad antioxidante de los alimentos ha despertado gran interés en los últimos tiempos. Actualmente, se comercializan extractos con capacidad antioxidante como aditivo alimentario, con el fin de beneficiar la salud humana y prolongar la vida útil del producto, (Gobert, *et al.*, 2013; Blasa, *et al.*, 2007; Leja, *et al.*, 2007).

Se conoce como actividad antioxidante total a la medición analítica de concentraciones de radicales de diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado. En alimentos de origen vegetal, se atribuye esta actividad a la presencia de compuestos fenólicos, principalmente a los flavonoides, (Ciappinni, *et al.*, 2013; Gobert, *et al.*, 2013; Kacániová, *et al.*, 2012). Las propiedades bioactivas de los extractos de polen corbicular pueden ser aumentadas si se emplea un disolvente adecuado para su extracción. Extractos apropiados de polen se pueden utilizar como alimento funcional o suplemento alimenticio teniendo en cuenta la cantidad de compuestos fenólicos y su capacidad de secuestro de los radicales libres responsables del estrés oxidativo y la carcinogénesis, (Ketkar, *et al.*, 2014; Fatroková, *et al.*, 2013; Kacániová, *et al.*, 2012; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a,b; Carpes, *et al.*, 2007; Basim, *et al.*, 2006; Cushnie y Lamb, 2005; Kroyer y Hegedus, 2001). Cerca de 250 compuestos de origen botánico, asociados al polen han demostrado una importante actividad biológica, (Nogueira, *et al.*, 2012), razón que ha motivado el consumo y posicionado como suplemento nutracéutico.

Diferentes autores coinciden en el alto contenido de estos polifenoles en extractos polínicos, pero se destaca la necesidad de ampliar estudios para evaluar la

composición relativa de este tipo de compuestos, así como las diferencias en sus particularidades para identificar su función y contribución con respecto a su actividad antioxidante. Según Kroyer y Hegedus, (2001), se ha encontrado una alta concentración de polifenoles en muestras de polen corbicular. Para Carpes, *et al.*, (2009), el contenido total de compuestos fenólicos de los extractos de polen depende del disolvente y las condiciones de extracción. Los polifenoles, son responsables entre otras cosas del crecimiento de las plantas y la reproducción, proporcionan resistencia contra agentes patógenos por la acción de las fitoalexinas y protección contra plagas ya que contribuyen a que ésta aumente su astringencia siendo menos comestible para los insectos, (Hung-Ju, *et al.*, 2012; Angelo y Jorge, 2007; Carpes, 2008; Araujo, *et al.*, 2005; Cushnie y Lamb, 2005; Cartaya y Reynaldo, 2001; Rzepecka-Stojko, *et al.*, 2015).

Los flavonoides son benzo- α -piranos de origen vegetal y presentan actividad biológica como agentes antioxidantes, (Ali i , *et al.*, 2014; Aksoy, *et al.*, 2013; Pascoal, *et al.*, 2013; Morais, *et al.*, 2011; Cartaya y Reynaldo, 2001; Pérez-Pérez, *et al.*, 2012; Pinheiro y Justino, 2012; Hossain y Rahman, 2011; Crozier, *et al.*, 2009; Dornas, *et al.*, 2007; Araujo, *et al.*, 2005; Cushnie y Lamb, 2005; Duthie, 2003). Diversos subgrupos de flavonoides, presentan actividad biológica según sea la estructura química que los representa, (Araujo, *et al.*, 2005; Cartaya y Reynaldo, 2001). Los que poseen en su estructura unidades de azúcares además de grupos hidroxilo, presentan un marcado efecto polar razón por la cual pueden ser extraídos con etanol, metanol, butanol y acetona, principalmente, como es el caso de la quercetina e isoramnetina-3-glucósido, miricetina, kaempferol-3-glucósido además de naringina, isoramnetina, rutina, apigenina y naringenina, como los más predominantes, (Carpes, 2008; Leja, *et al.*, 2007; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a,b; Serra-Bonvehí, *et al.*, 2001). Las razones de la existencia ubicua de tipos monoméricos y oligoméricos de flavonoides, como metabolitos secundarios es bien conocida, entre ellos el rol como agente protector contra hongos y patógenos y como indicador de polinizadores, (Saxena, *et al.*, 2012).

La actividad antioxidante y capacidad antirradicalaria es mayor cuanto mas fresco es el polen, disminuyendo con el almacenamiento, (Almaraz-Abarca, *et al.*, 2004;

Campos, *et al.*, 2003). En muestras de polen de zonas templadas, se ha observado una importante actividad biológica, (Kroyer y Hegedus, 2001). Estudios más recientes, también han mostrado una amplia variabilidad en la actividad antioxidante del polen polaco, (Leja, *et al.*, 2007). En muestras de polen mexicano, se ha encontrado una elevada actividad antioxidante, provenientes de especies de *Amaranthus hybridus*, *Prosopis juliflora*, *Tagetes sp.* y mezclas de éste con polen de *A. hybridus*, (Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a,b). En polen brasilero de *Mimosa gemmulata*, igualmente se ha encontrado cierta actividad antirradicalaria, (Freire, *et al.*, 2012; Sarmiento, *et al.*, 2006), así como en los extractos etanólicos de polen Japonés de *Cistus ladaniferus*, (Nagai, *et al.*, 2002). Los compuestos responsables de ésta actividad y de manera contraria a lo observado en otros productos de origen vegetal o apícola, se encuentran como agliconas, esto es, no están glucosilados o unidos a carbohidratos, pues el enlace que los une se rompe cuando la abeja mezcla el polen colectado con su saliva y secreciones de sus glándulas hipofaríngeas, lo que incrementa su posible bioactividad, (Serra-Bonvehí, *et al.*, 2001).

