

# Caracterización de mieles de *Melipona beecheii* y *Melipona solani* de Guatemala

## Characterization of *Melipona beecheii* and *Melipona solani* honey from Guatemala

Gutiérrez María Gabriela<sup>1</sup>, Enríquez Eunice<sup>2</sup>, Lusco Lorenzo<sup>3</sup>,  
Rodríguez-Malaver Antonio<sup>4</sup>, Persano Oddo Livia<sup>3</sup>, Vit Patricia<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Apiterapia y Bioactividad, Departamento Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.*

<sup>2</sup> *Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.*

<sup>3</sup> *Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Sezione di Apicoltura, Via L. Rech 36, 00156 Rome, Italy.*

<sup>4</sup> *Laboratorio de Bioquímica Adaptativa, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.*

Recibido julio 2008 - Aceptado marzo 2009

### RESUMEN

En comparación con el género *Apis*, las abejas sin aguijón del género *Melipona* Illiger 1806 tienen una mayor biodiversidad y son endémicas del Neotrópico. En Guatemala se distribuyen tres de las 69 especies de *Melipona*. En este trabajo se caracterizaron las mieles de *M. beecheii* y de *M. solani*, con los respectivos valores promedio de humedad (27,20-23,75 g agua/100 g), HMF (0,12-0,20 mg/kg), fructosa (31,76-30,21), glucosa (37,35-31,89), sacarosa (3,18-6,76) y maltosa (8,30-0,00) g azúcar/100 g, pH (5,13-5,01), acidez libre (29,74-29,20) meq/kg miel, conductividad eléctrica (0,15-0,14) mS/cm, color (25,50-11,00) mm Pfund, diastasa (1,61-1,60) DN, flavonoides (3,60-1,88) mg EQ/100 g, polifenoles (107,35-68,66) mg EAG/100 g, y actividad antioxidante total (87,38-39,07) µmoles ET/100 g. Las mieles de *M. beecheii* y de *M. solani* presentaron características similares a las de otras especies del género *Melipona*, en cuanto a mayor humedad y menor actividad de diastasa que en las mieles de *A. mellifera*. Sin embargo, la acidez libre, el HMF y la conductividad eléctrica fueron similares a la miel de *A. mellifera*. La miel de *M. beecheii* presentó mayor contenido en maltosa, AAT, flavonoides y polifenoles, que la miel de *M. solani*.

### PALABRAS CLAVE

Melipona, Meliponini, miel, Guatemala

### ABSTRACT

In comparison with the genus *Apis*, stingless bees

from the genus *Melipona* Illiger 1806 have a greater biodiversity and are endemic of the Neotropics. Three of the 69 species of *Melipona* are distributed in Guatemala. In this work honeys of *M. beecheii* and of *M. solani* were characterized with the following mean values for moisture (27.20-23.75 g water/100 g), HMF (0.12-0.20 mg/kg), fructose (31.76-30.21), glucose (37.35-31.89), sucrose (3.18-6.76) and maltose (8.30-0.00) g sugar/100 g, pH (5.13-5.27), free acidity (29.74-29.20) meq/kg honey, electrical conductivity (0.15-0.14) mS/cm, colour (25.50-11.00) mm Pfund, diastase (1.61-1.60) DN, flavonoids (3.60-1.88) mg EQ/100 g, polyphenols (107.35-68.66) mg EAG/100 g, and total antioxidant activity (87.38-39.07) µmoles ET/100 g. *M. beecheii* and *M. solani* honeys showed similar characteristics to other species of the *Melipona* genus, such as higher moisture and lower diastase activity than *A. mellifera* honey. However, free acidity, HMF and electrical conductivity were similar to *A. mellifera* honey. *M. beecheii* honey showed higher maltose, TAA, flavonoid and polyphenol contents than *M. solani*.

### KEY WORDS

Melipona, Meliponini, honey, Guatemala

### INTRODUCCIÓN

Las abejas sin aguijón (Hymenoptera, Apidae, Apinae) de la tribu Meliponini Lepeletier 1836 producen miel en botijas de cerumen, en las regiones tropicales y subtropicales del planeta [1]. Se conocen también como abejas criollas o abejas nativas [2,3].

\*Correspondencia al autor: vit@ula.ve.

La cría tecnificada de las especies más productoras de miel es rentable y se han propuesto diversos modelos de colmenas racionales que se adaptan a sus nidos [4,5].

