

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología

Area de Nutrición y Bromatología

**COLOR, ORIGEN BOTANICO Y COMPOSICION DEL
POLEN APICOLA**

SOLEDAD MUNIATEGUI LORENZO

1989



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología

Area de Nutrición y Bromatología

COLOR, ORIGEN BOTANICO Y COMPOSICION DEL POLEN APICOLA

Memoria presentada por **Soledad Muniategui Lorenzo** en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela, para optar al Grado de Doctor.

Santiago de Compostela, Enero de mil novecientos ochenta y nueve.



La lectura de esta memoria tuvo lugar el día 15 de Marzo de 1989, en la Facultad de Farmacia de Santiago de Compostela, ante el Tribunal constituido por los Profesores:

Presidente: Dr. D. José Andrés Cañadel.

Vocales:

Dra. Dña. M^a Asunción Lage Yusty

Dr. D. León Villanúa Fungairiño

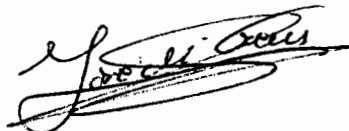
Dr. D. José Bello Gutiérrez

Secretario: Dr. D. José M^a Creus Vidal

Ha recibido la calificación de "APTO CUM LAUDE".

Esta Tesis Doctoral fué realizada en el Area de Nutrición y Bromatología del Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela.

Fueron directores el Dr. D. Jesús Simal Lozano, Catedrático de Análisis Químico, Bromatología y Toxicología y el Dr. D. José Francisco Huidobro Canales, Profesor Titular del Area de Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela.



Fdo. Dr. D. J.M^a Creus Vidal
Secretario



JESUS SIMAL LOZANO, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUIMICA ANALITICA, NUTRICION Y BROMATOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA:

AUTORIZA a Dña. Soledad Muniategui Lorenzo a presentar el trabajo titulado "COLOR, ORIGEN BOTANICO Y COMPOSICION DEL POLEN APICOLA", realizado bajo la dirección del Dr. D. Jesús Simal Lozano y el Dr. D. José Francisco Huidobro Canales, en los Laboratorios de Bromatología de la Facultad de Farmacia de Santiago de Compostela.



Fdo. Prof. Dr. D. Jesús Simal Lozano

Santiago de Compostela, Enero de mil novecientos ochenta y nueve.



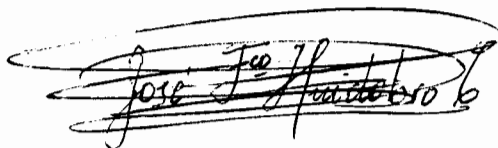
JESUS SIMAL LOZANO, CATEDRATICO DE ANALISIS QUIMICO APLICADO, BROMATOLOGIA Y TOXICOLOGIA, Y JOSE FRANCISCO HUIDOBRO CANALES, PROFESOR TITULAR DE LAS MISMAS DISCIPLINAS

CERTIFICAN: Que la Tesis titulada "COLOR, ORIGEN BOTANICO Y COMPOSICION DEL POLEN APICOLA", presentada por la Licenciada en Farmacia Dña. Soledad Muniategui Lorenzo, para optar al Grado de Doctor, ha sido realizada bajo nuestra dirección en los Laboratorios de Bromatología de la Facultad de Farmacia de Santiago de Compostela.

Y para que conste, se expide la presente en Santiago de Compostela, Enero de mil novecientos ochenta y nueve.



Fdo. Prof. Dr. J. Simal Lozano



Fdo. Prof. Dr. J.F. Huidobro Canales



Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a los directores de este trabajo, Prof. Dr. D. Jesús Simal Lozano y Prof. Dr. D. José Francisco Huidobro Canales, por su constante orientación y apoyo.

Al Dr. D. Luciano Angel Terradillos Lamas, de este Departamento, por su ayuda de inestimable valor en el estudio del origen botánico.

A la Prof. Dra. Dña. Julia López Hernandez, de este Departamento, por su orientación y ayuda en las determinaciones mediante HPLC.

A la Prof. Dra. Dña. María Asunción Lage Yusty, Prof. Dr. D. José María Creus Vidal, Prof. Dr. D. Perfecto Paseiro Losada, Prof. Dr. D. Alberto Cepeda Sáez y demás compañeros del Departamento, por su ayuda y cordial ambiente de trabajo que en todo momento me han proporcionado.

Al Dr. D. Ramón Cancela Rey, de los Servicios Informáticos de la Universidad de Santiago de Compostela, por sus orientaciones en el "análisis cluster" de los datos.

Mi reconocimiento a los Departamentos de Edafología y Físico-química de la Facultad de Farmacia y en especial al Prof. Dr. D. Francisco Guitian Rivera por su orientación en el manejo del espectrofotómetro en la determinación del color y al Prof. Dr. D. Juan Carlos García Monteagudo por su ayuda en el programa aplicado en los cálculos del color.

A la Prof. Dra. Dña. María Jesús Aira Rodríguez del Departamento de Botánica por su ayuda en el análisis polínico.

Al Prof. Dr. D. Manuel Sanmartín Durán, del Departamento de Parasitología por su colaboración en la realización de la parte fotográfica de este trabajo.

Al Prof. Dr. D. José M^a Calleja Suárez del Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia por su orientación en el manejo de programas informáticos.

A D. Andrés Docampo Darriba de los Servicios Informáticos de la Universidad de Santiago de Compostela.

Deseo agradecer así mismo a la Diputación Provincial de La Coruña, por la concesión de la Beca de Investigación para Postgraduados durante los cursos 1986 al 1988 y a la Consellería de Educación de la Xunta de Galicia, por la Beca de Investigación durante el curso 1988-89, contribuyendo a mi formación científica.

Y por último, a todos aquellos que de una u otra forma han contribuído también en esta labor.

INDICE GENERAL

INDICE DE FIGURAS	XVII
INDICE DE TABLAS	XXI
ABREVIATURAS Y SIMBOLOS.....	XXIII

1.- INTRODUCCION

1.1.- Definición	3
1.2.- Estructura.....	4
1.3.- Plantas poliníferas.....	6
1.4.- Recolección y procesado	11
1.5.- Aspecto exterior.....	14
1.5.1.- Color de los gránulos de polen	14
1.5.2.- Tamaño y peso de los gránulos.....	16
1.6.- Composición.....	17
1.6.1.- Agua	17
1.6.2.- Hidratos de carbono	17
1.6.3.- Proteínas	19
1.6.4.- Extracto etéreo.....	23
1.6.5.- Vitaminas.....	23
1.6.6.- Sales minerales	24
1.7.- Aplicaciones: Importancia y valor alimenticio.....	26
1.8.- Producción y comercio.....	28
1.9.- Control de calidad y Legislación	30
1.9.1.- Factores de control de calidad.....	30
1.9.2.- Legislación.....	31
1.10.- Consideraciones sobre algunos de los parámetros estudiados	32
1.10.1.- Origen botánico del polen apícola. Morfología y análisis polínico ...	32

1.10.1.1.- Morfología.....	32
1.10.1.2.- Análisis polínico.....	42
1.10.1.2.1.- Examen al natural.....	42
1.10.1.2.2.- Acetolisis.....	44
1.10.2.- Lípidos.....	45
1.10.2.1.- Lípidos totales.....	45
1.10.2.2.- Ácidos grasos.....	49
1.10.2.3.- Esteroles.....	52
1.10.2.4.- Carotenoides.....	57
2.- OBJETO DEL TRABAJO.....	63
3.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICAS DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS	
3.1.- Color.....	67
3.2.- Origen botánico.....	67
3.3.- Agua, hidratos de carbono y proteínas.....	70
3.4.- Determinación de lípidos totales.....	70
3.4.1.- Separación de lípidos neutros.....	72
3.4.1.1.- Cromatografía líquida de alta resolución.....	72
3.4.1.2.- Cromatografía en capa fina.....	76
3.4.2.- Saponificación y extracción del residuo insaponificable.....	77
3.4.3.- Separación de la fracción esterólica.....	78
3.4.3.1.- Separación por precipitación con digitonina.....	78
3.4.3.2.- Separación por cromatografía en capa fina.....	78
3.4.3.3.- Separación por cromatografía en columna.....	79
3.4.4.- Análisis de la fracción esterólica.....	80
3.4.4.1.- Análisis por cromatografía de gases.....	81
3.4.4.2.- Análisis por cromatografía de gases asociada a otras técnicas.....	82

3.4.5.- Determinación de carotenoides.....	84
--	----

4.- PARTE EXPERIMENTAL

4.1.- Muestras	87
4.2.- Tratamiento de las muestras	87
4.3.- Color	89
4.4.- Determinación del origen botánico mediante microscopía óptica.....	89
4.4.1.- Fundamento.....	89
4.4.2.- Reactivos	90
4.4.3.- Material y aparatos.....	90
4.4.4.- Procedimiento	90
4.4.5.- Identificación	91
4.4.6.- Contaje y expresión de resultados.....	92
4.5.- Determinación de agua, hidratos de carbono y proteínas.....	101
4.5.1.- Agua	101
4.5.2.- Hidratos de carbono	101
4.5.3.- Proteínas	102
4.6.- Determinación de la grasa total.....	102
4.6.1.- Desección de la muestra.....	103
4.6.1.1.- Objeto.....	103
4.6.1.2.- Material y aparatos.....	103
4.6.1.3.- Procedimiento.....	103
4.6.2.- Hidrólisis de la muestra	103
4.6.2.1.- Objeto.....	103
4.6.2.2.- Reactivos	104
4.6.2.3.- Material y aparatos.....	104
4.6.2.4.- Procedimiento.....	104
4.6.3.- Extracción de la grasa	105
4.6.3.1.- Fundamento.....	105

4.6.3.2.- Reactivos, material y aparatos	105
4.6.3.3.- Procedimiento.....	105
4.6.3.4.- Cálculos	106
4.7.- Algunos parámetros fisicoquímicos de la grasa.....	106
4.8.- Separación de lípidos neutros por cromatografía líquida de alta resolución	107
4.8.1.- Objeto.....	107
4.8.2.- Reactivos	107
4.8.3.- Material y aparatos.....	107
4.8.4.- Condiciones cromatográficas.....	108
4.8.5.- Procedimiento	108
4.8.6.- Identificación y comprobación de las fracciones por cromatografía en capa fina	109
4.8.7.- Cuantificación de los picos.....	109
4.8.8.- Precisión.....	109
4.9.- Determinación de los ácidos grasos por cromatografía gaseosa	110
4.10.- Determinación de la fracción de esteroides por cromatografía gaseosa.....	111
4.10.1.- Fundamento.....	111
4.10.2.- Saponificación de la grasa y extracción de la materia insaponificable.....	111
4.10.2.1.- Reactivos	111
4.10.2.2.- Material y aparatos	112
4.10.2.3.- Procedimiento.....	112
4.10.2.4.- Cálculos.....	113
4.10.3.- Aislamiento de la fracción de esteroides por cromatografía en capa fina	113
4.10.3.1.- Reactivos	113
4.10.3.2.- Material y aparatos	113

4.10.3.3.- Procedimiento.....	114
4.10.4.- Separación de los componentes de la fracción de esteroides por cromatografía gaseosa	115
4.10.4.1.- Reactivos	115
4.10.4.2.- Material y aparatos	115
4.10.4.3.- Procedimiento.....	116
4.10.4.4.- Condiciones cromatográficas.....	117
4.10.4.5.- Identificación de los picos.....	117
4.10.4.6.- Precisión	118
4.11.- Determinación de carotenoides.....	118
4.11.1.- Objeto.....	118
4.11.2.- Reactivos	118
4.11.3.- Material y aparatos	118
4.11.4.- Condiciones cromatográficas.....	120
4.11.5.- Procedimiento.....	120
4.11.6.- Identificación y comprobación mediante cromatografía en columna	120
4.11.7.- Cuantificación.....	121
4.11.8.- Precisión	121

5.- RESULTADOS Y DISCUSION

5.1.- Coloración de los gránulos de polen	125
5.2.- Origen botánico	125
5.3.- Fracción lipídica.....	176
5.3.1.- Extracto graso y fracción insaponificable.....	176
5.3.2.- Lípidos neutros	179
5.3.3.- Fracción esterólica.....	184
5.3.4.- Carotenoides.....	194
5.4.- Valor calórico del polen apícola.....	194

5.5.- Análisis estadístico de los datos. "Análisis cluster".....	199
5.5.1.- "Análisis cluster" del origen botánico.....	202
5.5.2.- "Análisis cluster" del extracto graso total.....	206
5.5.3.- "Análisis cluster" de la fracción insaponificable.....	209
5.5.4.- "Análisis cluster" de los lípidos neutros	209
5.5.5.- "Análisis cluster" de la fracción esterólica.....	216
5.5.6.- "Análisis cluster" de los carotenoides	219
5.5.7.- "Análisis cluster" de todos los parámetros que hacen referencia a la grasa.....	224
5.6.- Correlación del origen botánico con el color y carotenoides del po- len apícola	237
5.6.1.- Correlación entre el origen botánico y color	237
5.6.2.- Correlación entre origen botánico y carotenoides.....	239
6.- CONCLUSIONES.....	245
7.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	251

INDICE DE FIGURAS

1.- Estructura de las cubiertas de un grano de polen	4
2.- A) Cestilla de polen en la pata trasera de la abeja obrera. B) Formación del gránulo de polen en la corbícula.....	13
3.- Orientación del grano de polen en la tétrada.....	34
4.- Contorno ecuatorial del polen en vista polar	36
5.- Ornamentación del polen.....	39
A) Diagrama de las diversas formas de los elementos esculturales.	
B) Diagrama de la ornamentación del polen en vistas longitudinal y radial	
6.- Aperturas	41
7.- Aspecto de una sexina según se observe en enfoque alto o bajo	45
8.- Principales esteroides presentes en el polen.....	53
9.- Estructura de los carotenoides.....	59
10.- Localización de los domicilios sociales de las casas envasadoras de las muestras de polen apícola comercial analizadas	88
11.- Polen de <i>Cistus ladaniferus</i> L.	93
12.- Pólenes de 1.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. 2.- <i>Rubus</i> sp. 3.- Papilionaceae Tipo Genista	93
13.- Pólenes de: 1.- <i>Campánula</i> sp. 2.- <i>Quercus</i> sp.....	95
14.- Polen de Papilionaceae Tipo Vicia.....	95
15.- Pólenes de: 1.- <i>Eucaliptus</i> sp. 2.- <i>Cistus clusii</i> Dunal.....	95
16.- Polen de Compositae Tipo S (<i>Serratula</i> sp.).....	95
17.- Pólenes de Compositae Tipo T (<i>Taraxacum</i> sp.) 2.- <i>Quercus</i> sp.....	97
18.- Polen de <i>Echium</i> sp.	97
19.- Polen de <i>Papaver</i> sp.....	97

20.- Pólenes de: 1.- Ericaceae 2.- Rosmarinus officinalis L.....	97
21.- Vista general de campo. Pólenes de: 1.- Ericaceae 2.- Cistus ladaní- ferus L. 3.- Papaver sp.....	99
22.- Vista general de campo. Pólenes de: 1.- Helianthus annus L. 2.- Euca- liptus sp. 3.- Papilionaceae Tipo Vicia 4.- Campanula sp. 5.- Cistus clusii Dunal.....	99
23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apíco- la estudiadas.....	160
24.- Frecuencia de aparición de los taxones identificados en las 32 mues- tras de polen apícola estudiadas	176
25.- Distribución del porcentaje de extracto etéreo (ms).....	178
A) Sin hidrólisis clorhídrica previa	
B) Con hidrólisis clorhídrica previa	
26.- Distribución del porcentaje de la fracción insaponificable (ms).....	178
27.- Cromatograma de las distintas clases de lípidos neutros separados me- diante HPLC.....	181
28.- Cromatograma de patrones de lípidos neutros aislados mediante HPLC.....	182
29.- Distribución del porcentaje en área de las clases de lípidos neutros aislados por HPLC en las muestras de polen apícola estudiadas	186
30.- Cromatograma de la fracción esterólica separada mediante GLC de una muestra de polen apícola.....	188
31.- Distribución del porcentaje en área de los distintos componentes de la fracción esterólica aislados en las muestras de polen apícola estu- diadas.....	191
32.- Cromatograma de la fracción esterólica de la muestra de polen apí- cola n ^o 22, donde se observa el delta ⁷ -estigmasterol	193

33.- Cromatograma de los carotenoides del polen apícola aislados mediante HPLC.....	195
34.- Distribución del porcentaje en área de los carotenoides del polen apícola expresados en mg/100 g de grasa.....	197
35.- Distancias entre "clusters" según el método de enlace	201
36.- "Dendrograma" del origen botánico de las muestras de polen analizadas	
a) "Enlace sencillo"	203
b) "Enlace centroide".....	204
37.- Dendrograma del extracto etéreo de las muestras de polen apícola analizadas	
a) "Enlace sencillo"	207
b) "Enlace centroide".....	208
38.- "Dendrograma" de la fracción insaponificable de las muestras de polen apícola analizadas	
a) "Enlace sencillo"	210
b) "Enlace centroide".....	211
39.- "Dendrograma" de los lípidos neutros de las muestras de polen apícola analizadas	
a) "Enlace sencillo"	213
b) "Enlace centroide".....	214
40.- "Dendrograma" de la fracción esterólica de las muestras de polen apícola analizadas	
a) "Enlace sencillo"	217
b) "Enlace centroide".....	218
41.- "Dendrograma" de los carotenoides de las muestras de polen apícola analizadas	
a) "Enlace sencillo"	222
b) "Enlace centroide".....	223

42.- "Dendrograma" de todos los parámetros referentes a la grasa	
a) "Enlace sencillo"	225
b) "Enlace centroide"	226
43.- "Dendrograma de todos los parámetros referentes a la grasa con excepción del valor de carotenoides. "Enlace centroide"	227
44.- Histograma de distancias entre casos del origen botánico de las muestras de polen apícola analizadas.	229
45.- Histograma de distancias entre casos del extracto graso de las muestras de polen apícola analizadas	230
46.- Histograma de distancias entre casos de la fracción insaponificable de las muestras de polen apícola analizadas	231
47.- Histograma de distancias entre casos de los lípidos neutros de las muestras de polen apícola analizadas	232
48.- Histograma de distancias entre casos de la fracción esterólica de las muestras de polen apícola analizadas	233
49.- Histograma de distancias entre casos de los carotenoides de las muestras de polen apícola analizadas	234
50.- Histograma de distancias entre casos de todos los parámetros referentes a la grasa de las muestras de polen apícola analizadas	235
51.- Histograma de distancias entre casos de todos los parámetros referentes a la grasa con excepción del valor de los carotenoides de las muestras de polen apícola analizadas	236

INDICE DE TABLAS

I.- Contenido en agua (%) en el polen según diferentes autores.....	18
II.- Resultados del contenido en azúcares (%) de muestras comerciales de polen apícola	20
III.- Aminoácidos presentados como porcentaje de proteína en crudo según distintos autores	21
IV.- Valores de nitrógeno total, proteína bruta, aminoácidos en % (ms) y relación glutámico/prolina en muestras de polen apícola comercial	22
V.- Valores de ciertos índices de la grasa del polen apícola comercial	24
VI.- Contenido en vitaminas según distintos autores	25
VII.- Contenido en minerales	26
VIII.- Producción española de polen apícola (1974-1983)	29
IX.- Exportaciones de polen apícola español 1980-1982 (Kg).....	30
X.- Clases de área polar	34
XI.- Nomenclatura según la forma, en vista meridiana de granos isopolares radiales	36
XII.- Tamaño de los granos de polen	37
XIII.- Porcentaje de lípidos totales en el polen según referencias bibliográficas.....	48
XIV.- Precisión de los porcentajes de área obtenidos en la determinación de lípidos neutros	110
XV.- Precisión de los porcentajes de áreas obtenidos en la determinación de esteroides en el polen apícola.....	119
XVI.- Precisión de la determinación de carotenoides (mg/100 g).....	122
XVII.- Origen botánico de cada una de las muestras analizadas de polen apícola	128

XVIII.- Resultados en porcentaje en peso del extracto etéreo e insaponificable de las muestras de polen apícola comerciales analizadas	177
XIX.- Valores de R_f de las fracciones de lípidos neutros separadas por HPLC y desarrolladas por TLC.....	183
XX.- Resultados en porcentaje en área de los lípidos neutros aislados en las muestras de polen apícola comercial analizadas mediante HPLC ...	185
XXI.- Resultados en porcentaje en área de los esteroides presentes en las muestras de polen apícola comercial analizadas mediante GLC.....	189
XXII.- Resultados de los carotenoides expresados en β-caroteno (mg/100g de grasa) de las muestras de polen apícola comercial analizadas mediante HPLC	196
XXIII.- Calorías aportadas por los hidratos de carbono (expresados en glucosa), proteínas y grasa, así como su valor total referido a 100 g de ms, hallados en las muestras de polen apícola comercial analizadas.....	198
XXIV.- Características de entrada para la ejecución del programa BMDP2M	200
XXV.- Promedios y desviación estándar de los "clusters" formados con los lípidos neutros de las muestras de polen apícola analizadas.....	215
XXVI.- Promedios y desviación estándar de los "clusters" formados con la fracción esterólica de las muestras de polen apícola analizadas	220

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

AOAC= Association of Official Analytical Chemists

Art= Artículo

BOE= Boletín Oficial del Estado

Cass= Cassini

Cav= Cavanilles

CD= Aug. Pyr. de Candolle

cm^{-1} = Centímetro menos uno

cm= Centímetro

$C_v\%$ = Coeficiente de variación por ciento

Desf= Desfontaines

Englem= Engelmanm

ev= Electrón voltio

FID= Detector de ionización de llama

g= Gramos

Gaertn= Gaertner

GLC= Cromatografía gas-líquido

HPLC= Cromatografía líquida de alta resolución

IR= Infrarrojo

Jack= Jacquin

Kcal= Kilocaloría

L= Linneo

l= Litro

Lam= Lamark

mg= Milígramo

min=Minuto

ml= Mililitro
mm= Milímetro
mod= Modelo
MS= Espectroscopía de masas
ms= Materia seca
N= Normal
nd= No determinado
ni= No identificado
nm= Nanómetro
nº= Número
p/p= Peso/peso
p/v= Peso/volumen
pa= Para análisis
pH= Potencial de hidrogeniones
Ref= Referencia
R_f= Factor de retención
RMN= Resonancia magnética nuclear
rpm= Revoluciones por minuto
Schröd= Schrader
Scop= Scopoli
SEO= Sociedad Española de Oxígeno
S_{n-1} = Desviación estándar
sp= Especie
Temp= Temperatura
TLC= Cromatografía en capa fina
tr= Trazas
TR= Tiempo de Retención
TRR= Tiempo de retención relativo

UNE= Una Norma Española

UV= Ultravioleta

v/v= Volumen/volumen

V= Volumen

Var= Variedad

Vill= Villars

Vis= Visible

\bar{X} = Promedio

%= Tanto por ciento en peso

°Bé= Grados Baumé

°C= Grados centígrados







1.- Introducción



El polen es conocido por el hombre desde la antigüedad como alimento potencial (SAENZ, 1978). Por su contenido en proteínas, hidratos de carbono, lípidos, minerales y vitaminas, representa la fuente insustituible de la alimentación de las larvas y abejas jóvenes, siendo indispensable para su crecimiento.

Esta interesante composición permite asegurar su uso en la alimentación humana ya que además de lo mencionado anteriormente posee 20 de los 22 aminoácidos de nuestras proteínas (PERIS, 1984).

En la actualidad existe una tendencia generalizada hacia el uso de productos naturales, por lo que el polen es cada vez más apreciado con objeto de paliar las carencias de nuestra alimentación actual.

Este producto no se menciona en el Código Alimentario Español (1967) citándose desde 1976 dentro de la Reglamentación Técnico Sanitaria sobre preparados alimenticios para regímenes dietéticos y/o especiales (BOE, 1976). Figura registrado, por una parte como polen de flores en productos de parafarmacia en el apartado de regímenes tradicionales y por otra, como especialidad farmacéutica (desde 1987) dentro de los urológicos en forma de comprimidos, conteniendo las fracciones oleosoluble e hidrosoluble del polen.

1.1.- DEFINICION

El polen como término botánico proviene del latín "*pollen-inis*" que significa "polvo muy fino" y fué usado por LINNÉ e incorporado al castellano por CAVANILLES (SAENZ, 1978).

Al no disponer de definiciones legales, tomaremos de algunos autores el concepto de este alimento. Según PERIS (1984) "el polen apícola es el resultado de la aglutinación del polen de las flores efectuado por las

abejas pecoreadoras mediante néctar y sus propias sustancias salivares, que el hombre utiliza tras su recolección en los "cazapólenes" y subsiguiente elaboración (deseccación, limpieza y envasado)". A diferencia del polen floral, que es el recogido a mano directamente de la planta.

1.2.-ESTRUCTURA

El grano de polen se forma en la antera (órgano masculino de la flor) cuyo interior está tapizado por un tejido que produce las células madres. Estas poseen un núcleo diploide voluminoso que sufrirá dos divisiones sucesivas, para producir cuatro células con núcleos haploides que darán luego cuatro esporas, que en las espermatofitas evolucionarán a granos de polen. Estas cuatro células forman una tétrada que se disociará generalmente a la madurez del polen. La posición del grano en la tétrada, le confiere caracteres permanentes. Al madurar el polen, se rompe el tejido que lo encierra y queda libre (DUPRE, 1979).

El grano de polen está dotado de una cubierta resistente llamada *esporodermis*, que preserva el protoplasto o fóvula de su posible destrucción en caso de condiciones adversas. Esta membrana protectora está formada por dos paredes: la más interna recibe el nombre de *intina* y la más externa es la *exina* (Véase Figura 1).

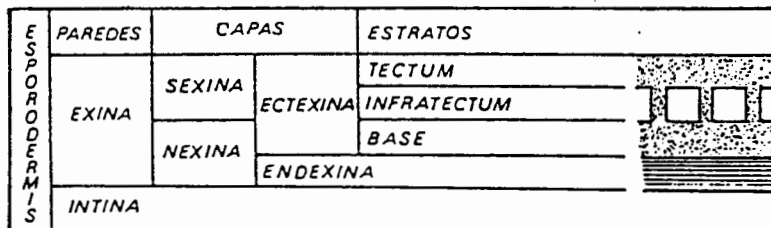


FIGURA 1.- Estructura de las cubiertas del grano de polen (SAENZ 1978)

La intina es una cubierta simple y continua, que limita con la célula polínica. Tiene una función protectora complementaria de la exina, especialmente cuando esta capa presenta grietas, poros, etc... Se destruye con facilidad, llegando en el polen fósil o acetolizado a desaparecer completamente. Por otra parte la exina, capa más externa del grano que rodea a la intina, presenta una cubierta compleja y discontinua y una resistencia a la destrucción de las mayores del reino vegetal, siendo únicamente degradada por agentes oxidantes fuertes como el ácido crómico.

El compuesto químico fundamental de la exina es la *esporopolenina* y según BROOKS y SHAW (1968 a y b) se forma por polimerización oxidativa de carotenos y ésteres de carotenos en proporciones variables (SAENZ, 1978).

La exina está formada por dos capas llamadas respectivamente, de dentro a fuera, *endexina* y *ectexina*, según términos de FAEGRI (1956). Sin embargo, ERDTMAN (1952) distingue dentro de la exina dos capas diferenciables sólo morfológicamente: *nexina* (interna) y *sexina* (externa). El término *nexina* proviene de n-exina (no estructurada-exina) y por el contrario el término *sexina*, proviene de s-exina (estructurada-exina). Siendo la diferencia fundamental entre ambas nomenclaturas que en el primer caso, las capas *ectexina*-*endexina* son diferenciables químicamente, mientras que la *sexina*-*nexina* sólo lo son por su morfología. En los últimos años se ha acordado utilizar preferentemente la nomenclatura de FAEGRI (1956) por corresponderse a una constitución más real de la exina.

Así, la *endexina* tiene una estructura lisa y homogénea mientras que la *ectexina* puede presentar elementos esculturales que permiten la identificación de los pólenes. Esta última consta de tres niveles distintos: el

téctum (techo) con un relieve suprategal, el *infratéctum* (con columnelas) y la *base* (suelo). El más externo o *téctum* reposa sobre las columnelas del *infratéctum*, que a su vez descansan sobre la base.

La esporodermis de los granos de polen, en general presenta unas zonas de adelgazamiento o rotura, llamadas *aperturas* que corresponden a posibles puntos de salida de tubo polínico (SAENZ, 1978).

1.3.- PLANTAS POLINIFERAS

Bajo el epígrafe de "plantas poliníferas" se presentan aquellas plantas que despiden polen en grandes proporciones y que por el contrario, secretan néctar en pequeña cantidad. La producción y riqueza del polen, al igual que del néctar, varía con la clase de planta, así como, con las condiciones ambientales a que se encuentre sometida (humedad del suelo y atmosférica, temperatura, luz, etc.).

A continuación se recogen las principales especies botánicas que están presentes en el polen apícola, según los datos obtenidos por diversos autores, entre los que figuran: BATTAGLINI y BOSSI (1968), ROOT (1976), McGREGOR (1979), COBO (1984), GOMEZ (1984), GOZALBEZ (1984), SERRA, GOMEZ y GONELL (1985), y PEREZ, GOMEZ y MOLINS (1987).

Aceraceae: Acer sp.

Amaryllidaceae: Narcissus sp.

Araliaceae: Hedera helix L.

- Betulaceae:** *Alnus* sp.
Betula sp.
- Borraginaceae:** *Anchusa* sp.
Borrago officinalis L.
Echium vulgare L.
E. plantagineum L.
Heliotropium sp.
Lythospermum sp.
Myosotis sp.
- Campanulaceae:** *Campanula* sp.
- Caprifoliaceae:** *Lonicera* sp.
Sambucus sp.
- Caryophyllaceae:** *Lychnis* sp.
Stellaria sp.
- Cistaceae:** *Cistus albidus* L.
C. clusii Dunal.
C. ladaniferus L.
C. laurifolius L.
C. monspeliensis L.
C. populifolius L.
C. salvifolius L.
Halemium viscosum (Wilk) P. Silva.
Helianthemum lavandulifolium (Link) DC.

H. asperum Lag ex Dunal.

H. cinereum (cev) Pers.

- Compositae:** Tipo C (*Centaurea cyanus* L.)
Tipo H (*Helianthus annus* L.)
Tipo J (*Centaurea jacea* L.)
Tipo S (*Serratula* sp., *Carduus* sp., *Cirsium* sp.)
Tipo T (*Taraxacum dens-leonis* Desf.)
- Convolvulaceae:** *Convolvulus arvensis* L.
- Crasulaceae:** *Sedum* sp.
- Cruciferae:** *Brassica* sp.
Diplotaxis eruroides L.
D. virgata (Cav) DC.
Raphanus raphanistrum L.
Sinapis arvensis L.
Sisymbrium sp.
- Cucurbitaceae:** *Cucurbita* sp.
- Ericaceae:** *Arbutus unedo* L.
Calluna vulgaris L.
Daboecia sp.
Erica arborea L.
E. australis L.
E. lusitanica Rodolphi

E. umbelata L.
Vaccinium myrtillus L.

Euphorbiaceae: *Euphorbia* sp.

Fagaceae: *Castanea sativa* Miller
Corylus avellana L.
Fagus sylvatica L.
Quercus ilex L.
Q. rotundifolia Lam.

Gramineae: Tipo cereal (40-60micras)
Graminea sp. (< 40micras)
Secale cereale L.
Zea mays L.

Gutiferae: *Hypericum* sp.

Labiatae: Tipo L (*Lamium* sp. *Lavandula stoechas* L.)
Tipo M (*Mentha* sp.)
Rosmarinus officinalis L.
Tipo S (*Salvia* sp.), *Thymus vulgaris* L.

Leguminosae *Lotus* sp
Tipo G (*Genista* sp., *Ulex* sp.)
Tipó M (*Ononis* sp., *Melilotus* sp.)
Tipo O (*Onobrychis* sp., *Hedisarum* sp.)
Tipo R (*Robinia pseudoacacia* sp., *Medicago* sp.)

Tipo T (*Trifolium* sp.)

Tipo V (*Vicia* sp., *Phaseolus* sp., *Pisum* sp.)

Liliaceae: *Allium* sp.
Asphodelus sp.

Litraceae *Lythrum* sp.

Malvaceae: *Gossypium hirsutum* L.
Malva sp.

Mirtaceae: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

Oleaceae: *Fraxinus excelsior* L.
Ligustrum vulgare L.
Olea europea L.

Papaveraceae: *Hypecoum procumbens* L.
Papaver rhoeas L.

Pinaceae: *Pinus* sp.

Plantaginaceae: *Plantago* sp.

Polygonaceae: *Polygonum* sp.
Rumex sp.

Rosaceae:	Crataegus monogyna Jacq. Rosa sp. Rubus sp. Tipo frutal (Prunus sp., Pyrus sp., Malus sp., Cerasus sp...) Tipo P (Potentilla sp., Fragaria vesca L.)
Salicaceae:	Populus sp. Salix sp.
Scrofulariaceae:	Linaria sp. Verbascum sp.
Solanaceae:	Solanum tuberosum L. Capsicum annum L. Lycopersicum esculentum Miller
Timelaceae:	Daphne gnidium L.
Umbelliferae:	Pastinaca sativa L.
Violaceae:	Viola sp.

1.4.- RECOLECCION Y PROCESADO

Autores como ROOT (1976) y STANLEY y LINSKENS (1974) describen el proceso que siguen las abejas para la recolección del polen, en

el cual, utilizan sus piezas bucales, los tres pares de patas y la capa de pelos que recubre su cuerpo, ya que todos ellos quedan impregnados de polen cuando se introducen en una flor. Este polen lo humedecen con néctar y secreciones salivares y tras una serie de movimientos van formando gránulos que pasan a las patas traseras, adaptadas para el transporte de las mismas, mediante una ranura longitudinal, rodeada de un fleco de pelos llamada "corbícula o cestilla de polen" (Figura 2).

