



INFORME TECNICO FINAL

Nombre del proyecto	Nanoencapsulación de polen apícola para el desarrollo de súper alimentos
Código del proyecto	PYT-2018-0315
Informe final	
Período informado (considerar todo el período de ejecución)	desde el 01/03/2018 hasta el 31/08/2021
Fecha de entrega	15/09/2021 Corregido 28/10/2021

Nombre coordinador	Raquel Bridi
Firma	

INSTRUCCIONES PARA CONTESTAR Y PRESENTAR EL INFORME

- Todas las secciones del informe deben ser contestadas, utilizando caracteres tipo Arial, tamaño 11.
- Sobre la información presentada en el informe:
 - Debe dar cuenta de todas las actividades realizadas en el marco del proyecto, considerando todo el período de ejecución, incluyendo los resultados finales logrados del proyecto; la metodología utilizada y las modificaciones que se le introdujeron; y el uso y situación presente de los recursos utilizados, especialmente de aquellos provistos por FIA.
 - Debe estar basada en la última versión del Plan Operativo aprobada por FIA.
 - Debe ser resumida y precisa. Si bien no se establecen números de caracteres por sección, no debe incluirse información en exceso, sino solo aquella información que realmente aporte a lo que se solicita informar.
 - Debe ser totalmente consistente en las distintas secciones y se deben evitar repeticiones entre ellas.
 - Debe estar directamente vinculada a la información presentada en el informe financiero final y ser totalmente consistente con ella.
- Sobre los anexos del informe:
 - Deben incluir toda la información que complemente y/o respalde la información presentada en el informe, especialmente a nivel de los resultados alcanzados.
 - Se deben incluir materiales de difusión, como diapositivas, publicaciones, manuales, folletos, fichas técnicas, entre otros.
 - También se deben incluir cuadros, gráficos y fotografías, pero presentando una descripción y/o conclusiones de los elementos señalados, lo cual facilite la interpretación de la información.
- Sobre la presentación a FIA del informe:
 - Se deben entregar tres copias iguales, dos en papel y una digital en formato Word (CD o pendrive).
 - La fecha de presentación debe ser la establecida en el Plan Operativo del proyecto, en la sección detalle administrativo. El retraso en la fecha de presentación del informe generará una multa por cada día hábil de atraso equivalente al 0,2% del último aporte cancelado.
 - Debe entregarse en las oficinas de FIA, personalmente o por correo. En este último caso, la fecha válida es la de ingreso a FIA, no la fecha de envío de la correspondencia.
- El FIA se reserva el derecho de publicar una versión del Informe Final editada especialmente para estos efectos.

CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES GENERALES	4
2.	EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO	4
3.	RESUMEN EJECUTIVO	5
4.	OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO.....	8
5.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE).....	8
6.	RESULTADOS ESPERADOS (RE).....	9
7.	CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO.....	24
8.	ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO.....	27
9.	POTENCIAL IMPACTO.....	28
10.	CAMBIOS EN EL ENTORNO.....	28
11.	DIFUSIÓN.....	30
12.	PRODUCTORES PARTICIPANTES	32
13.	CONSIDERACIONES GENERALES.....	33
14.	CONCLUSIONES	35
15.	RECOMENDACIONES	35
16.	ANEXOS.....	36
17.	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.....	¡Error! Marcador no definido.

1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Pontificia Universidad Católica de Chile
Nombre(s) Asociado(s):	Andes Nutraclinic Badani y Guevera LTDA Raúl Antonio Rojas Canales
Coordinador del Proyecto:	Raquel Bridi
Regiones de ejecución:	Metropolitana
Fecha de inicio iniciativa:	01/03/2018
Fecha término Iniciativa:	31/08/2021

2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

Costo total del proyecto	
Aporte total FIA	
Aporte Contraparte	Pecuniario
	No Pecuniario
	Total

Acumulados a la Fecha	
Aportes FIA del proyecto	
1. Total de aportes FIA entregados	
Total de aportes FIA gastados	
2. Saldo real disponible (Nº1 – Nº2) de aportes FIA	
Aportes Contraparte del proyecto	
1. Aportes Contraparte programado	Pecuniario
	No Pecuniario
2. Total de aportes Contraparte gastados	Pecuniario
	No Pecuniario
3. Saldo real disponible (Nº1 – Nº2) de aportes Contraparte	Pecuniario
	No Pecuniario

3. RESUMEN EJECUTIVO

3.1 Resumen del período no informado

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante el período comprendido entre el último informe técnico de avance y el informe final. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Se realizó el modelo *in vitro* células MDCK que predicen la permeabilidad de moléculas activas *in vivo*. El estudio de permeabilidad comparativa de formulaciones demostró que la quercetina, principal marcador del extracto de polen apícola, en el extracto etanólico libre posee un promedio de permeabilidad aparente de 9,28 cm/s, y cuando es encapsulado en nanoemulsiones triples de polen apícola ese valor es de 19,1 cm/s, un aumento de 100% en la permeabilidad. La permeabilidad en condiciones fisiológicas es uno de los parámetros más importante el proceso de absorción de un fármaco o compuestos activos administrados oralmente.

Selección del prototipo de nanocápsulas diseñadas específicamente para la vehiculización de polifenoles de polen apícola para su administración oral: Los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto, sean ellos: tasa de incorporación de activos, aumento de la estabilidad de los compuestos activos, aumento de la actividad antioxidante, aumento de la actividad antibacteriana y aumento de la permeabilidad (absorción) medida por el método PAMPA y células MDCK permiten indicar que el nanosistema diseñado y desarrollado a partir de nanoemulsiones triples (agua/aceite/agua), elaboradas mediante el método emulsificación en dos fases que contiene en su composición extracto de polen (mL), Lauroglicol® 90(mg), Quitosano HCl (mg) y Pluronic F68® (mg) es el mejor prototipo para para incorporación de compuestos fenólicos provenientes de polen apícola de especies nativas y cultivadas chilenas, el cual puede ser utilizado como ingrediente funcional en productos alimentarios como lácteos, bebidas y mieles.

3.2 Resumen del proyecto

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante todo el período de ejecución del proyecto. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Obtención del polen apícola

Se obtuvieron un total de 109 muestras de polen apícola. Fueron 69 muestras de la zona Central, 19 de la zona Sur y 21 de la zona Norte. Todas las muestras están debidamente codificadas según el nombre del productor, origen geográfico, fecha de cosecha, fecha de ingreso al laboratorio y se encuentran almacenadas en el Laboratorio Botánico de la Pontificia Universidad Católica de Chile bajo refrigeración. Destacamos que si bien el número total de muestras analizadas es muy superior al estimado en el plan operativo (un total de 75 muestras), las zonas Sur y Norte fueron muy afectadas por problemas climatológicos en los últimos 2 años lo que llevó a una baja producción para la apicultura, principalmente en la colecta de polen apícola. Esto llevó a que el total de muestras para esas zonas fuese menor que el estimado (25 muestras por zona).

Determinación del origen botánico

La determinación del origen botánico utilizando el método palinológico fue realizada para las 109 muestras. Se ha verificado que las especies florales encontradas en las muestras están

estrechamente relacionadas con la ubicación geográfica de las colmenas. La mayor parte de las muestras analizadas son provenientes de especies botánicas introducidas, o sea no nativas. Entre las muestras analizadas en la zona norte predomina la especie nativa *Schinus latifolius* (molle) y *Taraxacum officinale*, no nativa predomina *Brassica rapa* (yuyo); en la zona central las especies nativas *Colliguaja odorifera* (colliguay) y *Cryptocarya alba* (peumo) y no nativas *Brassica rapa* y *Eschscholzia californica* y en la zona sur las nativas *Tepualia stipularis* (tepú) y *Buddleja globosa* (matico) y no nativa *Brassica rapa*.

Caracterización química del extracto de polen apícola.

Para las 109 muestras identificadas botánicamente se obtuvieron extractos utilizando el método de extracción asistida por ultrasonido. El contenido de fenoles totales de los extractos obtenidos fue determinado a través del método de Folin-Ciocalteu según Singleton et al. [*Methods in Enzymology* 1999; 299: 152-178] y de flavonoides utilizando la técnica de $AlCl_3$ desarrollada por Woisky y Salatino [*Journal of Apicultural Research*, 1998; 37(2): 99-105]. 109 muestras analizadas en cuanto al contenido fenólico siendo 69 de la zona Central, 19 de la zona sur y 21 de la zona Norte. Doce muestras presentan más de **12 mg ácido gálico /g polen** de polifenoles y más de **3 mg quercetina /g polen** de flavonoides (6 zona sur, 2 zona central, 4 zona norte). Considerando lo expuesto el porcentaje de avance fue de 100%. El promedio de fenoles totales de las muestras fue 835 mg ácido gálico/ 100g polen, con un máximo de 2222 y un mínimo de 102 mg ácido gálico/ 100g polen. El promedio de flavonoides de las muestras analizadas fue 242 mg quercetina/ 100g polen, con un máximo de 789 y un mínimo de 63 mg quercetina/ g polen.

Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC-DAD).

Se completaron los estudios en HPLC de las 109 muestras. Los compuestos más frecuentemente encontrados en estas muestras fueron el ácido abscísico, ácido siríngico ácido cumárico y los flavonoides quercetina, apigenina y miricetina. Los extractos presentaron un alto contenido de quercetina y miricetina. Quercetina fue elegido como el marcador más indicado para el análisis de calidad del polen apícola nacional.

Capacidad antioxidante de polen apícola.

Fueron analizadas 109 muestras de polen apícola en cuanto a su capacidad antioxidante a través de los métodos ORAC-fluoresceína (FL) y FRAP. Quince muestras contienen capacidad antioxidante que cumple la meta del indicador (6 zona central, 5 zona sur y 4 zona norte). Considerando lo expuesto el % de avance fue 100%. El promedio de ORAC-FL de las muestras analizadas fue de 306 μ moles Trolox/g polen, con un máximo de 785 y un mínimo de 65 μ moles Trolox/g polen. Más de la mitad de las muestras analizadas contenían más de 302 μ moles Trolox/g polen. El promedio de la medida de FRAP de las muestras analizadas fue 74 μ moles Trolox/g polen, con un máximo de 195 y un mínimo de 20 μ moles Trolox/g polen.

Actividad antibacteriana de polen apícola frente a bacterias patógenas.

Fueron realizados los métodos de difusión en agar y la mínima concentración inhibitoria (MIC) determinada por la técnica de micro dilución. Las bacterias patógenas de importancia humana utilizadas en este estudio fueron *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Fueron analizadas 109 muestras y la gran mayoría (80%) demostró actividad frente a *S. pyogenes*. Promedio del halo de inhibición obtenido fue de 11 mm. La MIC de los extractos varió entre 0,39 a 12,5 mg/mL.

Método de encapsulación.

Se diseñó y desarrolló 2 nanosistemas:

NANOCAPSULAS: Eficiencia de encapsulación mayor a 70% en todos los sistemas (4 tipos) y en el sistema CS-HCL/Vit E incorporación superior a 85% (marcador miricetina). Todos los sistemas se presentan estables y homogéneos.

NANOEMULSIONES: se diseñó y desarrolló un nuevo nanosistema: nanoemulsiones triples (agua/aceite/agua), elaboradas mediante el método emulsificación en dos fases. Estas nuevas formulaciones presentan tamaño nanométrico, una población homogénea en tamaño y elevado

potencial zeta. El grado de encapsulación de polen cuantificado a través de HPLC-DAD fue superior al 85% para los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina. En cuanto a su estabilidad, esta nanoemulsión demostró ser estable al menos por 4 meses (4°C). La formulación C de nanoemulsiones es el mejor sistema actualmente con un porcentaje de incorporación superior a 95% de quercetina y miricetina, cumpliendo la meta del indicador.

Efecto antibacteriano y antioxidante de productos encapsulados versus las matrices no encapsuladas.

Nanoemulsiones triples encapsulando polen apícola presentan más del doble de la actividad antioxidante (120%) y un 50% más de actividad antimicrobiana cuando se compara con el extracto de polen apícola no encapsulado. Las nanocápsulas poliméricas NCs CMC destruidas presentan casi el doble de la actividad antioxidante (85 % de aumento) y no aumentan la actividad antibacteriana del polen.

Estabilidad de productos encapsulados versus las matrices no encapsuladas.

Se ha cuantificado la estabilidad de nanoemulsiones triples a través de la conservación de los marcadores polifenólicos (quercetina) luego de almacenado el nanosistema utilizando HPLC-DAD y de la mantención de su actividad antioxidante a través de ORAC-FI. El estudio por HPLC de nanoemulsiones triples a los 4 meses demostró que no hay pérdida de los polifenoles encapsulados (marcador quercetina) en la nanoemulsión múltiple diseñada. La capacidad antioxidante del extracto sin encapsular al mes de ser testeado disminuye un 59,4% y las nanoemulsiones triples solo lo hacen en un 23,1%. Respecto a la liofilización de las nanoemulsiones se observa que los mejores crioprotectores fueron sacarosa y glucosa al 10%, observándose similares cantidades de miricetina y ácido cinámico luego de transcurridos 4 meses de liofilizada la nanoemulsión, independientemente del crioprotector empleado.

Para nanocápsulas, en condiciones de almacenamiento (4°C) no hay pérdida de sus propiedades físicoquímicas por alrededor de 6 meses para CS-HCL/Vit E y para CS-HCL/Vit E CMC fue menor a 1 mes. Respecto a la liofilización de las nanocápsulas, se empleó sacarosa al 10% como crioprotector. Observándose concentraciones similares de los marcadores después de 2 meses de liofilizadas las NC-HCL/Vit E y las NC-HCL/Vit E CMC, indicando que este proceso de secado le otorga estabilidad al polen nanoencapsulado, independientemente si las cápsulas están formuladas con quitosano o carboximetilquitosano.

Medida de la permeabilidad (absorción) - PAMPA

Se tiene el sistema optimizado y puesto en marcha para poder evaluar las permeabilidades del extracto de polen apícola libre y nanoencapsulado. Estas fueron: solución receptora: buffer fosfato salino 10 mM pH 6,8; incubación por 5 horas, a 25°C y sin agitación. La permeabilidad del verapamilo en esas condiciones fue de $8,7 \times 10^{-6}$ cm/s. Esto nos indica que el sistema podrá discriminar entre formulaciones y compuestos de alta y baja permeabilidad. Se encontró que la permeabilidad de los marcadores quercetina y ácido cinámico en el extracto de polen apícola es 0; en el caso de las nanoemulsiones con polen apícola encapsulado es posible observar que tanto quercetina como ácido cinámico tuvieron valores de permeabilidad superiores a $0,9 \times 10^{-6}$ cm/s. Con estos resultados se pudo estimar que los polifenoles del polen estudiados, que se encuentran encapsulados en nanoemulsiones triples de polen apícola tendrán una absorción mayor al 70% in vivo. Para el caso de las nanocápsulas, ninguno de los marcadores empleados: quercetina y ácido cinámico provenientes del polen nanoencapsulado fueron posibles de cuantificar. Por ello, las nanocápsulas no potenciaron la absorción de estos compuestos.

Modelo *in vitro* células MDCK

El estudio de permeabilidad comparativa de formulaciones demostró que la quercetina, principal marcador del extracto de polen apícola, en el extracto etanólico libre pose un promedio de permeabilidad aparente de 9,28 cm/s y cuando encapsulado en nanoemulsiones triples de polen apícola ese valor es de 19,1 cm/s, un aumento de 100% en la permeabilidad. La permeabilidad en condiciones fisiológicas es uno de los parámetros más importante el proceso de absorción de un fármaco o compuestos activos administrados oralmente.

4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Desarrollar un ingrediente funcional antioxidante para productos alimenticios en base a polen apícola chileno mediante el desarrollo de un sistema nanocapsular que genere ingredientes estables y biodisponibles.
--

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE)

5.1 Porcentaje de Avance

El porcentaje de avance de cada objetivo específico se calcula luego de determinar el grado de avance de los resultados asociados a éstos. El cumplimiento de un 100% de un objetivo específico se logra cuando el 100% de los resultados asociados son alcanzados.

Nº OE	Descripción del OE	% de avance a la fecha
1	Obtener, tipificar y caracterizar según composición química diferentes muestras de polen apícola chileno producido a partir de especies nativas y cultivadas y evaluar la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana de las muestras seleccionadas frente a bacterias patogénicas de importancia humana.	100 %
2	Encapsular las matrices seleccionadas, determinar las características física-químicas de los productos obtenidos y la eficiencia de la encapsulación	100 %
3	Evaluar el efecto antibacteriano, antioxidante y estabilidad de productos encapsulados <i>versus</i> las matrices no encapsuladas	100 %
4	Evaluar la eficiencia del modelo nanocapsular utilizando el modelo <i>in vitro</i> PAMPA el cual simula absorción gastrointestinal y sirve de predictor de un comportamiento <i>in vivo</i> y el modelo <i>in vitro</i> células CaCo2 que predicen la permeabilidad de moléculas activas <i>in vivo</i> .	100 %
5	Seleccionar el prototipo de nanocápsulas diseñadas específicamente para la vehiculización de polifenoles de polen apícola para su administración oral.	100 %

6. RESULTADOS ESPERADOS (RE)

Para cada resultado esperado debe completar la descripción del cumplimiento y la documentación de respaldo.

6.1 Cuantificación del avance de los RE al término del proyecto

El porcentaje de cumplimiento es el porcentaje de avance del resultado en relación con la línea base y la meta planteada. Se determina en función de los valores obtenidos en las mediciones realizadas para cada indicador de resultado.

El porcentaje de avance de un resultado no se define según el grado de avance que han tenido las actividades asociadas éste. Acorde a esta lógica, se puede realizar por completo una actividad sin lograr el resultado esperado que fue especificado en el Plan Operativo. En otros casos se puede estar en la mitad de la actividad y ya haber logrado el 100% del resultado esperado.

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado ¹ (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador ²	Fórmula de cálculo ³	Línea base ⁴	Meta del indicador ⁵ (situación final)	Fecha alcance meta programada ⁶	Fecha alcance meta real ⁷	
1	1	Polen apícola (nativo o cultivado) muestreado en las 3 zonas del estudio (mínimo de 25 muestras de cada zona, siendo 3 zonas en el total)	Número de muestras analizadas que permitan la creación de base de datos con las características botánicas y geográficas del polen apícola de las zonas estudiadas	Número de muestras obtenidas en cada zona	Muestras de polen apícola de la Zona Norte, Centro y Sur del país, producidos a partir de especies nativas y cultivadas	Creación de base de datos con ubicación de las colmena, características geográficas y de vegetación del entorno del apiario	11/2019	11/2019	100%

¹ Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

² Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

³ Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

⁴ Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

⁵ Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

⁶ Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

⁷ Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.
El proyecto consideró un muestreo de polen de la zona norte, central y sur de Chile, estimando un mínimo de 25 muestras de cada zona. Sin embargo, se recolectaron: 69 muestras de la zona Central, 19 muestras de la zona Sur y 21 muestras de la zona Norte (Zona Central: 100%; Zona Sur: 100%; Zona Norte: 100%). Destacamos que si bien el número total de muestras analizadas es muy superior a lo estimado en el plan operativo, las zonas Sur y Norte fueron muy afectadas por problemas climatológicos en los últimos 2 años lo que llevo a una baja producción para la apicultura, principalmente en la colecta de polen apícola. Eso llevo que el total de muestras para esas zonas fue menor que el estimado. Estado actual: Se identificaron 109 muestras (nombre del productor, localización geográfica, fecha de cosecha y fecha de ingreso al laboratorio). La determinación del origen botánico se realizó para las 109 muestras obtenidas usando el método de análisis palinológico descrito en la Norma Chilena (NCh3255, 2011). Las especies florales encontradas en las muestras están estrechamente relacionadas con la ubicación geográfica de las colmenas. La mayor parte de las muestras son provenientes de especies botánicas introducidas, o sea no nativas. Entre las muestras en la zona norte predomina la especie nativa <i>Schinus latifolius</i> (molle) y <i>Taraxacum officinale</i>, no nativa predomina <i>Brassica rapa</i> (yuyo); en la zona central las especies nativas <i>Colliguaja odorifera</i> (colliguay) y <i>Cryptocarya alba</i> (peumo) y no nativas <i>Brassica rapa</i> y <i>Eschscholzia californica</i> y en la zona sur las nativas <i>Tepualia stipularis</i> (tepú) y <i>Buddleja globosa</i> (matico) y no nativa <i>Brassica rapa</i>.
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)
Anexo 2: 2.1 Identificación de las muestras - localidad 2.2 Identificación botánica

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
1	2	Muestras de polen apícola chileno con alto contenido de polifenoles	Los polifenoles y flavonoides serán cuantificados y expresados en mg ácido gálico (AG)/g polen y mg quercetina (QE)/g polen, respectivamente	Numero de muestras con alto contenido de polifenoles	Muestras de polen apícola con aprox 10mg galico/g polen de polifenoles y 0,2 mg quercetina/g polen de flavonoides	Al menos 1 muestra de polen por zona presente cantidades sobre 12 mg AG/g polen de polifenoles y 3 mg QE/g polen de flavonoides	11/2019	11/2019	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.									
El proyecto considera la cuantificación del contenido de fenoles totales (FT) a través del método de Folin-Ciocalteu con resultados expresados en mg ácido gálico/g polen y de flavonoides utilizando la técnica de AlCl₃ con resultados mg quercetina/g polen. Estado Actual: de total de las 109 muestras analizadas en cuanto al contenido fenólico, (siendo 69 de la zona Central, 19 de la zona sur y 21 de la zona Norte), doce muestras presentan más 12 mg AG/g polen de polifenoles y más de 3 mg QE/g polen de flavonoides (6 zona sur, 2 zona central, 4 zona norte). Considerando lo expuesto el % de avance fue 100%. El promedio de fenoles totales de las muestras fue 835 mg ácido gálico/ 100g polen, con un máximo de 2222 y un mínimo de 102 mg ácido gálico/ 100g polen. El promedio de flavonoides de las muestras analizadas fue 242 mg quercetina / 100g polen, con un máximo de 789 y un mínimo de 63 mg quercetina/g polen. Identificación y cuantificación por HPLC-DAD. Las 109 muestras fueron analizadas por HPLC-DAD. Los compuestos más frecuentemente encontrados en estas muestras fueron los ácidos abscísico, ácido síringico, ácido cumárico y los flavonoides quercetina, apigenina y miricetina. La quercetina fue definida como marcador para análisis de calidad del polen apícola nacional.									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)									
Anexo 3 3.1 Contenido de fenoles y flavonoides 3.2 Contenido de polifenoles derivados del ácido cinámico en polen apícola. Los resultados están expresados en mg de polifenol en 100 gr de polen. 3.3 Contenido de flavonoides en polen apícola. Los resultados están expresados en mg de polifenol en 100 gr de polen.									

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
1	3	Muestras de polen apícola chileno con capacidad antioxidante	La capacidad antioxidante expresada en μM Trolox (TE)/g polen utilizando el método de ORAC y FRAP	Muestras de polen apícola chileno con capacidad antioxidante	Muestras de polen apícola con una capacidad antioxidante de aprox 60uM de Trolox/g polen	Al menos 1 muestra de polen por zona presente capacidad antioxidante superior a 100uM Trolox/g polen	11/2019	11/2019	100%

Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.

El proyecto considera la medida de la capacidad antioxidante **del polen apícola a través de dos metodologías**, la metodología ORAC (del inglés *Oxygen Radical Absorbance Capacity*) y el ensayo CRHF (Capacidad para Reducir el Hierro Férrico), conocido en inglés como FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

Estado actual: Fueron analizadas 109 muestras de polen apícola, 15 de ellas contienen capacidad antioxidante que cumple la meta del indicador (6 zona central, 5 zona sur y 4 zona norte. Considerando lo expuesto el % de avance fue 100 %. El promedio de ORAC-FL de las muestras analizadas fue de 306 μmoles Trolox/g polen, con un máximo de 785 y un mínimo de 65 μmoles Trolox/g polen. Más de la mitad de las muestras analizadas contenían más de 302 μmoles Trolox/g polen. El promedio de la medida de FRAP de las muestras analizadas fue 74 μmoles Trolox/g polen, con un máximo de 195 y un mínimo de 20 μmoles Trolox/g polen.

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)

Anexo 4

4.1 Tabla con valores de FRAP y ORAC.

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
1	4	Muestras de polen actividad antibacteriana frente a por lo menos una bacteria patógena	Actividad antibacteriana por los métodos de difusión en agar (mm) y antibiogramas (concentración mínima inhibitoria)	Muestras de polen apícola chileno con capacidad antimicrobiana Halo mayor de 15mm	Muestras de polen chileno con actividad antibacteriana (halo de inhibición de aprox 10mm) frente a por lo menos una bacteria patógena de importancia humana	Muestras de polen apícola con actividad antibacteriana (halo de inhibición mayor que 15mm) frente a por lo menos una bacteria patógena de importancia humana	01/2020	01/2020	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.									
El proyecto consideró el análisis de la actividad antibacteriana de polen apícola frente a bacterias patógenas. Se utilizaron los métodos de difusión en agar y antibiogramas para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC). Las bacterias patógenas de importancia humana utilizadas en este estudio fueron <i>Escherichia coli</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i>. Estado actual: Fueron analizadas 109 muestras y la gran mayoría (80%) demostraron actividad frente a <i>S. pyogenes</i>. El promedio del halo de inhibición obtenido fue de 11 mm. La MIC de los extractos varió entre 0,39 a 12,5 mg/mL. Diez muestras con halo mayor a 15mm fueron de la zona Central, cinco de la zona Sur y una de la Zona Norte.									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)									
Anexo 5 5.1 Tabla con actividad antibacteriana 5.2 Tabla resumen									

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
2	2	Definir el mejor método de nanoencapsulación a través de parámetros físicos	Eficiencia de la encapsulación utilizando HPLC-expresa en % de encapsulación de un compuesto o marcador. Estructuras nanométricas homogéneas y estables determinada por diámetro hidrodinámico por dispersión de la luz (mm) y carga superficial a través de anemometría laser doppler (potencia 1 mV)	Eficiencia de la encapsulación utilizando HPLC. Estructuras nanométricas homogéneas y estables	Eficiencia de encapsulación de por lo menos 70% en relación al compuesto marcador Estructuras nanométricas y homogéneas	Eficiencia de encapsulación mayor de 85%. en relación al compuesto marcador	02/2020	02/2020	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.									

Se desarrollaron 4 tipos de nano cápsulas con diferentes núcleos oleosos y cubiertas poliméricas. La incorporación del polen apícola no hace perder el tamaño nanométrico de las formulaciones diseñadas previamente; además siguen siendo formulaciones de una sola población de partículas y con una adecuada carga superficial o potencial zeta. El porcentaje de incorporación de los compuestos fenólicos a las nanoformulaciones fue cuantificado a través de HPLC-DAD. Se escogieron dos marcadores: quercetina y miricetina, ya que ambos fenoles estaban presentes en gran cantidad en el extracto de polen apícola entregado.

La Eficiencia de encapsulación fue mayor de 70% en todos sistemas y en el sistema CS-HCL/Vit E, tuvo una incorporación superior a 85% (marcador miricetina). Todos sistemas se presentan estables y homogéneos.

Además de los 4 tipos de nanocápsulas indicados previamente, se diseñó y desarrolló un nuevo nanosistema: nanoemulsiones triples (agua/aceite/agua), elaboradas mediante el método emulsificación en dos fases. Estas nuevas formulaciones presentan tamaño nanométrico, una población homogénea en tamaño y elevado potencial zeta. El grado de encapsulación de polen cuantificado a través de HPLC-DAD fue superior al 85% para los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina. En cuanto a su estabilidad, ésta nanoemulsión demostró ser estable al menos por 4 meses (4°C).

Estado actual: Eficiencia de encapsulación mayor de 70 % en todos los sistemas desarrollados

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)

Anexo 6: Nanosistemas diseñados y su caracterización físico química

6.1 Representación gráfica de la nanoemulsión triple (agua/aceite/agua)

6.2 Caracterización fisicoquímica de las nanoemulsiones triples y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

6.3 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica y de barrido (STEM) de nanoemulsiones triples

6.4 Representación gráfica de las nanocápsulas

6.5 Composición y caracterización fisicoquímica de las nanocápsulas y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

6.6 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica y de barrido (STEM) de nanocápsulas

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
3	3	Definir el mejor método de nanoencapsulación a través de parámetros físicos	Eficiencia de la encapsulación utilizando HPLC-expresa en % de encapsulación de un compuesto marcador. Estructuras nanométricas homogéneas y estables determinada por diámetro hidrodinámico por dispersión de la luz (mm) y carga superficial a través de anemometría laser doppler (potencia 1 mV)	Eficiencia de la encapsulación utilizando HPLC. Estructuras nanométricas homogéneas y estables	Capacidad antioxidante y antibiótica de los productos encapsulados aumenta en 10% en relación a las matrices no encapsuladas	Capacidad antioxidante y antibiótica de los productos encapsulados aumenta en más de 20% en relación a las matrices no encapsuladas	01/2021	01/2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.									