En el contexto anterior y teniendo en cuenta la ausencia de trabajos sobre cargas de polen corbicular colombianos, en relación a la presencia de fenoles, flavonoides totales y la capacidad antioxidante, se ha planteado el estudio para la cuantificación de estos metabolitos en extractos hidroalcohólicos en muestras de tres zonas colombianas en dos consociaciones biogeográficas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico: Para el desarrollo de éste trabajo se realizaron excursiones de campo, que permitieron recoger un total de 63 muestras de polen corbicular colectado por *Apis mellifera* L., de trampas caza polen establecidas en dos consociaciones biogeográficas colombianas en los departamentos de Quindío y Tolima, asociadas a colonias de abejas tipo Lanstrong (Tabla 1). Un grupo de 37 muestras fueron asociados a zona de bosque húmedo premontano (*bh-PM*) y 26 al bosque muy húmedo (*bmh-PM*).

Tabla 1. Origen de las muestras de polen corbicular de dos consociaciones biogeográficas colombianas.

Zona de Vida Holdrige	Departamento	Municipio	n	LN	LO	ST °C	A msnm	P mm/año
<i>bh-PM</i>	Quindío	Calarcá	5	4°34'18"	75°42'28"	20	1431	1543
		Montenegro	5	4°26'05"	75°41'42"	19	1656	1700
	Tolima	Ibagué	10	4°31'17"	75°48'33"	21	1234	2700
			1	4°27'53"	75°08'01"	23	1270	2100
			6	4°27'31"	75°23'45"	14	1946	1300
		Cajamarca	6	4°23'22"	75°26'33"	12	2004	1415
<i>bmh-PM</i>	Quindío		4	4°22'09"	75°20'40"	15	1818	1580
		Armenia	11	4°28'58"	75°42'03"	24	1315	2200
		Génova	11	4°11'54"	75°47'09"	19	1617	2000
	Tolima	Cajamarca	4	4°28'02"	75°22'39"	10	2213	1300

bh-PM: bosque húmedo premontano. *n*: Numero de muestras. *bmh-PM*: bosque muy húmedo premontano. P: Precipitación media anual. A: Cota altitudinal. ST: Sensación térmica. LN: Latitud Norte. LO: Longitud Oeste.

Extractos: Se realizaron operaciones de extracción por percolación usando etanol de 70 volúmenes, que permitieron obtener lixiviados hidroalcohólicos (EHA-Po). En este proceso se pesaron $2.0 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ de polen seco, que fueron homogeneizados con 15 mL de mezcla hidroalcohólica a 50°C, durante 45 min. con agitación constante. Los lixiviados se filtraron, centrifugaron y almacenaron a 4°C hasta el momento de análisis, y **flavonoides:** Los fenóles y flavonoides totales fueron determinados por espectrofotometría usando reactivo de Folin-Ciocalteu, (Morais, *et al.*, 2011; Kroyer y Hegedus, 2001) y se expresaron como equivalentes de ácido gálico (mg GAE/g polen seco). Los flavonoides fue determinado conforme a las directrices de Miliauskas, *et al.*, (2004), con las siguientes especificaciones: una alícuota de 50 µL de EHA-Po se mezcló con 50 µL de cloruro de aluminio al 2% y 1150 µL de etanol absoluto, cuando fue necesario se realizó dilución de la muestra con etanol al 70%. Los flavonoides se expresaron en mg equivalente de Quercetina/g de polen seco.

FRAP y ABTS: La capacidad reductora de los extractos se determinó mediante un ensayo de la capacidad del ion férrico en el complejo formado con 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), que se transforma a su forma ferrosa, en la presencia de antioxidantes, (Salamanca, *et al.*, 2017; Thaiponga, *et al.*, 2006). Las lecturas fueron realizadas a 593 nm en un espectrofotómetro Biospectro, Modelo SP-22. Para los cálculos finales fue empleada la curva de calibración de Trolox 500 µM, siendo los resultados expresados en µM de Trolox por g de muestra. El reactivo [(2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)], ABTS se uso en la determinación de

la actividad antioxidante, (Dudonné, *et al.*, 2009; Surveswaran, *et al.*, 2007; Re, *et al.*, 1999) y los resultados fueron expresados en mg equivalente de Trolox/g de muestra de polen.

