

# Propiedades bioactivas y nutricionales del polen apícola de la provincia del Chubut, Argentina

ALOISI, P.V.<sup>1</sup>; RUPPEL, S.<sup>1</sup>

## RESUMEN

El polen recolectado por las abejas es un producto apícola usado en la dieta humana por su alto valor nutricional y por ser un alimento balanceado. El polen comercializado consiste en una mezcla de pólenes de distinto origen botánico, néctar y secreciones de las abejas. Este producto de la colmena, rico en azúcares, lípidos y compuestos polifenólicos, principalmente flavonoides, presenta, además, propiedades bioactivas tanto farmacológicas como antioxidantes. El objetivo de este trabajo fue determinar la composición nutricional y la actividad antioxidante del polen apícola proveniente de las zonas melíferas más importantes de la provincia del Chubut: la región cordillerana y la región del valle inferior del río Chubut (VIRCH). Para determinar el contenido proteico se empleó el método de Bradford y los valores fueron expresados en % (g proteínas/100 g polen seco). Las cantidades de polifenoles totales y flavonoides fueron determinadas mediante los métodos de Folin-Ciocalteu y la técnica espectrofotométrica de nitrato de aluminio [Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] respectivamente. La capacidad antioxidante fue evaluada empleando la técnica del radical libre 1,1-difenil-2 picrilhidracilo (DPPH\*). El contenido de proteínas presentó un valor medio de 20,2%. Los contenidos de polifenoles totales y flavonoides para las dos regiones melíferas oscilaron entre 50,5 mg y 163,9 mg de ácido gálico (GAE)/ g de polen seco y 10,3 mg y 65,6 mg de rutina (RE)/ g de polen seco. La actividad antirradicalaria en los extractos polínicos de ambas zonas fue alto y el EC<sub>50</sub> varió entre 0,34 mg/ml y 5,82 mg/ml. La mayor capacidad antioxidante correspondió al polen apícola de la región del VIRCH, la cual también presentó un alto contenido de compuestos fenólicos.

**Palabras claves:** antioxidantes, Bradford, proteínas, Patagonia argentina.

## ABSTRACT

*Pollen collected by bees is a beekeeping product used in human diet for its high nutritional value and for being a balanced food. It consists in a mixture of pollen with different botanical origin, nectar and bee secretions. This beehive product rich in sugars, lipids and polyphenolic compounds, mainly flavonoids, has also bioactive properties such as pharmacological and antioxidant. The aim of this study was to determine the nutritional composition and antioxidant activity of bee pollen from the most important apicultural areas from Chubut: the Andean region and the region of the lower valley of the Chubut River (VIRCH). Bradford method was used for the determination of protein content and the values were expressed in % (g protein/100 g dry pollen). The amounts of total polyphenols and flavonoids were determined by the Folin-Ciocalteu method and the spectrophotometric technique of aluminum nitrate (Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) respectively. The antioxidant activity was evaluated using the technique of free radical 1, 1 -diphenyl -2 - picrylhydrazyl (DPPH \*). The protein content presented a mean value of 20.2%. The content of total polyphenols and flavonoids from both apicultural regions varied bet-*

<sup>1</sup>Laboratorio de Palinología y Control de Calidad de Miel y Productos Apícolas, FCN (UNPSJB), Roca 115, 9100 Trelew, Argentina. Correo electrónico: piaaloisi@gmail.com

ween 50.5 and 163.9 mg of gallic acid (GAE) / g of dry pollen and 10.3 and 65.6 mg of rutin (RE)/ g of dry pollen. The antiradical activity in pollen extracts from both regions was high and the  $EC_{50}$  ranged from 0.34 mg / ml and 5.82 mg / ml. The highest antioxidant capacity corresponded to bee pollen from VIRCH, which also exhibited a higher content of phenolic compounds.

**Keywords:** Antioxidants, Bradford, proteins, Argentinean Patagonia.

## INTRODUCCIÓN

El polen recolectado por las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) es un producto apícola usado en la dieta humana por su alto valor nutritivo y por sus beneficios para la salud. Este producto de la colmena presenta, en su composición nutricional, proteínas, lípidos, azúcares, fibras, sales minerales, aminoácidos y vitaminas (Carpes *et al.*, 2009). Presenta, además, altos contenidos de sustancias polifenólicas con propiedades farmacológicas (antibióticas, antineoplásicas, antiarréicas) y antioxidantes (Almaraz-Abarca *et al.*, 2004; Sarmento Silva *et al.*, 2006; Kroyer, G. & Hegedus, N., 2001).

