

Propiedades Medicinales de la miel de Abejas sin Aguijón, de Costa Rica.

N. Fallas Matamoros^{1*}, R. Solórzano(1), L. G. Zamora(1), M. L. Arias(2), E. Umaña(1) e I. Aguilar(1).

1- Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar, Universidad Nacional (UNA). *rebesolorzanov@hotmail.com, nfallas@una.ac.cr

2- Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

1. Introducción

La miel es utilizada por las abejas como fuente de energía. Su composición química promedio es de 82.4% de azúcares (principalmente fructuosa y glucosa), 17.1% de agua, 0.2% de minerales (principalmente potasio) y 0.3% de componentes minoritarios entre los cuales están: la enzima invertasa, la glucosa oxidasa, las sustancias fitoquímicas y el hidroximetilfurfural (Crane, 1990). La composición química de la miel es dependiente en gran medida de los tipos de flores utilizadas por las abejas, así como también, por las condiciones regionales y climáticas.

Una amplia gama de constituyentes menores, está presente en la miel, algunos de ellos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. En los últimos años, se han descrito una serie creciente de compuestos que demuestran el carácter emergente del potencial de la miel de abejas sin aguijón; entre éstos, los compuestos fenólicos.

La miel se ha reconocido principalmente como un alimento nutritivo de alto valor energético que en algunos reportes y experiencias de productores y personal de la medicina, la califican como un producto que posee propiedades curativas. Lo cual a llevado a que se realicen ensayos para comprobar la acción antimicrobiana y antioxidante de la miel de meliponinos. Debido a que en Costa Rica y en Latinoamérica esta miel es reconocida popularmente por sus propiedades terapéuticas (Roubik, 1983), empleándose para el tratamiento de diversas afecciones respiratorias, dermatológicas y gastrointestinales (Vit *et al.*, 2004), lo que incrementa su valor frente a la miel de *Apis mellifera* L. (Vit *et al.*, 1998).

1.1 Actividad Antioxidante

La capacidad antioxidante es la habilidad que tienen algunas mieles para reducir la cantidad de reacciones oxidativas en el cuerpo, estas pueden producir efectos perjudiciales en los alimentos y el organismo, como enfermedades crónicas.

Dentro de los compuestos que contribuyen a la actividad antioxidante se tienen flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas, ácido ascórbico, etc. Sin embargo la capacidad antioxidante varía de gran forma según el origen botánico de la miel.

El contenido de antioxidantes en la miel es comparable al de frutas y verduras, lo que lo convierte en una fuente de estos más aceptable para ciertos individuos.

Los radicales libres son átomos o moléculas extremadamente inestables, esta característica les confiere propiedades altamente reactivas las cuales, por medio de procesos oxidativos y presentes en concentraciones significativas, pueden ocasionar la destrucción de biomoléculas de la célula (ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos y proteínas), induciendo una disminución en la resistencia al ambiente y un incremento en la fragilidad celular del cuerpo humano (Velázquez *et al*, 2004).

El daño oxidativo causado en estas biomoléculas, es un proceso que trae consigo el surgimiento del envejecimiento y el desarrollo de enfermedades en todos los aparatos y sistemas del organismo, como algunos tipos de cáncer (en pulmón, estómago y piel), la inflamación y padecimientos inmunitarios que involucran al riñón (glomerulonefritis, falla renal crónica), el hígado (hepatitis), el páncreas (diabetes mellitus) y el sistema nervioso (Alzheimer, Parkinson); alteraciones en los vasos el corazón y padecimientos oftalmológicos (Velázquez *et al*, 2004).

Los radicales libres se forman por fuentes exógenas o endógenas; en las primeras los radicales libres llegan al organismo por vías externas, ya sea por medio de la contaminación ambiental (ozono, óxido nitroso, dióxido de nitrógeno, polvo), humo del tabaco, consumo de alimentos ricos en grasas, exposición a las radiaciones solares. Con respecto a la fuentes endógenas, los radicales libres son elaborados continuamente en el interior del organismo como producto del metabolismo normal de la cada célula (Rodríguez *et al*, 2001).

Los antioxidantes son sustancias que hallándose presentes en bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato, evitando el daño celular causado por los radicales libres (Halliwell y Gutteridge, 1989).

El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose y a su vez transformándose en un radical libre débil no tóxico. No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que a su vez reaccionan con los radicales libres (Rodríguez *et al*, 2001).

