



**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**ESTUDIO METABOLÓMICO DEL POLEN COLECTADO
POR LA ABEJA (*Melipona beecheii*) PARA IDENTIFICAR
METABOLITOS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y
ANTIOXIDANTE.**

TESIS REPOSITORIO

Que presenta:

Martha Patricia Paola Calderón Martínez

Como requisito parcial para obtener el grado de:

Doctora en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable

Director de tesis:

Dr. Roberto Zamora Bustillos

Conkal, Yucatán, México

Diciembre, 2024



TecNM



Conkal, Yucatán, México, a 03 de diciembre de 2024

El comité de tesis del candidato a grado: Martha Patricia Paola Calderón Martínez, constituido por los CC. Dr. Roberto Zamora Bustillos, Dra. Elizabeth de la Luz Ortiz Vázquez, Dr. Jesús Alejandro Yam Puc, Dr. Emanuel Hernández Núñez, Dr. Esaú Ruiz Sánchez y Dr. Julio Porfirio Ramón Ugalde, habiéndose reunido con el fin de evaluar el contenido teórico-metodológico y de verificar la estructura y formato de la tesis titulada: **Estudio metabolómico del polen colectado por la abeja (*Melipona beecheii*) para identificar metabolitos con actividad antibacteriana y antioxidante**, que presenta como requisito parcial para obtener el grado de Doctora en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable, según lo establece el Capítulo 2, inciso 2.13.3, de los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos, dictaminaron su aprobación para que pueda ser presentada en el examen de grado correspondiente.

ATENTAMENTE

Dr. Roberto Zamora Bustillos
Director de Tesis

Dra. Elizabeth de la Luz Ortiz Vázquez
Co-director de Tesis

Dr. Jesús Alejandro Yam Puc
Asesor de Tesis

Dr. Emanuel Hernández Núñez
Asesor de Tesis

Dr. Esaú Ruiz Sánchez
Asesor de Tesis

Dr. Julio Porfirio Ramón Ugalde
Asesor de Tesis

Conkal, Yucatán, México a 03 de diciembre de 2024.

DECLARATORIA DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de materiales y métodos, resultados y discusión de este documento, es producto del trabajo de investigación realizado durante mi estudio de posgrado y con base en los términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial le pertenece patrimonialmente al Instituto Tecnológico de Conkal. En virtud de lo manifestado reconozco que los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que se deriven de lo correspondiente a dicha información son propiedad de la citada institución educativa.



Martha Patricia Paola Calderón Martínez

ÍNDICE DE CONTENIDO

Formato de aprobación de tesis por comité.....	i
Declaratoria de propiedad.....	ii
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	9
1.1. Introducción	9
1.2. Antecedentes	11
1.2.1. Abejas sin aguijón en el mundo, México y sureste mexicano.	11
1.2.2. Polen: particularidades del polen recolectado por meliponinos.....	15
1.2.3. Polen: composición química y propiedades biológicas.	19
1.2.3.1. Actividad antibacteriana y antioxidante del polen	20
1.2.4. Problemas de salud pública que requieren nuevas opciones de tratamientos. ...	22
1.2.5. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) y resistencia bacteriana. .	22
1.2.5.1. Enfermedades causadas por el estrés oxidativo	24
1.2.6. La metabolómica como herramienta para caracterizar y evaluar el polen como alimento funcional.....	25
1.3. Hipótesis.....	27
1.4. Objetivos	28
1.4.1.1. Objetivo General:	28
1.4.1.2. Objetivos específicos:	28
1.5. Procedimiento experimental.....	28
1.6. Literatura citada	30
CAPÍTULO 2. ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF ETHANOLIC POT-POLLEN EXTRACTS OF <i>Melipona beecheii</i> AND DETERMINATION OF THE MAJOR COMPONENTS BY GC-MS.....	45
2.1. Abstract	45

CAPÍTULO 3. ESTUDIO COMPARATIVO DE PERFILES POR FTIR-ATR de POLEN RECOLECTADO POR <i>Melipona beecheii</i> DE DIFERENTES SITIOS EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN.....	46
3.1. Resumen.....	46
CAPÍTULO 4. CARACTERIZACIÓN DEL POLEN RECOLECTADO POR LA ABEJA SIN AGUIJÓN <i>Melipona beecheii</i> Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA BACTERIAS DE IMPORTANCIA MÉDICA.....	47
4.1. Resumen.....	47

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.

Figura I.1. Agrupación jerárquica de las abejas (Arnold et al., 2018).....	12
Figura I.2. Principales características de las abejas sin aguijón que las diferencian de las abejas melíferas (Abd Jalil et al., 2017).....	13
Figura I.3. Colmena que contiene colonia de abejas sin aguijón (<i>Heterotrigona itama</i>). (A) cera, (B) bote de propóleo vacío, (C) miel, (D) polen de abeja, (E) polen fermentado (pan de abeja) (Al-Hatamleh et al., 2020).....	13
Figura I.4. <i>Melipona beecheii</i> (Arnold et al., 2018).	14
Figura I.5. Apertura de jobón (izq.) y jobones apilados (der.). Fotos: propias.....	16
Figura I.7. Abeja <i>M. beecheii</i> con polen en sus corbículas (izq.) y pots con polen dentro del jobón (der.) Foto: Jorge Ramírez Pech (abejasmiel.com) y Jesús Ramón Sierra.	18
Figura I.8. Estrategia experimental.....	29

RESUMEN

El polen de *Melipona beecheii* es un producto natural de alto valor cultural y en la medicina tradicional maya, siendo el menos estudiado de los productos de meliponinos, en comparación a la miel o propóleo. Este producto considerado perfectamente completo, debido a su excelente contenido nutrimental, así como la presencia metabolitos con actividad biológica que pudieran coadyuvar en el tratamiento de enfermedades transmitidas por los alimentos o enfermedades causadas por el estrés oxidativo. Hasta hoy es poca la información sobre los metabolitos presentes en el polen recolectado por la abeja *M. beecheii* y cómo la actividad biológica puede relacionarse al sitio de recolección, para lo cual la metabolómica es una herramienta adecuada. Por lo que el objetivo del trabajo fue emplear la metabolómica como herramienta para el estudio del polen colectado por *M. beecheii* de diferentes sitios de la península de Yucatán, enfocado a la búsqueda de metabolitos con actividad antibacteriana y antioxidante.

La estrategia experimental se dividió en varias fases. En la primera se obtuvieron extractos crudos etanólicos de muestras de polen de cinco sitios de la península de Yucatán, Mama, Ticimul y Maní en el estado de Yucatán, José María Morelos en Quintana Roo y Calkiní, Campeche (denominadas MPC 1, MPC 2, MPC 3, MPC 4 y MPC 5 respectivamente). Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos contra los microorganismos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 13311, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, en donde todas fueron susceptibles a los cinco extractos evaluados, siendo las más afectada *P. aeruginosa* y *L. monocytogenes*, y los extractos más efectivos MPC 1 y MPC 4, en actividad antioxidante, las muestras de MPC 1 y MPC 5 son los que necesitaron menos concentración de extracto para lograr de 50% del efecto antioxidante según los mecanismos estudiados. Para identificar algunos de los compuestos mayoritarios en los extractos, las muestras se analizaron por cromatografía de gases acoplado a espectroscopia de masas (GC-MS), en donde los compuestos mayoritarios detectados fueron: ácido palmítico, ácido linoleico y ácido linolénico, con sus respectivos ésteres etílicos, que, aunque todos estaban presentes en las muestras, estos se encontraban en diferente concentraciones.

En una segunda fase, y al ser este un estudio biodirigido se realizó el fraccionamiento de los extractos etanólicos con mayor actividad (MPC 1, MPC 4 y MPC 5) con solventes de polaridad ascendente, obteniéndose fracciones hexánicas, clorofórmicas y de acetato de etilo. Al evaluar su actividad antibacteriana, las fracciones obtenidas con acetato de etilo mostraron los mejores resultados, sin embargo, su actividad es inferior a la de sus respectivos extractos etanólicos.

En la tercera fase, se analizaron los extractos etanólicos por espectroscopía de reflectancia total atenuada por infrarrojo transformada de Fourier (FTIR-ATR) con el objetivo de analizar la señalización que presentan las muestras de los diferentes sitios, y así establecer semejanzas y diferencias. A pesar de las semejanzas de las muestras, cada una cuenta con un perfil único, que puede deberse a la diferencia de ubicación y floración existente en cada sitio, lo que sería un primer análisis exploratorio del metaboloma del polen de *M. beecheii*.

ABSTRACT

Melipona beecheii pot-pollen is a natural product of high cultural value and in traditional Mayan medicine, being the least studied of the meliponine products, compared to honey or propolis. This product was considered perfectly complete, due to its excellent nutritional content, as well as the presence of metabolites with biological activity that could help in the treatment of foodborne diseases or diseases caused by oxidative stress. To date, there is little information on the metabolites present in the pollen collected by the bee *M. beecheii* and how the biological activity can be related to the collection site, for which metabolomics is an appropriate tool. Therefore, the objective of the work was to use metabolomics as a tool for the study of pollen collected by *M. beecheii* from different sites in the Yucatan Peninsula, focused on the search for metabolites with antibacterial and antioxidant activity.

The experimental strategy was divided into several phases. In the first, crude ethanolic extracts were obtained from pollen samples from five sites in the Yucatan Peninsula, Mama, Ticimul and Mani in the state of Yucatan, Jose Maria Morelos in Quintana Roo and Calkini, Campeche (called MPC 1, MPC 2, MPC 3, MPC 4 and MPC 5 respectively). The antibacterial activity of the extracts against the microorganisms *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 13311, *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 was evaluated, where all were susceptible to the five extracts evaluated, the most affected being *P. aeruginosa* and *L. monocytogenes*, and the most effective extracts MPC 1 and MPC 4, in antioxidant activity, samples MPC 1 and MPC 5 are those that needed the lowest concentration of extract to achieve 50% of the antioxidant effect according to the mechanisms studied. In order to identify some of the main compounds in the extracts, the samples were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectroscopy (GC-MS), where the main compounds detected were palmitic acid, linoleic acid and linolenic acid, with their respective ethyl esters, which, although all were present in the samples, these were found in different concentrations.

In a second phase, and since this was a biodirected study, the fractionation of the ethanolic extracts with the highest activity (MPC 1, MPC 4 and MPC 5) was carried out with solvents of ascending polarity, obtaining hexanic, chloroformic and ethyl acetate fractions. When evaluating their antibacterial activity, the fractions obtained with ethyl acetate showed the best results, however, their activity is lower than that of their respective ethanolic extracts.