El hecho de que *A. mellifera* prefiera polen rico en proteínas aumenta la posibilidad de utilizar estos pólenes como complementos nutricionales, con las abejas actuando como recolectoras naturales de polen y por lo tanto de proteínas vegetales (Montenegro *et al.*, 1992). Sumado a esto, la actividad antioxidante del polen apícola reconocida como la captación de radicales libres y la inhibición de la peroxidación lipídica, está asociada a la presencia de vitaminas C y E,  $\beta$ -carotenos y una variedad de compuestos fenólicos (Campos, 1997; Campos *et al.*, 2003; Almeida. Muradian *et al.*, 2005). Las investigaciones más recientes sobre la acción antioxidante se centran en los compuestos fenólicos como los flavonoides. Estos componentes han sido estudiados ampliamente y se demostró que existe un tipo de perfil cromatográfico (flavonoides/ compuestos fenólicos) que varía según el origen botánico del polen recolectado. Varios estudios sugieren además, que estos compuestos podrían reducir la incidencia de enfermedades degenerativas como cáncer y arterioesclerosis entre otras (Serra-Bonvehí *et al.*, 2001; Campos *et al.*, 2003).

En los últimos años la demanda de productos naturales diferenciados por su calidad y sus propiedades benéficas relacionadas con la salud ha aumentado, entre esos productos se encuentran los provenientes de la colmena. La mayor parte de los estudios destinados a la apicultura se han enfocado, principalmente, en la miel por ser el producto de mayor demanda y del que más se conoce tanto a nivel nacional como internacional. En países del hemisferio norte, principalmente europeos, los estudios del polen de las mieles tuvieron un intenso desarrollo hace varias décadas. Sin embargo en América Latina, el desarrollo de esta especialidad es nulo en la mayoría de los países y tiene diferente grado de adelanto y de transferencia al ámbito productivo en Argentina, Brasil, México y Uruguay (Tellería, 2001).

En la región patagónica, particularmente en la provincia del Chubut, se han realizado estudios melisopalinológicos para la caracterización de los recursos melíferos de la zona (Forcone & Tellería, 1998, 2000; Forcone, 2003, 2008; Forcone *et al.*, 2003, 2005). Sin embargo, en cuanto a las características nutricionales del polen apícola los trabajos son escasos (Forcone, 2002; Forcone *et al.*, 2013) e inexistentes en relación con las propiedades bioactivas. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es contribuir al conocimiento del polen apícola de la provincia del Chubut, para sus dos regiones melíferas más importante: la zona cordillerana y la región del valle inferior del río Chubut, determinando algunas propiedades de calidad que permitan incrementar el valor agregado de este producto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

Para el estudio del polen apícola de la región cordillerana (RC) y del valle inferior del río Chubut (VIRCH) se seleccionaron dos apiarios. Estos se ubicaron en el departamento de Futaleufú, a 6 km de la ciudad de Esquel (42° 55' S, 71° 22' O) y en la región de Treorcky (43° 16' S, 65° 23' O), respectivamente.

### Vegetación de las áreas de estudio

La vegetación que rodea al apiario de la región cordillerana está representada principalmente por *Maytenus boaria* Molina ("Maitén") y *Nothofagus antártica* (G. Forst.) Oerst. ("Ñire"). En el estrato arbustivo prevalecen las especies *Fabiana imbricata* Ruiz et Pav. ("Palo piche"), *Diostea juncea* (Gillies ex Hook.) Miers ("Retamo"), *Berberis microphylla* (Gillies ex Hook.) Miers ("Calafate"), *Discaria chacaye* (G. Don.) Tortosa ("Chacay de la cordillera"), *Schinus patagonicus* (Phil.) I. M. Johnst. ex Cabrera ("Laura"), *Baccharis* spp., *Acaena* spp., y *Senecio* spp. En cuanto a las hierbas, prevalecen entre otras *Poa* spp., *Phacelia secunda* J. F. Gmel. y *Oenothera odorata* Jacq. La mayor parte de la superficie cultivada está plantada con cultivos forrajeros (principalmente *Medicago sativa* L.), árboles exóticos como *Pinus ponderosa* Douglas ex Lawson and C. Lawson, *Pinus radiata* D. Don, *Pseudotsuga menziesii* (Mirbel) Franco, *Cupressus macrocarpa* Hartw. ex Gordon, *Salix* spp., *Populus* spp., y algunos árboles frutales como *Prunus* spp. y *Malus sylvestris* Mill. Entre las hierbas exóticas, algunas

de ellas malezas, se encuentran *Brassica* spp., *Rumex acetosella* L., *Plantago lanceolata* L., *Carduus thoermeri* Weinm., *Conium maculatum* L., *Melilotus albus* Desr., *Artemisia absinthium* L., *Taraxacum officinale* G. Weber ex F. H. Wigg. y *Matricaria recutita* L. (Forcone *et al.*, 2013).