Los antioxidantes exógenos, son todos aquellas que ingresan al cuerpo a través de la cadena alimentaria, tales como la vitamina E, vitamina C, betacarotenos y polifenoles. Todos se pueden encontrar en, los vegetales, las frutas y en algunas plantas medicinales. Por otro lado, la incorporación de los cofactores como el cobre, el zinc, el hierro y el manganeso, es sumamente necesario; pues estos oligoelementos forman parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes (Rodríguez *et al*, 2001).

En fin, los antioxidantes al ser capaces de inhibir la oxidación de las biomoléculas, son importantes porque con ello ayudan a prevenir las enfermedades causadas por la acción de los radicales libres.

La actividad antioxidante de una determinada sustancia se define como, la capacidad que esta tiene para capturar o neutralizar radicales libres, de modo tal que cuanto más efectiva es la captación del radical, mayor será la capacidad antioxidante de dicha sustancia (González *et al*, 2001).

Una de las estrategias más aplicadas en las mediciones de la capacidad antioxidante de un compuesto, mezcla o alimento es la espectrofotometría, que consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias coloreadas de naturaleza radical, en la cual se observa la pérdida de color del sistema y ocurre de forma proporcional con la concentración del antioxidante (Kuskoski *et al.*, 2005). No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* proporcionan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*, ya que en las primeras se tienen condiciones controladas y en las segundas muchos factores que intervienen en los procesos (Kuskoski *et al.*, 2005).

1.2 Actividad Antimicrobiana

Diversos componentes son los responsables de la actividad antimicrobiana de la miel, entre ellos están la osmolaridad, la acidez, el peróxido de hidrógeno, el origen botánico de la miel, entre otros (Molan, 1992). Sin embargo, un componente importante son los fitoquímicos, sustancias que provienen de la floración visitada por la abeja para la colecta del néctar. Dentro de éste grupo están los flavonoides, que presentan propiedades antioxidantes y antimicrobianas, y son reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas (Bogdanov, 1984).

Se han realizado estudios comprobando la actividad antimicrobiana de las mieles, en especial para *A. mellifera* contra una diversidad significativa de patógenos (Molan 1992, 2002; Demera *et al.*, 2003; Estrada, 2004), sin embargo, en mieles de abejas sin aguijón, este tipo de investigaciones son reducidas. No obstante, algunos estudios han demostrado su efectividad (Grajales *et al.*, 2003; Demera, 2003). Por esta razón, la evaluación de la actividad antimicrobiana de mieles de abejas sin aguijón de interés comercial, en Costa Rica, sobre diversos microorganismos asociados a infecciones de heridas y quemaduras permitiría emitir criterios sobre su posible efectividad en el tratamiento de diversas lesiones, especialmente como terapia alternativa en los casos donde los microorganismos causantes son resistentes a los antibióticos.

Tal es el caso de la marcada resistencia a la penicilina, que presenta *Staphylococcus aureus* y que lo distingue de otros patógenos. Dicha resistencia se debe a que el microorganismo produce una enzima que afecta a pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos, (Richardson *et al.*; 2008). Por otra parte, *Listeria monocytogenes* es un microorganismo que puede provocar abortos y meningitis especialmente en neonatos, ancianos e inmunodeprimidos. *Escherichia coli* O157:H7 es una causa emergente de enfermedad transmitida por los alimentos, la infección conduce a menudo a diarrea y, ocasionalmente, a falla renal. Mientras que *Pseudomonas aeruginosa*, es un patógeno oportunista de individuos inmunocomprometidos, que afecta el tracto pulmonar, el urinario, tejidos, heridas, y también causa otras infecciones de sangre (Ryan *et al.*, 2004, Rahme *et al.*, 1995 y Walker *et al.*, 2004)

2. Metodología

2.1 Actividad antioxidante

Se realizó un estudio por duplicado de 65 muestras de miel de abejas sin aguijón de diferentes especies para determinar su capacidad antioxidante mediante espectrofotometría, se determina la concentración de miel que causa el 50% de pérdida de la actividad del radical (IC₅₀), la cual se reporta en mg/ml de sólidos de miel.