Estadística: Las muestras fueron analizadas por triplicado, evaluando en cada caso el promedio, desviación estándar, coeficientes de variación y las correspondientes determinaciones del análisis de varianza entre grupos de muestras por origen. El análisis estadístico se evaluó haciendo uso de los paquetes estadísticos SJM-Pro11™.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los compuestos fenólicos asociados al polen, en general son metabolitos como Apigenina-7-*o*-glucósido, Luteolina-7-*o*-glucósido, Quercetina-3-*o*-glucósido, iso-flavonas glucosiladas de Genisteina, dihidroflavonoides de Quercetina, Isorhamnetina-3-*o*-glucósido e Isorhamnetina-3-*o*-glucósido, derivados de los ácidos Cinámico. En las muestras de polen corbicular de las zonas de Quindío (Q) y Tolima (T), en su presentación han sido heterogéneas en su composición. La fracción de pigmentos y compuestos solubles presentes en la matriz hidroalcohólica, exhiben tonos amarillo y amarillo naranja, que revelan la presencia de carotenos y compuestos fenólicos entre ácidos y flavonoides que distinguen los ácidos clorogénico (A), gálico (B), ferúlico (C), *p*-cumárico (D) y caféico (E), así como isoquercetina (F), miricetina (G), herbacetina (H), quercetina (I), luteolina (J), kaempferol (K) e isoramnetina (L), (Figura 1), que se ponen en evidencia en los perfiles de cromatografía

en capa fina (datos no mostrados) y coinciden con trabajos reportados en la literatura, (Rzepecka-Stojko, *et al.*, 2015; Kristerson, *et al.*, 2012; Chu, *et al.*, 2007; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007; Serra-Bonvehi, *et al.*, 2001).

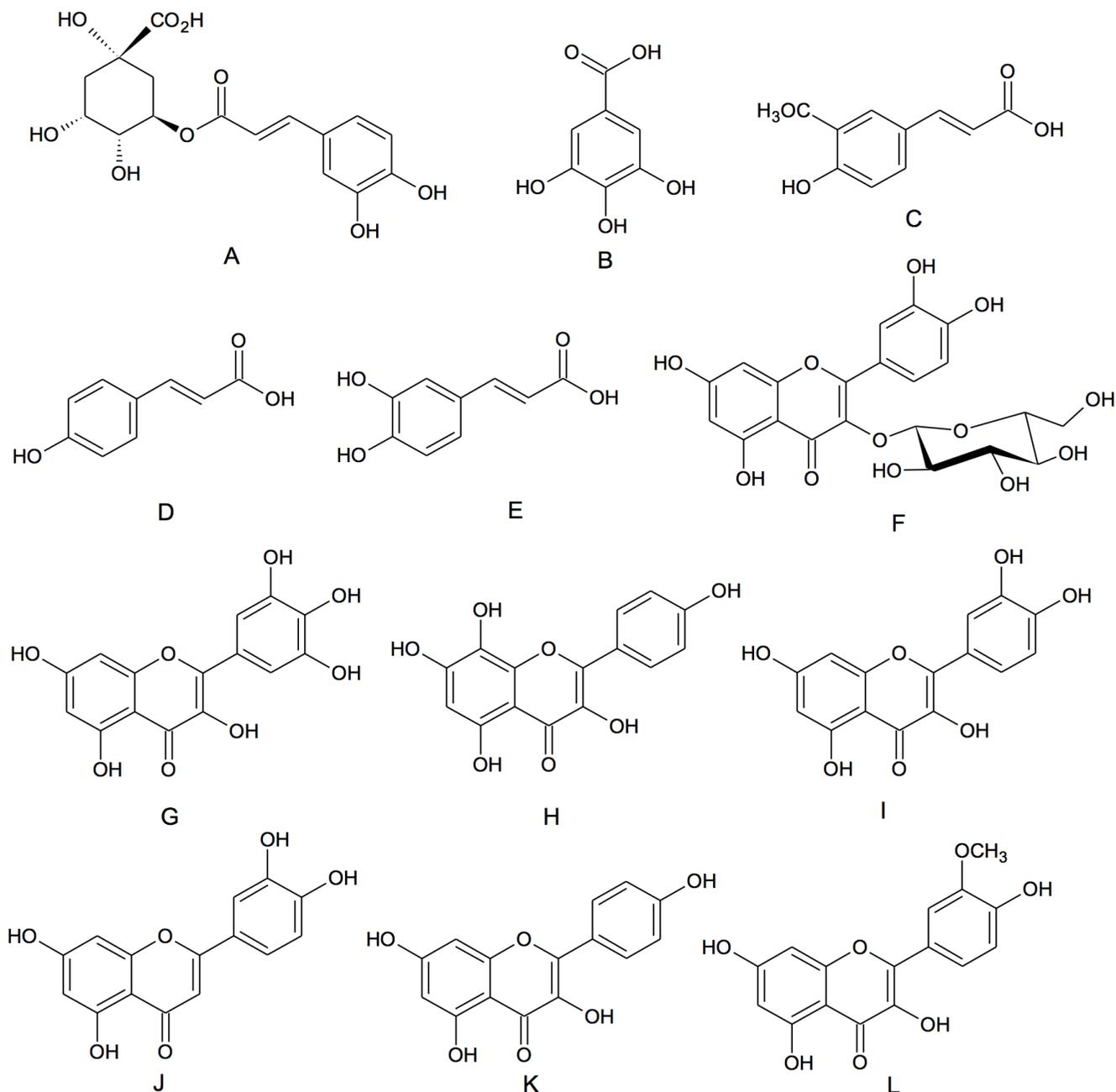


Figura 1. Estructuras de compuestos fenólicos y flavonoides presentes en matrices de polen