En comparación con el género *Apis*, el género *Melipona* Illiger 1806 tiene una mayor biodiversidad y es endémico del Neotrópico. En el año 1932 Schwarz [6] revisó este género, con 14 especies, pero ya se reconocen 69 especies de *Melipona* [7]. En Guatemala se han reportado tres especies del género *Melipona*: 1. *M. beecheii* Bennett 1835, *M. solani* Cockerell 1912 y *M. yucatanica* Camargo, Moure & Roubik 1988 [8]. *M. solani* se distribuye sólo en el norte de Guatemala y es un poco menos dócil que *M. beecheii*. A las mieles de *M. beecheii* se le han atribuido propiedades medicinales para tratar heridas, trastornos visuales, gastrointestinales, respiratorios, úlceras, recuperación post-parto y fracturas [8,9]. Las mieles de *M. beecheii* y las de *M. solani*, tienen un delicado olor y aroma floral-frutal, el olor fermentado es más fuerte en las mieles de *M. solani*, aunque su miel es casi incolora. Además, son característicos y agradables sus aromas secundarios de madera y meloso [10]. Si bien los estándares de calidad de miel de abejas están diseñados para *A. mellifera* [11-13], las abejas sin aguijón tienen similitudes y diferencias en su composición y por ello se han propuesto estándares diferentes [9,14], donde resalta un mayor contenido de humedad, una mayor acidez y una menor actividad de la diastasa.

En este trabajo, se realizó una caracterización fisicoquímica (humedad, HMF, pH, acidez libre, conductividad eléctrica, color, actividad de la diastasa, flavonoides, polifenoles) y de la actividad antioxidante total (por el método del catión radical ABTS<sup>•+</sup>) de mieles de *M. beecheii* y *M. solani* producidas en Guatemala, conocidas como abeja criolla y *chac chow* en idiomas español y quekchí, respectivamente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Mieles

Las mieles se recolectaron por extracción con una inyectora, de cuatro colmenas de *M. beecheii* ubicadas en Jutiapa y Santa Rosa, y dos colmenas de *M. solani* ubicadas en Quetzaltenango y Alta Verapaz (Figura 1).



Figura 1. Colmenas de *M. beecheii* (1) y *M. solani* (2)

### Análisis fisicoquímico

Las mieles se mantuvieron congeladas y en la oscuridad antes de procesarlas. Los análisis fisicoquímicos tradicionales se realizaron siguiendo los métodos armonizados de Bogdanov y col. [15].

#### Humedad

Se calculó indirectamente con un refractómetro Abbe (Atago) con termómetro y se convirtió el índice refractométrico a contenido de humedad con la Tabla de Chataway [16], expresado en g agua/100 g miel.

#### Hidroxiacetilfurfural (HMF)

Se pesaron  $5,0 \pm 0,1$  g de miel y se diluyeron en 25 mL de agua. Se inyectaron 20  $\mu$ L de la dilución de miel (1:5) con agua destilada pasada por un filtro de 0,45  $\mu$ m, en el HPLC-UV (Varian 330 series UV- bomba Varian 230) con una velocidad de flujo 1,0 mL/min y longitud de onda de 285 nm. Se utilizó una columna cromatográfica de fase inversa C18 de 250 x 4 mm, partículas 5  $\mu$ m de diámetro y la fase móvil 90:10 agua bidestilada (Carlo Erba, Rodano, Italia):alcohol metílico para HPLC (Carlo Erba, Rodano, Italia). Se pesó  $0,1 \pm 0,010$  g de HMF (Sigma Aldrich), se disolvió en agua bidestilada (Carlo Erba, Rodano, Italia) y se aforó a 100 mL. De esta solución madre se tomaron 0,5 mL y se aforaron nuevamente a 100 mL para la solución de referencia de HMF. Los resultados se expresan en mg HMF/kg miel.

#### Azúcares

Se preparó la solución de referencia con 2,000 g de fructosa, 1,500 g de glucosa, 0,250 g de sacarosa y 0,250 g de maltosa, disueltos en aproximadamente 40 mL de agua y aforados a 100 mL en un balón con 25 mL de metanol (Carlo Erba, Rodano, Italia). La muestra se preparó de igual manera, pesando 5,000 g de miel. La fase móvil utilizada fue acetonitrilo: agua 80:20 v/v. Se utilizó un HPLC-IR (Agilent 1100 series) con bomba isocrática (Varian 230) y una columna de 250 mm x 4 mm con aminopropilsilano (-NH<sub>2</sub>), partículas de 5  $\mu$ m de diámetro. Volumen de inyección 20  $\mu$ L. Los azúcares se identificaron por los tiempos de retención y su concentración se midió por el área de los picos, para expresar los resultados en g azúcar/100 g miel.