2.2 Actividad antimicrobiana

Se trabajó con 35 muestras de miel de abejas sin aguijón pertenecientes a las especies: *Tetragonisca angustula*, *Tetragona perangulata* y *Melipona beecheii*. Además, se empleó como referencia una muestra de miel de manuka (*A. mellifera*), aprobada para su empleo en quemaduras y heridas.

2.2.1 Determinación de la Actividad Antimicrobiana

Se determinó la actividad antimicrobiana contra 6 bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli* O157:h7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*; a través de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

2.2.2 Cromatografía

Mediante la técnica de cromatografía, el cual es un método de separación que permite la caracterización de sustancias, se determinó la presencia de flavonoides (Kaemferol, Quercetina, Leutolina y Naringenina) en las muestras de mieles de abejas sin aguijón.

2.2.3 Determinación del Origen Botánico

Se realizaron análisis melisopalinológicos de cada muestra, para la identificación del recurso floral utilizado por las abejas sin aguijón. Los granos de polen fueron identificados taxonómicamente a nivel de familia, empleando imágenes digitales y claves de granos de polen de Roubik y Moreno (1991); Palacios *et al* (1991) y Martínez *et al* (1993).

Se contabilizó, aproximadamente, entre 200 a 300 granos de polen en la lámina (por muestra), y se expresaron en porcentaje, estableciendo frecuencias fijas de clase, según Hodges (1984).

<i>Polen predominante</i>>45%
<i>Polen secundario</i>16-45%
<i>Polen menor secundario</i>3-15%
<i>Polen menor</i><3%

3. Resultados y Discusión

3.1 Actividad antioxidante

La figura 1 presenta los resultados de actividad antioxidante (IC_{50}) en muestras de sesenta y cinco mieles de abeja sin aguijón de distintas especies.

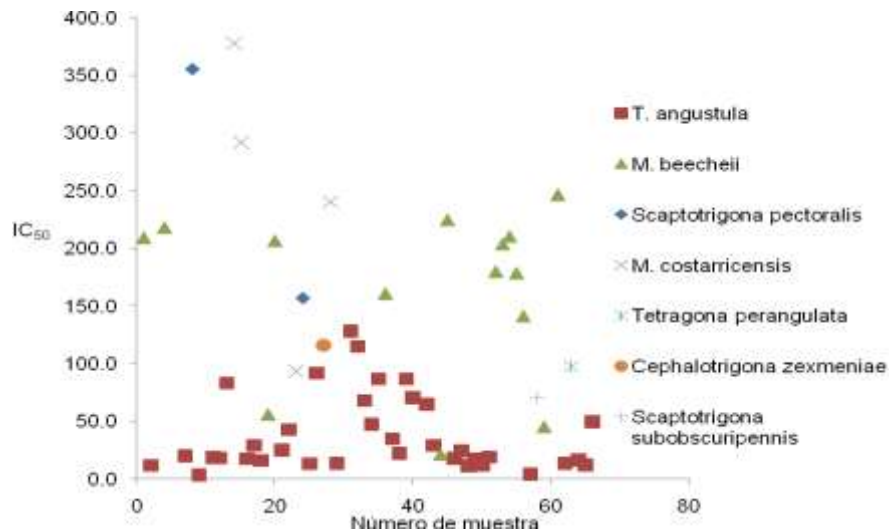


Figura 1. Resultados de IC_{50} obtenidos para las 65 muestras en estudio.

De la cantidad total de muestras que se estudiaron, la mayoría correspondieron a las especies *Tetragonisca angustula* y *Melipona beecheii*, ya que estas se encuentran en abundancia en Costa Rica y poseen una importancia superior a nivel comercial. De la figura 3 se extrae que las muestras de la especie *T. angustula* poseen un IC_{50} inferior a 100, esto le confiere una mayor actividad antioxidante ya que se requiere una menor cantidad de miel para inhibir el 50% del DPPH adicionado al inicio del análisis; a diferencia de las muestras de *M. beecheii* que tienen un IC_{50} superior a 100 (Pérez *et al*, 2007).

Las muestras restantes poseen valores más dispersos, para establecer un rango de resultados específico para estas sería necesario analizar una mayor cantidad de ejemplares de la misma especie.

Las muestras de *T. angustula* presentaron un IC_{50} promedio de 24,1 con una desviación estándar de 18. En el caso de la melipona *beecheii* el promedio fue de 185,8 y la desviación de 37.