Por su higroscopicidad el polen apícola se altera con facilidad, lo que hace necesario un adecuado tratamiento del producto que ha sido descrito por numerosos autores como: COBO (1980); CEGARRA y SANCHEZ (1983); PERIS (1984) y SERRA, GOMEZ y GONELL (1985). Comprende en primer lugar, una recogida del mismo mediante una trampa ó "cazapolen", consistente en una rejilla con orificios de 4,5 mm colocada en la entrada de la colmena, que provoca la descarga los gránulos de polen que las abejas acarrear y es recogido en un recipiente del que se deberá retirar en un plazo no superior a los 2 días.

A continuación se somete a un secado con el objeto de reducir la humedad por debajo del 8% para evitar el desarrollo de bacterias, hongos, insectos, etc... Se puede realizar por desecación natural (exposición del polen al sol) o bien desecación artificial haciendo circular aire seco y caliente a temperatura no superior a 40^º C, siendo éste el método más adecuado y recomendable. Seguidamente se eliminarán las impurezas morfológicas ó cuerpos extraños que pudieran existir y se envasa herméticamente.

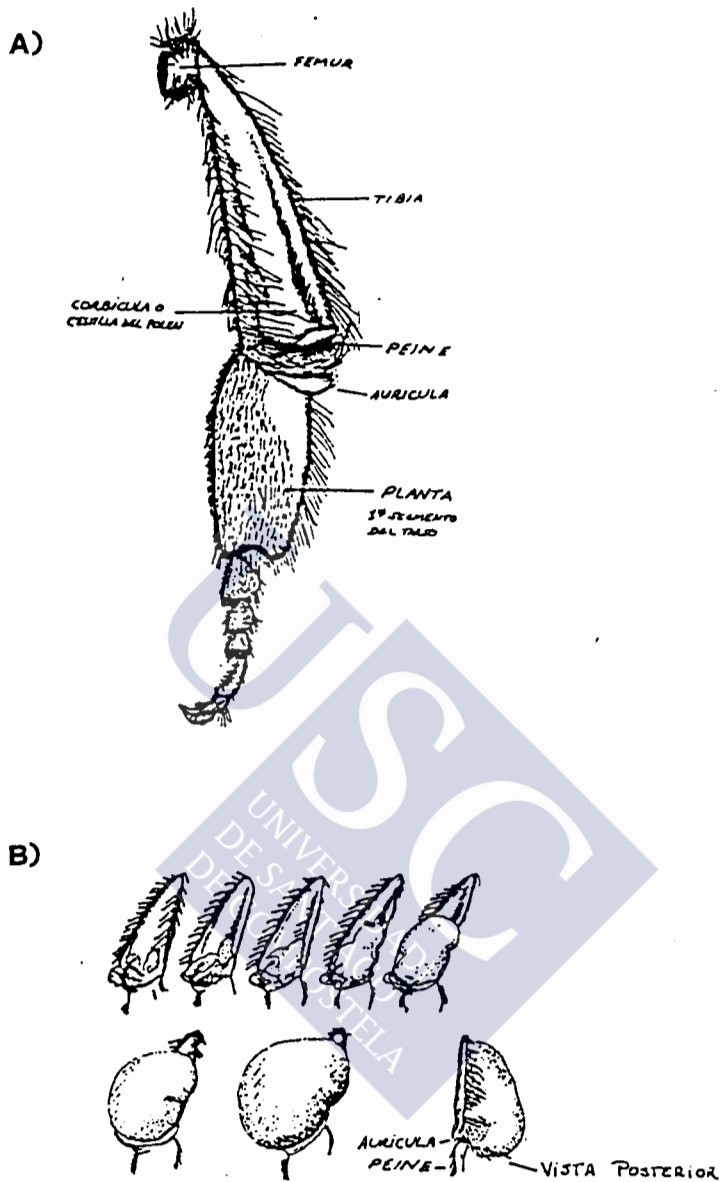


FIGURA 2.- A) Cestilla de polen en la pata trasera de la abeja obrera.
 B) Formación del gránulo de polen en la corbicula.
 (STANLEY y LINSKENS, 1974).

1.5.- ASPECTO EXTERIOR

1.5.1.- Color de los gránulos de polen

El color de un gránulo de polen apícola viene dado fundamentalmente por su origen botánico, pero puede estar modificado por el contenido en elementos minerales del néctar utilizado por la abeja para aglutinar el polen (a mayor riqueza en sales, más oscuro será el gránulo), por el contenido en agua (a mayor contenido en agua, colores más vivos), por la exposición al sol (a más exposición, colores más apagados), por el ataque de hongos (que lo oscurecen) y por otros factores (SERRA, GOMEZ y GONELL, 1985).

En general, cada gránulo presenta una coloración uniforme, al contener granos de polen del mismo origen ya que básicamente la abeja pecoreadora trabaja sobre una determinada especie. Sin embargo, esto no siempre es así, ya que existen gránulos mixtos de dos o más tipos de pólenes de distinto origen floral. Aunque según PEREZ, GOMEZ y MOLINS (1987) en la mayoría de los casos en que aparecen pólenes distintos dentro de un mismo gránulo pertenecen al mismo género. Encontrando muy pocos casos de especies de distinto género.

El color predominante del polen es el amarillo, pero también hay especies que lo tienen de color rojo, azul, castaño o verde (ROOT, 1976).

Por su parte COBO (1980), hace una valoración cromática de pólenes apícolas españoles, observando clara dominancia de gránulos que varían de amarillo a naranja, con acompañantes destacables por su color púrpura y azulado (*Echium* sp. y *Papaver* sp.).

Es de destacar el trabajo de GOMEZ (1984) que especifica el color de los gránulos de polen apícola en función de las familias botánicas que están presentes, así:

- Naranja vivo y amarillo: *Cistaceae* y *Compositae*.
- Amarillo pálido: *Fagaceae*.
- Crema: *Ericaceae*, *Leguminosae* y *Compositae*.
- Marrón: *Leguminosae* y *Polygonaceae*.
- Violeta o púrpura: *Borraginaceae* y *Papaveraceae*.
- Verde: *Rosaceae*.
- Gris al negro: *Escrofulariaceae* y *Liliaceae* (gris).

De la misma forma, SERRA, GOMEZ y GONELL (1985) en las muestras de polen apícola analizadas encuentran diferentes tonos amarillos (amarillo limón, oro, tostado, con tonalidades intermedias), naranjas, verdes, rosas, lilas..., así como pardos, grises, etc. Además proponen una escala de puntuación para el color válida en los pólenes del mercado español actual, haciendo hincapié en el hecho de que el consumidor español prefiere pólenes amarillos y homogéneos; mientras que el europeo, por el contrario, estima los pólenes más variados ya que su composición en aminoácidos es más equilibrada.

PEREZ, GOMEZ y MOLINS (1987) obtienen 14 coloraciones diferentes en muestras de polen apícola comercial, predominando el color amarillo debido al género *Cistus*.

Por nuestra parte, empleando métodos objetivos, HUIDOBRO, SIMAL, MUNIATEGUI y GARCIA (1987) en un trabajo de Licenciatura hemos determinado la longitud de onda dominante de muestras de polen apícola comercial, hallando valores comprendidos entre 577,1 nm y 583,4 nm con un valor promedio de 579,1 nm. Del valor de la longitud de onda dominante, se desprende que el color predominante en las muestras de polen apícola analizadas es el amarillo.

1.5.2.- Tamaño y peso de los gránulos

Según SERRA, GOMEZ y GONELL (1985), el tamaño de los gránulos de polen, es uno de los aspectos más importantes desde el punto de vista comercial. Así, estos autores, elaboran una clasificación de los mismos en función del tamaño, adoptando incluso una escala de puntuación decreciente de 5 a 0 puntos:

- Todos los gránulos grandes $>2\text{mm}$.
- Gránulos grandes ($>2\text{ mm}$) y medianos ($2\text{ mm} > x > 1,5\text{ mm}$), mezclados siendo la mayoría grandes.
- Grandes y medianos, mezclados en proporciones parecidas o la mayoría medianos.
- Gránulos pequeños ($<1,5\text{ mm}$) ocasionalmente puede llevar algunos medianos o grandes.
- Gránulos muy pequeños ($< 1\text{ mm}$).

En cuanto al peso de los gránulos de polen, oscilan de 10,7 mg (*Luzula* sp.) a 4,2 mg (*Erica carnea* L.) con un promedio de 7,6 mg (MAURIZIO, 1953). Las especies pueden dividirse en tres grandes grupos, de acuerdo con el peso promedio de los gránulos:

- Inferiores a 7 mg.
- Entre 7 y 9 mg.
- Superiores a 9 mg.

La cantidad de polen que puede recoger la abeja varía con las condiciones climatológicas, se considera que la abeja recoge unos 15 mg de polen por vuelo, como peso promedio PARKER (1926), PERCIVAL (1955), SYNGE (1947) citados por SERRA, GOMEZ y GONELL (1985).

El número de viajes también varía, pero puede asignarse un

máximo de 20 viajes por día (8 de promedio) en condiciones favorables, PARK (1928).

1.6.- COMPOSICION

1.6.1.- Agua

El contenido en agua del polen apícola es muy importante ya que es el factor que más influye en su conservación, como ya se ha mencionado. La cantidad de agua en el producto recién cosechado oscila entre el 12 y el 20%, por lo que antes de proceder a su envasado debe ser reducida a un 4 a 8% (COBO 1980), hecho que coincide con los datos obtenidos por nosotros: HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI (1986 a y b). En la Tabla I se recogen los porcentajes de agua obtenidos por distintos autores para el polen apícola.

1.6.2.- Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono constituyen la porción mayoritaria del polen apícola. Agrupan los monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (almidón, celulosa, pectinas ...). Sus niveles varían con las especies, forma de recolección y condiciones de almacenamiento (STANLEY y LINSKENS, 1974).

Los azúcares mayoritarios son la glucosa y fructosa y en menor proporción sacarosa y maltosa.

El polen floral contiene de forma natural una cierta cantidad de azúcares, que se ve incrementada en azúcares reductores cuando es recogido por las abejas, debido al néctar usado para aglutinar los granos.

TABLA I

CONTENIDO EN AGUA (%) EN EL POLEN SEGUN DIFERENTES AUTORES

Autores	Contenido en agua
CHAUVIN (1959)	10,91
STANLEY y LINSKENS (1974)	20-50 (recogido a mano)
PERIS (1984)	8
COBO (1984)	8-20
GOZALBEZ (1984)	7,81+0,33
HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI (1986 a y b)	4,6

LUNDEN (1954) estudiando la fracción de hidratos de carbono halla grandes diferencias entre el polen apícola y floral, obteniendo valores comprendidos entre el 20 y el 40% para el primer caso, y del 0 al 7,5% para el segundo. Igualmente, MAURIZIO y GRAFL (1969) obtienen diferencias entre ambos tipos de polen, donde el apícola representa del 20 al 48% y el floral del 1 al 37%.

SOLBERG y REMEDIOS (1980), estudian azúcares reductores y azúcar invertido en polen tanto floral como apícola, estableciendo comparaciones entre ambos tipos. En polen floral, obtienen un promedio de azúcares reductores (expresados en glucosa) del 4,5% (ms) y un 7,9% de azúcar invertido. Por el contrario, el polen apícola, con un valor mayor de azúcares, presenta mayor proporción de azúcares reductores (30,8%) que de azúcar invertido (12,6%).

SERRA, GOMEZ y GONELL (1985) separan 15 azúcares en

muestras de polen apícola comercial con un valor promedio de 52,6%, siendo los mayoritarios la fructosa (23,90%) y glucosa (18,28%) y en menor proporción sacarosa (5,14%) y maltosa (2,20%). Mientras que de los demás azúcares aislados encuentran porcentajes muy inferiores al 1% (arabinosa, ribosa, trehalosa, isomaltosa, turanosa, kojibiosa, *beta*-gentiobiosa, melibiosa, X₁, rafinosa y melecitosa).

Por nuestra parte, HUIDROBO, SIMAL y MUNIATEGUI (1986b y 1987) hemos obtenido un valor promedio de 61,0%, analizando los azúcares reductores (37,6%), fructosa (19,9%), glucosa (15,4%), maltosa (3,8%), sacarosa (0,3%) y polisacáridos (21,75%, expresados en glucosa), agrupando mayoritariamente al almidón y otros polisacáridos no asimilables, englobados como fibra bruta: Celulosa, hemicelulosa, lignina, esporopolenina, etc...(componentes de la pared) (TABLA II).

1.6.3.- Proteínas

La cantidad total de proteínas en el polen varía desde el 7 al 37% (TODD y BREATHERICK, 1942; ANDERSON y KULP, 1922; WEAVER y KUINEN, 1951 y KLEINSCMIDT y KONDOS, 1977).

En general, las proteínas presentes son simples y el contenido total depende de la especie botánica de la cual proceda, así como del estado del polen, según se encuentre fresco o maduro.

En relación con los aminoácidos, en el polen se hallan libres todos los esenciales en cantidades mayores que en otras partes del vegetal, presentando variaciones cuali y cuantitativas según las especies botánicas de que proceda (STANLEY y LINSKENS, 1974). La abeja recoge los pólenes en función de la naturaleza y proporción de los aminoácidos presentes (BOSSI y RICCIARDELLI 1975). Por lo que según PERIS (1984)

el polen apícola tiene un valor dietético enorme para el ser humano, como complemento de la dieta moderna; pudiendo cubrir las necesidades mínimas en ellos, a través de una dosis media de 15 a 30 g.

TABLA II
RESULTADOS DEL CONTENIDO EN AZUCARES (%) DE MUESTRAS COMERCIALES DE
POLEN APICOLA (HUIDOBRO, SIMAL Y MUNIATEGUI 1987).

Azúcares	\bar{X}	S_{n-1}	Valor mínimo	Valor máximo
Azúcares reductores	37,6	2,079	30,7	40,7
Fructosa	19,9	0,938	17,1	21,2
Glucosa	15,4	1,69	10,0	18,2
Maltosa	3,8	1,15	1,3	6,7
Sacarosa	0,3	0,37	nd(1)	1,7
Polisacáridos (expresados en glucosa)	21,7	4,61	4,6	34,2
Azúcares totales (en peso)	61,0	4,738	45,8	71,8
Fructosa/Glucosa	1,31	0,131	1,04	1,80

En la Tabla III se recoge una relación de valores que presentan los aminoácidos en el polen apícola según distintos autores.

(1) nd: no determinado.

Entre los aminoácidos esenciales se encuentran: leucina, isoleucina, triptófano, valina, lisina, metionina, treonina y fenilalanina. Otros aminoácidos presentes son: histidina, prolina, glutámico, arginina, etc.

TABLA III
AMINOACIDOS PRESENTADOS COMO PORCENTAJE DE PROTEINA EN CRUDO
SEGUN DISTINTOS AUTORES

	McGREGOR (1979)			COBO (2) (1984)
	CHAUVIN (1959)	Polen ordinario	Polen de maíz	
Lisina	5,7	6,4	5,7	7,70
Isoleucina	4,7	5,1	4,7	7,0
Valina	6,0	5,8	6,0	6,91
Prolina	-	-	-	6,21
Fenilalanina	3,5	4,1	3,5	5,94
Arginina	4,7	5,3	4,7	5,35
Alanina	-	-	-	5,38
Treonina	4,6	4,1	4,6	5,28
Serina	-	-	-	4,95
Glicina	-	-	-	4,81
Tirosina	-	-	-	3,69
Metionina	1,7	1,9	1,7	1,17
Leucina	5,6	7,1	5,6	9,06
Histidina	1,5	2,5	1,5	1,0
Cistina	0,6	-	-	1,0
Triptófano	1,6	1,5	1,6	1,0
Ac. glutámico	9,1	-	-	12,18
Ac. aspártico	-	-	-	12,75

(2) Según LOPEZ, M.C. citado por COBO (1984).

Resulta interesante conocer la relación glutámico/prolina como medio de comprobar si los pólenes están frescos, envejecidos o mal conservados. Cuando dicha relación es mayor que 1, el polen se encuentra en perfectas condiciones (SERRA, GOMEZ y GONELL, 1985).

De acuerdo con lo anterior y según los datos de HUIDOBRO, SIMAL y SANCHO (1986) (Tabla IV) se deduce que las muestras de pólenes objeto del presente estudio, han sido conservados correctamente y mantienen intacto su valor nutritivo.

TABLA IV
VALORES DE NITROGENO TOTAL, PROTEINA BRUTA, AMINOACIDOS EN % (ms) Y
RELACION GLUTAMICO/PROLINA EN MUESTRAS DE POLEN APICOLA COMERCIAL
(HUIDOBRO, SIMAL Y SANCHO, 1986)

	\bar{X}	S_{n-1}	Valor mínimo	Valor máximo
Nitrógeno total	2,67	0,189	2,29	3,08
Proteína bruta	16,7	1,19	14,3	19,3
Prolina libre	2,22	0,326	0,72	2,65
Prolina combinada	0,84	0,270	0,33	1,38
Prolina total	3,05	0,375	1,45	3,76
Ac.glutámico total	5,57	0,575	4,06	7,18
Relación Glu/Pro	1,87	0,463	1,34	4,20

BOSI y RICCIARDELLI (1975) concluyen que existen importantes variaciones entre el polen floral y el apícola en lo referente al contenido

total de *alfa*-aminoácidos libres, presentando mayor riqueza en éstos el polen apícola.

1.6.4.- Extracto etéreo

Los extractos etéreos del polen varían desde el 1 al 20% en materia seca (STANLEY Y LINSKENS, 1974), encontrándose ácidos grasos esenciales en cantidad importante: Linoleico y linolénico, además de láurico, mirístico, etc; así como vitaminas liposolubles, ceras y pigmentos.

En la caracterización de una grasa son de gran ayuda ciertos parámetros fisicoquímicos que son orientativos acerca del tipo de ácidos grasos que contiene (peso molecular, insaturación, etc.), estructura glicérica, así como del estado en que se encuentra la grasa (tratamientos a los que ha sido sometida, conservación, etc.).

Paradójicamente, se observa un gran vacío en las referencias bibliográficas consultadas en relación a la caracterización de la grasa del polen apícola por sus parámetros fisicoquímicos.

Así, figura el trabajo de SOLBERG y REMEDIOS (1980) que determinan el índice de yodo de la grasa de pólenes recogidos a mano, hallando un valor promedio de 78.

Más recientemente HUIDOBRO, SIMAL, MUNIATEGUI y PEREZ (1988) hemos determinado los índices de refracción, acidez, éster y saponificación de muestras de polen apícola comercial obteniendo los valores que figuran en la Tabla V.

1.6.5.- Vitaminas

El espectro y aporte vitamínico del polen apícola es importante. Contiene una cantidad considerable de vitaminas del complejo B, que en algunos casos cubren las necesidades diarias del ser humano.

TABLA V

VALORES DE CIERTOS INDICES DE LA GRASA DEL POLEN APICOLA COMERCIAL
(HUIDOBRO, SIMAL, MUNIATEGUI Y PEREZ, 1988)

Indices de:	\bar{X}	S_{n-1}	Valor mínimo	Valor máximo
Refracción	1,4799	0,0012992	1,4777	1,4825
Acidez	62	8,5	48	83
Saponificación	142	11,1	102	156
Ester	80	11,0	48	102
Yodo	122	5,55	108	134

También abundante es el ácido ascórbico (Vitamina C), lo que parece ser la causa del poder antiinfeccioso atribuido al polen. Posee carotenos y carotenoides precursores de la vitamina A. Igualmente el ácido fólico y la biotina están presentes en proporciones interesantes (Tabla VI).

1.6.6.- Sales minerales

Las cenizas totales oscilan entre el 2,5 al 6,5% en materia seca (STANLEY y LINSKENS, 1974). Posee minerales mayoritarios ó macrominerales como: K (20-45% del total de cenizas), Na, Ca, P, Mg y S; y a nivel de trazas el Cu, Fe, Mn, Zn, Co (GOZALBEZ, 1984 y MCGREGOR, 1979) (Tabla VII).

TABLA VI
CONTENIDO EN VITAMINAS SEGUN DISTINTOS AUTORES

Vitaminas mg/100 g	CHAUVIN (3) 1959	McGREGOR 1979	COBO (4) 1984	Valores de referencia (5)
Tiamina (Vit B ₁)	0,92	0,1-1,16	0,92	1,4
Riboflavina (Vit B ₂)	1,85	0,4-1,71	1,85	1,7
Acido Pantoténico (Vit B ₃)	3-5	0,3-2,87	5,0	5-10
Acido Nicotínico (Vit B ₃)	20	3,74-10,77	20,0	0,018
Piridoxina (Vit B ₆)	0,5	0,28-0,97	0,5	2,0
Ac. fólico	0,34-0,68(6)	0,34-0,68	--	0,4
Inositol	--	0,03-3,13	--	--
Ac. Ascórbico (Vit C)	7-15(6)	13,1-72,1	7-15	60
Biotina (Vit H)	--	0,019-0,073	--	0,15-0,3
Vit D	--	0,02-0,06	--	--
Vit E	Trazas	0-0,03	--	10-30
Carotenoides activos	Gran cantidad	--	5-9	--

(3) Según PEARSON (1942) y VIVINO y PALMER (1944), citados por CHAUVIN (1959).

(4) Según LOPEZ, M.C. citado por COBO (1984).

(5) Necesidades diarias recomendadas para el adulto según FOOD AND NUTRITION BOARD, expresadas en mg.

(6) Según WEIGAUD y HOFFMAN (1950), citados por CHAUVIN (1959).

TABLA VII

CONTENIDO EN MINERALES SEGUN MCGREGOR (1979) Y GOZALBEZ (1984)

	McGREGOR (%cenizas)	GOZALBEZ (g/Kg ms)
Ca	0,414	--
Cl	0,6-0,9	--
Cu	0,05-0,08	0,007
Fe	0,01-12,0	0,028
Mg	1,0-12,0	0,486
P	0,6-21,6	1,151
K	20,0-45,0	4,288
Si	2,0-10,4	--
S	0,8-1,6	--
Na	--	0,102
Mn	--	0,012
Zn	--	0,035
Co	--	trazas

1.7.- APLICACIONES: Importancia y valor nutritivo

El polen apícola constituye un alimento de gran valor nutritivo en la alimentación humana, por su contenido en proteínas, grasas, hidratos de carbono, minerales y vitaminas.

Tiene gran valor biológico ya que posee triptófano. Tiene además

un índice de Oser=86 (7) (GOZALBEZ, 1984). En cuanto al valor calórico se encuentra alrededor de las 400 Kcal/100 g.

En otro orden de cosas, tiene aplicación en cosmética, donde se puede encontrar sólo o asociado a otros productos apícolas en la preparación de lociones y cremas para la piel y el cabello.

Por otra parte se le atribuyen, aunque no pueden garantizarse con absoluta seguridad sus acciones, una serie de propiedades terapéuticas, tales como:

- Regular el equilibrio orgánico y estimular el crecimiento.
- Regular las funciones intestinales, por lo que es empleado tanto en casos de estreñimiento como en diarreas persistentes o crónicas, incluso resistentes a tratamientos antibióticos.
- Acción sobre la sangre, observada sobre todo en niños anémicos, que han presentado una elevación del nivel de hemoglobina y glóbulos rojos, así como una mejoría de los síntomas generales.
- Acción reguladora sobre el sistema nervioso.
- Sobre las enfermedades crónicas de próstata parece que tiene una notable influencia, debido a su contenido en vitamina B y esteroides. (ASK-UPMARK, 1963 y DENIS, 1966).
- Aliviar infecciones respiratorias y reacciones alérgicas, mediante la ingestión oral del polen o de extractos polínicos. (HELANDER, 1960).

(7) Índice de Oser o de aminoácidos: Es la media geométrica de las 10 relaciones de los aminoácidos esenciales con respecto a los del huevo. Esta relación es el cociente en tanto por ciento entre el contenido de un aminoácido en una proteína problema y su contenido en la proteína del huevo.

Autores como CHAUVIN (1959) y otros se han dedicado a realizar experiencias prácticas para comprobar las posibles acciones fisiológicas atribuidas al polen.

1.8.- PRODUCCION Y COMERCIO

El polen apícola se produce prácticamente en todos los países del mundo, siendo de destacar: Austria, Canadá, Hungría, países del sureste europeo, República Dominicana, Filipinas y España.

El polen apícola español procede según PERIS (1984), en su mayor parte de Sierra Morena, Cáceres, Zamora y Montes de Toledo en la cuenca del Guadiana.

Valero de la Sierra, en la provincia de Salamanca es el principal pueblo de apicultores dedicados a la recolección de polen, aportando hasta 450 toneladas al año, de sus más de 100.000 colmenas dedicadas al efecto.

Con menor producción pero con gran futuro apícola se encuentran Las Hurdes, zona con una producción de más de 100 toneladas.

Extremadura, Andalucía y Valencia producen aproximadamente 200 toneladas, según las condiciones de sus floraciones.

El total de producción del polen apícola en España se estima en 700 toneladas al año (véase Tabla VIII), según recoge PERIS (1984) con datos de los Ministerios de Economía y Hacienda y Agricultura, Pesca y Alimentación e investigación del autor.

El polen apícola español goza de buen prestigio por su sabor, color, calidad y elevado valor biológico.

Los países a los cuales va destinado el polen apícola español son principalmente: República Federal de Alemania y EEUU.

TABLA VIII

PRODUCCION ESPAÑOLA DE POLEN APICOLA (1974-1983) (PERIS, 1984)

Años	Producción española
1974 -----	300
1975 -----	450
1976 -----	350
1977 -----	600
1978 -----	650
1979 -----	700
1980 -----	700
1981 -----	800
1982 -----	600
1983 -----	500

Otros compradores importantes según se puede observar en la Tabla IX son: Italia, Francia, Bélgica, Suiza, Japón, Canadá y Argentina.

El consumo de polen en España es muy reciente, prueba de ello es que en 1970 el mercado interior consumía aproximadamente 1000 Kg, mientras que en la actualidad es de aproximadamente 200 toneladas. Esto es debido a la difusión de sus características y propiedades y a una mejora en las condiciones de calidad del mismo, aunque en este campo aún queda mucho por hacer.

TABLA IX
EXPORTACIONES DE POLEN APÍCOLA ESPAÑOL 1980-1982 (Kg)

Países	1980	1981	1982
Alemania	269.371	361.202	371.650
Estados Unidos	66.208	102.645	155.551
Italia	32.899	47.007	52.800
Francia	74.403	58.307	49.607
Bélgica	13.935	20.030	11.940
Suiza	9.154	7.100	9.940
Japón	6.670	6.120	7.730
Canadá	3.600	9.015	4.520
Argentina	---	9.500	---
Otros	1.500	1.480	7.341

1.9.- CONTROL DE CALIDAD Y LEGISLACION

1.9.1.- Factores de control de calidad

Según PERIS (1984) la calidad del polen apícola se puede establecer mediante los siguientes factores:

- Humedad:

Cuando el apicultor recoge el polen posee de un 12 a un 20% de humedad. Como se ha dicho, ésto favorece el desarrollo de hongos, con riesgo de producir micotoxinas (aflatoxinas); bacterias; huevos de

que resulte un 8% de humedad como máximo.

- Limpieza:

Debe estar exento de impurezas; en el polen a granel no se debe permitir un contenido superior al 0,5% de materias extrañas (siempre que no sean posibles vectores de enfermedades).

- Deterioro:

El polen almacenado en los panales es amasado con un líquido proveniente de las glándulas hipofaríngeas de las abejas, rico en glucosa-oxidasa, con alto poder bactericida que lo protege contra las alteraciones y contaminaciones producidas en la colmena por humedad, bacterias, levaduras, etc. Mientras que, el polen recogido para el consumo humano no es sometido a este proceso (DUSTMANN y GUNST, 1981) por lo que está sujeto a deterioros, siendo el principal factor de degradación la humedad, como ya se ha comentado.

Otros factores a considerar son: Deshidratación natural, roturas de granos por exceso de manipulación, infestación por insectos, polución por pesticidas (fumigantes para la desinfección, etc.); además es un producto muy higroscópico por lo cual es necesario conservarlo en envases bien cerrados.

1.9.2.- Legislación

Aunque en estos momentos el polen apícola en España no está sometido a una normativa específica que regule su calidad, se le puede aplicar la siguiente Legislación:

- Real Decreto 2.685/76 del 16 de Octubre por el que se aprueba la "Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de preparados alimenticios y para regímenes dietéticos y/o

especiales". Dicho Real Decreto en su Título segundo contempla las "condiciones de las industrias, de los materiales y del personal". Fijando en su artículo séptimo los "Requisitos higiénico-sanitarios" y determinando en el Artículo 12 las "Normas microbiológicas", entre otras.

- Real Decreto 385/80 del 18 de Enero y Real Decreto 1.424/82 del 12 de Agosto sobre la "Norma General de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios envasados".

1.10.- CONSIDERACIONES SOBRE ALGUNOS DE LOS PARAMETROS ESTUDIADOS

1.10.1.- Origen botánico del polen apícola. Morfología y análisis polínico

1.10.1.1.- Morfología

El conocimiento del espectro polínico de una muestra de polen apícola es de gran importancia, ya que éste va a influir notablemente en su composición.

HYDE (1944) define el "análisis polínico" como un proceso consistente en el examen microscópico de una muestra que puede contener o no mezcla de pólenes, determinando los distintos tipos presentes y su proporción relativa.

Evidentemente un detallado análisis polínico debe descansar en un amplio conocimiento de la morfología y apariencia microscópica de los pólenes de las distintas plantas.

Son varias las características morfológicas del grano que permiten reconocerlo, así podemos considerar la simetría, forma y tamaño del grano como caracteres orientativos, aunque generalmente no definitivos, mientras que la estructura y escultura exínica presentan una gran importancia en la

identificación de pólenes al tener unas características particulares para cada grano.

Cuando estudiamos la **simetría** del grano de polen, tenemos que considerar que procede de una tétrada en la que permanece hasta su maduración; de tal modo que su posición en ésta deja ciertos rasgos utilizados para saber rápidamente bajo que ángulo se mira o que parte de éste se está observando. La parte más cercana al centro de la tétrada queda cómo *polo proximal*; el opuesto o más alejado, *polo distal*. Por ambos pasa el *eje polar*, y el plano perpendicular a éste es el *plano ecuatorial*.

Por tanto, al observar un grano de polen, decimos que se encuentra en *vista polar* si el eje óptico coincide con el eje polar; análogamente estará en *vista ecuatorial* si el eje óptico pasa por el plano ecuatorial.

Se llaman granos de *polen simétricos* a los que tienen al menos un plano de simetría; en caso contrario se denominan *asimétricos*, aunque éstos son poco frecuentes. Los simétricos por su parte, pueden ser isopolares, si el plano ecuatorial los divide en dos partes iguales y heteropolares si son distintos.

Se denomina *área polar* de un grano de polen a la superficie que rodea los polos, limitada por la línea imaginaria que une los extremos de las aperturas. Su tamaño relativo tiene valor diagnóstico y viene expresado por el *índice polar* (cociente entre la mayor distancia entre dos aperturas y la mayor anchura del grano) (Tabla X y Figura 3).

En cuanto a la **forma** del grano del polen, ERDTMAN (1969) propuso una nomenclatura en función de la relación existente entre la

TABLA X

CLASES DE AREA POLAR (TORRAS, 1982 DE HYDE Y ADAMS, 1958)

Indice polar	Area polar
0.....	Ausente
Menor de 0,125	Muy pequeña
0,125-0,25	Pequeña
0,25-0,50.....	Media
0,50-0,75.....	Grande
Mayor de 0,75	Muy grande

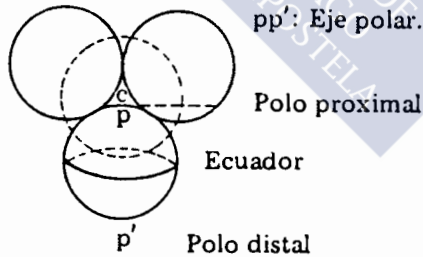


FIGURA 3.- Orientación del grano de polen en la tétrada (DUPRE, 1979)

longitud del eje polar (P) y la del eje ecuatorial o diámetro ecuatorial (E), (Tabla XI).

En vista polar, el contorno ecuatorial del grano de polen puede ser circular, triangular, poligonal o elíptico (Figura 4).

Es necesario tener en cuenta, además, que la forma que podríamos considerar definitiva del grano de polen puede experimentar modificaciones como consecuencia del tratamiento previo que haya sufrido el grano (hidratación, fosilización natural o artificial mediante acetolisis, etc).

Otro parámetro taxonómico de interés es el tamaño del polen, aunque no es suficientemente constante para ser un dato representativo.

La medida se hace en el sentido del eje mayor de simetría, midiendo el eje polar en vista meridiana y el eje ecuatorial en vista polar. Como norma general, no se incluyen los tamaños de ornamentaciones que sobrepasen las 0,5 micras de longitud.

El tamaño de los granos presenta variaciones que oscilan desde las 5 micras en pólenes de *Myosotis* hasta las 220 micras de los de *Mirabilis jalappa*. Por su parte, PLA DALMAU (1961) establece una nomenclatura en función de las dimensiones (Tabla XII).

A la hora de identificar el polen, la exina ó capa externa del grano, tiene gran importancia ya que posee unas características peculiares en cada polen, distinguiéndose en ella una "*estructura*" a menudo complicada y una "*escultura*" u ornamentación externa.