#### pH

Se pesaron  $10,0 \pm 0,1$  g de miel y se disolvieron en 75 mL de agua destilada recién hervida para eliminar el CO<sub>2</sub>. Se utilizó un pH-metro con titulador automático (Tritino 736 GP) para medir el pH.

#### Acidez libre

Se calculó titulando la solución de miel con hidróxido de sodio 0,05N (Carlo Erba, Rodano, Italia) hasta alcanzar pH 8,5. El tiempo de titulación fue menor de dos minutos. La acidez se expresó en meq/kg miel.

### Conductividad eléctrica

Se pesaron  $20,0 \pm 0,1$  g de materia seca de miel  $M=20 \times 100 / (100 - \text{humedad})$  disueltos y aforados a 100 mL con agua destilada. Se utilizó un conductímetro (Meter CDM3, Copenhagen, Denmark). La conductividad eléctrica se calculó en mS/cm, multiplicando la lectura por la constante de la celda en  $\text{cm}^{-1}$ .

### Color

El colorímetro Hanna Honey Color 221 (Woonsocket, Rhode Island, USA) se calibró con glicerina y las lecturas de color se realizaron por duplicado en mieles líquidas y sin burbujas, en mm Pfund. Los siete estándares de color para mieles del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos USDA [17], con sus equivalencias en mm Pfund, son: 1. Blanco agua ( $\leq 8$ ). 2. Extra blanco ( $>8$  a  $\leq 17$ ). 3. Blanco ( $>17$  a  $\leq 34$ ). 4. Ámbar extra claro ( $>34$  a  $\leq 50$ ). 5. Ámbar claro ( $>50$  a  $\leq 85$ ). 6. Ámbar ( $>85$  a  $\leq 114$ ). 7. Ámbar oscuro ( $> 114$ ).

### Actividad de la diastasa

Se pesaron  $2,0 \pm 0,1$  g de miel y se disolvieron en 40 mL de buffer sodio maleato 100 mM, aforando hasta 50 mL. Se preincubó 1 mL de la miel diluída en un tubo 16x120 mm a  $40^\circ\text{C}$  durante 5 minutos y se añadió una tableta de Amylazyme sin agitar. Se incubó a  $40^\circ\text{C}$  durante 10 minutos. Se añadieron 10 mL de Trizma (2% w/v, Sigma, St. Louis, USA) y se agitó en vortex para finalizar la reacción. Se filtró el contenido con papel Whatman No. 1, a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 590 nm contra un blanco de reacción, utilizando un espectrofotómetro Varian-Cary 100 conc.

### Actividad antioxidante total (AAT)

Para los análisis de bioactividad se pesaron exactamente  $0,10 \pm 0,01$  g de miel y se diluyeron en un volumen final de 1,0 mL con etanol (Merck, Darmstadt, Germany) al 20% (v/v). Una solución de ABTS (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) 7 mM en persulfato de amonio (IQE, Industrias Químicas Erba) 4.9 mM se mezcló en una proporción de 1:1, se tapó con papel aluminio y se dejó en reposo por lo menos 16 h antes de su uso. Se mezclaron aproximadamente 40  $\mu\text{L}$  de la solución de ABTS y 960  $\mu\text{L}$  de etanol (Merck, Darmstadt, Germany) al 20% (v/v) hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre 0,6 y 0,7 a 734 nm con un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 3B UV/VIS (Norwalk, Connecticut, USA). A esta dilución se le agregaron 10  $\mu\text{L}$  de la solución de miel 10% (p/v), se agitó rápidamente y se midió el cambio de absorbancia a los 6 minutos de reacción. El porcentaje de decoloración =  $(D.O.\text{control} - D.O.\text{miel}) \times 100 / D.O.\text{control}$  [18]. La curva de calibración se preparó para las concentraciones de 0,625, 1,25 y 2,5 mM con Trolox (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) y los resultados se reportan como moles equivalentes de Trolox (ET)/100 g miel.

### Flavonoides

Se determinó según el método de Woisky y Salatino [19] utilizando una solución de cloruro de aluminio (Merck, Darmstadt, Germany) al 20% (p/v) en etanol (Merck, Darmstadt, Germany) al 95% v/v y se expresa como mg equivalentes de quercetina (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) (mg EQ)/100 g.