En relación a éstos componentes en cada uno de los EHAPo's, las muestras de polen de las localidades de Cajamarca y Armenia, presentan diferencias que pueden ser explicadas si se tiene en cuenta la diversidad y oferta floral en los emplazamientos establecidos para el beneficio del producto, los valores observados en la secuencia indicada Cajamarca y Armenia, corresponden a $25,3 \pm 6,81$ y $18,9 \pm 9,70$ mg EAG/g polen. La fracción fenólica de los extractos en virtud a los resultados globales, se pueden agrupar en categorías Q1 a Q5 (Quindío) y T1 a T4 (Tolima). Los tenores tipo 1 (Q1 y T1), presentan niveles superiores a 35 mg EAG/g de polen ($37,2 \pm 3,90$ y $35,7 \pm 7,40$), los contenidos mas bajos se presentan en las categorías Q4, Q5 y T4, (Figura 2). Vale indicar que la acidez natural del polen esta asociada a la presencia de ácidos grasos volátiles y productos del metabolismo de algunos agentes microbianos naturales, (Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a,b).

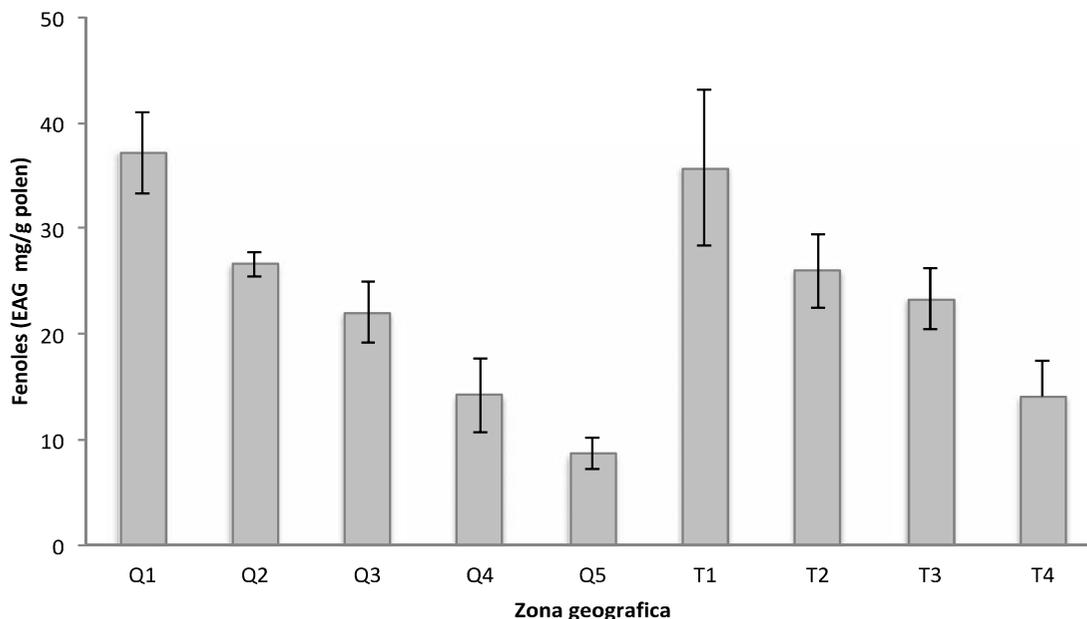


Figura 2. Perfil medio de la fracción fenólica de los extractos hidroalcohólicos de polen corbicular de las zonas geográficas de Quindío y Tolima

Los extractos orgánicos de polen en solventes polares, ponen en evidencia la presencia no solo de ácidos fenólicos, también se suelen extraer flavonoides que pueden ser determinados a partir de las técnicas complementarias de tricloruro de aluminio y 2,4-D, (Salamanca *et al.*, 2007; Kosalec, *et al.*, 2004). El complejo que se forma entre tipos de flavonoides presenta máximos de absorción a 415 nm, (Pallab, *et al.*, 2013; Pal, *et al.*, 2009). Algunos de los flavonoides presentes en las plantas se pueden presentar como agliconas simples o en forma glucosilada, con los azúcares asociados *d*-glucosa, *d*-galactosa y *l*-ramnosa, son los que suelen anclar la estructura de éstos metabolitos, (Campos, *et al.*, 2003). El estudio que se presenta, ha podido identificar tres categorías para los valores medios de los flavonoides, TF1: $8,00 \pm 0,30$ en muestras del Tolima además de las categorías mas bajas en muestras del Quindío (QF1: $5,50 \pm 0,40$ a QF3: $1,80 \pm 0,10$ mg Eq. Quercetina/g polen). La concentración media en atención al origen en los EHAPo's es como sigue $4,32 \pm 1,80$ (Cajamarca) $\approx 3,87 \pm 1,22$ (Ibagué) $< 3,30 \pm 1,66$ (Armenia) $< 3,03 \pm 1,10$ (Montenegro) $< 2,33 \pm 0,30$ (Calarcá) mg Eq. Quercetina/g polen, (Figura 3).