TABLA XI

**NOMENCLATURA SEGUN LA FORMA, EN VISTA MERIDIANA DE GRANOS
ISOPOLARES RADIALES (ERDTMAN, 1969)**

Longitud del eje	Diámetro Ecuatorial	P/E	Nombre	Esquema
4	8	0,50	Peroblado	
4 a 5,9	8	0,50-0,75	Oblado	
6 a 6,9	8	0,75-0,88	Suboblado	
7 a 7,9	8	0,88-1	Oblado-esferoidal	
8	8	1	Esferoidal	
8	7,9 a 7	1-1,14	Prolado-esferoidal	
8	6,9 a 6	1,14-1,33	Subprolado	
6	5,9 a 4	1,33-2	Prolado	
8	4	2	Perprolado	

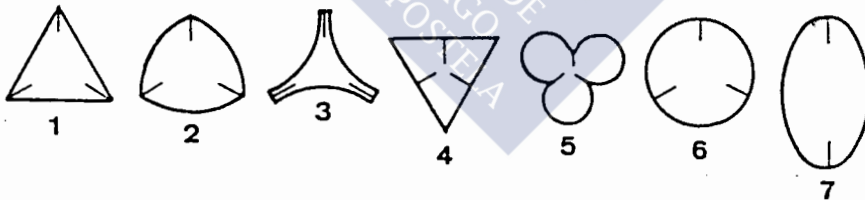


FIGURA 4.- Contorno ecuatorial del polen en vista polar (SAENZ, 1978)

- | | |
|------------------------|--------------|
| 1.- Triangular plana | 5.- Lobada |
| 2.- Triangular convexa | 6.- Circular |
| 3.- Triangular cóncava | 7.- Elíptica |
| 4.- Triangular angular | |

TABLA XII

TAMAÑO DE LOS GRANOS DE POLEN (TORRAS, 1982 de PLA DALMAU, 1961)

Medida	Nomenclatura
Menor de 10 micras.....	Permenor
De 10 a 25 micras.....	Menor
De 25 a 50 micras.....	Mediano
De 50 a 100 micras.....	Magno
De 100 a 200 micras.....	Permagno
Mayor de 200 micras.....	Gigante

En cuanto a la estructura, en la exina, como ya se ha mencionado en el apartado 1.2, resalta la ectexina con sus tres niveles (téctum, infratéctum y base), que son la causa de las amplias variaciones morfológicas de la cubierta externa. De éstos, el téctum es muy importante en la identificación, en función del cual se pueden distinguir varios tipos de pólenes:

- *Tectados*: Si el téctum cubre como mínimo el 80% de la superficie.
- *Intectados*: Carecen de téctum.
- *Semitectados*: Téctum incompleto.

Dentro de los pólenes tectados se diferencian los *imperfectorados* y los *perforados* (téctum con pequeños poros).

Así mismo éstos últimos pueden ser: *escrobiculado* (perforaciones en forma de hoyo con diámetro igual o menor de 1 micra); *foveolado* (diámetro de los hoyos mayor que 1 micra); *fosulado* (perforaciones más

largas que anchas); *reticulado* (técum formando tabiques o muros dispuestos en malla de retículo); *estriados* (muros en líneas más o menos paralelas); *rugulados* (disposición irregular); *insulados* (disposición circular); *retipiltado* (muros formados por pilos o elementos que poseen una cabeza gruesa y un cuello que la sostiene); *fenestrado* (el técum se dispone dejando espacios o lagunas poligonales).

Frecuentemente el técum posee un relieve suprategal o superficial que son los elementos esculturales u ornamentación, de diversas formas, pero constante en cada especie vegetal.

Los principales tipos de ornamentación son los que se presentan en la Figura 5a (*espínula, espina, báculo, verruga, gema, pilo, clava y gránulo*).

Según el tipo de ornamentación que esté presente en el polen se hablará de polen *escribido, equinado, verrugoso*, etc., como se observa en la Figura 5b. Además si no posee elementos esculturales puede ser *psilado, foveolado o fosulado* según el tipo de perforaciones en la superficie.

La mayoría de los granos de polen tienen **aperturas** también de gran valor en su identificación, que tanto por su forma como por su distribución pueden ser muy diversas. Los granos sin aperturas son inaperturados.

Las aperturas suelen ser: *colpos* (surcos) o *poros*. La diferencia entre ambos parece ser sólo morfológica, por lo que en la práctica, si la longitud de la apertura es igual o mayor al doble de la anchura, se clasificará como un colpo.

También existen combinaciones de ambos, dando lugar a las aperturas *colporadas*.

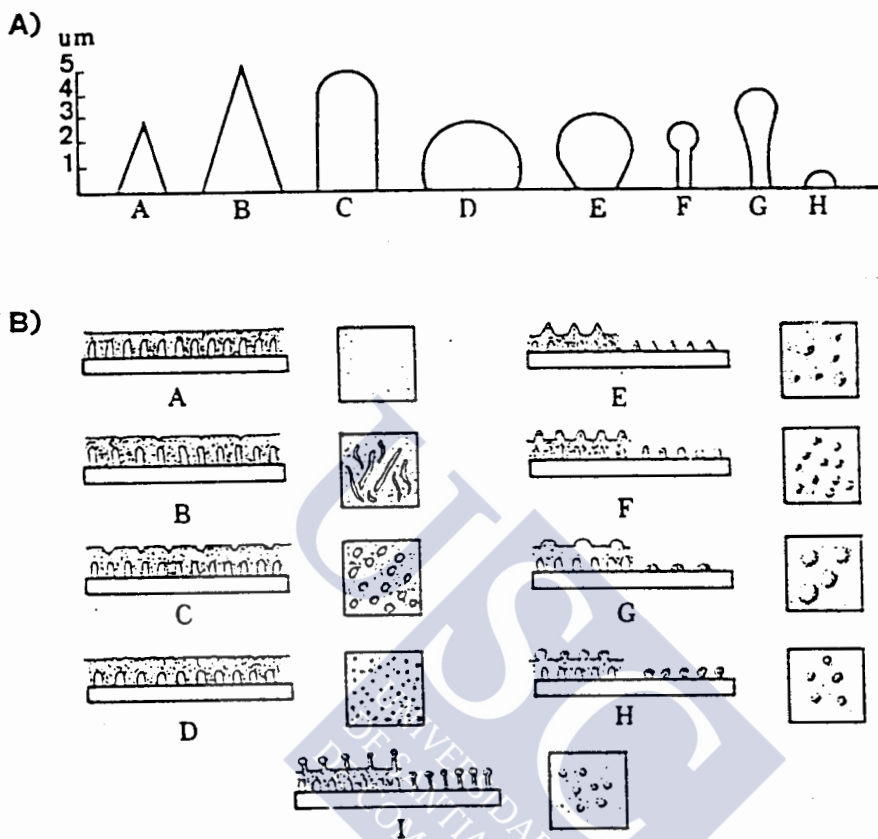


FIGURA 5.- Ornamentación del polen (SAENZ, 1978).

A) Diagrama de las diversas formas de los elementos esculturales: A, *espínula*; B, *espina*; C, *báculo*; D, *verruca*; G, *gema*; F, *pilo*; G, *clava*; H, *gránulo*.

B) Diagrama de la ornamentación del polen en vistas longitudinal v radial: A, *psilado*; B, *fosulado*; C, *foveolado*; D, *escrábido*; E, *equinado*; F, *baculado*; G, *verrugoso*; H, *gemado*; I, *pilato*. En E, F, G, H, I, se representan polen tectado e intectado simultáneamente.

Existen además, otros aspectos morfológicos, relacionados con las aperturas que son de gran ayuda en la identificación como son la existencia en algunos casos del *opérculo* o zona de ectexina engrosada dentro de un poro formando una especie de tapón; *anillo* cuando los bordes de un poro están rodeados de una zona de ectexina y *margen* cuando rodea un colpo; si el engrosamiento es de endexina se denomina *costilla*. También en ocasiones puede presentarse en la apertura una cámara o *vestíbulo*.

Según el tipo de apertura, número y disposición de las mismas, existe una nomenclatura para cada tipo de polen, como se observa en la Figura 6.

En cuanto al número de aperturas en los granos de polen es muy variable, oscilando desde ninguna hasta cien (ZANDER 1950).

Con relación al número de colpos los más corrientes son los tricolpados, de esta forma encontramos las familias Salicaceae, Fagaceae, Cruciferaeae, Leguminosae, Rosaceae, Umbelliferae, Ericaceae, etc.

La presencia de 4 o 5 colpos es muy rara, siendo más frecuente la de 6 cuyos representantes más claros están en la familia de las Labiateae. Un mayor número de colpos, de 10 a 12, se encuentra en las Borriginaceae.

En relación al número de poros que pueden presentar oscila desde uno sólo en las Gramineae a 3, frecuentes en Corylus, Urtica, Rumex, Eucaliptus, etc. Un número mayor se presenta en el Ulmus (4-6), Plantago (8 poros), Chemopodium (40-60), Caryophyllaceae (20-70), etc.

Basándose en las variaciones y tipos de las aperturas, ya que normalmente se observan con claridad, FAEGRI e IVERSEN (1966) propusieron una clave que facilita la identificación de los granos de polen.

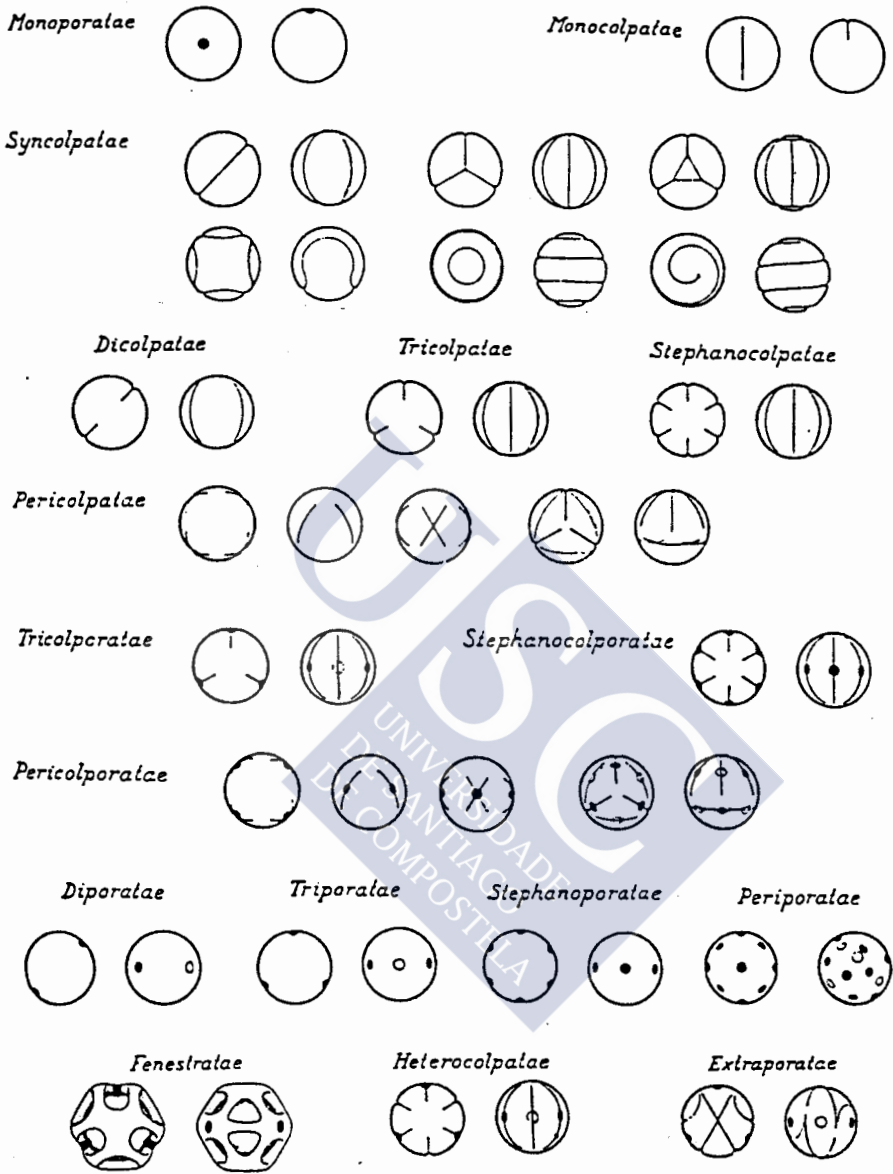


FIGURA 6.- Aperturas (KREMP, 1968)

Lo mismo ocurre en la clave propuesta por BELMONTE, PEREZ-OBIOL y ROURE (1984) que tras seguir el número de aperturas se dan las características de ornamentación, exina, forma y tamaño para la identificación de los granos de polen de las principales especies melíferas.

1.10.1.2.- Análisis polínico

En cuanto a la observación microscópica de los granos de polen, PLA DALMAU (1961) indica, que por su forma esferoidal o elipsoidal, pueden disponerse en el porta en posiciones diversas, por lo que un mismo polen se podrá observar dando imágenes distintas. Igualmente, es importante precisar las características diferenciales más destacadas que se observan en la estructura y escultura exínica. En consecuencia, para la interpretación de las formas obtenidas con el microscopio se requiere una gran experiencia práctica en dichas observaciones, siendo de ayuda el uso de preparaciones móviles, que permiten cambiar los granos de posición situándolos de la mejor forma posible para su identificación.

Entre las técnicas de estudio del polen más frecuentemente utilizadas, se pueden citar, la observación al natural del polen fresco y la de pólenes acetolizados o fosilizados, aplicable ésta última a estudios paleontológicos, aunque también se han utilizado en el caso del espectro polínico de la miel y del polen apícola.

1.10.1.2.1.- Examen al natural

El examen al natural del polen comprende el estudio de los granos en seco, que consiste en observar al microscopio el polen sin otra manipulación que su montaje sobre un porta con bálsamo de Canadá o aceite de cedro. De este modo, se pueden observar los granos de polen sin

deformaciones, además se trata de una preparación móvil, que permite variar la posición del polen facilitando la observación del mismo.

Para apreciar mejor las características del polen, es recomendable eliminar el material lipídico de la exina, que dificulta la coloración y hace que la observación sea confusa, mediante el uso de xilol, alcohol o éter.

Por el contrario, algunos palinólogos, entre ellos PLA DALMAU (1961), son partidarios de realizar la observación de los granos de polen embebidos en sustancias acuosas, ya que merced a la "*función harmomegática*" (8) destacan mucho mejor sus estructuras que en el polen seco.

De esta manera, una sustancia que embebe extraordinariamente y aumenta la refringencia de las estructuras es el hidrato de cloral, debido a que hincha la albúmina del protoplasma haciéndola transparente (PLA DALMAU, 1961).

El polen al natural puede ser posteriormente teñido, con objeto de facilitar su observación microscópica. En este sentido, se utilizan una gran variedad de colorantes y tinciones, tales como violeta de genciana, verde de metilo, fucsina, safranina, verde yodo, etc. (SAENZ, 1978), además, en la obra de PLA DALMAU (1961) se recogen numerosas coloraciones y técnicas, especificando la forma de actuación en cada caso concreto.

Para realizar las tinciones, en la mayoría de los casos, basta con depositar sobre el polen en el porta una gota del colorante, colocar el cubre y esperar unos minutos antes de llevarlo al microscopio.

(8) Se conoce con el nombre de "*función harmomegática*", a la facultad que tienen los granos de polen de modificar su volumen según los cambios de humedad ambiental y se realiza gracias a la elasticidad de ciertos lugares de salida en la exina.

1.10.1.2.2.- Acetolisis

Ciertamente, el polen contenido en materiales fósiles, aún cuando ha perdido su capacidad de germinación, conserva intacta la exina, donde radican los principales caracteres de identificación del mismo, además al estar desprovisto del contenido celular e intina aumenta la transparencia y la exina se hace más perceptible.

Por lo tanto, la acetolisis como método, exige despojar a la exina de todas las sustancias que de haberse fosilizado el grano hubiesen desaparecido, quedando limpios y nítidos los detalles de la ornamentación.

Debe hacerse constar que este método, además de eliminar estructuras interesantes como la intina, deforma algo los granos de polen.

En la técnica recomendada por ERDTMAN (1969), se somete el polen a la acción de una mezcla de ácido acético glacial y ácido sulfúrico, calentándose al baño María hasta 70-80°C y realizando el montaje sobre el porta con una mezcla de glicerina-agua a partes iguales.

Finalmente, un aspecto de gran interés en la apreciación microscópica de las formas ornamentales de la exina, es el empleo de la técnica que ERDTMAN denomina análisis luz oscuridad (L.O.) o bien oscuridad luz (O.L.) según se parta de un enfoque alto o bajo respectivamente; basado en que según la altura del enfoque, una forma de relieve puede dar la sensación de perforación o viceversa. En dicha técnica se precisa saber que toda forma emergente observada a partir de un enfoque alto, a medida que se baja aparece primero luminosa, como si fuera un hueco y va oscureciéndose progresivamente. Por el contrario, si se trata de una perforación en la exina y se desciende progresivamente el tubo del microscopio, la imagen aparece primero oscura para irse

aclarando progresivamente (Figura 7).

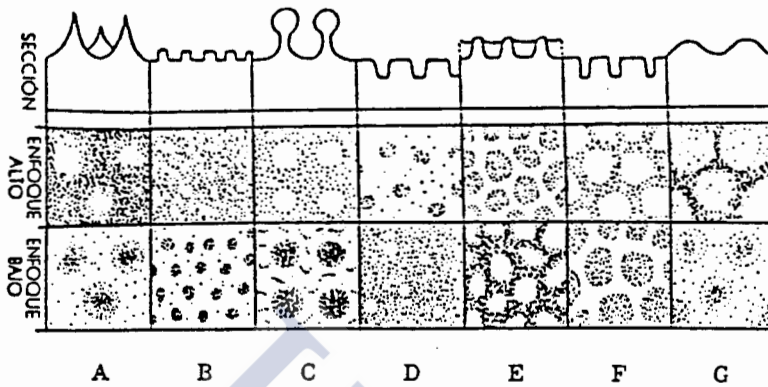


FIGURA 7.- Aspecto de una sexina según se observe en enfoque alto o bajo (véase la correspondencia con el corte). A, estructura equinada; B, granular; C, pilada; D, escrobiculada; E, brochada; F, insulada y G, ondulada (PLA DALMAU, 1961).

Siguiendo a PLA DALMAU (1961) la observación microscópica se realiza generalmente empleando los siguientes aumentos:

- Para localizar los granos 200 aumentos.
- Para la interpretación de estructuras 500 aumentos.
- Para detalles morfológicos a partir de 800 aumentos.

1.10.2.- Lípidos

1.10.2.1.- Lípidos totales

Se ha considerado que los pólenes con cantidades elevadas de grasa, son buscados selectivamente por las abejas como fuente nutritiva. Sin embargo, esta hipótesis ha sido cuestionada en el trabajo de

STANDIFER (1966), que muestra grandes variaciones en el contenido graso de pólenes recogidos por la abejas (STANLEY y LINSKENS 1974).

En esta línea, se encuentra el trabajo de CALVINO (1952) que clasifica 1.170 especies de pólenes comparando el contenido en grasa y almidón y correlaciona el almacenaje de fuente de energía con el mecanismo de dispersión. Señala además, que especies con elevado contenido en grasa son distribuidas por las abejas, mientras que especies con alto contenido en almidón son dispersadas por el viento.

La mayor parte de los lípidos son ésteres o amidas de ácidos grasos de cadena larga, que pueden ser saponificados tras una hidrólisis alcalina. Entre éstos se encuentran los acilglicerolos o grasas, formadas por monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos (grasas neutras), así como ceras, glucolípidos y fosfolípidos.

Además de los lípidos saponificables existen ciertas sustancias insaponificables, que se incluyen también dentro de los lípidos tales como: ácidos grasos, alcoholes superiores alifáticos, esteroides, hidrocarburos, carotenoides y vitaminas liposolubles A, D, E y K.

El extracto graso del polen, es generalmente amarillo, pero puede presentar distintas tonalidades debido a los pigmentos de la exina y es probablemente la mayor fuente de variación de los componentes del extracto etéreo (STANLEY y LINSKENS, 1974).

En lo referente a la localización, los lípidos se encuentran en distintas partes del polen; cuando se observa éste al microscopio, aparecen los lípidos como gotas dispersas a través del citoplasma (SASSEN, 1964). En el citoplasma se sitúan primariamente en los esporosomas, principalmente como triglicéridos conteniendo ácido linoleico, oleico y palmítico. La exina e intina se consideran como las localizaciones primarias

de cadenas largas de ácidos grasos, alcoholes grasos y ceras. Los terpenos y esteroides probablemente están asociados a las paredes celulares y a las membranas, pero la facilidad de extracción de los esteroides sugiere que también están situados en el citoplasma. Los lugares intracelulares de localización no han sido aún determinados (STANLEY y LINSKENS, 1974).

Algunos pólenes son particularmente ricos en componentes lipídicos. En efecto, la cantidad total de lípidos en los mismos varía ampliamente según la especie botánica a la que pertenezca. Así, puede oscilar entre el 1 y el 20% en materia seca, como se observa en la Tabla XIII, donde aparecen recogidos datos de diversos autores consultados, que salvo excepciones, se limitan a determinar simplemente el extracto etéreo total, sin especificar la composición del mismo. Además muchas de estas determinaciones se hacen generalmente en pólenes florales (recolectados manualmente) y con menor frecuencia en pólenes apícolas.

La mayoría de las muestras de polen apícola del Estado Español, contienen como pólenes predominantes el de *Cistus ladaniferus* L., *C. albidus* L., *C. monspeliensis* L., *C. salvifolius*, *Helianthemum lavandulifolium* Vill. Dado que estas especies presentan el porcentaje más bajo en grasa (3,8% en ms) (BATTAGLINI y BOSSI, 1968), los pólenes españoles tienen en general, valores más bajos que los procedentes de otros países (SERRA, GOMEZ y GONELL, 1985).

La composición de la fracción lipídica es muy compleja y no demasiado conocida. Se sabe, que los extractos bencénicos de la capa externa del polen contienen octanol, hexacosanol, ésteres grasos y ácidos libres. Los extractos de éter y alcohol por su parte, contienen triglicéridos, ácido oleico, palmítico, esteárico, caproico, mirístico y laúrico. Además aparecen ésteres metílicos de algunos ácidos grasos (BARBIER, 1971).

TABLA XIII
PORCENTAJE DE LIPIDOS EN EL POLEN, SEGUN LAS REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

	% LIPIDOS	
	# s	
TODD y BRETHERRICK (1942)	4,96	
TODD y BRETERICK (1944)	0,94-14,4	
SOSA-BOUROOUIL (1943)	15,0	
NILSSON y col. (1957)	9	
CHAUVIN (1959)	4,5	
MAURIZIO y GRAFL (1964)	1-20	
STANOIFER (1966)	1,5-18,9	polen recogido por abejas
	3,2-17,8	polen recogido a mano
BATTAGLINI y BOSI (1968)	3,19-20,4	
HEROLD (1970)	2,7-14,4	
LOTTI y ANELLI (1970)	1,0-6,3	
RICHERT (1971)	4,0	
STANLEY y LINSKENS (1974)	1 - 20	
FARAG y col. (1978)	2,24-4,42	
McGREGOR (1979)	1,3-19,7	
TONKOVIC y HADZITA (1979)	16,43	
SOLRBERG y REMEDIOS (1980)	3,2	
GOZALBEZ (1984)	6,50-0,36	
PERIS (1984)	4-8	
CDBO (1984)	3,07	
SERRA y col. (1985)	4,62	
ANDRIKOPDULOS y col. (1985)	2,5	

La distribución de las diferentes clases de lípidos en el polen ha sido estudiada por diversos autores, entre los que se encuentran GUNASEKARAN y ANDERSEN (1973) en el polen de *Zea mays* L. y *Thypha latifolia*. Estos autores separan dentro de los lípidos neutros: Monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, ácidos grasos libres, esteroides e hidrocarburos, predominando en *Thypha latifolia* los triglicéridos (41,3%) y en *Zea mays* L., los hidrocarburos (31,7%) y un 19,3% de triglicéridos. Por otra parte, las mayores fracciones de lípidos polares en estas dos especies son la lecitina, isolecitina, fosfoinositol y fosfatidilcolina.

ANDRIKOPOULOS, SIAFAK-KAPADAI, DEMOPOULOS y KAPOULAS, (1985) separan los lípidos totales del polen de *Pinus halepensis* en clases individuales de lípidos neutros y polares y hacen la determinación cuantitativa e identificación de los componentes de cada clase. Encuentran ácidos grasos libres, ceras y triglicéridos como principales constituyentes de los lípidos neutros y de los lípidos polares fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina. También en la fracción neutra hallan ácidos grasos volátiles libres y esterificados.

NILSSON, RYHAGE y von SYDOW (1957) identifican alcoholes e hidrocarburos de cadena larga en pólenes y encuentran que la exina de pólenes de gymnospermas está compuesta de gran cantidad de alcoholes, mientras que la exina de pólenes de angiospermas sólo tiene una pequeña cantidad de hidrocarburos.

Existen también hidrocarburos saturados (tricosano, hectacosano, nonacosano...), hidrocarburos no saturados, monoalcoholes alifáticos saturados y fosfolípidos (SERRA, GOMEZ y GONELL, 1985).

1.10.2.2.- Ácidos grasos

El polen tanto floral como apícola, presenta una gran complejidad

en cuanto a ácidos grasos se refiere, ya que posee ácidos desde C_8 a C_{26} , predominando unos u otros según la especie vegetal de que se trate; así lo confirman los trabajos de CHING y CHING (1962), HÜGEL (1962), BATTAGLINI y BOSI (1965, 1968), ROBINSON y NATION (1970), LOTTI y ANELLI (1970), CERRI, DE SIMONE, SENATORE y ZOLLO (1979), CERRI, CORDELLA, DE SIMONE y SENATORE, (1981), SERRA, GOMEZ y GONELL (1985), ANDRIKOPOULOS, SIAFAK-KAPADAI, DEMOPOULOS y KAPOULAS, (1985).

Por nuestra parte, MUNIATEGUI, SIMAL, HUIDOBRÓ y GARCIA (1988) hemos aislado 31 ácidos grasos en las muestras de polen apícola comercial analizadas, de los cuales se identifican 16: caprílico ($C_{8:0}$), cáprico ($C_{10:0}$), láurico ($C_{12:0}$), tridecanoico ($C_{13:0}$), mirístico ($C_{14:0}$), pentadecílico ($C_{15:0}$), palmítico ($C_{16:0}$), margárico ($C_{17:0}$), esteárico ($C_{18:0}$), oleico ($C_{18:1}$), nonadecílico ($C_{19:0}$), eneicosanoico ($C_{21:0}$), linoleico ($C_{18:2}$), behénico ($C_{22:0}$), tricosanoico ($C_{23:0}$) y lignocérico ($C_{24:0}$). Siendo el mayoritario el ácido palmítico con un 27,2%.

Los ácidos grasos de bajo peso molecular, caprílico, cáprico, láurico, tridecanoico, mirístico y pentadecílico, se encuentran en porcentajes generalmente reducidos. El ácido graso frecuentemente mayoritario en las muestras de polen es el palmítico, del que se ha aislado hasta un 42% en polen de *Petunia* (SOSA y SOSA-BOURDOUIL, 1954) y un 68% en *Papaver rhoeas* L. (KWIATKOWSKI, 1964). Según IDIEN O'PUTE (1975) en el *Elaeis guineensis*, los ácidos grasos insaturados predominan sobre los saturados en la relación 3:2.

Además de los anteriores, en la fracción ácida SOSA y SOSA-BOURDOUIL (1952) aislan un isómero del ácido láctico y un ácido ramificado del C_{23} .

CUMMINGS y HUDGINS (1958) identifican en pólenes de *Pinus montana*, ácidos grasos de cadena larga, *alfa*-ramificada, *beta*-hidrolizada análogo al ácido micólico, y el ácido *alfa,epsilon*-diaminopimélico.

BATTAGLINI y BOSSI (1968) proponen la hipótesis de que la abeja elige los pólenes ricos en ácidos grasos insaturados, indispensables en su metabolismo, lo cual explican confrontando polen de *Zea mays* floral y apícola. Observan diferencias en algunos ácidos de bajo peso molecular y en oleico y linoleico, que están presentes exclusivamente o en mayor cantidad en el apícola, lo que hace suponer que, en la aglutinación del polen por la abeja se modifica la composición de la fracción ácida e incluso se podrían efectuar procesos enzimáticos que provocarían la ruptura de los ácidos grasos insaturados de mayor número de átomos de carbono.

Por otra parte, éstos autores presentan a los ácidos grasos libres como parte del material lipídico que atrae a las abejas hacia pólenes de ciertas plantas y en éste sentido HOPKINS, JEVANS y BOCH (1966) demuestran en pólenes florales, que el ácido insaturado octadeca-2-trans-9-cis-12-cis-12-trienóico presenta atracción para las abejas melíferas.

En el polen apícola, aglutinado por las abejas LUKOSCHUS y KEULARTS (1968) han comprobado que con la masticación y adición subsiguiente de sus secreciones mandibulares incluyen ácidos como el 10-hidroxi-2-decenoico.

Es interesante resaltar el trabajo de STANDIFER (1966) que estudia en pólenes apícolas y en algunos florales, los lípidos totales separando la fracción saponificable e insaponificable, así como los hidrocarburos y esteroides; determinando que el contenido en lípidos de muestras de polen recogido a mano de fuentes similares de *Populus fremontii* es tres veces más alto que en el mismo polen recolectado por las abejas.

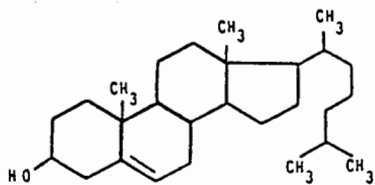
1.10.2.3.- Esteroles

Los esteroles, componentes de la fracción insaponificable, de los lípidos, son alcoholes derivados del anillo ciclopentanoperhidrofenantreno de 17 átomos de carbono. Los principales esteroles hallados en el polen se representan en la Figura 8.

El trabajo más antiguo sobre esteroles en el polen, es ciertamente el aislamiento del colesterol por VON PLANTA en 1885. Más tarde, KOESSLER (1918) en el polen de Ambrosia, MIYAKE (1922) y ANDERSON, 1923 y ANDERSON y KULP, 1922, en el polen de *Zea mays* L. y SOSA-BOURDOUIL y SOSA (1954) en polen de *Corylus avellana*, aislan la fracción esterólica pero no identifican sus componentes.

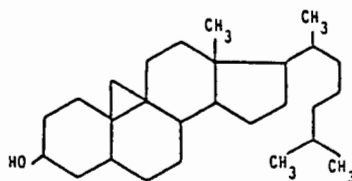
Una nueva serie de investigaciones comienzan cuando BARBIER y REICHSTEIN, SCHINDLER y LEDERER (1959), aislan el 24-metilen colesterol, surgiendo en consecuencia trabajos tales como el de BARBIER, HÜGEL y LEDERER (1960) que comprueban que dicho esterol es el mayoritario en pólenes de *Pyrus malus* y *Cistus ladaniferus* L. Igualmente STANDIFER, DEVYS y BARBIER (1968) llegan al mismo resultado en pólenes de Gramineae, Leguminosaceae, Cactaceae, Cruciferae, Rosaceae y Salicaceae; resaltando *Cornegiea gigantea* Englem, donde se aisló en un 94%. Así mismo KNIGHTS (1968) lo determina en polen de *Brassica* (56%) y LOPER, STANDIFER, THOMPSON y GILLIAM, (1980) en polen de almendro (*Prunus dulcis*).

También interesante, es el aislamiento por DEVIS y BARBIER (1967) del Polinastanol (14-metil colesterol) en cantidad considerable en pólenes de *Hypochoeris radicata* y *Taraxacum dens-leoni*.

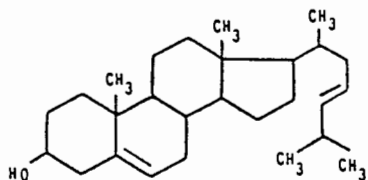


Cholesterol ($C_{27}H_{46}O$)

Δ^5 -Colestero-3-ol

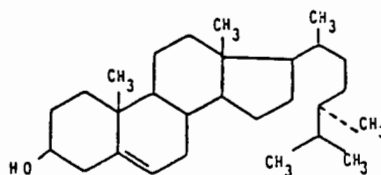


Polinastanol ($C_{28}H_{48}O$)



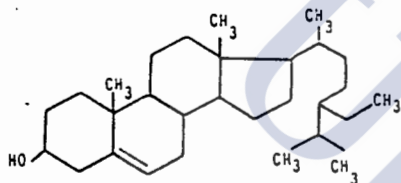
24-metilen colesterol ($C_{27}H_{45}O$)

24-metilen Δ^5 -colester-3-ol



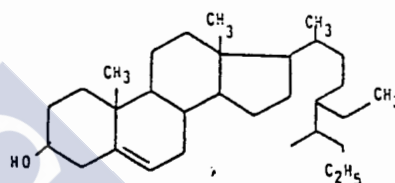
Campesterol ($C_{29}H_{48}O$)

[24 R]-24-etil Δ^5 -colester-3-ol



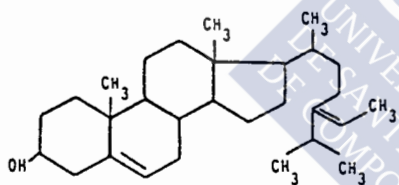
Stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$)

24 [R]-24-etil- Δ^5 ,22-colestadien-3-ol



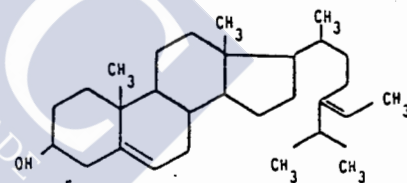
S-Sitosterol ($C_{29}H_{50}O$)

[24 R]-24-etil Δ^7 -colester-3-ol



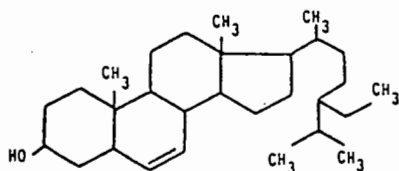
Fucosterol ($C_{29}H_{48}O$)

[24 E]-24-etiliden- Δ^5 -colester-3-ol



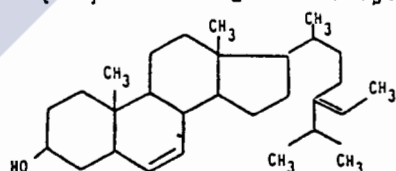
Δ^5 -Avenasterol ($C_{29}H_{48}O$)

[24 Z]-24-etiliden- Δ^5 -colester-3-ol



Δ^7 -Estigmasterol ($C_{29}H_{49}O$)

[24R]-24-etil- Δ^7 -colester-3-ol



Δ^7 -Avenasterol ($C_{29}H_{48}O$)

[24Z]-24-etiliden- Δ^7 -colester-3-ol

FIGURA 8.- Principales esteroides presentes en el polen

Numerosos trabajos ponen en evidencia que el 24-metilen colesterol no es el único esteroles presente en el polen en cantidades importantes, sino que es parte de una mezcla de componentes en proporciones variables según la especie de polen de que se trate. Así, GOSS (1968) determina en el *Zea mays* L. como principales esteroides el colesterol y estigmasterol. BATTAGINI, BOSI y RICCIARDELLI D'ALBORE (1970) analizando 20 pólenes recogidos por abejas, separan 7 esteroides de los que identifican 4 (colesterol, polinastanol, 24-metilen colesterol y fucosterol+*beta*-sitosterol); destacando el caso del *Quercus robur* L. donde el fucosterol+*beta*-sitosterol representa casi el 100% de la fracción esteróica.