In the third phase, the ethanolic extracts were analysed by Fourier transform attenuated total infrared reflectance spectroscopy (FTIR-ATR) with the aim of analysing the signalling presented by the samples from the different sites, and thus establishing similarities and differences. Despite the similarities of the samples, each one has a unique profile, which may be due to the difference in location and flowering at each site, which would be a first exploratory analysis of the *M. beecheii* pollen metabolome.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Introducción

Actualmente las enfermedades crónicas y neurodegenerativas representan un problema a nivel mundial. Enfermedades como el cáncer, Alzheimer, Parkinson, diabetes y problemas cardiovasculares, causan 57 millones de defunciones al año, las cuales se encuentran ligadas al estrés oxidativo (Alwan et al., 2010; Jiménez-López et al., 2011). El estrés oxidativo es un desequilibrio bioquímico ocasionado por un exceso de especies reactivas, lo que provoca un daño oxidativo a las macromoléculas de un organismo (Elias et al., 2008; Ramos Ibarra et al., 2006). Se ha reportado que este desequilibrio también se encuentra relacionado con problemas gastrointestinales, ya que las especies reactivas inhiben el crecimiento de la microbiota bacteriana nativa, y a su vez inducen el crecimiento y la formación de biofilm de patógenos pertenecientes al grupo de las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), las cuales han adquirido resistencia a estas moléculas (Gambino & Cappitelli, 2016; Hazan et al., 2016). Sumado a este problema, estos patógenos han mostrado resistencia a los antibióticos que se usan comúnmente, lo que ocasiona el incremento de la tasa de mortalidad de las enfermedades que provocan (Andersson & Hughes, 2010). Por esta razón, es de vital importancia la búsqueda de nuevas moléculas que permitan combatir el problema. Una alternativa como fuente de moléculas antibióticas y antioxidantes es el polen recolectado por la abeja (*Melipona beecheii*), el cual es un alimento utilizado en la medicina tradicional con múltiples aplicaciones, incluyendo su uso contra algunos tipos de cáncer, anemia, problemas emocionales como la ansiedad y enfermedades gastrointestinales bacterianas (Elias et al., 2008; Komosinska-Vassev et al., 2015; Wang et al., 2013). Tomando en cuenta la gran diversidad de plantas medicinales de la región, se sabe que el polen recolectado por la abeja *M. beecheii* representa una fuente de diversos metabolitos activos, ya que hasta el momento se han identificado once metabolitos entre ácidos grasos (ácido palmítico y mirístico), ésteres de ácidos grasos (éster metílico del ácido 14-metilpentadecanoico, éster 1,1-dimetileílico del ácido palmítico y éster butílico del ácido esteárico), alcanos (dotriacontano, heptadecano y 2-metiltetracosano), alquenos (5-octadeceno y 9-octadeceno), así como un esteroide (β -sitosterol o γ -sitosterol) (Cáceres Chan, 2020). Estos metabolitos son candidatos a ser agentes antimicrobianos y antioxidantes de acuerdo con lo reportado en la literatura. Sin embargo, antes de este estudio se desconocía el

perfil metabolómico del polen de la abeja *M. beecheii*, o qué metabolitos confieren la actividad antimicrobiana y antioxidante a este producto de la colmena. Con base a lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo emplear la metabolómica como herramienta para el estudio del polen colectado por la abeja *M. beecheii* de diferentes sitios de la península de Yucatán, enfocado a la búsqueda de metabolitos con actividad antibacteriana y antioxidante.

1.2. Antecedentes

1.2.1. Abejas sin aguijón en el mundo, México y sureste mexicano.

Las especies de abejas en el mundo se clasifican en siete familias principales, una incluyendo la familia Apidae, la cual se divide en las subfamilias Xylocopinae, Nomadinae y Apinae. La subfamilia Apinae consta de diecinueve tribus entre las que se encuentran Apini (abejas), Meliponini (que incluye abejas sin aguijón) y Bombini (que incluye abejorros) (Michener, 2000). La tribu Meliponini comprende a las abejas sin aguijón, las cuales se desarrollaron antes de que los continentes se separaran unos de otros, por lo que están distribuidas en áreas tropicales y subtropicales del sur de todo el mundo. Hasta la fecha se conocen más de 500 especies de abejas sin aguijón (Bradbeer, 2009; Crane, 1992), de las cuales 391 especies se encuentran distribuidas en la región neotropical de América del Sur (Rattanawanee & Duangphakdee, 2019). Como polinizadores, las abejas sin aguijón juegan un papel importante en el ecosistema al influir fuertemente en la diversidad vegetal y la evolución.

Dentro de las abejas sin aguijón, los géneros principales son *Melipona* y *Trigona* (Michener, 2000), que se muestran en la figura 1.1, aunque se sabe que la distribución de este tipo de abejas es mucho menor comparado con las abejas europeas (*Apis mellifera*), esto asociado con los limitados datos sobre las propiedades de los productos de la colmena de abejas sin aguijón y su poco uso medicinal y nutricional comparado con los productos de las abejas melíferas (Abd Jalil et al., 2017; Chuttong et al., 2016).

Los productos de la colmena de abejas sin aguijón son fuentes prometedoras de compuestos bioactivos, atribuido a la riqueza de la vegetación en las zonas donde se encuentran. Existe evidencia de los usos terapéuticos de estos productos en varios campos de aplicación como cicatrización, diabetes, cáncer, infecciones microbianas, entre otras (Brown et al., 2020; Ewnetu et al., 2013; Fuenmayor et al., 2013; Nweze et al., 2017). Además, que estas abejas tienen características únicas en comparación con las abejas melíferas como su menor vulnerabilidad a enfermedades como se muestra en la figura 1.2.

Es importante tener en cuenta que los productos de las abejas sin aguijón no se limitan a la miel, sino que pueden incluir varios productos, incluidos el propóleo, el pan de abeja, la

cera y el polen (figura 1.3), que, aunque no son tan comunes como la miel, los estudios también han informado de varias propiedades medicinales en los mismos (Al-Hatamleh et al., 2020; Ismail et al., 2018; Kustiawan et al., 2014; Nugitrangson et al., 2016).

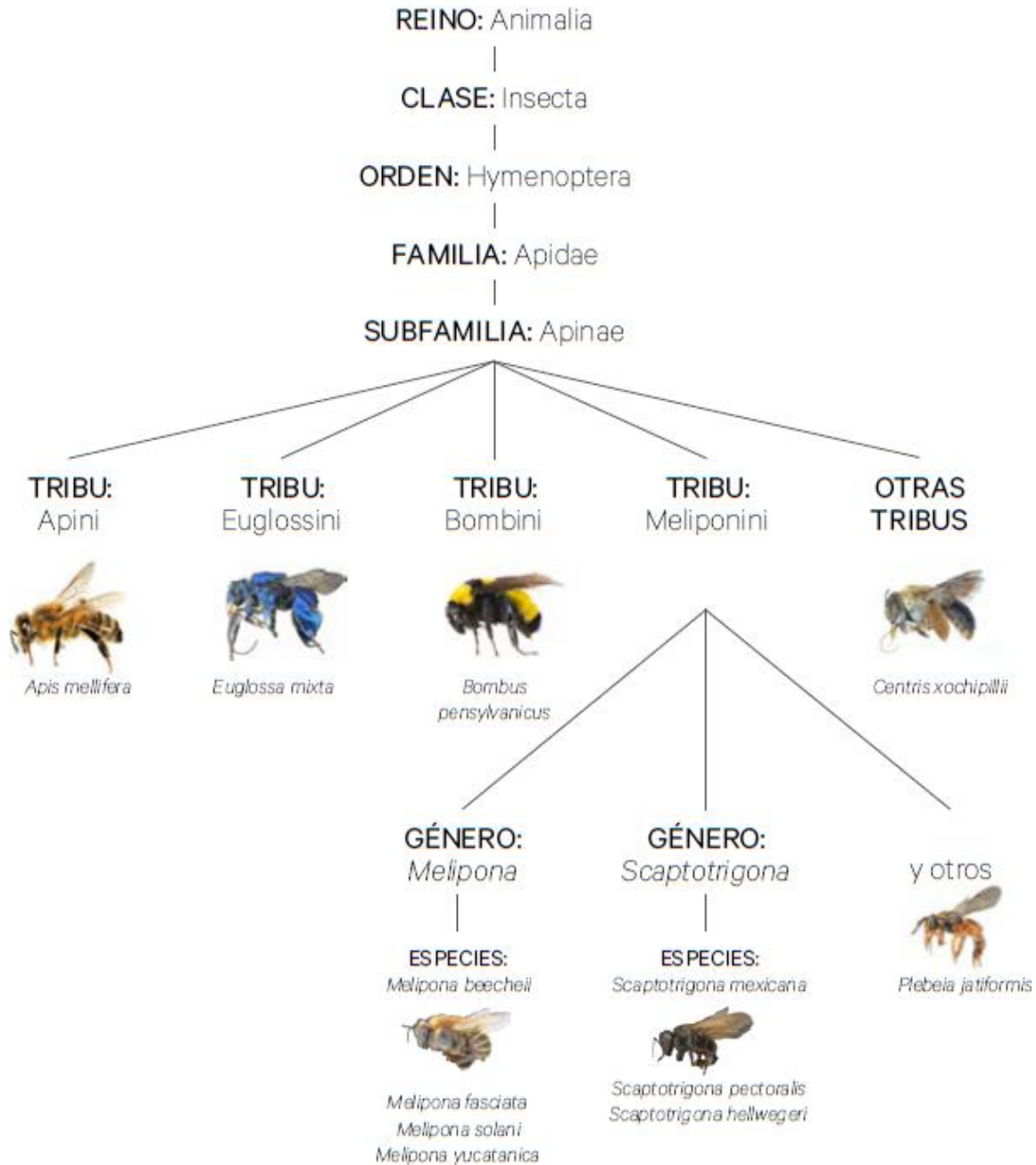


Figura 0.1. Agrupación jerárquica de las abejas (Arnold et al., 2018).



Figura 0.2. Principales características de las abejas sin aguijón que las diferencian de las abejas melíferas (Abd Jalil et al., 2017).

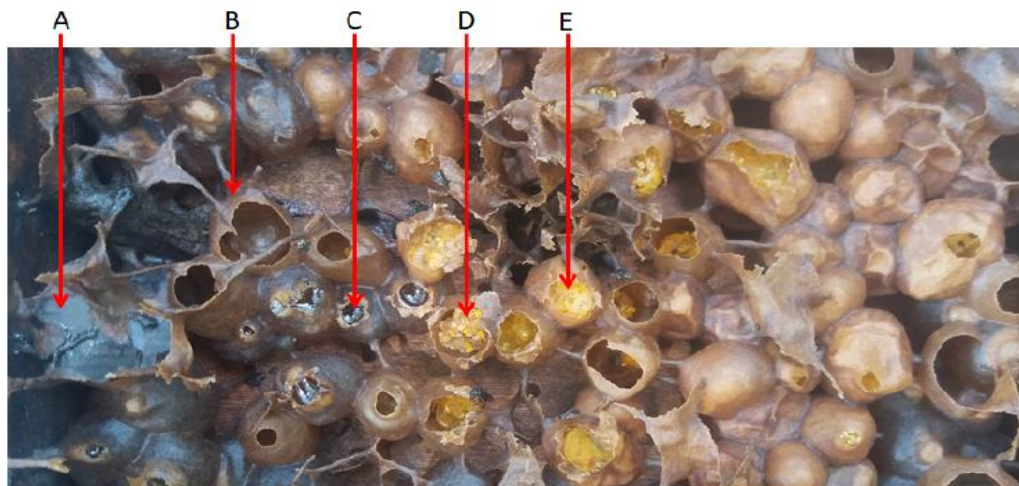


Figura 0.3. Colmena que contiene colonia de abejas sin aguijón (*Heterotrigona itama*). (A) cera, (B) bote de propóleo vacío, (C) miel, (D) polen de abeja, (E) polen fermentado (pan de abeja) (Al-Hatamleh et al., 2020).

En México, las únicas abejas sociales nativas mieleras son las abejas sin aguijón. Las abejas melíferas y su variante africanizada, proveedoras de miel, fueron introducidas a nuestro continente desde Europa, África y Asia (Arnold, et al., 2018). De acuerdo con la última información consultada, hay 46 especies de abejas sin aguijón agrupadas en 16 géneros, siendo el sureste del país donde se encuentran el mayor número de especies.

Algunos de los estados donde se encuentran distribuidas son Oaxaca, Chiapas, Veracruz, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán (Arnold, Ayala, et al., 2018; Arnold, Zepeda, et al., 2018; Ayala, 1999; Ayala et al., 1996). Los géneros que cuentan con mayor cantidad de especies son *Plebeia* con 12, *Trigona* con 9, *Melipona* con 7 y *Trigonisca* con 5. La fisiografía de la zona es determinante en la distribución de las especies de abejas sin aguijón en México, ya que cada especie responde a exigencias biológicas y adaptativas de gran fragilidad.

La actividad meliponícula fuera de la península de Yucatán, se realiza con las especies *Scaptotrigona mexicana* y *Scaptotrigona hellwegeri*, la primera en el Golfo y Centro de México y la segunda en el estado de Guerrero, las cuales tienen un nicho productivo similar al que ocupa la especie *Melipona beecheii* en dicha península (Ayala, 1999). Estas tres especies de abejas sin aguijón destacan en México por su producción de miel.