Como referencia se utiliza la miel de manuka, ésta es obtenida por las abejas a partir del néctar de una flor en particular que crece solamente en Nueva Zelanda, esta miel posee una fuerte actividad antioxidante con un $IC_{50} = 13.3 \pm 4.6$ similar a los valores obtenidos para *T. angustula* (Vit *et al.*, 2006).

3.2 Actividad antimicrobiana

Un 25% de las muestras no fueron capaces de inhibir todas las bacterias, lo hicieron con al menos una o más. El restante 75%, presentaron actividad antimicrobiana contra todas

las bacterias, incluyendo la única muestra de miel de la especie *T. perangulata*, la cual inhibió el crecimiento de todas las bacterias analizadas.

La mayoría de muestras de la especie *M. beecheii* (n = 12) fueron capaces de inhibir todas las bacterias, incluyendo *S. aureus*, lo que coincide con lo reportado con Enríquez y Dradón (2007), quienes en una evaluación realizada de la actividad antibacteriana en la miel de 9 especies de abejas nativas de Guatemala demostraron que *S. aureus* fue inhibido por la miel de *M. beecheii*.

Además, la inhibición de las mieles de las especies *M. beecheii*, *T. perangulata* y *T. angustula* hacia esta bacteria es de gran importancia debido, a que es uno de los microorganismos más frecuentemente aislado de heridas infectadas y muchas cepas han desarrollado resistencia a los antibióticos (Estrada *et al*, 2005).

En lo que respecta a las mieles de la especie *T. angustula*, la mayoría inhibieron el crecimiento de todas las bacterias. Para la bacteria *P. aeruginosa*, todas las muestras (n = 22) fueron capaces de inhibirla. Mientras que para *E. coli* un 60.00% de las muestras inhibieron su crecimiento, lo que coincide con lo reportado por Gamboa *et al* (2008), quienes encontraron que la miel de *T. angustula* exhibe una mayor acción bactericida contra la cepa bacteriana *E. coli*.

Un 99.71% de las muestras de miel de las abejas sin aguijón, inhibieron el crecimiento de las bacterias analizadas a concentraciones menores que las registradas por la miel de Manuka (Cuadro 1.).

Cuadro 1. Comparación del efecto inhibitorio de las mieles de abejas sin aguijón con la miel de Manuka (+16 UMF), según las concentraciones utilizadas.

<i>Bacterias analizadas</i>	<i>Concentración de miel (mg/ml)</i>			
	Manuka (+16 UMF)	Especies de abejas sin aguijón		
		<i>T. angustula</i>	<i>T. perangulata</i>	<i>M. beecheii</i>
<i>S. aureus</i>	62.5mg/ml	62.5mg/ml	31.3 mg/ml	31.3 mg/ml
<i>S. epidermidis</i>	31.3mg/ml	62.5mg/ml	15.6 mg/ml	15.6 mg/ml
<i>E. coli</i>	125mg/ml	125mg/ml	62.5mg/ml	125mg/ml
<i>P. aeruginosa</i>	125mg/ml	62.5mg/ml	62.5mg/ml	62.5mg/ml
<i>L. monocytogenes</i>	125mg/ml	62.5mg/ml	15.6 mg/ml	62.5mg/ml
<i>S. enteritidis</i>	125mg/ml	125mg/ml	31.3 mg/ml	62.5mg/ml

Un 34.29% de las muestras de miel de abejas sin aguijón inhibieron el crecimiento de la bacteria *S. aureus* a una concentración similar a la de *A. mellifera*, mientras que un 20% a una concentración inferior. Para las bacterias *S. epidermidis* y *L. monocytogenes* un 8.57% y un 17.5% de las muestras respectivamente, inhibieron el crecimiento a una concentración menor que *A. mellifera*. Mientras que un 42.86% de las mieles lograron inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa*, a una concentración inferior a la registrada para la miel de Manuka (125mg/ml).

Los resultados, demuestran una marcada actividad antimicrobiana por parte de las mieles de las abejas sin aguijón, cuyo efecto inhibitorio sobre *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*

O157:h7, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* y *S. enteritidis* evidencia la presencia de factores responsables de sus propiedades antimicrobianas, entre ellos los flavonoides los cuales son componentes derivados del recurso floral (Bogdanov, 1989).