Por su parte, HÜGEL, VETTER, AUDIER, BARBIER y LEDERER (1964) hallan esteroides C₂₇, C₂₈ y C₂₉ en los 3 grupos de polen analizados (polen mixto, polen de *Castanea vulgaris* y de *Corylus avellana*), siendo mayoritarios en el primer caso el C₂₈ (50%) y en los otros dos el C₂₉ con 74 y 75% respectivamente. DEVYS y BARBIER (1965) determinan la fracción esteróica de pólenes de distintas especies: *Hypochoeris radicata* (90% de colesterol); *Pyrus malus* (60% de 24-metilen colesterol); *Salix* sp. (50% de 24-metilen colesterol y 25% de *beta*-sitosterol) y *Calluna vulgaris* (80% estigmasterol, 10% de 24-metilen colesterol y 10% de *beta*-sitosterol).

También STANDIFER, DEVYS y BARBIER (1968) en pólenes de 15 especies de plantas (11 familias) obtienen el 24-metilen colesterol como mayoritario en 7 especies; el *beta*-sitosterol en otras 7 y el colesterol en una.

CERRI, DE SIMONE, SENATORE y ZOLLO (1979) determinan en polen floral de *Pinus canariensis*, *P. pinaster* y *P. pinea* como esteroles mayoritarios el *beta*-sitosterol (44-47%); en menor cantidad colesterol (15-16%) y 24-metilencolesterol (10,5-13,5%) además del 24-nor-colesta-

5,22-dien-3 *beta*-ol y el 24-dehidrocolesterol. Datos similares obtienen CERRI, CORDELLA, DE SIMONE y SENATORE (1981) estudiando pólenes recogidos a mano de *Castanea sativa*, *Cedrus silani* y *Cucurbita pepo*.

IDIEN 'OPUTE (1975) aisla el 28-isofucoesterol como principal esterol del polen de *Elaeis guineensis* (oil palm).

MATSUYAMA, ISHIKAWA y TOMODA (1973) encuentran en las muestras analizadas estigmasterol, δ^7 -estigmasten-3*beta*-ol y pequeña cantidad de 24-metilen colesterol. Por otra parte OHMOTO, NIKAIDO e IKUSE (1972 y 1974 a y b) identifican el *beta*-sitosterol y campesterol en los pólenes de *Quercus acutissima*, *Ambrosia elatior* y *Alnus japonica*.

Más recientemente FARAG, AHMED, RASHAD y EWIES (1980) determinan como esteroles mayoritarios el colesterol, estigmasterol y *beta*-sitosterol, siendo este último el predominante en los pólenes de las 6 familias mas frecuentes en el delta del Nilo en Egipto. SVOBODA, HERBERT, LUSBY y THOMPSON (1983) hallan que el 24-metilen colesterol es el principal esterol; sitosterol e isofucoesterol en menor cuantía y colesterol en trazas. En algunos pólenes predominan otros esteroles como el δ^7 -estigmasten-3 *beta*-ol y δ^7 -24(28)-campestadien-3 *beta*-ol.

ANDRIKOPOULUS, SIAFAK-KAPADAI, DEMOPOULOS y KAPOULAS (1985) estudiando 4 muestras diferentes de polen recogido a mano de *Pinus halepensis* Mill., hallan que está formado por *beta*-sitosterol principalmente (76,4%), ergosterol (12,28%), estigmasterol (7,58%), colesterol (1,99%) y colestanol (1,75%) en cantidad minoritaria. Por otra parte, el *beta*-sitosterol contenido en *Pinus silvestris*, *P. montana* y *P. mugo* es del 54, 65 y 65%, respectivamente.

Los trabajos realizados con muestras de pólenes envasados comercialmente son realmente escasos, entre ellos destaca KVANTA (1968)

que estudia la fracción acetónica de una mezcla estandarizada de uso comercial de pólenes de 6 especies de plantas (*Zea mays*, *Pinus montana*, *Secale cereale*, *Phleum pratense*, *Alnus glutinosa* y *Dactylis glomerata*) aislando fundamentalmente el estigmasterol.

Algunos autores han realizado estudios comparativos sobre la composición de ambos tipos de polen, apícola y floral ; así STANDIFER (1966) analiza los esteroides de 10 pólenes apícolas (*Taraxacum officinale*, *Ranunculus arvensis*, *Trifolium pratensis*, *Robinia pseudoacacia*, *Prunus serótica*, *Polygonum sp.*, *Chichorium intybus*, *Medicago sativa*, *Populus fremontii* y *Salsola kali*) y 2 muestras de polen recogido a mano (*Populus fremontii* y *Populus nigra* var. *italica*). En *Populus fremontii* (polen apícola) determina un 0,8% (ms) de componentes tipo esteroles y un 0,28% de 3 *beta*-hidroxi-esteroides, sin embargo, para la misma especie de polen pero recogido a mano obtiene 1,47% de componentes tipo esteroles y 0,74% de 3 *beta*-hidroxi-esteroides. Lo mismo ocurre con el resto de los componentes determinados.

Según TODD Y BRETHERTICK (1942) los restos de impurezas de polvo, minerales o pesticidas, así como la incorporación de hidratos de carbono cuando las abejas forman los gránulos de polen apícola, pueden causar diferencias cuantitativas en los porcentajes de ciertos lípidos en pólenes recogidos por abejas y a mano. No obstante, STANDIFER (1966) cree improbable que esta diferencia sea debida únicamente a las causas citadas a pesar de no encontrar explicación para la misma.

Siguiendo esta línea LOPER, STANDIFER, THOMPSON y GILLIAN (1980) encuentran en su estudio que las adiciones lipídicas y ácidas efectuadas por las glándulas mandibulares e hipofaríngeas de las abejas proporcionan diferencias entre el polen recolectado a mano y el apícola. De forma que la concentración de *beta*-sitosterol en el polen

recogido a mano es considerablemente mayor que la encontrada en el apícola. Por el contrario, el contenido de 24-metilen-colesterol no esterificado es menor en el recogido a mano que en el apícola.

1.10.2.4.- Carotenoides

Los carotenoides son hidrocarburos, formados hasta por ocho unidades isoprenoides (tetraterpenos), presentando en consecuencia 40 átomos de carbono existiendo isómeros *alfa*, *beta*, *gamma*..., donde la mayoría son formas *trans*.

Son los responsables de las coloraciones amarillo, naranja o rojo de los distintos vegetales. Estas sustancias solo pueden ser sintetizadas en las plantas y llegan a los tejidos animales a través de los alimentos (BELITZ y GROSCH, 1988).

En la naturaleza existen en forma libre en el tejido vegetal disueltos en lípidos pero también formando complejos con las proteínas, hidratos de carbono y grasas que originan diferentes colores y modifican la estabilidad según la interacción.

Todos pueden considerarse derivados de 3 tipos básicos (A, B, C) por deshidratación, ciclación y aromatización, introducción de grupos funcionales o degradación oxidativa (Figura 9).

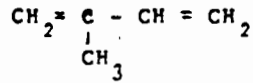
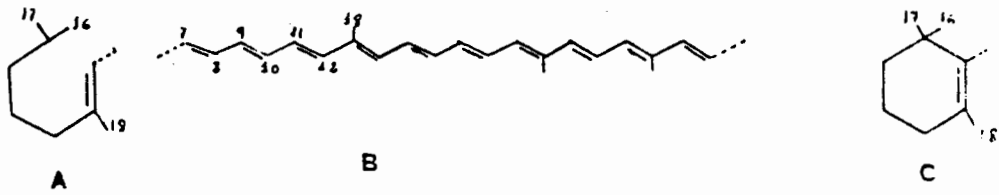
Los carotenoides se dividen en dos grupos principales, carotenos y xantofilas. A diferencia de los carotenos, que constituyen una serie de hidrocarburos poliénicos, las xantofilas contienen funciones oxígeno (grupos hidroxilo, epoxi, oxo...).

Los carotenoides son solubles en los disolventes apolares y en las grasas. Por esta razón se les denomina lipocromos. Los carotenoides se extraen con éter de petróleo, éter etílico o benceno; para las xantofilas son apropiados también el alcohol y la acetona.

Los carotenoides son muy sensibles al oxígeno y a la luz y en ausencia de estos factores, los carotenoides son estables a temperaturas elevadas.

Debido a su naturaleza altamente insaturada, los carotenoides tienen tendencia a oxidarse rápidamente por lo que su color característico va desapareciendo (WILLSTAETTER, 1980). Los carotenoides son mucho más estables a la oxidación en su forma natural que en los sistemas puros; es probable que la estabilidad de estos pigmentos en los tejidos vivos intactos sea función de la permeabilidad celular y de la presencia de compuestos protectores (FENNEMA, 1982).

Además, existe una estrecha relación entre la estructura de la vitamina A y los carotenoides. Concretamente el *beta*-caroteno es el resultado de la unión de dos moléculas de vitamina A. Por tanto, algunos carotenoides como los *beta*, *alfa*, *gamma*... carotenos actúan como provitamina A con la ayuda de enzimas presentes en la mucosa intestinal de los animales (WILLSTAETTER, 1980).



ISOPRENO

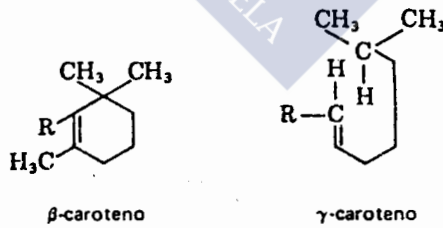
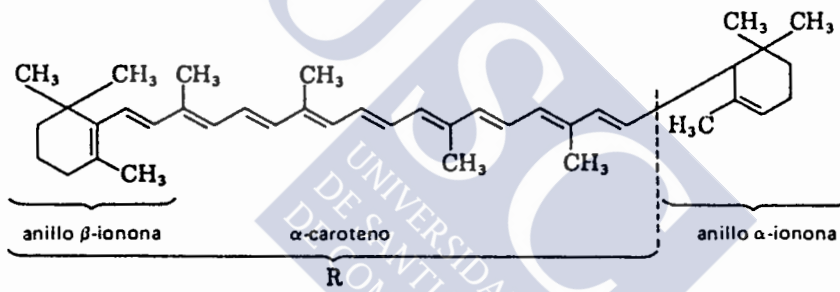


FIGURA 9.- Estructura de los carotenoides





2.- Objeto del trabajo



El polen, producto apícola indispensable para la nutrición de las abejas, está adquiriendo gran auge en los últimos años como alimento de interés en la dieta humana, máxime por la tendencia actual hacia el uso de productos naturales y como complemento de posibles carencias de la alimentación moderna.

A estas inquietudes se une el hecho de que una de las líneas de investigación del Area de Nutrición y Bromatología se viene preocupando por el estudio de los productos de la colmena, iniciada hace nueve años con la miel y en la que se han realizado varias Tesis Doctorales y numerosas Tesinas de Licenciatura, presentándose trabajos en congresos y revistas especializadas: HUIDOBRO, 1983; HUIDOBRO y SIMAL 1984 a-g y 1985; SIMAL, HUIDOBRO y ARAQUISTAIN, 1983 a y b; SIMAL y HUIDOBRO, 1984 y 1985; HUIDOBRO, SIMAL y TERRADILLOS, 1984; TERRADILLOS, 1984; TERRADILLOS, SIMAL y HUIDOBRO, 1986 a y b; HUIDOBRO, SIMAL y COUSO, 1986. Encontrándose las Tesis de RODRIGUEZ, en preparación y SANCHO en realización.

Más recientemente, y de forma paralela, se ha estudiado el polen apícola intentando abarcar diferentes aspectos relacionados con su composición, como se constata en los diversos trabajos realizados sobre este tema: Estudio del contenido en agua y azúcares (azúcares reductores, glucosa, fructosa, maltosa, sacarosa y polisacáridos) (HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI 1986 a y b y 1987); Componentes nitrogenados: I. Proteína bruta. II. Prolina, ácido glutámico y su relación (HUIDOBRO, SIMAL y SANCHO, 1986); Color y ácidos grasos (HUIDOBRO, SIMAL, MUNIATEGUI y GARCIA, 1987) y finalmente: Características físico-

químicas de la grasa del polen apícola (HUIDOBRO, SIMAL, MUNIATEGUI y PEREZ, 1988).

Con el estudio del origen botánico y de la fracción lipídica (lípidos neutros, esteroides y carotenoides) se pretende aportar nuevos conocimientos a los parámetros discriminantes para la caracterización del polen apícola. Cabe señalar, además que el "Estudio de la fracción esteróica del polen apícola" ya ha sido publicado (MUNIATEGUI, SIMAL y HUIDOBRO, 1988).





3.- Antecedentes bibliográficos



3.1.- COLOR

Los antecedentes de los métodos aplicados al estudio del color en el polen apícola, aparecen recogidos en el trabajo de Licenciatura de GARCIA dirigido por HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI (1987), resaltando el empleo de métodos subjetivos por sensación visual y de forma objetiva, empleando colorímetros, métodos espectrofotométricos por reflectancia...

3.2.- ORIGEN BOTANICO

Aunque la morfología del polen y el origen botánico de la miel ha despertado el interés por su estudio, desde muy antiguo, como queda reflejado en las referencias históricas y bibliográficas que figuran en la Tesis Doctoral de TERRADILLOS (1988), en el polen apícola no es tan abundante su estudio.

BATTAGLINI y BOSI (1968) identifican las especies botánicas de los pólenes más recogidos en las trampas de la zona de Perugia, confrontando las preparaciones microscópicas con pólenes tomados directamente de las plantas. Examinan mediante 120 aumentos granos de polen de 15 especies: *Salix* sp; *Pterotheca nemansensis* Cass.; *Trifolium pratense* L.; *Onobrychis viciaefolia* Scop.; *Papaver rhoeas* L.; *Anthirrinum* sp; *Cistus* sp; *Plantago lanceolata* L.; *Helminthia echioides* Gaertn; *Urospermum dalechampii* Desf.; *Cruciferae* sp; *Aster novi-belgi* L.; *Cephalaria leucantha* Schard; *Scabiosa* sp; *Zea mays* L. y *Hedera helix* L.

GOZALBEZ (1984) estudia la composición botánica de los gránulos de polen apícola sobre 30 muestras tomadas al azar. De cada muestra

efectúa 3 pesadas de 3 g cada una, sobre las que realiza la separación de los gránulos por colores. Realiza preparaciones de gránulos de polen disgregados en glicerina jelly (glicerina-gelatina) y procede a continuación a su examen microscópico. Comprueba que los pólenes pertenecen a 35 especies agrupadas en 12 familias, siendo las más destacadas: Borraginaceae, Cistaceae y Fagaceae.

Las especies botánicas más importantes son: *Cistus ladaniferus* L. y *Echium plantagineum* L. con valores medios de 54,1 y 14,7% respectivamente, seguidos de *Quercus rotundifolia* Lam., que conjuntamente alcanzaron el 77,3%, correspondiendo el 23% restante a las 31 especies acompañantes identificadas.

GOMEZ (1984) estudia 10 muestras de polen comercializado en España. Separa por gamas cromáticas distintos gránulos, observándolos al microscopio óptico y en los casos más problemáticos al microscopio electrónico de barrido (MEB).

Para la observación del polen utiliza el montaje al natural y la acetólisis de ERDTMAN (1960), para lo cual se sumerge el polen en ácido acético glacial y posteriormente se monta con xilol u otro preparado similar. Para la observación al MEB, el polen acetolizado y pasado por la serie de alcoholes desde el 50% al absoluto, ha sido metalizado con una capa de oropaladio.

Las familias más recogidas por las abejas, según este autor, son: Borraginaceae, Cistaceae, Compositae, Ericaceae, Fagaceae, Leguminosaceae, Liliaceae, Papaveraceae, Polygonaceae, Rosaceae y Scrofulariaceae.

Siendo mayoritarios los pólenes de *Cistus ladaniferus* L. con un 15%, *Papaver rhoeas* L. 11%, *Echium* sp. y *Rubus* sp. con un 9%.

SERRA, GOMEZ y GONELL (1985) analizan 30 muestras de polen apícola, recogidas directamente por los autores de partidas representativas destinadas al mercado, obtenidas de las principales zonas productoras. En éstas, identifican los gránulos de diferente color, mediante el análisis polínico según el método de LOUVEAUX, MAURIZIO y VORWOHL (1970). Identificándose 26 familias con un total de 59 especies.

Las especies cuantitativamente más importantes son: *Cistus ladaniferus* L., *Echium plantagineum* L., *Quercus ilex* L., *Q. rotundifolia* Lam., *Echium vulgare* L. y *Helianthemum lavandulaefolium* (Link) DC. Predominando las dos primeras especies, que llegan a un valor promedio del 70%, variables según el origen geográfico y que aumentan o disminuyen a costa de los *Quercus*, que presentan porcentajes máximos del 10%.

PEREZ, GOMEZ y MOLINS (1987) separan por colores bajo luz artificial, los gránulos de polen apícola comercial, con objeto por un lado de mostrar por separado la coloración del grano de polen y la flor de la que ha sido recogido por la abeja y por otro, de conocer las principales fuentes de polen de la zona.

Las muestras de los grupos formados se acetolizan según el método ERDTMAN (1960) montándose a continuación en glicero-gelatina, obteniendo 14 grupos de coloración homogénea diferentes que corresponden a las siguientes familias: Leguminosaceae, Papaveraceae, Campanulaceae, Ranunculaceae, Compositae, Umbelliferae, Cruciferae, Cistaceae y Fagaceae.

El color predominante es el amarillo y dentro de éste la mayor proporción corresponde a granos pertenecientes al genero *Cistus* (jaras).

3.3.- AGUA, HIDRATOS DE CARBONO Y PROTEINAS

Los diversos métodos aplicados al estudio de estos parámetros aparecen recogidos en distintos trabajos ya publicados:

- Determinación del contenidos en agua: HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI (1986 a y b).
- Determinación de hidratos de carbono: HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI (1986b y 1987).
- Determinación de proteínas: Tesina de Licenciatura de SANCHO dirigida por HUIDOBRO y SIMAL (1986) (que se halla pendiente de publicación).

3.4.- DETERMINACION DE LIPIDOS TOTALES

El contenido en lípidos totales del polen tanto apícola como floral, ha sido evaluado por distintos autores mediante extracciones de duración variable, con disolventes orgánicos bien sea éter de petróleo, éter etílico, benceno, cloroformo..., además de metanol o etanol; obteniéndose extractos grasos que pueden variar en composición, por lo que es necesario especificar en cada caso el procedimiento de extracción seguido.

Entre los que realizan extracciones etéreas mediante el empleo del Soxhlet se encuentran NILSSON, RYHAGE y SYDOW (1957) que tratan exhaustivamente el polen secado al aire, con éter etílico durante 2 semanas a una temperatura de 25°C.

LOTTI y ANNELLI (1970) examinan los lípidos totales de 16 especies de pólenes recogidos a mano. Desecan 20 g de polen a 60°C durante 24 horas y los trituran en un mortero para facilitar la ruptura de la membrana; extrayéndolos a continuación con éter de petróleo en Soxhlet.

SOLRBERG y REMEDIOS (1980) determinan el extracto etéreo de muestras de polen apícola y recogido a mano, empleando éter de petróleo.

GOZALBEZ (1984) toma 4 g de muestra seca que extrae con éter sulfúrico en el Soxhlet y mantiene en estufa a 90°C hasta peso constante.

OHMOTO, UDAGAWA y YAMAGUCHI (1986) tratan los granos de polen con éter etílico en un Soxhlet durante 48 horas y el residuo se extrae con etanol al 80%.

BATTAGLINI y BOSI (1968) emplean un agitador magnético durante 20 minutos para extraer 5 g de polen apícola (desechado a 60°C durante 10 horas) con 50 ml de éter etílico. Repiten el procedimiento después de sedimentar y filtrar por decantación.

Otra variante es la obtención de extractos etanólicos. CERRI, CORDELLA, DE SIMONE y SENATORE (1981) extraen el polen recolectado a mano, una vez liofilizado, en Soxhlet usando etanol.

Mediante mezclas de disolventes orgánicos y alcohólicos se pueden obtener extractos grasos. Así TONKOVIC y HADZIJA (1979) extraen los lípidos de pólenes apícolas comerciales con benceno, éter etílico y metanol. El residuo obtenido se seca a vacío a baja temperatura.

IVANOV, ENCHEVA y K'OSEV (1985) extraen los lípidos del polen recolectado por las abejas, mediante éter de petróleo y cloroformo-etanol (2:1).

LOPER, STANDIFER, THOMPSON y GILLIAN (1980) llevan las muestras de polen apícola y recogido a mano a igual grado de humedad. Extraen 1 g de polen (añadiéndole 50 microlitros de ácido C₁₅ como "estándar interno") en Soxhlet durante 16 horas mediante la mezcla cloroformo-metanol (2:1). El extracto se deseca en rotavapor a 40°C.

ANDRIKOPOULOS, SIAFAK-KAPADAI, DEMOPOULOS y KAPOULAS (1985) rompen las paredes celulares, del polen de Pinus

halepensis recogido a mano, en una dispersión acuosa al 2% (p/v), en un cilindro metálico de 30 ml bajo presión de 60-90 bares de nitrógeno. Extraen los lípidos según la modificación del método de BLIGH y DYER (1959), donde 1 g de polen se macera en 380 ml de cloroformo-metanol-agua (1:2:0,8) y se filtra. El cloroformo y agua se añaden de forma que se obtenga una relación final de cloroformo-metanol-agua de 1:1:0,9. La capa clorofórmica se evapora a vacío a 30°C y el residuo se seca en corriente de nitrógeno y se redisuelve en 1-3 ml de cloroformo-metanol (9:1).

3.4.1.- Separación de lípidos neutros

3.4.1.1.- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Es de destacar, que no se han hallado referencias bibliográficas donde se aplique esta técnica al estudio del polen apícola, por lo que se recogen los métodos aplicados a otro tipo de muestras, así:

AITZETMULLER (1977), analiza en 15 minutos mezclas de glicéridos (mono, di y triglicéridos), emulsiones alimenticias, ciertas grasas de semillas y productos tales como aditivos poliméricos, usando cromatografía líquida con gradiente de elución y detector "moving-wire LCM-2 transpor-flame-ionization". La columna empleada es de sílice, Lichrosorb SI-60, 5 o 10 micras. Utiliza tres mezclas de solventes (I, II y III) de polaridad creciente para producir una secuencia de dos gradientes (de I a II y de II a III). El I es tetracloruro de carbono-isooctano (34:66); el II cloroformo-dioxano-hexano (40:11:49) y el III corresponde a cloroformo-metanol-diisopropiléter (34:36:30).

AITZETMULLER y KOCH (1978) utilizando el mismo tipo de columna, detector y gradiente de solventes, separan las clases de lípidos del sebo (hidrocarburos y escualeno, ésteres de colesterol y ésteres de

ceras, colesterol libre y monoglicéridos); como también del plasma sanguíneo humano y lípidos de cerumen.

GREENSPAN y SCHROEDER (1982) determinan los lípidos neutros hepáticos y ácidos grasos por HPLC, usando una columna de sílice Ultrasil 5 micras de 4,6 X 250 mm, detector de índice de refracción termostatzado a 25°C. El sistema de solventes empleado es: 2,2,4-trimethyl-pentano (isooctano), tetrahidrofurano, ácido fórmico (90:10:0,5), con un flujo de 1,0 ml/min, eluyendo el colesterol en 18 minutos.

El método comprende la separación de un extracto clorofórmico de los lípidos totales libres, seguido de eliminación de los fosfolípidos por adsorción en columna sobre ácido silícico y elución de los lípidos neutros y ácidos grasos con 50% de dietiléter en hexano. Utilizan la cromatografía en capa fina para la comprobación de estas fracciones eluidas.

FRICKE y OEHLENSCHLÄGER (1982) separan las clases de lípidos polares y neutros en un único cromatograma con flujo programado. Utilizan una columna de sílica Hypersil 5 micras de 12,5 cm x 4,6 mm, equipada con una precolumna de 2 cm, rellena de la misma fase estacionaria. Las fases móviles usadas son n-hexano-2-propanol-ácido sulfúrico 0,01 N (100: 100: 15) y n-hexano-2-propanol-acetato sódico 0,1M buffer (pH: 4,46) (8:8:1). El programa de flujo es: Para el primer caso de 0,4 ml/min a 2ml/min y en el segundo 0,4 ml/min a 3 ml/min. El detector es UV a 206 nm y temperatura ambiente.

GRAILLE, FRATER y PIOCH (1983) determinan cuantitativamente los glicéridos (mono, di y triglicéridos) con una columna de 25 cm de diol sílica de 10 micras, un detector de UV a 213 nm, usando isooctano-propanol (95:5) en forma isocrática y flujo de 2 ml/min. En estas condiciones se produce la elución de los triglicéridos con el volumen muerto del sistema. Por lo que proponen utilizar un gradiente de elución

con dos sistemas de solventes; el A) isooctano: isopropanol (99,5:0,5) y el B) isooctano- isopropanol (50:50) y flujo de 0,5 ml/min a 2,5 ml/min.

HAMILTON y COMAI (1984) describen un método en fase normal e isocrática para separar lípidos neutros y ácidos grasos en 15 minutos empleando una columna de 30 cm x 3,9 mm MicroPorasil, con flujo de 2,0 ml/min y detector de UV a baja longitud de onda (206 nm).

Estudian dos fases móviles para separar las clases de lípidos por HPLC. La primera formada por: Hexano-2-propanol-ácido acético (100:0,5:0,01) produce una separación incompleta de ésteres de colesterol y triglicéridos, pero excelente de los ácidos grasos y colesterol. La segunda: Hexano-n-butil cloruro-acetonitrilo-ácido acético (90:10:1,5:0,01) resulta completa la separación de las cuatro clases de lípidos, además de diferenciar los triglicéridos y ácidos grasos según el número de dobles enlaces.

Realizan una separación previa de los lípidos neutros y ácidos grasos de la fracción de fosfolípidos usando columnas Sep-Pak de sílice (600 mg). Donde la recuperación de los ésteres de colesterol, triglicéridos, ácidos grasos, colesterol y fosfolípidos de la columna de sílice es mayor del 95%. Usan como eluyentes 16 ml de cloroformo-acético (100:1), obteniendo la fracción 1 con los lípidos neutros; 5 ml de metanol-cloroformo (2:1) (fracción 2); 2 x 5 ml de metanol-cloroformo-agua (2:1:0,8) (fracción 3 y 4). Aplican dicho método al análisis de los lípidos neutros de suero humano, de conejo y de rata.

RITCHIE y JEE (1985) separan las clases de lípidos simples (triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos), usando una columna de sílice Zorbax de 25 cm x 4,6 mm y detector de índice de refracción. La fase móvil es isooctano-tetrahidrofurano-ácido fórmico (90:10:0,5) ó (80:20:0,5). Para la primera mezcla el análisis se efectúa a

temperatura ambiente y flujo inicial de 1,5 ml/min. En la segunda la temperatura de la columna se eleva a 35°C con flujo de 1,0 ml/min.

CHRISTIE (1986) realiza un método rápido (20 min) de separación y cuantificación de las principales clases de lípidos de tejidos de animales con polaridades variadas y crecientes: Esteres de colesterol, triglicéridos, colesterol, diglicéridos, ácidos grasos libres, cerebrósidos, difosfatidilglicerol, fosfatidil-glicerol, fosfatidil-etanolamina, fosfatidil-inositol, fosfatidil-colina y esfingomiélin. Además indica los tiempos de retención de los siguientes componentes presentes en cantidades traza: Monoglicéridos, fosfatidilmonometil-etanolamina, lisofosfatidiletanolamina, fosfatidildimetil-etanolamina, lisofosfatidil-colina.

Utiliza un cromatógrafo Spectra-Physics mod 8.700 con un detector de masas ACS 750/14. Para la determinación cuantitativa emplea una columna de sílice Spherisorb de 3 micras y en el trabajo de exploración, una columna de 25 cm x 5 mm asociada a otra de 5 cm x 5 mm, ambas de sílice Hypersil de 5 micras.

La mezcla ternaria de solventes es la siguiente: A) isoocetano-tetrahidrofurano (99:1); B) isopropanol-cloroformo 4:1; C) isopropanol-agua (1:1), con flujo de 2 ml/min y el siguiente gradiente de elución: 1 min 100% de A; 5 minutos 80% A y 20% B; 5,1 minutos 42% A, 52% B y 6% C; y a los 20 minutos 32% A, 52% B y 16% C.

Las muestras de lípidos se pasan a través de un filtro de 0,5 micras y se inyectan en 5 microlitros de cloroformo-isoocetano (1:1).

LAPIN, PISEVA, RUBTSOVA e IAKEVICH (1986) describen la separación de la fracción lipofílica del Krill del Antártico en dos horas, aislando hidrocarburos (incluyendo aquellos de tipo carotenoide), ésteres de esteroides, ceras, triglicéridos, ácidos grasos libres, esteroides y mono y diglicéridos; además de lípidos polares: Fosfatidil-inosítoles, ácidos

fosfatídicos, fosfatidiletanolaminas, lecitinas y sus correspondientes lisoderivados. Algunos de ellos fueron identificados por cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC), cromatografía de gases y espectrometría de masas.

En la separación utilizan un cromatógrafo de HPLC Analyst 7.900, equipado con detector UV y columna Zorbax sil de 500 mm x 21,5 m (2 x 250 mm en serie).

Las fases móviles son: A) Isopropanol-hexano-buffer acetato 0,01 M (500: 500: 5); B) isopropanol-hexano-buffer acetato 0,01 M (500:500:15); C) isopropanol-hexano-buffer acetato 0,01 M (500:500:37,5) y D) isopropanol-buffer acetato 0,01 M (1,0:37,5). La separación se efectúa a temperatura ambiente usando el siguiente programa de gradiente: 0-33 min solvente A), con un incremento lineal de flujo de 3 a 10 ml/min; 33-40 min solvente B) a 10 ml/min, con un incremento de flujo de 10 a 20 ml/min; 40-100 min solvente C) con un incremento de flujo de 10 a 20 ml/min y de 100 a 130 min solvente D) hasta flujo de 20 ml/min.

La detección se realiza por una parte a 220 nm, con detector espectrofotométrico equipado con célula semipreparativa y por otra con detector diode-array, operando a longitudes de onda comprendidas entre 200 y 600 nm, siendo el flujo del detector de diode-array la mitad del detector espectrofotométrico.

3.4.1.2.- Cromatografía en capa fina (TLC)

ANDRIKOPOULOS, SIAFAK-KAPADAI, DEMOPOULOS y KAPOULAS (1985) separan los lípidos totales del polen de *Pinus halepensis* en clases individuales de lípidos neutros y polares mediante cromatografía en capa fina. En los lípidos neutros hallan: Hidrocarburos, ceras, ésteres de esteroides y ésteres metílicos de ácidos grasos, triglicéridos,

ácidos grasos, esteroides y diglicéridos, gliceriléteres y monoglicéridos y glucolípidos.

Para la separación de los lípidos utilizan cromatografía en capa fina preparativa, realizando el desarrollo con un "sistema dual", hasta 4 cm ($R_f = 0,4$), éter etílico-ácido fórmico (100:6) seguido de éter de petróleo-éter etílico-ácido fórmico (80:20:3), sobre placas de silicagel G 60 de 0,50 mm de espesor. La visualización de bandas se realiza por exposición a vapores de yodo. La cuantificación la realizan gravimétricamente.

3.4.2.- Saponificación y extracción del residuo insaponificable

Los métodos aplicados en el polen para aislar la fracción insaponificable de la grasa, difieren ligeramente, siendo necesario en todos los casos la saponificación de la grasa, utilizando generalmente disolución alcohólica de hidróxido potásico. La extracción del residuo insaponificable se realiza mediante disolventes como éter etílico y éter de petróleo.

HÜGEL (1962) saponifica el extracto graso con potasa metanólica 2N durante 4 horas con ebullición a reflujo. La solución se extrae con éter y la fracción eterosoluble se lava con agua y se deseca.

STANDIFER (1966) realiza la saponificación con disolución etanólica de hidróxido potásico durante 5 horas y media a 61°C bajo nitrógeno. Los residuos de polen se lavan varias veces con etanol caliente.

La fracción insaponificable se extrae dos veces con volúmenes dobles de éter etílico; luego con volúmenes dobles de éter etílico libre de peróxidos y n-hexano en proporción 4:1; finalmente con éter etílico-n-hexano (3:2).

CERRI, DE SIMONE, SENATORE y ZOLLO (1979) saponifican el extracto etéreo a reflujo bajo nitrógeno durante 2 horas con hidróxido

potásico al 10% en etanol al 70%.

SVOBODA, HERBERT, LUSBY y THOMPSON (1983) saponifican las muestras a reflujo durante 4 horas en 160 ml de etanol, 20 ml de benceno, 20 ml de agua e hidróxido potásico al 5% . La mezcla se enfría, se añaden 200 ml de agua y se acidifica con ácido clorhídrico 1N. Se extrae 4 veces con hexano y 1 vez con éter etílico. Las fases de solventes orgánicos se combinan, secan sobre sulfato sódico y se filtran. El solvente se elimina a vacío.

3.4.3.- Separación de la fracción esterólica

Para el aislamiento y obtención de la fracción esterólica en el polen se han empleado técnicas como la precipitación con digitonina, separación por cromatografía en capa fina y en columna; utilizando como líquidos de desarrollo disolventes orgánicos puros o mezclas de ellos. Estos métodos aparecen recogidos en la AOAC (1984), así como en las normas UNE.