Alguna de las especies de abejas sin aguijón distribuidas en la península de Yucatán son *M. beecheii*, *Melipona yucatanica*, *Frieseomelitta nigra* (conocidas como Xunaan-Kab, Tsets y Sak xic respectivamente por los mayas). Aunque no son las únicas, ya que la península de Yucatán se caracteriza por albergar la mayoría de las abejas sin aguijón distribuidas en el país.

Melipona beecheii (figura 1.4) es una abeja robusta, de aproximadamente de 9.7 a 10.7 mm de largo, la mayor parte de su cuerpo es color negro y anaranjado con franjas amarillas en su abdomen, tiene mechones con pelo de color anaranjado-rojizos, patas negras, alas transparentes pequeñas comparadas con la longitud de su abdomen. Esta abeja destaca por ser polinizadora por excelencia de la flora nativa de la península de Yucatán, contribuyendo a la producción de frutos y semillas, conservando la vegetación (Arnold, Zepeda, et al., 2018; Guzmán et al., 2011).



Figura 0.4. *Melipona beecheii* (Arnold et al., 2018).

Los antiguos mayas valoraban en gran medida a las abejas sin aguijón, consideradas una parte integral de la vida social y religiosa. Culturalmente quedó registrado en códices mayas la importancia especial dada a la abeja *M. beecheii* (Cortopassi-Laurino et al., 2006), lo que es evidente en el código Tro Cortesiano de Madrid donde dioses mayas como Chaac (Dios de la lluvia el cual se caracteriza por llevar de collar un jobón de *M. beecheii*) realiza prácticas de meliponicultura (cría de abejas sin aguijón). A pesar de los cambios culturales en la región por la conquista, las abejas sin aguijón, se encuentran entre los organismos nativos que fungen como ícono cultural, ecológico y económico (Villanueva, et al., 2005). No hay información sobre las ceremonias practicadas en pro de las abejas sin aguijón en México, a excepción de la península de Yucatán, donde aún se realizan rituales, por ejemplo, para favorecer el tiempo y la buena floración para la siguiente temporada de cosecha de miel (U Jaanli kab - comida de las abejas y U jeets luumil kab- condiciones idóneas para producción de miel) (González-Acereto, 2012).

A pesar de la prevalencia de la cría de abejas sin aguijón a través del tiempo, la meliponicultura ha disminuido de forma alarmante en el último medio siglo. Según el primer censo de meliponicultura en comunidades mayas de Yucatán, se concluyó que esta actividad está casi extinta ya que en los últimos 25 años el 90% de las colonias de abejas sin aguijón en la región se han perdido (Villanueva, et al., 2005).

1.2.2. Polen: particularidades del polen recolectado por meliponinos.

Las abejas sin aguijón hacen sus colonias en huecos de árboles o nidos subterráneos y otros lugares, construyendo sus colmenas con una mezcla de cera y propóleo llamado cerumen (Ayala, 1999).

Particularmente, *M. beecheii* establece sus colmenas en troncos huecos hecho por los meliponicultores llamados jobones (figura 1.5), los cuales son sellados con una mezcla húmeda de tierra y pasto. En los jobones las abejas almacenan miel dentro de celdas llamadas pots o botes que son de mayor tamaño y en menor cantidad de las abejas del género *Apis*. A estos troncos se les hace un orificio llamado piquera para que éstas puedan salir a recolectar y donde una abeja vigila y evita la entrada de otros insectos (figura 1.6).



Figura 0.5. Apertura de jobón (izq.) y jobones apilados (der.). Fotos: propias.



Figura I.6. Colmena de *Melipona beecheii* (izq.) y abeja guardiana vigilando entrada de la colmena (der.). Fotos: Jesús Ramón.

Actualmente, diversos estudios corroboran las propiedades medicinales de los productos de las colmenas, especialmente de la especie *A. mellifera*, ya que las propiedades de los productos de abejas sin aguijón son mucho menos conocidas (Al-Hatamleh et al., 2020). La mayoría de los estudios en torno a los productos de los meliponinos se centran en el conocimiento y aplicaciones de la miel, y propóleo en comparación a los del polen, por lo que hay un largo camino por recorrer.

El polen es el gameto masculino encontrado en las anteras de los estambres de las angiospermas. Además, este es de gran importancia en la nutrición de las abejas, ya que este es su principal fuente de proteínas, grasas, vitaminas y otros compuestos bioactivos para la salud de estas y de la colmena (De Melo y Almeida-Muradian, 2011).

El polen de abeja es un producto de alto valor comercial por el alto contenido nutritivo; contiene carbohidratos, lípidos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, minerales, esteroides, carotenoides y polifenoles. Su calidad depende de factores geográficos, climáticos, manejo de la colmena y la diversidad floral (Belina-Aldemita et al., 2019). Es producido por las abejas obreras al mezclar el polen de las flores con néctar y secreciones de abeja. Por lo que es considerado como el "único alimento perfectamente completo" por su valor nutricional y beneficios a la salud (Feas et al., 2012).

Hay diferencias en la obtención de polen según si éste proviene de colmenas de abejas melíferas o colonias de abejas sin aguijón. En el primer caso, el polen se recolecta a través de trampas especiales que se colocan en la entrada de la colmena para obtener el polen que las abejas obreras transportan en sus corbículas (figura 1.7), es decir que el polen que se comercializa es el que proviene directamente de la flor mezclado con las secreciones salivales de las abejas (Belina-Aldemita et al., 2019). Cuando las abejas introducen el polen a la colmena, es humedecido con saliva para después ser empaquetado en las celdas de cera, y producir de esta forma el pan de abeja, este es una fuente de nutrientes y minerales con el que las abejas obreras producen la jalea real, que servirá de alimento para la colmena (Komosinska-Vassev et al., 2015). En las colonias de abejas sin aguijón, las levaduras, los mohos y las bacterias no patógenas presentes pueden secretar sustancias antibióticas, directamente o por mediación enzimática, que pueden contribuir a la conservación de polen, por lo que es probable que los procesos bioquímicos, incluida la fermentación microbiana, aumenten los valores nutricionales y defensivos de este producto de la colmena (Menezes et al., 2013). Una vez que colectan el polen, le añaden enzimas para almacenarlo en los pots de cerumen, convirtiéndose en su reserva alimenticia. La cosecha de este producto es rompiendo el pote donde se encuentre el polen y extraerlo con cuidado del jobón. Los pots con polen se diferencian de los que contienen miel gracias a su color; por lo general los pots donde se encuentra la miel son de color más oscuro. Es importante no mezclar la miel con el polen ya que se pierde la calidad (Ascencio-Tuso, 2014).



Figura 0.6. Abeja *M. beecheii* con polen en sus corbículas (izq.) y pots con polen dentro del jobón (der.) Foto: Jorge Ramírez Pech (abejasmiel.com) y Jesús Ramón Sierra.

La recolección del néctar y el polen es una tarea vital para las abejas. Se cree que algunas de las bondades del polen de meliponinos, es debido a la vegetación presente en las zonas de recolección. La península de Yucatán se caracteriza por su gran diversidad vegetal, debido a las condiciones climáticas y topográficas de la zona. Dentro de los recursos vegetales de importancia para *M. beecheii* están: el chacá (*Bursera simaruba*), el tzitzilché (*Gymnopodium floribundum*), ja'abín (*Piscidia piscipula*) y tsalam (*Lysiloma latisiliquum*), además de otros recursos nectaríferos y poliníferos reportados como fuentes alimenticias (Villanueva, Buchmann, et al., 2005).

Aunque la mayoría de los estudios se han realizado con el polen recolectado por abejas melíferas, diversos estudios han atribuido al polen de abejas sin aguijón un amplio abanico de actividades biológicas, entre las que se encuentran la actividad antimicrobiana (Santa Bárbara et al., 2020), antioxidante, antiinflamatoria (Oliveira Lopes et al., 2019), antitirosinasa (Su et al., 2020) y antitumoral, por mencionar algunas (Omar et al., 2016). La mayoría de los estudios se han enfocado a la aplicación de los extractos crudos de polen, por lo que hace falta profundizar en la búsqueda de los componentes activos responsables de estas atribuciones.

Los productos naturales son compuestos orgánicos que son sintetizados por los seres vivos con múltiples propósitos como la supervivencia. (Hanson, 2003; Morrissey, 2009). El descubrimiento y la caracterización de sustancias químicas a partir de productos naturales ha llevado al desarrollo de muchos productos y medicamentos, lo que ha alentado a muchos grupos de investigación a dedicar esfuerzos a obtener moléculas de plantas, bacterias, hongos

y otras fuentes naturales (Demarque et al., 2020). Como se mencionó anteriormente, la naturaleza proporciona una rica fuente de numerosos compuestos bioactivos que se han empleado ampliamente en la medicina tradicional desde tiempos inmemoriales (Cragg & Newman, 2001), incluso, en los últimos años, la FDA (U.S. Food and Drug Administration) aprobó una gran cantidad de medicamentos que también son productos naturales, derivan directamente de ellos (Newman & Cragg, 2016) o son variaciones sintéticas utilizando las estructuras de estos éstos (Newman & Cragg, 2020).

1.2.3. Polen: composición química y propiedades biológicas.

Los componentes químicos del polen de abeja son variables, ya que dependen del origen botánico y geográfico de los granos que componen las cargas de polen colectadas. A su vez, los granos se ven influenciados del suelo y condiciones climáticas, además de la edad y el estado nutricional de la planta durante el desarrollo del grano. La misma especie de planta puede tener variaciones en la composición del polen según la región, la estación del año e incluso entre años (Almeida-Muradian et al., 2005; De Melo et al., 2009; Funari et al., 2003; Silveira, 2012). Sus principales componentes son proteínas (5-60 %), aminoácidos esenciales, azúcares reductores (13 -55 %), lípidos (4-7 %), ácidos nucleicos y fibra cruda (0.3-20 %). Los componentes menores son minerales como Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, vitaminas como la provitamina A (β -caroteno), vitamina E (tocoferol), niacina, tiamina, biotina y ácido fólico, enzimas o coenzimas. También incluyen sustancias bioactivas importantes como los ácidos grasos insaturados/saturados (1-10 %), fosfolípidos (1.5 %), fitosteroles (1.1 %) y terpenos. Además, los polifenoles, principalmente flavonoides (3–8 %) son relevantes. En el grupo de flavonoides, las catequinas, kaempferol, quercetina e isorhamnetina son los más frecuentes. El polen de abeja también es rico en pigmentos orgánicos de carotenoides como el licopeno y la zeaxantina (Denisow y Denisow-Pietrzyk, 2016).

Hasta el momento sólo existe un trabajo sobre la identificación de compuestos presentes en el extracto metanólico del polen de abeja *M. beecheii*. En este estudio se identificaron once metabolitos, incluyendo ácidos grasos [ácido palmítico y ácido mirístico], ésteres de ácidos grasos [éster metílico del ácido 14-metilpentadecanoico, éster 1,1-dimetiletílico del ácido palmítico y éster butílico del ácido esteárico], alcanos [dotriacontano, heptadecano y 2-metiltetracosano], alquenos [5-octadeceno y 9-octadeceno], así como un esteroide [β -sitosterol

o γ -sitosterol] (Cáceres-Chan, 2020). A partir de este estudio fue posible conocer los metabolitos secundarios mayoritarios con probable potencial biotecnológico, conocimiento que contribuye al conocimiento de los recursos vegetales de la región de donde esta especie de abeja sin aguijón obtiene el polen.

1.2.3.1. Actividad antibacteriana y antioxidante del polen

La mayoría de los estudios sobre propiedades biológicas del polen se centran en el polen recolectado por la abeja *A. mellifera*, y aun cuando estos metabolitos sean de plantas que posiblemente se encuentren en nuestra región, no garantiza que se encuentren en la misma concentración en el polen recolectado por la abeja *M. beecheii*.