La vegetación característica del valle inferior del río Chubut corresponde a la estepa arbustiva representada principalmente por las especies *Larrea divaricata* Cav. y *Larrea nitida* Cav. Otros arbustos frecuentes son *Lycium chilense* Bertero ("llaullín"), *Chuquiraga erinacea* D. Don, ("chilladora"), *Prosopis alata* Phil. ("alpataco"), *Ephedra ochreatea* Miers ("solupe"), *Prosopidastrum globosum* (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart ("manca potrillo") y *Bougainvillea spinosa* (Cav.) Heimerl ("mata negra"). En los sectores bajos dominan las plantas halófilas como *Suaeda divaricata* Moq. ("jume"), *Atriplex lampa* (Moq.) D. Dietr. ("zampa"), *Cyclolepis genistoides* D. Don ("palo azul") y *Lycium ameghinoi* Speg ("mata laguna") (Forcone, 2008). El principal cultivo de la zona es *Medicago sativa* L., seguido de plantas hortícolas, cereales, frutales y forestales, en particular *Populus nigra* L. A lo largo de la orilla del río son abundantes *Salix* spp., *Populus* spp. y *Tamarix gallica* L. En los campos de cultivo y bordes de camino, viven especies adventicias, algunas de las cuales constituyen importantes malezas; se destacan por su abundancia *Brassica* spp., *Cardaria draba* (L.) Desv., *Cichorium intybus* L., *Convolvulus arvensis* L., *Erysimum repandum* L. y *Rapistrum rugosum* L. (Forcone 2002, 2008).

### Muestras de polen apícola

Se recolectaron diez muestras en cada apiario, las cuales fueron obtenidas cada 20 días. En la RC se muestreó durante el período apícola 2010-2011 y para el VIRCH se muestreó durante el verano de la temporada apícola 2011-2012 y durante la primavera de la temporada apícola 2012-2013 (tabla 1). Para efectuar la recolección de polen, en cada colmenar se seleccionaron tres colmenas y a las cuales se les colocaron trampas caza polen de tipo clásico (Louveaux, 1968), ubicadas en las piqueras durante una jornada completa (8-18 h). El material recolectado en las trampas fue secado a temperatura ambiente por espacio de 24 horas y luego trasladado al laboratorio para su estudio. Allí fue secado en estufa a 40 °C, durante 48 h (Baldi Coronel, 1999).

### Contenido proteico

A una alícuota de 0,025 g tomada a partir de 2 g de polen molido (con molinillo a cuchilla Tecno Dalvo) de cada muestra, se le agregaron 2 ml de buffer Tris/EDTA 30 mM pH 8,5 y se centrifugaron durante 20 min a 4500 g. Se tomaron alícuotas de 0,1 ml de cada sobrenadante y se determinó la cantidad de proteínas totales mediante el método de Bradford (1976). Para el estándar se disolvieron 10 mg de seroalbúmina bovina cristalizada (STANDARD) en 10 ml del buffer de reacción. Los valores fueron determinados mediante la

Muestras	Fecha de muestreo
RC 01	25/09/2010
RC 02	15/10/2010
RC 03	02/11/2010
RC 04	27/11/2010
RC 05	15/12/2010
RC 06	29/12/2010
RC 07	12/01/2011
RC 08	29/01/2011
RC 09	15/02/2011
RC 10	01/03/2011
VIRCH 01	16/12/2011
VIRCH 02	06/01/2012
VIRCH 03	25/01/2012
VIRCH 04	14/02/2012
VIRCH 05	05/03/2012
VIRCH 06	27/09/2012
VIRCH 07	17/10/2012
VIRCH 08	07/11/2012
VIRCH 09	28/11/2012
VIRCH 10	29/12/2012

**Tabla 1.** Cronograma de muestreo del polen apícola de la provincia del Chubut.

Cronograma de muestreo correspondiente a las temporadas apícolas 2010-2011 para la región cordillerana (RC) y al verano de la temporada apícola 2011-2012 y primavera de la temporada apícola 2012-2013, para la zona del valle inferior del río Chubut (VIRCH).

absorbancia medida a 595 nm y los resultados fueron expresados en porcentaje % (g proteínas/ 100 g de polen seco).