2.2.2 Cromatografía

La miel contiene alrededor de 181 sustancias, entre ellos, los flavonoides los cuales son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, entre otros. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras, miel y en diversas bebidas y son importantes en la prevención y tratamiento contra el cáncer, enfermedades cardiovasculares, alergias, úlceras gástricas e infecciones virales y bacteriales (Brovo, 1998).

La técnica de cromatografía, evidenció la presencia de diversos compuestos orgánicos, en los extractos de miel de las especies: *T. angustula*, *T. perangulata* y *M. beecheii*, entre ellos, los flavonoides empleados como referencia. La presencia de Quercetina, Kaemferol, Naringenina y Leutolina, se determinó en 20 muestras, correspondientes a las especies de *T. angustula* y *M. beecheii* (Figura 2.).

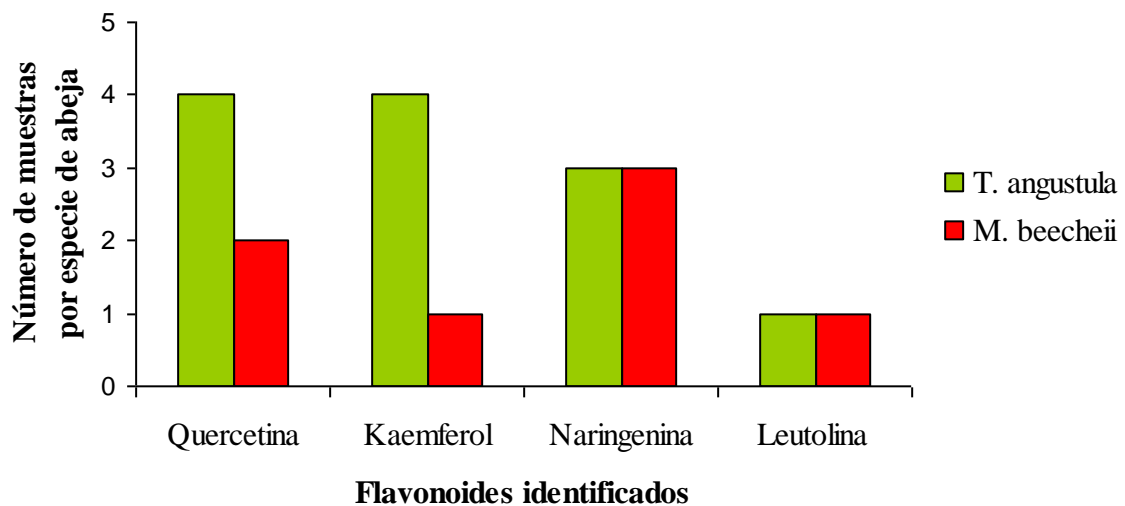


Figura 2. Flavonoides identificados presentes en la fase orgánica de miel de las especies *T. angustula* y *M. beecheii*.

Es importante mencionar, que la Quercetina y el Kaempferol, los cuales se presentaron con mayor frecuencia en los extractos de *T. angustula*, son importantes ya que inducen el sistema antioxidante celular y contribuye así a la prevención de enfermedades (Myhrstad *et al.*, 2002).

3.2.1 Origen Botánico

Los recursos florales que mas destacan en las muestras de miel, pertenecientes a *T. angustula*, *T. perangulata* y *M. beecheii*, pertenecen a las familias de Anacardiaceae, Cyperaceae, Moraceae. El Espavel, Jocote, Jobo y Ojoche fueron las especies más dominantes, distribuidas en las provincias de Guanacaste, San José, Puntarenas, Heredia y Alajuela, zonas de las cuales procedían las muestras de miel de abejas sin aguijón. Por el contrario, las familias: Rutaceae, Melastomataceae, Umbelliferae, Fabaceae, Boraginaceae y Compositae, se registraron en menor frecuencia, el polen fue menor al 3%, del total de la muestra.

El polen predominante, en la muestra de *T. perangulata*, correspondió a *Brosimum alicastrum* (Ojoche), familia Moraceae. Mientras que, en las muestras de miel correspondientes a *M. beecheii* y *T. perangulata*, las especies predominantes fueron *Cyperus sp.* y *Spondias mombin*, *S. purpurea*, respectivamente. Sin embargo, únicamente en la muestra de *M. beecheii* se registró la presencia de polen correspondiente a *Bursera simaruba* (Indio Desnudo), perteneciente a la familia Burseraceae (Figura 3.).