### Polifenoles

Se midió con el método de Singleton y col. [20] utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) y se reportó como mg equivalentes de ácido gálico (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) (mg EAG)/100 g.

### Análisis Estadístico

Se realizó un análisis descriptivo utilizando el software SPSS versión 12.0 [21] y se correlacionó la actividad antioxidante con el color, el contenido de flavonoides y de polifenoles, utilizando el índice de Pearson con un nivel de significancia de 0,05. Los parámetros analizados en ambas especies se compararon con la prueba t-student para muestras independientes ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los resultados (media  $\pm$  DS) obtenidos al analizar las mieles de *M. beecheii* y *M. solani*. Los resultados individuales de cada miel se pueden consultar en la página <http://www.saber.ula.ve/stinglessbeehoney/database.php>

**TABLA 1**Composición fisicoquímica y bioactividad de mieles de *Melipona*

Parámetro analizado	Especies de abeja	
	<i>M. beecheii</i> n=4	<i>M. solani</i> n=2
	media $\pm$ DS	media $\pm$ DS
Humedad (g agua/100g)	27,20 $\pm$ 3,14	23,75 $\pm$ 0,50
HMF (mg/kg)	0,12 $\pm$ 0,08	0,20 $\pm$ 0,28
Fructosa (g/100 g miel)	31,76 $\pm$ 4,02	30,21 $\pm$ 3,56
Glucosa (g/100 g miel)	37,35 $\pm$ 9,76	31,89 $\pm$ 5,94
Sacarosa (g/100 g miel)	3,18 $\pm$ 4,55	6,76 $\pm$ 8,97
Maltosa* (g/100 g miel)	8,30 $\pm$ 2,56	0,00 $\pm$ 0,00
pH	5,13 $\pm$ 0,10	5,01 $\pm$ 0,03
Acidez libre (meq/kg miel)	29,74 $\pm$ 2,42	29,20 $\pm$ 8,57
Conductividad eléctrica (mS/cm)	0,15 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,00
Color (mm Pfund)	25,50 $\pm$ 24,56	11,00 $\pm$ 0,00
Diastasa (DN)	1,61 $\pm$ 0,13	1,60 $\pm$ 0,05
Flavonoides* (mg EQ/100 g miel)	3,60 $\pm$ 0,61	1,88 $\pm$ 1,64
Polifenoles* (mg EAG/100 g miel)	107,35 $\pm$ 17,79	68,66 $\pm$ 15,11
AAT* ( $\mu\text{moles ET}/100$ g miel)	87,38 $\pm$ 12,92	39,07 $\pm$ 10,52

\* indica diferencia significativa entre las mieles de *M. beecheii* y *M. solani* ( $p < 0,05$ ), t-test.

## DISCUSIÓN

La humedad fue mayor en la miel de *M. beecheii* que en la miel de *M. solani*, pero no hubo diferencia significativa; en ambos casos, la humedad de estas mieles fue mayor que el estándar para *A. mellifera* [11-13], como se indica en estudios previos [9,14,22,23].

El HMF, la acidez libre y la conductividad de las mieles de *M. beecheii* y *M. solani* presentaron valores que cumplen con los estándares de calidad establecidos para la miel de *A. mellifera* [12]; para estos parámetros no se encontró diferencia significativa entre las mieles de *M. beecheii* y *M. solani*.

En los azúcares se observó por primera vez una elevada concentración de maltosa en una miel de *Melipona*, en este caso, de *M. beecheii*. La maltosa había sido observada como un azúcar característico en mieles de abejas sin aguijón de otros géneros [24]. Por el contrario, la ausencia de maltosa en las mieles de *M. solani* permite detectar una diferencia significativa en la composición de este azúcar para ambas especies.

La AAT, el contenido de flavonoides y de polifenoles fueron significativamente mayores en las mieles de *M. beecheii* que en las mieles de *M. solani*. Sin embargo, la gran variación en los valores de acidez libre, color, conductividad eléctrica, flavonoides, polifenoles y en los azúcares de las muestras de *M. beecheii* permite suponer diferentes orígenes botánicos. Esto, sumado a que sólo se analizaron dos muestras de mieles de *M. solani*, impide atribuir las diferencias en el contenido de sacarosa, flavonoides y de polifenoles sólo a las especies de *Melipona*.