3.4.3.1.- Separación por precipitación con digitonina

STANDIFER (1966) utiliza la precipitación con digitonina para determinar los 3-beta-hidroxiesteroles en la fracción de esteroles neutros.

BATTAGLINI, BOSI y RICCIARDELLI D'ALBORE (1970) aíslan la fracción esterólica por precipitación con digitonina, según el método de la AOAC (1960).

3.4.3.2.- Separación por cromatografía en capa fina (TLC)

ANDRIKOPOULOS, SIAFAK-KAPADAI, DEMOPOULOS y KAPOULAS (1985) aíslan la fracción formada por esteroles libres y diglicéridos mediante TLC preparativa de los lípidos totales del polen (40

mg) sobre silicagel G 60 y doble sistema de desarrollo:

I) Eter etílico-ácido fórmico (100:6) hasta $R_f=0,4$.

II) Eter de petróleo-éter etílico-ácido fórmico (40:10:3). Los esteroides libres purificados se cuantifican por gravimetría.

3.4.3.3.- Separación por cromatografía en columna

BARBIER, HÜGEL y LEDERER (1960) después de extraer una serie de veces el polen con éter etílico y etanol, el extracto etanólico se filtra sobre silicato de magnesio-celita (2:1), se eluye con cloroformo-metanol (95:5); el eluato se trata con éter, separando la fracción insoluble en éter. La fracción soluble, se separa en parte neutra y en ácida mediante carbonato sódico. La parte neutra se cromatografía sobre gel de sílice. Los eluatos obtenidos por la mezcla benceno-éter etílico (9:1) se cristalizan en metanol, obteniendo un esteroide bruto (reacción Liebermann-Burchard azul verdoso) constituido mayoritariamente por 24-metilen colesterol.

HÜGEL, VETTER, AUDIER, BARBIER y LEDERER (1964) cromatografían la fracción insaponificable del extracto alcohólico de la muestra de polen, sobre columna de ácido silícico según BARBIER y HÜGEL y LEDERER (1960). La fracción eluida por la mezcla benceno-éter etílico (95:5) (reacción Liebermann: azul-verdoso) se cristaliza en metanol.

STANDIFER, DEVYS y BARBIER (1968) separan los esteroides de la fracción insaponificable por cromatografía en columna, posterior purificación por precipitación con digitonina y por cromatografía en capa fina (TLC) sobre ácido silícico, desarrollando con pentano-acetato de etilo (7:3).

CERRI, DESIMONE, SENATORE y ZOLLO (1979) fraccionan el insaponificable en columna sobre silicagel usando como eluyente cloroformo.

LOPER, STANDIFER, THOMPSON y GILLIAN (1980) rompen el polen mecánicamente y se extrae dos veces con una mezcla de solventes formada por cloroformo-metanol-agua (3:2:2) (7 ml/g de polen). El extracto se filtra y concentra a vacío hasta sequedad; se diluye con una solución de cloruro sódico al 15% y el residuo se extrae de nuevo con diclorometano. Este se lava con agua y se seca sobre sulfato sódico. El residuo se cromatografía sobre alúmina neutra de grado de actividad II usando 50 ml de cada uno de los solventes: hexano, hexano-benceno (1:1), benceno, benceno-éter etílico (3:1) y éter etílico; obteniendo hidrocarburos, ésteres de esteroides y ceras, triglicéridos, alcoholes y esteroides, respectivamente. La fracción de ésteres de esteroides y ceras se saponifica y los esteroides esterificados se aíslan de forma similar.

SVOBODA, HERBERT, LUSBY y THOMPSON (1983) aíslan los esteroides de la fracción insaponificable por cromatografía en columna sobre alúmina, posteriormente se purifican por cromatografía en capa fina y precipitación con digitonina.

3.4.4.- Análisis de la fracción esterólica

Para la separación e identificación de los distintos componentes de la fracción esterólica se emplea fundamentalmente la cromatografía de gases. Las temperaturas de columna oscilan entre 220°C y 280°C; las fases estacionarias más utilizadas son silicona SE-30, JXR y OV-17; como soportes de la fase estacionaria se usan celite, Gas Chrom. P, Supelcoport, Chromosorb W, etc. lavados a los ácidos y silanizados; el gas portador más

utilizado es nitrógeno y el detector suele ser de ionización de llama (FID).

También se utiliza con frecuencia la espectrometría de masas, así como métodos de comprobación por espectrofotometría de IR, UV y resonancia magnética nuclear (RMN).

Los esteroides se pueden analizar como tales, en forma libre o previa formación de derivados.

3.4.4.1.- Análisis por cromatografía de gases (GLC)

KNIGHTS (1968) estudia los esteroides en el polen de *Brassica napus* usando cromatografía gas-líquido.

BATTAGLINI, BOSI y RICCIARDELLI D'ALBORE (1970) caracterizan los esteroides individuales mediante cromatografía de gases, después de obtener los trimetilsilil ésteres, preparados a partir del digitonido, según la técnica de SWEELY, BENTLEY, MAXITA y WELL (1963). La fase estacionaria es SE-30 al 2% sobre Chromosorb W-A/W silanizado. Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (FID). Temperatura de la columna 260°C. Temperatura del inyector y detector 290°C. Gas portador: Nitrógeno.

CERRI, DESIMONE, SENATORE y ZOLLO (1979) acetilan la fracción esteróica con anhídrido acético y piridina durante 12 horas a temperatura ambiente. Se purifica en columna sobre silicagel eluyendo con éter de petróleo 40-70°C y benceno (7:3). Los acetatos de esteroides se fraccionan en columna sobre nitrato de plata-gel de sílice (1:4), eluyendo con éter de petróleo 40-70°C con cantidades crecientes de benceno. Las fracciones obtenidas se analizan por GLC con un cromatógrafo Perkin-Elmer 3920 B equipado con columna de 2m x 3mm de diámetro interno, rellena de OV-17 al 3%. Temperatura de la columna 250°C. Gas portador: Nitrógeno (50 ml/min).

LOPER, STANDIFER, THOMPSON y GILLIAN (1980) obtienen los acetatos de esteroides que cuantifican por GLC en columna rellena con SE-30.

FARAG, AHMED, RASHAD y EWIES (1980) aplican la cromatografía de gases para la identificación y análisis cuantitativo de los esteroides.

ANDRIKOPOULOS, SIAFAK-KAPADAI, DEMOPOULOS y KAPOULAS (1985) analizan los esteroides sin derivatizar, usando una columna de vidrio de 1,8 m x 2 mm de diámetro interno, rellena de SP-2250 al 3% sobre Supelcoport. Temperatura de la columna 260°C; temperatura del inyector y detector 270°C. Gas portador: Nitrógeno (60ml/min), detector de ionización de llama (FID).

3.4.4.2.- Análisis por cromatografía de gases asociada a otras técnicas

BARBIER, HÜGEL y LEDERER (1960) identifican el 24-metilen-colesterol, empleando una serie de técnicas entre las que no figura la cromatografía de gases; determinan el punto de fusión de la fracción obtenida y por análisis elemental comprueban que se corresponde a la fórmula $C_{28}H_{46}O$. El espectro de IR muestra dos bandas características del grupo metileno. Determinan además los valores de rotación óptica. El esteroide se somete además a ozonólisis mediante ácido acético y la 2,4-dinitro-fenil hidrazona del formaldehído. Se identifica el formaldehído por el punto de fusión característico y el R_f de su 2,4-dinitro-fenilhidrazona en cromatografía radial sobre papel impregnado de dimetil-formamida, desarrollando con decalina.

HÜGEL, VETTER, AUDIER, BARBIER, LEDERER (1964) estudian la fracción esteróica mediante espectrofotometría UV y resonancia magnética nuclear. Los resultados son confirmados por

espectrometría de masas que permite obtener con precisión los pesos moleculares, grados de saturación y estructura de las cadenas laterales, de los esteroides presentes. Para la espectrometría de masas se utilizan derivados acetatos hidrogenados. Para completar el estudio de las medidas físicas se efectúa una ozonólisis y una oxidación de Oppenauer. La espectrometría de masas se realiza con un aparato Atlas CH₄; temperatura de la fuente de iones 260°C; tensión de ionización: 70 ev y 10 ev; temperatura de inyección 220°C. La cromatografía gaseosa se realiza en columna rellena de sílica SE-30 al 3% sobre Chromosorb P. Temperatura programada entre 175-225°C (con diferentes programas).

STANDIFER, DEVYS y BARBIER (1968) acetilan la mezcla esteroídica con anhídrido acético en piridina. Los acetatos de esteroides se recristalizan sobre metanol. El espectro de masas de los acetatos de esteroides se obtuvo con un Atlas CH₄. La temperatura cuando la muestra se introduce es de 180°C. La composición relativa de la mezcla de esteroides analizada se calcula sobre la base de los picos M-60 (valores +/- 10%). La presencia de colesterol se verificó por la preparación de los trimetilsililderivados y análisis por cromatografía de gases a 200°C y flujo de 120 ml/min sobre columna de 2 m x 4 mm de diámetro interno, rellena con celite-HMDS impregnado con QF-1 (flurosilicona al 10%). La presencia del 24-metilen colesterol se verifica por espectrometría de masas (intensidad de pico a m/e 296); espectrofotometría de IR (bandas 1639 cm⁻¹ y 885 cm⁻¹); por preparación del 24-cetocolesterol por ozonólisis (BARBIER, HÜGEL y LEDERER, 1960); saponificación del acetato y comparación directa por cromatografía en capa fina.

SVODOBA, HERBERT, LUSBY y THOMPSON (1983) analizan los esteroides cuali y cuantitativamente por GLC con tres sistemas: OV-17 al 2% sobre Gas Chrom P (100-120 mallas) en columna de 1,8 m x 2 mm de

diámetro interno a 249°C; columna capilar de sílice fundida J & W DB-1, 15 m x 0,25 micrómetros a 219°C, gas portador helio a 25 cm/seg de velocidad lineal, relación de split 23:1; SE-30 al 2% sobre Gas Chrom P (100-120 mallas) en columna de 1,8 m x 4 mm de diámetro interno a 230°C. Las dos primeras columnas en cromatógrafo Varian mod 3700 y la tercera en un Hewlett-Packard mod 7610 A. La identificación de los esteroides por GLC se basa en la comparación de los tiempos de retención relativos con el colesterol como " estándar interno". La identificación de todas las muestras de esteroides se establece por cromatografía de gases y espectrometría de masas con un Finningan mod 4510 GC-MS equipado con una columna capilar de sílice fundida T & W DB-1, de 15 m x 0,32 mm. El espectro de resonancia magnética protónica se realiza con un Jeol FX-60-Q Transformador de Fourier RMN equipado con sonda capilar de 1,7 mm. El espectro de IR se obtiene con un espectrofotómetro de infrarrojos Perkin-Elmer mod 221. Las muestras de esteroides son acetiladas (en piridina-anhídrido acético 2:1, a temperatura ambiente) y los acetatos se examinan por GLC y GC-MS. Los acetatos además, se fraccionan por cromatografía en columna con 20% de nitrato de plata impregnando Unisil, y las fracciones obtenidas se purifican sobre cromatoplasmas de silicagel H impregnadas con nitrato de plata.

3.4.5.- Determinación de carotenoides

Al no hallarse referencias sobre la determinación de carotenoides en el polen apícola, se han de mencionar las aplicadas a otro tipo de muestras, que se recogen ampliamente en el trabajo de LOPEZ, SIMAL y VARELA (1987). Por lo que solamente citaremos la existencia de métodos espectrofotométricos y cromatográficos que engloban la cromatografía en papel y capa fina, cromatografía gaseosa, cromatografía líquida de alta resolución...



4.- Parte experimental



4.1.- MUESTRAS

Las muestras de polen apícola para la realización de este trabajo fueron adquiridas en el comercio en número de 35 marcas diferentes. En su mayoría se presentan en gránulos de distintos colores y tamaños más o menos homogéneos aunque existen marcas que ofrecen el polen apícola pulverizado.

En el mapa de la Figura 10 se indica la situación geográfica de los domicilios sociales de las casas comerciales envasadoras de las muestras analizadas.

El estudio del origen botánico se ha efectuado en 32 muestras de polen granulado de las 35 totales, rechazando las que se presentan en el mercado pulverizadas, ya que los gránulos de polen individuales, se encuentran rotos total o parcialmente, perdiendo precisión el análisis. Los restantes estudios se han realizado en las 35 muestras.

4.2.- TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Con el fin de facilitar las determinaciones de los distintos componentes, es necesario pulverizar las muestras; por lo que para evitar modificaciones debidas a la gran higroscopicidad del polen y a su naturaleza hidrocarbonada, se recomendable realizar la fragmentación en "caja seca" que proporciona una atmósfera inerte exenta de humedad, mediante el uso de pentóxido de fósforo (P_2O_5). Se realiza en un tiempo mínimo de uno a dos minutos, suficiente para lograr un polvo fino y evitar alteraciones en la muestra.

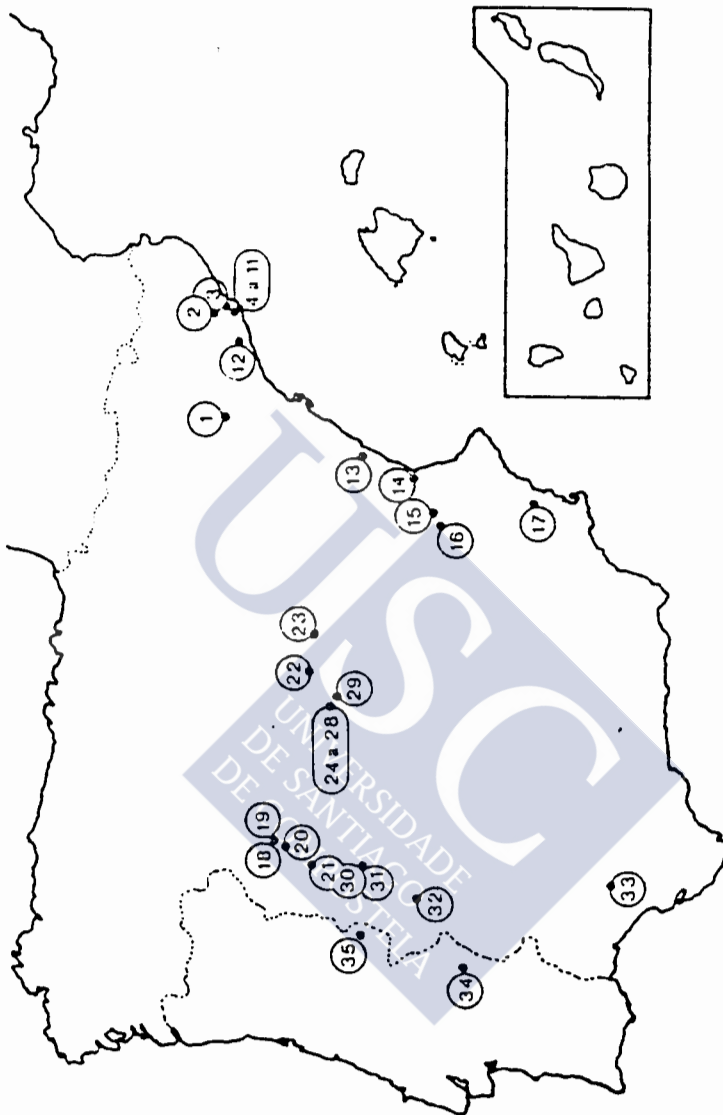


FIGURA 10.- Localización de los domicilios sociales de las casas envasadoras de las muestras de polen apícola comercial analizadas

4.3.- COLOR

El color en el polen apícola, ha sido objeto de estudio por nuestra parte en un trabajo de Licenciatura realizado por HUIDOBRO, SIMAL, MUNIATEGUI y GARCIA, 1986 (pendiente de publicación).

En dicho trabajo se aplica el método de la "Comisión Internacional de l'Eclairage" (CIE), mediante lectura directa por reflectancia difusa y cálculo de las coordenadas triestimulares, al color de la muestra global de polen apícola en gránulo. Comprobándose que en el polen pulverizado no se manifiestan apenas diferencias en el color de las muestras.

Con objeto de completar el trabajo anterior, relacionándolo con el origen botánico y corroborar así otros ya existentes en este campo (SERRA, GOMEZ y GONELL, 1985; PEREZ, GOMEZ y MOLINS, 1987...), se realiza una separación de los gránulos según su coloración exterior y posteriormente, se obtienen los taxones implicados en dicha coloración.

4.4.- DETERMINACION DEL ORIGEN BOTANICO MEDIANTE MICROSCOPIA OPTICA

4.4.1.- Fundamento

Se basa en disgregar los granos de polen apícola en solución acuosa, tratándolos previamente con éter etílico para eliminar las sustancias lipídicas de la superficie exínica de los granos; posteriormente se somete a la acción del hidrato de cloral y éter etílico con objeto de aumentar y mejorar su refringencia y nitidez en la observación con el microscopio óptico, tras su tinción con verde de metilo (según la técnica de TERRADILLOS, SIMAL y HUIDOBRO, 1986a).

4.4.2.- Reactivos

- Eter etílico pa Panreac.
- Solucion hidroalcohólica de hidrato de cloral: Se pesan 50 g de hidrato de cloral pa Analema y se disuelven en 50 ml de etanol absoluto pa Probus y 2 ml de agua destilada.
- Solución hidroalcohólica de verde de metilo glicerizada: Se toman 3 partes de etanol absoluto y se saturan con verde de metilo Merck Art 1314 a continuación se añaden 0,5 partes de agua destilada y 5 partes de glicerina Analema 30^º Bé, pura anhidra. (TERRADILLOS, SIMAL y HUIDOBRO, 1986a).
- Parafina Merck Art 7152.

4.4.3.- Material y aparatos

- Tubos de centrifuga de 50 ml de capacidad.
- Centrifuga capaz de alcanzar las 3000 rpm.
- Placa calefactora graduable.
- Microscopio óptico binocular de 120, 400 y 800-1000 aumentos.
- Otro material de uso corriente: Balanza, portas y cubreobjetos, pipetas, etc.

4.4.4.- Procedimiento

10 g de polen apícola en gránulo se someten a sucesivos lavados con volúmenes de éter etílico hasta la obtención de líquido incoloro, con el fin de eliminar las sustancias lipídicas de los granos de polen que dificultan notablemente la observación de las estructuras exínicas.

Posteriormente se disgregan en 250 ml de agua destilada con agitación constante y en caso necesario, calentamiento suave, con objeto de obtener una dispersión lo más perfecta y homogénea posible. De ésta, se

toma 1 ml y se centrifuga a 3.000 rpm durante 10 minutos.

Se decanta la fase líquida y sobre el sedimento se añaden 4 ml de solución hidroalcohólica de hidrato de cloral y 1 ml de éter etílico, eliminando así restos de sustancias lipídicas que pudieran quedar en la exina de los granos y aumentando su refringencia. Se homogeniza durante unos 10 minutos y posteriormente se centrifuga a 3.000 rpm durante 5 minutos.

Una vez decantada la fase líquida, sobre el sedimento se aplican unas gotas de solución hidroalcohólica de verde de metilo glicerizada (TERRADILLOS, SIMAL y HUIDOBRO, 1986a) y se homogeniza perfectamente.

Se toman alícuotas sobre un porta y se parafina sobre una placa calefactora.

4.4.5.- Identificación

Para la identificación de los granos de polen se utiliza como material de referencia una colección de preparaciones microscópicas de los pólenes florales (recogidos a mano directamente de las plantas) más frecuentes, tratados según el método anterior. Además se han consultado las siguientes claves polínicas: PLA DALMAU (1961), FAEGRI e IVERSEN (1966) y la modificación de éstas por TORRAS (1982), y la de BELMONTE, PEREZ-OBIOL y ROURE (1984) de las principales especies melíferas de la península ibérica; así como obras de descriptiva entre las que destacan: ZANDER (1950), HYDE y ADAMS (1958), KREMP (1968), LOUVEAUX (1970), IZCO y SAENZ (1976 a y b) y MOORE y WEBB (1983). La identificación de las distintas especies de *Cistus* se realiza en base a las características y fotografías de GOMEZ (1984).

En las Figuras 11 a 22, ambas inclusive, se recogen fotografiados, algunos de los pólenes identificados en las muestras de polen apícola analizadas.

La parte fotográfica se ha realizado sobre las preparaciones microscópicas empleadas en el análisis polínico, utilizando un microscopio binocular Nikon HFX-II, provisto de cámara fotográfica Nikon fx-35 A.

4.4.6.- Contaje y expresión de resultados

En cada una de las muestras analizadas se ha efectuado la lectura o contaje de 200 granos de polen examinados completamente línea por línea, expresándose los resultados en tanto por ciento (%) para cada especie botánica identificada.



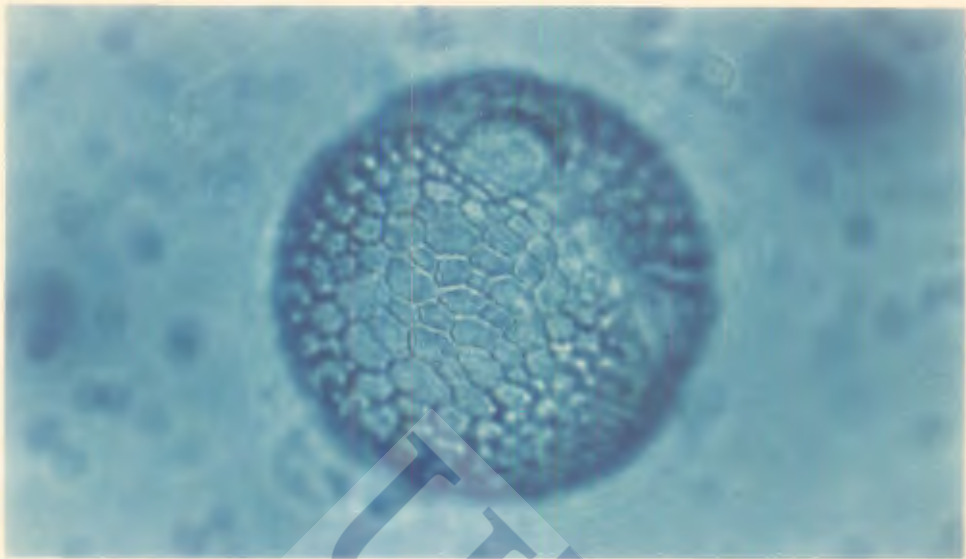


FIGURA 11.- Polen de *Cistus ladaniferus* L. (600X).

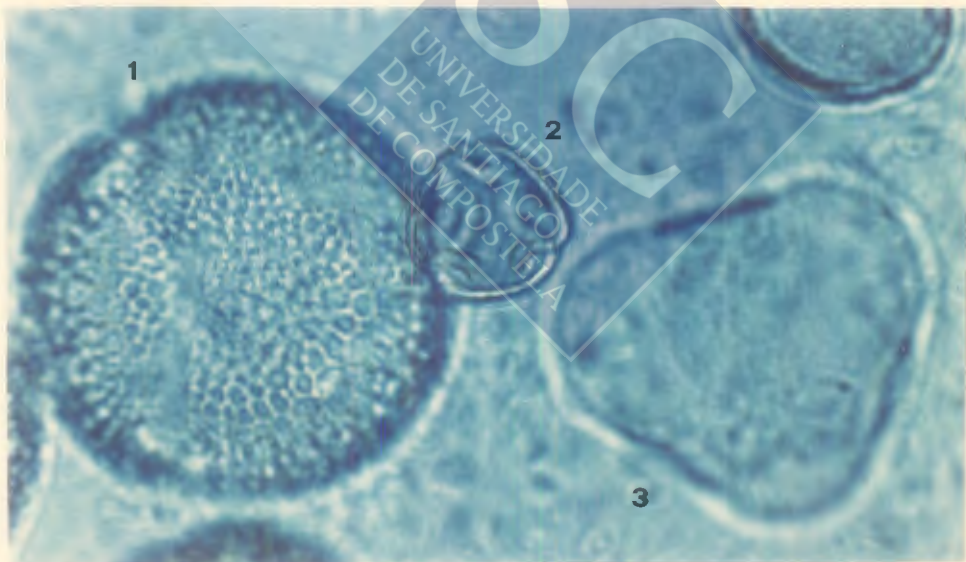


FIGURA 12.- Pólenes de: 1.- *Cistus ladaniferus* L. 2.- *Rubus* sp. 3.-
Papilionaceae Tipo Genista (600X) .



FIGURA 13.- Pólenes de:
1.- *Campanula* sp.
2.- *Quercus* sp.(600X).



FIGURA 14.- Polen de
Papilionaceae Tipo
Vicia (600X).

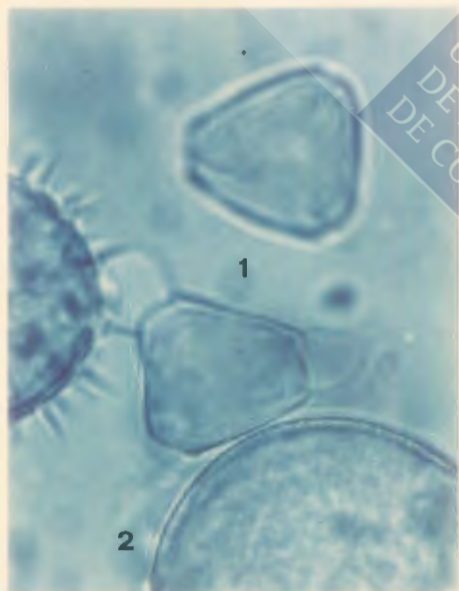


FIGURA 15.- Pólenes de:
1.- *Eucalyptus* sp. 2.- *Cistus*
clusii Dunal (600X).

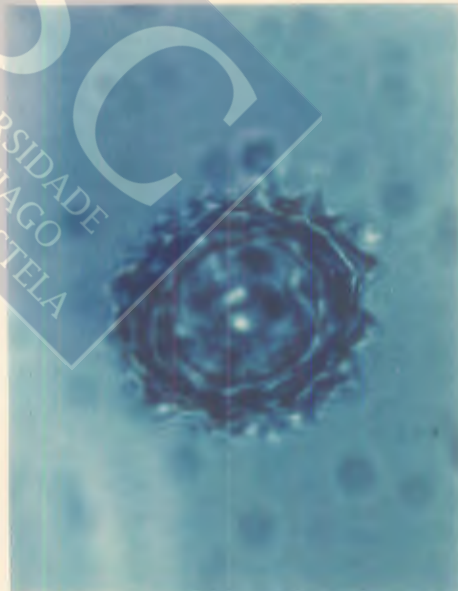


FIGURA 16.- Polen de
Compositae Tipo S
(*Serratula* sp.) (600X).

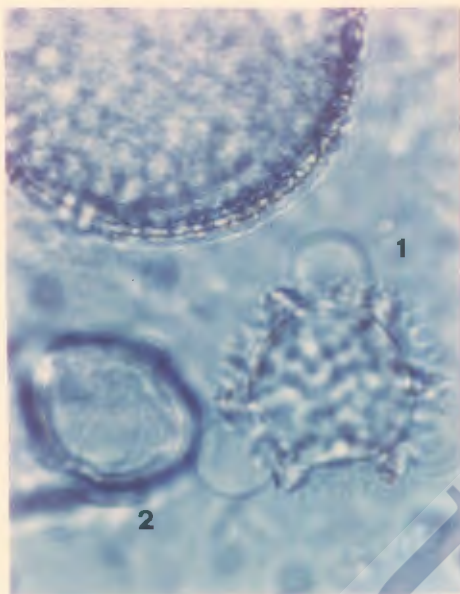


FIGURA 17.- Pólenes de:
1.- Compositae Tipo T
2.- Quercus sp. (600X).



FIGURA 18.- Polen de Echium sp.
(600X).

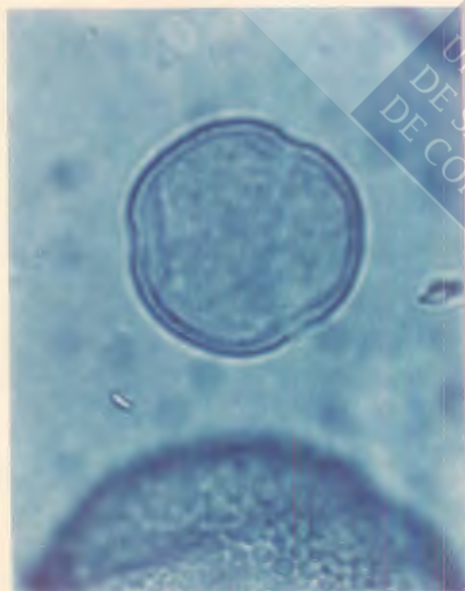


FIGURA 19.- Polen de
Papaver sp. (600X).



FIGURA 20.- Pólenes de:
1.- Ericaceae 2.- Rosmarinus
officinalis (600X).

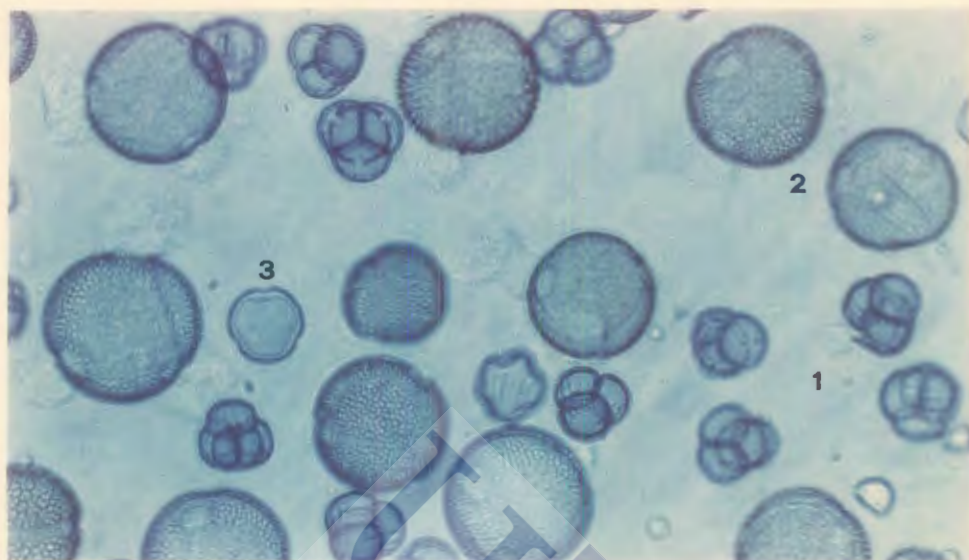


FIGURA 21.- Vista general de campo. Pólenes de: 1.- Ericaceae. 2.- *Cistus ladaniferus* L. 3.- *Papaver* sp. (200X).

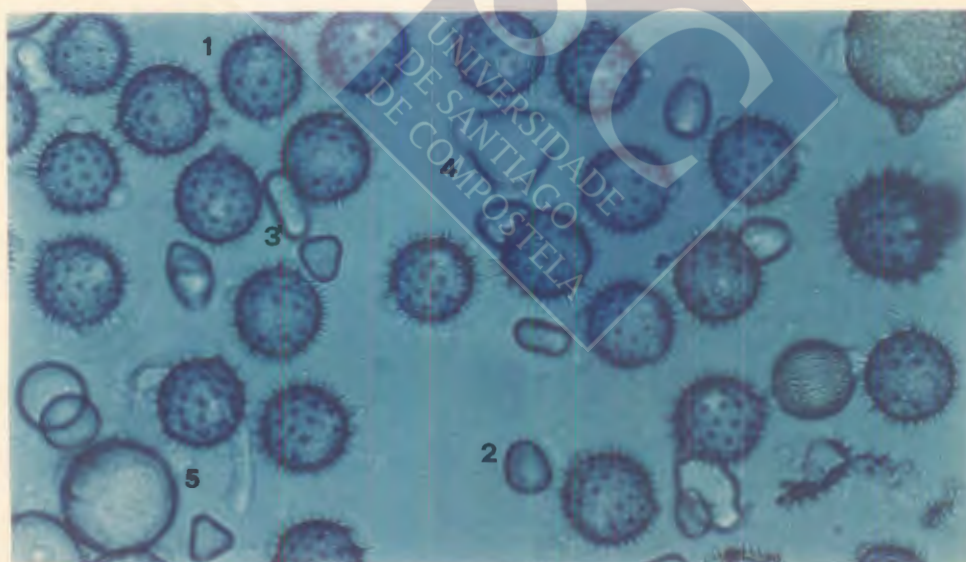


FIGURA 22.- Vista general de campo. Pólenes de: 1.- *Helianthus annuus* L. 2.- *Eucaliptus* sp. 3.- Papilionaceae Tipo *Vicia*. 4.- *Campanula* sp. 5.- *Cistus clusii* Dunal (200X).

4.5.- DETERMINACION DE AGUA, HIDRATOS DE CARBONO Y PROTEINAS

Estos parámetros han sido objeto de publicaciones previas, por lo que nos limitaremos a mencionar su fundamento y referencia.

4.5.1.- Agua

El contenido en agua del polen apícola se calcula mediante desecación de la muestra mezclada con arena en estufa a vacío y temperatura de 60°C, en pesafiltros con tapa (HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI, 1986 a y b).

4.5.2.- Hidratos de carbono

Para la cuantificación global de azúcares reductores se realiza la modificación del método de Lane-Eynon donde la valoración se efectúa a volumen constante de 25,0 ml. La glucosa y fructosa son determinadas mediante métodos enzimáticos específicos, con las enzimas hexoquinasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y fosfoglucosa isomerasa. El cálculo de la "maltosa aparente" se establece por diferencia entre el poder reductor total y el correspondiente a la glucosa y fructosa, expresados ambos en azúcar invertido. La sacarosa aparente es determinada por el aumento del poder reductor tras la inversión ácida de la solución y posterior conversión de este aumento en sacarosa. Los polisacáridos son separados y cuantificados mediante la hidrólisis producida por la amiloglucosidasa y posterior evaluación de la glucosa generada, expresándose en ésta. (HUIDOBRO, SIMAL y MUNIATEGUI, 1986b y 1987).