Los productos de la colmena son utilizados en diversas culturas para tratar diversas infecciones bacterianas y fúngicas (Amarante et al., 2019; Ortiz-Vázquez et al., 2013) siendo el polen uno de estos productos. Es importante mencionar que son pocos los estudios sobre actividades antibacterianas del polen de abejas sin aguijón en comparación con los realizados con polen comercial de *A. mellifera*.

En un primer estudio se evaluó la actividad antibacteriana en extractos etanólicos de polen de abejas sin aguijón de Venezuela (*Frieseomelitta aff. varia*, *Melipona compressipes*, *Melipona eburnea*, *Melipona favosa*, *Melipona paraensis*, *Tetragonisca angulusta*, *Melipona lateralis kangarumensis*, *Melipona sp.* grupo *fulva*), en bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) y Gram negativas (*Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). En este estudio se determinó que todos los extractos fueron activos contra al menos cuatro de las cepas probadas, siendo *E. coli* la más resistente a estos extractos. La variación de los resultados se atribuyó a la variedad floral de cada zona, aunado a las diferentes especies de abejas sin aguijón (Sulbarán-Mora et al., 2018). También se determinaron las propiedades antibacterianas de extractos etanólicos y metanólicos del polen de los meliponinos australianos *Austroplebeia australis*, *Tetragonula carbonaria* y *Tetragonula hockingsi*, siendo todos activos contra las bacterias Gram positivas *S. aureus* y *B. subtilis* además de las Gram negativas *E. cloacae*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. La concentración mínima inhibitoria fue más baja en extractos etanólicos, siendo el extracto de polen de *Tetragonula hockingsi* el mejor. Estos estudios aumentaron el valor de los productos de abeja sin aguijón australianos (Vossler, 2018).

El potencial antimicrobiano exhibido por el polen de abeja varía dependiendo de los componentes, de la región donde se localizaba este producto y de la especie de abeja. Existe otro estudio donde se reporta que el polen de abeja sin aguijón puede inhibir el crecimiento de cepas patógenas como *P. aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis* y *Candida albicans* (Basilio Carneiro et al., 2019).

Estudios más recientes, probaron que el extracto etanólico del polen de abejas sin aguijón inhibió el crecimiento de tres cepas de *S. aureus* y tres de *P. aeruginosa*, en donde también se hace una comparación con polen de *A. mellifera*. Las concentraciones mínimas inhibitorias contra los patógenos apuntaron una mejor bioactividad por parte del polen de abeja sin aguijón (Santa Bárbara et al., 2020).

Hasta el momento sólo existe un estudio con polen de *M. beecheii*, en donde las fracciones hexánica y clorofórmica mostraron actividad antimicrobiana contra *E. coli*, sin embargo, aún falta la identificación de los metabolitos que proveen esta actividad (Cáceres Chan, 2020). Aún no existen otros reportes de actividad antimicrobiana de polen proveniente de otras abejas sin aguijón en México, por lo que representa un área de oportunidad a estudiar.

En cuanto a la actividad antioxidante, aún no existen reportes sobre el polen recolectado por *M. beecheii*, pero sí de abejas sin aguijón de géneros cercanos (hablando desde el punto de vista filogenético) como *Melipona subnitida*, *Melipona eburnea*, *Melipona faciculata* y *Scaptotrigona ochrotricha* (Alves de Souza et al., 2013; Batista et al., 2016a; Vit, Santiago, Pedro, et al., 2016). Los metabolitos que se señalan como principales responsables de esta actividad son los flavonoides, triterpenos y algunos ácidos grasos. Cabe mencionar que en estos estudios sólo se ha cuantificado de manera general la concentración de estos metabolitos y no se centró en el aislamiento y la identificación de los mismos (Alves de Souza et al., 2013; Vit, Santiago, Pedro, et al., 2016).

El polen de abejas sin aguijón contiene polifenoles, flavonoides y ácidos grasos, lo que propicia su actividad antioxidante. En un estudio reciente se comprobó esta actividad en muestras de polen de *Tetragonula biroii*. Los compuestos fenólicos más comunes presentes en el polen de abejas sin aguijón son rutina, ácido hidroxicinámico, glicósido, ácido elágico (Belina-Aldemita et al., 2020a; Oliveira Lopes et al., 2020; Santa Bárbara et al., 2015).

Existen pocos estudios sobre el efecto antioxidante de extractos de polen de abejas sin aguijón, sin embargo, algunos autores han reportado extractos etanólicos de polen de diferentes especies de meliponinos (*Lepidotrigona terminata*, *Melipona rufiventris*, *Trigona apicalis* y *Trigona itama*) con actividad antioxidante, mostrando IC₅₀ a concentraciones inferiores de 0.5 mg/mL (Nurdianah et al., 2016; Omar et al., 2016; Silva et al., 2008). Entre los compuestos a los que se les atribuye esta actividad se encuentran los flavonoides como quercetina, kaempferol, miricetina, isorhamnetina y ácido cafeico (El Ghouizi et al., 2020).

En años recientes se ha demostrado que el polen de abejas sin aguijón posee un alto potencial antioxidante, inclusive superior al mostrado por especies de la familia *Apidae*, como *Trigona spinipes* y *A. mellifera*, donde presentó mayor actividad antioxidante el extracto de polen de abeja sin aguijón ligada al alto contenido de compuestos fenólicos con respecto al polen recolectado por la abeja melífera (Santa Bárbara et al., 2020). Esta tendencia se había observado anteriormente en el extracto hidroetanólico del polen de *Melipona fasciculata* (Oliveira Lopes et al., 2019). Otros estudios de actividad antioxidante que respaldan el potencial terapéutico de este producto de la colmena son los realizados con muestras de *Trigona (Tetrigona) apicallis*, *Trigona (Heterotrigona) itama*, *Trigona (Geniotrigona) thoracica* (Harif Fadzilah et al., 2017), *Scaptotrigona affinis postica* (Oliveira Lopes et al., 2020) y *Tetragonula biroi* (Belina-Aldemita et al., 2020a).

1.2.4. Problemas de salud pública que requieren nuevas opciones de tratamientos.

1.2.5. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) y resistencia bacteriana.

Los patógenos transmitidos por los alimentos son aquellos microorganismos que causan enfermedades humanas a través de mecanismos de virulencia aun en bajas dosis (Yousef & Abdelhamid, 2019). Las bacterias son los agentes causantes de dos tercios de las enfermedades humanas transmitidas por los alimentos (ETA) tanto en países desarrollados como en desarrollo (Abebe et al., 2020).

Estos patógenos son adquiridos por la ingesta de ciertos alimentos que contienen diferentes especies de bacterias en concentraciones tales que ponen en riesgo la salud de las personas que los ingirieron (Saravanan et al., 2020). Entre los síntomas más comunes que ocasionan estas enfermedades se encuentra dolor estomacal, náuseas, vómito, escalofríos,

temperatura, diarrea y diarrea con sangre (Gourama, 2020). Los alimentos con mayor incidencia de contaminación por estos patógenos son los animales productores de alimentos (ganado vacuno, pollos, cerdos, pavos, etc.) y sus productos como carne de res, cerdo, pollo, huevo, leche y algunos vegetales (Heredia & García, 2018; Saravanan et al., 2020).

Diversos autores coinciden en que las enfermedades transmitidas por alimentos son causadas por diferentes patógenos destacando *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Cyclospora spp.*, *Clostridium spp.*, *Campylobacter spp.*, *Vibrio spp.*, *Shigella spp.*, *Pseudomonas spp.*, y *Acinetobacter spp.*, (Al-Kharousi et al., 2016; Marušić, 2011). Este grupo bacteriano tiene mayor incidencia en niños, mujeres embarazadas y personas de la tercera edad, sobre todo en poblaciones de países tercermundistas (Atkinson et al., 2013).

Las enfermedades causadas por alimentos contaminados son una amenaza a la salud pública, además del impacto significativo en el desarrollo económico mundial, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) creó el Grupo de Referencia de Epidemiología de la Carga de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (FERG por sus siglas en inglés) que realiza estimaciones de incidencia, mortalidad y morbilidad de los 31 peligros (patógenos causantes de ETA) definidos en el año 2010. Se reportó que la carga global de estas enfermedades es comparable con la de enfermedades infecciosas, VIH/SIDA, malaria y tuberculosis, con la carga mundial de 33 millones de años vida ajustados por discapacidad (AVAD, número de años perdidos por enfermedad, discapacidad o muerte prematura) afectando a 1 de cada 10 personas, siendo los más afectados los menores de cinco años, en quienes recae el 40 % de esta carga. Los responsables de la mayoría de las muertes fueron agentes de enfermedades diarreicas como novovirus, *Campylobacter spp.*, *Salmonella* entérica no tifoidea, *Salmonella Typhi*, *Taenia solium* y virus de la hepatitis A (Havelaar et al., 2015). Algunos reportes estiman que 98.3 millones de personas contraen alguna de estas enfermedades ocasionando un aproximado de 155 mil muertes al año (Eng et al., 2015).

En México y Latinoamérica el 25 % de los habitantes que reportan problemas gastrointestinales, están relacionados con las enfermedades transmitidas por alimentos. En el año 2010 se reportaron 5,264 casos por cada 100,000 habitantes (Quinlan, 2013). Dado lo anterior mencionado, es de suma importancia la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos

que combatan este tipo de problemas globales, para lo cual los componentes del polen de abeja sin aguijón podrían figurar como posibles terapéuticos.

1.2.5.1. Enfermedades causadas por el estrés oxidativo

Las enfermedades crónicas y neurodegenerativas se han ligado al estrés oxidativo, y en la actualidad ya representan un problema para el sector salud a nivel mundial. Enfermedades como el cáncer, Alzheimer, Parkinson, diabetes, el envejecimiento prematuro y problemas cardiovasculares son las causantes de miles de defunciones al año (Jiménez et al., 2011). Con el creciente incremento de estos padecimientos en la población, se pronostica que el número de muertes seguirá creciendo de manera exponencial cada año, y que el mayor impacto afectará a países tercermundistas (Hasanuzzaman et al., 2020).

En México aproximadamente el 75% de las muertes son causadas por enfermedades crónico-degenerativas (Gershenson & Wisdom, 2013). Estas enfermedades son provocadas por un desequilibrio bioquímico ocasionado por el estrés oxidativo, el cual es propiciado por especies reactivas de oxígeno (ERO). Estas moléculas provocan daño oxidativo a las macromoléculas del organismo, acelerando el envejecimiento y diversos padecimientos.

Las ERO atacan directamente a los enlaces de las moléculas que conforman la membrana celular, ocasionando múltiples respuestas inflamatorias y del sistema inmune (Incalza et al., 2018). No obstante, el organismo posee moléculas denominadas antioxidantes que retardan o previenen la oxidación de biomoléculas. Estas moléculas están formadas tanto por elementos enzimáticos como no enzimáticos, los cuales pueden actuar en sinergismo para proteger a la célula. En primera instancia, para la defensa celular participan los componentes de origen enzimático (Corrales & Muñoz, 2012). Estas moléculas se encargan de evitar la acumulación de especies reactivas de oxígeno, tales como el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno (Giorgi et al., 2018), las cuales varían dependiendo del tipo de organelo y se encargan de mantener el balance normal redox en las células, además de que previenen, interceptan o pueden reparan los daños ocasionados por las especies reactivas. Aun cuando existen antioxidantes endógenos dentro de nuestro organismo, en ciertas circunstancias, el aumento de especies reactivas de oxígeno requiere de la ingesta de diferentes alimentos o suplementos como frutas, vegetales, semillas, miel y polen que proveen una fuente rica de

antioxidantes, vitaminas y otros fitoquímicos con características antioxidantes, los cuales son de suma importancia como fuentes exógenas de compuestos capaces de ayudar a la célula contra el estrés oxidativo (Hasanuzzaman et al., 2020; Jayedi et al., 2018).

Algunas moléculas como la vitamina C las podemos obtener de la dieta. Este compuesto tiene un alto poder antioxidante y se encuentra tanto a nivel extracelular como intracelular en la forma de ascorbato y actuando sobre los radicales superóxidos, hidroxilo y algunos hidroperóxidos lipídicos, además de actuar sobre el tocoferoxilo, transformándolo a vitamina E (Corrales & Muñoz, 2012).