Se evaluaron 2 tipos de nanosistemas (nanocápsulas y nanoemulsiones triples), cada nanosistema se consideró 50% del indicador. Para las nanoemulsiones triples desarrolladas se puede observar un aumento considerable de la actividad antioxidante y la actividad antimicrobiana cuando esta es comparada con la misma concentración del polen libre. Para las nanocápsulas el aumento en la capacidad antioxidante fue dependiente de la formulación y no se observó un aumento en la actividad antimicrobiana.

Estado actual: Nanoemulsiones triples encapsulando polen apícola presentan más del doble de la actividad antioxidante (120%) y un 50% más de actividad antimicrobiana cuando se compara con el extracto de polen apícola no encapsulado. Las nanocápsulas poliméricas NCs CMC destruidas presentan casi el doble de la actividad antioxidante (85 % de aumento) y no aumentan la actividad antibacteriana del polen.

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)

Anexo 7

7.1 Capacidad antioxidante de nanoemulsiones múltiples a tiempo cero.

7.2 Ensayos exploratorios de screening en 4 bacterias de interés.

7.3 Ensayo de difusión en agar y micro diluciones seriadas en microorganismo *S. pyogenes*

7.4 Capacidad antioxidante de las nanocápsulas a tiempo cero

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
3	3	Conocer estabilidad de los productos encapsulados comparados con matrices no encapsuladas	Estabilidad medida en concentración del marcador (quercetina) (mg/g polen por HPLC-DAD) entre los nanoencapsulados y no encapsulados	Concentración del marcador (mg/g polen por HPLC-DAD) en los encapsulados y no encapsulados	Aumento de por lo menos 10% en términos de estabilidad medida en concentración de un compuesto marcador (mg/g polen por HPLC) para los productos nanoencapsulados	Un aumento de por lo menos 20% en términos de estabilidad medida en concentración de un compuesto marcador (mg/g polen por HPLC) para los productos nanoencapsulados	01/2021	01/2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.									
Se cuantificó la estabilidad para las nanoemulsiones triples (50%) y nanocápsulas (50%). La estabilidad se evaluó de tres maneras: a través de la conservación de los marcadores polifenólicos (quercetina) luego de almacenado el nanosistema (16,7%), de la mantención de su actividad antioxidante (16,7%) y de la conservación de marcadores fenólicos luego de la liofilización de los nanosistemas (16,7%). Se ha incluido la liofilización en esta etapa del estudio ya que es sabido que es un proceso que aumenta la estabilidad de nanosistemas. Estado actual: Para nanoemulsiones: El estudio por HPLC de nanoemulsiones triples a los 4 meses mostró que no hay pérdida de los polifenoles encapsulados (marcador quercetina) en la nanoemulsión múltiple diseñada. La capacidad antioxidante del extracto sin encapsular al mes de ser testeado disminuye un 59,4 % y las nanoemulsiones triples solo lo hacen en un 23,1 %. Respecto a la liofilización de las nanoemulsiones se observó que los mejores crioprotectores fueron sacarosa y glucosa al 10 %. Para nanocápsulas no hay pérdida de sus propiedades físico químicas por alrededor de 6 meses para CS-HCL/Vit E y en torno de 1 mes para CS-HCL/Vit E CMC.									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)									

Anexo 8

- 8.1 Estabilidad de compuestos polifenólicos durante 4 meses de almacenamiento
- 8.2 Estabilidad a 30 días de nanoemulsiones múltiples evaluado a través de su capacidad antioxidante.
- 8.3 Estudio de liofilización de nanoemulsiones múltiples
- 8.4 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante mantenimiento de sus propiedades fisicoquímicas.
- 8.5 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante cuantificación de polifenoles
- 8.6 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante actividad antioxidante
- 8.7 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante mantenimiento de sus propiedades fisicoquímicas.
- 8.8 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante cuantificación de polifenoles
- 8.9 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante actividad antioxidante

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	4	Absorción (permeabilidad) de los productos encapsulados mayor que las matrices no encapsuladas en modelo PAMPA	Permeabilidad de los productos nanoencapsulados y no encapsuladas cuantificada en g de polen / cm de área absorbida (g/cm)	Porcentaje de aumento de la de permeabilidad (g/cm)	Productos nanoencapsulados con 10% más de permeabilidad (g/cm) que las matrices no encapsuladas	Productos nanoencapsulados con por lo menos 20% más de permeabilidad (g/cm) que las matrices no encapsuladas	02/2021	02/2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.									
Para el indicador relacionado al método PAMPA, donde se le considera un cumplimiento de 100%, se dividió la evaluación en tres partes (33,3% cada una): (i) Determinar las condiciones experimentales del ensayo, (ii) Estudio del aumento de la permeabilidad del polen apícola encapsulado en nanoemulsiones triples y (iii) Estudio del aumento de la de permeabilidad del polen apícola encapsulado en nanocápsulas. Estado actual: Se encontró que la permeabilidad de los marcadores quercetina y ácido cinámico en el extracto de polen apícola es 0; en el caso de las nanoemulsiones con polen apícola encapsulado es posible observar que tanto quercetina como ácido cinámico tuvieron valores de permeabilidad superiores a $0,9 \times 10^{-6}$ cm/s. Con estos resultados se pudo estimar que los polifenoles del polen estudiados, que se encuentran encapsulados en nanoemulsiones triples de polen apícola tendrán una absorción mayor al 70% in vivo. Para el caso de las nanocápsulas, ninguno de los marcadores empleados: quercetina y ácido cinámico provenientes del polen nanoencapsulado fueron posibles de cuantificar. Por ello, las nanocápsulas no potenciaron la absorción de estos compuestos									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)									
Anexo 9: Evaluar permeabilidad por el método PAMPA 9.1. Permeabilidad de polifenoles incorporados en una nanoemulsión múltiple obtenidas mediante PAMPA. 9.2 Permeabilidad de polifenoles incorporados en una nanocápsula obtenidas mediante PAMPA.									

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	4	Permeabilidad de los productos encapsulados sea mayor que las matrices no encapsuladas utilizando monocapas de células Caco-2	Permeabilidad de los productos nanoencapsulados y no encapsuladas cuantificada en g de polen / cm de área absorbida (cm/s)	Porcentaje de aumento de la de permeabilidad (cm/s)	Productos nanoencapsulados con 10% más de permeabilidad (g/cm) que las matrices no encapsuladas	Productos nanoencapsulados con por lo menos 20% más de permeabilidad (g/cm) que las matrices no encapsuladas	05/2021	05/2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.									
Estado actual: Modelo in vitro células MDCK El estudio de permeabilidad comparativa de formulaciones demostró que la quercetina, principal marcador del extracto de polen apícola, en el extracto etanólico libre posee un promedio de permeabilidad aparente de 9,28 cm/s y cuando encapsulado en nanoemulsiones triples de polen apícola ese valor es de 19,1 cm/s, un aumento de 100% en la permeabilidad. La permeabilidad en condiciones fisiológicas es uno de los parámetros más importante el proceso de absorción de un fármaco o compuestos activos administrados oralmente									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)									
Anexo 10. Estudio de permeabilidad comparativa entre extracto etanólico de polen y nanoemulsión de extracto de polen									

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado ⁸ (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador ⁹	Fórmula de cálculo ¹⁰	Línea base ¹¹	Meta del indicador ¹² (situación final)	Fecha alcance meta programada ¹³	Fecha alcance meta real ¹⁴	
5	5	Prototipo de nanocápsulas diseñadas específicamente para la vehiculización de polifenoles de polen apícola vía oral finalizado	Sistema nanocapsular que genere ingredientes fenólicos estables y biodisponibles concluido	Nº Prototipo de nanocápsulas diseñadas específicamente para la vehiculización de polifenoles de polen apícola vía oral finalizado	0	1 Prototipo de nanocápsulas diseñadas específicamente para la vehiculización de polifenoles de polen apícola vía oral finalizado	08/2021	08/2021	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
Los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto, sean ellos: tasa de incorporación de activos, aumento de la estabilidad de los compuestos activos, aumento de la actividad antioxidante, aumento de la actividad antibacteriana y aumento de la permeabilidad (absorción) medida por el método PAMPA y células MDCK permiten indicar que el nanosistema diseñado y desarrollado a partir de nanoemulsiones triples (agua/aceite/agua) elaboradas mediante el método emulsificación en dos fases que contiene en su composición extracto de polen (mL), Lauroglicol® 90(mg), Quitosano HCl (mg) y Pluronic F68® (mg) es el mejor prototipo para para incorporación de compuestos fenólicos provenientes de polen apícola de especies nativas y cultivadas chilenas, el cual puede ser utilizado como ingrediente funcional en productos alimentarios como lácteos, bebidas y mieles. Prototipo ya patentado PCT/CL2019/050055; 04/07/2019.									
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)									
Anexo 12. Prospección del análisis del mercado									

⁸ Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

⁹ Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

¹⁰ Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

¹¹ Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

¹² Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

¹³ Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

¹⁴ Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

6.2 Análisis de brecha.

Cuando corresponda, justificar las discrepancias entre los resultados programados y los obtenidos.

N/A

7. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO

Especificar los cambios y/o problemas enfrentados durante el desarrollo del proyecto. Se debe considerar aspectos como: conformación del equipo técnico, problemas metodológicos, adaptaciones y/o modificaciones de actividades, cambios de resultados, gestión y administrativos.

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
<u>Cambio en la fecha de adquisición de materiales y equipos:</u> el proyecto fue iniciado en marzo de 2018, pero el traspaso del financiamiento por FIA fue en la segunda quincena de junio.	<u>Retraso en la adquisición del equipo HPLC-DAD.</u> <u>Retraso en la adquisición de materiales,</u> como los estándares de polifenoles para análisis en el HPLC, lo que limitó la identificación / cuantificación de la composición fenólica de las muestras de polen apícola.	<u>Coordinación con el proveedor del equipo de HPLC-DAD (Merck)</u> para la entrega en mayo y pago condicionado al traspaso de dineros desde FIA. <u>Uso de estándares disponibles de otros proyectos,</u> al total 14 estándares. <u>Los estándares no disponibles</u> fueron comprados y recibidos a partir de la segunda quincena de julio y están actualmente en análisis.
<u>Cambio en uno de los métodos para determinar la capacidad antioxidante.</u> El método DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo) fue substituido por el método FRAP (Capacidad para Reducir el Hierro Férrico).	Ambos métodos corresponden a reacciones de transferencia de un electrón (SET), pero la metodología FRAP presenta ventajas como mayor rapidez en la ejecución y menor interferencia de compuestos presentes en las muestras de polen, como los carotenoides.	No corresponde.
<u>Falta de muestras de polen durante temporada 2018/2019</u> La temporada 2018/2019 ha sido de una baja producción para la apicultura. Las cosechas de miel han llegado a un rendimiento que solo es el 20% de lo esperado para un año normal. La escasa floración y baja producción de néctar de especies que sustentan la producción apícola, como el quillay (<i>Quillaja saponaria</i>) y el acacio (<i>Robinia</i>	En el estudio se recolectaron pólenes en la Zona Norte, Central y Sur de Chile. Para la Zona Sur se considerarán las 18 muestras recolectadas como 100% del muestreo de la zona sur de Chile.	Considerar para la Zona Sur 18 muestras como suficiente para la caracterización de pólenes de esta zona.

<i>pseudoacacia</i>) no ha permitido un adecuado desarrollo de las familias de abejas. Asimismo, los apicultores no han puesto como prioridad las cosechas de polen, poniendo énfasis en las cosechas de miel y la supervivencia de las colmenas. Además, las lluvias primaverales y algunas en verano en la región central, no han permitido que los apicultores puedan poner las trampas de colecta de polen, puesto que al humedecerse el polen en las trampas, se echa a perder rápidamente.		
<u>Cambio en la unidad de presentación de los resultados para el método ORAC-FL.</u>	No corresponde.	Cambio en la unidad de los resultados de ORAC-FL para mejor comparación con otros estudios internacionales.
<u>Falta de muestras de polen durante temporada 2019/2020 en la Region Norte</u> La temporada 2018/2019 ha sido de una baja producción para la apicultura, principalmente en la colecta de polen apícola. Anexo 1: carta de apicultor y asociado Leonardo Badani.	Para la Zona Norte se considerarán las 21 muestras recolectadas como 100% del muestreo de la zona norte de Chile.	Considerar para la Zona Norte 21 muestras como suficiente para la caracterización de pólenes de esta zona.
<u>La pandemia causada por la Covid 19</u> que ocurre a nivel mundial afectó fuertemente nuestro proyecto, desde un punto de vista de recursos humanos y de materiales. Nuestros laboratorios estuvieron y aún siguen cerrados por lo que no pudimos seguir avanzando conforme el planificado. Tuvimos pérdidas importantes de materias primas, materiales, cultivos celulares, etc. Además, nuestros asociados	- Pérdida de material, materias primas, cultivos celulares, necesidad de mantenciones en los equipos apagados por largos periodos, etc. - Cambio en el valor del aporte del Asociado AndesNutraclinic. - A pesar de todas adversidades, como somos un equipo de excelencia, fuimos capaces de avanzar (utilizando laboratorios externos) y hasta el momento cumplir con los objetivos programados.	Considerando que la pandemia en Chile ya dura más de 1 año y 3 meses y durante la mayor parte de ese periodo no pudimos acceder nuestros laboratorios extendimos el periodo de ejecución en 6 meses (término agosto 2021). Además, se reconsidero el aporte del asociado AndesNutraclinic por problemas financieros en la empresa.

también fueron afectados por la situación actual, donde la disminución de exportaciones y también de ventas internas afectaron la capacidad de inversión en proyectos o nuevos productos.		
Cambio de tipo de células para estudio de permeabilidad.	Positivas: la línea de células utilizada – MDCK, es una de las líneas más estudiadas en cuanto a su genética, composición lipídica, expresión de proteínas y otros parámetros; siendo utilizada en los últimos años en estudios de transporte de moléculas. A su vez, presenta numerosas ventajas sobre los cultivos de células Caco-2, entre ellas, menores tiempos de cultivo, gran homogeneidad morfológica y resistencia eléctrica transepitelial (TEER) parecida a la del intestino delgado ($\approx 200\text{-}300 \Omega/\text{cm}^2$). [HERRERA RUIZ, Dea et al. Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos. Rev. mex. cienc. farm, Ciudad de México , v. 43, n. 1, p. 18-32, marzo 2012]	Uso de células tipo MDCK.

8. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO

8.1 Actividades programadas en el plan operativo y realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

- ✓ Caracterización botánica del polen apícola.
- ✓ Caracterización química del polen apícola.
- ✓ Determinación de la actividad antioxidante.
- ✓ Determinación de la actividad antimicrobiana.
- ✓ Desarrollo de nano estructuras.
- ✓ Encapsulación de las matrices seleccionadas.
- ✓ Determinación de las características física-químicas de los productos obtenidos.
- ✓ Determinación del porcentaje de encapsulación de los polifenoles por HPLC
- ✓ Evaluación del efecto antibacteriano y antioxidante de productos encapsulados versus las matrices no encapsuladas.
- ✓ Evaluación de la estabilidad de productos encapsulados versus las matrices no encapsuladas.
- ✓ Evaluación de la permeabilidad por el método PAMPA.
- ✓ Evaluación de la permeabilidad de los productos encapsulados sea mayor que las matrices no encapsuladas utilizando monocapas celulares.
- ✓ Finalización del prototipo de nanocápsulas diseñadas específicamente para la vehiculización de polifenoles de polen apícola vía oral finalizado.
- ✓ Capacitación de los apicultores.
- ✓ Prospección de mercado para el producto tecnológico desarrollado.

8.2 Actividades programadas y no realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

--

8.3 Analizar las brechas entre las actividades programadas y realizadas durante el período de ejecución del proyecto.

--

9. POTENCIAL IMPACTO

9.1 Resultados intermedios y finales del proyecto.

Descripción y cuantificación de los resultados obtenidos al final del proyecto, y estimación de lograr otros en el futuro, comparación con los esperados, y razones que explican las discrepancias; ventas y/o anuales (\$), nivel de empleo anual (JH), número de productores o unidades de negocio que pueden haberse replicado y generación de nuevas ventas y/o servicios; nuevos empleos generados por efecto del proyecto, nuevas capacidades o competencias científicas, técnicas y profesionales generadas.

La formulación de nanoencapsulación desarrollada permite dar mayor estabilidad a los compuestos activos de polen apícola frente a las condiciones de procesamiento y almacenamiento, y a la vez, ofrecer un aumento de su biodisponibilidad oral favoreciendo sus propiedades terapéuticas (antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, anticancerígenas), y nutricionales, permitiendo una amplia gama de aplicaciones en la industria alimentaria y cosmética natural.

Además, este producto crea valor social, a través del fortalecimiento de pequeños y medianos productores asociados a la cadena apícola, quienes accederán a nuevos y mejores nichos de mercado para su materia prima (polen), permitiendo mejorar su ingreso familiar y calidad de vida, agregando valor a un producto más de la colmena. Valoriza los recursos naturales del país, evolucionando de su explotación y comercialización en su estado natural, y como commodity, para pasar a etapas de mayor valor agregado, como lo es el mercado de nutraceuticos derivados de sistemas productivos sustentables. Este producto podría integrarse a las estrategias terapéuticas que se utilizan actualmente para contribuir en aspectos específicos, generando efectos saludables y mejorando con ello la calidad de vida de las personas. El mercado demuestra una preferencia de los productos naturales por sobre los sintéticos.

10. CAMBIOS EN EL ENTORNO

Indique si existieron cambios en el entorno que afectaron la ejecución del proyecto en los ámbitos tecnológico, de mercado, normativo y otros, y las medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

Falta de muestras de polen durante temporada 2019/2020 en la Región Norte

La temporada 2018/2019 fue de una baja producción para la apicultura debido a la sequía, principalmente en la colecta de polen apícola. Para la Zona Norte se considerarán las 21 muestras recolectadas como 100% del muestreo de la zona norte de Chile.

Estallido social (2019-2020)

La situación del país entre los meses de septiembre de 2019 y febrero de 2020 afectó nuestro trabajo ya que por semanas nuestros laboratorios y locales de trabajo se encontraban cerrados y además no nos permitía ir a terreno buscar nuevas muestras.

Covid 19 (202-2021)

La pandemia causada por la Covid 19 ocurrida a nivel mundial afectó fuertemente nuestro proyecto, desde un punto de vista de recursos humanos y de materiales. Nuestros laboratorios estuvieron cerrados por más de 1 año y no pudimos seguir avanzando conforme el planificado. Tuvimos pérdidas importantes de materias primas, materiales, cultivos celulares, etc. Además, nuestros asociados también fueron afectados por la situación actual, donde la disminución de

exportaciones y también de ventas internas afectaron la capacidad de inversión en proyectos o nuevos productos.

A pesar de todas las adversidades enfrentadas en los últimos 3 años, el equipo de este proyecto ha demostrado responsabilidad, eficiencia, capacidad de adaptación y principalmente gran conocimiento en el área, lo que llevo al cumplimiento de todos los objetivos planteados.

11. DIFUSIÓN

Describe las actividades de difusión realizadas durante la ejecución del proyecto. Considere como anexos el material de difusión preparado y/o distribuido, las charlas, presentaciones y otras actividades similares.

	Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participante s	Documentación Generada
1	17 de marzo 2018	Radio Agricultura.	Divulgación del proyecto en la Programa El Agro (Entrevista con la coordinadora Raquel Bridi).		Link para acceder la entrevista de divulgación: https://www.radioagricultura.cl/podcasts/2018/03/21/el-agro-sabado-17-marzo-2018.html#
2	27 de julio 2018	Quilpué, V Región de Valparaíso.	Visita a la planta de la empresa asociada Badani y Guevera LTDA (Apícola, Envasadora de alimentos, Centro Apícola, Polinizaciones).	8	Registro Fotográfico y Lista de participantes
3	30 de mayo 2018	PUC	Participación en el Ciclo de Seminarios de investigación Docente	Aprox 40	Cartel de Divulgación
4	Diciembre 2018	UCS y UFRGS (Brasil)	Charla para Difusión Proyecto	Aprox 50	Certificado de participación
5	Noviembre 2018	Pucón (Chile)	Congreso	Aprox 150	Certificado de participación.
6	28 Mayo 2019	UC	Capacitación "Certificación... de la Comuna de Colina"	Aprox 50	Programa / Diapositivas / Lista Asistentes
7	1º Agosto 2019	Valdivia (Chile)	Charla Divulgación en Valdivia	Aprox 20	Lista Participantes /Certificado de participación/ Diapositivas
8	30 agosto 2019	USACH	Encuentro Científico Polifenoles	Aprox 60	Carta confirmación / Poster
9	Octubre 2019	Valencia, España	Participación en el Simposio World Summit on Advancement in Food Science	Aprox 150	Resumen (libro de resúmenes).

			and Technology, FScit		
	Octubre 2019	INIA, La Cruz, Valparaíso	Seminario Nanotecnología y sus Aplicaciones En la Agricultura	Aprox 60	Certificado.
10	21/07/21	On line via Zoom y YouTube	Capacitación Apicultores - Manejo apícola y aprovechamiento de las potencialidades biológicas del polen apícola"	En vivo: 36 Visualizaciones hasta 06/09/21: 123	Video disponible en youtube https://www.youtube.com/watch?v=GK5vOy4gEzq
			Total participantes	Aprox 900	

12. PRODUCTORES PARTICIPANTES

Complete los siguientes cuadros con la información de los productores participantes del proyecto.

12.1 Antecedentes globales de participación de productores

Debe indicar el número de productores para cada Región de ejecución del proyecto.

Región	Tipo productor	N° de mujeres	N° de hombres	Etnia (Si corresponde, indicar el N° de productores por etnia)	Totales
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Totales				

12.2 Antecedentes específicos de participación de productores

Nombre	Ubicación Predio			Superficie Há.	Fecha ingreso al proyecto
	Región	Comuna	Dirección Postal		

13. CONSIDERACIONES GENERALES

13.1 ¿Considera que los resultados obtenidos permitieron alcanzar el objetivo general del proyecto?

Los resultados obtenidos y detallados anteriormente demuestran que el objetivo del proyecto fue cumplido en su cabalidad, al obtener un prototipo de un nanosistema diseñado específicamente para la vehiculización de polifenoles de polen apícola para su administración oral, el cual puede ser utilizado como ingrediente funcional en productos alimentarios como lácteos, bebidas y mieles.

13.2 ¿Cómo fue el funcionamiento del equipo técnico del proyecto y la relación con los asociados, si los hubiere?

El equipo técnico, a pesar de todas dificultades ajenas a nuestra voluntad (sequia, estallido social, pandemia Covid 19), demostró gran responsabilidad el cumplimiento de los objetivos durante todo el proyecto.

Los asociados fueron también afectados por lo comentado anteriormente, principalmente la Empresa Andes Nutraclinic, la cual no disponibilizo los recursos comprometidos en el proyecto inicial.

13.3 A su juicio, ¿Cuál fue la innovación más importante alcanzada por el proyecto?

El prototipo diseñado y desarrollado- sistema nanocapsular para incorporación de compuestos fenólicos provenientes de polen apícola de especies nativas y cultivadas chilenas que puede ser utilizado como ingrediente funcional en productos alimentarios como lácteos, bebidas y mieles – es un producto innovador.

13.4 Mencione otros aspectos que considere relevante informar, (si los hubiere).

14. CONCLUSIONES

Realice un análisis global de las principales conclusiones obtenidas luego de la ejecución del proyecto.

- El polen apícola chileno mostro gran contenido de compuestos fenólicos.
- La quercetina es un buen marcador químico para control de calidad del polen apícola chileno.
- El sistema nanocapsular desarrollado demostró que los compuestos activos incorporados tienen mayor estabilidad, además se verificó un aumento en la actividad antioxidante, antibacteriana y un aumento de la permeabilidad (absorción) medida por el método PAMPA y células MDCK, indicando así una mayor biodisponibilidad de esos compuestos. La biodisponibilidad está relacionada con la cantidad y velocidad que los compuestos activos llegan a la circulación sanguínea.
- La integración con los apicultores, su entusiasmo y disponibilidad es parte fundamental para el éxito del proyecto.

15. RECOMENDACIONES

Señale si tiene sugerencias en relación a lo trabajado durante el proyecto (considere aspectos técnicos, financieros, administrativos u otro).

Mi sugerencia va para la mantención de la entrega de los informes via mail o a través de plataforma virtual. La entrega de los informes en formato impreso, además de grabados en un pen drive y entregados en su oficina como era antes de la pandemia, no sigue la tendencia mundial es limitar el uso de papel. Y FIA como una entidad vinculada con la innovación agraria debe mejorar sus sistemas, siendo más pro-sustentabilidad ahorrando recursos ambientales.

16. ANEXOS

Anexo 1: Cartas

1.1 Carta Gantt aprobada en el plan operativo del periodo correspondiente al presente informe.

Anexo 2: Origen Botánico

2.1 Identificación de las muestras

2.2 Identificación botánica

Anexo 3: Contenido Fenólico

3.1 Contenido de fenoles y flavonoides

3.2 Contenido de polifenoles derivados del ácido cinámico en polen apícola. Los resultados están expresados en mg de polifenol en 100 gr de polen.

3.3 Contenido de flavonoides en polen apícola. Los resultados están expresados en mg de polifenol en 100 gr de polen.

Anexo 4: Capacidad antioxidante

4.1 Valores de FRAP y ORAC.

Anexo 5: Actividad antibacteriana

5.1 Actividad antibacteriana

5.2 Resumen de la caracterización del polen apícola chileno.

Anexo 6: Nanosistemas diseñados y su caracterización físicoquímica

6.1 Representación gráfica de la nanoemulsión triple (agua/aceite/agua)

6.2 Composición y caracterización físicoquímica de las nanoemulsiones triples y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

6.3 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica y de barrido (STEM) de nanoemulsiones triples

6.4 Representación gráfica de las nanocápsulas

6.5 Composición y caracterización físicoquímica de las nanocápsulas y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

6.6 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica y de barrido (STEM) de nanocápsulas

Anexo 7: Capacidad Nanosistemas

7.1 Capacidad antioxidante de nanoemulsiones múltiples a tiempo cero.

7.2 Ensayos exploratorios de screening en 4 bacterias de interés.

7.3 Ensayo de difusión en agar y microdiluciones seriadas en microorganismo *S. pyogenes*.

7.4 Capacidad antioxidante de las nanocápsulas a tiempo cero.

Anexo 8: Estabilidad Nanosistemas

8.1 Estabilidad de compuestos polifenólicos durante 4 meses de almacenamiento

8.2 Estabilidad a 30 días de nanoemulsiones múltiples evaluado a través de su capacidad antioxidante.

- 8.3 Estudio de Liofilización de nanoemulsiones múltiples.
- 8.4 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante mantenimiento de sus propiedades fisicoquímicas.
- 8.5 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante cuantificación de polifenoles
- 8.6 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante actividad antioxidante
- 8.7 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante mantenimiento de sus propiedades fisicoquímicas.
- 8.8 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante cuantificación de polifenoles
- 8.9 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante actividad antioxidante

Anexo 9: Evaluación de permeabilidad por el método PAMPA

- 9.1. Permeabilidad de polifenoles incorporados en una nanoemulsión múltiple obtenidas mediante PAMPA.
- 9.2 Permeabilidad de polifenoles incorporados en una nanocápsula obtenidas mediante PAMPA.

Anexo 10. Evaluación de permeabilidad en células MDCK

- 10.** Permeabilidad comparativa *de polifenoles libres e incorporados en una nanocápsula* obtenidas mediante células MDCK.