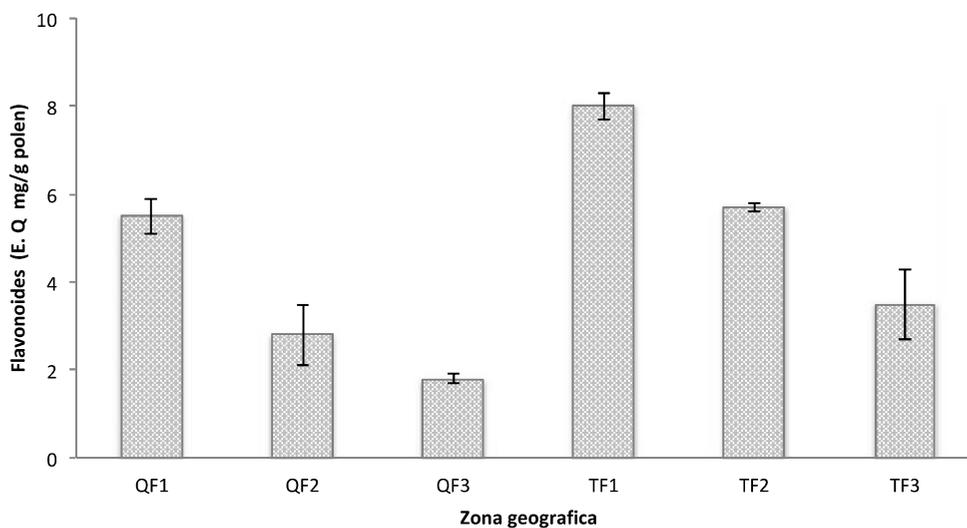


Figura 3. Distribución de las categorías y valores medios del contenido de flavonoides en extractos hidroalcohólicos de polen de las zonas geográficas de Quindío y Tolima.

La proporción de flavonoides en relación a los fenoles totales de los extractos analizados, no excede el 16%, la más baja se presenta en las muestras de Génova (88/12) y la mayor en las muestras de Calarcá (84/16), como se evidencia en la figura 4.

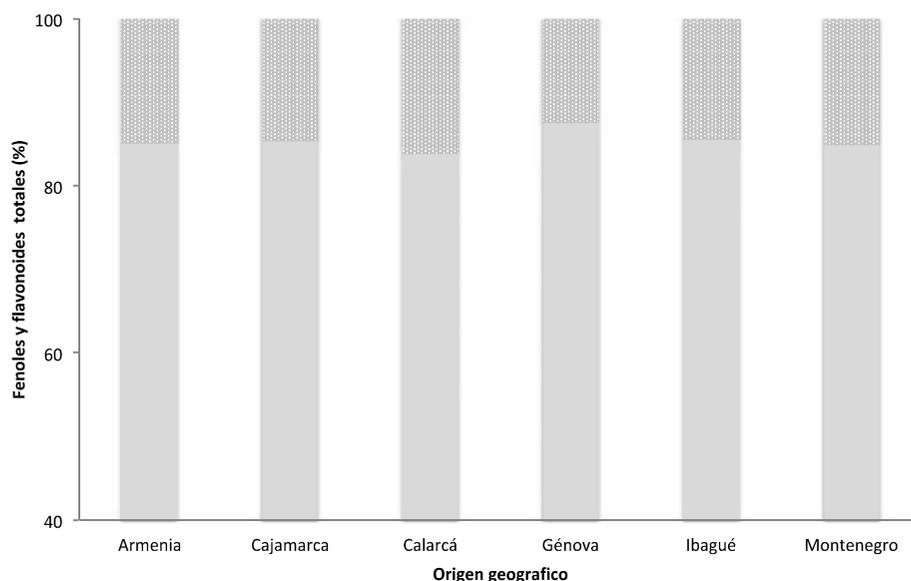


Figura 4. Fenoles y flavonoides totales presentes en extractos de polen corbicular de los entornos geográficos de Quindío y Tolima (Cajamarca e Ibagué).

Los resultados de la evaluación de extractos hidroalcohólicos de polen de las muestras colombianas, son comparables con los trabajos reportados en otros estudios, (Carpés, *et al.*, 2009; Kroyer y Hegedus, 2001; Kristerson, *et al.*, 2012; Carpés, *et al.*, 2009; Oltica, *et al.*, 2007). En extractos alcohólicos de polen argentinos, los flavonoides oscilan entre 50,5 y 109,2 y 51,7 y 163,9 mg EAG/g, (Aloisi y Ruppel, 2014), situación que revela diferencias en la composición de la fracción flávica en relación al origen geográfico, (Montenegro, *et al.*, 2013; Gao, *et al.*, 2010). La fracción de ácidos fenólicos del polen se ha estimado en 0.20%, (Rzepecka-Stojko, *et al.*, 2015). La variabilidad en la capacidad reductora en virtud al contenido de fenoles, flavonoides y las pruebas de actividad y capacidad antioxidante y antirradicalaria se recogen en la tabla 2.