### Preparación de los extractos etanólicos (EEP)

Los extractos etanólicos de polen usados para la determinación de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de cada muestra, se obtuvieron por extracción de 2 g de polen molido (con molinillo a cuchilla Tecno Dalvo) y homogeneizado con 15 ml de etanol al 60% (EEP 60 %). Las muestras fueron incubadas en baño termostático a 70 °C durante 30 minutos con agitación manual constante. Posteriormente fueron filtradas y los extractos obtenidos, almacenados a 4 °C, según el método de Carpes *et al.* (2007).

### Polifenoles totales y contenido de flavonoides

El contenido de polifenoles totales en cada extracto (EEP) fue determinado mediante el método de Folin-Ciocalteu (Sin-

Muestras	%(g/100g)
RC 01	23,7
RC 02	20
RC 03	21,8
RC 04	20,4
RC 05	23,2
RC 06	24
RC 07	28
RC 08	22,8
RC 09	22,2
RC 10	22,9
VIRCH 01	16
VIRCH 02	17,6
VIRCH 03	17,6
VIRCH 04	17
VIRCH 05	13,4
VIRCH 06	16,9
VIRCH 07	21
VIRCH 08	21,9
VIRCH 09	18
VIRCH 10	13,8
V <sub>max</sub>	28
V <sub>min</sub>	13,4
MEDIA <sub>±</sub>	20,11
DS	3,7

**Tabla 2.** Contenido proteico del polen apícola de la provincia del Chubut.

Proteínas totales % (g de proteínas/ 100 g de polen seco).  
RC: Región cordillerana, VIRCH: valle inferior del río Chubut.

gleton *et al.*, 1999). A una alícuota de 0,5 ml de cada EEP (1:25) se le adicionaron 2,5 ml del reactivo Folin-Ciocalteu diluido 1:10 y 2 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4%. Luego de 30 min de incubación a 40 °C en baño termostatzado (Waterhouse, 2003), se registró la absorbancia a 740 nm en un espectrofotómetro Optima SP 3000 Plus UV-VIS. Los resultados del contenido de polifenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico (mg GAE/ g polen seco).

El contenido de flavonoides totales fue determinado mediante el método de Park *et al.* (1998), con las siguientes modificaciones: una alícuota de 0,5 ml de cada EEP (1:10) se le agregaron 4,3 ml de etanol 80%, 0,1 ml de Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> al 10% y 0,1 ml de acetato de potasio (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>KO<sub>2</sub>) 1M. Las muestras fueron incubadas durante 40 min a temperatura ambiente y la absorbancia fue medida a 415 nm en espectrofotómetro Optima SP 3000 Plus UV-VIS. La cantidad total de flavonoides fue calculada como equivalentes de rutina (RE) (mg RE/g de polen seco).