En la dieta promedio se pueden consumir un gran número de carotenoides de diferentes frutas y vegetales (De Andrade Lima et al., 2019). Los principales carotenoides que se pueden obtener son el α y β caroteno, β criptoxantina, licopeno, luteína y zeaxantina (Mehla et al., 2017). Otros compuestos que han demostrado poseer un alto potencial antioxidante, son los compuestos fenólicos. Existe una gran variedad de compuestos fenólicos en plantas, tales como el ácido cinámico, derivados de ácido benzoico, flavonoides, proantocianidinas, lignanos y ligninas. La capacidad antioxidante de estos compuestos está en función de sus grupos hidroxilos, el cual les da la propiedad de donar de átomos de hidrógeno (Hasanuzzaman et al., 2020; Jayedi et al., 2018).

Como se ha mencionado anteriormente, el polen de abeja sin aguijón representa una fuente de compuestos antioxidantes, incluso en ocasiones mejor que el polen comercial de *A. mellifera*, por lo que es importante el estudio de este recurso para promover su consumo como alimento nutraceutico por sus múltiples propiedades.

1.2.6. La metabolómica como herramienta para caracterizar y evaluar el polen como alimento funcional.

La metabolómica es una poderosa herramienta útil para el análisis e identificación de metabolitos responsables de las propiedades biológicas. Para la química de productos naturales es una estrategia potencial para agilizar el clásico y laborioso proceso de aislamiento de productos naturales, que a menudo implica el reaislamiento e identificación de compuestos conocidos. El proceso clásico para la búsqueda de compuestos bioactivos

generalmente comienza con el cribado biológico de extractos crudos, seguido de procedimientos de fraccionamiento hasta el aislamiento e identificación de los compuestos de interés (Demarque et al., 2020).

El primer paso en el aislamiento de metabolitos a partir de fuentes naturales es la liberación de éstos de la biomasa que los contiene, para lo que se usan diferentes técnicas de extracción, como la extracción de fluidos supercríticos (Morales et al., 2018; Yoshioka et al., 2018) extracción asistida por microondas o ultrasónica (Gil-Chávez et al., 2013), métodos de destilación molecular (Gan et al., 2016), tecnologías de separación de membrana, entre otros (Williams et al., 2012). Además, el fraccionamiento biodirigido utilizando métodos cromatográficos como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se aplica para el aislamiento y purificación de metabolitos activos a partir de sus extractos crudos (Salam et al., 2019). Adicionalmente, técnicas como la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN), la espectrometría de masas (MS) y la espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis) han permitido la caracterización detallada y, en última instancia, la elucidación estructural de estos compuestos (Thomford et al., 2018).

Finalmente, la investigación de la actividad biológica de los compuestos aislados (efectos en líneas celulares, modelos animales y voluntarios humanos) se realiza con el fin de evaluar el potencial farmacológico de los compuestos candidatos. Al utilizar el método clásico, pueden ocurrir errores que lleven a la degradación o modificación química de los compuestos durante el proceso de aislamiento y purificación, además, podrían perderse metabolitos importantes en los extractos no analizados durante el fraccionamiento biodirigido (Robinette et al., 2012). Así mismo, se ha reportado que existen mejores efectos terapéuticos utilizando extractos completos, tal como se aplica en la medicina tradicional, lo que podría estar ligado a la sinergia entre los compuestos bioactivos.

En contraste con lo anterior, la metabolómica ofrece una estrategia de búsqueda de fármacos a pasos agigantados (Shyur & Yang, 2008). El objetivo de la metabolómica es proporcionar un análisis cualitativo y/o cuantitativo completo de los metabolitos presentes en un sistema biológico (Goodacre et al., 2004).

El uso de esta herramienta evita los errores antes mencionados, y además da una visión amplia de la bioquímica y su relación con la genética del organismo estudiado.

También es una oportunidad para el uso de herramientas bioinformáticas. En conjunto todo lo anterior es de gran utilidad en la búsqueda de nuevos fármacos y alimentos funcionales, además que nos ofrece una huella del metaboloma de un organismo (Ulrich-Merzenich et al., 2007).

Para realizar un buen análisis cualitativo y cuantitativo al metaboloma es muy importante una extracción eficiente de los metabolitos. Sin embargo, a diferencia de otras ómicas, aún no existe una plataforma analítica que pueda analizar todos los metabolitos de forma simultánea, ya que éstos tienen extrema complejidad y gran diversidad química. A pesar de esto, gracias a las bases de datos como la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida (LC) o electroforesis capilar (CE) y espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es posible realizar un análisis metabolómico eficiente (Tebani et al., 2018).

Hasta el momento, el único reporte de análisis metabolómico en polen de abejas sin aguijón fue realizado en las especies australianas (Flavia Massaro et al., 2018) con *Austroplebeia australis* (Friese), *Tetragonula carbonaria* (Smith) y *Tetragonula hockingsi*, en donde se comparó el perfil diferencial y el contenido químico de los extractos volátiles y fenólicos de los extractos etanólicos. De esta forma, se obtuvieron las huellas dactilares químicas y se creó una base de datos de código abierto para el análisis quimiométrico de este recurso natural y así contribuir a su conservación.

Con base en lo anterior, la metabolómica representa una herramienta conveniente para escudriñar los metabolitos presentes en el polen recolectado por la abeja *M. beecheii*, con el objetivo de realizar la búsqueda de compuestos bioactivos que pudieran ser una alternativa farmacéutica de gran importancia, al dar valor agregado a un producto que no se ha aprovechado lo suficiente, lo que beneficiaría a los meliponicultores de nuestra región.

1.3. Hipótesis

El polen recolectado por *M. beecheii* contiene metabolitos con actividad antibacteriana y/o antioxidante, los cuales pueden variar dependiendo del sitio de colecta de la península de Yucatán.

1.4. Objetivos

1.4.1.1. Objetivo General:

Identificar el perfil metabolómico del polen colectado por la abeja *M. beecheii* de diferentes sitios de la península de Yucatán dirigido a la búsqueda de metabolitos con actividad antibacteriana y/o antioxidante.

1.4.1.2. Objetivos específicos:

- Evaluar las actividades antibacteriana y antioxidante de extractos crudos etanólicos de polen de *M. beecheii* y sus fracciones hexánica, clorofórmica y de acetato de etilo.
- Establecer y comparar los perfiles metabolómicos de extractos crudos de polen de *M. beecheii* de diferentes sitios de muestreo de la península de Yucatán.
- Relacionar la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos crudos de polen de *M. beecheii* con la presencia o ausencia de metabolitos en los extractos de los diferentes sitios.

1.5. Procedimiento experimental

El estudio fue biodirigido, ya que a partir de la actividad biológica y de los perfiles metabolómicos de los extractos de las muestras de polen de *M. beecheii* de Yucatán, Campeche y Quintana Roo, se eligieron los extractos de polen con mayor actividad biológica para posteriormente fraccionar y estudiar el efecto de la separación de componentes por polaridad ascendente en la actividad. El análisis metabolómico se realizó a partir de la información obtenida mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas a través del análisis de componentes principales y análisis quimiométrico. La estrategia experimental se muestra de manera general en la figura 1.8.

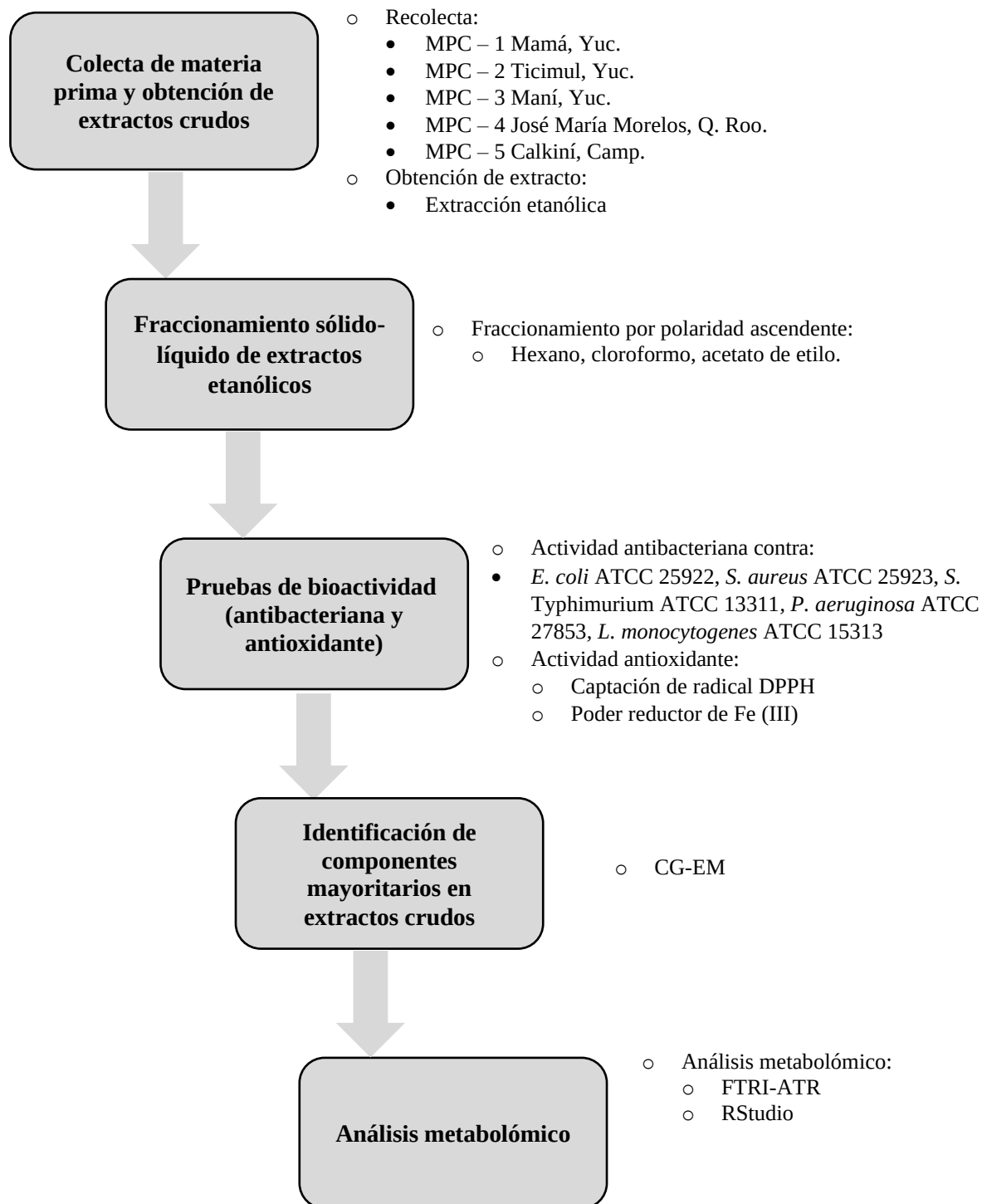


Figura 0.7. Estrategia experimental.