Anexo 11. Programa de la capacitación de los apicultores *on line*

Anexo 12. Prospección del análisis del mercado

ANEXO 1

1.1 Carta Gantt Aprobada En El Plan Operativo Del Periodo Correspondiente Al Presente Informe.

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2018 - 2019											
			Trimestre											
			Mar-May			Jun-Ago			Sep-Nov			Dic-Feb		
1	1	Caracterización botánica del polen apícola.	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
1	1	Caracterización química del polen apícola (HPLC-DAD).		x	x	x	x	x	x	x	x	x		
1	1	Determinación de la actividad antioxidante.				x	x	x	x	x	x	x		
1	1	Determinación de la actividad antibacteriana.							x	x	x	x	x	x
2	2	Encapsular las matrices seleccionadas.											x	x
2	2	Determinar las características física-químicas de los productos obtenidos.											x	x
		Informe con estrategias de protección de los resultados			x									
Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2019 - 2020											
			Trimestre											
			Mar-May			Jun-Ago			Sep-Nov			Dic-Feb		
1	1	Caracterización botánica del polen apícola.	x	x	x	x	x	x						
1	1	Caracterización química del polen apícola (HPLC-DAD).		x	x	x	x	x	x					
1	1	Determinación de la actividad antioxidante.				x	x	x	x					
1	1	Determinación de la actividad antibacteriana.							x	x	x	x	x	
2	2	Encapsular las matrices seleccionadas.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2	2	Determinar las características física-químicas de los productos obtenidos.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2	2	Determinar el porcentaje de encapsulación de los polifenoles por HPLC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
3	3	Evaluar actividad antibacteriana y la capacidad antioxidante de las muestras nanoencapsuladas versus no encapsuladas							x	x	x	x	x	x
3	3	Evaluar la estabilidad de productos encapsulados <i>versus</i> las matrices no encapsuladas.							x	x	x	x	x	x
4	4	Evaluar la eficiencia del modelo nanocapsular utilizando el modelo <i>in vitro</i> PAMPA.										x	x	x

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2020/2021											
			Trimestre											
			Mar-May			Jun-Ago			Sep-Nov			Dic-Feb		
3	3	Evaluar actividad antibacteriana y la capacidad antioxidante de las muestras nanoencapsuladas versus no encapsuladas	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
3	3	Evaluar la estabilidad de productos encapsulados <i>versus</i> las matrices no encapsuladas.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
4	4	Evaluar la eficiencia del modelo nanocapsular utilizando el modelo <i>in vitro</i> PAMPA.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
4	4	Evaluar la eficiencia del modelo nanocapsular utilizando células CaCo2.									x	x	x	x
Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2021											
			Mar-May			Jun-Ago								
4	4	Evaluar la eficiencia del modelo nanocapsular utilizando células CaCo2.	x	x	x									
5	5	Finalización del prototipo, redacción de patentes y publicaciones.				x	x	x						

ANEXO 2

Anexo 2.1. Identificación y localidades de las muestras de polen apícola (109 muestras)

	Código	Productor	Región (Zona)	Comuna	Localidad
FIA	V1601	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Puchuncaví/Chilecauquén
FIA	V1602	Leonardo Badani	V (Central)	Nogales	La cuesta
FIA	V1603	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay/Las compuertas
FIA	V1604	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay/Caren
FIA	V1605	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay /Chacrilla
FIA	V1606	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las palmas/Lliu-Lliu
FIA	V1607	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Olmué
FIA	V1608	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	La Higuera
FIA	V1709	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	Pitama/Mantagua/La Higuera
FIA	V1710	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Pucalan
FIA	V1711	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	Colliguay/Chacrilla
FIA	V1712	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA	V1713	Leonardo Badani	V (Central)	Cabildo	Los Molinos
FIA	V1714	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA	V1715	Leonardo Badani	V (Central)	La Ligua	Los Molles
FIA	V1716	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Pucalan
FIA	IV 1717	Leonardo Badani	IV (Norte)	Ovalle	Quebrada seca/Tulahuén
FIA	IV 1718	Leonardo Badani	IV (Norte)	Illapel	Quebrada La Quillaneja
FIA	V1719	Leonardo Badani	V (Central)	Quillota	Rauten
FIA	V1720	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	Lo Orozco / El Carpintero
FIA	VI 1821	Colmenares Pobre Viejo	V (Central)	Pichidegüa	Pichidegüa
FIA	X 1822	Raúl Rojas	X (Sur)	Puerto Varas	Ralún
FIA	V1823	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	Pitama/Los coroneles
FIA	V1824	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Chilecauquén
FIA	V1825	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA	V1826	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay/Chacrillas
FIA	V1827	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Los Perales/Las Piedras
FIA	V1828	Leonardo Badani	V (Central)	Quillota	San Pedro
FIA	V1829	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Colliguay/Caren
FIA	IV 1830	Leonardo Badani	IV (Norte)	Monte Patria	Tulahuén
FIA	V1831	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Pucalan
FIA	V1832	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	Rauco
FIA	V1833	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	Lo Orozco / El Carpintero
FIA	IV 1834	Leonardo Badani	IV (Norte)	Monte Patria	Tulahuén
FIA	V1835	Leonardo Badani	V (Central)	Quillota	Quillota
FIA	VI1836	Raúl Rojas	VI (Central)	Pichidegüa	Pichidegüa

Código	Productor	Región (Zona)	Comuna	Localidad
FIA V1837	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Paso Hondo
FIA V1838	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA V1839	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Fundo La Piedra, Los perales
FIA V1840	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Los Coroneles
FIA V1841	Leonardo Badani	V (Central)	Casablanca	Pitama
FIA VI1842	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA VI1843	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA VI1844	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA VI1845	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA RM1846	Raúl Rojas	V (Central)	Paine	Huelquen
FIA VI1847	Raúl Rojas	V (Central)	Pichidegua	El Hasta
FIA RM1848	Raúl Rojas	V (Central)	La Florida	La Florida
FIA VI1849	Raúl Rojas	VI (Central)	Pichidegua	Las Bombas
FIA RM1850	Raúl Rojas	V (Central)	La Florida	Universidad de Chile
FIA V1851	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA V1852	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA V1853	Leonardo Badani	V (Central)	Olmué	Las Palmas
FIA V1854	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Los Perales/Las Piedras
FIA V1855	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Los Perales/Las Piedras
FIA V1856	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Los Perales/Las Piedras
FIA V1857	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay, Los Corrales
FIA V1858	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay, Los Corrales
FIA IV1859	Leonardo Badani	IV (Norte)	Canela	Huentelauquen
FIA V1860	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA V1961	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA V1962	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA V1863	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Puchuncaví
FIA V1964	Leonardo Badani	V (Central)	Puchuncaví	Puchuncaví
FIA V1865	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA RM1866	Leonardo Badani	V (Central)	Lampa	Batuco
FIA V1967	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Las Palmas
FIA V1868	Leonardo Badani	V (Central)	Quillota	San Pedro
FIA V1869	Leonardo Badani	V (Central)	Quilpué	Colliguay
FIA IV1870	Leonardo Badani	IV (Norte)	Monte Patria	Tulahuén
FIA IX1971	Leonardo Badani	X (Sur)	Villarica	Villarica
FIA L1872	Leonardo Badani	V (Centro)	Mezcla	Mezcla
FIA X1873	Gloria Montenegro	X (Sur)	Cochamó	Puelo
FIA X1874	Colmenares Pobre Viejo	X (Sur)	Puerto Varas	Ralún
FIA X1975	Gloria Montenegro	X (Sur)	Cochamó	Puelo
FIA X1976	Colmenares Pobre Viejo	X (Sur)	Puerto Varas	Ralún

Código		Productor	Región (Zona)	Comuna	Localidad
FIA	X1877	La picá de la abeja	X (Sur)	Puerto Varas	Río pescado
FIA	X1878	Gloria Montenegro	X (Sur)	Fresia	Huempileo
FIA	X1979	La picá de la abeja	X (Sur)	Puerto Varas	Río pescado
FIA	X1980	Gloria Montenegro	X (Sur)	Fresia	Huempileo
FIA	X1981	Gloria Montenegro	X (Sur)	Puerto Montt	Pichiquillaípe
FIA	X1982	Gloria Montenegro	X (Sur)	Ancud	Chiloe
FIA	X1983	Gloria Montenegro	X (Sur)	Hornopirén	Hornopirén
FIA	X1884	La picá de la abeja	X (Sur)	Puerto Varas	Ralún
FIA	X1985	La picá de la abeja	X (Sur)	Puerto Varas	Ralún
FIA	X1886	La picá de la abeja	X (Sur)	Puerto Montt	Lagunitas
FIA	X1987	La picá de la abeja	X (Sur)	Puerto Montt	Lagunitas
FIA	X1888	Gloria Montenegro	X (Sur)	Frutillar	Quilanto
FIA	X1989	Gloria Montenegro	X (Sur)	Frutillar	Quilanto
FIA	VI1990	Raúl Rojas	VI (Central)	San Vicente	San Luis
FIA	VI1991	Raúl Rojas	VI (Central)	Pichidegua	EL Huique
FIA	RM1992	Raúl Rojas	RM (Central)	La Florida	La Florida
FIA	VI1993	Raúl Rojas	VI (Central)	San Vicente	Rinconada
FIA	VI1994	Raúl Rojas	VI (Central)	Pichidegua	Las Bombas
FIA	IV1995	Raúl Rojas	IV (Norte)	Ovalle	Zorrilla
FIA	IV1996	Raúl Rojas	IV (Norte)	Los Vilos	Quebrada Matagorda
FIA	IV1997	Raúl Rojas	IV (Norte)	Ovalle	Quebrada seca
FIA	IV1998	Raúl Rojas	IV (Norte)	Ovalle	Ovalle
FIA	IV1999	Raúl Rojas	IV (Norte)	Los Vilos	Los Vilos
FIA	IV19100	Raúl Rojas	IV (Norte)	Ovalle	Cerrillos de Tamaya
FIA	IV19101	Raúl Rojas	IV (Norte)	Pichidangui	Palo Colorado
FIA	IV19102	Leonardo Badani	IV (Norte)	Ovalle	Cerrillos de Tamaya
FIA	IV19103	Leonardo Badani	IV (Norte)	Los Vilos	Conchalí
FIA	IV19104	Sergio Castillo	IV (Norte)	Illapel	Illapel
FIA	IV19105	Leonardo Badani	IV (Norte)	Monte Patria	Tulahuén
FIA	IV19106	Adan Araya	IV (Norte)	Pichidangui	Pichidangui
FIA	IV19107	Sergio Castillo	IV (Norte)	Ovalle	Lagunillas
FIA	IV19108	Leonardo Badani	IV (Norte)	Ovalle	Camarico
FIA	IV19109	Gabriel Rojas	IV (Norte)	Ovalle	Zorrilla

Anexo 2.2 Identificación botánica

Código (Región)	Especies principales		
	Primera	Segunda	Tercera
FIA V 1601	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>
FIA V 1602	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Azara sp.</i>
FIA V 1603	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Maytenus boaria</i>
FIA V 1604	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Schinus sp.</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>
FIA V 1605	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Raphanus sativus</i>
FIA V 1606	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Trichocereus chilensis</i>	<i>Rubus ulmifolius</i>
FIA V 1607	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Rubus ulmifolius</i>
FIA V 1608	<i>Brassica rapa</i>	<i>Rubus ulmifolius</i>	<i>Azara sp.</i>
FIA V 1709	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA V 1710	<i>Brassica rapa</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA V 1711	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>
FIA V 1712	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia caven</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>
FIA V 1713	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>
FIA V 1714	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>
FIA V 1715	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>
FIA V 1716	<i>Baccharis linearis</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>
FIA IV 1717	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Cryptocarya alba</i>
FIA IV 1718	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Schinus sp.</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>
FIA V 1719	<i>Rubus ulmifolius</i>	<i>Azara celastrina</i>	<i>Brassica rapa</i>
FIA V 1720	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Brassica rapa</i>
FIA VI 1821	<i>Brassica rapa</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Caldcluvia paniculata</i>
FIA X 1822	<i>Cissus striata</i>	<i>Acacia caven</i>	<i>Braccharis linearis</i>
FIA V 1823	<i>Brassica rapa</i>	<i>Kageneckia oblonga</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>
FIA V 1824	<i>Brassica rapa</i>	<i>Kageneckia oblonga</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>
FIA V 1825	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Acacia caven</i>
FIA V 1826	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Adesmia arborea</i>
FIA V 1827	<i>Brassica rapa</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA V 1828	<i>Brassica rapa</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>
FIA V 1829	<i>Brassica rapa</i>	<i>Echinopsis chiloensis</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA IV 1830	<i>Luma apiculata</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Blepharocalyx crunkshanskii</i>
FIA V 1831	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA V 1832	<i>Acacia caven</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Acacia caven</i>
FIA V 1833	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA IV 1834	<i>Brassica rapa</i>	<i>Galega officinalis</i>	<i>Amomyrtus luma</i>
FIA V 1835	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Amomyrtus luma</i>
FIA V 1836	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA V 1837	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>
FIA V 1838	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>
FIA V 1839	<i>Azara celastrina</i>	<i>Mezcla</i>	<i>Cryptocarya alba</i>

Código (Región)	Especies principales		
	Primera	Segunda	Tercera
FIA V 1840	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Cryptocarya alba</i>
FIA V 1841	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Azara celastina</i>
FIA V 1842	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA V 1843	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Cactaceae</i>
FIA V 1844	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Anthemis cotula</i>
FIA V 1845	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Malva sp.</i>
FIA RM 1846	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lomatia hirsuta</i>	<i>Medicago sativa</i>
FIA VI 1847	<i>Azara celastrina</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA RM 1848	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cactaceae</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>
FIA VI 1849	<i>Azara celastrina</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Aextoxicon punctatum</i>
FIA RM 1850	<i>Eucalyptus sp.</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Citrus sp.</i>
FIA V 1851	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Cryptocarya alba</i>
FIA V 1852	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lythrum hyssopifolia</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>
FIA V 1853	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Anthemis cotula</i>
FIA V 1854	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA V 1855	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara sp.</i>
FIA V 1856	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara sp.</i>
FIA V 1857	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Anthemis cotula</i>
FIA V 1858	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Anthemis cotula</i>	<i>Baccharis linearis</i>
FIA IV 1859	<i>Brassica rapa</i>	<i>Mezcla</i>	<i>Schinus molle</i>
FIA V 1860	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara sp.</i>
FIA V 1961	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA V 1962	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>
FIA V 1863	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>	<i>Raphanus sativus</i>
FIA V 1964	<i>Brassica rapa</i>	<i>Mezcla</i>	<i>Schinus molle</i>
FIA V 1865	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA RM 1866	<i>Brassica rapa</i>	<i>Sophora macrocarpa</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA V 1967	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Sophora macrocarpa</i>
FIA V 1868	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA V 1869	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara celastrina</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA IV 1870	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>
FIA IX 1971	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA L 1872	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Adesmia arborea</i>
FIA X 1873	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia sp.</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA X 1874	<i>Trifolium repens</i>	<i>Luma apiculata</i>	<i>Caldcluvia paniculata</i>
FIA X 1975	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Luma apiculata</i>
FIA X 1976	<i>Brassica rapa</i>	<i>Ulex europaeus</i>	<i>Lotus pedunculatus</i>
FIA X 1877	<i>Caldcluvia paniculata</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Eucryphia cordifolia</i>
FIA X 1878	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucryphia cordifolia</i>	<i>Trifolium repens</i>
FIA X 1979	<i>Ulex europaeus</i>	<i>Acacia sp.</i>	<i>Castanea sativa</i>

Código (Región)	Especies principales		
	Primera	Segunda	Tercera
FIA X 1980	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Luma apiculata</i>
FIA X 1981	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Ulex europaeus</i>	<i>Trifolium repens</i>
FIA X 1982	<i>Brassica rapa</i>	<i>Caldcluvia paniculata</i>	<i>Embothrium coccineum</i>
FIA X 1983	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Tepualia stipularis</i>
FIA X 1884	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Buddleja globosa</i>
FIA X 1985	<i>Brassica rapa</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Tepualia stipularis</i>
FIA X 1886	<i>Brassica rapa</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Trifolium repens</i>
FIA X 1987	<i>Buddleja globosa</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Tepualia stipularis</i>
FIA X 1888	<i>Buddleja globosa</i>	<i>Tepualia stipularis</i>	<i>Brassica rapa</i>
FIA X 1989	<i>Brassica rapa</i>	<i>Tepualia stipularis</i>	<i>Buddleja globosa</i>
FIA VI 1990	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA VI 1991	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA RM 1992	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Trifolium repens</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA VI 1993	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia sp.</i>	<i>Cryptocarya alba</i>
FIA VI 1994	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA IV 1995	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Trichocereus chiloensis</i>
FIA IV 1996	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Brassica rapa</i>
FIA IV 1997	<i>Brassica rapa</i>	<i>Trichocereus chiloensis</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA IV 1998	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Trichocereus chiloensis</i>
FIA IV 1999	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA IV 19100	<i>Brassica rapa</i>	<i>Persea americana</i>	<i>Schinus latifolius</i>
FIA IV 19101	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Eschscholzia californica</i>
FIA IV 19102	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA IV 19103	<i>Brassica rapa</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>
FIA IV 19104	<i>Brassica rapa</i>	<i>Senna candolleana</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA IV 19105	<i>Senna candolleana</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>
FIA IV 19106	<i>Citrus sp.</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Baccharis linearis</i>
FIA IV 19107	<i>Trifolium repens</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA IV 19108	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia dealbata</i>	<i>Taraxacum officinale</i>
FIA IV 19109	<i>Malus domestica</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Muehlenbeckia hastulata</i>

ANEXO 3

Anexo 3.1 Contenido de fenoles totales y flavonoides

Caracterización fenólica: Preparación de extractos del polen apícola. Los extractos ricos en compuestos fenólicos fueron obtenidos utilizando extracción asistida por ultrasonido. El contenido de fenoles totales fue determinado a través del método de Folin-Ciocalteu según Singleton et al. [*Methods in Enzymology* 1999; 299: 152-178] y de flavonoides utilizando la técnica de $AlCl_3$ desarrollada por Woisky y Salatino [*Journal of Apicultural Research*, 1998; 37(2): 99-105].

Contenido de fenoles totales expresos en mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100g de polen y flavonoides en mg de equivalentes de quercetina (QE)/100g de polen en muestras de polen apícola. Los datos son el promedio $\pm$ desvío estándar de 3 experimentos independientes realizados en triplicado. **Los valores destacados son los que cumplen la meta del indicador.**

Código (Región)	Muestras Zona Central	
	Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen
1. FIA V 1601	1101,39 $\pm$ 3,73	230,42 $\pm$ 5,43
2. FIA V 1602	983,92 $\pm$ 27,24	237,63 $\pm$ 0,86
3. FIA V 1603	1048,37 $\pm$ 63,98	223,60 $\pm$ 4,63
4. FIA V 1604	698,17 $\pm$ 41,48	180,62 $\pm$ 4,94
5. FIA V 1605	1138,38 $\pm$ 21,39	181,76 $\pm$ 4,81
6. FIA V 1606	1084,42 $\pm$ 30,23	232,89 $\pm$ 2,5
7. FIA V 1607	1115,05 $\pm$ 3,81	339,68 $\pm$ 3,46
8. FIA V 1608	1424,03 $\pm$ 34,96	375,47 $\pm$ 2,95
9. FIA V 1709	789,69 $\pm$ 10,21	176,43 $\pm$ 11,75
10. FIA V 1710	606,41 $\pm$ 12,19	98,54 $\pm$ 9,68
11. FIA V 1711	1249,204 $\pm$ 32,00	179,15 $\pm$ 14,37
12. FIA V 1712	504,78 $\pm$ 14,44	99,33 $\pm$ 5,53
13. FIA V 1713	1038,70 $\pm$ 9,97	177,64 $\pm$ 6,30
14. FIA V 1714	629,02 $\pm$ 25,54	154,73 $\pm$ 5,13
15. FIA V 1715	1023,59 $\pm$ 18,51	160,15 $\pm$ 1,29
16. FIA V 1716	988,36 $\pm$ 3,69	232,73 $\pm$ 9,21
17. FIA V 1719	852,57 $\pm$ 17,22	158,13 $\pm$ 24,97
18. FIA V 1720	718,93 $\pm$ 4,45	132,74 $\pm$ 27,24
19. FIA VI 1821	678,75 $\pm$ 56,93	171,06 $\pm$ 8,50
20. FIA V 1823	718,31 $\pm$ 6,69	127,09 $\pm$ 13,79
21. FIA V 1824	783,79 $\pm$ 18,63	149,78 $\pm$ 7,16
22. FIA V 1825	890,48 $\pm$ 5,21	230,02 $\pm$ 6,63
23. FIA V 1826	1035,77 $\pm$ 12,9	268,12 $\pm$ 0,11
24. FIA V 1827	916,86 $\pm$ 23,49	159,61 $\pm$ 10,00

Código (Región)	Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen
25. FIA V 1828	761,61 ± 31,49	162,94 ± 11,22
26. FIA V 1829	900,55 ± 10,84	211,37 ± 31,68
27. FIA V 1831	580,04 ± 5,98	165,91 ± 17,64
28. FIA V 1832	848,69 ± 2,14	273,90 ± 12,12
29. FIA V 1833	744,84 ± 15,04	172,13 ± 9,54
30. FIA V 1835	767,80 ± 22,28	168,70 ± 10,82
31. FIA V 1836	540,21 ± 21,43	88,32 ± 8,31
32. FIA V 1837	1301,46 ± 12,78	504,47 ± 21,97
33. FIA V 1838	920,71 ± 38,97	261,50 ± 14,75
34. FIA V 1839	759,83 ± 7,47	331,99 ± 26,56
35. FIA V 1840	725,12 ± 44,09	337,91 ± 14,56
36. FIA V 1841	350,81 ± 41,38	122,42 ± 4,02
37. FIA V 1842	758,04 ± 72,72	251,15 ± 12,82
38. FIA V 1843	368,03 ± 19,47	75,93 ± 7,59
39. FIA V 1844	286,93 ± 34,14	153,28 ± 3,11
40. FIA V 1845	315,28 ± 15,61	156,17 ± 1,56
41. FIA RM 1846	889,54 ± 16,94	258,5 ± 10,3
42. FIA VI 1847	830,27 ± 45,27	99,6 ± 12,5
43. FIA RM 1848	976,75 ± 33,61	160,3 ± 1,7
44. FIA VI 1849	804,6 ± 58,25	411,6 ± 13,1
45. FIA RM 1850	1120,5 ± 55,72	521,6 ± 5,1
46. FIA V 1851	767,2 ± 109,94	205,58 ± 7,02
47. FIA V 1852	518,97 ± 51,52	102,56 ± 5,5
48. FIA V 1853	954,14 ± 83,33	304,68 ± 8,58
49. FIA V 1854	364,5 ± 14,52	176,88 ± 18,2
50. FIA V 1855	780,61 ± 17,41	326,07 ± 20,36
51. FIA V 1856	837,09 ± 55,04	346,84 ± 8,66
52. FIA V 1857	536,95 ± 10,62	260,13 ± 6
53. FIA V 1858	102,05 ± 20,46	62,49 ± 9,01
54. FIA V 1860	344,36 ± 27,79	128,16 ± 6,68
55. FIA V 1961	588,2 ± 12,74	150,79 ± 8,15
56. FIA V 1962	715,16 ± 52,65	186,49 ± 14,81
57. FIA V 1863	717,21 ± 15,86	149,6 ± 16,37
58. FIA V 1964	517 ± 50,15	73,89 ± 12,74
59. FIA V 1865	1448,8 ± 116,77	252,96 ± 18,63
60. FIA RM 1866	1060,72 ± 73,77	442,33 ± 14,94
61. FIA V 1967	1141,43 ± 30,44	479,81 ± 6,4
62. FIA V 1868	578,28 ± 30,38	233,36 ± 16
63. FIA V 1869	539,15 ± 38,6	256,47 ± 3,22
64. FIA L 1872	269,73 ± 42,2	74,25 ± 14,52
65. FIA VI 1990	578,85 ± 90,26	64,14 ± 10,21

Código (Región)	Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen
66. FIA VI 1991	517,18 ± 71,78	81,65 ± 10,38
67. FIA RM 1992	176,47 ± 56,62	87,57 ± 8,1
68. FIA VI 1993	546,93 ± 56,69	138,44 ± 5,86
69. FIA VI 1994	623,87 ± 40,2	84,76 ± 8,56

Muestras Zona Sur

Código (Región)	Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen
1. FIA X 1822	271,00 ± 28	171,67 ± 2,42
2. FIA IX 1971	1215,55 ± 43,73	294 ± 16,8
3. FIA X 1873	1408,201 ± 96,74	493,22 ± 35,73
4. FIA X 1874	1200,000 ± 54,54	424,6 ± 21,82
5. FIA X 1975	1532,724 ± 91,9	421,79 ± 46,39
6. FIA X 1976	1327,447 ± 88,78	444,34 ± 39,22
7. FIA X 1877	546,52 ± 28,89	422,96 ± 17,12
8. FIA X 1878	644,148 ± 7,79	465,26 ± 32,28
9. FIA X 1979	533,439 ± 8,9	408,78 ± 13,56
10. FIA X 1980	519,39 ± 16,62	397,76 ± 11,72
11. FIA X 1981	1313,203 ± 40,66	778,57 ± 37,36
12. FIA X 1982	1438,18 ± 47,8	788,73 ± 4,3
13. FIA X 1983	1447,638 ± 51,45	748,02 ± 42,03
14. FIA X 1884	1158,058 ± 53,49	227,36 ± 2,68
15. FIA X 1985	1186,016 ± 42,24	228,48 ± 7,19
16. FIA X 1886	1019,405 ± 24,02	197,89 ± 1,98
17. FIA X 1987	1094,543 ± 58,49	221,31 ± 5,06
18. FIA X 1888	1105,54 ± 49,93	209,17 ± 8,89
19. FIA X 1989	1140,211 ± 55,57	215,86 ± 8,59

Muestras Zona Norte

Código (Región)	Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen
1. FIA IV 1717	1005,79 ± 72,21	312,76 ± 0,27
2. FIA IV 1718	917,64 ± 32,82	197,68 ± 8,94
3. FIA IV 1830	1237,44 ± 18,60	391,84 ± 3,37
4. FIA IV 1834	787,85 ± 0,92	221,20 ± 17,15
5. FIA IV 1859	723,4 ± 53,5	262,7 ± 12,9
6. FIA IV 1870	827,27 ± 122,81	284,88 ± 11,75
7. FIA IV 1995	1176,34 ± 97,28	262,87 ± 40,3
8. FIA IV 1996	327,97 ± 61,41	94,98 ± 9,18
9. FIA IV 1997	415 ± 50,78	90,54 ± 9,89
10. FIA IV 1998	692,78 ± 44,23	112,43 ± 7,7
11. FIA IV 1999	672,60 ± 15,28	96,55 ± 8,61
12. FIA IV 19100	572,60 ± 37,03	85,75 ± 9,14
13. FIA IV 19101	653,17 ± 54,61	108,56 ± 7,16
14. FIA IV 19102	2221,77 ± 62,53	555,44 ± 15,63
15. FIA IV 19103	1275 ± 21,92	318,75 ± 5,48
16. FIA IV 19104	1488,36 ± 57,9	372,09 ± 14,48
17. FIA IV 19105	738,97 ± 35,45	184,74 ± 8,86
18. FIA IV 19106	638,03 ± 25,39	159,51 ± 6,35
19. FIA IV 19107	738,97 ± 29,32	184,74 ± 7,33
20. FIA IV 19108	572,3 ± 4,07	143,08 ± 1,08
21. FIA IV 19109	947,89 ± 37,26	237 ± 9,32

Anexo 3.2 Contenido de polifenoles derivados del ácido cinámico en polen apícola. Los resultados están expresados en mg de polifenol en 100 gr de polen.