Se encontraron correlaciones significativas entre el color ( $r = 0,844$ ,  $p = 0,01$ ), el contenido de polifenoles ( $r = 0,580$ ,  $p = 0,05$ ) y el contenido de flavonoides ( $r = 0,525$ ,  $p = 0,05$ ), con la actividad antioxidante de las mieles de *M. beecheii* y *M. solani*. En la Tabla 1 puede apreciarse que los valores de AAT fueron mayores en las mieles de *M. beecheii* que en las mieles de *M. solani*, al igual que el color, el contenido de flavonoides y de polifenoles. La AAT resultó baja para la miel de *M. beecheii* y muy baja para *M. solani*, según el sistema de clasificación sugerido para miel de abejas [25]. El contenido de flavonoides de estas mieles fue menor que en la miel australiana de *Trigona carbonaria* [26] y que en las mieles checas de *A. mellifera* [25]. El contenido promedio de polifenoles en mg EAG/100 g (68,66-107,35) fue intermedio entre las mieles de *T. carbonaria* (55,74) y las mieles checas (116,55 -126,78).

El color también se correlacionó positivamente con la conductividad eléctrica ( $r = 0,984$ ,  $p = 0,01$ ). Las mieles de *M. beecheii* fueron más oscuras que

las mieles de *M. solani*; sin embargo, la diferencia de conductividad eléctrica no fue estadísticamente significativa entre las especies.

La baja actividad de la diastasa, inferior al límite mínimo  $< 3$  indicado para algunas mieles de *A. mellifera* [12], confirma esta cualidad encontrada previamente en mieles de otras especies de abejas sin aguijón [14,26,27].

No es muy alentador saber que existen 391 especies de abejas sin aguijón neotropicales [28], porque aumenta la complejidad para la propuesta de normas de calidad de sus mieles. Sus diferentes formas de vida y de aprovechamiento de los recursos originan una gran variabilidad en las mieles producidas por las diversas especies. En este trabajo pueden apreciarse las similitudes y las diferencias en los parámetros de composición de mieles evaluados entre dos especies de *Melipona*. Es así como se contribuye a una gran base de datos, cuyo análisis permitirá separar los grupos de abejas más importantes según diversos criterios, entre los cuales puede mencionarse la frecuencia de su manejo, la producción de miel y sus propiedades medicinales. En la revisión de Souza y col. [14] se pudieron considerar las mieles producidas por cuatro especies de *Melipona* (*M. asilvai*, *M. compressipes*, *M. favosa* y *M. mandacaia*), y se espera que este número siga creciendo.

Las mieles de *M. beecheii* y de *M. solani* presentaron características similares a otras especies del género *Melipona*, en cuanto a mayor humedad y menor actividad de diastasa que en las mieles de *A. mellifera*. Sin embargo, la acidez no fue tan elevada y la miel de *M. beecheii* fue más rica en maltosa, AAT, flavonoides y polifenoles, que la miel de *M. solani*. Además de la especie de *Melipona*, estas diferencias podrían atribuirse también a las plantas visitadas para producir la miel. Asteraceae y Melastomataceae fueron las familias más abundantes en la melisopolinología de mieles de abejas sin aguijón de Guatemala, resaltándose menor diversidad en el aprovechamiento de recursos florales por abejas del género *Melipona* que por *Tetragonisca* [29].