1.6. Literatura citada

- Abd Jalil MA, Kasmuri AR, & Hadi H. 2017. Stingless bee honey, the natural wound healer: a review. *Skin Pharmacology and Physiology* 30(2), 66–75. <https://doi.org/10.1159/000458416>
- Abebe E, Gugsu G, & Ahmed M. 2020. Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. *Journal of Tropical Medicine*, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2020/4674235>
- Akhir RAM, Bakar MFA & Sanusi SB. 2018. Antioxidant and antimicrobial potential of stingless bee (*Heterotrigona itama*) by-products. *Journal of Advanced Research in Fluid Mechanics and Thermal Sciences* 42(1): 72–79.
- Al-Hatamleh MA, Boer JC, Wilson KL, Plebanski M, Mohamud R, & Mustafa MZ. 2020. Antioxidant-based medicinal properties of stingless bee products: Recent progress and future directions. *Biomolecules* 10(6): 1–28. <https://doi.org/10.3390/biom10060923>
- Al-Kharousi ZS, Guizani N, Al-Sadi AM, Al-Bulushi IM, & Shaharoon B. 2016. Hiding in fresh fruits and vegetables: opportunistic pathogens may cross geographical barriers. *International Journal of Microbiology* 1–14. <https://doi.org/10.1155/2016/4292417>
- Almeida-Muradian LB, Pamplona LC, Coimbra S, & Barth, OM. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 105–111.
- Alves de Souza S, Camara CA, Sarmiento da Silva E, & Silva TMS. 2013. Composition and antioxidant activity of geopropolis collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) bees. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Alwan A, Armstrong T, Bettcher D, Branca F, Chisholm D, & Ezzati M. 2010. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles.
- Amarante JF, Ribeiro MF, Costa MM, Menezes FG, Silva TMS, Amarante TAB, Gradela A, & Moura LMD. 2019. Chemical composition and antimicrobial activity of two extract of propolis against isolates of *Staphylococcus spp.* and multiresistant bacteria. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39(9): 734–743. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-6128>
- Andersson DI & Hughes D. 2010. Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? *Nature Reviews Microbiology* 8(4): 260–271. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2319>

- Arnold N, Ayala R, Mérida J, Sagot P, & Aldasoro M. 2018. Nuevos registros de abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) para los estados de Chiapas y Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 89: 651 – 665.
- Arnold N, Zepeda R, Vásquez M, & Aldasoro M. 2018. Las abejas sin aguijón y su cultivo en Oaxaca, México con catálogo de especies.
- Ascencio Tusó JD. 2014. Evaluación de los cambios pre y postcosecha de la miel de especies de abejas sin aguijón. Universidad Nacional de Colombia.
- Asmae EG, Nawal EM, Bakour M, & Lyoussi B. 2021. Moroccan monofloral bee pollen: botanical origin, physicochemical characterization, and antioxidant activities. *Journal of Food Quality*, 8877266. <https://doi.org/10.1155/2021/8877266>
- Atkinson R, Maguire H, & Gerner-Smidt P. 2013. A challenge and an opportunity to improve patient management and public health surveillance for food-borne infections through culture-independent diagnostics. *Journal of Clinical Microbiology* 51(8): 2479–2482. <https://doi.org/10.1128/JCM.00253-13>
- Ayala R. 1999. Revisión de las abejas sin aguijón de México (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Folia Entomológica México*, 106: 1–123.
- Ayala R, Griswold TL, & Yanega D. 1996. Apoidea (Hymenoptera). In JE Llorente Bousquets, A. N. García Aldrete, & E. Soriano González (Eds.), *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento* 423–464. UNAM, CONABIO.
- Basilio Carneiro AL, Gomes AA, Alves da Silva L, Basilio Alves L, Cardoso da Silva E, da Silva Pinto AC, Tadei WP, Pohlit AM, Simas Teixeira MF, Campos Gomes, C., & de Farias Naiff, M. 2019. Antimicrobial and larvicidal activities of stingless bee pollen from Maues, Amazonas, Brazil. *Bee World* 96(4): 98–103. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2019.1650564>
- Batista MCA, Abreu BVDB, Dutra RP, Cunha MS, Amaral FMMD, Torres, LMB, & Ribeiro NDS. 2016a. Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* (Meliponinae) in flooded fields and cerrado areas of Maranhão State, northeastern Brazil. *Acta Amazonica* 46(3): 315–322.
- Batista MCA, Abreu BV de B Dutra RP, Cunha MS, Amaral FMM, do Torres LMB, & Ribeiro MN. de S. 2016b. Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* (Meliponinae) in flooded fields and cerrado areas of

- Maranhão State, northeastern Brazil. *Acta Amazonica*, 46(3): 315–322.
<https://doi.org/10.1590/1809-4392201600034>
- Belina-Aldemita MD, Oppen C, Schreiner M, & D’Amico S. 2019. Nutritional composition of pot-pollen produced by stingless bees (*Tetragonula biroi* Friese) from the Philippines. *Journal of Food Composition and Analysis* 82: 103215.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.04.003>
- Belina-Aldemita MD, Schreiner M, & D’Amico S. 2020a. Characterization of phenolic compounds and antioxidative potential of pot-pollen produced by stingless bees (*Tetragonula biroi* Friese) from the Philippines. *Journal of Food Biochemistry*: 44(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13102>
- Belina-Aldemita, MD, Schreiner M, & D’Amico S. 2020b. Characterization of phenolic compounds and antioxidative potential of pot-pollen produced by stingless bees (*Tetragonula biroi* Friese) from the Philippines. *Journal of Food Biochemistry* 44(1): e13102. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13102>
- Bradbeer N. 2009. Bees and their role in forest livelihoods: a guide to the services provided by bees and the sustainable harvesting, Processing and Marketing of Their Products. In Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Brown E, O’Brien M, Georges K, & Suepaul S. 2020. Physical characteristics and antimicrobial properties of *Apis mellifera*, *Frieseomelitta nigra* and *Melipona favosa* bee honeys from apiaries in Trinidad and Tobago. *BMC Complementary Medicine and Therapies* 20(1): 85. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-2829-5>
- Cáceres Chan RI. 2020. Aislamiento, purificación e identificación de los metabolitos secundarios mayoritarios del polen colectado por la abeja *Melipona beecheii*. Instituto Tecnológico de Mérida.
- Carballeira NM, Montano N, Morales C, Mooney J, Torres X, Díaz D, & Sanabria-Rios DJ. 2017. 2-Methoxylated FA display unusual antibacterial activity towards clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CIMRSA) and *Escherichia coli*. *Lipids*, 52(6), 535–548. <https://doi.org/10.1007/s11745-017-4262-1>
- Chua LS, Rahaman NLA, Adnan NA, & Eddie Tan TT. 2013. Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2013/313798>

- Chuttong B, Chanbang Y, Sringarm K, & Burgett M. 2016. Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). *Food Chemistry* 192: 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.089>
- Chuttong B, Phongphisutthinant R, Sringarm K, Burgett M, & Barth OM. 2018. Nutritional composition of pot-pollen from four species of stingless bees (Meliponini) in Southeast Asia. In Vit P, Pedro SRM, & Roubik DW (Eds.). *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (313–324). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61839-5_22
- Corrales L, & Muñoz M. 2012. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova- Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*: 135–250.
- Cortopassi-Laurino M, Imperatriz-Fonseca VL, Roubik DW, Dollin A, Heard T, Aguilar I, Venturieri GC, Eardley C, & Nogueira-Neto P. 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie* 37(2): 275–292.
- Cragg GM, & Newman DJ. 2001. Natural product drug discovery in the next millennium. *Pharmaceutical Biology* 39(sup1): 8–17. <https://doi.org/10.1076/phbi.39.s1.8.0009>
- Crane E. 1992. The past and present status of beekeeping with stingless bees. *Bee World*, 73(1): 29–42. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1992.11099110>
- Daudu OM. 2019. Bee Pollen extracts as potential antioxidants and inhibitors of α -amylase and α -glucosidase enzymes - in vitro assessment. *Journal of Apicultural Science* 63(2): 315–325. <https://doi.org/10.2478/JAS-2019-0020>
- De Andrade Lima M, Kestekoglou I, Charalampopoulos D & Chatzifragko A. 2019. Supercritical fluid extraction of carotenoids from vegetable waste matrices. *Molecules* 24(3): 466. <https://doi.org/10.3390/molecules24030466>
- De Melo ILP, & Almeida-Muradian LBD. 2011. Comparison of methodologies for moisture determination on dried bee pollen samples. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 31(1): 194–197. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000100029>
- De Melo ILP, Freitas AS, Barth, OM & Almeida-Muradian, L. B. 2009. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 68: 346–353.
- Demarque DP, Dusi RG, de Sousa FDM, Grossi SM, Silvério MRS, Lopes NP, & Espindola, LS. 2020. Mass spectrometry-based metabolomics approach in the isolation of bioactive

- natural products. *Scientific Reports* 10(1): 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58046-y>
- Denisow B, & Denisow-Pietrzyk M. 2016. Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(13): 4303–4309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7729>
- Desbois AP. 2012. Potential applications of antimicrobial fatty acids in medicine, agriculture and other industries. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* 7(2): 111–122. <https://doi.org/10.2174/157489112801619728>
- El Ghouizi A, El Menyiy N, Falcão SI, Vilas-Boas M, & Lyoussi B. 2020a. Chemical composition, antioxidant activity, and diuretic effect of Moroccan fresh bee pollen in rats. *Veterinary World* 13(7): 1251–1261. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1251-1261>
- El Ghouizi A, El Menyiy N, Falcão SI, Vilas-Boas M, & Lyoussi B. 2020b. Chemical composition, antioxidant activity, and diuretic effect of Moroccan fresh bee pollen in rats. *Vet. World*, 13(7), 1251. <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2020.1251-1261>
- Elias RJ, Kellerby SS, & Decker EA. (2008). Antioxidant activity of proteins and peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48(5): 430–441. <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>
- Eng, SK, Pusparajah P, Ab Mutalib NS, Ser HL, Chan KG, & Lee LH. 2015. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science* 8(3): 284–293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>
- Ewnetu Y, Lemma W, & Birhane N. 2013. Antibacterial effects of *Apis mellifera* and stingless bees honeys on susceptible and resistant strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* in Gondar, Northwest Ethiopia. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13(1): 269. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-269>
- Feas X, Pilar Vazquez-Tato M, Estevinho L, Seijas JA, & Iglesias A. 2012. Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17(7): 8359–8377. <https://doi.org/10.3390/molecules17078359>
- Flavia Massaro C, Vila TF, & Hauxwell C. 2018. Metabolomics analysis of pot-pollen from three species of australian stingless bees (Meliponini). In *Pot-pollen in stingless bee*

- melittology (pp. 401–417). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61839-5_29
- Fuenmayor CA, Díaz-Moreno AC, Zuluaga-Domínguez CM, & Quicazán MC. 2013. Honey of colombian stingless bees: nutritional characteristics and physicochemical quality indicators. In Pot-Honey; Vit, P., Pedro, S.R., Roubik, D., Eds.; Springer (pp. 383–394).
- Funari SRC, Rocha HC, Sforcin JM, Filho HG, Curi PR, Gomes Dierckx SMS, Funari ARM, & Orsi RO. 2003. Composições bromatológica e mineral de pólen coletado por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) em Botucatu, Estado de São Paulo. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 11: 88–93.
- Gambino M, & Cappitelli F. 2016. Mini-review: Biofilm responses to oxidative stress. *Biofouling* 32(2): 167–178. <https://doi.org/10.1080/08927014.2015.1134515>
- Gan Z, Liang Z, Chen X, Wen X, Wang Y, Li M, & Ni Y. 2016. Separation and preparation of 6-gingerol from molecular distillation residue of *Yunnan ginger* rhizomes by high-speed counter-current chromatography and the antioxidant activity of ginger oils in vitro. *Journal of Chromatography B* 1011: 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.12.051>
- Gercek YC, Celik S, & Bayram S. 2021. Screening of plant pollen sources, polyphenolic compounds, fatty acids and antioxidant/antimicrobial activity from bee pollen. *Molecules* 27(1): 117. <https://doi.org/10.3390/molecules27010117>
- Gershenson C, & Wisdom T. 2013. Previniendo enfermedades crónico-degenerativas con vacunas sociales. *Cirugía y Cirujanos*: 83–84.
- Gil-Chávez GJ, Villa JA, Ayala-Zavala JF, Heredia JB, Sepulveda D, Yahia EM, & González-Aguilar GA. 2013. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12(1): 5–23. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12005>
- Giorgi C, Marchi S, Simoes ICM, Ren Z, Morciano G, Perrone M, Patalas-Krawczyk P, Borchard S, Jędrak P, Pierzynowska K, Szymański J, Wang DQ, Portincasa P, Węgrzyn G, Zischka H, Dobrzyn P, Bonora M, Duszyński J, Rimessi A., ... Wieckowski MR. 2018. Mitochondria and reactive oxygen species in aging and age-related diseases: 209–344. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.05.006>