Muestra	mg ácidos fenólicos / 100 g polen						
	Clorogénico	Cafeico	Siríngico	Cumárico	Sinápico	Ferúlico	Cinámico
FIAV1601	0	0	28,8 ± 0,30	2,21 ± 0,09	0	0	0,52 ± 0,12
FIAV1602	0	0	15,39 ± 5,03	1,31 ± 0,05	16,55 ± 2,63	3,93 ± 0,89	0,39 ± 0,04
FIAV1603	0	0	21,90 ± 0,36	3,25 ± 0,21	0	0	0
FIAV1604	3,78 ± 0,57	0	11,20 ± 0,20	1,61 ± 0,05	10,93 ± 0,08	9,97 ± 0,15	56,17 ± 0,50
FIAV1605	0,95 ± 0,10	0	19,65 ± 0,63	2,62 ± 0,09	4,63 ± 0,79	2,01 ± 0,87	19,38 ± 0,08
FIAV1606	1,95 ± 0,05	0	17,34 ± 0,10	1,15 ± 0,03	0	0	28,37 ± 0,13
FIAV1607	3,19 ± 0,12	0	14,73 ± 4,06	0,84 ± 0,18	0	9,84 ± 0,15	11,48 ± 3,33
FIAV1608	0,44 ± 0,13	0	12,81 ± 0,06	1,94 ± 0,05	10,24 ± 0,96	12,91 ± 0,61	41,81 ± 0,24
FIAV1709	0,47 ± 0,10	0	4,95 ± 0,12	1,15 ± 0,3	0	11,23 ± 0,66	27,71 ± 0,04
FIAV1710	0,65 ± 0,10	0	16,88 ± 0,11	4,21 ± 0,58	0	0	5,97 ± 0,05
FIAV1711	1,65 ± 0,20	0	10,01 ± 0,13	1,06 ± 0,22	0	0	0
FIAV1712	0	0	4,30 ± 0,06	0,96 ± 0,26	0	7,53 ± 1,87	7,63 ± 0,07
FIAV1713	0	0	0,17 ± 0,02	1,15 ± 0,8	0	4,98 ± 0,30	0
FIAV1714	0,83 ± 0,20	0	31,54 ± 0,06	7,63 ± 0,57	0	0	14,85 ± 0,05
FIAV1715	2,54 ± 0,21	0	2,04 ± 1,09	0,19 ± 0,05	0	4,63 ± 0,66	0
FIAV1716	0	0	12,98 ± 0,10	2,07 ± 0,40	0	0	27,11 ± 0,13
FIIV1717	18,49 ± 0,58	0	7,82 ± 0,06	3,16 ± 0,31	0	0	0
FIAIV1718	23,32 ± 1,61	0	23,92 ± 1,79	9,16 ± 0,07	10,06 ± 2,7	0	0,41 ± 0,01

	mg ácidos fenólicos / 100 g polen						
	Clorogénico	Cafeico	Siríngico	Cumárico	Sinápico	Ferúlico	Cinámico
FIAV1719	0	0	0,64 ± 0,05	5,06 ± 2,14	126,82 ± 0,17	0	13,38 ± 0,39
FIAV1720	0	0	0,89 ± 0,08	3,06 ± 0,05	87,67 ± 0,63	15,01 ± 1,41	174,98 ± 0,45
FIAV1821	0	0	0,37 ± 0,1	0,83 ± 0,13	21,4 ± 9,51	4,49 ± 2,73	7,91 ± 0,1
FIAX1822	11,17 ± 0,58	16,29 ± 0,58	0,47 ± 0,04	0	0	4,38 ± 3,17	0,39 ± 0,12
FIAV1823	6,26 ± 0,21	0	12,02 ± 0,15	2,21 ± 0,03	0	0	0
FIAV1824	2,89 ± 0,27	0	17,83 ± 0,52	2,38 ± 0,08	0	14,01 ± 0,28	26,78 ± 0,057
FIAV1825	0	0	5,74 ± 0,26	1,37 ± 0,19	0	6,05 ± 0,39	0
FIAV1826	1,59 ± 0,17	0	8,49 ± 0,06	1,69 ± 0,09	0	0	0
FIAV1827	0	0	8,15 ± 0,06	1,26 ± 0,19	0	10,05 ± 1,30	20,20 ± 0,43
FIAV1828	0	0	20,87 ± 0,21	6,48 ± 1,87	1,41 ± 0,08	0	27,36 ± 0,17
FIAV1829	3,36 ± 0,18	0	2,64 ± 0,11	1,53 ± 0,66	0	0	19,60 ± 0,05
FIAIV1830	27,79 ± 8,2	0,47 ± 0,04	6,56 ± 0,09	0,92 ± 0,12	1,46 ± 0,23	4,17 ± 0,58	25,83 ± 1,28
FIAV1831	3,01 ± 0,82	0	11,46 ± 2,55	0,93 ± 0,31	0	0	29,5 ± 0,15
FIAV1832	6,67 ± 0,41	0	4,06 ± 0,07	0,54 ± 0,05	0	0	0
FIAV1833	7,88 ± 0,13	0	28,78 ± 0,07	1,93 ± 0,06	0	5,54 ± 0,54	9,45 ± 0,05
FIAIV1834	10,79 ± 0,65	0	24,24 ± 0,45	6,73 ± 3,51	13,78 ± 11,65	2,69 ± 2,41	9,27 ± 0,17
FIAV1835	7,71 ± 1,12	0	24,53 ± 0,15	4,79 ± 0,09	31,02 ± 0,23	10,09 ± 0,10	0
FIAV1836	0	0	23,66 ± 0,09	2,49 ± 0,47	0	3,52 ± 2,1	63,31 ± 0,1
FIAV1837	18,57 ± 0,17	0	32,21 ± 0,1	2,07 ± 0,01	12,46 ± 0,03	10,12 ± 0,62	30,34 ± 0,03
FIAV1838	17,65 ± 0,12	0	36,93 ± 0,34	2,71 ± 0,07	4,47 ± 0,19	20,58 ± 1,15	3,44 ± 0,03

	mg ácidos fenólicos / 100 g polen						
	Clorogénico	Cafeico	Siríngico	Cumárico	Sinápico	Ferúlico	Cinámico
FIAV1839	15,92 ± 0,18	0	13,64 ± 0,13	0	16,7 ± 0,3	20,2 ± 0,29	10,15 ± 0,04
FIAV1840	0,74 ± 0,07	0	32,17 ± 0,74	1,81 ± 0,18	0	92,18 ± 1,21	40,68 ± 0,48
FIAV1841	4,81 ± 1,9	1,32 ± 0,4	10,63 ± 0,72	0,85 ± 0,23	4,01 ± 0,78	1,41 ± 0,21	3,44 ± 0,16
FIAV1842	7,45 ± 0,11	4,76 ± 0,06	14,6 ± 0,09	0,5 ± 0,07	8,31 ± 0,16	3,42 ± 0,56	9,89 ± 0,12
FIAV1843	26,21 ± 0,37	5,67 ± 0,08	5,81 ± 0,2	0,2 ± 0,01	5,36 ± 0,22	1,03 ± 0,51	2,81 ± 0,91
FIAV1844	23,59 ± 0,09	0	6,74 ± 0,07	0	0	0	6,48 ± 0,12
FIAV1845	19,45 ± 1,26	0	4,76 ± 0,2	0	13,28 ± 0,25	13,72 ± 0,55	5,84 ± 0,54
FIARM1846	19,02 ± 10,17	34,03 ± 0,15	29,24 ± 0,08	2,83 ± 0,17	0	17,65 ± 3,33	10,59 ± 0,06
FIAMI1847	13,14 ± 22,77	6,71 ± 0,03	1,84 ± 0,04	0	0	14,64 ± 0,14	96,33 ± 0,29
FIARM1848	21,5 ± 3,92	23,93 ± 0,09	20,51 ± 0,12	3,38 ± 1,81	0	16,69 ± 0,83	7,06 ± 0,04
FIAMI1849	27,39 ± 0,96	9,88 ± 0,06	6,01 ± 0,04	3,07 ± 0,13	0	7,6 ± 2,82	81,3 ± 0,15
FIARM1850	15,42 ± 0,67	1,71 ± 0,77	2,12 ± 0,44	0,35 ± 0,33	0	0	1,72 ± 0,59
FIAM1851	15,2 ± 0,68	17,17 ± 0,05	31,14 ± 0,05	0,93 ± 0,22	11,69 ± 0,66	4,11 ± 0,55	9,65 ± 0,19
FIAM1852	0	3,58 ± 0,72	4,99 ± 0,83	0,38 ± 0,15	7,7 ± 0,65	21,74 ± 1,08	0
FIAM1853	0	0,93 ± 0,02	1,35 ± 0,02	0,41 ± 0,23	0,98 ± 0,42	6,38 ± 0,33	21,42 ± 0,31
FIAM1854	12,23 ± 0,44	0	6,33 ± 0,1	0,48 ± 0,2	13,14 ± 1,29	13,52 ± 1,03	7,55 ± 0,11

	mg ácidos fenólicos / 100 g polen						
	Clorogénico	Cafeico	Siríngico	Cumárico	Sinápico	Ferúlico	Cinámico
FIIV1855	11,51 ± 0,05	4,41 ± 0,07	32,53 ± 0,17	1,59 ± 0,24	0	32,99 ± 1,48	9,25 ± 0,13
FIIV1856	16,69 ± 0,3	0	17,42 ± 0,08	0,76 ± 0,03	40,16 ± 0,16	0	9,67 ± 0,13
FIIV1857	18,26 ± 0,22	2,13 ± 0,03	7,01 ± 0,04	0,28 ± 0,11	21,79 ± 0,71	9,77 ± 0,22	10,37 ± 0,11
FIIV1858	16,76 ± 1,16	0	2,21 ± 0,4	0	19,05 ± 5,78	0	5,42 ± 0,23
FIIV1859	9,27 ± 0,19	36,71 ± 0,18	26,81 ± 0,11	3,33 ± 0,09	0	14,97 ± 2,55	7,65 ± 0,04
FIIV1860	23,42 ± 0,87	2,46 ± 0,01	8,17 ± 0,1	0,26 ± 0,13	8,35 ± 0,14	4,92 ± 0,8	7,21 ± 0,05
FIIV1961	0	0	11,73 ± 0,02	1,32 ± 0,02	0	0	11,82 ± 0,03
FIIV1962	0	0	14,2 ± 0,04	1,15 ± 0,04	0	0	26,05 ± 0,09
FIIV1963	19,45 ± 0,41	9,22 ± 0,17	11,1 ± 0,25	2,35 ± 0,17	1,72 ± 1,5	19,15 ± 0,87	29,66 ± 0,1
FIIV1964	22,95 ± 0,41	0	12,28 ± 0,06	1,43 ± 0,29	2,4 ± 0,61	0	30,11 ± 0,27
FIIV1865	0	0	6,62 ± 0,05	0,8 ± 0,12	0	6,76 ± 0,57	20,18 ± 0,1
FIARM1866	0	0	2,04 ± 0,08	0,89 ± 0,34	58,82 ± 2,63	0	17,05 ± 0,13
FIIV1967	0	0	1,77 ± 0,1	0,94 ± 0,02	0	15,34 ± 0,36	16,14 ± 0,21
FIIV1868	12,55 ± 0,1	0	10,29 ± 0,23	0,62 ± 0,12	0	14,46 ± 0,19	24,57 ± 0,11
FIIV1869	17,78 ± 0,85	0	11,09 ± 0,07	1,04 ± 0,42	0	23,52 ± 4,09	10,54 ± 0,11
FIIV1870	0	0	8,72 ± 0,17	0,93 ± 0,03	5,61 ± 0,37	8,79 ± 0,67	6,87 ± 0,1
FIAX1971	0	0	16,52 ± 0,04	0,46 ± 0,16	0	9,75 ± 0,11	36,79 ± 0,24
FIIV1872	21,04 ± 3,24	0	4,47 ± 0,08	0,33 ± 0,05	0	3,38 ± 1,84	8,83 ± 0,23
FIAX1873	3,03 ± 0,36	4,48 ± 1,76	0 ± 0	4,09 ± 0,24	62,13 ± 0,79	10,76 ± 0,36	16,36 ± 0,29

	mg ácidos fenólicos / 100 g polen						
	Clorogénico	Cafeico	Siríngico	Cumárico	Sinápico	Ferúlico	Cinámico
FIAX1874	3,61 ± 1,1	0 ± 0	8,78 ± 0,1	2,63 ± 0,77	0 ± 0	30,19 ± 0,42	24,11 ± 1,06
FIAX1875	3,93 ± 0,07	0 ± 0	9,02 ± 0,04	4,31 ± 0,01	24,78 ± 2,57	43,6 ± 1	29,3 ± 1,05
FIAX1876	5,07 ± 0,36	0 ± 0	9,1 ± 0,1	3,6 ± 0,11	1,28 ± 0,07	12,78 ± 5,76	25,47 ± 0,28
FIAX1877	1,61 ± 1,22	0 ± 0	10,02 ± 0,2	0 ± 0	14,07 ± 0,48	8,31 ± 0,77	3,3 ± 0,08
FIAX1878	2,1 ± 0,44	0 ± 0	14,29 ± 0,14	0 ± 0	14,45 ± 0,04	11,05 ± 0,24	4,16 ± 0,03
FIAX1879	0 ± 0	0 ± 0	10,14 ± 0,05	0 ± 0	10,42 ± 0,11	6,78 ± 1,24	4,48 ± 0,08
FIAX1880	0,54 ± 1,71	0 ± 0	12,06 ± 0,2	0,03 ± 0,04	11,98 ± 0,14	9,97 ± 0,73	4,62 ± 0,07
FIAX1881	2,418 ± 0,07	1,72 ± 0,002	0 ± 0	1,61 ± 0,02	0 ± 0	14,13 ± 0,19	12,38 ± 0,04
FIAX1882	0,38 ± 0,13	4,2 ± 0,01	0 ± 0	2,29 ± 0,05	0 ± 0	20,39 ± 0,22	14,78 ± 0,14
FIAX1883	0,64 ± 0,04	0 ± 0	4,68 ± 0,08	0,21 ± 0,04	0 ± 0	9,57 ± 0,17	19,25 ± 0,38
FIAX1884	0,93 ± 0,04	0 ± 0	14,93 ± 0,21	1,07 ± 0,07	0 ± 0	7,73 ± 0,29	33,21 ± 0,07
FIAX1885	0,39 ± 0,07	0 ± 0	17,34 ± 0,17	0,9 ± 0,01	0 ± 0	7,64 ± 0,31	34,59 ± 0,09
FIAX1886	1,437 ± 0,35	0 ± 0	13,39 ± 0,03	0,36 ± 0,11	0,98 ± 0,12	0,68 ± 0,27	41,82 ± 2,33
FIAX1887	1,08 ± 0,22	0 ± 0	10,06 ± 0,37	0,3 ± 0,29	0,42 ± 0,73	2,11 ± 2,76	29,18 ± 1,12
FIAX1888	0,73 ± 0,63	0 ± 0	17,7 ± 0,35	0,82 ± 0,12	0 ± 0	7,12 ± 0,49	33,9 ± 1,47
FIAX1889	0 ± 0	0 ± 0	18,85 ± 0,36	0,81 ± 0,03	0 ± 0	5,82 ± 0,31	29,5 ± 0,18
FIA VI 1990	7,96 ± 0,81	11,02 ± 0,12	0 ± 0	3,27 ± 0,22	94,38 ± 1,66	0 ± 0	11,69 ± 0,08
FIA VI 1991	5,34 ± 0,7	11,81 ± 0,07	0 ± 0	11,35 ± 0,99	182,62 ± 10,99	0 ± 0	5,03 ± 0,4
FIA RM 1992	0 ± 0	0,65 ± 0,31	1,61 ± 0,32	0 ± 0	0 ± 0	2,38 ± 0,67	0,96 ± 0,09
FIA VI 1993	0 ± 0	0 ± 0	4,12 ± 1,71	0,79 ± 0,19	0 ± 0	7,34 ± 1,25	2,01 ± 0,19
FIA VI 1994	0 ± 0	0 ± 0	1,64 ± 0,06	0 ± 0	0 ± 0	6,53 ± 1,98	59,15 ± 4,07

	mg ácidos fenólicos / 100 g polen						
	Clorogénico	Cafeico	Siríngico	Cumárico	Sinápico	Ferúlico	Cinámico
FIA IV 1995	0 ± 0	0 ± 0	4,59 ± 0,19	0 ± 0	0 ± 0	2,46 ± 0,15	9,28 ± 0,07
FIA IV 1996	0 ± 0	0 ± 0	4,33 ± 0,1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4,57 ± 0,04
FIA IV 1997	0 ± 0	0 ± 0	6,15 ± 0,6	0 ± 0	0 ± 0	3,62 ± 0,64	5,15 ± 0,19
FIA IV 1998	18,1 ± 1,39	3,7 ± 0,03	28,94 ± 0,17	0,41 ± 0,17	12,17 ± 0,33	7,81 ± 0,2	4,54 ± 0,18
FIA IV 1999	21,74 ± 1,16	3,68 ± 0,04	29,58 ± 0,15	0,15 ± 0,004	13,13 ± 0,2	8,05 ± 0,19	5,33 ± 0,12
FIA IV 19100	23,86 ± 0,17	1,19 ± 0,003	25,31 ± 0,23	0,09 ± 0,06	0 ± 0	8,93 ± 5,32	7,65 ± 0,13
FIA IV 19101	20,743 ± 0,62	7,73 ± 0,02	20,35 ± 0,07	0,12 ± 0,1	0 ± 0	0 ± 0	12,48 ± 0,04
FIA IV 19102	2,68 ± 0,43	5,34 ± 0,3	0 ± 0	0 ± 0	24,58 ± 1,47	0 ± 0	42,83 ± 0,22
FIA IV 19103	12,38 ± 3,95	32,22 ± 0,92	0 ± 0	0 ± 0	20,55 ± 3,59	0 ± 0	13,24 ± 0,25
FIA IV 19104	19,73 ± 0,34	7,57 ± 0,11	0 ± 0	0 ± 0	19,73 ± 2,97	0 ± 0	0,62 ± 0,2
FIA IV 19105	0 ± 0	3,37 ± 0,02	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	5,43 ± 3,3
FIA IV 19106	0 ± 0	2,41 ± 0,02	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6,67 ± 0,13	6,03 ± 0,14
FIA IV 19107	0 ± 0	3,22 ± 0,01	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	8,72 ± 0,1	5,39 ± 0,05
FIA IV 19108	0 ± 0	3,08 ± 0,01	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	7,47 ± 1,05	3,91 ± 0,01
FIA IV 19109	0 ± 0	6,96 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6,89 ± 0,05

3.3 Contenido de flavonoides en polen apícola. Los resultados están expresados en mg de polifenol en 100 gr de polen.

Muestra	mg flavonoides / 100 g polen											
	Epicatequina	Rutina	Miricetina	Quercetina	Apigenina	Kaempferol	Crisina	Naringenina	Ramnetina	Pinocembrina	Galangina	Catequina
FIAV1601	0	0	49,56 ± 0,18	94,50 ± 1,66	52,25 ± 0,24	0	3,43 ± 0,05	0	72.82 ± 0.48	3.21 ± 0.13	1.92 ± 0.21	8.75 ± 0.23
FIAV1602	0	0	20,99 ± 1,52	53,50 ± 0,27	4,14 ± 0,20	0	2,03 ± 0,06	0	175.89 ± 0.64	3.78 ± 0.27	2.79 ± 0.47	4.21 ± 0.15
FIAV1603	0	0	51,31 ± 0,24	76,06 ± 1,45	11,02 ± 0,47	0	1,52 ± 1,10	0	173.987 ± 11.12	0	0	0
FIAV1604	0	0	78,40 ± 0,31	0	1,80 ± 0,41	0	0,76 ± 0,1	0	24.30 ± 0.51	2.90 ± 0.32	1.67 ± 0.41	44.9 ± 0.3
FIAV1605	0	0	58,25 ± 0,24	82,86 ± 0,98	28,85 ± 0,16	26,33 ± 1,08	0,21 ± 0,14	3,09 ± 1,86	14.92 ± 0.81	0	0	0
FIAV1606	0	0	115,61 ± 3,2	51,83 ± 0,28	14,45 ± 0	0	0,25 ± 0,1	0	71.70 ± 2.11	0	0	0
FIAV1607	1,16 ± 0,12	0	65,83 ± 14,05	21,71 ± 2,01	31,86 ± 7,71	14,07 ± 3,56	0,93 ± 0,29	0	0	0	0	0
FIAV1608	0	0	59,05 ± 0,36	73,19 ± 0,86	30,74 ± 0,56	14,98 ± 1,79	1,48 ± 0,07	0	0	2.18 ± 0.22	0	0

Muestra	mg flavonoides / 100 g polen											
	Epicatequina	Rutina	Miricetina	Quercetina	Apigenina	Kaempferol	Crisina	Naringenina	Ramnetina	Pinocembrina	Galangina	Catequina
FIAV1709	0	0	246,59 ± 0,51	115,71 ± 0,61	17,82 ± 0,27	0	1,27 ± 0,03	0	15.16 ± 2.39	0	4.01 ± 1.23	0
FIAV1710	0	0	115, 56 ± 0,24	57,73 ± 0,40	1,04 ± 0,15	0	0,17 ± 0,069	0	56.64 ± 4.70	0	0	8.61 ± 0.08
FIAV1711	0	0	465,61 ± 0,16	5,74 ± 0,21	2,48 ± 0,78	0	0,25 ± 0,1	0	0,00	0	0	2.23 ± 0.93
FIAV1712	0	0	224,06 ± 0,55	24,58 ± 0,46	12,29 ± 0,27	0	0	0	8.8 ± 0.4	0	0	0
FIAV1713	0	0	637,74 ± 2,13	94,30 ± 0,46	1,04 ± 0,31	0	0,47 ± 0,07	0	0	2.86 ± 0.20	0	0
FIAV1714	0	0	22,32 ± 2,19	128,75 ± 1,21	3,74 ± 0,39	0	0,93 ± 1,18	0	67.76 ± 0.95	0	3.24 ± 0.23	15.87 ± 0.22
FIAV1715	0	0	680,60 ± 1,59	111,78 ± 0,57	0,81 ± 0,14	0	0,38 ± 0,13	0	15.62 ± 0.11	0	0	0
FIAV1716	0	0	303,99 ± 0,64	105,28 ± 1,60	126,20 ± 0,34	0	1,14 ± 0,12	0	56.78 ± 2.49	0	2.79 ± 0.41	0
FIIV1717	0		208,49 ± 0,3	101,02 ± 0,62	1,18 ± 0,11	0	0	5,54 ± 0,24	293,2 ± 0,8	0	0,41 ± 0,04	0
FIIV1718	0	0	74,16 ± 0,73	138,02 ± 0,36	41,51 ± 0,3	0	0	0	98,44 ± 0,37	0,78 ± 0,13	0	4,89 ± 0,07

ANEXO 4 Valores de capacidad antioxidante (FRAP y ORAC)

4.1 Valores de FRAP y ORAC

Capacidad antioxidante por los métodos FRAP y ORAC-fluoresceína en muestras de polen apícola. Los valores de FRAP están expresos en $\mu\text{mol trolox/g polen}$ y de ORAC-FL $\mu\text{mol trolox/g polen}$. Los datos son el promedio $\pm$ desvío estándar de 3 experimentos independientes realizados en triplicado. **Los valores destacados son los que cumplen la meta del indicador.**

Código	Muestras Zona Central	
	FRAP ($\mu\text{mol trolox/ g polen}$)	ORAC ($\mu\text{mol trolox/ g polen}$)
FIA V 1601	67,95 $\pm$ 1,67	195,68 $\pm$ 22,31
FIA V 1602	57,85 $\pm$ 0,41	190,08 $\pm$ 8,87
FIA V 1603	71,06 $\pm$ 0,85	183,86 $\pm$ 14,69
FIA V 1604	42,93 $\pm$ 1,36	166,7 $\pm$ 25,66
FIA V 1605	63,62 $\pm$ 1,29	233,74 $\pm$ 30,94
FIA V 1606	81,55 $\pm$ 0,23	266,11 $\pm$ 11,95
FIA V 1607	74,01 $\pm$ 0,96	176,29 $\pm$ 14,16
FIA V 1608	71,80 $\pm$ 0,71	291,17 $\pm$ 8,43
FIA V 1709	78,55 $\pm$ 5,28	360,81 $\pm$ 46,46
FIA V 1710	79,39 $\pm$ 9,50	184,5 $\pm$ 25,34
FIA V 1711	107,16 $\pm$ 10,33	275,51 $\pm$ 10,59
FIA V 1712	60,63 $\pm$ 3,66	178,21 $\pm$ 18,48
FIA V 1713	99,07 $\pm$ 5,06	361,91 $\pm$ 15,2
FIA V 1714	85,66 $\pm$ 1,77	296,41 $\pm$ 13,7
FIA V 1715	108,27 $\pm$ 7,41	284,29 $\pm$ 20,07
FIA V 1716	103,18 $\pm$ 14,12	425,59 $\pm$ 32,33
FIA V 1719	77,53 $\pm$ 4,93	351,53 $\pm$ 37,7
FIA V 1720	93,32 $\pm$ 8,04	477,73 $\pm$ 25,59
FIA VI 1821	40,05 $\pm$ 2,40	63,6 $\pm$ 4,39
FIA V 1823	85,10 $\pm$ 2,08	389,85 $\pm$ 41,37
FIA V 1824	87,15 $\pm$ 3,61	421,8 $\pm$ 33,9

Código	FRAP (μmol trolox/ g polen)	ORAC (μmol trolox/ g polen)
FIA V 1825	95,69 ± 4,08	307,75 ± 6,05
FIA V 1826	107,88 ± 3,13	342,74 ± 7,77
FIA V 1827	91,23 ± 4,35	334,58 ± 27,94
FIA V 1828	79,92 ± 1,76	406,68 ± 29,03
FIA V 1829	90,69 ± 5,79	318,38 ± 81,49
FIA V 1831	90,42 ± 2,83	345,79 ± 6,31
FIA V 1832	70,57 ± 4,24	253,29 ± 8,15
FIA V 1833	96,32 ± 9,91	338,61 ± 27,92
FIA V 1835	86,72 ± 4,55	371,7 ± 36,04
FIA V 1836	61,2 ± 4,44	277,79 ± 99,81
FIA V 1837	111,23 ± 4,6	312,56 ± 22,48
FIA V 1838	101,79 ± 1,63	224,72 ± 27,61
FIA V 1839	60,17 ± 2,4	183,10 ± 11,72
FIA V 1840	66,50 ± 3,71	197,67 ± 35,79
FIA V 1841	41,78 ± 3,49	158,64 ± 40,96
FIA V 1842	84,21 ± 8,76	282,08 ± 68,66
FIA V 1843	51,15 ± 2,98	109,81 ± 49,52
FIA V 1844	26,68 ± 1,21	242,69 ± 42,09
FIA V 1845	27,37 ± 2,22	216,28 ± 44,97
FIA RM 1846	108,06 ± 7,7	328,34 ± 32,04
FIA VI 1847	56,95 ± 5,57	392,33 ± 30,23
FIA RM 1848	91,20 ± 3,69	319,85 ± 22,05
FIA VI 1849	86,68 ± 4,59	366,43 ± 16,1
FIA RM 1850	94,34 ± 4,02	277,34 ± 11,15
FIA V 1851	107,94 ± 6,23	350,48 ± 38,54
FIA V 1852	54,36 ± 7,44	185,66 ± 74,11
FIA V 1853	78,09 ± 15,74	307,98 ± 61,11
FIA V 1854	38,41 ± 6,51	166,12 ± 45,75

Código	FRAP (μmol trolox/ g polen)	ORAC (μmol trolox/ g polen)
FIA V 1855	91,44 ± 16,88	397,95 ± 40,62
FIA V 1856	76,69 ± 15,23	398,61 ± 34,04
FIA V 1857	35,08 ± 9,24	277,54 ± 129,22
FIA V 1858	19,88 ± 2,4	150,33 ± 67,17
FIA V 1860	99,25 ± 2,43	256,41 ± 37,56
FIA V 1961	66,48 ± 13,65	203,69 ± 39,95
FIA V 1962	80,64 ± 17,14	281,05 ± 87,18
FIA V 1863	98,61 ± 0,03	371,05 ± 45,27
FIA V 1964	74,04 ± 14,55	408,07 ± 93,03
FIA V 1865	194,64 ± 7,33	492,36 ± 25,27
FIA RM 1866	69,86 ± 6,37	417,59 ± 25,81
FIA V 1967	74,5 ± 1,29	412,85 ± 89,67
FIA V 1868	42,17 ± 7,93	293,28 ± 60,94
FIA V 1869	39,2 ± 4,97	334,86 ± 48,35
FIA L 1872	48,42 ± 9,11	174,21 ± 67,39
FIA VI 1990	57,57 ± 4,21	198,59 ± 20,74
FIA VI 1991	92,55 ± 3,73	201,94 ± 16,2
FIA RM 1992	25,22 ± 1,25	81,89 ± 12,29
FIA VI 1993	34,66 ± 2,41	258,61 ± 15,09
FIA VI 1994	55,02 ± 4,37	328,24 ± 31,26

Muestras Zona Sur		
Código	FRAP (μmol trolox/ g polen)	ORAC (μmol trolox/ g polen)
FIA X 1822	23,47 ± 4,51	180,00 ± 7,00
FIA IX 1971	106,15 ± 1,43	503,06 ± 67
FIA X 1873	111,25 ± 3,77	377,4 ± 28,32
FIA X 1874	103,03 ± 3,04	322,24 ± 20,87
FIA X 1975	113,99 ± 4,92	376,34 ± 31,19
FIA X 1976	108,54 ± 6,55	385,5 ± 35,34
FIA X 1877	27,52 ± 1,81	177,73 ± 8,81
FIA X 1878	29,71 ± 1,26	205,81 ± 16,92
FIA X 1979	24,66 ± 1,23	179,57 ± 21,8
FIA X 1980	24,96 ± 0,86	176,07 ± 24,2
FIA X 1981	26,67 ± 2,33	451,18 ± 31,57
FIA X 1982	28,11 ± 2,73	484,98 ± 35,55
FIA X 1983	28,83 ± 5,72	480,37 ± 38,57
FIA X 1884	90,91 ± 5,65	322,6 ± 14,8
FIA X 1985	96,19 ± 6,78	337,11 ± 26,06
FIA X 1886	82,94 ± 5,41	293,1 ± 22,54
FIA X 1987	86,98 ± 2,9	277,01 ± 17,11
FIA X 1888	84,79 ± 3,56	325,46 ± 28,87
FIA X 1989	93,62 ± 7,71	338,3 ± 24,23

	Muestras Zona Norte	
Código	FRAP (μmol trolox/ g polen)	ORAC (μmol trolox/ g polen)
FIA IV 1717	94,86 ± 3,28	447,24 ± 9,11
FIA IV 1718	116,672 ± 5,52	402,2 ± 43,52
FIA IV 1830	56,27 ± 3,72	231,55 ± 47,42
FIA IV 1834	101,67 ± 1,53	311,86 ± 31,81
FIA IV 1859	39,94 ± 10,29	191,02 ± 28,96
FIA IV 1870	69,73 ± 1,61	292,34 ± 93,16
FIA IV 1995	92,68 ± 6,64	207,38 ± 28,9
FIA IV 1996	45,72 ± 2,81	118,53 ± 3,05
FIA IV 1997	52,27 ± 3,22	113,87 ± 2,58
FIA IV 1998	81,63 ± 5,8	150,63 ± 14,78
FIA IV 1999	73,18 ± 10	166,06 ± 18,84
FIA IV 19100	66,75 ± 4,7	150,59 ± 12,17
FIA IV 19101	73,43 ± 4,27	149,67 ± 13,77
FIA IV 19102	163,28 ± 0,06	784,7 ± 53,48
FIA IV 19103	109,4 ± 0,02	396,49 ± 43,87
FIA IV 19104	120,1 ± 0,02	440,15 ± 74,66
FIA IV 19105	51,96 ± 0,01	724,38 ± 116,94
FIA IV 19106	42,15 ± 0,01	622,81 ± 72,6
FIA IV 19107	56,88 ± 0,05	527,97 ± 36,08
FIA IV 19108	39,53 ± 0,002	385,33 ± 64,94
FIA IV 19109	63,19 ± 0,004	623,72 ± 14,7

ANEXO 5. Actividad antibacteriana

Anexo 5.1 Tabla con actividad antibacteriana.