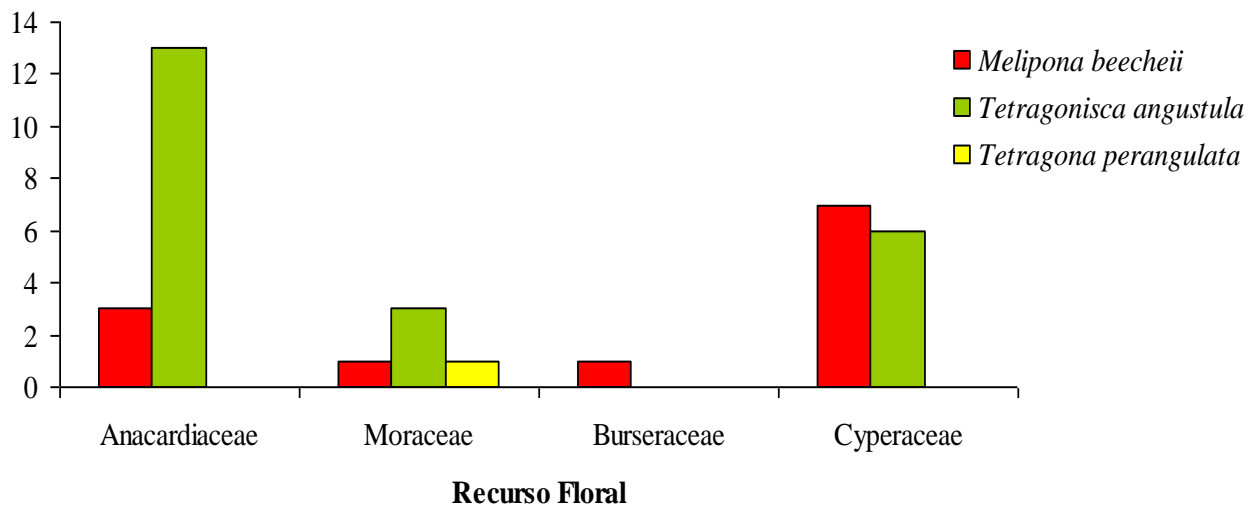


Figura 3. Recurso floral visitado según la especie de abeja (*M. beecheii*, *T. angustula* y *T. perangulata*).

Las familias con mayor predominancia en las muestras, concuerdan con las mencionadas por Arce *et al* (2001), quienes mencionan que las familias botánicas que aportan los mayores volúmenes de néctar para la cosecha de miel son: Fabaceae, Anacardiaceae, Burseraceae, entre otras.

Por otro lado, las muestras de miel de *T. angustula*, presentaron una mayor diversidad (19 familias), seguida de las muestras de *M. beecheii*, con 14. Mientras que, *T. perangulata* presentó tres familias; esto, debido principalmente a que las mieles tropicales se

caracterizan por estar compuestas por una mezcla de néctar, proveniente de varias especies de plantas (Arce *et al*; 2001).

3. Conclusiones

- Las muestras con mayor actividad antioxidante fueron las pertenecientes a *T. angustula* (mariola). A diferencia de las muestras de *M. beecheii* (jicote gato), las cuales presentaron una menor actividad antioxidante.
- Otras muestras de especies menos comunes, presentaron datos variables, difíciles de agrupar debido a la poca cantidad de ejemplares que se disponía.
- Las mieles de meliponinos resultan efectivas para inhibir el crecimiento bacteriano de diversos patógenos como bacterias.
- De manera general, el microorganismo menos susceptible a la miel de abejas sin aguijón fue *Salmonella enteritidis*. Mientras que los más susceptibles a la miel de abejas sin aguijón fueron *Escherichia coli* O157:h7, *Staphylococcus epidermidis* y *Listeria monocytogenes*.
- La presencia de flavonoides (Quercetina, Kaemferol, Naringenina y Leutolina) se determinó únicamente en muestras de miel correspondientes a las especies de *T. angustula* y *M. beecheii*.
- Los recursos florales que mas destacaron en las muestras de miel, pertenecientes a *T. angustula*, *T. perangulata* y *M. beecheii*, fueron Anacardiaceae, Cyperaceae y Moraceae.
- Las muestras de miel de *Tetragonisca angustula*, presentaron una mayor diversidad de especies vegetales (19 familias), seguida de las muestras de *M. beecheii* con 14 familias, mientras que, *T. perangulata* presentó tres familias.