- González Acereto JA. 2012. La importancia de la meliponicultura en México, con énfasis en la Península de Yucatán. *Bioagrociencias* 5(1): 34–42.
- Goodacre R, Vaidyanathan S, Dunn WB, Harrigan GG, & Kell DB. 2004. Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global metabolite data. *Trends in Biotechnology*, 22(5): 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.03.007>
- Gourama H. 2020. Foodborne pathogens. In *Food Safety Engineering*: 25–49. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_2
- Guzmán M, Balboa C, Vandame R, Albores ML, & González-Acereto J. 2011. Manejo de las abejas nativas sin aguijón en México: *Melipona beecheii* y *Scaptotrigona mexicana*. (El Colegio de la Frontera Sur, Ed.).
- Hanson JR. 2003. Natural products: the secondary metabolites. Royal Society of Chemistry, 17.
- Harif Fadzilah N, Jaapar MF, Jajuli R, & Wan Omar WA. 2017. Contenido total fenólico y flavonoide, y actividad antioxidante en extractos etanólicos de polen de tres especies diferentes de abeja malasia sin aguijón. *Journal of Apicultural Research* 56(2): 130–135. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1287996>
- Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, Raza A, Mohsin SM, Mahmud JAl, Fujita M, & Fotopoulos V. 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants* 9(8): 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>
- Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, Gibb HJ, Hald T, Lake RJ, Praet N, Bellinger DC, de Silva, NR, Gargouri N, Speybroeck N, Cawthorne A, Mathers C, Stein C, Angulo FJ, & Devleeschauwer B. 2015. World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLOS Medicine* 12(12): e1001923. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001923>
- Hazan R, Que YA, Maura D, Strobel B, Majcherczyk PA, Hopper LR, & Rahme LG. 2016. Auto poisoning of the respiratory chain by a quorum-sensing-regulated molecule favors biofilm formation and antibiotic tolerance. *Current Biology* 26(2): 195–206. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.056>
- Heredia N, & García S. 2018. Animals as sources of food-borne pathogens: A review. *Animal Nutrition* 4(3): 250–255. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.006>

- Incalza MA, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, & Giorgino F. 2018. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology* 100: 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>
- Ismail WIW, Hussin NN, Mazlan SNF, Hussin NH, & Radzi MNFM. 2018. Physicochemical Analysis, antioxidant and anti proliferation activities of honey, propolis and beebread harvested from stingless bee. *Proceedings of the IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 012048.
- Jayedi A, Rashidy-Pour A, Parohan M, Zargar MS, & Shab-Bidar S. 2018. Dietary antioxidants, circulating antioxidant concentrations, total antioxidant capacity, and risk of all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *Advances in Nutrition* 9(6): 701–716. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy040>
- Jiménez MA, Román NR, & García I. 2011. Antioxidant and antimicrobial activities of hexane extracts and pure compounds from *Aristolochia taliscana* rhizome. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 42(3): 35–41.
- Jiménez-López JC, Rodríguez García MI, & Alché Ramírez JDD. 2011. Systematic and phylogenetic analysis of the ole e 1 pollen protein family members in plants.
- Komosinska-Vassev K, Olczyk P, Kazmierczak J, Mencner L, & Olczyk K. 2015. Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*: 1–6.
- Kumar P, Lee JH, Beyenal H, & Lee J. 2020. Fatty acids as antibiofilm and antivirulence agents. *Trends Microbiology* 28(9): 753–768. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2020.03.014>
- Kustiawan PM, Puthong S, Arung ET, & Chanchao C. 2014. In vitro cytotoxicity of Indonesian stingless bee products against human cancer cell lines. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(7): 549–556. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2013-0039>
- Lopes AJO, Vasconcelos CC, Garcia JBS, Pinheiro MSD, Pereira FAN, Camelo DS, Moraes SV, de Freitas JRB, Rocha CQ, da Ribeiro MNS, & Cartágenes MSS. 2020. Anti-inflammatory and antioxidant activity of pollen extract collected by *Scaptotrigona*

- affinis postica*: in silico, in vitro, and in vivo studies. *Antioxidants*: 9(2).
<https://doi.org/10.3390/antiox9020103>
- Lopes AJO, Vasconcelos CC, Pereira FAN, Silva RHM, Queiroz PF dos S, Fernandes CV, Garcia JBS, Ramos RM, Rocha CQ, da Lima STJRM, Cartágenes MSS, & Ribeiro MNS. 2019. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of pollen extract collected by stingless bee *Melipona fasciculata*. *International Journal of Molecular Sciences* 20(18): <https://doi.org/10.3390/ijms20184512>
- Manning R. 2001. Fatty acids in pollen: a review of their importance for honey bees. *Bee World* 82(2): 60–75. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2001.11099504>
- Mărgăoan R, Mărghițaș L, Al Dezmirean DS, Dulf FV, Bunea A, Socaci SA, & Bobiș O. 2014. Predominant and secondary pollen botanical origins influence the carotenoid and fatty acid profile in fresh honeybee-collected pollen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(27): 6306–6316.
https://doi.org/10.1021/JF5020318/SUPPL_FILE/JF5020318_SI_001.PDF
- Marušić A. 2011. Food safety and security: what were favorite topics for research in the last decade? *Journal of Global Health* 1(1): 72–78.
- Mehla N, Sindhi V, Josula D, Bisht P, & Wani SH. 2017. An introduction to antioxidants and their roles in plant stress tolerance. in *reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress* (1–23). Springer Singapore.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5_1
- Menezes C, Vollet-Neto A, Contrera FAFL, Venturieri GC, & Imperatriz-Fonseca VL. 2013. The role of useful microorganisms to stingless bees and stingless beekeeping. In P. Vit, S. R. M. Pedro, & D. Roubik (Eds.), *Pot-Honey: A legacy of stingless bee* (pp. 153–171). Springer.
- Michener CD. 2000. *The bees of the world*. The John Hopkins University Press.
- Morales D, Piris AJ, Ruiz-Rodriguez A, Prodanov M, & Soler-Rivas C. 2018. Extraction of bioactive compounds against cardiovascular diseases from *Lentinula edodes* using a sequential extraction method. *Biotechnology Progress* 34(3): 746–755.
<https://doi.org/10.1002/btpr.2616>
- Morrissey JP. 2009. Plant-derived natural products: Synthesis, function, and application. In Osbourn A & Lanzotti V. (Eds.) *Plant-derived Natural Products*. (1–597). Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-0-387-85498-4>

- Newman DJ, & Cragg GM. 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products* 79(3): 629–661. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>
- Newman DJ, & Cragg GM. 2020. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products* 83(3): 770–803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
- Nugitrangson P, Puthong S, Iempridee T, Pimtong W, Pornpakakul S, & Chanchao C. 2016. In vitro and in vivo characterization of the anticancer activity of Thai stingless bee (*Tetragonula laeviceps*) cerumen. *Experimental Biology and Medicine* 241(2): 166–176. <https://doi.org/10.1177/1535370215600102>
- Nurdianah HF, Firdaus AA, Azam OE, & Adnan WW. 2016. Antioxidant activity of bee pollen ethanolic extracts from Malaysian stingless bee measured using DPPH-HPLC assay. *International Food Research Journal* 23(1): 403.
- Nweze JA, Okafor JI, Nweze EI, & Nweze JE. 2017. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of two stingless bee honeys: a comparison with *Apis mellifera* honey from Nsukka, Nigeria. *BMC Research Notes*. 10(1): 566. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2884-2>
- Oliveira DJ, Rodrigues dos Santos D, Andrade BR, Nascimento AS do, Oliveira da Silva M, da Cruz Mercês C, Lucas CIS, Cavalcante da Silva SMP, Dib de Carvalho P, Silva F de L, Estevinho LM, & Carvalho CAL de. 2020. Botanical origin, microbiological quality and physicochemical composition of the *Melipona scutellaris* pot-pollen (“samburá”) from Bahia (Brazil) Region. *Journal of Apicultural Research* 60(3): 457–469. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1797271>
- Oliveira Lopes AJ, Costa Vasconcelos C, Nascimento Pereira FA, Moraes Silva RH, dos Santos Queiroz PF, Viana Fernandes C, Santos Garcia JB, Martins Ramos R, Quintino da Rocha C, STJR ML, de Sousa Cartágenes MS, & de Sousa Ribeiro MN. 2019. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of pollen extract collected by stingless bee *Melipona fasciculata*. *International Journal of Molecular Sciences* 20(18): 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijms20184512>
- Oliveira Lopes AJ, Costa Vasconcelos C, Santos Garcia JB, Dória Pinheiro MS, Nascimento Pereira FA, de Sousa Camelo D, Vieira de Moraes S, Brito Freitas JR, Quintino da Rocha C, de Sousa Ribeiro MN, & de Sousa Cartágenes MS. 2020. Anti-Inflammatory and

- Antioxidant activity of pollen extract collected by *scaptotrigona affinis postica*: in silico, in vitro, and in vivo studies. *Antioxidants* 9(2): 103. <https://doi.org/10.3390/antiox9020103>
- Omar WAW, Azhar NA, Fadzilah NH, & Kamal NNSNM. 2016. Bee pollen extract of Malaysian stingless bee enhances the effect of cisplatin on breast cancer cell lines. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(3): 265–269. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.12.011>
- Omar WAW, Yahaya N, Ghaffar ZA, & Fadzilah NH. 2018. GC-MS analysis of chemical constituents in ethanolic bee pollen extracts from three species of Malaysian stingless bee. *Journal of Apicultural Science* 62(2): 275–284. <https://doi.org/doi:10.2478/jas-2018-0022>
- Ortiz-Vázquez E, Cuevas-Glory L, Zapata-Baas G, Martínez-Guevara J, & Ramón-Sierra J. 2013. Which bee honey components contribute to its antimicrobial activity? A review. *African Journal of Microbiology Research* 7(51): 5758–5765. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5366>
- Pérez-Pérez E, Sulbarán-Mora M, Barth OM, Flavia Massaro C, & Vit P. 2018. Bioactivity and botanical origin of *Austroplebeia* and *Tetragonula* Australian pot-pollen. In *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (377–390). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61839-5_27/COVER
- Quinlan J. 2013. Foodborne Illness Incidence Rates and Food Safety Risks for Populations of Low Socioeconomic Status and Minority Race/Ethnicity: A Review of the Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 10(8): 3634–3652. <https://doi.org/10.3390/ijerph10083634>
- Ramos Ibarra ML, González Batista CM, Gómez Meda BC, & Zamora Pérez AN. 2006. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación En Salud*, VIII(1): 7–15.
- Rattanawanee A, & Duangphakdee O. 2019. Southeast Asian meliponiculture for sustainable livelihood. In *Modern Beekeeping—Bases for Sustainable Production*. IntechOpen.
- Rebelo KS, Cazarin CBB, Iglesias AH, Stahl MA, Kristiansen K, Carvalho-Zilse GA, Grimaldi R, Reyes FGR, Danneskiold-Samsøe NB, & Júnior MRM. 2021. Nutritional composition and bioactive compounds of *Melipona seminigra* pot-pollen from