Código	Muestras Zona Central Halo Inhibición <i>S. pyogenes</i>	MIC <i>S. pyogenes</i>
FIA V 1601	13 mm $\pm$ 1	0,78
FIA V 1602	15 mm $\pm$ 1	0,39
FIA V 1603	13 mm $\pm$ 0	3,125
FIA V 1604	17 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1605	14 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1606	15 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1607	14 mm $\pm$ 0	1,563
FIA V 1608	15 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1709	14 mm $\pm$ 0	1,563
FIA V 1710	14 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1711	15 mm $\pm$ 1	3,125
FIA V 1712	12 mm $\pm$ 0	1,563
FIA V 1713	14 mm $\pm$ 0	0,78
FIA V 1714	16 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1715	13 mm $\pm$ 1	3,125
FIA V 1716	10 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1719	17 mm $\pm$ 0	3,125
FIA V 1720	12 mm $\pm$ 0	3,13
FIA VI 1821	12 mm $\pm$ 1	0,39
FIA X 1822	12 mm $\pm$ 0	0,39
FIA V 1823	12 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1824	14 mm $\pm$ 1	3,125
FIA V 1825	12 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1826	12mm $\pm$ 1	6,25

Código	Halo Inhibición <i>S. pyogenes</i>	MIC <i>S. pyogenes</i>
FIA V 1827	13mm ± 1	3,125
FIA V 1828	11mm ± 1	6,25
FIA V 1829	13mm ± 1	6,25
FIA V 1831	27mm ± 4	0,78
FIA V 1832	13 mm ± 0	3,125
FIA V 1833	15 mm ± 0	6,25
FIA V 1835	13 mm ± 0	6,25
FIA V 1836	9 mm ± 0	12,5
FIA V 1837	12 mm ± 0	6,25
FIA V 1838	8 mm ± 0	12,5
FIA V 1839	10 mm ± 0	6,25
FIA V 1840	14 mm ± 1	3,125
FIA V 1841	12 mm ± 0	6,25
FIA V 1842	11 mm ± 0	6,25
FIA V 1843	8 mm ± 0	6,25
FIA V 1844	11 mm ± 0	3,125
FIA V 1845	11 mm ± 1	6,25
FIA RM 1846	15 mm ± 0	0,39
FIA VI 1847	12 mm ± 0	0,78
FIA RM 1848	12 mm ± 0	3,125
FIA VI 1849	12 mm ± 0	3,125
FIA RM 1850	10 mm ± 0	3,125
FIA V 1851	10 mm ± 0	6,25
FIA V 1852	0 mm ± 0	6,25
FIA V 1853	0 mm ± 0	6,25
FIA V 1854	14 mm ± 1	6,25
FIA V 1855	10 mm ± 1	6,25
FIA V 1856	13 mm ± 1	3,125

Código	Halo Inhibición <i>S. pyogenes</i>	MIC <i>S. pyogenes</i>
FIA V 1857	11 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1858	10 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1860	11 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1961	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1962	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1863	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1964	9 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1865	11 mm $\pm$ 0	6,25
FIA RM 1866	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1967	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1868	13 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1869	13 mm $\pm$ 0	3,125

Código	Muestras Zona Sur Halo Inhibición <i>S.pyogenes</i>	MIC <i>S.pyogenes</i>
FIA X 1822	12 mm ± 0	0,39
FIA IX 1971	13 mm ± 0	3,12
FIA X 1873	15 mm ± 0	1,56
FIA X 1874	14 mm ± 0,58	1,56
FIA X 1975	15 mm ± 0	0,78
FIA X 1976	15 mm ± 0,58	1,56
FIA X 1877	7 mm ± 0	6,25
FIA X 1878	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1979	8 mm ± 0	6,25
FIA X 1980	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1981	17 mm ± 0,58	3,12
FIA X 1982	17 mm ± 0	3,12
FIA X 1983	16 mm ± 0,58	3,12
FIA X 1884	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1985	0 mm ± 0	12,5
FIA X 1886	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1987	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1888	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1989	0 mm ± 0	6,25

Muestras Zona Norte		
Código	Halo Inhibición <i>S.pyogenes</i>	MIC <i>S.pyogenes</i>
FIA IV 1717	13 mm ± 0	3,12
FIA IV 1718	15 mm ± 0	1,56
FIA IV 1830	11 mm ± 1	6,25
FIA IV 1834	13 mm ± 1	6,25
FIA IV 1859	12 mm ± 1	1,56
FIA IV 1870	8 mm ± 0	3,12
FIA IV 1995	10 mm ± 0	6,25
FIA IV 1996	8 mm ± 0	6,25
FIA IV 1997	14 mm ± 0	6,25
FIA IV 1998	9 mm ± 0	3,12
FIA IV 1999	10 mm ± 0	6,25
FIA IV 19100	9,7 mm ± 0	1,56
FIA IV 19101	10 mm ± 0	6,25
FIA IV 19102	11 mm ± 0	12,5
FIA IV 19103	11 mm ± 0,58	3,12
FIA IV 19104	14 mm ± 0	1,56
FIA IV 19105	11 mm ± 0	3,12
FIA IV 19106	11 mm ± 0,58	6,25
FIA IV 19107	14 mm ± 0	3,12
FIA IV 19108	11 mm ± 0,58	3,12
FIA IV 19109	14 mm ± 0	3,12

5.2 Resumen de la caracterización del polen apícola chileno.

Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen	FRAP (μ mol trolox/ g polen)	ORAC-FL (μ mol T/ g de polen)	Microbiológico Halo Inhibición <i>S.pyogenes</i>	MIC <i>S.pyogenes</i> mg/mL
	Primera	Segunda	Tercera						
FIA V 1601	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	1101,39 $\pm$ 3,73	230,42 $\pm$ 5,43	67,95 $\pm$ 1,67	195,68 $\pm$ 22,31	13 mm $\pm$ 1	0,78
FIA V 1602	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Azara sp.</i>	983,92 $\pm$ 27,24	237,63 $\pm$ 0,86	57,85 $\pm$ 0,41	190,08 $\pm$ 8,87	15,33 mm $\pm$ 0,58	0,39
FIA V 1603	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Maytenus boaria</i>	1048,37 $\pm$ 63,98	223,60 $\pm$ 4,63	71,06 $\pm$ 0,85	183,86 $\pm$ 14,69	13 mm $\pm$ 0	3,125
FIA V 1604	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Schinus sp.</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	698,17 $\pm$ 41,48	180,62 $\pm$ 4,94	42,93 $\pm$ 1,36	166,7 $\pm$ 25,66	17,33 mm $\pm$ 0,58	1,563
FIA V 1605	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Raphanus sativus</i>	1138,38 $\pm$ 21,39	181,76 $\pm$ 4,81	63,62 $\pm$ 1,29	233,74 $\pm$ 30,94	13,67 mm $\pm$ 0,58	1,563
FIA V 1606	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Trichocereus chilensis</i>	<i>Rubus ulmifolius</i>	1084,42 $\pm$ 30,23	232,89 $\pm$ 2,5	81,55 $\pm$ 0,23	266,11 $\pm$ 11,95	15 mm $\pm$ 1	1,563
FIA V 1607	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Rubus ulmifolius</i>	1115,05 $\pm$ 3,81	339,68 $\pm$ 3,46	74,01 $\pm$ 0,96	176,29 $\pm$ 14,16	14,33 mm $\pm$ 0,58	1,563
FIA V 1608	<i>Brassica rapa</i>	<i>Rubus ulmifolius</i>	<i>Azara sp.</i>	1424,03 $\pm$ 34,96	375,47 $\pm$ 2,95	71,80 $\pm$ 0,71	291,17 $\pm$ 8,43	15,33 mm $\pm$ 0,58	1,563
FIA V 1709	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Schinus latifolius</i>	789,69 $\pm$ 10,21	176,43 $\pm$ 11,75	78,55 $\pm$ 5,28	360,81 $\pm$ 46,46	14 mm $\pm$ 0	1,563
FIA V 1710	<i>Brassica rapa</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Schinus latifolius</i>	606,41 $\pm$ 12,19	98,54 $\pm$ 9,68	79,39 $\pm$ 9,50	184,5 $\pm$ 25,34	14,33 mm $\pm$ 0,58	1,563
FIA V 1711	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	1249,204 $\pm$ 32,00	179,15 $\pm$ 14,37	107,16 $\pm$ 10,33	275,51 $\pm$ 10,59	14,67 mm $\pm$ 0,58	3,125
FIA V 1712	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia caven</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	504,78 $\pm$ 14,44	99,33 $\pm$ 5,53	60,63 $\pm$ 3,66	178,21 $\pm$ 18,48	12 mm $\pm$ 0	1,563
FIA V 1713	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	1038,70 $\pm$ 9,97	177,64 $\pm$ 6,30	99,07 $\pm$ 5,06	361,91 $\pm$ 15,2	14 mm $\pm$ 0	0,78
FIA V 1714	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	629,02 $\pm$ 25,54	154,73 $\pm$ 5,13	85,66 $\pm$ 1,77	296,41 $\pm$ 13,7	15,67 mm $\pm$ 0,58	1,563

Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen	FRAP (μ mol trolox/ g polen)	ORAC-FL (μ mol T/ g de polen)	Microbiológico <i>S.pyogenes</i> Halo Inhibición	MIC <i>S.pyogenes</i> mg/mL
	Primera	Segunda	Tercera						
FIA V 1715	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>	1023,59 $\pm$ 18,51	160,15 $\pm$ 1,29	108,27 $\pm$ 7,41	284,29 $\pm$ 20,07	13,33 mm $\pm$ 0,58	3,125
FIA V 1716	<i>Baccharis linearis</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	988,36 $\pm$ 3,69	232,73 $\pm$ 9,21	103,18 $\pm$ 14,12	425,59 $\pm$ 32,33	10,33 mm $\pm$ 0,58	1,563
FIA IV 1717	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	1005,79 $\pm$ 72,21	312,76 $\pm$ 0,27	77,53 $\pm$ 4,93	351,53 $\pm$ 37,7	13 mm $\pm$ 0	3,125
FIA IV 1718	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Schinus sp.</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	917,64 $\pm$ 32,82	197,68 $\pm$ 8,94	94,86 $\pm$ 3,28	447,24 $\pm$ 9,11	15 mm $\pm$ 0	1,563
FIA V 1719	<i>Rubus ulmifolius</i>	<i>Azara celastrina</i>	<i>Brassica rapa</i>	852,57 $\pm$ 17,22	158,13 $\pm$ 24,97	116,672 $\pm$ 5,52	402,2 $\pm$ 43,52	17 mm $\pm$ 0	3,125
FIA V 1720	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Brassica rapa</i>	718,93 $\pm$ 4,45	132,74 $\pm$ 27,24	93,32 $\pm$ 8,04	477,73 $\pm$ 25,59	12 mm $\pm$ 0	3,13
FIA VI 1821	<i>Brassica rapa</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Caldcluvia paniculata</i>	678,75 $\pm$ 56,93	171,06 $\pm$ 8,50	40,05 $\pm$ 2,40	63,6 $\pm$ 4,39	12 mm $\pm$ 1	0,39
FIA X 1822	<i>Cissus striata</i>	<i>Acacia caven</i>	<i>Braccharis linearis</i>	271 $\pm$ 28	171,67 $\pm$ 2,42	23,47 $\pm$ 4,51	180 $\pm$ 7	12 mm $\pm$ 0	0,39
FIA V 1823	<i>Brassica rapa</i>	<i>Kageneckia oblonga</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	718,31 $\pm$ 6,69	127,09 $\pm$ 13,79	85,10 $\pm$ 2,08	389,85 $\pm$ 41,37	12 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1824	<i>Brassica rapa</i>	<i>Kageneckia oblonga</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	783,79 $\pm$ 18,63	149,78 $\pm$ 7,16	87,15 $\pm$ 3,61	421,8 $\pm$ 33,9	14 mm $\pm$ 1	3,125
FIA V 1825	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Acacia caven</i>	890,48 $\pm$ 5,21	230,02 $\pm$ 6,63	95,69 $\pm$ 4,08	307,75 $\pm$ 6,05	12 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1826	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Adesmia arborea</i>	1035,77 $\pm$ 12,9	268,12 $\pm$ 0,11	107,88 $\pm$ 3,13	342,74 $\pm$ 7,77	12,33 mm $\pm$ 0,58	6,25
FIA V 1827	<i>Brassica rapa</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	916,86 $\pm$ 23,49	159,61 $\pm$ 10,00	91,23 $\pm$ 4,35	334,58 $\pm$ 27,94	13,33 mm $\pm$ 0,58	3,125
FIA V 1828	<i>Brassica rapa</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>	761,61 $\pm$ 31,49	162,94 $\pm$ 11,22	79,92 $\pm$ 1,76	406,68 $\pm$ 29,03	11,33 mm $\pm$ 0,58	6,25
FIA V 1829	<i>Brassica rapa</i>	<i>Echinopsis chiloensis</i>	<i>Schinus latifolius</i>	900,55 $\pm$ 10,84	211,37 $\pm$ 31,68	90,69 $\pm$ 5,79	318,38 $\pm$ 81,49	13,33 mm $\pm$ 0,58	6,25

Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen	FRAP (μ mol trolox/ g polen)	ORAC-FL (μ mol T/ g de polen)	Microbiológico <i>S.pyogenes</i> Halo Inhibición	MIC <i>S.pyogenes</i> mg/mL
	Primera	Segunda	Tercera						
FIA IV 1830	<i>Luma apiculata</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Blepharocalyx crunkshanskii</i>	1237,44 $\pm$ 18,60	391,84 $\pm$ 3,37	90,42 $\pm$ 2,83	345,79 $\pm$ 6,31	11,67 mm $\pm$ 0,58	6,25
FIA V 1831	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	580,04 $\pm$ 5,98	165,91 $\pm$ 17,64	56,27 $\pm$ 3,72	231,55 $\pm$ 47,42	27,33 mm $\pm$ 4,04	0,78
FIA V 1832	<i>Acacia caven</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Acacia caven</i>	848,69 $\pm$ 2,14	273,90 $\pm$ 12,12	70,57 $\pm$ 4,24	253,29 $\pm$ 8,15	13 mm $\pm$ 0	3,125
FIA V 1833	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	744,84 $\pm$ 15,04	172,13 $\pm$ 9,54	96,32 $\pm$ 9,91	338,61 $\pm$ 27,92	15 mm $\pm$ 0	6,25
FIA IV 1834	<i>Brassica rapa</i>	<i>Galega officinalis</i>	<i>Amomyrtus luma</i>	787,85 $\pm$ 0,92	221,20 $\pm$ 17,15	101,67 $\pm$ 1,53	311,86 $\pm$ 31,81	12,67 mm $\pm$ 0,58	6,25
FIA V 1835	<i>Brassica rapa</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	<i>Amomyrtus luma</i>	767,80 $\pm$ 22,28	168,70 $\pm$ 10,82	86,72 $\pm$ 4,55	371,7 $\pm$ 36,04	13 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1836	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	540,21 $\pm$ 21,43	88,32 $\pm$ 8,31	61,2 $\pm$ 4,44	277,79 $\pm$ 99,81	9 mm $\pm$ 0	12,5
FIA V 1837	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>	1301,46 $\pm$ 12,78	504,47 $\pm$ 21,97	111,23 $\pm$ 4,6	312,56 $\pm$ 22,48	12 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1838	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Colliguaja odorifera</i>	920,71 $\pm$ 38,97	261,50 $\pm$ 14,75	101,79 $\pm$ 1,63	224,72 $\pm$ 27,61	8 mm $\pm$ 0	12,5
FIA V 1839	<i>Azara celastrina</i>	<i>Mezcla</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	759,83 $\pm$ 7,47	331,99 $\pm$ 26,56	60,17 $\pm$ 2,4	183,10 $\pm$ 11,72	10 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1840	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	725,12 $\pm$ 44,09	337,91 $\pm$ 14,56	66,50 $\pm$ 3,71	197,67 $\pm$ 35,79	13,67 mm $\pm$ 0,58	3,125
FIA V 1841	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Azara celastina</i>	350,81 $\pm$ 41,38	122,42 $\pm$ 4,02	41,78 $\pm$ 3,49	158,64 $\pm$ 40,96	12 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1842	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	758,04 $\pm$ 72,72	251,15 $\pm$ 12,82	84,21 $\pm$ 8,76	282,08 $\pm$ 68,66	11 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1843	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Cactaceae</i>	368,03 $\pm$ 19,47	75,93 $\pm$ 7,59	51,15 $\pm$ 2,98	109,81 $\pm$ 49,52	8 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1844	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Anthemis cotula</i>	286,93 $\pm$ 34,14	153,28 $\pm$ 3,11	26,68 $\pm$ 1,21	242,69 $\pm$ 42,09	11 mm $\pm$ 0	3,125

Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen	FRAP (μmol trolox/ g polen)	ORAC-FL (umol T/ g de polen)	Microbiológico <i>S.pyogenes</i> Halo Inhibición	MIC <i>S.pyogenes</i> mg/mL
	Primera	Segunda	Tercera						
FIA V 1845	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Malva sp.</i>	315,28 ± 15,61	156,17 ± 1,56	27,37 ± 2,22	216,28 ± 44,97	10,67 mm ± 0,58	6,25
FIA RM 1846	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lomatia hirsuta</i>	<i>Medicago sativa</i>	889,54 ± 16,94	258,5 ± 10,3	108,06 ± 7,7	328,34 ± 32,04	15 mm ± 0	0,39
FIA VI 1847	<i>Azara celastrina</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	830,27 ± 45,27	99,6 ± 12,5	56,95 ± 5,57	392,33 ± 30,23	12 mm ± 0	0,78
FIA RM 1848	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cactaceae</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>	976,75 ± 33,61	160,3 ± 1,7	91,20 ± 3,69	319,85 ± 22,05	12 mm ± 0	3,125
FIA VI 1849	<i>Azara celastrina</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Aextoxicon punctatum</i>	804,6 ± 58,25	411,6 ± 13,1	86,68 ± 4,59	366,43 ± 16,1	12 mm ± 0	3,125
FIA RM 1850	<i>Eucalyptus sp.</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Citrus sp.</i>	1120,5 ± 55,72	521,6 ± 5,1	94,34 ± 4,02	277,34 ± 11,15	10 mm ± 0	3,125
FIA V 1851	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	767,2 ± 109,94	205,58 ± 7,02	107,94 ± 6,23	350,48 ± 38,54	10 mm ± 0	6,25
FIA V 1852	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lythrum hyssopifolia</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	518,97 ± 51,52	102,56 ± 5,5	54,36 ± 7,44	185,66 ± 74,11	0 mm ± 0	6,25
FIA V 1853	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Anthemis cotula</i>	954,14 ± 83,33	304,68 ± 8,58	78,09 ± 15,74	307,98 ± 61,11	0 mm ± 0	6,25
FIA V 1854	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	364,5 ± 14,52	176,88 ± 18,2	38,41 ± 6,51	166,12 ± 45,75	13,67 mm ± 0,58	6,25
FIA V 1855	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara sp.</i>	780,61 ± 17,41	326,07 ± 20,36	91,44 ± 16,88	397,95 ± 40,62	10,33 mm ± 0,58	6,25
FIA V 1856	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara sp.</i>	837,09 ± 55,04	346,84 ± 8,66	76,69 ± 15,23	398,61 ± 34,04	13,33 mm ± 0,58	3,125
FIA V 1857	<i>Eschscholzia califórnicia</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Anthemis cotula</i>	536,95 ± 10,62	260,13 ± 6	35,08 ± 9,24	277,54 ± 129,22	11 mm ± 0	6,25
FIA V 1858	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Anthemis cotula</i>	<i>Baccharis linearis</i>	102,05 ± 20,46	62,49 ± 9,01	19,88 ± 2,4	150,33 ± 67,17	10 mm ± 0	6,25
FIA IV 1859	<i>Brassica rapa</i>	<i>Mezcla</i>	<i>Schinus molle</i>	723,4 ± 53,5	262,7 ± 12,9	99,25 ± 2,43	256,41 ± 37,56	12,33 mm ± 0,58	1,563

Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen	FRAP (μ mol trolox/ g polen)	ORAC-FL (μ mol T/ g de polen)	Microbiológico <i>S.pyogenes</i> Halo Inhibición	MIC <i>S.pyogenes</i> mg/mL
	Primera	Segunda	Tercera						
FIA V 1860	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara sp.</i>	344,36 $\pm$ 27,79	128,16 $\pm$ 6,68	39,94 $\pm$ 10,29	191,02 $\pm$ 28,96	11 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1961	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Schinus latifolius</i>	588,2 $\pm$ 12,74	150,79 $\pm$ 8,15	66,48 $\pm$ 13,65	203,69 $\pm$ 39,95	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1962	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Hypochaeris radicata</i>	715,16 $\pm$ 52,65	186,49 $\pm$ 14,81	80,64 $\pm$ 17,14	281,05 $\pm$ 87,18	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1863	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>	<i>Raphanus sativus</i>	717,21 $\pm$ 15,86	149,6 $\pm$ 16,37	98,61 $\pm$ 0,03	371,05 $\pm$ 45,27	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1964	<i>Brassica rapa</i>	Mezcla	<i>Schinus molle</i>	517 $\pm$ 50,15	73,89 $\pm$ 12,74	74,04 $\pm$ 14,55	408,07 $\pm$ 93,03	9 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1865	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	1448,8 $\pm$ 116,77	252,96 $\pm$ 18,63	194,64 $\pm$ 7,33	492,36 $\pm$ 25,27	11 mm $\pm$ 0	6,25
FIA RM 1866	<i>Brassica rapa</i>	<i>Sophora macrocarpa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	1060,72 $\pm$ 73,77	442,33 $\pm$ 14,94	69,86 $\pm$ 6,37	417,59 $\pm$ 25,81	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1967	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Sophora macrocarpa</i>	1141,43 $\pm$ 30,44	479,81 $\pm$ 6,4	74,5 $\pm$ 1,29	412,85 $\pm$ 89,67	0 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1868	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Schinus latifolius</i>	578,28 $\pm$ 30,38	233,36 $\pm$ 16	42,17 $\pm$ 7,93	293,28 $\pm$ 60,94	13 mm $\pm$ 0	6,25
FIA V 1869	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Azara celastrina</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	539,15 $\pm$ 38,6	256,47 $\pm$ 3,22	39,2 $\pm$ 4,97	334,86 $\pm$ 48,35	13 mm $\pm$ 0	3,125
FIA IV 1870	<i>Brassica rapa</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Eucalyptus sp.</i>	827,27 $\pm$ 122,81	284,88 $\pm$ 11,75	69,73 $\pm$ 1,61	292,34 $\pm$ 93,16	8 mm $\pm$ 0	3,125
FIA IX 1971	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	1215,55 $\pm$ 43,73	294 $\pm$ 16,8	106,15 $\pm$ 1,43	503,06 $\pm$ 67	13 mm $\pm$ 0	3,125
FIA L 1872	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Adesmia arborea</i>	269,73 $\pm$ 42,2	74,25 $\pm$ 14,52	48,42 $\pm$ 9,11	174,21 $\pm$ 67,39	10,33 mm $\pm$ 0,58	6,25
FIA X 1873	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia sp.</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	1408,201 $\pm$ 96,74	493,22 $\pm$ 35,73	111,25 $\pm$ 3,77	377,4 $\pm$ 28,32	15 mm $\pm$ 0	1,563
FIA X 1874	<i>Trifolium repens</i>	<i>Luma apiculata</i>	<i>Caldcluvia paniculata</i>	1198,29 $\pm$ 54,54	424,6 $\pm$ 21,82	103,03 $\pm$ 3,04	322,24 $\pm$ 20,87	14,33 mm $\pm$ 0,58	1,563

Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides (mg QE)/ 100g de polen	FRAP (μmol trolox/ g polen)	ORAC-FL (umol T/ g de polen)	Microbiológico Halo Inhibición <i>S.pyogenes</i>	MIC <i>S.pyogenes</i> mg/mL
	Primera	Segunda	Tercera						
FIA X 1975	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Luma apiculata</i>	1532,724 ± 91,9	421,79 ± 46,39	113,99 ± 4,92	376,34 ± 31,19	15 mm ± 0	0,78
FIA X 1976	<i>Brassica rapa</i>	<i>Ulex europaeus</i>	<i>Lotus pedunculatus</i>	1327,447 ± 88,78	444,34 ± 39,22	108,54 ± 6,55	385,5 ± 35,34	15,33 mm ± 0,58	1,563
FIA X 1877	<i>Caldcluvia paniculata</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Eucryphia cordifolia</i>	546,52 ± 28,89	422,96 ± 17,12	27,52 ± 1,81	177,73 ± 8,81	7 mm ± 0	6,25
FIA X 1878	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucryphia cordifolia</i>	<i>Trifolium repens</i>	644,148 ± 7,79	465,26 ± 32,28	29,71 ± 1,26	205,81 ± 16,92	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1979	<i>Ulex europaeus</i>	<i>Acacia sp.</i>	<i>Castanea sativa</i>	533,439 ± 8,9	408,78 ± 13,56	24,66 ± 1,23	179,57 ± 21,8	8 mm ± 0	6,25
FIA X 1980	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Luma apiculata</i>	519,39 ± 16,62	397,76 ± 11,72	24,96 ± 0,86	176,07 ± 24,2	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1981	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Ulex europaeus</i>	<i>Trifolium repens</i>	1313,203 ± 40,66	778,57 ± 37,36	26,67 ± 2,33	451,18 ± 31,57	17,33 mm ± 0,58	3,125
FIA X 1982	<i>Brassica rapa</i>	<i>Caldcluvia paniculata</i>	<i>Embothrium coccineum</i>	1438,18 ± 47,8	788,73 ± 4,3	28,11 ± 2,73	484,98 ± 35,55	17 mm ± 0	3,125
FIA X 1983	<i>Brassica rapa</i>	<i>Lotus pedunculatus</i>	<i>Tepualia stipularis</i>	1447,638 ± 51,45	748,02 ± 42,03	28,83 ± 5,72	480,37 ± 38,57	16,33 mm ± 0,58	3,125
FIA X 1884	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Buddleja globosa</i>	1158,058 ± 53,49	227,36 ± 2,68	90,91 ± 5,65	322,6 ± 14,8	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1985	<i>Brassica rapa</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Tepualia stipularis</i>	1186,016 ± 42,24	228,48 ± 7,19	96,19 ± 6,78	337,11 ± 26,06	0 mm ± 0	12,5
FIA X 1886	<i>Brassica rapa</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Trifolium repens</i>	1019,405 ± 24,02	197,89 ± 1,98	82,94 ± 5,41	293,1 ± 22,54	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1987	<i>Buddleja globosa</i>	<i>Rubus constrictus</i>	<i>Tepualia stipularis</i>	1094,543 ± 58,49	221,31 ± 5,06	86,98 ± 2,9	277,01 ± 17,11	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1888	<i>Buddleja globosa</i>	<i>Tepualia stipularis</i>	<i>Brassica rapa</i>	1105,54 ± 49,93	209,17 ± 8,89	84,79 ± 3,56	325,46 ± 28,87	0 mm ± 0	6,25
FIA X 1989	<i>Brassica rapa</i>	<i>Tepualia stipularis</i>	<i>Buddleja globosa</i>	1140,211 ± 55,57	215,86 ± 8,59	93,62 ± 7,71	338,3 ± 24,23	0 mm ± 0	6,25