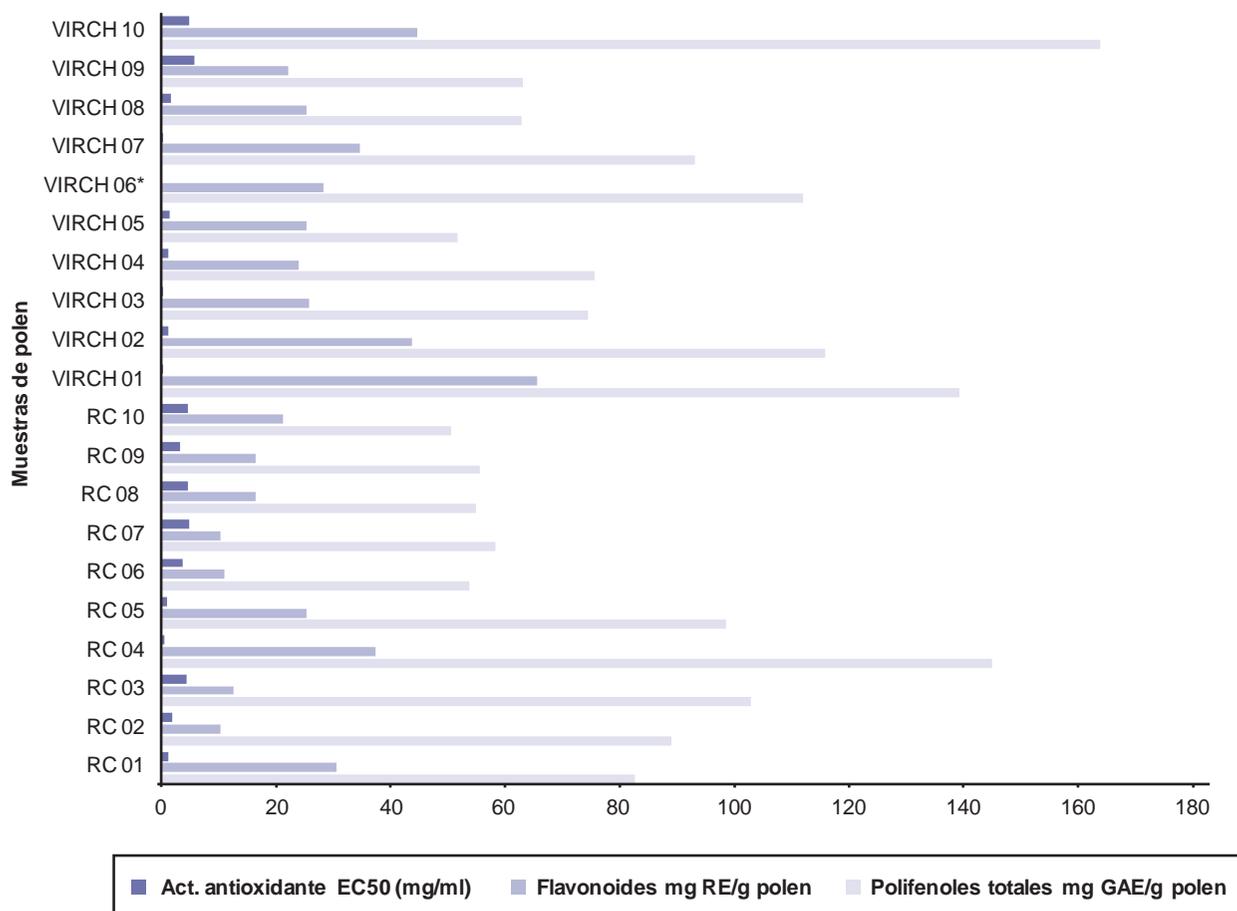
Muestras	Polifenoles totales mg GAE/g polen	Flavonoides mg RE/g polen	Act. Antioxidante EC <sub>50</sub> (mg/ml)
RC 01	82,7	30,65	1,23
RC 02	89,1	10,4	1,84
RC 03	102,9	12,57	4,29
RC 04	145	37,32	0,59
RC 05	98,6	25,32	0,93
RC 06	53,7	10,98	3,67
RC 07	58,4	10,32	4,93
RC 08	54,9	16,54	4,52
RC 09	55,6	16,4	3,29
RC 10	50,5	21,32	4,69
VIRCH 01	139,3	65,57	0,37
VIRCH 02	115,8	43,73	1,14
VIRCH 03	74,4	25,65	0,38
VIRCH 04	75,7	23,98	1,21
VIRCH 05	51,7	25,32	1,45
VIRCH 06*	112,1	28,32	0
VIRCH 07	93,1	34,65	0,34
VIRCH 08	62,8	25,4	1,75
VIRCH 09	63,2	22,15	5,82
VIRCH 10	163,9	44,57	4,89
V <sub>max</sub>	163,9	65,57	5,82
V <sub>min</sub>	55,6	10,32	0
MEDIA <sub>±</sub> DS	87,17 ± 33,9	26,6 ± 13,7	2,49 ± 1,88

**Tabla 3.** Componentes bioactivos y capacidad antioxidante del polen apícola de la provincia del Chubut.

Compuestos polifenólicos (mg GAE/ g polen seco), flavonoides totales (mg RE/ g polen seco) y actividad antioxidante (EC<sub>50</sub>) del polen apícola de la provincia de Chubut. RC: Región cordillerana, VIRCH: valle inferior del río Chubut. GAE: equivalentes de ácido gálico. RE: equivalente de rutina. \* Valor de EC<sub>50</sub> para la muestra obtenido por duplicado

### Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los compuestos presentes en los extractos EEP fue determinada mediante la capacidad antirradicalaria del radical libre DPPH. A alícuotas de 0,5 ml de cada EEP se le adicionaron 3 ml de etanol 95% y 0,3 ml de solución etanólica de DPPH 0,5 mM. Se empleó como solución estándar ácido ascórbico en una concentración final de 0,9 mg /ml. Una solución de 3,5 ml de etanol 95% y 0,3 ml de DPPH 0,5 mM fue empleada como control negativo. Se realizaron blancos para cada EEP agregando 3,3 ml de etanol a 0,5 ml de cada muestra. Finalmente, se registró la disminución de la absorbancia a 517 nm a temperatura ambiente, hasta valor constante. La actividad



**Figura 1.** Relación entre los compuestos bioactivos (polifenoles y flavonoides) y la capacidad antioxidante del polen apícola de la provincia del Chubut.