- Amazonas, Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101(12): 4907–4915. <https://doi.org/10.1002/JSFA.11134>
- Robinette SL, Brüscheweiler R, Schroeder FC, & Edison AS. 2012. NMR in metabolomics and natural products research: two sides of the same coin. *Accounts of Chemical Research* 45(2): 288–297. <https://doi.org/10.1021/ar2001606>
- Salam AM, Lyles JT, & Quave CL. 2019. Methods in the extraction and chemical analysis of medicinal plants (257–283). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8919-5_17
- Sanabria-Ríos DJ, Morales-Guzmán C, Mooney J, Medina S, Pereles-De-León T, Rivera-Román A, Ocasio-Malavé C, Díaz D, Chorna N, & Carballeira NM. 2020. Antibacterial activity of hexadecynoic acid isomers toward clinical isolates of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lipids* 55(2): 101–116. <https://doi.org/10.1002/LIPD.12213>
- Sanabria-Ríos DJ, Rivera-Torres Y, Rosario J, Gutierrez R, Torres-García Y, Montano N, Ortiz-Soto G, Ríos-Olivares E, Rodríguez JW, & Carballeira NM. 2015. Chemical conjugation of 2-hexadecynoic acid to C5-curcumin enhances its antibacterial activity against multi-drug resistant bacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 25(22): 5067–5071. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2015.10.022>
- Santa Bárbara MF, Machado CS, Da Silva Sodré G, Dias LG, Estevinho LM, & Lopes De Carvalho CA. 2015. Microbiological assessment, nutritional characterization and phenolic compounds of bee pollen from *Mellipona mandacai* Smith, 1983. *Molecules*, 20(7): 12525–12544. <https://doi.org/10.3390/molecules200712525>
- Santa Bárbara MF, Moreira MM., Machado, C. S., Chambó, E. D., Pascoal, A., de Carvalho, C. A. L., da Silva Sodré G, Delerue-Matos C, & Estevinho LM. 2021. Storage methods, phenolic composition, and bioactive properties of *Apis mellifera* and *Trigona spinipes* pollen. *Journal of Apicultural Research* 60(1): 99–107. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1708595>
- Santa Bárbara MF, Moreira MM, Machado CS, Chambó ED, Pascoal A, de Carvalho CA L., & Estevinho, L. M. 2020. Storage methods, phenolic composition, and bioactive properties of *Apis mellifera* and *Trigona spinipes* pollen. *Journal of Apicultural Research*, 0(0), 1–9. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1708595>
- Santa Bárbara M, Machado CS, Sodré GDS, Dias LG, Estevinho LM, & De Carvalho CAL. 2015. Microbiological assessment, nutritional characterization and phenolic

- compounds of bee pollen from *Mellipona mandacaia* Smith, 1983. *Molecules* 20(7): 12525–12544. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES200712525>
- Saravanan A, Kumar, PS, Hemavathy RV, Jeevanantham S, Kamalesh R, Sneha S, & Yaashikaa PR. 2020. Methods of detection of food-borne pathogens: a review. *Environmental Chemistry Letters*. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01072-z>
- Shyuri LF, & Yang NS. 2008. Metabolomics for phytomedicine research and drug development. *Current Opinion in Chemical Biology* 12(1): 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.01.032>
- Silva TMS, Camara CA, Lins ACS, Agra MF, Silva EMS, Reis IT, & Freitas, B. M. 2008. 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 Ciencias* 81(2): 173–178. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652009000200003>
- Silveira TA. 2012. Caracterização sazonal do pólen apícola quanto à origem botânica, aspectos físico-químicos e elementos traços como bioindicadora de poluição ambiental.
- Souza ECA., Menezes, C., & Flach, A. 2021. Stingless bee honey (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): a review of quality control, chemical profile, and biological potential. *Apidologie* 52(1), 13–132. <https://doi.org/10.1007/S13592-020-00802-0/TABLES/2>
- Su J, Yang X, Lu Q, & Liu R. 2020a. Antioxidant and anti-tyrosinase activities of bee pollen and identification of active components. *Journal of Apicultural Research*, 0(0), 1–11. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1722356>
- Su J, Yang X, Lu Q, & Liu R. 2020b. Antioxidant and anti-tyrosinase activities of bee pollen and identification of active components. *Journal of Apicultural Research* 60(2), 297–307. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1722356>
- Sulbarán-Mora M, Pérez-Pérez E, & Vit P. 2018. Antibacterial activity of ethanolic extracts of pot-pollen produced by eight meliponine species from Venezuela. In *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology* (391–399). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61839-5_28
- Szczesna T. 2006. Long-Chain Fatty Acids Composition of Honeybee-Collected Pollen. *J. Apic. Sci.*, 50, 65–79. http://www.jas.org.pl/jas_50_2_2006_8.pdf
- Tebani, A., Afonso, C., & Bekri, S. (2018). Advances in metabolome information retrieval: turning chemistry into biology. Part I: analytical chemistry of the metabolome. *Journal*

- of Inherited Metabolic Disease, 41(3): 379–391. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0074-y>
- Thomford N, Senthebane D, Rowe A, Munro D, Seele, P, Maroyi, A., & Dzobo, K. 2018. Natural products for drug discovery in the 21st century: innovations for novel drug discovery. International Journal of Molecular Sciences 19(6): 1578. <https://doi.org/10.3390/ijms19061578>
- Tsai ML, Wu CT, Lin TF, Lin WC, Huang YC, & Yang, CH. 2013. Chemical composition and biological properties of essential oils of two mint species. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 12(4): 577–582. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i4.20>
- Ulrich-Merzenich G, Zeitler H, Jobst D, Panek, D., Vetter H., & Wagner H. 2007. Application of the “-Omic-” technologies in phytomedicine. Phytomedicine 14(1): 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.11.011>
- Villanueva GR, Buchmann SDAJ, & Roubik, DW. 2005. Crianza y manejo de la abeja Xunan cab en la Península de Yucatán (ECOSUR Arizona, Ed.).
- Villanueva GR, Roubik DW, & Colli-Ucán W. 2005. Extinction of *Melipona beecheii* and traditional beekeeping in the Yucatán Peninsula. Bee World, 86, 35–41.
- Vit P, Santiago B, Pedro SRM, Ruíz J, Maza, F., Peña Vera, M., & Pérez Pérez, E. 2016. Chemical and bioactive characterization of pot-pollen produced by *Melipona* and *Scaptotrigona* stingless bees from Paria Grande, Amazonas State, Venezuela. Emirates Journal of Food and Agriculture 28(2): 78–84. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-05-245>
- Vit P, Santiago B, Silvia RM, Ruíz J, Maza F, Peña Vera, & Elizabeth PP. 2016. Chemical and bioactive characterization of pot-pollen produced by *Melipona* and *Scaptotrigona* stingless bees from Paria Grande, Amazonas State, Venezuela. Emirates Journal of Food and Agriculture 28(2): 78–84. <https://doi.org/10.9755/EJFA.2015-05-245>
- Vossler FG. 2018. Are Stingless Bees a Broadly Polylectic Group? An empirical study of the adjustments required for an improved assessment of pollen diet in bees. In Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology (17–28). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61839-5_2
- Wang K, Ping S, Huang S, Hu L, Xuan H, Zhang C, & Hu F. 2013. molecular mechanisms underlying tn vitro anti-inflammatory effects of a flavonoid-rich ethanol extract from chinese propolis (Poplar Type). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2013/127672>

- Williams SR, Oatley DL, Abdrahman A, Butt T, & Nash R. 2012. Membrane technology for the improved separation of bioactive compounds. *Procedia Engineering* 44: 2112–2114. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.09.064>
- Yoon BK, Jackman JA, Valle-González ER, & Cho NJ. 2018. Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *International Journal of Molecular Sciences* 19(4): 1114. <https://doi.org/10.3390/IJMS19041114>
- Yoshioka T, Nagatomi Y, Harayama K, & Bamba T. 2018. Development of an analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee beverages and dark beer using novel high-sensitivity technique of supercritical fluid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(1): 126–130. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.01.014>
- Yousef AE, & Abdelhamid AG. 2019. Behavior of microorganisms in food: growth, survival, and death. In *Food Microbiology* (3–21). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555819972.ch1>

CAPÍTULO 2. ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF ETHANOLIC POT-POLLEN EXTRACTS OF *Melipona beecheii* AND DETERMINATION OF THE MAJOR COMPONENTS BY GC-MS.

Patricia Calderón-Martínez^a, Alejandro Yam-Puc^b, Jesús Ramón-Sierra^b, Gloria Hernández-Bolio^c,
Emanuel Hernández-Núñez^d, Roberto Zamora-Bustillos^{a*} and Elizabeth Ortiz-Vázquez^{b*}

(Artículo publicado en: Chemistry & Biodiversity;

<https://doi.org/10.1002/cbdv.202401355>)

2.1. Abstract

Melipona beecheii pot-pollen is a natural product that has barely been studied, unlike other hive products such as honey and propolis. Its application has been reported since ancient times in traditional Mayan medicine, and it is also a functional food with high nutritional value. In the present study, samples of ethanolic pot-pollen extracts from five locations in the Yucatán Peninsula were analyzed to determine their antibacterial and antioxidant properties. All the extracts showed activity against five medically important bacteria; *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* were the most susceptible bacteria in all samples. The evaluated antioxidant activity was higher than that reported by other studies. Palmitic, linoleic, and linolenic fatty acids and their respective ethyl ethers were detected by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) in all samples in different concentrations. Based on these results, pot-pollen extract from Mama, Yucatán exhibited the best biological activities (Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) between 6 and 40 mg/mL, EC₅₀ DPPH 28 µg/mL, EC₅₀ RP 30 µg/mL), which could be related to a higher content of unsaturated fatty acids and their ethyl esters. The present study demonstrates that *M. beecheii* pot-pollen has therapeutic potential in addition to its benefits as a nutritional supplement.

CAPÍTULO 3. ESTUDIO COMPARATIVO DE PERFILES POR FTIR-ATR de POLEN RECOLECTADO POR *Melipona beecheii* DE DIFERENTES SITIOS EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN

Patricia Calderón-Martínez¹, Héctor Peniche-Pavía², Gloria Hernández-Bolio³, Emanuel Hernández-Nuñez⁴, Alejandro Yam-Puc⁵, Roberto Zamora-Bustillos¹, Elizabeth Ortiz-Vázquez⁵

3.1. Resumen

Melipona beecheii es una abeja sin aguijón nativa de la península de Yucatán de alto valor cultural y religioso. El polen recolectado por esta abeja es un alimento funcional que ha demostrado tener actividad biológica y excelente composición nutricional. El conocimiento de la variabilidad de su composición es de gran importancia en términos de calidad, por lo que la metabolómica representa una herramienta adecuada para dicho fin. En este estudio se determinaron los perfiles metabolómicos a partir de datos espectrales obtenidos por FTIR-ATR de cinco muestras de polen colectada por *M. beecheii* provenientes de distintos puntos de la península de Yucatán. Estos datos espectrales mostraron vibraciones moleculares de proteínas, lípidos y carbohidratos cuya intensidad dependió del sitio de recolección.

CAPÍTULO 4. CARACTERIZACIÓN DEL POLEN RECOLECTADO POR LA ABEJA SIN AGUIJÓN *Melipona beecheii* Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA BACTERIAS DE IMPORTANCIA MÉDICA

Patricia Calderón-Martínez¹, Anahí Chan-Paz², Alejandro Yam-Puc², Jesús Manuel Ramón-Sierra², Roberto Zamora-Bustillos¹, Elizabeth Ortiz-Vázquez^{2*}.

(Aceptado en septiembre de 2024 como capítulo del libro: “Contribución del TecNM para la Autosuficiencia Alimentaria y el Rescate del Campo Mexicano”).

4.1. Resumen

Melipona beecheii, es una abeja sin aguijón nativa cuyo polen ha sido poco estudiado a pesar de los grandes beneficios del consumo de este alimento funcional. Para esto, en presente capítulo se caracterizó el polen de *M. beecheii* por análisis proximales, también se evaluó el potencial antimicrobiano de las fracciones hexánicas, clorofórmicas y de acetato de etilo contra las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*. En los resultados, el polen de *M. beecheii* destaca por su alto contenido de proteína coincidente con lo reportado en polen de otro meliponinos, en cuanto a su actividad antibacteriana, aunque todas las fracciones mostraron actividad, las de acetato de etilo fueron las más efectivas, por lo que se compararon sus concentraciones mínimas inhibitorias con los extractos crudos etanólicos mostrando que el fraccionamiento de los extractos crudos no aumenta la actividad antibacteriana significativamente. Con base lo anterior, el polen de *M. beecheii*, es una posible alternativa como suplemento alimenticio por su composición, así como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades bacterianas.