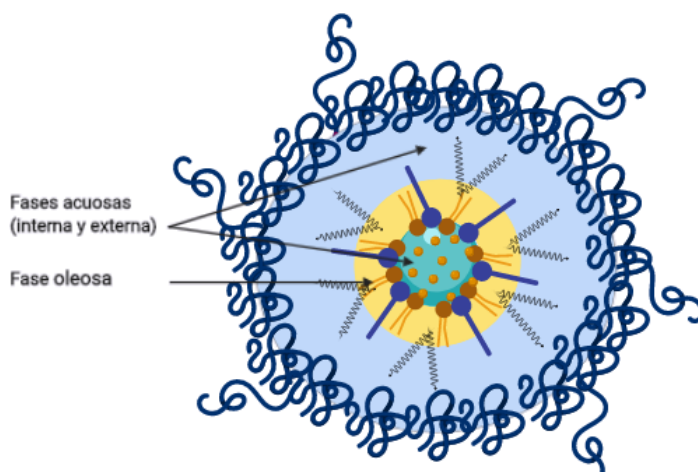
Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides	FRAP	ORAC-FL	Microbiológico	MIC <i>S.pyogenes</i>
	Primera	Segunda	Tercera		(mg QE)/ 100g de polen	(μ mol trolox/ g polen)	(μ mol T/ g de polen)	Halo Inhibición <i>S.pyogenes</i>	mg/mL
FIA VI 1990				578,85 $\pm$ 90,26	64,14 $\pm$ 10,21	57,57 $\pm$ 4,21	198,59 $\pm$ 20,74	11 mm $\pm$ 0	3,125
FIA VI 1991	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	517,18 $\pm$ 71,78	81,65 $\pm$ 10,38	92,55 $\pm$ 3,73	201,94 $\pm$ 16,2	10,3 mm $\pm$ 0	1,563
FIA RM 1992	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Trifolium repens</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	176,47 $\pm$ 56,62	87,57 $\pm$ 8,1	25,22 $\pm$ 1,25	81,89 $\pm$ 12,29	15,3 mm $\pm$ 0	3,125
FIA VI 1993	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia sp.</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	546,93 $\pm$ 56,69	138,44 $\pm$ 5,86	34,66 $\pm$ 2,41	258,61 $\pm$ 15,09	15 mm $\pm$ 0	6,25
FIA VI 1994	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	623,87 $\pm$ 40,2	84,76 $\pm$ 8,56	55,02 $\pm$ 4,37	328,24 $\pm$ 31,26	10 mm $\pm$ 0	6,25
FIA IV 1995	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Trichocereus chiloensis</i>	1176,34 $\pm$ 97,28	262,87 $\pm$ 40,3	92,68 $\pm$ 6,64	207,38 $\pm$ 28,9	10 mm $\pm$ 0	6,25
FIA IV 1996	<i>Adesmia arborea</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Brassica rapa</i>	327,97 $\pm$ 61,41	94,98 $\pm$ 9,18	45,72 $\pm$ 2,81	118,53 $\pm$ 3,05	8 mm $\pm$ 0	6,25
FIA IV 1997	<i>Brassica rapa</i>	<i>Trichocereus chiloensis</i>	<i>Schinus latifolius</i>	415 $\pm$ 50,78	90,54 $\pm$ 9,89	52,27 $\pm$ 3,22	113,87 $\pm$ 2,58	13,7 mm $\pm$ 0	6,25
FIA IV 1998	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Trichocereus chiloensis</i>	692,78 $\pm$ 44,23	112,43 $\pm$ 7,7	81,63 $\pm$ 5,8	150,63 $\pm$ 14,78	9 mm $\pm$ 0	3,125
FIA IV 1999	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	672,60 $\pm$ 15,28	96,55 $\pm$ 8,61	73,18 $\pm$ 10	166,06 $\pm$ 18,84	10 mm $\pm$ 0	6,25
FIA IV 19100	<i>Brassica rapa</i>	<i>Persea americana</i>	<i>Schinus latifolius</i>	572,60 $\pm$ 37,03	85,75 $\pm$ 9,14	66,75 $\pm$ 4,7	150,59 $\pm$ 12,17	9,7 mm $\pm$ 0	1,563
FIA IV 19101	<i>Brassica rapa</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Eschscholzia californica</i>	653,17 $\pm$ 54,61	108,56 $\pm$ 7,16	73,43 $\pm$ 4,27	149,67 $\pm$ 13,77	10 mm $\pm$ 0	6,25
FIA IV 19102	<i>Brassica rapa</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	2221,77 $\pm$ 62,53	555,44 $\pm$ 15,63	163,28 $\pm$ 0,06	784,7 $\pm$ 53,48	11 mm $\pm$ 0	12,5
FIA IV 19103	<i>Brassica rapa</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	1275 $\pm$ 21,92	318,75 $\pm$ 5,48	109,4 $\pm$ 0,02	396,49 $\pm$ 43,87	10,7 mm $\pm$ 0,58	3,125

Código (Región)	Especies principales			Fenoles totales (mg EAG/ 100g polen)	Flavonoides	FRAP	ORAC-FL	Microbiológico	MIC <i>S.pyogenes</i>
	Primera	Segunda	Tercera		(mg QE)/ 100g de polen	(μmol trolox/ g polen)	(umol T/ g de polen)	Halo Inhibición <i>S.pyogenes</i>	mg/mL
FIA IV 19104	<i>Brassica rapa</i>	<i>Senna candolleana</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	1488,36 ± 57,9	372,09 ± 14,48	120,1 ± 0,02	440,15 ± 74,66	14 mm ± 0	1,563
FIA IV 19105	<i>Senna candolleana</i>	<i>Brassica rapa</i>	<i>Adesmia arborea</i>	738,97 ± 35,45	184,74 ± 8,86	51,96 ± 0,01	724,38 ± 116,94	11 mm ± 0	3,125
FIA IV 19106	<i>Citrus sp.</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Baccharis linearis</i>	638,03 ± 25,39	159,51 ± 6,35	42,15 ± 0,01	622,81 ± 72,6	10,7 mm ± 0,58	6,25
FIA IV 19107	<i>Trifolium repens</i>	<i>Cryptocarya alba</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	738,97 ± 29,32	184,74 ± 7,33	56,88 ± 0,05	527,97 ± 36,08	14 mm ± 0	3,125
FIA IV 19108	<i>Brassica rapa</i>	<i>Acacia dealbata</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	572,3 ± 4,07	143,08 ± 1,08	39,53 ± 0,002	385,33 ± 64,94	10,7 mm ± 0,58	3,125
FIA IV 19109	<i>Malus domesticus</i>	<i>Schinus latifolius</i>	<i>Muehlenbeckia hastulata</i>	947,89 ± 37,26	237 ± 9,32	63,19 ± 0,004	623,72 ± 14,7	14 mm ± 0	3,125

ANEXO 6 Nanosistemas diseñados y su caracterización físicoquímica

6.1 Representación gráfica de la nanoemulsión triple (agua/aceite/agua)

Se diseñaron nanoemulsiones a través del método de emulsificación en dos fases, el cual permite proteger al polen apícola de degradación, oxidación y mejora sus características organolépticas. En la **Figura abajo** se puede observar la primera fase interna, donde se encuentra la matriz compleja, estabilizada con surfactantes constituyendo una emulsión primaria de agua/aceite que luego es dispersada en una fase acuosa externa.



Representación gráfica de la nanoemulsión triple (agua/aceite/agua)

6.2 Composición y caracterización fisicoquímica de las nanoemulsiones triples y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

Composición, y caracterización fisicoquímica de las nanoemulsiones triples y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

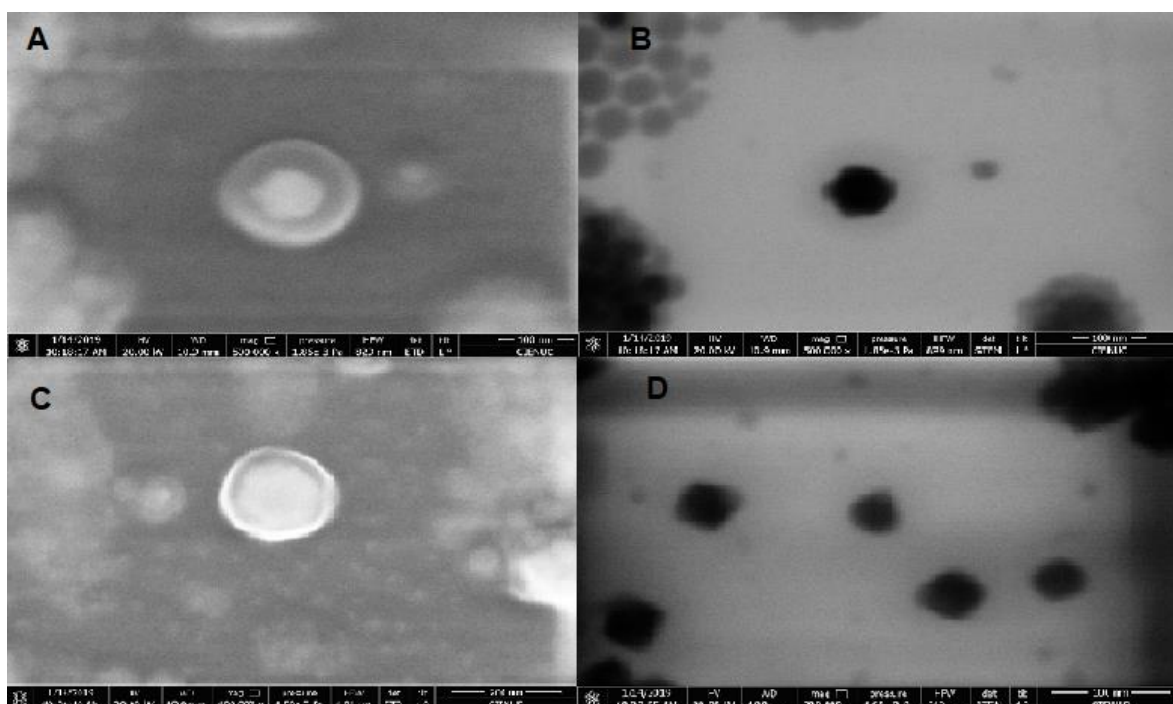
Ensayos/componentes	A	B	C
Extracto de polen (mL)	1,2	1,0	0,7
Lauroglicol® 90(mg)	900,0	1211,6	1210,0
Qitosano HCl (mg)	6,0	11,2	27,3
Pluronic F68® (mg)	600,0	424,4	230,0
Características fisicoquímicas			
Tamaño (nm)	164 ± 8	188 ± 10	221 ± 4
IPD	0,094	0,122	0,147
Potencial Z (mV)	+8 ± 1	+29 ± 4	+30 ± 17
% encapsulación miricetina	94 ± 5	84 ± 1	96 ± 3
% encapsulación quercetina	92 ± 19	86 ± 1	95 ± 4
% encapsulación ácido cinámico	89 ± 7	78 ± 4	95 ± 1

(Promedio ± D.S, n= 3).

La tabla arriba muestra las características fisicoquímicas de tres nanoemulsiones desarrolladas. Se puede observar que las tres poseen tamaño nanométrico (que ha sido cuantificado a través de la dispersión dinámica de la luz), con una sola población de tamaño de partículas (IPD<0,3) y potencial zeta positivo indicativo de la presencia de un polímero catiónico en su superficie. La optimización de esta formulación se basó en obtener formulaciones con potencial zeta cercanos a +30 mV lo que asegura una adecuada estabilidad coloidal. Sin embargo, ellas presentan tamaños cercanos a 200 nm. Futuras optimizaciones de esta formulación deberán mantener la potencial zeta y disminuir el tamaño a alrededor de 100 nm para facilitar su absorción gastrointestinal. Respecto al % de encapsulación se puede observar que, en las tres formulaciones, éstas presentan un mayor porcentaje respecto al indicador para todos los marcadores escogidos.

6.3 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica y de barrido (STEM) de nanoemulsiones triples

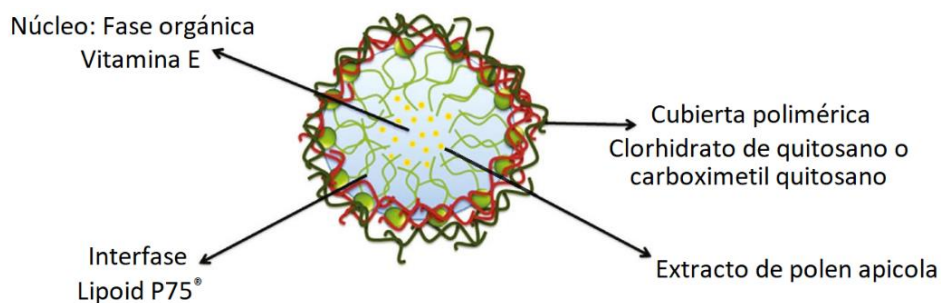
Se realizó el análisis de la morfología de los nanoemulsiones desarrolladas. En la Figura 2 se muestran imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM), donde es posible ver la superficie de la partícula; y transmisión (TEM), donde se analiza la formación de la imagen. Se observa la esfericidad de las partículas y la presencia de la capa externa e interna de las nanoemulsiones múltiples, lo que contribuye a respaldar la correcta emulsificación del nanosistema en 2 fases.



Imágenes de microscopía de transmisión electrónica y de barrido (STEM) de nanoemulsiones triples. (A) y (C). Imágenes SEM. (B) y (D). Imágenes TEM.

6.4 Representación gráfica de las nanocápsulas

Se diseñaron nanocápsulas a través del método desplazamiento del solvente. En la figura siguiente se muestra una representación de la estructura de estos nanosistemas que están conformados por una fase oleosa y una cubierta polimérica. Es importante destacar que la zona de interfase de estos sistemas es estabilizado por uno o más surfactantes.



Representación esquemática de una nanocápsula

6.5 Composicion y caracterización fisicoquímica de las nanocápsulas y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

Composición, y caracterización fisicoquímica de las nanoemulsiones triples y porcentaje (%) de encapsulación utilizando los marcadores ácido cinámico, quercetina y miricetina.

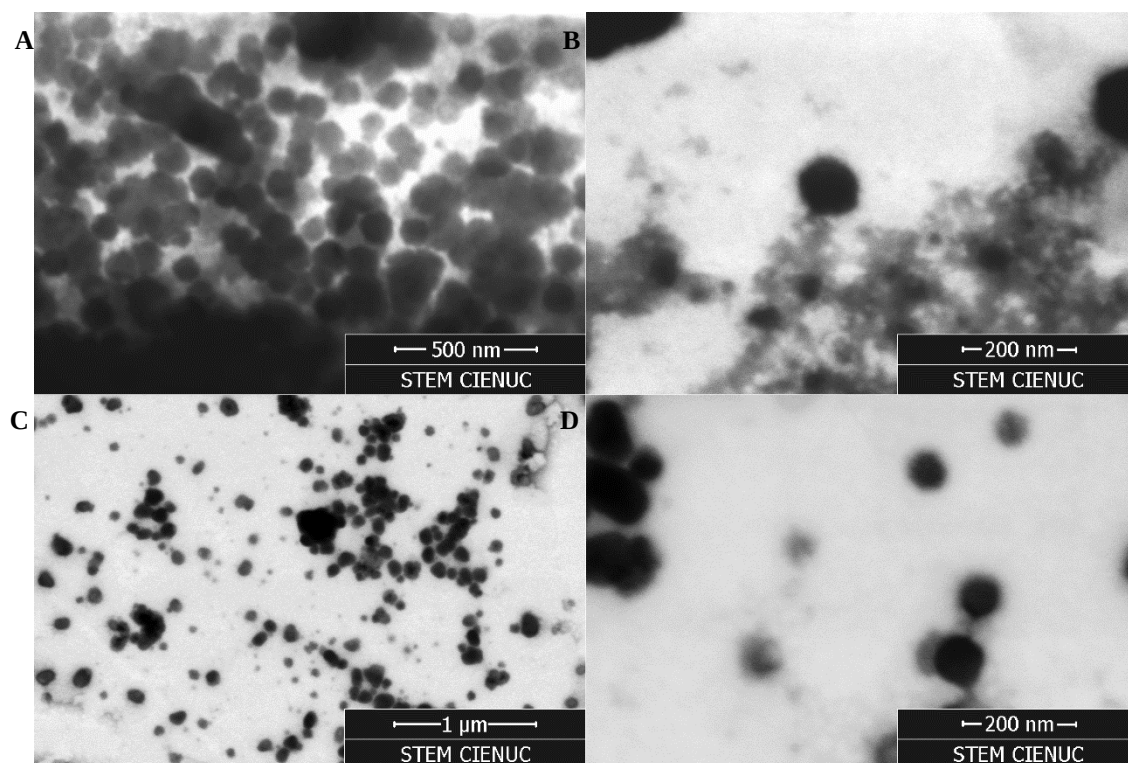
Ensayos/componentes	Cs-HCl/Vit E	Cs-HCl/Vit E CMS
Extracto de polen (mL)	1,25	1,25
Lipoid P75® (mg)	15	15
Vitamina E (µL)	62,6	62,6
Acetona (mL)	3,75	3,75
Clorhidrato de quitosano (mg)	5	
Carboximetil quitosano (mg)		5
Tamaño (nm)	165 ± 5	120 ± 5
IPD	0,097	0,165
Potencial Z (mV)	+33 ± 1	-41 ± 2
% encapsulación miricetina	71 ± 1	74 ± 7
% encapsulación quercetina	91 ± 15	89 ± 2
% encapsulación ácido cinámico	87 ± 6	86 ± 6

(Promedio ± D.S, n= 3).

La tabla de arriba muestra que al igual que las nanoemulsiones, las dos nanocápsulas desarrolladas poseen tamaño nanométrico, una sola población de tamaño de partículas (IPD<0,3) y un potencial zeta dado por la cubierta polimérica empleada, que le otorga carga positiva cuando se emplea quitosano y negativa cuando se emplea carboximetilquitosano. Para todos los marcadores y ambas formulaciones desarrolladas, el porcentaje de encapsulación fue siempre > 70%.

6.6 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica y de barrido (STEM) de nanocápsulas

En la figura siguiente se muestra la morfología de las nanocápsulas desarrolladas, observándose que tanto las Cs-HCl/Vit E (Figura A y B) como las Cs-HCl/Vit E CMC (Figura C y D) son homogéneas tanto en dimensiones como en forma. Esto respalda que existe solo una población de tamaños y que la conformación de los sistemas es esférica.



Imágenes de nanocápsulas diseñadas obtenidas por microscopía electrónica de transmisión y barrido (A, B) Nanocápsulas de clorhidrato de quitosano (Cs-HCl/Vit E) con polen apícola encapsulado. (C, D) Nanocápsulas de carboximetil quitosano (Cs-HCl/Vit E CMC) con polen apícola encapsulado.

ANEXO 7 Capacidad antioxidante y antibacteriana de los nanosistemas

7.1 Capacidad antioxidante medida por ORAC-FI de nanoemulsiones múltiples a tiempo cero.

Muestras	T= 0 días
	μmol ET/mL de muestra
NEMP	3013 ± 308
NEMP destruidas	4628 ± 459
NEMB	991 ± 191
NEMB destruidas	1429 ± 52
Extracto FIAV1827	1370

(Promedio ± D.S, n= 3). NEMP: nanoemulsiones múltiples de polen apícola. NEMB: nanoemulsiones múltiples blancas.

Se puede observar en la Tabla arriba que la capacidad antioxidante de las nanoemulsiones triple, que están encapsulando polen apícola (NEMP), aumentan en más de un 100% con respecto al mismo polen apícola no encapsulado y a una misma concentración (FIAV 1827). También es posible observar que, al destruir la formulación, existe una mayor capacidad antioxidante que la formulación sin destruir. Se espera que esa sea la capacidad antioxidante que tenga la formulación al ser administrada *in vivo*. Finalmente, se realizó el estudio de las formulaciones sin el polen apícola encapsulado o nanoemulsiones blancas (NEMB), y se pudo observar que las formulaciones desarrolladas poseen una acción antioxidante *per se*, lo que hace potenciar la acción del polen apícola encapsulado.

7.1 Ensayos exploratorios de screening en 4 bacterias de interés. Formulaciones destruidas no superan el 50% de etanol en la muestra.

Screening de NEMs halos en mm				
Muestras	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>
NEMP	18	solo gota	solo gota	0
NEMB	20	solo gota	0	0
Extracto de Polen* (4°C)	solo gota	0	0	0
Extracto de polen* (-80°C)	solo gota	0	0	0
quitosano HCl	solo gota	0	0	0
NEMP_{destruida}	20	solo gota	0	0
NEMB_{destruida}	21	solo gota	0	0
Extracto de polen apícola* (4°C)	solo gota	0	0	0
Extracto de polen apícola* (-80°C)	solo gota	0	0	0
quitosano HCl*	solo gota	0	solo gota	0
Etanol 50%	0	0	0	0

NEMP: nanoemulsiones múltiples de polen apícola. NEMB: nanoemulsiones múltiples blancas.

*: muestras diluidas en el solvente utilizado para destruir NEMP y NEMB en la misma proporción.

Extracto de polen apícola FIAV1827.

Se puede observar en la tabla arriba que tanto el polen apícola como la nanoemulsión múltiple encapsulando el polen apícola tiene mayor capacidad bactericida sobre *S. pyogenes*, por lo que se profundizará en esta bacteria y la acción del polen y la formulación.

7.3 Ensayo de difusión en agar y microdiluciones seriadas en microorganismo *S. pyogenes*.

Ensayos de Difusión en agar y microdiluciones seriadas en microorganismo *S. pyogenes*.

Muestras	Difusión en agar	Microdiluciones seriadas		
	Halo de inhibición (mm)	Concentración inicial (mg/mL)	Factor de dilución	Concentración final (mg/mL) **
NEMP	22	25 mg de extracto/mL	256	0,098
		378 mg de excipientes/mL		1,477
NEMB	23	378	256	1,477
Extracto de Polen (4°C)	12	25	8	3,125
Extracto de polen (-80°C)	12	25	4	6,125
Quitosano HCl	0	2,78	0	0
NEMP _{destruida}	23	12,5 mg de extracto/mL	256	0,048
		189 mg de excipientes/mL		0,738
NEMB _{destruida}	24	189	256	0,738
Extracto de polen apícola* (4°C)	13	12,5	8	1,600
Extracto de polen apícola* (-80°C)	13	12,5	4	3,125
quitosano HCl*	0	1,39	8	0,173

NEMP: nanoemulsiones múltiples de polen apícola. NEMB: nanoemulsiones múltiples blancas.

*: muestras diluidas en el solvente utilizado para destruir NEMP y NEMB en la misma proporción.

Extracto de polen apícola utilizado: FIAV1827.

** Concentración de NEMP obtenida en base a extracto de polen apícola encapsulado y sumatoria de todos los excipientes dividida por volumen final. Concentración de NEMB obtenida como la sumatoria de todos los componentes dividida por el volumen final.

Como se puede observar en la Tabla anterior la nanoemulsión encapsulando polen apícola (NEMP) presenta un mayor halo de inhibición y un mayor factor de dilución, respecto al polen libre. En el estudio, también se evaluó la actividad del quitosano a una misma concentración que las NEMP ya que se sabe por literatura que este polisacárido presenta cierta acción antimicrobiana: el Quitosano no presenta acción frente a *S. pyogenes* a la concentración estudiada.

7.4 Capacidad antioxidante medida por ORAC-FI de nanocápsulas a tiempo cero.

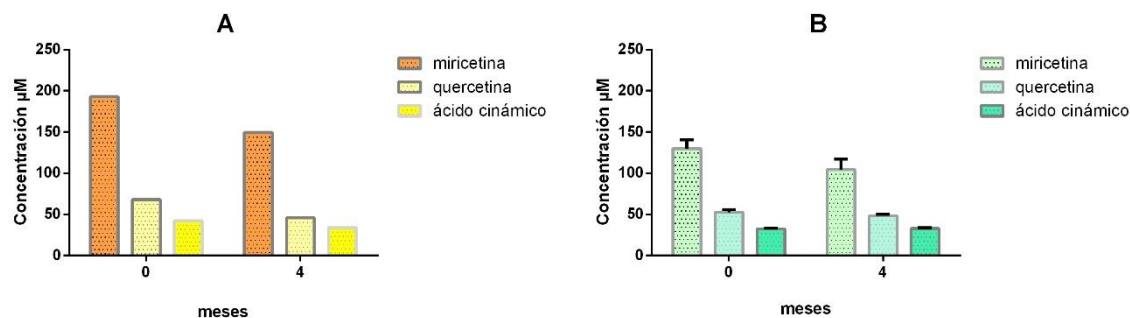
Muestras	T= 0 días
	μmol ET/mL de muestra
CS-HCL/Vit E	793 ± 77
CS-HCL/Vit E destruidas	---
CS-HCL/Vit E CMC	1821 ± 187
CS-HCL/Vit E CMC destruidas	3277 ± 193
Extracto FIAV27	1783 ± 243

CS-HCL/Vit E: Nanocápsulas de clorhidrato de quitosano. CS-HCL/Vit E CMC: Nanocápsulas de carboximetil quitosano. (Promedio ± D.S, n= 3)

Se observa que la capacidad antioxidante del polen nanoencapsulado es dependiente de la formulación de las nanocápsulas, observándose un aumento en su capacidad antioxidante cuando éste está nanoencapsulado en CS-HCL/Vit E CMC y duplicando esta capacidad cuando estos nanocápsulas son destruidos. Las CS-HCL/Vit E no incrementan la capacidad antioxidante del polen.

ANEXO 8. Estabilidad Nanosistemas

8.1 Estabilidad de compuestos polifenólicos durante 4 meses de almacenamiento



Estabilidad de compuestos polifenólicos durante 4 meses de almacenamiento. (A) Estabilidad de extracto de polen apícola no encapsulado. (B) Estabilidad de nanoemulsiones múltiple (Promedio $\pm$ D.S, n= 3). Marcadores utilizados miricetina, quercetina y ácido cinámico.

Como se puede observar en los gráficos de barra arriba, la concentración de los marcadores de polen no disminuye al pasar 4 meses después de haber sido preparada la nanoemulsión múltiple, lo que confiere una alta estabilidad al polen encapsulado.

8.2 Estabilidad a 30 días de nanoemulsiones múltiples evaluado a través de su capacidad antioxidante

Capacidad antioxidante (ORAC-FI) de nanoemulsiones múltiples en 30 días para muestras almacenadas a 4°C.

Muestras	T= 30 días	Disminución de la capacidad antioxidante. (%)
	μmol ET/mL de muestra	
NEMP	2316 ± 56	23,1
NEMP destruidas	1523 ± 125	
NEMB	580 ± 229	
NEMB destruidas	1407 ± 21	
Extracto FIAV1827	556	59,4

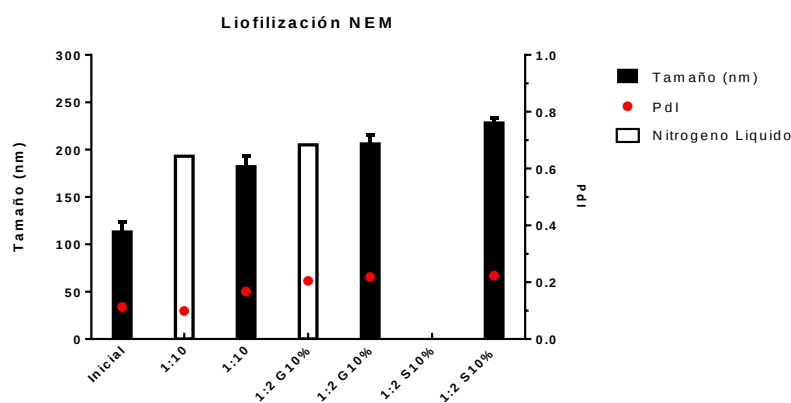
NEMP: nanoemulsiones múltiples de polen apícola. NEMB: nanoemulsiones múltiples blancas. (Promedio ± D.S, n= 3).