Compuestos polifenólicos (mg GAE/ g polen seco), flavonoides totales (mg RE/ g polen seco) y actividad antioxidante ( $EC_{50}$ ) del polen apícola de la provincia del Chubut. Los datos se obtuvieron como un promedio ( $n=3$ ).

antioxidante fue expresada en términos de  $EC_{50}$  (mínima concentración del antioxidante para reducir al 50% la concentración inicial del DPPH). Los valores de  $EC_{50}$  fueron calculados de acuerdo a la fórmula de Mensor *et al.* (2001).

### Análisis estadístico

Todos los análisis fueron realizados por triplicado. Los resultados fueron presentados como medias y desvíos estándar. Se usó la Prueba *t* de Student para la comparación de las medias poblacionales, considerándose a las diferencias significativas cuando  $p \leq 0,05$ . Para determinar si los componentes bioactivos de las muestras contribuyeron a la capacidad antioxidante, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos se desarrollaron usando el paquete de programas de Microsoft® Excel 2010.

### RESULTADOS

El contenido de proteínas totales presentó un valor medio de 20,2%. Los mayores valores para proteínas fueron

detectados en las muestras provenientes de la cordillera, variando entre 20% y 28%. Con respecto al polen analizado proveniente de la región del VIRCH, los contenidos fueron menores y variaron entre 13,4% y 21,9% (tabla 2).

La cantidad de polifenoles fue alta para las muestras de ambas regiones, con valores medios de  $79,1 \pm 30,6$  mg GAE/g polen seco para el polen de la región cordillerana y de  $95,2 \pm 36,8$  mg GAE/g polen seco para la región del VIRCH.

El contenido de flavonoides expresados en equivalentes de rutina, presentó un valor máximo de 37,32 mg RE/ g polen seco para el polen proveniente de la región andina y un máximo de 65,6 mg rutina/ g polen seco para el polen valletano (tabla 3).

Las diferencias en el contenido proteico y la cantidad de flavonoides totales entre ambas regiones resultaron estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

La actividad antioxidante del polen estudiado fue expresada en términos de  $EC_{50}$ . Bajos valores indican una mejor capacidad antioxidante de los extractos de polen. Los extractos polínicos de ambas regiones presentaron un  $EC_{50}$

que varió desde 5,82 a 0,34 mg/ml, con un valor medio de  $2,49 \pm 1,88$  mg/ml. El menor valor detectado y consecuentemente la mayor capacidad antioxidante en términos del radical libre DPPH ( $EC_{50} = 0,34$  mg/ml), correspondió a una muestra proveniente del VIRCH (tabla 3, figura 1).

Los contenidos de fenoles totales y de flavonoides para todas las muestras analizadas presentaron una relación positiva moderada con respecto a la capacidad antioxidante (coeficientes de correlación de Pearson: 0,4 y 0,6 respectivamente).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Casi la totalidad de las cosechas diarias de polen estudiadas en este trabajo presentan un contenido proteico aceptable para ser considerado un importante complemento alimenticio. Las muestras con mayor riqueza proteica correspondieron a las procedentes de la región cordillerana, los valores medios obtenidos son coincidentes con los reportados para el polen de esta región por Forcone *et al.* (2013).

Solamente 2 muestras provenientes de la región del VIRCH presentaron un valor inferior al 15%. Esta variabilidad en los resultados puede atribuirse al gran espectro de fuentes polínicas que emplean las abejas como estrategia para reducir las posibles deficiencias nutricionales en las colmenas. Algunos autores mencionan que niveles de proteína cruda inferiores a 20% no satisfacen los requerimientos de la colonia, siendo ideales niveles superiores a 23%. Sin embargo, otros reportan que la abeja utiliza especies con diversos porcentajes de proteína, y no solo aquellas ricas en esa sustancia, asegurando, de esta manera, una dieta variada y equilibrada, satisfactoria para su desarrollo, debido a que cada tipo polínico poseen una composición nutricional particular (Schmidt *et al.*, 1987; Louveaux, 1990). Los valores hallados en las muestras analizadas estuvieron comprendidos dentro de los rangos establecidos por el CAA (15-28%) (Baldi Coronel *et al.*, 2004) y por Swiss Food Manual (10-40%) (Bogdanov, 2004). Los datos obtenidos concuerdan con los reportados por Forcone (2002) y Forcone *et al.* (2013) para las regiones estudiadas, superan a aquellos reportados para el polen apícola del noroeste de España (Sá-Otero *et al.*, 2009) y se encuentran dentro del rango de los pólenes analizados en el sur de Brasil (Carpes *et al.*, 2009).