Tabla 2. Contenido medio de la fracción de fenoles, flavonoides, capacidad reductora (FRAP) y antirradicalaria (ABTS) de extractos etanólicos de polen corbicular por zona de vida

Zona de vida	FT±ds	FLV±ds	FRAP±ds	ABTS±ds
<i>bh-PM</i>	19,7±8,00 ^a	3,49±1,70 ^b	22,4±9,91 ^c	12,1±6,50 ^d
<i>bhm-PM</i>	19,2±8,10 ^a	3,04±1,29 ^b	20,4±12,7 ^c	11,6±8,51 ^d
Total	19,5±8,01	3,29±1,55	21,6±11,2	11,9±7,38
Razón-F	19,5	2,58	0,94	0,14
Valor-P	0,73	0,11	0,33	0,71

FT: Fenoles totales (mg de Ácido Gálico/g). FLV: Flavonoides (mg Eq. Quercetina/g). FRAP (mg Eq. Trolox/g). ABTS (mg Eq. Trolox/g).

CONCLUSIONES

Las muestras de polen colectadas por las abejas en las dos zonas de vida son del tipo multifloral, con amplia variabilidad en su origen botánico. Los componentes solubles presentan tonalidades del amarillo al amarillo naranja. El rendimiento de los extractos blandos y la densidad de los mismos en relación al origen biogeográfico no presenta

diferencias marcadas, no así el aporte de metabolitos, la fracción fenólica revela una importante propiedad antioxidante, complementaria al contenido de flavonoides, que ha sido estimada frente a estándares de referencia y que han permitido comparar la calidad de los extractos con otros trabajos reportados en la literatura. El perfil espectrofotométrico confirman la presencia de estructuras fenólicas y flavonoides sustituidos, de los cuales deriva su poder reductor y su actividad antirradicalaria con una marcada correlación entre el origen y sus componentes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud a las Universidades de Sao Paulo (Pirasununga) y Tolima por facilitar las condiciones para el estudio analítico de las muestras evaluadas. A los apicultores de las localidades de Cajamarca, Ibagué y Armenia, por su acompañamiento y apoyo en el proceso de colecta de las muestras y colaboradores permanentes de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas (ACCB), por las consideraciones, sugerencias en el proceso de evaluación del extenso.

REFERENCIAS

- Alencar, S.M., Oldoni, T.L.C., Castro, M.L., Cabral, I.S.R., Costa-Neto, C.M., Cury, J.A., Rosalen, P.L., Ikegaki, M. 2007. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *J. Ethnopharmacol.*, 113(1): 278-283.
- Ali i , D., Šubari , D., Jašić, M., Pašali , H., A kar, . 2014. Antioxidant properties of pollen. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stru ni asopis za nutricionizam i dijetetiku*, 3(1):6-12.
- Almaraz-Abarca, N., Campos, M., Delgado-Alvarado, A., Ávila-Reyes, J.A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J., Tomatas, A.F., Almeida, A.J., Vieira, A. 2007a. Fenoles del polen de *Stenocactus*, *Echinocereus* y *Mammillaria* (Cactaceae). *Polibotánica*, 23:37-55.
- Almaraz-Abarca, N., Campos, M., Ávila-Reyes, J.A. 2007b. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2): 119-124.
- Almaraz-Abarca, N., Campos, M.G., Ávila-Reyes, J.A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera, J., González-Valdés, L. S. 2004. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interciencia* 29(10): 574-578.
- Almeida-Muradian, L. B.; Pamplona, L. C.; Coimbra, S.; Barth, M.O. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, Rome, 18(1):105-111.
- Ángelo, P.M., Jorge, N. 2007. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Instituto Adolfo Lutz*, 66:1-9.
- Araujo, P.W.B., Junior, L.J.Q., Vasconcelos, H.D., Almeida, J.R.G.S. 2005. Flavonóides e hipertensão. *Revista Brasileira de Hipertensão*, 12(3): 188-189.
- Álvarez, L. H. R.; Salamanca, G. G. 2009. Metodología de análisis sensorial de alimentos multivariado utilizando regresión partial least squares (RPLS) y el análisis factorial múltiple robusto (AFMROB). *Revista De La Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos: Alimentos Hoy. Rev. Asociación Colombiana De Ciencia y Tecnología de Alimentos Acta*, 17: 5D1.
- Álvarez, L. H. R.; Salamanca, G. G. 2007. Caracterización de mieles a través del análisis factorial múltiple y el modelamiento PLS PATH". En: Ecuador In: *Alimentos ciencia e Ingeniería*, 16(1): 311-314.
- Aksoy, L., Kolay, E., Agilönü, Y., Aslan, Z., Kargiooglu, M. 2013. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(3):235-239.
- Basim, E., Basim, H., Özcan. M. 2006. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, 77: 992-996.
- Blasa, M., Candiaracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M., Piatti, E. 2007. Honey flavonoids as protection agents against oxidative damage to human red blood cells. *Food Chemistry*, 104: 1635-1640.
- Bogdanov, S. 2011. Pollen: Production, Nutrition and Health: A Review, (November). Pp.: 1-29.
- Bogdanov, S. 2004. Quality and estándar of pollen and beeswax. *Apiacta*, 38: 334-34.