4.5.3.- Proteínas

El estudio de las proteínas en el polen apícola ha sido objeto de un trabajo de Licenciatura (HUIDOBRO, SIMAL y SANCHO 1986) que está pendiente de publicación, a pesar de ello, citaremos el fundamento de los parámetros evaluados: La determinación del nitrógeno total y proteína bruta se realiza por microKjeldahl, multiplicando el nitrógeno total por 6,25 para obtener la proteína bruta. En el caso de la prolina libre, se realiza la extracción con alcohol etílico al 80% (v/v) y posteriormente se determina mediante lectura espectrofotométrica a 520 nm, semejante a la que utiliza la AOAC (1984) para la medida de este parámetro en la miel. Por otra parte, para determinar la prolina total es necesaria una hidrólisis clorhídrica, evaluándose a continuación este parámetro de forma análoga al caso anterior. En relación a la determinación del ácido glutámico total, se somete el polen a hidrólisis clorhídrica (semejante a la anterior), evaluándose el ácido glutámico total mediante lectura a 490 nm del cromóforo formado en presencia de hidroxilamina, nitrito sódico y cloruro férrico.

4.6.- DETERMINACION DE LA GRASA TOTAL

Se utiliza el método de análisis de la grasa total para chocolates según la norma UNE 34-082-76.

En el desarrollo del método se distinguen tres etapas:

- Desecación de la muestra.
- Hidrólisis de la muestra.
- Extracción de la grasa.

4.6.1.- Deseccación de la muestra

4.6.1.1.- Objeto

La deseccación ha de efectuarse con objeto de facilitar la extracción de la grasa y poder expresar los resultados en materia seca.

4.6.1.2.- Material y aparatos

- Balanza electrónica Salter electroscale AB 180.
- Pesafiltros de vidrio con tapa de 55 mm de diámetro y 40 mm de altura.
- Estufa Heraeus mod KR 170.
- Deseccador provisto de Silicagel como agente deshidratante.

4.6.1.3.- Procedimiento

Se pesan 10 g de polen apícola en un pesafiltros con tapa, que previamente ha sido desecado y tarado. Se lleva a estufa a temperatura de 60°C durante 12 horas, al cabo de las cuales, tras enfriar en desecador, se pesa. La diferencia de peso del conjunto con la muestra inicial y el del peso una vez realizada la deseccación, se corresponde con el valor del contenido en agua del polen sometido a ensayo.

4.6.2.- Hidrólisis de la muestra

4.6.2.1.- Objeto

La hidrólisis se efectúa con objeto de liberar aquellos ácidos grasos y otras fracciones lipídicas que pudieran estar unidas a las paredes u otros componentes existentes en el polen.

4.6.2.2.- Reactivos

- Acido clorhídrico 25% (d=1,12); se mezclan 560 ml de ácido clorhídrico del 37,5% (d=1,19) con 333 ml de agua.
- Solución de nitrato de plata 0,1 N.

4.6.2.3.- Material y aparatos

- Refrigerante.
- Matraz de boca esmerilada con fondo plano que se adapte al refrigerante.
- Perlas de vidrio.
- Nutcha y kitasato de 500 ml.
- Baño de arena y de agua.
- Platina calefactora.
- Estufa.
- Papel de filtro Whatman nº 1 de diámetro 15,0 cm.

4.6.2.4.- Procedimiento

Se pasa la muestra desecada a un matraz, en el que se añaden agitando continuamente 45 ml de agua destilada y después 55 ml de ácido clorhídrico al 25%. Se adicionan perlas de vidrio desengrasadas para evitar la ebullición violenta.

Se acopla el refrigerante al matraz y se deja hervir suavemente durante 15 minutos. Se lava el refrigerante con 100 ml de agua destilada hirviendo que se recoge en el matraz. Se filtra a vacío, lavando el filtrado hasta que cese de dar reacción con la solución de nitrato de plata 0,1N. Se lleva el papel de filtro con el filtrado, a un cartucho de extracción libre de grasa y se seca durante 6 a 18 horas a 100-101°C.

4.6.3.- Extracción de la grasa

4.6.3.1.- Fundamento

Se realiza una extracción continua con éter de petróleo (40-60°C) en un extractor Soxhlet, de las muestras pulverizadas (para aumentar su superficie) y desecadas previamente, pues la humedad impide la correcta extracción.

4.6.3.2.- Reactivos, material y aparatos

Además de los empleados en el apartado 4.6.2.3:

- Extractor Soxhlet.
- Cartuchos de celulosa Whatman de 118 mm de longitud y 33 mm de diámetro interno.
- Eter de petróleo anhidro (40-60°C) Panreac.

4.6.3.3.- Procedimiento

Se deseca durante una hora a 100°C un matraz redondo de fondo plano de 250 ml, se enfría, se pesa con precisión y se conecta al extractor Soxhlet. Con ayuda de una espátula se lleva la muestra desecada desde el pesafiltros al cartucho de celulosa. Se añaden, una vez colocado el cartucho de celulosa en el Soxhlet, unos 150 ml de éter de petróleo. Se extrae a reflujo durante 4 horas.

Posteriormente se destila el disolvente en baño de agua y se seca a 100°C hasta peso constante. Se eliminan los últimos restos de éter de petróleo por medio de una corriente de nitrógeno y se pesa.

4.6.3.4.- Cálculos

$$\% \text{ de extracto etéreo} = \frac{100 \times F}{W} \text{ (en materia seca)}$$

(Obtenido directamente de la muestra desecada)

Siendo:

F= Peso de la grasa extraída en gramos (peso del matraz con grasa después de desecado menos peso del matraz seco).

W= Peso de la muestra desecada en gramos.

Partiendo de la muestra sin desecar, este % de extracto etéreo en materia seca será: $\frac{100 \times F}{100 - H}$

Siendo:

H= % de humedad de la muestra

4.7- ALGUNOS PARAMETROS FISICOQUIMICOS DE LA GRASA

En la determinación del índice de refracción se sigue la Norma UNE 55-015. Para el índice de acidez se aplica la Norma UNE 55-011, con ciertas modificaciones en lo que respecta a la cantidad de muestra empleada y utilización de microbureta en la valoración. En el índice de saponificación se emplea la Norma UNE 55-012 con modificación de la cantidad de muestra utilizada. Finalmente, el índice de yodo se determina utilizando el método de Hanus según la Norma UNE 55-013.

4.8.- SEPARACION DE LIPIDOS NEUTROS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION

4.8.1.- Objeto

Este método tiene por objeto determinar la fracción de lípidos neutros del polen apícola con un análisis rápido mediante cromatografía líquida de alta resolución en condiciones isocráticas e inyección directa de la muestra, con detección a baja longitud de onda (206 nm).

4.8.2.- Reactivos

- n-Hexano Lichrosolv Merck Art 4391.
- 2-Propanol pa Merck Art 9634.
- Acido acético pa Merck Art 63.
- Acetona pa Merck Art 14.
- Metanol Lichrosolv Merck Art 6007.
- Patrones de lípidos Sigma Art 178-1. Mezcla de colesterol, oleato de colesterol, éster metílico del ácido oleico y trioleína; en cantidades del 20% de cada uno de los componentes.

4.8.3.- Material y aparatos

- Cromatógrafo de líquidos Spectra-Physics compuesto por:
 - Bomba Spectra-Physics 8700 XR para tres gradientes.
 - Inyector de 10 microlitros Rheodyne.
 - Detector UV/VIS Spectra-Physics 8440 XR con selección de longitud de onda variable.
 - Integrador Spectra-Physics 4290.
 - Columna Lichrosorb Si 60 de 7 micras y 25 x 0,46 cm.

4.8.4.- Condiciones cromatográficas

Como fase móvil se emplea la mezcla n-hexano-2-propanol-ácido acético (100:0,5:0,1).

La detección se realiza a baja longitud de onda (206 nm), temperatura ambiente y haciendo uso del siguiente gradiente de elución:

Tiempo (min)	Flujo (ml/min)
1-12	1,0
13	1,2
16	1,5
20-30	1,7

En estas condiciones el tiempo total de la determinación es de unos 26 minutos.

Después de cada inyección se procede al lavado de la columna, con un gradiente de varios solventes de *polaridad creciente*: hexano, acetona y metanol (20-25 ml de cada disolvente); cada cierto tiempo se realiza una reactivación del material soporte de la columna, con gradiente de solventes de *polaridad decreciente*: Metanol, acetona y hexano (30-40 ml de cada uno de los disolventes).

4.8.5.- Procedimiento

De la grasa obtenida según 4.6 se realiza la dilución en la fase móvil necesaria hasta lograr una concentración de 10 microgramos de muestra/10 microlitros de disolución.

Esta disolución se inyecta directamente en el cromatógrafo, realizándose la inyección por duplicado.

4.8.6.- Identificación y comprobación de las fracciones por cromatografía en capa fina (TLC)

La identificación de los componentes lipídicos se realiza por comparación y coincidencia con los tiempos de retención de una mezcla de patrones disueltos en la fase móvil.

Además, como comprobación se procede a la recolección de las distintas fracciones separadas y se desarrollan en una cromatografía en capa fina, en cromatoplasmas de silicagel 60 de 0,25 mm de espesor sobre aluminio ; previamente activados durante 1 hora a 110°C.

Como líquidos de desarrollo se utilizan las siguientes mezclas en un doble desarrollo unidimensional:

- a) Eter etílico-ácido acético (50:1) hasta R_f : 0,4 (4 cm).
- b) Eter de petróleo-éter etílico-ácido acético (80:20:3) (hasta 10 cm).

4.8.7.- Cuantificación de los picos

La valoración cuantitativa de los distintos componentes se realiza a través de la medida del área relativa de cada pico y se expresa en porcentaje de área de ésteres de esteroides, triglicéridos y ácidos grasos totales presentes, sin tener en cuenta el factor de respuesta, por no coincidir la composición de los componentes de la mezcla patrón y de las muestras estudiadas.

4.8.8.- Precisión

La precisión de los porcentajes de área para cada uno de los componentes lipídicos separados, ha sido estudiada efectuando 8 medidas diferentes sobre el mismo patrón. Los coeficientes de variación se recogen en la Tabla XIV.

TABLA XIV
PRECISION DE LOS PORCENTAJES DE AREAS OBTENIDOS EN LA DETERMINACION
DE LOS LIPIDOS NEUTROS

Número de medidas	Esteres de esteroides	Esteres de ácidos grasos	Triglicéridos	Ácidos grasos	Colesterol
1	43,5	8,2	7,9	8,0	32,5
2	45,0	9,4	7,8	7,0	30,5
3	45,9	8,0	7,9	6,6	24,8
4	45,8	10,8	8,2	6,6	25,5
5	50,9	9,3	8,1	6,4	25,1
6	51,0	8,6	8,1	6,7	24,8
7	47,5	9,1	8,8	7,2	25,2
8	46,6	8,9	8,2	6,9	29,1
\bar{X}	47,0	9,0	8,1	6,9	27,2
S_{n-1}	2,69	0,37	3,82	0,50	3,06
Cv%	5,71	9,6	3,82	7,27	11,2

4.9.- DETERMINACION DE LOS ACIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFIA GASEOSA

Se sigue la norma UNE 55.037, basada en la separación y determinación por cromatografía gaseosa de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, obtenidos a partir del extracto graso del polen apícola y consta de dos fases:

- Preparación de los ésteres metílicos: Por interesterificación directa de la grasa con disolución de metilato sódico 0,2N.
- Procedimiento cromatográfico: Se emplea un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer mod Sigma 300, equipado con dos detectores de ionización de llama de hidrógeno y microprocesador además de integrador Spectra-Physics con dos canales mod 4270. Columna de vidrio de 2 m x 2 mm de

diámetro interno, rellena de DEGS al 15% sobre Chromosorb W-HP (80-100 mallas). Las condiciones de trabajo son: Temperatura de la columna, programada desde 140 a 200°C, con incremento gradual de 1,4°C/min. Temperatura del inyector y del detector, 250°C. Caudal del nitrógeno 2,5 ml/min. En estas condiciones se produce la elución del linoleato de metilo en un tiempo mínimo de 25 minutos (MUNIATEGUI, SIMAL, HUIDOBRO y GARCIA, 1988).

4.10.- DETERMINACION DE LA FRACCION DE ESTEROLES POR CROMATOGRAFIA GASEOSA (GLC)

4.10.1.- Fundamento

Se aplica la norma UNE 55.019, para el aislamiento de la fracción de esteroides de la materia grasa del polen apícola y separación en sus distintos componentes.

El procedimiento consta de tres fases:

- Saponificación de la grasa y extracción de la materia insaponificable.
- Aislamiento de la fracción de esteroides por cromatografía en capa fina (TLC).
- Separación de los componentes de la fracción de esteroides por cromatografía gaseosa.

4.10.2.- Saponificación de la grasa y extracción de la materia insaponificable

4.10.2.1.- Reactivos

- Disolución alcohólica de hidróxido potásico 2N.
- Agua destilada.
- Eter de petróleo (40-60°C) pa Panreac.

- Alcohol etílico al 50% (v/v) preparado a partir de alcohol etílico absoluto pa Analema.

4.10.2.2.- Material y aparatos

- Matraz de 250 ml con boca esmerilada.
- Refrigerante a reflujo.
- Placa calefactora.
- Ampollas de decantación de 250 ml de capacidad.
- Evaporador rotatorio de vacío Buchi R 7653.
- Otro material de vidrio de uso corriente en el laboratorio.

4.10.2.3- Procedimiento

Se pesan con exactitud unos 0,5 g de grasa de polen apícola obtenida según 4.6 en un matraz de 250 ml con boca esmerilada, provisto de un refrigerante a reflujo, se añaden 50 ml de solución alcohólica de hidróxido potásico 2N. Se deja hervir durante una hora. Se añaden por la parte superior del refrigerante 50 ml de agua destilada y se agita.

Tras enfriar, se trasvasa el contenido del matraz a una ampolla de separación, donde se vierten 50 ml de éter de petróleo (40-60°C). Se agita enérgicamente durante unos minutos para asegurar un contacto íntimo entre las fases y se deja sedimentar. Cuando las dos fases esten completamente separadas, se trasvasa la disolución jabonosa (capa inferior) a una segunda ampolla de separación, donde se trata de nuevo con 50 ml de éter de petróleo. Se decanta, separa y se extrae por tercera vez en idénticas condiciones.

Las tres porciones de éter de petróleo se reúnen en una misma ampolla, se lavan tres veces seguidas con volúmenes de 50 ml de alcohol etílico al 50% (v/v).

La fracción etérea se pasa a un pequeño matraz y se elimina el disolvente en evaporador rotatorio a vacío y se deseca.

4.10.2.4.- Cálculos

$$\% \text{ de insaponificable} = \frac{100 \times I}{G}$$

Siendo:

I= Peso del insaponificable obtenido

G= Peso de la grasa sometida a ensayo

4.10.3.- **Aislamiento de la fracción de esteroides por cromatografía en capa fina (TLC)**

4.10.3.1- Reactivos

- Cloroformo pa Panreac.
- Eter etílico pa Panreac.
- Hexano pa Panreac.
- Solución de colesterol al 10% (p/v) en cloroformo, a partir de patrón cromatográfico Analema.

4.10.3.2.- Material y aparatos

- Cubeta de vidrio con tapa, para el desarrollo de las placas.
- Lámpara de UV Uvaton 70 (254 y 360 nm) Atom.
- Cromatoplasmas de silicagel 60 F254 sobre aluminio (20 x 20 cm y 0,25 mm de espesor) Merck Art 5554.
- Microjeringa Hamilton de 50 microlitros de capacidad Ref 701 N.
- Matraz Erlenmeyer de 50 ml.
- Embudo de vidrio.
- Papel de filtro Whatman 541.
- Evaporador rotatorio de vacío Buchi R 7653.

4.10.3.3.- Procedimiento

El insaponificable obtenido según el procedimiento anterior, se disuelve en diez veces su peso de cloroformo.

Sobre la placa cromatográfica, previamente activada durante una hora a 110°C y conservada en desecador, se deposita el insaponificable con la ayuda de la microjeringa a unos 2 cm del borde inferior y 2,5 cm de los laterales, de forma que se obtenga una línea continua de origen lo más fina posible. Al mismo tiempo se deposita como referencia unas gotas de colesterol a una distancia de 1 cm de los extremos laterales, con el fin de establecer con precisión el R_f de la fracción esterólica.

La atmósfera de la cámara cromatográfica se satura con el líquido de desarrollo, constituido por una mezcla de hexano-éter etílico 2:1 (v/v), que se añade hasta una altura de 1 cm de la base de la cámara. Se introduce un papel de filtro y se cierra herméticamente. Antes de realizar el proceso cromatográfico se agita la cámara para impregnar el papel y se espera como mínimo tres horas con el fin de lograr el equilibrio líquido-vapor.

Se introduce la placa preparada en la cámara cromatográfica y se espera el desarrollo de la misma hasta que el frente del disolvente se haya situado a una distancia de 1 cm del límite superior de la placa.

Con el fin de facilitar la separación nítida de la banda esterólica y evitar interacciones con otras fracciones del insaponificable, es recomendable efectuar un desarrollo múltiple unidimensional (VILLAR, SIMAL y VILA; 1986) situándose el frente de disolvente a la misma altura que en el primer desarrollo, realizando el secado de la placa antes del nuevo desarrollo.

Las cromatoplasas se visualizan en la oscuridad con la lámpara UV a 254 nm, localizando la banda de esteroides según el alineamiento con la mancha de referencia del colesterol.

Se marca la banda y se rasca el silicagel con espátula metálica, teniendo cuidado de no incluir componente alguno de otra fracción del insaponificable. El silicagel separado, conteniendo la fracción esterólica, se introduce en un matraz Erlenmeyer, se añaden 20 ml de cloroformo y se hierve en baño de agua. Se filtra, transfiriendo cuantitativamente el silicagel al filtro. Se repite este tratamiento tres veces.

El cloroformo de los tres extractos reunidos se elimina en evaporador rotatorio a vacío. El residuo sólido se disuelve en cloroformo, siendo esta disolución la que se inyecta en el cromatógrafo.

4.10.4.- Separación de los componentes de la fracción de esteroides por cromatografía gaseosa (GLC)

4.10.4.1.- Reactivos

- Silicona OV-17 al 6% (p/p).
- Chromosorb W-HP, 80-100 mallas. Lavado a los ácidos y silanizado.
- Acetona pa Panreac.
- Disolución de colesterol al 2% en cloroformo, a partir de patrón cromatográfico Analema.

4.10.4.2.- Material y aparatos

- Cromatógrafo de gases Perkin-Elmer, mod Sigma 300, equipado con dos detectores de ionización de llama de hidrógeno (FID) y microprocesador.
- Integrador Spectra-Physics con dos canales mod SP 4270 (programable en lenguaje Basic) con módulo de memoria Spectra-Physics (256 K bytes RAM).
- Columna de vidrio revestida de acero de 2 m de longitud y 2 mm de diámetro interno, rellena de silicona OV-17 al 6% sobre Chromosorb W-HP, 80-100 mallas.

- Equipo tamiz de bolsillo Endecots.
- Microjeringa Hamilton de 10 microlitros de capacidad. Ref 710 N.
- Gases:
 - Nitrógeno N-47 (SEO).
 - Hidrógeno N-39 (SEO).
 - Aire comprimido (Compresor Ingersol Rand mod A).

4.10.4.3.- Procedimiento

Preparación de la columna cromatográfica:

Se pesa la cantidad deseada de soporte Chromosorb W-HP (80-100 mallas). Por otra parte, en un matraz de 200 ml se pesa la cantidad de silicona OV-17 (fase estacionaria) correspondiente al 6% del peso del soporte utilizado y se le añade el volumen necesario de acetona para lograr una disolución completa, agitando suavemente. A esta disolución se le añade el soporte pesado, dejándolo en reposo de 10 a 12 horas. Transcurrido este tiempo se elimina el disolvente en evaporador rotatorio a vacío. Una vez seco el relleno se mantiene en estufa durante 6 horas a 110°C.

Para conseguir un comportamiento óptimo de la columna es importante que el relleno tenga la mayor homogeneidad posible, siendo necesario para ello su tamización. Se recoge únicamente la porción que pasa por el tamiz de 80 y es retenida por el de 100 mallas, desechando los gruesos y finos.

Se introduce el relleno en la columna, haciendo vacío por un extremo tapado con algodón de vidrio y vibrando suavemente por percusión hasta su llenado total. Es preciso que el material rellene la columna homogéneamente evitando un empaquetamiento uniforme que provocaría una pérdida de eficacia, finalmente se obtura el otro extremo también con algodón de vidrio.

Antes de emplear la columna debe ser acondicionada manteniéndola en el cromatógrafo desconectada del detector a unos 270°C (10°C por encima de la temperatura de trabajo), haciendo pasar una corriente de nitrógeno durante 24 horas.

4.10.4.4.- Condiciones cromatográficas

Las condiciones de trabajo son las siguientes:

- Temperatura de la columna: 260°C.
- Temperatura del inyector: 295°C.
- Temperatura del detector: 295°C.
- Gas portador: Nitrógeno con un caudal de 18 ml/min.
- Hidrógeno: 30 psig (52 ml/min).
- Aire: 28 psig (400 ml/min).

En tales condiciones, el colesterol eluye aproximadamente a los 20 minutos de la inyección.

4.10.4.5.- Identificación y cuantificación de los picos

En la identificación gas-cromatográfica de los esteroides se tomó como referencia una disolución de colesterol cromatográficamente puro. Se determinan los tiempos de retención referidos al *beta*-sitosterol, considerado como unidad. Los esteroides presentes en las muestras se identifican por comparación y coincidencia de sus tiempos de retención relativos (TRR) con los de las referencias bibliográficas consultadas, donde se analiza la fracción esteróica de aceites de diversos orígenes (ITOH, TAMURA y MATSUMOTO, 1973; FEDELI y MARIANI, 1974; TISCORNA y BERTINI, 1974; WOLFF, 1980 y LERCKER, CONTE, CAPELLA y FREGA, 1983).

La valoración cuantitativa de los esteroides individuales se realiza a través de la medida del área relativa de cada pico y se expresa en porcentaje de esteroides totales presentes.

4.10.4.6.- Precisión

La precisión del método de determinación de esteroides presentes en las muestras de polen apícola analizadas, ha sido estudiada efectuando 10 medidas diferentes sobre la misma muestra de polen, expresándose en porcentajes en área referidos al *beta*-sitosterol, según se recoge en la Tabla XV.

4.11.- DETERMINACION DE CAROTENOIDES

4.11.1.- Objeto

Este método tiene por objeto determinar los carotenoides del polen apícola en un tiempo breve, aplicando la cromatografía líquida de alta resolución, en condiciones isocráticas, mediante detección a 453 nm e inyección directa de la muestra.

4.11.2.- Reactivos

- Patrón trans-beta-caroteno Aldrich Art 85,555-3.
- Disolventes igual que en 4.8.2.

4.11.3.- Material y aparatos

Los mismos que en 4.8.3.



TABLA XV
PRECISION DE LOS PORCENTAJES DE AREAS OBTENIDOS EN LA DETERMINACION DE ESTEROLES EN EL POLEN
APICOLA COMERCIAL

Número de medidas	COLESTEROL TRR = 0,61	ESTEROL nL TRR = 0,71	24-METILEN- COLESTEROL TRR = 0,83	B-SITOSTEROL TRR = 1,00	Δ^5 -AVENASTEROL TRR = 1,12	Δ^7 -AVENASTEROL TRR = 1,33

4.11.4.- Condiciones cromatográficas

Se emplea la misma fase móvil que en la determinación de los lípidos neutros (4.8.4).

Se trabaja en condiciones isocráticas a flujo de 1 ml/min y temperatura ambiente.

La detección se realiza en la región visible a 453 nm (máximo de absorbancia del trans-beta-caroteno).

El tiempo de elución es de 2,53 minutos.

4.11.5.- Procedimiento

Se inyecta la muestra disuelta en la fase móvil, en cantidad aproximada de 60 microgramos/10 microlitros.

4.11.6.- Identificación y comprobación mediante cromatografía en columna.

La identificación de los carotenoides se efectúa por la comparación con los tiempos de retención de un patrón de trans-beta caroteno disuelto en la fase móvil.

Por otra parte, se realiza una comprobación del tipo de estructura (carotenos o xantofilas: Mono y dihidroxipigmentos) que poseen los carotenoides aislados en la fracción lipídica del polen apícola. Para lo cual, se emplea un método rápido y sencillo descrito por la AOAC (1984) y aplicado posteriormente a piensos por LOPEZ, SIMAL y VARELA (1987), basado en la utilización de columnas cromatográficas tras la extracción con disolventes orgánicos.

La columna de vidrio es de 300 x 12,5 mm con soporte de lana de vidrio y rellena de fase estacionaria compuesta por: Silicagel 60 - tierra de diatomeas (1:1). Empleando como eluyentes para cada fracción:

- a) Carotenos: Hexano-acetona (96:4).
- b) Monohidroxipigmentos (MHP): Hexano- acetona (90:10).
- c) Dihidroxipigmentos (DHP): Hexano- acetona (80:20).

La muestra se disuelve en hexano y se pasa a través de la columna con los líquidos de elución anteriores. Se realiza el mismo procedimiento con una mezcla patrón.

Las fracciones separadas se inyectan en el cromatógrafo.

4.11.7.- Cuantificación

Se inyecta un patrón de *trans-beta*-caroteno de concentración conocida y por la relación área/concentración se calcula la proporción en la muestra. Expresándose el resultado en mg de *beta*-caroteno/100 g de grasa.

Así:

$$C_m = \frac{A_m \times C_p}{A_p}$$

Siendo:

C_p = Concentración del patrón en mg/100 g.

A_p = Área del patrón.

C_m = Concentración de los carotenos en la muestra en mg/100 g de grasa.

A_m = Área de la muestra.

4.11.8.- Precisión

Se ha establecido la precisión del método efectuando la medida 10 veces consecutivas del mismo patrón

El coeficiente de variación por ciento se recoge en la Tabla XVI.

TABLA XVI
PRECISION DE LA DETERMINACION DE CAROTENOIDES (mg/100 g)

Número de medidas	Beta-caroteno
1	223,4
2	218,7
3	211,7
4	217,0
5	219,6
6	220,8
7	220,2
8	223,8
9	224,2
10	220,8
\bar{X}	220,0
S_{n-1}	3,72
Cv%	1,69



5.- Resultados y discusión



El estudio se efectúa en muestras que se presentan comercialmente en gránulos, rechazando las pulverizadas (muestras números 9, 25 y 28), ya que el análisis no sería representativo al aparecer numerosos pólenes fragmentados o rotos.

En la Figura 24 se representa la frecuencia de aparición de cada taxón en las muestras estudiadas. Resalta el *Cistus ladaniferus* L. que aparece en las 32 muestras analizadas, seguido de la Rosaceae Tipo frutal y del *Quercus* sp. en 26 muestras y la Compustae Tipo T (*Taraxacum* sp.) en 25. El *Echium* sp. en 23 muestras, la Compustae Tipo S (*Serratula* sp.) y *Campanula* sp. en 22 y la Papilionaceae Tipo Genista en 21. El *Cistus clusii* Dunal y *Rubus* sp. en 20 muestras, *Cistus laurifolius* L. en 17 y la Ericaceae en 16. Por el contrario, los demás taxones identificados aparecen en menos de la mitad de las muestras estudiadas.

La familia claramente predominante es la Cistaceae y dentro de ésta, como especie mayoritaria, se encuentra el *Cistus ladaniferus* L. con un promedio del 39,5%.

Los taxones presentes con valores promedios superiores al 1% son los que se citan a continuación:

<i>Cistus ladaniferus</i> L. -----	39,5%
<i>Echium</i> sp. -----	10,3%
<i>Quercus</i> sp. -----	6,8%
<i>Campanula</i> sp. -----	4,8%
Compositae Tipo T (<i>Taraxacum</i> sp.) -----	4,4%
Rosaceae Tipo frutal-----	3,3%
Papilionaceae Tipo Genista -----	3,0%
Cruciferae Tipo Brasica -----	2,6%

<i>Cistus laurifolius</i> L. -----	2,2%
<i>Compositae Tipo S (Serratula sp.)</i> -----	2,2%
<i>Rubus sp.</i> -----	2,0%
<i>Compositae Tipo H (Helianthus sp.)</i> -----	1,8%
<i>Ericaceae</i> -----	1,8%
<i>Castanea sativa</i> L -----	1,8%
<i>Cistus clusii</i> Dunal -----	1,6%
<i>Papaver sp.</i> -----	1,4%
<i>Olea sp.</i> -----	1,1%

Por otra parte, los taxones que aparecen en una única muestra del total y en orden del 0,5%, son:

Buxus sp.
Drosera sp.
Erodium sp.
Ligustrum sp.
Parietaria sp.
Pinus sp.
Secale cereale L.

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 1. OS DE BALAGUER-LERIDA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	19,5
- BUNACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	1,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	50,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia.....	50,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>).....	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.).....	9,0
19.- Familia.....	9,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	2,0
27.- <i>Quercus sp.</i>	
28.- Familia.....	2,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras).....	1,0
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia.....	1,0
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	5,0
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecaum sp.</i>	0,5
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia.....	0,5
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia	
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	2,0
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	1,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal.....	6,5
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia.....	8,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	0,5
68.- Familia.....	0,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 2. CALDES DE MONTBUY-BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	20,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	0,5
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	0,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	9,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	3,5
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	23,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	1,0
13.- Familia	37,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	0,5
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	1,0
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	4,0
19.- Familia	5,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	12,5
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	3,0
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	1,0
23.- Familia	16,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
- ERICACEAE	
25.- <i>Ericaceae</i>	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	9,0
28.- Familia	9,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	0,5
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	0,5
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	0,5
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	0,5
46.- <i>Papaver sp.</i>	1,0
47.- Familia	1,5
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo <i>Genista</i>	4,5
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	1,0
53.- Familia	5,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal	2,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	2,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	1,0
68.- Familia	1,0
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 3. MONTORNES DEL VALLES-BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	1,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lycninus</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	1,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	0,5
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	10,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia	12,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	2,0
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	31,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	3,5
19.- Familia	37,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	16,0
21.- Tipo Diplotaxis	1,0
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	17,0
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	1,5
27.- <i>Quercus</i> sp.	5,0
28.- Familia	6,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea</i> sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia	
- PAPAYERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	10,5
46.- <i>Papaver</i> sp.	10,5
47.- Familia	21,0
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	0,5
53.- Familia	0,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	0,5
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	0,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal	3,0
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia	3,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 4. BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	9,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	2,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal.....	1,0
10.- <i>Cistus crispus</i> L.....	1,0
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.....	54,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.....	2,0
13.- Familia.....	58,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>).....	1,0
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.).....	6,5
19.- Familia.....	7,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	2,0
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	0,5
23.- Familia.....	2,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.....	0,5
27.- <i>Quercus sp.</i>	2,0
28.- Familia.....	2,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	3,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia.....	3,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	0,5
46.- <i>Papaver sp.</i>	0,5
47.- Familia.....	1,0
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo <i>Genista</i>	3,5
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia.....	3,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	1,0
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	0,5
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	0,5
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	3,0
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.....	0,5
61.- Tipo <i>Fruital</i>	3,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia.....	6,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	0,5
68.- Familia.....	0,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE.....	0,5
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 5. BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	9,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	0,5
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	75,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	0,5
13.- Familia	76,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	1,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	0,5
19.- Familia	2,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE	1,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	5,5
28.- Familia	5,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	1,0
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	1,0

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hyecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo <i>Genista</i>	0,5
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	0,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Fruital</i>	2,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	2,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	1,5
68.- Familia	1,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	0,5
71.- UNIBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLE XVII (Continúa)
 MUESTRA Nº 6. BARCELONA

Taxones (%)	
- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	3,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	0,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal.....	3,0
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.....	44,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.....	6,0
13.- Familia.....	53,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.).....	0,5
19.- Familia.....	0,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	3,0
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia.....	3,0
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE.....	1,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	6,5
28.- Familia.....	6,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia.....	0,5

Taxones (%)	
- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olca sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo <i>Genista</i>	0,5
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia.....	0,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Frutal</i>	0,5
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia.....	0,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 7. BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	10,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	12,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	0,5
7.- <i>Saponaria</i> sp.	2,0
8.- Familia	2,5
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	0,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	35,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	2,5
13.- Familia	38,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	0,5
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	2,0
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	3,0
19.- Familia	5,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	1,0
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	1,0
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	1,5
27.- <i>Quercus</i> sp.	8,0
28.- Familia	9,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hyecoum</i> sp.	0,5
46.- <i>Papaver</i> sp.	6,0
47.- Familia	6,5
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	1,0
49.- Tipo Genista	1,0
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	1,0
52.- Tipo Vicia	0,5
53.- Familia	3,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	0,5
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	1,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	0,5
61.- Tipo Frual	5,5
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia	7,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	2,0
68.- Familia	2,0
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 8. BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	10,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	5,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	1,0
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	3,0
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	36,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	10,5
13.- Familia	51,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	3,0
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leontis</i> Desf.)	20,5
19.- Familia	23,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	0,5
27.- <i>Quercus</i> sp.	1,5
28.- Familia	2,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
-GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	0,5
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	0,5
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia	0,5
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo Genista	5,5
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia	5,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	0,5
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal	
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia	
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	0,5
68.- Familia	0,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	0,5
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)
 MUESTRA Nº 10. BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	42,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	1,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	0,5
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia.....	0,5
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	28,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia.....	28,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.).....	0,5
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>).....	1,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.).....	2,5
19.- Familia.....	4,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis.....	5,5
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia.....	5,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE.....	0,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	1,0
27.- <i>Quercus sp.</i>	4,5
28.- Familia.....	5,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia.....	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucalyptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	1,5
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia.....	1,5
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypocoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista.....	1,0
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia.....	1,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	0,5
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	1,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal.....	3,5
62.- Tipo Potentilla.....	1,5
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia.....	6,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	0,5
67.- <i>Salix sp.</i>	1,0
68.- Familia.....	1,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 11. LA MUNIA DE CASTELLVI-BARCELONA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	0,5
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	2,0
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	14,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lycnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal.....	11,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.....	4,5
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.....	9,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.....	9,5
13.- Familia.....	35,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.).....	0,5
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>).....	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	
19.- Familia.....	1,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica.....	4,0
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia.....	4,0
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE.....	1,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.....	28,0
27.- <i>Quercus sp.</i>	4,0
28.- Familia.....	32,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	0,5
38.- Familia.....	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	1,0
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia.....	1,0
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hyecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	1,0
47.- Familia.....	1,0
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	3,0
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia.....	3,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	0,5
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Fruital</i>	1,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	1,0
63.- Tipo <i>Rosa</i>	1,0
64.- Familia.....	3,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	1,0
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 12. ALMAZORA-CASTELLON