Como se puede observar en la Tabla anterior, la nanoemulsión múltiple que encapsula polen apícola (NEMB) tiene una mayor actividad antioxidante que el extracto de polen apícola libre a una misma concentración (FIAV1827), lo que demuestra la estabilidad de esta formulación. A su vez, la disminución en su actividad antioxidante es mucho menor 23,1% comparado con 59,4%.

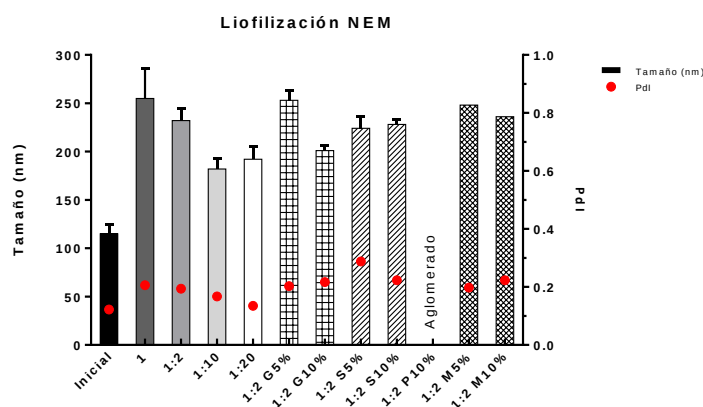
8.3 Estudio de Liofilización de Nanoemulsiones múltiples.

El objetivo de este estudio fue obtener nanopartículas poliméricas liofilizadas que encapsulen polen apícola sin perder sus propiedades fisicoquímicas. Las variables a estudiar para la optimización del proceso de liofilización fueron: uso de crioprotectores (Glucosa, Sacarosa, Manitol) y modo de congelación (-80°C, -196 °C). En la Figura abajo se pueden observar los resultados.

A



B

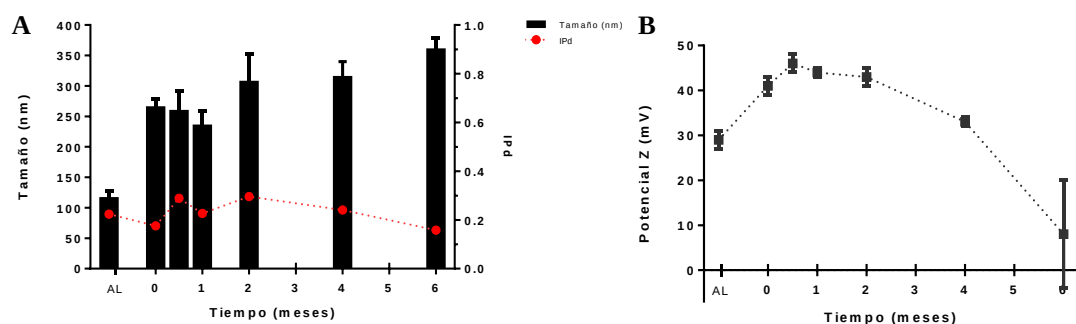


Estudio de liofilización de nanoemulsión múltiple. Efecto del proceso de congelación (A) Efecto de la dilución y crioprotectores (B). PDI: Índice de polidispersión. G: Glucosa. S: Solutol. P: Protamina. M: manitol. (Promedio $\pm$ D.S, n= 3).

Como se puede observar en la figura anterior, es posible tener una formulación liofilizada de las nanoemulsiones múltiples que encapsulan polen apícola. Se puede observar en A que no existe diferencia entre congelarla a -80 C y con nitrógeno líquido. Así también, los mejores crioprotectores para esta formulación parecen ser sacarosa y glucosa al 10% (B).

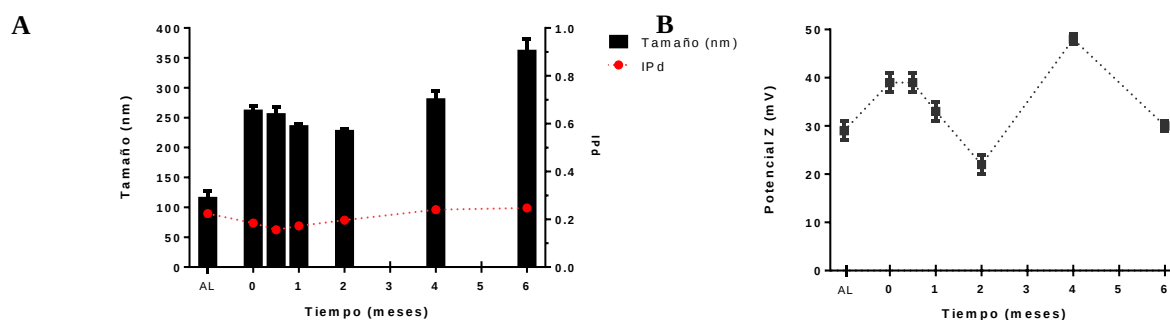
8.4 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante mantenimiento de sus propiedades fisicoquímicas.

En las siguientes figuras se evalúa la estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante el mantenimiento de sus propiedades físico químicas (tamaño de partículas, índice de polidispersión y potencial Z). Se muestran tanto las nanoemulsiones liofilizadas en una dilución 1:10 como en aquella que empleó sacarosa al 10% como crioprotector.



Estabilidad de nanoemulsión múltiple con polen apícola liofilizada con dilución 1:10 en agua Milli-Q

(A) Evolución de tamaño e índice de polidispersión **(B)** Evolución de la carga superficial. Ensayo realizado durante 6 meses a temperatura ambiente. AL: Antes de liofilizar. (Promedio $\pm$ D.S, n= 3).



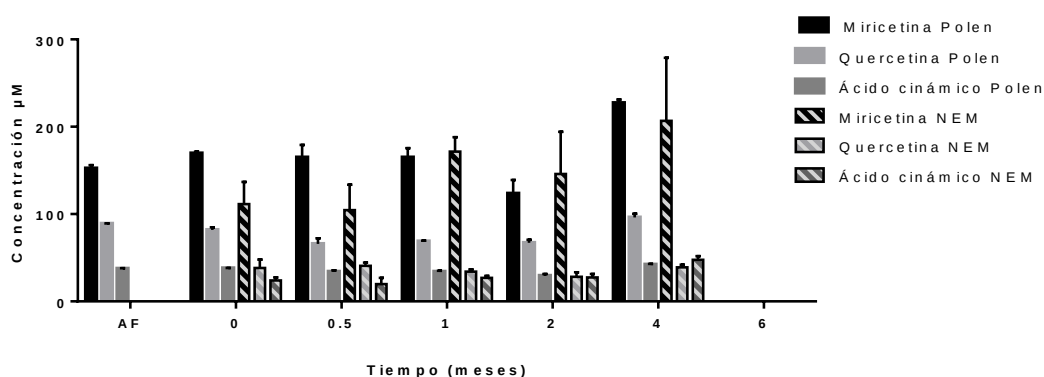
Estabilidad de nanoemulsiones múltiples con polen apícola liofilizada con sacarosa 10%

A) Evolución de tamaño e índice de polidispersión **(B)** Evolución de la carga superficial. Ensayo realizado durante 6 meses a temperatura ambiente. AL: Antes de liofilizar. (Promedio $\pm$ D.S, n= 3).

Con respecto a las NEM liofilizadas con una dilución 1:10, es posible observar que las formulaciones conservan su tamaño nanométrico a lo largo del tiempo y un IPd que indica que tiene dimensiones con una distribución regular. El potencial Z tuvo un valor constante y positivo (sobre +30 mV) durante los primeros 4 meses, lo cual indica que el proceso de liofilización conserva la integridad de la capa de clorhidrato de quitosano. Con estos resultados se concluye que usando esta dilución son estables por 4 meses. Ahora bien, sobre las NEM liofilizadas con sacarosa al 10% se observa que mantienen sus propiedades fisicoquímicas nanométricas homogéneas por lo menos durante 6 meses.

8.5 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante cuantificación de polifenoles

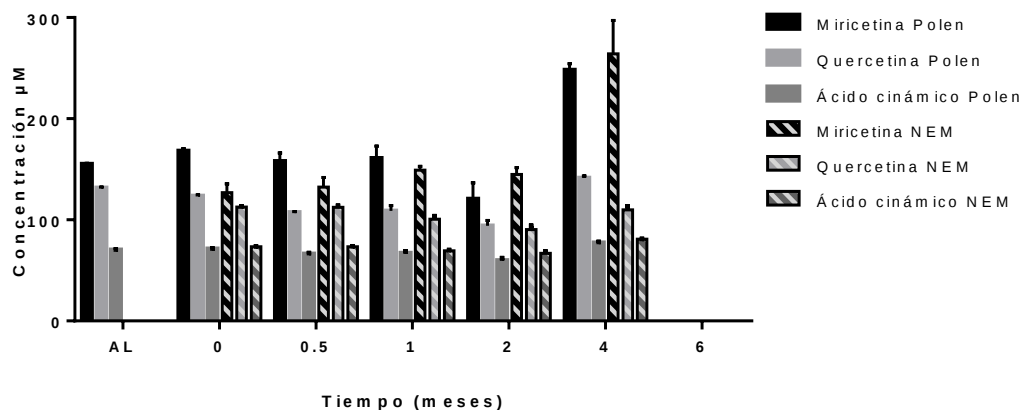
La cuantificación de marcadores (quercetina, miricetina y ácido cinámico) presentes en el extracto, se realizó con el objetivo de evaluar el desempeño de la formulación respecto a la preservación de estos componentes potencialmente bioactivos. Se pueden observar en la Figura siguiente las concentraciones para el control de extracto de polen y las NEM liofilizadas con una dilución de 1:10, donde la NEM liofilizada fue eficiente en la preservación de miricetina y ácido cinámico, presentando valores similares entre la muestra y el control por 4 meses. Sin embargo, es considerablemente menor en el caso de quercetina, siendo aproximadamente la mitad de la concentración presente en el control.



Estabilidad de polifenoles en nanoemulsiones múltiples con polen apícola liofilizada con dilución 1:10 en agua Milli-Q

AL: Antes de liofilizar. NEM: Nanoemulsión múltiple

Por su parte, en la siguiente figura, se enseñan las concentraciones de los componentes marcadores, para el control de extracto de polen apícola y las NEM liofilizadas con sacarosa al 10%. Podemos notar que, para los tres componentes, la concentración obtenida en estas formulaciones es muy similar al control. Por lo tanto, el crioprotector utilizado es efectivo para la preservación de la estabilidad de la formulación estudiada en el momento del secado y en el tiempo, además con ello también obtener una protección óptima de sus componentes internos.

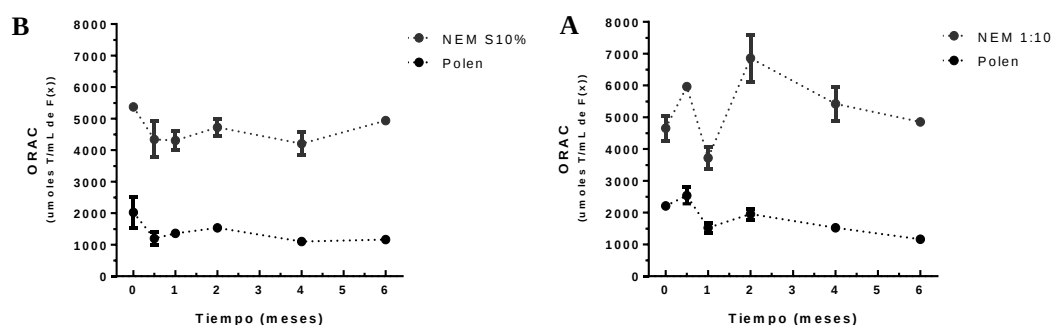


Estabilidad de polifenoles en nanoemulsiones múltiples con polen apícola liofilizada con sacarosa 10%

AL: Antes de liofilizar. NEM: Nanoemulsión múltiple

8.6 Estabilidad de las nanoemulsiones liofilizadas mediante actividad antioxidante

Con respecto al ensayo ORAC-FI para las NEM, que es una medida del poder antioxidante de éstas, se grafican los micromoles de equivalentes de Trolox® por cada mililitro de muestra de las formulaciones diluidas en proporción 1:10 y sacarosa al 10 % (ver figura más abajo). En ambos casos, el control de extracto de polen apícola tiene valores ORAC iniciales cercanos a 2.500 y luego decrecen paulatinamente hasta llegar aproximadamente a 1.000 µmol ET/mL muestra. También, para ambos estudios de esta formulación, el valor ORAC de la NEM fue sostenidamente mayor que el control.

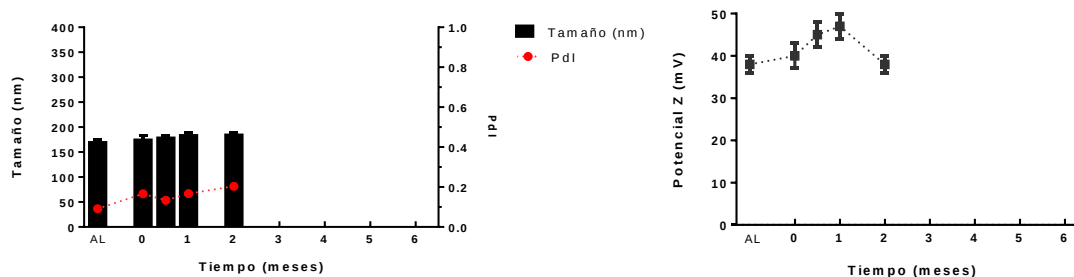


Capacidad antioxidante de nanoemulsiones múltiples con polen apícola liofilizada

NEM: Nanoemulsión múltiple.

8.7 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante mantenimiento de sus propiedades fisicoquímicas.

En la Figura siguiente, se presentan los tamaños y potenciales obtenidos para las Cs-HCL/Vit E, antes de liofilizar y luego de la resuspensión del polvo obtenido. Se puede observar que las Cs-HCL/Vit E preservaron su tamaño luego de haber sido liofilizadas y siguen conservando sus dimensiones nanométricas por lo menos durante 2 meses. De la misma forma, el IPd exhibe valores menores a 0,3 por lo que la familia de partículas presenta una distribución homogénea, la cual se mantiene en el transcurso de los meses. Algo semejante ocurre con el potencial Z, el cual se mantuvo positivo con valores sobre +35 mV en todo el periodo de tiempo estudiado.



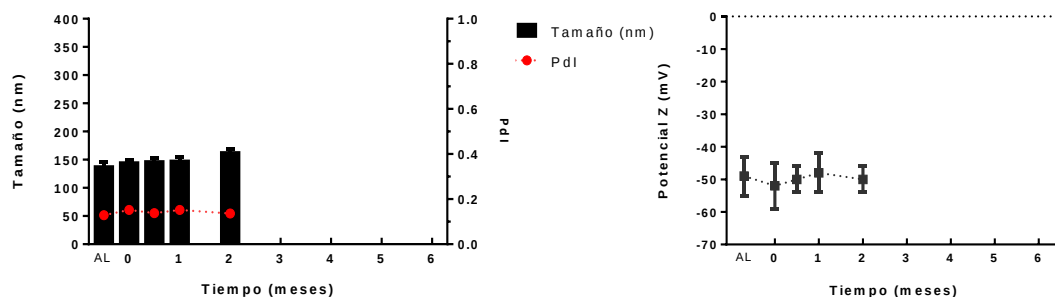
A

B

Estabilidad de nanocápsulas de clorhidrato de quitosano con polen apícola liofilizada con sacarosa 10%

(A) Evolución de tamaño e índice de polidispersión (B) Evolución de la carga superficial. Ensayo realizado durante 2 meses a temperatura ambiente. AL: Antes de liofilizar. (Promedio $\pm$ D.S, n= 3).

Similares resultados se obtuvieron con las Cs-HCL/Vit E CMC, ya que también se preservaron las características de la formulación antes de liofilizar y luego de resuspender el producto obtenido, lo cual se muestra en la figura de abajo. Los tamaños e IPd del polvo rehidratado son cercanos de los nanosistemas sin liofilizar, lo cual se mantiene luego de 2 meses de almacenamiento. Así mismo, el potencial Z se mantuvo sin alteraciones.

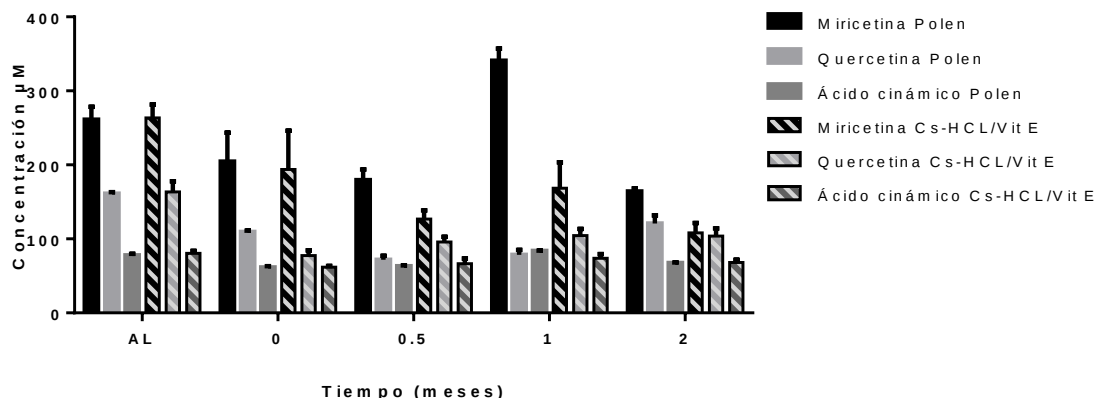


Estabilidad de nanocápsulas de carboximetil quitosano con polen apícola liofilizada con sacarosa 10%

(A) Evolución de tamaño e índice de polidispersión (B) Evolución de la carga superficial. Ensayo realizado durante 2 meses a temperatura ambiente. AL: Antes de liofilizar (Promedio $\pm$ D.S, n= 3).

8.8 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante cuantificación de polifenoles

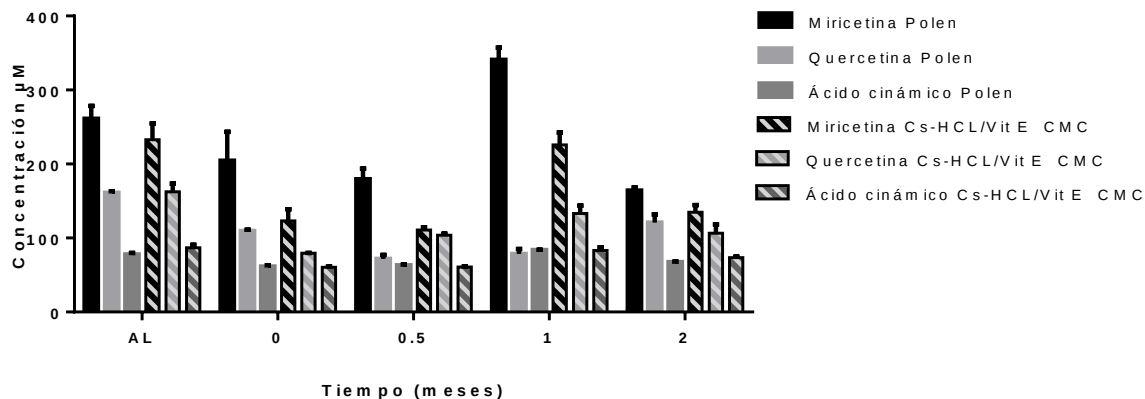
En la figura siguiente se puede observar que los tres polifenoles empleados como marcadores: miricetina, quercetina y ácido cinámico se mantienen dentro de los mismos rangos de concentraciones después de 2 meses de liofilizadas las NC-HCl/Vit E, indicando que este proceso de secado le otorga estabilidad el polen nanoencapsulado.



Estabilidad de polifenoles en nanocápsulas de quitosano con polen apícola liofilizada con sacarosa 10%

AL: Antes de liofilizar. CS-HCl/Vit E: Nanocápsulas de clorhidrato de quitosano con polen apícola

Algo similar se observa para las nanocápsulas de carboximetil quitosano que se muestran en la figura siguiente.



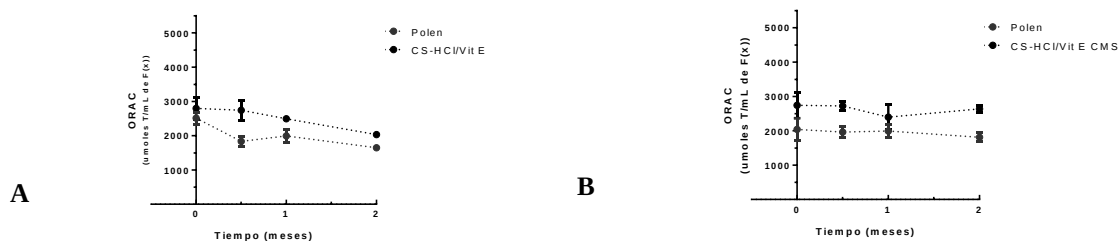
Estabilidad de polifenoles en nanocápsulas de carboximetilquitosano con polen apícola liofilizada con sacarosa 10%

AL: Antes de liofilizar. CS-HCL/Vit E CMC: Nanocápsulas de carboximetilquitosano con polen apícola

Se concluye entonces que el proceso de liofilización de los nanosistemas mantiene la concentración de los polifenoles provenientes del polen por al menos 2 meses.

8.9 Estabilidad de las nanocápsulas liofilizadas mediante actividad antioxidante

En la Figura siguiente se muestran los valores ORAC-FI para las CS-HCL/Vit E y CS-HCL/Vit E CMC antes y después de la liofilización de las muestras. En relación a las CS-HCL/Vit E liofilizadas podemos indicar que presentó una mayor capacidad antioxidante que el extracto de polen liofilizado, lo cual se mantuvo durante los 2 meses de almacenamiento. De igual modo, el comportamiento que mostraron las CS-HCL/Vit E CMC liofilizadas fue semejante durante los tiempos analizados y sostenidamente mayor al valor antioxidante del extracto de polen.



Capacidad antioxidante de nanocápsulas con polen apícola liofilizada

CS-HCL/Vit E: Nanocápsulas de polen apícola con recubrimiento de clorhidrato de quitosano. CS-HCL/Vit E CMC: Nanocápsulas de polen apícola con recubrimiento de carboximetil quitosano.

Anexo 9. Evaluación de permeabilidad por el método PAMPA

9.1. Permeabilidad de polifenoles incorporados en una **nanoemulsión múltiple** obtenidas mediante PAMPA.

Los valores de permeabilidad de los marcadores escogidos incorporados en una nanoemulsión múltiple obtenidas mediante PAMPA, fueron determinados después de 5 h de incubación a 25 °C en buffer salino pH 6,8.

Muestras	Extracto de polen apícola		NEMP		Clorhidrato de Verapamilo
	Quercetina	Ácido cinámico	Quercetina	Ácido cinámico	
Permeabilidad (10^{-6}) cm/s	0	0	$10,2 \pm 0$	$10,5 \pm 0,1$	8,7

(Promedio $\pm$ D.S, n= 3).

Se encontró que la permeabilidad de los marcadores quercetina y ácido cinámico en el extracto de polen apícola es 0; en el caso de los nanoemulsiones con polen apícola encapsulado es posible observar que tanto quercetina como ácido cinámico tuvieron valores de permeabilidad superiores a $0,9 \times 10^{-6}$ cm/s. Con estos resultados se pudo estimar que los polifenoles del polen estudiado, que se encuentran encapsulados en NEMP, tendrán una absorción mayor al 70% *in vivo*.

9.2 Permeabilidad de polifenoles incorporados en una **nanocápsula** obtenidas mediante PAMPA.

En este caso, ninguno de los marcadores empleados: quercetina y ácido cinámico provenientes del polen nanoencapsulado fue posible de cuantificar. Por ello, las nanocápsulas no potenciaron la absorción de estos compuestos.

10. Permeabilidad comparativa de polifenoles libres e incorporados en una nanocápsula obtenidas mediante células MDCK.



POS IBE AF N°036

Informe de Resultados de Estudios de Permeabilidad Comparativa de formulaciones

Fecha	20-08-2021	Ingredientes	Extracto etanolico de polen y Nano emulsion
Tipo de Estudio	Permeabilidad Comparativa de formulaciones	Folios	000243 - 000245
N° de Estudio	002	Analistas	- Danae Contreras Supervisor de Procedimientos
Cliente	Raquel Bridi		

	Número de lote	Marca	Registro ISP	Fecha de vencimiento
Formulación Test	N/A	N/A	N/A	N/A
Formulación referente	N/A	N/A	N/A	N/A

1. Integridad de la monocapa celular realizado en presencia del fármaco en estudio.

La permeabilidad aparente (Papp) del fármaco marcador de integridad de membrana (atenolol) es menor a $0,5 \times 10^{-6}$ cm/s	Cumple	No Cumple
	X	
	Permeabilidad ($\times 10^6$ cm/s)	
	Extracto etanolico	Nano emulsión
	0,17	0,22



2. Permeabilidad del Fármaco en el Extracto etanolico y Nano emulsión

	Permeabilidad aparente Promedio (Papp) (x10 ⁸ cm/s)		Número replicados (n)		Desviación Estándar (DS) (x10 ⁶)		Error Estándar de la Media (SEM) (x10 ⁶)	
	Quercetina	Ac. Cinámico	Quercetina	Ac. Cinámico	Quercetina	Ac. Cinámico	Quercetina	Ac. Cinámico
Extracto etanolico	9,28	4,05	5	8	0,47	0,51	0,21	0,18
Nano emulsión	Quercetina	Ac. Cinámico	Quercetina	Ac. Cinámico	Quercetina	Ac. Cinámico	Quercetina	Ac. Cinámico
	19,1	<LLOQ	7	<LLOQ	0,92	<LLOQ	0,35	<LLOQ

3. Comparación de permeabilidades entre Formulaciones según t-Student

Valor p para significancia	Valor p obtenido
<0,05	8,91x10 ⁻¹⁰

Anexo 11. Programa de la capacitación de los apicultores *on line*



Capacitación “Manejo apícola y aprovechamiento de las potencialidades biológicas del polen apícola”, en el marco del proyecto apoyado por FIA “Nanoencapsulación de polen apícola para el desarrollo de súper alimentos”.

Programa

18:00 – 18:15 Bienvenida. Prof. Gloria Montenegro

18:15 – 18:35 Caracterización botánica y diferenciación de polen. Ing. Agr. Gabriel Núñez

18:35 – 19:00 Manejo sustentable de la cosecha de polen. Ing. Agr. Raúl Rojas

19:00 – 19:15 Potencialidades biológicas del polen apícola. Prof. Raquel Bridi

19:15 – 19:30 Preguntas

Fecha: ~~Viernes~~ Miércoles 21 de julio de 2021; entre 18:00 y 19:15 horas

Modalidad online gratuita mediante la plataforma ZOOM y ~~YouTube~~ YouTube

INFORME PROSPECCIÓN DE MERCADO NANOPOLEN

**Empresa Andes Nutraclinic
Pontificia Universidad Católica de Chile**

Proyecto “Nanoencapsulación de polen apícola para el desarrollo de súper
alimentos” (PYT-2018-0315)

Ximena Ortega

Septiembre 8, 2021

17. Tabla de contenido

1.	Marco del Estudio	101
2.	Objetivos del Estudio	102
General		102
Específicos		102
3.	Metodología	102
4.	Levantamiento e identificación de productos comerciales similares	104
5.	Normativa aplicable	106
6.	Caracterización FODA del Producto	108
7.	Análisis de tendencias de mercado en la categoría del Producto tecnológico y de la propuesta de valor	110
Tendencias para el Producto		110
Propuesta de valor del Producto		111
8.	Síntesis final y recomendaciones	112
9.	Anexos	113

1. Marco del Estudio

El presente Estudio se enmarca en el Proyecto “Nanoencapsulación de polen apícola para el desarrollo de super alimentos” (PYT-2018-0315, en adelante el Proyecto), que tiene como foco la obtención de nuevos productos comerciales para la industria alimentaria a través de la búsqueda de procesos de nanoencapsulación de principios bioactivos de polen apícola para ser usados como ingredientes funcionales saludables.