Las muestras analizadas muestran un contenido heterogéneo de fenoles totales, con un valor mínimo de 55,6 mg y un valor máximo de 163,9 mg GAE/g de polen seco. El valor más alto se registró para la zona del VIRCH a fines del mes de diciembre. Los pólenes provenientes de la cordillera presentan un contenido fenólico inferior. Los resultados obtenidos para este parámetro superan ampliamente a aquellos reportados por Carpes *et al.* (2009) y Kroyer & Hegedus (2001) para los pólenes del sur de Brasil y de Viena (Austria) respectivamente, y son similares a los obtenidos para los pólenes del oeste español (Serra Bonvehí *et al.*, 2001) y del noreste brasileiro (Freire *et al.*, 2012).

Al igual que para los polifenoles, las mayores cantidades de flavonoides corresponden a las muestras polínicas del

valle. Solo una muestra proveniente de esta zona (VIRCH 06) se comportó de manera diferente, presentando valores elevados de polifenoles y bajo tenor de flavonoides. Esto sugiere la posible presencia de otros compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos (Carpes, 2008). Los valores obtenidos en este trabajo son mayores que aquellos reportados por Carpes *et al.* (2009) para los pólenes brasileiros y por Serra Bonvehí *et al.* (2001) para los pólenes españoles. Los resultados obtenidos pueden deberse a las bajas temperaturas características de las áreas de producción, que serían determinantes en el incremento de los compuestos volátiles (aceites esenciales, compuestos fenólicos y flavonoides) presentes en el polen apícola (Collin *et al.*, 1995; Carbone *et al.*, 2009).

La actividad antioxidante de los extractos polínicos analizados en este estudio, representan la capacidad de los mismos de inhibir a los radicales libres y de evitar la propagación de la oxidación lipídica en los alimentos, (Kaur y Perkins, 1991).

Los altos valores registrados presentan una moderada correlación positiva con los contenidos fenólicos, en particular los flavonoides, cuya estructura química favorece la neutralización de las especies reactivas del oxígeno (Campos, 1997).

De acuerdo a los resultados obtenidos, el polen proveniente de las principales regiones melíferas de la provincia del Chubut constituye un producto apícola de alto valor nutricional y una fuente potencial de antioxidantes naturales cuya incorporación en la dieta humana representaría un beneficio para la salud. Dada la diversidad y complejidad del polen apícola, serán necesarias futuras investigaciones para evaluar estos componentes bioactivos según el origen botánico del polen apícola de la provincia del Chubut.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren manifestar su agradecimiento a la Sra. Jane Rojas Varas por su buena voluntad y desinteresada colaboración con el aporte y toma de muestras durante el verano de la temporada apícola 2011-2012 y primavera de la temporada apícola 2012-2013, para la zona del valle inferior del río Chubut (VIRCH).

Este trabajo fue realizado con un subsidio de investigación (2011) otorgado por la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la provincia del Chubut.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALMARAZ-ABARCA, N.; CAMPOS, M.; ÁVILA-REYES, J.; NARANJO-JIMENEZ, N.; HERRERA-CORRAL, J.; GONZÁLEZ-VALDEZ, L. 2004. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interciencia* 29 (10): 574-578.
- ALMEIDA MURADIAN, PAMPLONA, L.; COIMBRA, S., BATH O. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 105-111.