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal _____	0,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. _____	58,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia _____	59,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.) _____	2,0
19.- Familia _____	2,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE _____	1,0
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i> _____	21,0
28.- Familia _____	21,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i> _____	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia _____	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista _____	16,0
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i> _____	0,5
53.- Familia _____	16,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Fruital</i>	
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 13. ALMAZORA-CASTELLÓN

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp. _____	5,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp. _____	39,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychuis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- _____	Familia
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. _____	11,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia _____	11,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.) _____	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.) _____	22,5
19.- Familia _____	23,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica _____	4,5
21.- Tipo Diplotaxis _____	0,5
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia _____	5,0
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus</i> sp. _____	3,5
28.- Familia _____	3,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp. _____	1,5
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp. _____	1,5
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo Genista _____	2,5
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium _____	1,0
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia _____	3,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp. _____	1,0
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp. _____	2,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Fruital _____	2,0
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia _____	4,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp. _____	1,0
68.- Familia _____	1,0
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp. _____	0,5
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 14. VALENCIA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	0,5
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	23,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	9,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal.....	2,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.....	37,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.....	3,0
13.- Familia	43,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.).....	0,5
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.).....	0,5
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.).....	5,0
19.- Familia	6,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica.....	2,0
21.- Tipo <i>Diptaxis</i>	
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia	2,0
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
- ERICACEAE	
25.- Ericaceae.....	0,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	7,5
28.- Familia	7,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	1,5
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hyecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	2,0
47.- Familia	2,0
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo <i>Genista</i>	
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Polygonum sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	3,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Fruital</i>	0,5
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	4,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	0,5
68.- Familia	0,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	0,5
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 15. MONTROY-VALENCIA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	1,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	5,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	0,5
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	34,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	1,5
13.- Familia	36,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	0,5
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	5,5
19.- Familia	6,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	2,0
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	2,0
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE	6,0
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	2,5
27.- <i>Quercus sp.</i>	8,5
28.- Familia	11,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	1,5
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	1,5
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	8,5
44.- Familia	10,0
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	0,5
46.- <i>Papaver sp.</i>	0,5
47.- Familia	1,0
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	2,0
50.- Tipo Onobrychis	1,0
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia	3,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	2,0
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	0,5
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	1,0
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	2,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	0,5
61.- Tipo Frutal	4,5
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia	7,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	4,5
68.- Familia	4,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	0,5
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 16. AYORA-VALENCIA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	3,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	1,0
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	36,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia	37,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	0,5
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	11,0
19.- Familia	11,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	0,5
25.- ERICACEAE	1,0
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	31,5
28.- Familia	31,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras)	0,5
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	0,5
- GUTTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	2,5
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	0,5
44.- Familia	0,5
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	0,5
47.- Familia	0,5
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	0,5
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	2,5
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	3,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	0,5
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	6,0
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal	
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	6,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	1,5
68.- Familia	1,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 17. FORMENTERA DEL SEGURA-ALICANTE

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	2,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	2,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	0,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	43,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	2,0
13.- Familia	51,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	6,0
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	11,5
19.- Familia	17,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
25.- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	11,0
27.- <i>Quercus</i> sp.	
28.- Familia	11,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea</i> sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	2,5
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypocoum</i> sp.	
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo <i>Genista</i>	1,0
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	1,0
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	2,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	0,5
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Frual</i>	9,5
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	0,5
64.- Familia	10,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	0,5
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	0,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 18. SALAMANCA

Taxones (%)	Taxones (%)
- ARALIACEAE	- LILIACEAE
1.- <i>Hedera sp.</i>	39.- <i>Allium sp.</i> _____ 5,5
- AQUIFOLIACEAE	- MYRTACEAE
2.- <i>Ilex sp.</i>	40.- <i>Eucaliptus sp.</i>
- BORRAGINACEAE	- OLEACEAE
3.- <i>Echium sp.</i> _____ 23,0	41.- <i>Fraxinus sp.</i>
- BUXACEAE	42.- <i>Ligustrum sp.</i>
4.- <i>Buxus sp.</i>	43.- <i>Olca sp.</i>
- CAMPANULACEAE	44.- Familia
5.- <i>Campanula sp.</i>	- PAPAVERACEAE
- CARYOPHYLLACEAE	45.- <i>Hypecoum sp.</i>
6.- <i>Lychnis sp.</i>	46.- <i>Papaver sp.</i>
7.- <i>Saponaria sp.</i>	47.- Familia
8.- Familia	- PAPILONACEAE
- CISTACEAE	48.- <i>Lotus sp.</i>
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	49.- <i>Tipo Genista</i> _____ 8,0
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	50.- <i>Tipo Onobrychis</i>
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. _____ 37,5	51.- <i>Tipo Trifolium</i> _____ 0,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	52.- <i>Tipo Vicia</i>
13.- Familia _____ 37,5	53.- Familia _____ 8,5
- COMPOSITAE	- PINACEAE
14.- <i>Tipo C (Centaurea cyanus</i> L.)	54.- <i>Pinus sp.</i>
15.- <i>Tipo H (Helianthus annuus</i> L.)	- PLANTAGINACEAE
16.- <i>Tipo J (Centaurea jacea</i> L.)	55.- <i>Plantago sp.</i> _____ 2,5
17.- <i>Tipo S (Serratula sp.)</i>	- POLYGONACEAE
18.- <i>Tipo T (Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	56.- <i>Rumex sp.</i>
19.- Familia	- RANUNCULACEAE
- CRUCIFERAE	57.- <i>Ranunculus sp.</i>
20.- <i>Tipo Brassica</i> _____ 6,5	- RESEDACEAE
21.- <i>Tipo Diplotaxis</i>	58.- <i>Reseda sp.</i>
22.- <i>Tipo Sinapis</i>	- ROSACEAE
23.- Familia _____ 6,5	59.- <i>Rubus sp.</i> _____ 2,5
- DROSERACEAE	60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.
24.- <i>Drosera sp.</i>	61.- <i>Tipo Frutal</i> _____ 7,5
25.- ERICACEAE _____ 4,0	62.- <i>Tipo Potentilla</i>
- FAGACEAE	63.- <i>Tipo Rosa</i>
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	64.- Familia _____ 10,0
27.- <i>Quercus sp.</i> _____ 1,5	- RUTACEAE
28.- Familia _____ 1,5	65.- <i>Citrus sp.</i> _____ 1,5
- GERANIACEAE	- SALICACEAE
29.- <i>Erodium sp.</i>	66.- <i>Populus sp.</i>
- GRAMINEAE	67.- <i>Salix sp.</i>
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	68.- Familia
31.- <i>Secale cereale</i> L.	- SCROPHULARIACEAE
32.- <i>Tipo Cereal</i> (40-60 micras)	69.- <i>Verbascum sp.</i>
33.- <i>Zea mays</i> L.	- ULMACEAE
34.- Familia	70.- <i>Ulmus sp.</i>
- GUTIFERAE	71.- UMBELLIFERAE
35.- <i>Hypericum sp.</i>	- URTICACEAE
- LABIATAE	72.- <i>Parietaria sp.</i>
36.- <i>Lavandula sp.</i> _____ 1,0	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia _____ 1,0	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA N° 19. SALAMANCA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	47,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	10,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	17,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia.....	17,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>).....	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	
19.- Familia.....	0,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE.....	8,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	0,5
27.- <i>Quercus sp.</i>	3,0
28.- Familia.....	3,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	1,0
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia.....	1,0

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	1,0
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia	
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	0,5
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	2,0
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal.....	5,0
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa.....	2,0
64.- Familia.....	9,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	1,5
68.- Familia.....	1,5
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 20. ALDEATEJADA-SALAMANCA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	7,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	4,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	2,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	56,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	0,5
13.- Familia	59,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	16,0
19.- Familia	16,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo <i>Diploaxis</i>	1,5
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia	1,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
25.- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus</i> sp.	1,0
28.- Familia	1,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	0,5
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea</i> sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	1,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	1,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	1,5
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	1,5
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo <i>Genista</i>	
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	0,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Fruital</i>	6,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	6,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 21. VALERO DE LA SIERRA-SALAMANCA

Taxones (%)	Taxones (%)
- ARALIACEAE	- LILIACEAE
1.- <i>Hedera sp.</i>	39.- <i>Allium sp.</i>
- AQUIFOLIACEAE	- MYRTACEAE
2.- <i>Ilex sp.</i>	40.- <i>Eucaliptus sp.</i> _____ 3,0
- BORRAGINACEAE	- OLEACEAE
3.- <i>Echium sp.</i> _____ 12,0	41.- <i>Fraxinus sp.</i>
- BUXACEAE	42.- <i>Ligustrum sp.</i>
4.- <i>Buxus sp.</i>	43.- <i>Olea sp.</i>
- CAMPANULACEAE	44.- Familia
5.- <i>Campanula sp.</i>	- PAPAVERACEAE
- CARYOPHYLLACEAE	45.- <i>Hypocoum sp.</i>
6.- <i>Lycinis sp.</i>	46.- <i>Papaver sp.</i> _____ 1,0
7.- <i>Saponaria sp.</i>	47.- Familia _____ 1,0
8.- Familia	- PAMILONACEAE
- CISTACEAE	48.- <i>Lotus sp.</i>
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal _____ 0,5	49.- <i>Tipo Genista</i> _____ 12,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	50.- <i>Tipo Onobrychis</i>
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. _____ 45,0	51.- <i>Tipo Trifolium</i> _____ 1,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	52.- <i>Tipo Vicia</i>
13.- Familia _____ 45,5	53.- Familia _____ 14,0
- COMPOSITAE	- PINACEAE
14.- <i>Tipo C (Centaurea cyanus</i> L.)	54.- <i>Pinus sp.</i>
15.- <i>Tipo H (Helianthus annus</i> L.)	- PLANTAGINACEAE
16.- <i>Tipo J (Centaurea jacea</i> L.)	55.- <i>Plantago sp.</i>
17.- <i>Tipo S (Serratula sp.)</i> _____ 1,5	- POLYGONACEAE
18.- <i>Tipo T (Taraxacum dens-leonis</i> Desf.) _____ 2,5	56.- <i>Rumex sp.</i>
19.- Familia _____ 4,0	- RANUNCULACEAE
- CRUCIFERAE	57.- <i>Ranunculus sp.</i> _____ 1,5
20.- <i>Tipo Brassica</i> _____ 0,5	- RESEDACEAE
21.- <i>Tipo Diplotaxis</i>	58.- <i>Reseda sp.</i>
22.- <i>Tipo Sinapis</i>	- ROSACEAE
23.- Familia _____ 0,5	59.- <i>Rubus sp.</i> _____ 1,0
- DROSERACEAE	60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L. _____ 0,5
24.- <i>Drosera sp.</i>	61.- <i>Tipo Frutal</i> _____ 4,5
25.- ERICACEAE _____ 7,0	62.- <i>Tipo Potentilla</i>
- FAGACEAE	63.- <i>Tipo Rosa</i>
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	64.- Familia _____ 6,0
27.- <i>Quercus sp.</i> _____ 4,5	- RUTACEAE
28.- Familia _____ 4,5	65.- <i>Citrus sp.</i>
- GERANIACEAE	- SALICACEAE
29.- <i>Erodium sp.</i>	66.- <i>Populus sp.</i>
- GRAMINEAE	67.- <i>Salix sp.</i>
30.- <i>Graminea sp. (< 40 micras)</i>	68.- Familia
31.- <i>Secale cereale</i> L.	- SCROPHULARIACEAE
32.- <i>Tipo Cereal (40-60 micras)</i>	69.- <i>Verbascum sp.</i>
33.- <i>Zea mays</i> L.	- ULMACEAE
34.- Familia	70.- <i>Ulmus sp.</i>
- GUTIFERAE	71.- UMBELLIFERAE
35.- <i>Hypericum sp.</i>	- URTICACEAE
- LABIATAE	72.- <i>Parietaria sp.</i>
36.- <i>Lavandula sp.</i> _____ 1,0	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia _____ 1,0	

TABLA XVII (Continúa)
 MUESTRA Nº 22. GUADALAJARA

<u>Taxones (%)</u>	<u>Taxones (%)</u>
- ARALIACEAE	- LILIACEAE
1.- <i>Hedera</i> sp.	39.- <i>Allium</i> sp. _____ 0,5
- AQUIFOLIACEAE	- MYRTACEAE
2.- <i>Ilex</i> sp.	40.- <i>Eucaliptus</i> sp.
- BORRAGINACEAE	- OLEACEAE
3.- <i>Echium</i> sp. _____ 7,5	41.- <i>Fraxinus</i> sp.
- BUXACEAE	42.- <i>Ligustrum</i> sp.
4.- <i>Buxus</i> sp.	43.- <i>Olea</i> sp.
- CAMPANULACEAE	44.- Familia
5.- <i>Campanula</i> sp.	- PAPAVERACEAE
- CARYOPHYLLACEAE	45.- <i>Hypocoum</i> sp. _____ 3,5
6.- <i>Lychnis</i> sp.	46.- <i>Papaver</i> sp. _____ 2,5
7.- <i>Saponaria</i> sp.	47.- Familia _____ 6,0
8.- Familia	- PAPILONACEAE
- CISTACEAE	48.- <i>Lotus</i> sp.
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	49.- <i>Tipo Genista</i> _____ 0,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L. _____ 0,5	50.- <i>Tipo Onobrychis</i>
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. _____ 47,5	51.- <i>Tipo Trifolium</i>
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	52.- <i>Tipo Vicia</i>
13.- Familia _____ 48,0	53.- Familia _____ 0,5
- COMPOSITAE	- PINACEAE
14.- <i>Tipo C (Centaurea cyanus</i> L.)	54.- <i>Pinus</i> sp.
15.- <i>Tipo H (Helianthus annuus</i> L.)	- PLANTAGINACEAE
16.- <i>Tipo J (Centaurea jacea</i> L.)	55.- <i>Plantago</i> sp.
17.- <i>Tipo S (Serratula</i> sp.)	- POLYGONACEAE
18.- <i>Tipo T (Taraxacum dens-leonis</i> Desf.) _____ 1,0	56.- <i>Pumex</i> sp.
19.- Familia _____ 1,0	- RANUNCULACEAE
- CRUCIFERAE	57.- <i>Ranunculus</i> sp. _____ 2,0
20.- <i>Tipo Brassica</i> _____ 12,0	- RESEDACEAE
21.- <i>Tipo Diplotaxis</i>	58.- <i>Reseda</i> sp.
22.- <i>Tipo Sinapis</i>	- ROSACEAE
23.- Familia _____ 12,0	59.- <i>Rubus</i> sp. _____ 2,5
- DROSERACEAE	60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.
24.- <i>Drosera</i> sp.	61.- <i>Tipo Frutal</i> _____ 1,5
25.- ERICACEAE	62.- <i>Tipo Potentilla</i>
- FAGACEAE	63.- <i>Tipo Rosa</i>
26.- <i>Castanea sativa</i> L. _____ 4,0	64.- Familia _____ 4,0
27.- <i>Quercus</i> sp. _____ 6,0	- RUTACEAE
28.- Familia _____ 10,0	65.- <i>Citrus</i> sp.
- GERANIACEAE	- SALICACEAE
29.- <i>Erodium</i> sp.	66.- <i>Populus</i> sp.
- GRAMINEAE	67.- <i>Salix</i> sp. _____ 7,5
30.- <i>Graminea</i> sp. (< 40 micras)	68.- Familia _____ 7,5
31.- <i>Secale cereale</i> L.	- SCROPHULARIACEAE
32.- <i>Tipo Cereal</i> (40-60 micras)	69.- <i>Verbascum</i> sp.
33.- <i>Zea mays</i> L.	- ULMACEAE
34.- Familia	70.- <i>Ulmus</i> sp.
- GUTIFERAE	71.- UMBELLIFERAE
35.- <i>Hypericum</i> sp. _____ 0,5	- URTICACEAE
- LABIATAE	72.- <i>Parietaria</i> sp. _____ 0,5
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

TABLA XVII (Continúa)
 MUESTRA Nº 23. MILLANA-GUADALAJARA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp. _____	5,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal _____	1,0
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. _____	21,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia _____	22,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.) _____	10,5
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	
19.- Familia _____	10,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica _____	0,5
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia _____	0,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus</i> sp.	
28.- Familia	
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras) _____	0,5
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia _____	0,5
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp. _____	0,5
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia _____	0,5
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypocum</i> sp. _____	2,0
46.- <i>Papaver</i> sp. _____	12,0
47.- Familia _____	14,0
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo Genista _____	1,0
50.- Tipo Onobrychis _____	0,5
51.- Tipo Trifolium _____	1,5
52.- Tipo Vicia _____	8,0
53.- Familia _____	11,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp. _____	11,0
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal _____	16,0
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa _____	2,0
64.- Familia _____	29,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp. _____	7,0
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLE XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 24. MADRID

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i> _____	0,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal_____	0,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L._____	61,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia_____	62,0
- COMPOSITAE	
14.- <i>Tipo C (Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- <i>Tipo H (Helianthus annuus</i> L.)	
16.- <i>Tipo J (Centaurea jacea</i> L.)	
17.- <i>Tipo S (Serratula sp.)</i>	
18.- <i>Tipo T (Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	
19.- Familia	
- CRUCIFERAE	
20.- <i>Tipo Brassica</i>	
21.- <i>Tipo Diplotaxis</i>	
22.- <i>Tipo Sinapis</i>	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE_____	17,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i> _____	2,5
28.- Familia_____	2,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp. (< 40 micras)</i>	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- <i>Tipo Cereal (40-60 micras)</i>	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L._____	0,5
38.- Familia_____	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i> _____	1,0
47.- Familia_____	1,0
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- <i>Tipo Genista</i> _____	0,5
50.- <i>Tipo Onobrychis</i>	
51.- <i>Tipo Trifolium</i>	
52.- <i>Tipo Vicia</i> _____	4,5
53.- Familia_____	5,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i> _____	1,0
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i> _____	8,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- <i>Tipo Frutal</i>	
62.- <i>Tipo Potentilla</i>	
63.- <i>Tipo Rosa</i> _____	1,5
64.- Familia_____	10,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 26. MADRID

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L. _____	41,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia _____	41,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.) _____	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.) _____	4,0
19.- Familia _____	4,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
25.- ERICACEAE _____	2,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L. _____	1,0
27.- <i>Quercus</i> sp. _____	41,5
Familia _____	42,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp. _____	0,5
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia _____	0,5
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia	
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp. _____	6,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal _____	2,0
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia _____	8,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 27. MADRID

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	0,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	15,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	65,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia	65,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	1,5
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	1,5
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	1,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	
19.- Familia	4,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE	3,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	1,5
27.- <i>Quercus sp.</i>	7,5
28.- Familia	9,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	0,5
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	0,5

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	2,0
47.- Familia	2,0
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia	
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal	
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia	
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 29. VELILLA SAN ANTONIO-MADRID

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	0,5
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	7,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	1,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal.....	1,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.....	15,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.....	4,0
13.- Familia.....	20,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.).....	0,5
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>).....	17,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.).....	1,0
19.- Familia.....	19,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica.....	18,5
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia.....	18,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	10,0
28.- Familia.....	10,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hyecoum sp.</i>	5,5
46.- <i>Papaver sp.</i>	5,0
47.- Familia.....	10,5
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo <i>Genista</i>	6,5
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	0,5
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia.....	7,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	1,0
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	1,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Fruital</i>	3,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia.....	4,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)
 MUESTRA Nº 30. PLASENCIA-CACERES

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	0,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	47,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	1,0
13.- Familia	48,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	1,0
19.- Familia	1,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo <i>Brassica</i>	0,5
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia	0,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
25.- ERICACEAE	1,0
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus</i> sp.	17,0
28.- Familia	17,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea</i> sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo <i>Genista</i>	28,0
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	0,5
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	28,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	0,5
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	2,0
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Frutal</i>	1,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	3,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 31. PLASENCIA-CACERES

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	1,0
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	5,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	53,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	7,5
13.- Familia	61,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	1,0
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	1,0
19.- Familia	2,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	1,5
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	1,5
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
- ERICACEAE	
25.- Familia	0,5
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	1,0
27.- <i>Quercus</i> sp.	4,0
28.- Familia	5,0
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea</i> sp. (< 40 micras)	2,0
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	2,0
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	2,5
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus</i> sp.	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	1,0
44.- Familia	1,0
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	1,0
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	1,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	7,5
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	2,5
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal	6,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	8,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	1,0
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 32. CRUCE DE LAS SERRERIAS-CACERES

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera</i> sp.	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex</i> sp.	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium</i> sp.	20,5
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus</i> sp.	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula</i> sp.	23,5
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis</i> sp.	
7.- <i>Saponaria</i> sp.	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	7,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	1,0
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	2,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	0,5
13.- Familia	11,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula</i> sp.)	1,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	3,0
19.- Familia	4,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera</i> sp.	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	1,0
27.- <i>Quercus</i> sp.	0,5
28.- Familia	1,5
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium</i> sp.	
- GRAMINEAE	
30.- Graminea sp. (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum</i> sp.	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula</i> sp.	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium</i> sp.	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucalyptus</i> sp.	2,0
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus</i> sp.	
42.- <i>Ligustrum</i> sp.	
43.- <i>Olea</i> sp.	22,0
44.- Familia	22,0
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum</i> sp.	
46.- <i>Papaver</i> sp.	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus</i> sp.	0,5
49.- Tipo <i>Genista</i>	
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	0,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus</i> sp.	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago</i> sp.	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex</i> sp.	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus</i> sp.	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda</i> sp.	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus</i> sp.	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Fruital</i>	3,5
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	3,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus</i> sp.	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus</i> sp.	
67.- <i>Salix</i> sp.	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum</i> sp.	1,0
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus</i> sp.	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria</i> sp.	

TABLA XVII (Continúa)
MUESTRA Nº 33. PILAS-SEVILLA

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	5,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	68,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	14,0
13.- Familia	82,5
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	0,5
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	2,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	2,0
19.- Familia	5,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo <i>Diplotaxis</i>	
22.- Tipo <i>Sinapis</i>	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	
28.- Familia	
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	1,0
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	1,0

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	0,5
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypocoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo <i>Genista</i>	1,0
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	1,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	0,5
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo <i>Frual</i>	4,0
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	4,0
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	0,5
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Continúa)

MUESTRA Nº 34. VILA VIÇOSA-PORTUGAL

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	2,0
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	4,5
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	0,5
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	3,0
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	
13.- Familia	8,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	1,5
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	57,5
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	1,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	1,5
19.- Familia	62,0
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	
28.- Familia	
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	0,5
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	0,5
33.- <i>Zea mays</i> L.	1,5
34.- Familia	2,5
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	20,5
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	1,5
44.- Familia	1,5
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypecoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAPILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	
50.- Tipo <i>Onobrychis</i>	
51.- Tipo <i>Trifolium</i>	2,0
52.- Tipo <i>Vicia</i>	
53.- Familia	2,0
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Frutal	0,5
62.- Tipo <i>Potentilla</i>	
63.- Tipo <i>Rosa</i>	
64.- Familia	0,5
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	1,0
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

TABLA XVII (Y continuación)

MUESTRA Nº 35. PENAMACOR-PORTUGAL

Taxones (%)

- ARALIACEAE	
1.- <i>Hedera sp.</i>	
- AQUIFOLIACEAE	
2.- <i>Ilex sp.</i>	
- BORRAGINACEAE	
3.- <i>Echium sp.</i>	
- BUXACEAE	
4.- <i>Buxus sp.</i>	
- CAMPANULACEAE	
5.- <i>Campanula sp.</i>	
- CARYOPHYLLACEAE	
6.- <i>Lychnis sp.</i>	
7.- <i>Saponaria sp.</i>	
8.- Familia	
- CISTACEAE	
9.- <i>Cistus clusii</i> Dunal	1,0
10.- <i>Cistus crispus</i> L.	
11.- <i>Cistus ladaniferus</i> L.	91,5
12.- <i>Cistus laurifolius</i> L.	5,5
13.- Familia	98,0
- COMPOSITAE	
14.- Tipo C (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	
15.- Tipo H (<i>Helianthus annuus</i> L.)	
16.- Tipo J (<i>Centaurea jacea</i> L.)	
17.- Tipo S (<i>Serratula sp.</i>)	0,5
18.- Tipo T (<i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.)	
19.- Familia	0,5
- CRUCIFERAE	
20.- Tipo Brassica	
21.- Tipo Diplotaxis	
22.- Tipo Sinapis	
23.- Familia	
- DROSERACEAE	
24.- <i>Drosera sp.</i>	
25.- ERICACEAE	
- FAGACEAE	
26.- <i>Castanea sativa</i> L.	
27.- <i>Quercus sp.</i>	
28.- Familia	
- GERANIACEAE	
29.- <i>Erodium sp.</i>	
- GRAMINEAE	
30.- <i>Graminea sp.</i> (< 40 micras)	
31.- <i>Secale cereale</i> L.	
32.- Tipo Cereal (40-60 micras)	
33.- <i>Zea mays</i> L.	
34.- Familia	
- GUTIFERAE	
35.- <i>Hypericum sp.</i>	
- LABIATAE	
36.- <i>Lavandula sp.</i>	
37.- <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
38.- Familia	

Taxones (%)

- LILIACEAE	
39.- <i>Allium sp.</i>	
- MYRTACEAE	
40.- <i>Eucaliptus sp.</i>	
- OLEACEAE	
41.- <i>Fraxinus sp.</i>	
42.- <i>Ligustrum sp.</i>	
43.- <i>Olea sp.</i>	
44.- Familia	
- PAPAVERACEAE	
45.- <i>Hypocoum sp.</i>	
46.- <i>Papaver sp.</i>	
47.- Familia	
- PAMILONACEAE	
48.- <i>Lotus sp.</i>	
49.- Tipo Genista	1,5
50.- Tipo Onobrychis	
51.- Tipo Trifolium	
52.- Tipo Vicia	
53.- Familia	1,5
- PINACEAE	
54.- <i>Pinus sp.</i>	
- PLANTAGINACEAE	
55.- <i>Plantago sp.</i>	
- POLYGONACEAE	
56.- <i>Rumex sp.</i>	
- RANUNCULACEAE	
57.- <i>Ranunculus sp.</i>	
- RESEDACEAE	
58.- <i>Reseda sp.</i>	
- ROSACEAE	
59.- <i>Rubus sp.</i>	
60.- <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	
61.- Tipo Fruital	
62.- Tipo Potentilla	
63.- Tipo Rosa	
64.- Familia	
- RUTACEAE	
65.- <i>Citrus sp.</i>	
- SALICACEAE	
66.- <i>Populus sp.</i>	
67.- <i>Salix sp.</i>	
68.- Familia	
- SCROPHULARIACEAE	
69.- <i>Verbascum sp.</i>	
- ULMACEAE	
70.- <i>Ulmus sp.</i>	
71.- UMBELLIFERAE	
- URTICACEAE	
72.- <i>Parietaria sp.</i>	

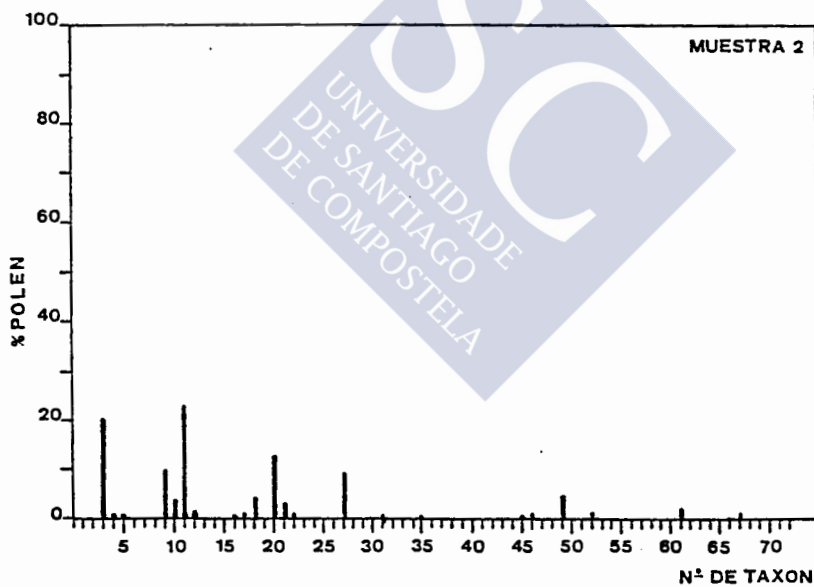
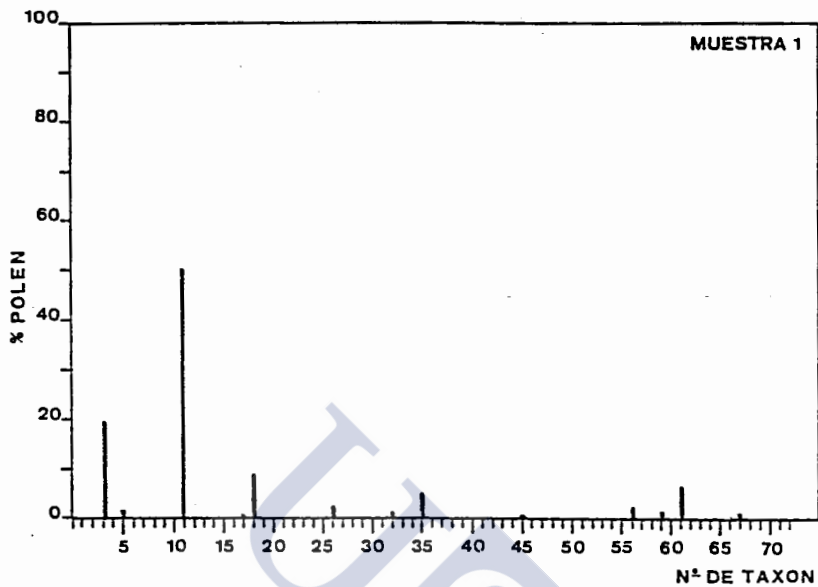


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

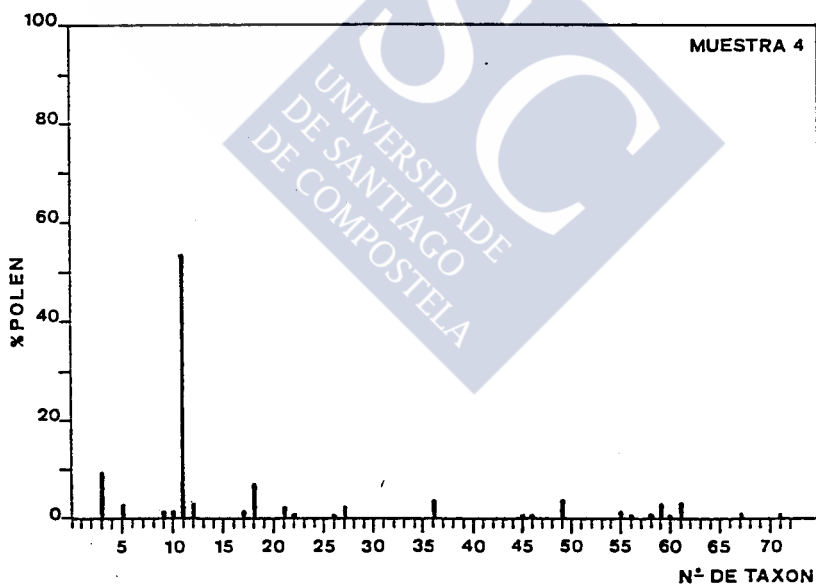
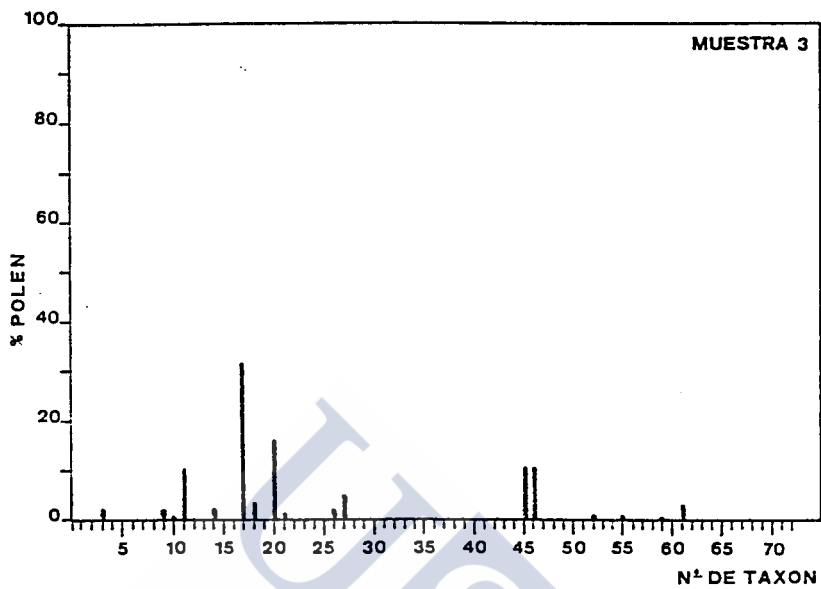