Este proyecto cuenta con cofinanciamiento de la FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA (FIA), es dirigido por las Investigadoras Raquel Bridi y Gloria Montenegro de la Pontificia Universidad Católica de Chile y tiene como asociados a las empresas Badani y Guevera LTDA, Raúl Antonio Rojas Canales y Andes Nutraclinic, esta última representada por Alejandro Montes.

El objetivo de este Estudio es realizar una prospección de mercado para aportar evidencia sobre la viabilidad de escalamiento de los resultados de investigación del Proyecto, que corresponden a un Producto Innovativo.

A partir de este análisis prospectivo realizado, es posible identificar las estrategias de desarrollo necesarias y las áreas que se propone fortalecer, para asegurar el futuro escalamiento de mercado.

El producto tecnológico a ofrecer es polen apícola en su estado natural, el cual es recogido y almacenado por las abejas para fabricar miel, el cual en su estado natural se presenta en gránulos rodeados por una cubierta protectora de esporopolenina denominada exina; sus propiedades varían de acuerdo a su origen geográfico y botánico (Norma Chilena INN N°3255-2011).

El polen apícola es reconocido internacionalmente y popularmente por sus propiedades beneficiosas, sin embargo, es escasamente utilizado porque los productos disponibles en el mercado se ofrecen en su estado natural y/o en polvo, los cuales no abordan las limitaciones de estabilidad y bioaccesibilidad ya que no permiten aprovechar su actividad antioxidante y antibacteriano como aditivo para alimentos.

La formulación que el Proyecto ofrece al mercado consiste en una nanoemulsión triple (agua-aceite-agua, W/O/W, por sus siglas en inglés) que permite proteger polifenoles, en particular los obtenidos desde una extracción de polen, de manera de mantener y potenciar sus propiedades antioxidantes y antibacterianas, y así poder usarlos como aditivos para alimentos más efectivos y estables. La nanoemulsión comprende quitosano, polifenoles, y otros componentes que permiten mantener las fases W/O/W correctamente (Solicitud de patente PCT/CL2019/050055; 04/07/2019).

En la formulación de nanoencapsulación permite dar mayor estabilidad frente a las condiciones de procesamiento y almacenamiento, y a la vez, ofrecer un aumento de su biodisponibilidad oral a sus propiedades terapéuticas (antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, anticancerígenas), y

nutricionales, permitiendo una amplia gama de aplicaciones en la industria alimentaria y cosmética natural.

2. Objetivos del Estudio

General

Desarrollar una búsqueda prospectiva del potencial de mercado del Producto Tecnológico del proyecto “Nanoencapsulación de polen apícola para el desarrollo de super alimentos”, orientado a la industria de alimentos y nutracéutica, mediante un análisis de comparativo de la oferta, tendencias.

Específicos

- Desarrollar y validar (en conjunto con los líderes del proyecto) el concepto del Producto Tecnológico generado por la investigación.
- Realizar un levantamiento e identificación de productos comerciales similares (competidores actuales).
- Caracterización de las fortalezas y debilidades del Producto con respecto a otros productos similares en el mercado.
- Análisis prospectivo de tendencias de mercado en la categoría del Producto tecnológico y tipificación de potenciales nichos.

3. Metodología

La primera etapa del Estudio consideró la tipificación del **Producto Tecnológico** en conjunto los investigadores y líderes del proyecto liderado por la Profesora Raquel Bridi, para en base a los antecedentes científico tecnológicos generados en el proyecto, definir sus características y atributos diferenciadores. Esta información se sistematizó a través del diseño y desarrollo de las Ficha Técnica de cada producto, que fue validada por la investigadora principal y el representante de la empresa Nutraclinic (Tabla 1).

Una vez caracterizado los resultados de la investigación, se tiene la definición del **Concepto del Producto Tecnológico**, es la base para la realización del levantamiento e identificación de productos comerciales similares (competidores actuales), la caracterización de las fortalezas y debilidades del Producto con respecto a otros productos similares en el mercado, y el análisis de tendencias.

Este enfoque y proceso denominado estudio prospectivo, permite establecer estrategias relativas a la viabilidad del escalamiento innovativo y de su empaquetamiento tecnológico.

La búsqueda se focalizó en el problema técnico y la solución propuesta que aporta el Producto; enfoque utilizado en Chile y a nivel internacional en el ámbito de Propiedad Intelectual de desarrollo de resultados de investigación patentables, que permite descartar dirigir el análisis a la relación objetiva entre el problema y la solución técnica divulgada, y lo más importante, evitar un análisis retrospectivo una vez conocida la invención.

Una adecuada caracterización del **Producto Tecnológico** en conjunto con los investigadores y el grupo directivo del proyecto (que conoce y tiene experiencia en estrategias de escalamiento) es clave para entregar información crítica. Permite un análisis de mercado prospectivo efectivo y eficiente, sin llegar a constituir un estudio de mercado propiamente tal, pero entrega orientaciones concluyentes y recomendaciones sobre la propuesta de valor, cuyo propósito es configurar el entorno asociado a la invención, con el objetivo de contar con información actualizada para tomar decisiones respecto a un eventual proceso de escalamiento y/o modificaciones que se puedan implementar en la tecnología, y/o orientar sobre necesidades de I+D en relación a nuevos ensayos para lograr diferenciarse de lo que ya existe en el mercado.

Tabla 1: Ficha Técnica tipo para cada Producto Tecnológico

1.- Nombre del Producto tecnológico
2.- Definición del producto
3.- Composición del producto
3.- Proceso de obtención
4.- Beneficios o atributos del producto
5.- Presentación y modo de uso sugerido del producto
6.- Mérito innovador del extracto
8.- Palabras clave

Fuente: Elaboración propia, validada con Prof. Raquel Bridi (UC) y Sr. Alejandro Montes (Andes Nutraclinic), mayo/2021.-

4. Levantamiento e identificación de productos comerciales similares

De acuerdo a lo constatado en el mercado internacional por internet, los productos que se transan en la categoría de polen apícola se presenta como un polvo seco, generalmente liofilizado, soluble en agua, en cápsulas y en algunas presentaciones se ofrece como extracto líquido.

Tradicionalmente se ha incluido en la categoría de alimentos naturales por su origen en las colmenas de abejas. Para este ingrediente el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios de la FAO/WHO (JECFA) ha indicado que es un ingrediente de uso aceptable en el procesamiento de alimentos siguiendo con la Buenas Prácticas de Manufactura.

La búsqueda y análisis comparativo dentro de la tipología del producto en estudio, permite detectar más de 730 productos comerciales similares, entre los cuales se destacan dos subcategorías: Polen apícola en polvo ó en estado líquido (extracto acuoso u oleoso); se comercializa en el mercado internacional a granel, o por piezas en su embalaje final (Tabla 2).

Tabla 2: Productos comerciales similares a granel en el mercado internacional

Polen apícola en polvo	Polen apícola en extracto (extracto líquido)
	
Comprende la mayor parte de la oferta, se presenta a granel	Escasos productos en esta subcategoría, se presenta en ampollas o cápsulas
Precios USD\$ 15 – 100 /kilo	Precios USD\$ 1,5 a 5 / pieza
Categoría de Alimentos, Productos para el cuidado de la Salud, Medicina, Belleza; Productos Orgánicos	

Fuente: Elaboración propia a partir del Directorio de Productos *Made in China* de julio, 2021 (Internet).

https://es.made-in-china.com/productSearch?keyword=Productos+de+Extracto+de+Polen&encodeCateCode=&inputkeyword=Productos+de+Extracto+de+Polen+de+Pino&type=Product¤tTab=1&historywords=Sus+Palabras+claves+Recientes¤tCat=¤tRegion=¤tProp=&submitPageUrl=%2Fmulti_tag_search_product%2FPine-Pollen-Extract-Products_uuosunrn.html&parentCat=&otherSearch=¤tAllCatalogCodes=usssssssss%2Cusssssssss%2Cusssssssss%2Cuesssssss%2C

[ueessssss&sgsMembership=&memberLevel=&topOrder=0&size=30&more=más&less=Menos&staticUrl50=%2Ftag_search_product%2FPine-Pollen-Extract-Products_uuosunrn_50_1.html&staticUrl10=%2Ftag_search_product%2FPine-Pollen-Extract-Products_uuosunrn_10_1.html&staticUrl30=%2Ftag_search_product%2FPine-Pollen-Extract-Products_uuosunrn_1.html](#)

Existe abundante información y estudios de mercado de la miel a nivel nacional e internacional, sin embargo, esta es escasa en relación a los restantes productos de la colmena, como es el polen apícola. A nivel mundial los principales países importadores de polen son: Estados Unidos, Alemania, Japón, Francia y Reino Unido. El principal país que transa polen apícola, en su mayor parte a granel, es China.

Respecto a los productos comerciales similares como Producto Terminado, se detecta un rango de precios es significativamente amplio, dada la gran gama de productos que se ofrecen en el mercado a partir del polen apícola y del extracto de polen (Tabla 3).

Tabla 3: Producto comerciales similares existentes en el mercado

Producto comercial / Precio	Formulación / Precio
Bio Nutrition: Extracto de polen de flores sueco 500 mg. - 60 Cápsulas Vegetarianas Precio \$11.550 – 12.836	
Y.S. Eco Bee Farms, Polen de abeja, 200 cápsulas Código del Producto: YSO-86286 Código UPC: 726635862867	
Tongil Apicol Polen 60 ml Vendido y suministrado: Carethy Precio: \$10.006 Enfocado a niños Suministro: gotas	
Tintura, extracto de polen de pino, uso cosmético Precio: US \$6.99	

Extracto de Polen Tintura De Pino 100% orgánica de
relación de 2:1
Precio: CLP \$13 950.80



Fuente: Elaboración propia a partir del Directorio de Productos *Made in China* de julio, 2021 (Internet).

5. Normativa aplicable

El polen apícola nanoencapsulado podrá posicionarse como aditivo alimentario funcional natural o como nutraceutico natural, dando cumplimiento a la normativa, según el mercado objetivo.

El término nutraceutico proviene a su vez de dos palabras: nutriente y farmacéutico- terapéutico. Fue creado en 1989 por Stephen DeFelice, presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina, quien definió la nutraceutica como “un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios para la salud, incluyendo la prevención y/o tratamiento de enfermedades”. Así, un nutraceutico es un producto natural con efecto terapéutico beneficioso contrastado científicamente. La mayor parte de los fármacos provienen de síntesis químicas mientras que los nutraceuticos están compuestos por sustancias naturales bioactivas cuya concentración en activos es mucho mayor a la que puede encontrarse en los alimentos y en la naturaleza.

Las características de los productos nutraceuticos son:

- Ser producto de origen natural
- Estar aislado y purificado por métodos no desnaturalizantes
- Debe aportar efectos beneficiosos para la salud:
 - Mejora de una o más funciones fisiológicas
 - Acción preventiva y/o curativa
 - Mejora de la calidad de vida
 - Contar con estudios reproducibles de sus propiedades bioactivas
 - Contar con estudios en animales de experimentación y en humanos
- Debe ser reproducible y aportar calidad, seguridad y eficacia

En Chile el registro de un producto nutraceutico se debe regir por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA) Ministerio de Salud, que en la Resolución N°860/2017 (Norma Técnica N°191) directrices nutricionales para declarar propiedades saludables de los alimentos. Esta norma entrega un listado de asociaciones permitidas entre un alimento o un factor alimentario y una condición de salud, con sus respectivos requisitos y el marco del mensaje que el alimento puede contener; en términos generales, responsabiliza al fabricante o importador que la información de la rotulación esté debidamente reconocida científicamente, ya que no existe un organismo técnico que lo verifique.

Para los mercados internacionales de un producto nutracéutico, el registro de un alimento funcional y/o nutracéutico para Estados Unidos está a cargo del Instituto Nacional de la Salud (NIH) de ese gobierno, como entidad responsable de la investigación biomédica y de salud pública para ese mercado. Para la Unión Europea, es la European Food Safety Authority (EFSA) que autoriza las declaraciones de propiedades saludables en alimentos que vayan a ingresar a ese mercado.

La normativa específica internacional por mercado, es la siguiente:

Legislación de los Estados Unidos de Norteamérica:

- FDA Code of Federal Regulations: GRAS, Generally recognize as safe.
- Codificación asignada por la Sociedad Americana de Química: CAS 9066059-5 www.cas.org

Legislación de la Comunidad Europea:

- Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives.
- Codificación en el etiquetado de la Comunidad Europea: E1105.
- Codificación por parte del Codex Alimentarius (FAO): Número SIN o número INS 1105

6. Caracterización FODA del Producto

Tabla 4: Entorno interno = Análisis de Fortalezas y Debilidades

Fortalezas	Debilidades
Dominio del proceso de producción y elaboración del producto: Extracto de polen apícola nanoencapsulado para uso nutracéutico	Heterogeneidad de la materia prima: polen apícola
Alto potencial de diferenciación, derivado del alto endemismo y la flora nativa melífera chilena, de la cual provienen los productos apícola nacionales	Disponibilidad incierta de la materia prima; atomización de los productores
Alianza estratégica con la UC, asegura desarrollo y perfeccionamiento de las brechas tecnológicas que queden por superar para lograr procesos competitivos y de alta calidad	Escasos o inexistentes procedimientos estandarizados de cosecha y/o recolección de polen que aseguren estabilidad y calidad
Empresa con experiencia en el desarrollo y lanzamiento de nuevos productos en el mercado nacional e internacional	Incertidumbre en el desarrollo de un proceso productivo competitivo (nanoencapsulación de polen)
Desafío: Se requiere desarrollar un Prototipo de Producto terminado para evaluar factibilidad técnica económica y ensayar formulaciones finales. También es recomendable el montaje de un sistema piloto de fabricación del polen nanoencapsulado, que tuviera total independencia de la Universidad y se aloje en la Unidad de Negocios. Se sugiere además fortalecer alianza con proveedores de polen de alta calidad y pureza.	

Tabla 5: Entorno externo = Análisis de Oportunidades y Amenazas

Oportunidades	Amenazas
Tendencia creciente a un mayor consumo de alimentos y nutraceuticos naturales	Precios internacionales altamente competitivos
Alta valoración alimentaria de los productos de la colmena	Vulnerabilidad de los sistemas apícolas en términos productivos; se enfrentan a ciclos, cambio climático y ocurrencia de enfermedades que afectan su rendimiento cada temporada
Normativa nacional e internacional accesible (técnica y económicamente) por corresponder a la categoría de producto natural	Barreras para-arancelarias derivadas de la Pandemia
Es un producto innovativo que podría desarrollarse con alto valor diferenciador, apoyado en la flora nativa, entorno de la Patagonia y los Andes	El producto podría ser fácilmente imitado, por tanto, se deben tomar resguardos no sólo de la Solicitud de Patente existente, sino del proceso de producción del Producto terminado
Brechas: Posicionarlo como producto único, original; independiente de sus formulaciones; fortalecer alianza con clientes en base a ello.	

7. Análisis de tendencias de mercado en la categoría del Producto tecnológico y de la propuesta de valor

Tendencias para el Producto

- Las tendencias globales hacia el consumo de alimentos saludables que contribuyan en forma natural al bienestar de las personas tienen una clara demanda y valoración creciente a nivel nacional e internacional, en especial, en la situación de vulnerabilidad de salud generalizada que impone la pandemia, donde es cada vez más necesario contar con alimentos y aditivos que aporte en forma natural, propiedades que aporten a la salud humana, como los provenientes de los productos tecnológicos de este estudio, especialmente si están asociados a sistemas de producción sustentables con el medioambiente, como es el caso de la cadena apícola.
- Un aspecto crucial del posicionamiento del Producto está en el respaldo científico tecnológico de sus propiedades, tal como se indica la Fundación para la Innovación Agraria en su documento “Estrategia para el desarrollo de la industria de ingredientes funcionales en Chile” en la que describe y analiza las tipologías de ingredientes funcionales, la industria local y sus mercados globales, tendencias, regulaciones y modelos de negocios (Serie Estudios para la Innovación FIA, 2017).

El país tiene un claro potencial de desarrollo en la categoría de ingredientes funcionales, el cual, con el debido respaldo científico tecnológico, puede aportar en forma relevante a la valorización de los recursos naturales de Chile. Este estudio señala que, a nivel del mercado global, el lanzamiento de nuevos productos en la colmena (parte de la miel) es reducido, lo que confirma el potencial para las invenciones del Nanopolen como lo propone el proyecto.

Destaca que los productos innovadores que se desarrollen (Nanopolen en diferentes formulaciones y/o aplicaciones), deben considerar la disponibilidad de materia prima, la existencia de un soporte científico tecnológico que asegure la confiabilidad de la materia prima y del proceso de obtención de los extractos de polen apícola para ser utilizados como nutraceuticos, donde se ubica el mayor crecimiento a nivel del mercado internacional, con un tamaño cercano a los USD\$80 mil millones en 2018.

- Como todo principio bioactivo proveniente de recursos naturales, los factores de éxito de nuevas líneas de negocios en esta categoría, son la abundancia y rendimiento de la materia prima, la estabilidad del principio activo, su pureza y la matriz de aplicación. Estos elementos permitirán asegurar a los compradores oportunidades estables de desarrollo de negocios.

Propuesta de valor del Producto

- Crea valor social, a través del fortalecimiento de pequeños y medianos productores asociados a la cadena apícola, quienes accederán a nuevos y mejores nichos de mercado para su materia prima (polen), permitiendo mejorar su ingreso familiar y calidad de vida, agregando valor a un producto más de la colmena.
- Valoriza los recursos naturales del país, evolucionando de su explotación y comercialización en su estado natural, y como commodity, para pasar a etapas de mayor valor agregado, como lo es el mercado de nutraceuticos derivados de sistemas productivos sustentables.
- Son productos naturales que podrían integrarse a las estrategias terapéuticas que se utilizan actualmente para contribuir en aspectos específicos, generando efectos saludables y mejorando con ello la calidad de vida de las personas. El mercado demuestra una preferencia de los productos naturales por sobre los sintéticos.

Por ello la búsqueda de componentes bioactivos naturales ha sido considerado como un aporte crítico en la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas, especialmente en enfermedades y segmentos complejos. A su vez, serían compatibles con las terapias actuales de fármacos que tienen altos costos económicos para los pacientes y sistemas de salud públicos y privados.

- Las áreas de ventajas competitivas del deben reforzar su condición de producto natural, exótico, proveniente de sistemas productivos sustentables y/o con denominación de origen, los que serán factores clave para el éxito del posicionamiento de estos productos innovadores. Es de gran relevancia considerar que los claims funcionales exigen ser verificados y tienen mayores costos de tramitación (estudios *in vivo*), de ahí la necesidad de realizar las pruebas o ensayos de aplicaciones técnicas.
- La revisión de productos similares al Proyecto que fueron analizados, permite identificar más de 730 competidores, ninguno de ellos cercano a la invención propuesta por el proyecto respecto a un extracto de Polen apícola nanoencapsulado.

En esta etapa, lo más urgente y relevante es validar el producto desde la perspectiva tecnológica, desarrollar un prototipo de producto terminado (en distintas formulaciones), validar sus atributos y propiedades en términos piloto, y con ello valorizar la inversión científica y tecnológica realizada hasta la fecha, e iniciar un proceso orientado al empaquetamiento tecnológico del producto (entendiendo que lo más probable es que sea una gama de productos). Para ello, se presenta en este documento una síntesis final que aporta en las estrategias y etapas futuras propuestas en esta ruta.

8. Síntesis final y recomendaciones

- El Producto como polen apícola nanoencapsulado no tiene competidores en el mercado nacional e internacional.
- Presenta claras fortalezas y oportunidades para su desarrollo y posicionamiento, sin embargo, debe abordar desafíos para el empaquetamiento y evaluación técnico económica tanto del proceso integral de obtención (extracto + nanoencapsulación), como del desarrollo de las formulaciones que se registrarán en los mercados de destino, según su aplicación o modo de uso. Además, será clave un plan de marketing nacional e internacional enfocado a su origen y atributos.
- La provisión de materia prima (polen apícola) debe ser un aspecto crítico a considerar, tanto en lo referente a alianzas estratégicas con los apicultores, como al desarrollo de protocolos de producción, cosecha y manipulación, que aseguren la cantidad, flujo y validez de la materia prima, para cumplir con los estándares del Producto Final.
- Una vez desarrollado el Producto final bajo el sistema piloto de producción, se sugiere una re-evaluación tecnológica de las propiedades, para someterlas a verificación, ajuste de costo/efectividad y evaluación técnico económica. También ello contribuirá a generar procedimientos de control de calidad del proceso, de las materias primas y del producto final. Se estima que estos puntos pueden llegar a ser más necesarios que un Estudio de Mercado propiamente tal.
- El fortalecimiento permanente de la vinculación con la PUC será un pilar estratégico para la empresa Andes Nutraclinic, por cuanto ello contribuirá a la documentación técnica necesaria para el adecuado respaldo de evidencia necesario en el registro de los Productos.

Septiembre, 2021.

9. Anexos

ANEXO 1

FICHA TÉCNICA DE EXTRACTO DE POLEN NANOENCAPSULADO

Investigadoras Responsables: Profesoras Raquel Bridi de la Facultad de Química y de Farmacia y Gloria Montenegro de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, de la Pontificia Universidad Católica de Chile (UC)

1.- Nombre del Producto tecnológico
NANOEMULSION DE BIOFENOLES DERIVADOS DE POLEN APÍCOLA DE CHILE: UNA OPORTUNIDAD DE INNOVACION SUSTENTABLE PARA LA INDUSTRIA NUTRACEUTICA
2.- Definición del producto
Nanocápsulas diseñadas específicamente para la vehiculación de polifenoles del polen apícola para su administración oral, como aditivo alimentario y productos nutraceuticos con propiedades antioxidante y bactericida (Solicitud de patente PCT/CL2019/050055; 04/07/2019). Se describe como un ingrediente funcional antioxidante preparado con compuestos fenólicos obtenidos a partir de polen apícola que se presentan nanoencapsulados, ese ingrediente debe ser incorporado en productos alimenticios como miel, leche cultivada, yogurt, y nutraceuticos. Estos compuestos nanoencapsulados generan ingredientes estables y biodisponibles. El producto es en una nanoemulsión triple (agua-aceite-agua, W/O/W, por sus siglas en inglés) que permite proteger polifenoles obtenidos desde una extracción de polen apicola, de manera de mantener y potenciar sus actividades antioxidantes, antibacterianas y poder usarlos como aditivos para alimentos. La nanoemulsión comprende quitosano, polifenoles, y otros componentes que permiten mantener las fases W/O/W correctamente.
3.- Composición del producto
El extracto de polen apícola contenido en la nanoemulsión tiene un alto contenido de compuestos fenólico, aún cuando existan variaciones en el origen botánico y geográfico las muestras de Chile (Región Norte, Sur y Central). Además, todas las muestras analizadas de la regiones indicadas poseen actividad antioxidante y antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i>. Caracterización: - Promedio de Polifenomes: 765 mg (EAG/100 g polen) - Promedio Flavonoides: 202 mg (EQ/100 g polen) - Fenoles presentes: Miricetina (180 mg/100 g polen), Quercetina)0 mg/100 g polen), Ácido

cumárico, Ácido absísico
Capacidad antioxidante:
Promedio ORAC = 285 umol (trolox/ g polen)
Promedio FRAP = 75 umol (trolox/ g polen)
<i>Bridi et al. 2019, “Honeybee Pollen Load: Phenolic Composition and Antimicrobial Activity and Antioxidant Capacity”, define marcadores químicos para el control de calidad de la materia-prima (polen apícola), y ensayos de rutina y de bajo costo como fenoles totales pueden ser aplicados para control de calidad.</i>
3.- Proceso de obtención
Etapas:
- Colecta y selección de la materia prima: polen apícola fresco, colectado directamente desde las colmenas de abejas de Chile
- Caracterización botánica del polen apícola
- Preparación de extractos fenólicos (extracción asistida por ultrasonido)
- Caracterización química de los extractos (HPLC-DAD)
- Determinación de la actividad antioxidante
- Determinación de la actividad antibacteriana
Etapas 2:
- Nanoencapsulación de los extractos; evaluación de los parámetros físico-químicos; porcentaje de encapsulación (HPLC-DAD)
- Análisis de estabilidad, de actividad antioxidante y de actividad antibacteriana
Preparación del extracto etanolico: 1g de polen apícola produce 50 mL de extracto etanolico (ver metodología en detalle en Bridi 2019 (adjunto))
Composición de nanoemulsión múltiple W/O/W prototipo:
Componente cantidad
Extracto de polen 1,2 mL
Lauroglicol® 90 900 mg
Quitosano HCl 6 mg
Pluronic F-68® 600 mg
Span® 80 360 mg
Lipoid P75® 60 mg
4.- Beneficios o atributos del producto
- Tiene propiedades antioxidantes y antibacterianas que actúa como conservantes de alimentos, provenientes de su contenido fenólico.
- Debido a su origen, son ingredientes seguros para consumo humano.
- Las nanoestructuras son considerados sistemas estables optimizan la biodisponibilidad,

permitiendo la liberación controlada de las moléculas que han sido encapsuladas, obteniendo un producto con mayor estabilidad y mayor absorción gastrointestinal. Asimismo, el sabor desagradable de la mayoría de compuestos fenólicos también es factor limitante de su aplicación.

- Hay disponibilidad de materia prima a lo largo del país, ya que los estudios científicos que respaldan este producto innovativo demuestran que, con variaciones en el origen botánico y geográfico las muestras de Chile (Región Norte, Sur y Central) se mantiene su alto contenido de compuestos fenólico y actividad antibacteriana.
- Por ser un producto de la colmena y vinculado y presente en la miel de abeja, es en si mismo un alimento saludable, demostrando que no es tóxico, lo que contribuirá a contar con registro legal : excipiente farmacéutico, excipiente de uso alimentario o ser reconocido como GRAS (del inglés “Generally Recognized As Safe”).
- Origen natural y sustentable ya que proviene de sistemas productivos apícolas de la zona norte, central y sur de Chile. El polen corresponde a un producto secundario de la colmena y es colectado por las abejas de su actividad melífera. La recolección, manipulación y procesamiento del polen como materia prima y la formulación de los productos finales, se realiza utilizando prácticas limpias, sin el uso de preservantes, colorantes, ni saborizantes artificiales.

5.- Presentación y modo de uso sugerido del producto

- El Producto tecnológico desarrollado contribuye a fortalecer y diversificar la competitividad y sustentabilidad del *cluster* agroalimentario nacional, en especial de las empresas de compuestos bioactivos naturales.
- Responde las necesidades del mercado actual, o sea alimentos funcionales desarrollados a partir de estudios de eficacia y seguridad y además control de calidad estricto e ingredientes cuyo origen se puede rastrear hasta su fuente.
- El polen apícola vehiculizado utilizando nanosistemas ofrece una solución para los factores limitantes de la aplicación del polen en la industria nutracéutica a nivel masivo, como la baja solubilidad en agua, la fragilidad frente a la acción de agentes externos, el sabor desagradable, además de la baja biodisponibilidad y estabilidad gástrica. Permite aprovechar sus atributos sin riesgo para fortificar cualquier producto alimenticio con la finalidad de agregarle beneficios para la salud.
- Los clientes potenciales son empresas dedicadas al desarrollo, producción y comercialización de productos bioactivos, las cuales disponibilizan estos ingredientes para los sectores de alimentación funcional, nutracéuticos y farmacéutico. También puede ser utilizado en bebidas (jugos, agua fortificada, bebidas para niños, bebidas funcionales, lácteos, etc.) y alimentos (yogurt, barras nutritivas, cereales, pan, carnes, y para desarrollo de suplementos alimenticios (comprimidos, cápsulas, gomas, polvos, efervescentes, geles).

6.- Mérito innovador del extracto
Se identifica que los compuestos fenólicos del polen apícola cuando presentados en las nanoestructuras propuestas presentan mayor actividad antioxidante, antimicrobiana, mayor permeabilidad in testes in vitro, y mayor estabilidad general. Ventajas del Producto: - Mayor actividad antioxidante y antibacteriana de los productos encapsulados en comparación a los productos estándar (polen fresco), frente a bacterias patógenas. - Mayor estabilidad en el tiempo de los productos encapsulados en comparación a las matrices no encapsulados. - Mejores características organolépticas (sabor neutro) en comparación a las matrices no encapsulados. - Mayor absorción y permeabilidad a nivel intestinal de los productos encapsulados respecto a las matrices no encapsuladas.
8.- Palabras clave (Indique las palabras claves, en español o inglés, más representativas para hacer la búsqueda del estado de la técnica).
Polen apícola; Extracto de polen, antioxidantes naturales

Agosto, 2021.