5. Referencias Bibliograficas

Allen, K. L., Molan, P. C., & G. M Reid. 1991. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 43, 817–822.

Al-Mamary, M., Al-Meeri, A. & Al-Habori, M. 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22 (9), 1041-1047.

Arce, H., Sánchez, L., Slaa, J., Sánchez, P., Ortiz, A., van Venn, J. y Sommeijer, M. 2001. Árboles Melíferos Nativos de Mesoamerica. Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Universidad Nacional. 207p

Arias, L., Antillón, F., Chavés, C., y L. Villalobos. 2008. Microbiología de Agua y Alimentos: principios y prácticas de laboratorio. Editorial UCR. San José, Costa Rica. 48 p.

Ávila, M., AG. Crevillen., MC. González., A. Escarpa., LV. Hortiguela., C. De Lorenzo., RA Pérez. 2006. Electroanalytical approach to evaluate antioxidant capacity in honeys: Proposal of an antioxidant index. *Electroanalysis* .18: 1821-6.

Bogdanov S. 1997. Antibacterial substances in honey. Swiss Bee Research Center en www.apis.admin.ch/english/pdf/BeeProducts/AntibacterialInternet_e.pdf

Bogdanov, S. 1989. Determination of pinocembrin in honey using HPLC. *J. Apic. Res.* 28:55-57.

Brovo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Review*. 56 (11). 317-333.

Demera, J y E. Angert. 2003. Comparison of the activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* L. from different phytogeographic regions of Costa Rica. En memorias III Seminario Mesoamericano de abejas sin aguijón. Tapachula, Chiapas, México. 48-58 pp.

Enríquez. E., Maldonado, C., y M.J. Dardón. 2007. Caracterización de la miel de abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) de Guatemala. En memorias V Congreso Mesoamericano sobre abejas sin aguijón. Mérida, México. 40-44 pp.

Estrada, H., M. Gamboa, C. Chaves, L. Arias. 2005. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus níger*. Evaluación de su carga microbiológica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2005. Vol.55 N°2: 167-171.

Ferreres, F., García-Viguera, C., Tomás -Lorente, F & Tomás-Barberán, FA. 1993. Hesperetin: a marker of the floral origin of citrus honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 61. 121-123.

Food and Drug Administration. 2007. 501(k) Summary for Derma Sciences Medihoney Dressings with Active Manuka Honey. En www.fda.gov/cdrh/pdf7/k072956.pdf [Consulta: 4 de febrero, 2009]

Gamboa, M., Figueroa, J., Nates-Parra, G., Cepeda, M y J. Rosso. 2008. Determinación del poder antibacterial de mieles de abejas sin aguijón, a partir de la concentración mínima inhibitoria. En *Memorias V Congreso Mesoamericano sobre abejas sin aguijón*. Mérida, Yucatán, México. 63-66 pp.

Gheldof N, Engeseth N. Antioxidant capacity of honey from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 3050-3055.

Gil, MI, Ferreres, F, Ortiz,A, Subra, E & tomás-Barberán,FA. 1995. Phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43(11), 2833-2838.

González, M; P,Muñiz; V, Valls. 2001. Actividad antioxidante de la cerveza: estudios *in vivo* e *in vitro*. *Centro de información cerveza y salud*. 5-19.

Halliwell, B; J, Gutterioge. 1989. *Free radical in biology and medicine*. Oxford: Claredon; 1:142.

Harborne JB, Baxter H. *The handbook of natural flavonoids*. 1999.Vols 1 and 2. Chichester, UK: John Wiley and Sons.

Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 2000;55:481-504.

Havsteen B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*. 32:1141-8.

Hodges, D. 1984. *The Pollen Loads of the Honey Bee*. International Bee Research Association. London, UK. 30 p.

Kuskoski, EM., AG. Asuero., AM. Troncoso., J. Mancini-Filho., R. Fett. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*. 25(4): 726-732.

Martínez, E., Cuadriello, J., Téllez, O., Ramirez, E., Melchor, E., Medina, M. y M. Lozano. 1993. *Atlas de plantas y el polen utilizados por cinco especies principales de*

abejas productoras de miel en la región del Tacana, Chiapas, México. Universidad Autónoma de México (UNAM). 105 p.