- Borja, P. F., Salamanca, G.G., Guzmán, S., Osorio, M. 2011. Validación de especies Botánicas de interés apícola a partir de Colección de referencia. Memorias de 46 Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. ACCB. Medellín. Colombia
- Cabral, I.S.R., Oldoni, T.L.C., Alencar, S.M., Rosalen, P. L., Ikegaki, M. 2012. The correlation between the phenolic composition and biological activities of two varieties of Brazilian propolis (G6 and G12). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(3): 557-564.
- Campos, M. G.; Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchall, K. A.; Cunha, A. P. 2003. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3): 742-745.
- Carpes, S.T., Begnini, R.; Alencar, S.M. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência e Agrotecnologia*, 31(6): 1818-1825.
- Carpes, S.T. 2008. Estudo das características Físico-Químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Sector de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.
- Carpes, S.T., Mourão, B.G., Alencar, M.S. Mansson, L.M. 2009. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 47(2): 154-161.
- Cartaya, O., Reynaldo, I. 2001. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2): 5-14.
- Chantarudee, A., Phuwapraisirisan, P., Kimura, K., Okuyama, M., Mori, H., Kimura, A., Chanchao, C. 2012. Chemical constituents and free radical scavenging activity of corn pollen collected from *Apis mellifera* hives compared to floral corn pollen at Nan, Thailand. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12: 45.
- Chu, Q., Tian, X., Jiang, L., Ye, J. 2007. Application of capillary electrophoresis to study phenolic profiles of honeybee-collected pollen. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 31: 8864-8869.
- Ciappinni, M.C., Stoppani, F., Martinez, R., Álvarez, M. 2013. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 19: 45-51.
- Cimpoi, C., Hosu, A., Miclaus, V., Puscas, A. 2013. Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, 100:149-154.
- Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N. 2009. Dietary phenolics : chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Products Reports*, 26:1001-1043.
- Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26:343-356.
- Del Risco, R.C. 2004. Polen-Pan De Abejas: Composición, Nutrición, Acción En La Salud Humana y Microbiología, Cuba. Disponible en: <http://www.agroparlamento.com/agroparlamento/notas.asp?n=2308>.
- Dornas, W.C., Oliveira, T.T., Rodrigues-das-dores, R.G., Santos, A.F., Nagem, T.J. 2007. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 28: 241-249.
- Dudonné, S. X., Vitarc, P., Coutière, Woillez, M., Mérillon, J. 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*: 57: 1768-1774.
- Duthie, G.G. 2003. Antioxidants. *Medicine*, 31: 25-26.
- Fatroková-Šramková, K., Nozková, J., Kaňiová, M., Máriássyová, M., Rovná, K., Stráňák, M. 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48:133-138.
- Feás, X., Vázquez-Tato, M.P., Estevinho, L., Seijas, J.A., Iglesias, A. 2012. Organic bee pollen: Bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17: 8359-8377.

- Freire, K. R. L., Lins, C.S., Dórea, M. C., Santos, A. R., Camara, A. C., Silva, M. S. 2012. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. *Molecules*, 17: 1652-1664.
- Gao, W., D. Schmoldt, J.R. Slusser. 2010. UV radiation in global climate change. Tsinghua University Press, Beijing. 544 p.
- Gobert, M., Damon, M., Durand, D. 2013. Stress oxydant et qualités nutritionnelles des produits animaux. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 48(5): 225–232.
- Guo, J., Zhang, P., Zhang, Z. 2009. Studies on chemical constituents from bee-collected rape pollen. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 34(10): 1235-1237.
- Graikou, K., Kapeta, S., Aligiannis, N., Sotiroudis, G., Chondrogianni, G., Gonos, E., Chinou, I. 2011. Chemical analysis of greek pollen-antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. *Chemical Central Journal*, 5(33):2-9
- Hernández, L.J., Reyes, V.C. 2012. Origen botánico, propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de polen corbicular colectado por *Apis mellífera* (Hymenoptera: Apidae) en la zona de bosque altoandino de Boyacá. Trabajo de grado. Programa de Licenciatura en Educación Básica con énfasis en Ciencias Naturales y Educación Ambiental. Facultad de Ciencias de la Educación. Universidad del Tolima. Colombia.
- Hossain, M.A., Rahman, S.M. 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International*, 44(3): 672-676.
- Hung-Ju, C., Baskaran Inbaraj, B. S., Bing-Huei, C. 2012. Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. *International Journal of Molecular Science*, 13(1): 260-285.
- Kacániová, M.; Chlebo, N.V.; Hascík, P.; Rovná, K.; Cubon, J.; Dzuban, M.; Pasternakiewicz, A. 2012. The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia. *Archives of Biological Science*, 64(3): 927-934.
- Ketkar, S., Rathore, A., Lohidasan, S., Rao, L., Paradkar, A., Mahadik, K. 2014. Investigation of the nutraceutical potential of monofloral Indian mustard bee pollen. *Journal of Integrative Medicine*, 12(4): 379-389.
- Kosalec, M., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., Kne. S.V. 2004. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmaceutica-Zagreb*, 54(1): 65-72.
- Kostic, A.Z., Miroljub, B.B., Stanojevic, S.P., Milojkovic-Opsenica, D.M., Tesic, Z., Sikoparija, B., Radisic, P., Prentovic, M., Pesic, M. 2015. Physicochemical composition and techno-functional properties of beepollen collected in Serbia. *LWT - Food Science and Technology*, 62: 301–309.
- Kroyer, G., Hegedus, N. 2001. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2:171-174.
- Kristerson R. L., Freire, A., Lins, C. S., Dórea, M. C., Santos, A. R., Camara, C. A., Silva, T. S. M. 2012. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. *Molecules*, 17(2): 1652-1664.
- LeBlanc, B.W., Davis, O.K., Boue, S., DeLucca, A., Deeby, T. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115(4): 1299-1305.
- Leja, M., Mareczek, A., Wyzgolik, G., Klepacz-Baniak, J., Czekonska, K. 2007. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chemistry*, 100(1): 237–240.
- Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G. 1978. Methods of melisopalynology. *Bee world*, 59:139-157.
- Marchini, C.L., Acassio dos Reis, D.V., Carmelo, C.A. 2006. Composição físico-química de amostras de pólen colectado por abelhas africanizadas *Apis mellífera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. *Ciência rural*, 36(3): 949-953.
- Miliuskas, G., Venskutonisa, P.R., Beek T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2): 231–237.