- BALDI CORONEL, B. 1999. Influencia del proceso de secado del polen para uso alimenticio. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 18 (10): 241- 274.
- BALDI CORONEL, B.; GRASSO D.; PEREIRA S.; FERNÁNDEZ G. 2004. Caracterización bromatológica del polen apícola argentino. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 29 (15): 145- 181.
- BOGDANOV, S. 2004. Quality and Standards of Pollen and Beeswax. *APIACTA* 38: 334-341.
- BRADFORD, M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- CAMPOS, M.G. 1997. Caracterização do polen apícola pelo seu perfil em compostos fenólicos e pesquisa de algumas actividades biológicas. Thesis. School of Pharmacy. Universidade de Coimbra. Portugal. 318 pp.
- CAMPOS, M.; WEBBY, R.; MARKHAM, K.; MITCHELL, K.; da CUHNA, A. 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: 742-745.
- CARBONE, F.; PREUSS, A.; De VOS, R.C.H.; D'AMICO, E.; PERROTTA, G.; BOVY, A.G.; MARTENS, S.; ROSATI, C. 2009. Developmental, genetic and environmental factors affect the expression of flavonoid genes, enzymes and metabolites in strawberry fruits. *Plant Cell Environ* 32: 1117-1131.
- CARPES, S.; BEGNINI, R.; de ALENCAR, S.; MASSON, M. 2007. Study of preparation 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 polen apícola de *Apis mellifera* L. da região sul do Brasil. Thesis. Universidade Federal do Paraná. Brasil. 255 pp.
- CARPES, S.; MOURÃO, G.; de ALENCAR, S.; MASSON, M. 2009. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Food Technology*. 12 (3): 220-229.
- COLLIN, S.; VANHAVRE, T.; BODART, E.; BOUSETA A. 1995. Heat treatments of pollens: impact of their volatile flavor constituents. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 43 (2): 444-448.
- FORCONE, A. 2002. Bee-collected pollen in the lower valley of the Chubut river (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 37 (3-4): 251-259.
- FORCONE, A. 2003. Plantas nectaríferas utilizadas por *Apis mellifera* L. en la Patagonia extra-andina, Argentina. *Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat.*, n.s. 5 (2): 363-369.
- FORCONE, A. 2008 Pollen Analysis of honeys from Chubut (Argentinean Patagonia). *Grana* 47: 147-158.
- FORCONE, A.; TELLERÍA, M. C. 1998. Caracterización palinológica de las mieles del valle inferior del río Chubut. (Argentina). *Darwiniana* 36 (1-4): 81-86.
- FORCONE, A.; TELLERÍA, M. C. 2000. Caracterización palinológica de las mieles de la llanura del río Senguerr (Chubut-Argentina). *Darwiniana* 38 (3-4): 267-271.
- FORCONE, A.; BRAVO, O.; AYESTARÁN, M. G. 2003. Intraannual variations in the pollinic spectrum of honey from the lower valley of the River Chubut (Patagonia, Argentina). *Spanish Journal of Agricultural Research* 1 (2): 29-36.
- FORCONE, A.; AYESTARÁN G.; KUTSCHKER, A.; GARCÍA, J. 2005. Palynological characterization of honeys from the Andean Patagonia (Chubut, Argentina). *Grana* 44: 1-7.
- FORCONE, A.; GARCÍA, J.; AYESTARÁN, G. 2006. Polen de las mieles de la Patagonia Andina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 41 (1-2): 25-39.
- FORCONE, A.; CALDERÓN, A.; KUTSCHKER, A. 2013. Apicultural pollen from the Andean region of Chubut (Argentinean Patagonia). *Grana* 52 (1): 49-58.
- FREIRE, K.; LINS, A.; DÓREA, M.; SANTOS, F.; CAMARA C.; SILVA T. 2012. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. *Molecules* 17: 1652-1664.
- KAUR, H.; PERKINS, J. 1991. The free radical chemistry of food additives. En: Aruoma, O.I.; Halliwell, B. (Ed.), *Free Radicals and Food Additives*. Taylor & Francis, London, UK. 17-35 pp.
- 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.
- LOUVEAUX, J. 1968. Étude expérimentale de la récolte du pollen. En R. Chauvin (Ed.), *Traité de biologie de l'abeille*. Masson. Paris, France. 325-362 pp.
- LOUVEAUX J. 1990. Les relations abelles-pollens. *Bulletin de la Société Botanique de France/ Actualités Botanique* 137: 121-131.
- MENSOR, L.; MENEZES, F.; LEITÃO, G.; REIS, A.; dos SANTOS, T.; COUBE, C.; LEITÃO, S. 2001. Screening of Brazilian Plants Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method. *Phytotherapy Research* 15: 127 -130.
- MONTENEGRO, G.; GOMEZ, M.; AVILA, G. 1992. Importancia relativa de especies cuyo polen es utilizado por *Apis mellifera* en el área de la reserva nacional Los Ruiles, VII Región de Chile. *Acta Botánica Malacitana* 17: 167- 174.
- PARK, Y.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.; ALCICI, N. 1998. Estudio da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 18 (3): 313-318.
- SÁ-OTERO, M.; ARMESTO-BAZTAN, S.; DÍAZ-LOSADA, E. 2009. Analysis of protein content in pollen loads produced in north-west Spain. *Grana* 48: 290-296.
- SARMENTO da SILVA, T.; AMORIN CAMARA, C.; da SILVA LINS, A.; BARBOSA-FILHO, J.; SARMENTO da SILVA, E.; MAGALHAES FREITAS, B.; RIBEIRO dos SANTOS, F. 2006. Chemical composition and free scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 507-511.
- SCHMIDT, J.; THOOENES, S.; LEVIN, M. 1987. Survival of honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), fed various pollen sources. *Annals of the Entomological Society of America* 80: 176-183.
- 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.
- SINGLETON, V.; JOSEPH, A.; ROSSI, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- TELLERÍA, M. 2001. El polen de las mieles, un indicador de su procedencia botánica y geográfica. *Ciencia Hoy*. 11 (62): 63-66.
- WATERHOUSE, A. 2003. Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 1:11:11.1.