Middleton Jr E, Chithan K. 1993. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne JB, editor. *The flavonoids: advances in research since 1986*. London, UK: Chapman and Hall.

Molan, P. 1992. The antibacterial activity of honey, I. The nature of antibacterial activity. In *The antibacterial activity of honey*. International Bee Research Association (IBRA). 5-28 pp.

Molan, P. C. 2002. Authenticity in honey, in PR Ashurst & MJ Dennis (ed.), *Food authentication*, Blackie Academic and Professional, London.

Molan, P. C., & K. M, Russell. 1998. Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *J. Apic. Res.*, 27(1), 62–67.

Myhrstad MC, Carlsen H, Nordstrom O, Blomhoff R y Moskaug JJO: Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the gamma-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free Radic Biol Med*, 2002, 32:386-393.

National Honey Board. pH & Acids in Honey. (The National Honey Board, 390 Lashley Street Longmont, CO 80501-6045 USA). Disponible en: <http://www.nhb.org/download/factsht/ph-acid.pdf>

Nostro *et al.* 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *The Society for Applied Microbiology. Letters in applied Microbiology*. 30. 379:384.

Palacios, R., Ludlow-Wiechers, B. y R. Villanueva. 1991. Flora palinológica de la reserva de la Biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, México. 321 p

Pérez RA., MT. Iglesias., E. Pueyo., M. González., C. De Lorenzo. 2007. Amino Acid Composition and Antioxidant Capacity of Spanish Honeys. *J Agric and Food Chem*. 55:360-365.

Peterson, J & Dwyer, J. 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18 (12), 1995-2018.

Rahme, L., E. Stevens, S. Wolfort, J. Shao, R. Tompkins, and F. M. Ausubel. 1995. *Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals*. *Science* 268:1899-1902.

Revised Codex Standard for Honey. Codex Stan 12-1981., Rev. 2001. 24th Session of the Codex Alimentarius Commission, 7 pp.

Richardson, AR, Libby SJ, Fang FC. 2008. A nitric oxide-inducible lactate dehydrogenase enables *Staphylococcus aureus* to resist innate immunity. *Science*. 319 (5870): 1672-1676.

Rodríguez, J; J, Menéndez; Y, Trujillo. 2001. Radicales libres en biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit*; 30(1):36-44.

Roubik, D.W y Moreno, J. 1991. Pollen and Spores of Barro Colorado Island. Missouri Botanical Garden. USA. 268 p

Roubik, D.W. 1983. Nest and colony characteristics of stingless bees from Panama (Hym: Apidae). *Journal of Kansas Entomological Society* 56 (3): 327-355.

Russell, K.M., Molan, P.C., Wilkins, A.L., and Holland, P.T. 1990. Identification of some antibacterial constituents of New Zealand manuka honey. *J. Agric. Food Chem.* 38:10-13

Ryan, KJ y Ray, C.G .2004. *Sherris Medical Microbiology*, 4th ed. edición, McGraw Hill.

Subrahmanyam M, Archan H, Pawar S. Antibacterial activity of honey on bacteria isolated from wounds. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 2001;XIV: 23-29.

Tortora G, Funke B, Case C (2002) *Microbiology: An Introduction Media Update*. 7th ed. Cummings. San Francisco, EEUU. 887 pp.

Velázquez, M; B, Priet; R, Contreras. 2004. El envejecimiento y los radicales libres. *Elixir del Dr Thermes. Ciencias* 75. México. 36-43.

Vit P, Persano L, Marano M. y E. Salas. 1998. Venezuelan Stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie* 29: 377-389.

Vit P., y M. Medina. 2004. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, México and Venezuela. *Bee World* 85: 2-5.

Vit, P., E. Enríquez., M. O Barth., AH. Matsuda., L. Almeida-Muradian. 2006. Necesidad del control de calidad de la miel de abejas sin aguijón. *MedULA, Revista de Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela.* 15(2): 89-95.

Walker, T. S., H. P. Bais, E. Déziel, H. P. Schweizer, L. G. Rahme, R. Fall, and J. M. Vivanco. 2004. *Pseudomonas aeruginosa-plant root interactions. Pathogenicity, biofilm formation, and root exudation.* *Plant Physiol.* 134:320-331.

Yildirim A., A. Mavi., A.A. Kara. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem*; (49): 4083-4089.