- Mohdaly, Adel A.A.; Mahmoud, A.A.; Roby, M.H.H.; Smetanska, I.; Ramadan, M. F., 2015. Phenolic Extract from Propolis and Bee Pollen: Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities. *Journal of Food Biochemistry*, 39: 538-547.
- Montenegro, G., Pizarro, R., Mejias, E., Rodríguez, S. 2013. Evaluación biológica de polen apícola de plantas nativas de Chile. *Phyton (B. Aires)*, 82(1): 7-14.
- Morais, M., Moreira, L., Feás, X., Estevinho, L.M. 2011. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: palynological origin, phenolic content, antioxidante properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5): 1096-1101.
- Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., Suzuki, N. 2002. Scavenging capacities of pollen extracts from *Cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals. *Nutrition Research*, 22: 519-526.
- Nogueira, C., Iglesias, A., Feás, X., Estevinho, L.M. 2012. Commercial bee pollen with different geographical origins: A comprehensive approach. *International Journal of Molecular Science*, 13(9): 11173-11187.
- Pages, J.; Tenenhaus, M., 2001. Multiple factor analysis combined with PLS path modelling. Application to the analysis of relationships between physicochemical variables, sensory profiles and hedonic judgements. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58: 261-273.
- Pal, D., Sannigrahi, S., Mazumder, U. 2009. Analgesic and anticonvulsant effects of saponin isolated from the leaves of *Clerodendrum infortunatum* Linn. in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47: 743-747.
- Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., Estevinho, L.M. 2013. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63: 233-239.
- Pallab, K., Tapan. B. K., Tapas, P.K., Ramen, K. 2013. Estimation of total flavonoids content (tfc) and anti oxidant activities of methanolic whole plant extract of *biophytum sensitivum* linn. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 3(4): 33-37.
- Pérez-Pérez, E.M., Vit, P.; Rivas, E.; Sciortino, R.; Sosa, A.; Tejada, D.; Rodríguez-Malaver, A.J. 2012. Antioxidant activity of four color fractions of bee pollen from Mérida, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 62(4): 375-380.
- Pinheiro, P.F., Justino, G.C. 2012. Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. Chapter 2. Structural Analysis of Flavonoids and Related Compounds – A Review of Spectroscopic Applications. INTECH Open Access Publisher, ISBN9535102966. Pp. 33-51.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Min Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237.
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kubina, R., Mozdierz, A., Buszman, E. 2015. Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. *Molecules*, 20(12): 21732-21749.
- Salamanca G., Osorio T. M., Gutiérrez, O. A. M. 2011. Sistema trazable en el proceso de extracción y beneficio del polen corbicular colectado por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en la zona Altoandina de Boyacá. *Zootecnia Tropical*, 29(1): 127-138.
- Salamanca, G. G., Correa, C. I., Principal, J. 2007. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. *Zootecnia Tropical*, 25(2): 95-102.
- Salamanca, G. G.; Osorio, T. M.; Reyes, M. L. 2017. Physicochemical properties of Encenillo monofloral honey from highlands andean zones in Boyacá, Colombia. *Quim. Nova*. 40: 8. 854-864.
- Sarmiento, T., Amorin, C., da Silva, A., Barbosa-Filho, J., Samento, E., Magalhães, B., Ribeiro, F. 2006 Chemical composition and free scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Duke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 507-511.
- Saxena, M., Saxena, J., Pradhan, A. 2012. Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 16(2) No. 28: 130-134.

- Sayas, R.R., Huamán, M.L. 2009. Determinación de la flora polinífera del Valle de Oxapampa (Pasco – Perú) en base a estudios palinológicos. *Ecología aplicada*, 8(1): 53-59.
- Serra-Bonvehí, J., Soliva Torrentó, M., Centelles Lorente, E. 2001. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1848-1853.
- Silva, M.T., Camara, C.A., Lins, C.S., Agra, F.M., Silva, M.E., Reis, T., Freitas, M. 2009. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 81(2): 173-178.
- Surveswaran, S., Cai, Y.Z., Corke, H., Sun, M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3): 938-953.
- Thaiponga, K., Boonprakoba, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrnes, D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7): 669-675.
- Vit, P. 2009. Origen botánico y propiedades medicinales del polen apícola. *Revista médica de la Extensión Portuguesa. ULA*, 3(1): 27-34 .