## AGRADECIMIENTO

Las abejas fueron identificadas por el Dr. Ricardo Ayala del Instituto de Biología de la UNAM, México. A la Dirección General de Investigación (DIGI) de la USAC por el apoyo para el estudio de la miel de las abejas nativas de Guatemala. A los meliponicultores que permitieron recolectar estas mieles: Bonifacio R, del Cid R, Morales V, Herman C y Chub M. Al CDCHT-ULA, CVI-ADG-04-97 por el financiamiento recibido.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Crane E. The past and present status of beekeeping with stingless bees. *Bee World*. 1992; 73(1): 29-42.
- [2] Rivero Oramas R. Abejas criollas sin aguijón. Caracas, Venezuela: Monte Ávila Editores, Colección Científica; 1972. 110 pp.
- [3] Enríquez E, Yurrita C, Aldana C, Ocheita J, Jáuregui R, Chau P. Desarrollo de la crianza de abejas nativas sin aguijón (meliponicultura). *Agricultura*. 2004; VII(68): 27-30.
- [4] Nogueira-Neto P. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo, Brasil: Editora Nogueirapis; 1997 p. 446.
- [5] Sommeijer M. Beekeeping with stingless bees: A new type of hive. *Bee World*. 1999; 90(2): 70-79.
- [6] Schwarz HF. The genus *Melipona*. The type genus of the Meliponidae or stingless bees. *Bull Am Mus Nat Hist*. 1932; 63: 1-460.
- [7] Camargo JMF. Biogeografía histórica dos Meliponini (Hymenoptera, Apidae, Apinae) da região Neotropical. En: Vit P, Ed. Abejas sin Aguijón y valorización sensorial de su miel. Mérida, Venezuela: APIBA, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, DIGECEX, ULA; 2008. pp. 13-26.
- [8] Yurrita CL, Enríquez E, Monroy C, Marroquín A. Study of stingless bee diversity in Guatemala. *Proceedings of the 8<sup>th</sup> IBRA International Conference on Tropical Bees 2004*; 402-408.
- [9] Vit P, Medina M, Enríquez E. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World*. 2004; 85: 2-5.
- [10] Vit P, Carvalho CAL, Enríquez E, González I, Moreno E, Roubik DW, Villas-Bôas JK. Descripción sensorial de mieles de abejas sin aguijón de Argentina, Australia, Brasil, Guatemala y Venezuela. En: Vit P, Ed. Abejas sin aguijón y valorización sensorial de su miel. Mérida, Venezuela: APIBA, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, DIGECEX, ULA; 2008 pp. 102-117.
- [11] COVENIN. Miel de Abejas. Comisión Venezolana de Normas Industriales COVENIN 2194-84. Caracas, Venezuela: Fondonorma; 1984. 5 pp.
- [12] Codex Alimentarius Commission: Codex standard 12-1981, Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods. Rome: FAO/WHO. 2001; 7 pp.
- [13] Norma Salvadoreña. Miel de Abejas. Especificaciones. NSO 67.19.01:03. San Salvador: CONACYT; 2003. 11 pp.
- [14] Souza BA, Roubik DW, Barth OM, Heard T, Enríquez E, Carvalho CAL, Villas JB, Marchini L, Locatelli J, Persano-Oddo L, Almeida LM, Bogdanov S, Vit P. Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. *Interciencia*. 2006; 31(12): 867-875.
- [15] Bogdanov S, Martin P, Lüllmann C. Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*. 1997; Extra issue.
- [16] Chataway HD. Determination of moisture in honey. *Can J Res*. 1932; 6: 532-547.
- [17] Color Instruction Manual. C221 Honey Color Analyzer. Woonsocket, Rhode Island: Hanna Instruments, Inc.
- [18] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med*. 1999; 26(9/10): 1231-1237.
- [19] Woisky R, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Apic Res*. 1998; 37: 99-105.
- [20] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymol*. 1999; 299: 152-178.
- [21] SPSS for Windows. Base system user's guide, release 12.0. Chicago, USA: SPSS Inc.
- [22] Vit P, Persano Oddo L, Marano ML, Salas De Mejias EM: Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie*. 1998; 29(5): 377-389.
- [23] Vit P, Bogdanov S, Kilchenman V: Composition of Venezuelan honeys from stingless bees and *Apis mellifera* L. *Apidologie*. 1994; 25(3): 278-288.
- [24] Vit P, Fernández-Maeso MC, Ortiz-Valbuena A. Potential use of the three frequently occurring sugars in honey to predict stingless bee entomological origin. *J Appl Entomol*. 1998b; 122: 5-8.
- [25] Vit P, Gutiérrez MG, Titera D, Bednar M, Rodríguez-Malaver AJ. Mieles checas categorizadas según su actividad antioxidante. *Acta Bioquim Clin Latinoam*. 2008; 42(2): 237-244.
- [26] Persano Oddo L, Heard TA, Rodríguez-Malaver A, Pérez RA, Fernández-Muiño M, Sancho MT, Sesta G, Lusco L, Vit P. Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. *J Med Food*. 2008; 11(4): 789-794.
- [27] Vit P, Pulcini P. Diastase and invertase activities in Meliponini and Trigonini honeys from Venezuela. *J Apic Res*. 1996; 35(2): 57-62.
- [28] Camargo JMF, Pedro SM: Meliponini Lepeletier 1836. In: Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region. (Moure JS, Urban D, Melo GAR, Orgs. Curitiba, Brasil: Sociedade Brasileira de Entomologia; 2007, pp. 272-578.
- [29] Dardón MJ, Enríquez E. Caracterización físicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. *Interciencia*. 2008; 33: 916-922.