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

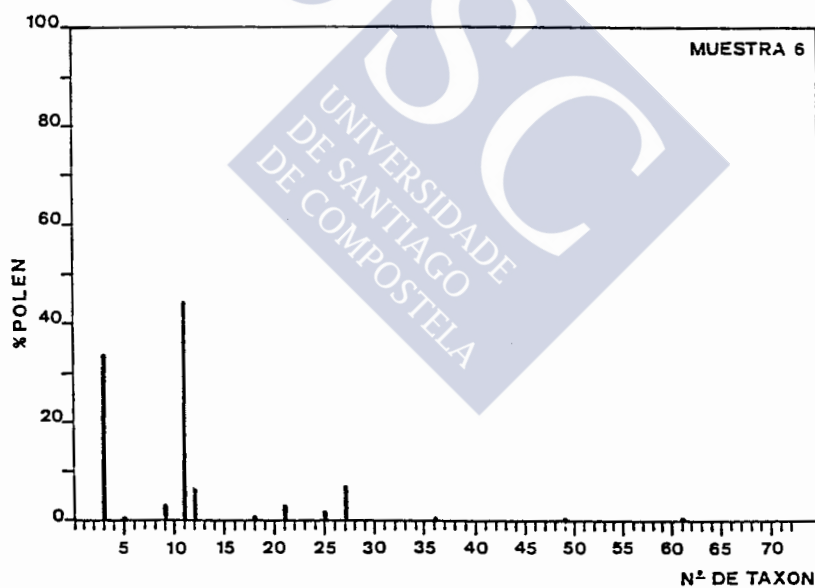
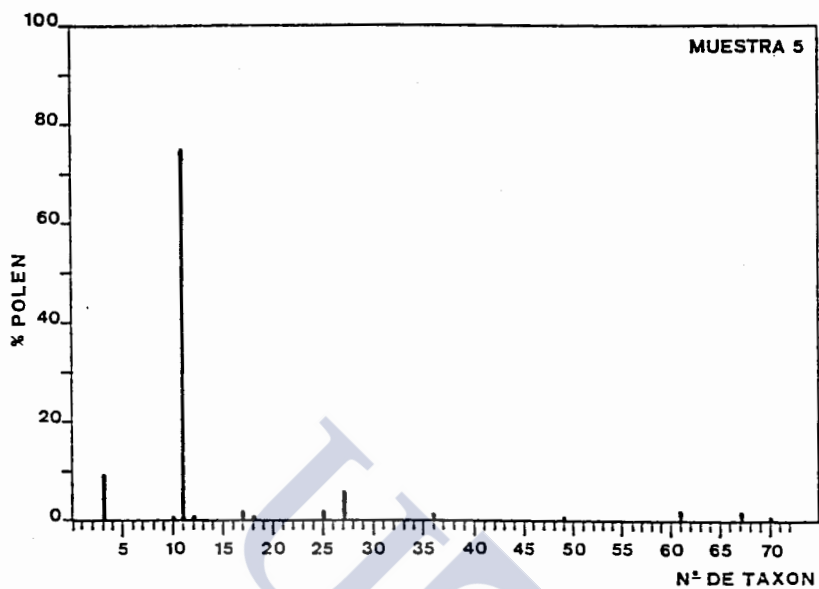


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

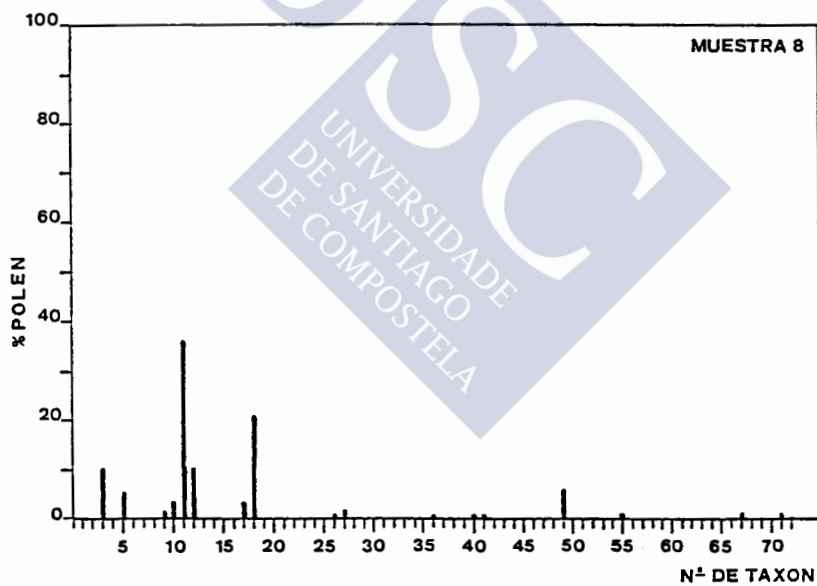
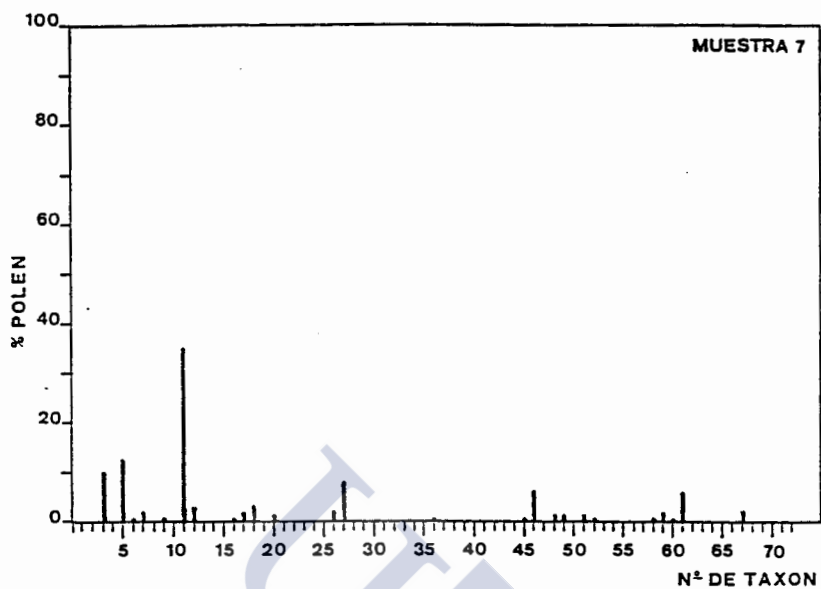


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

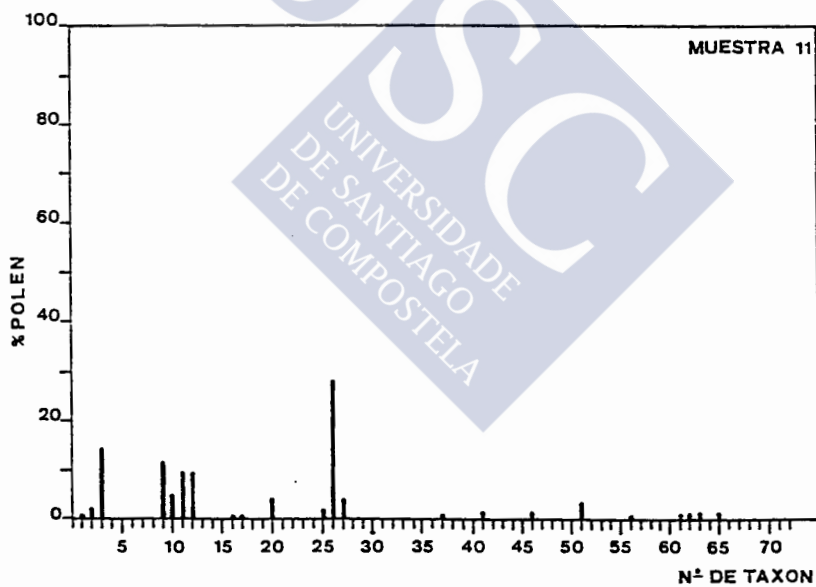
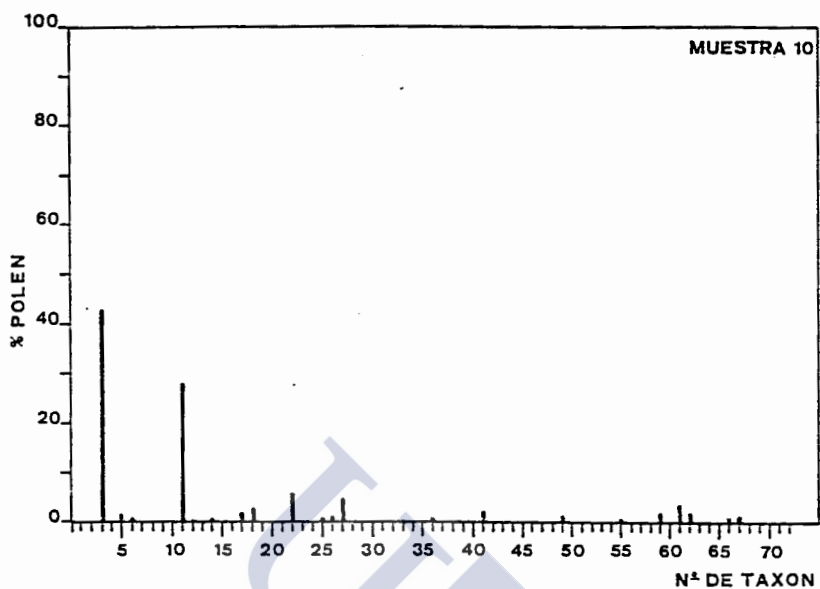


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

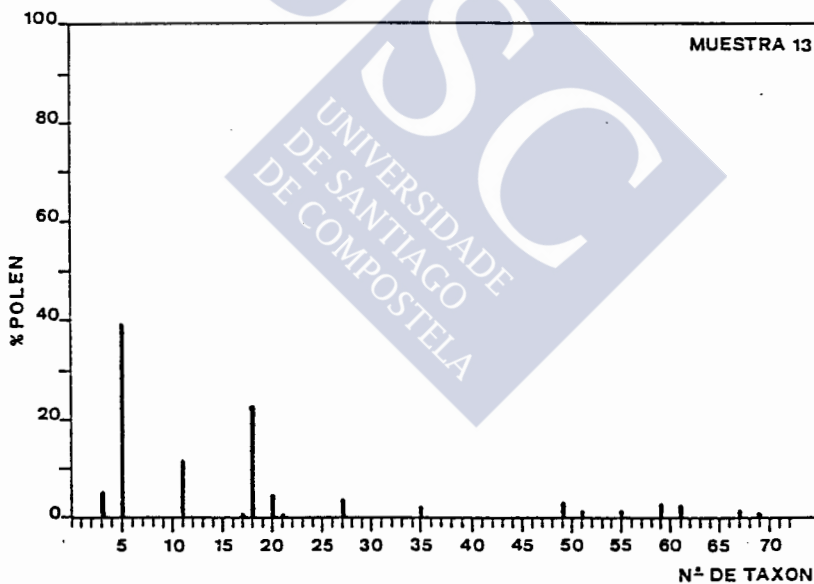
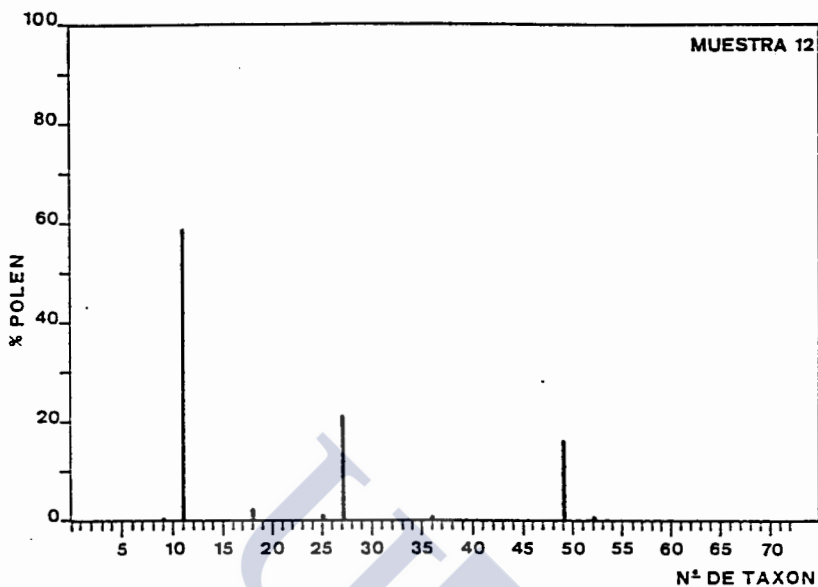


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

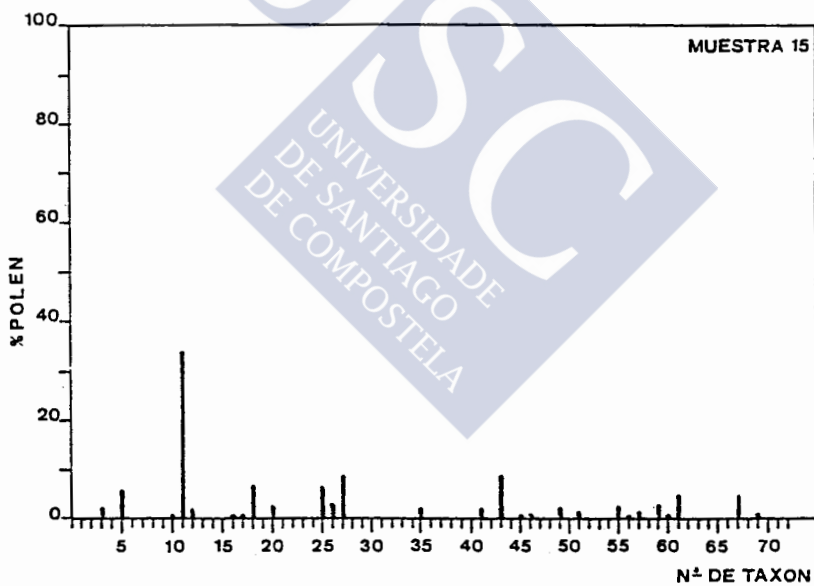
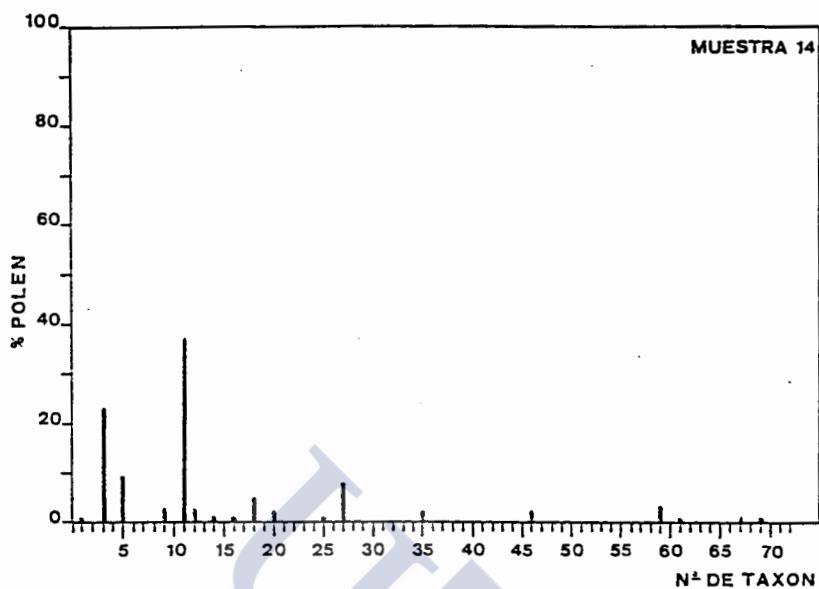


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

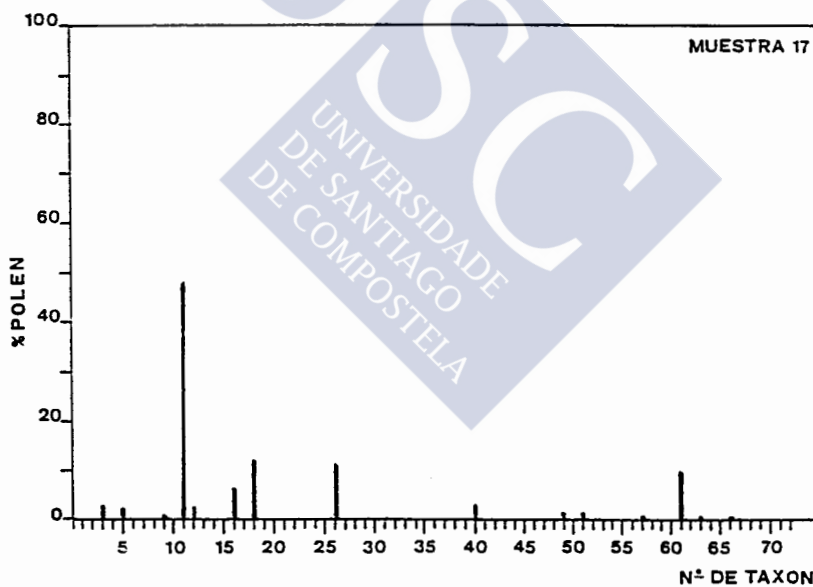
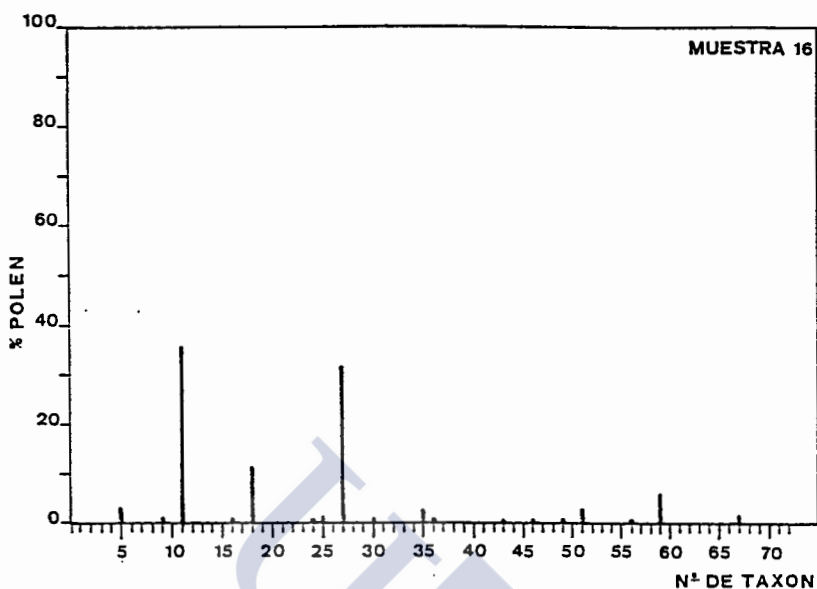


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

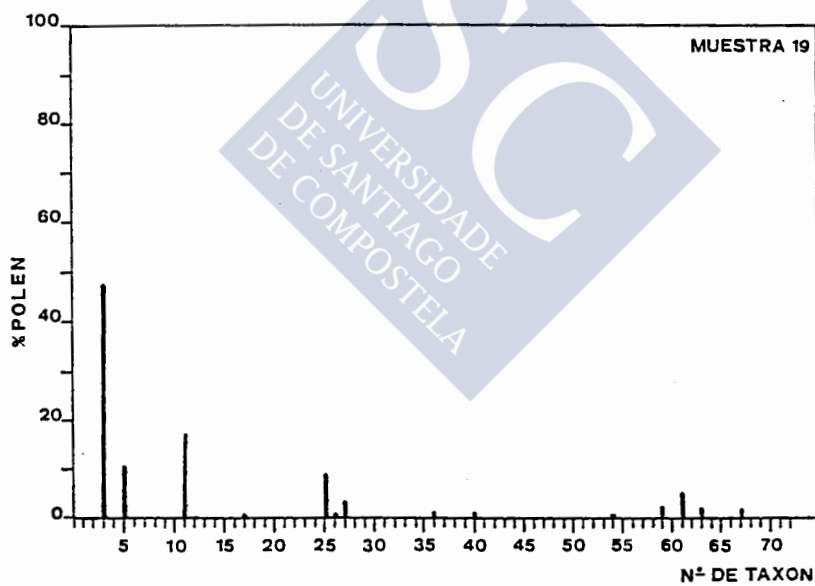
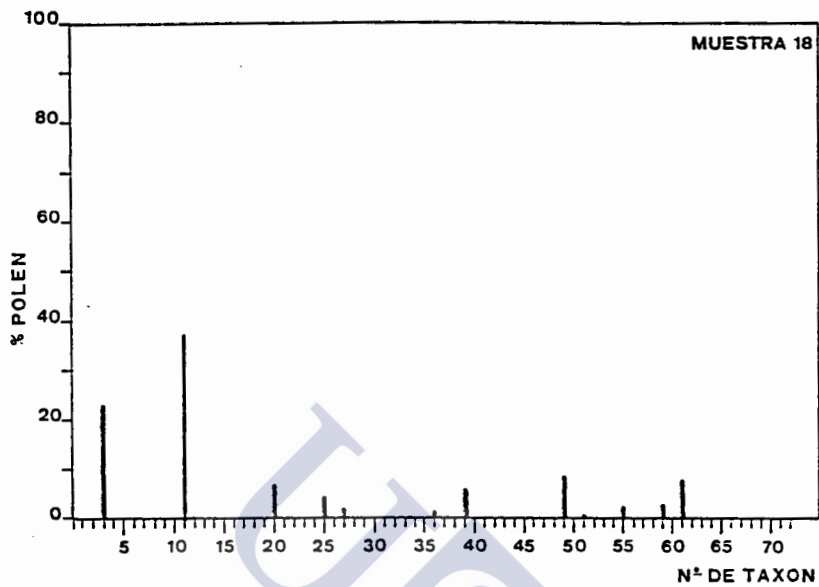


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

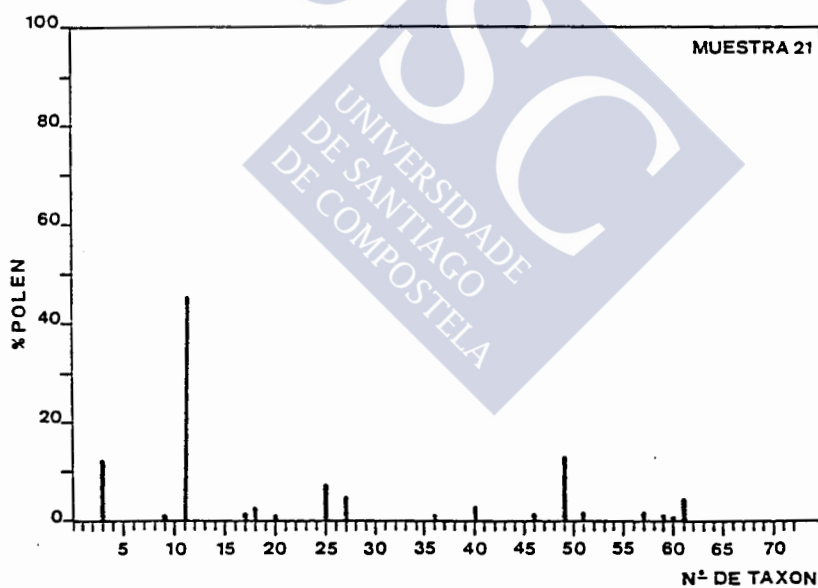
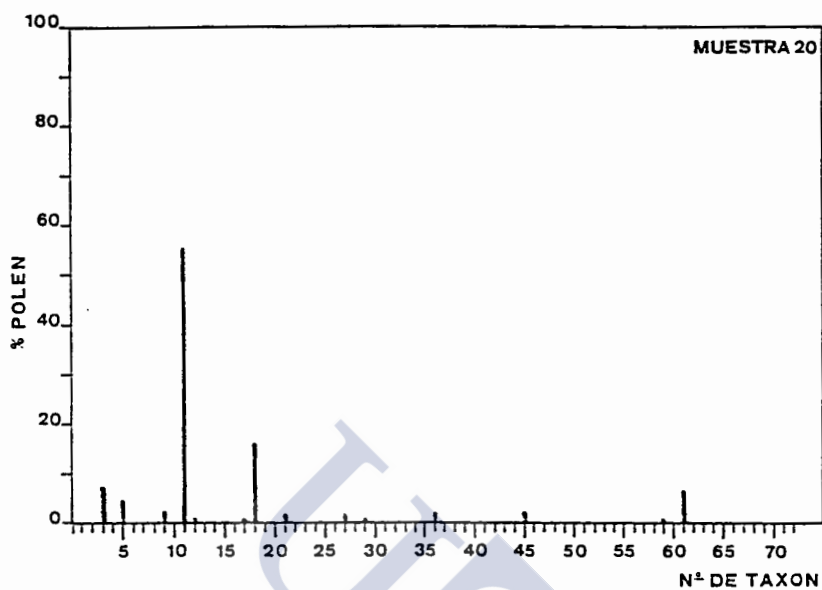


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

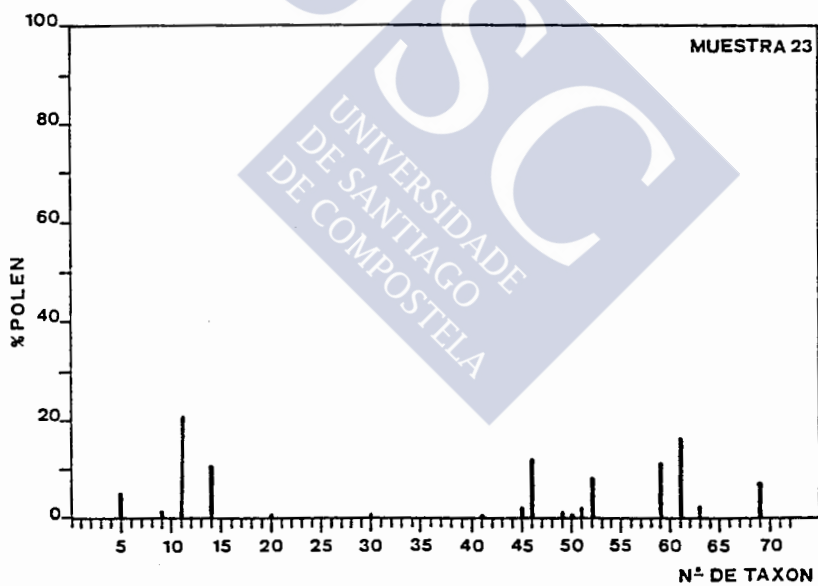
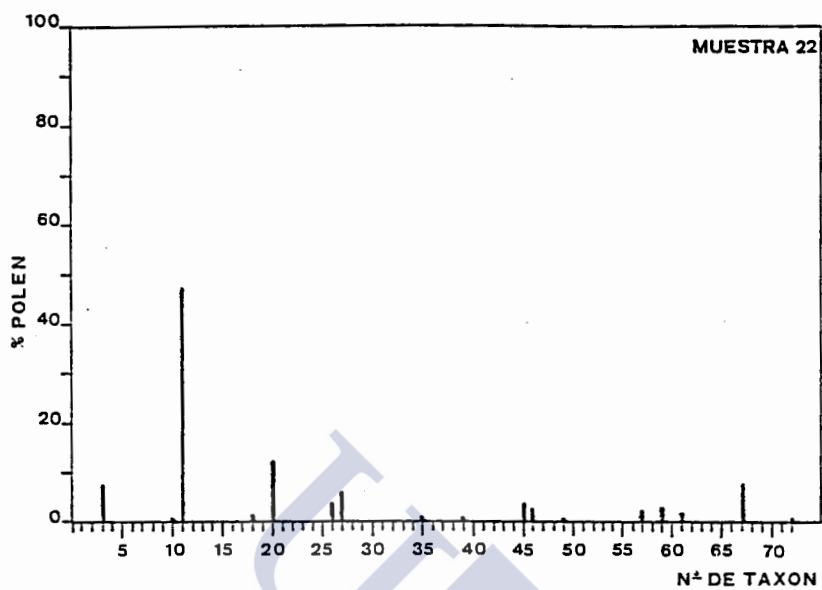


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

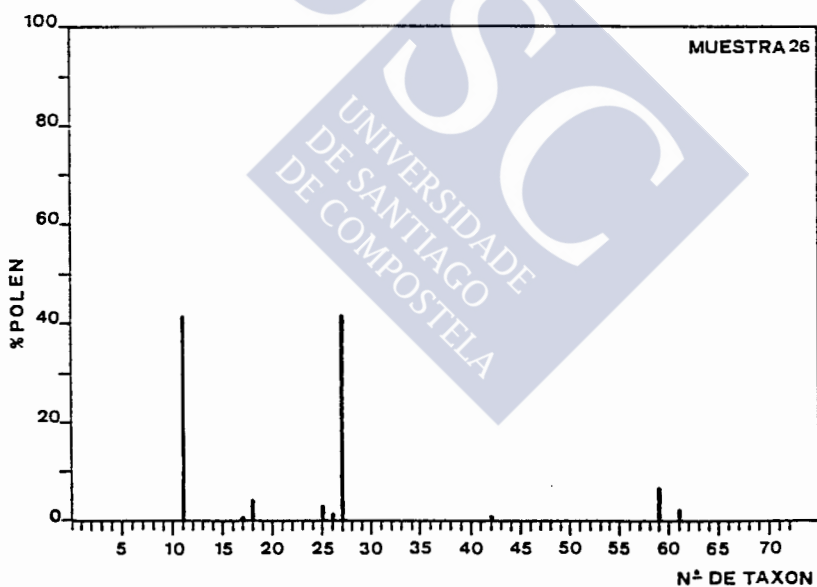
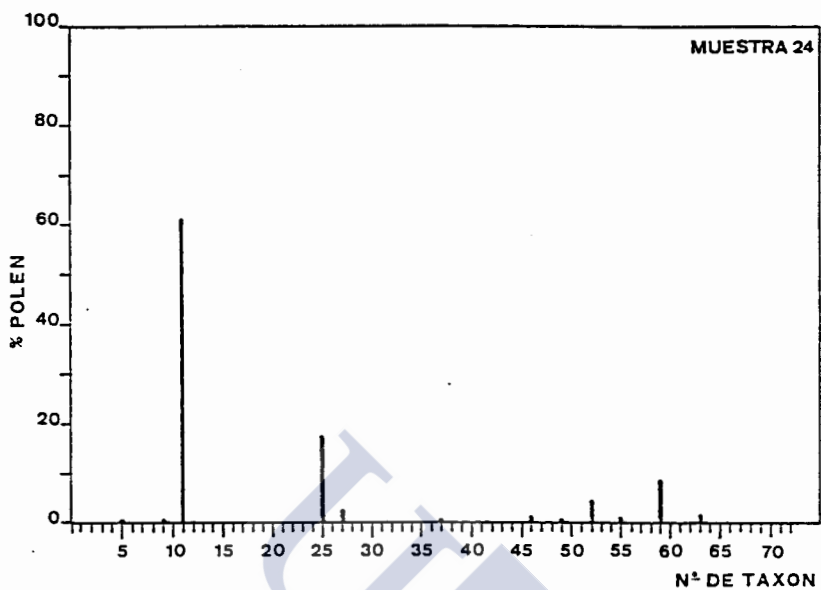


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

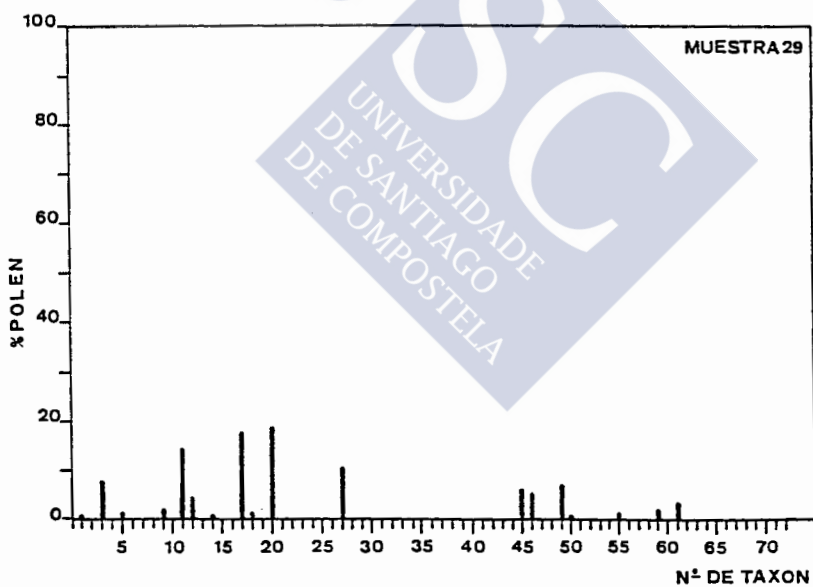
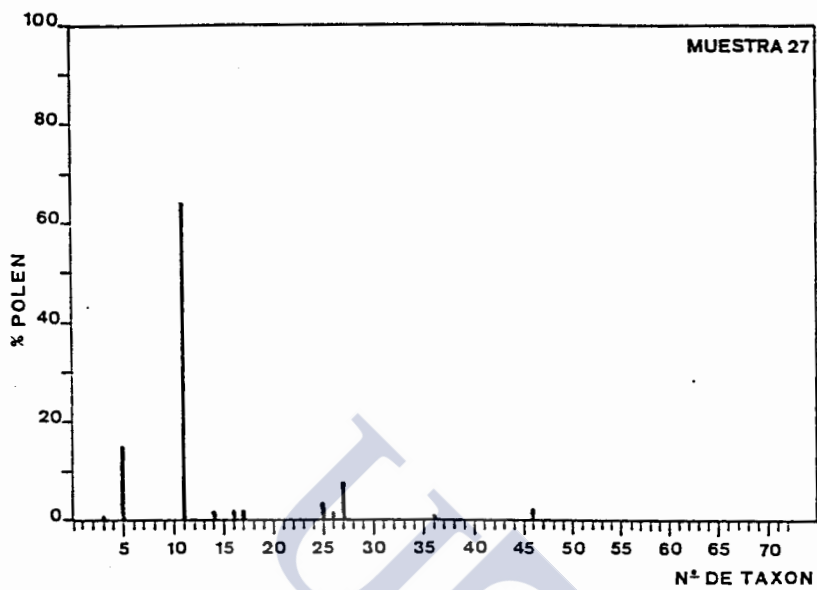


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

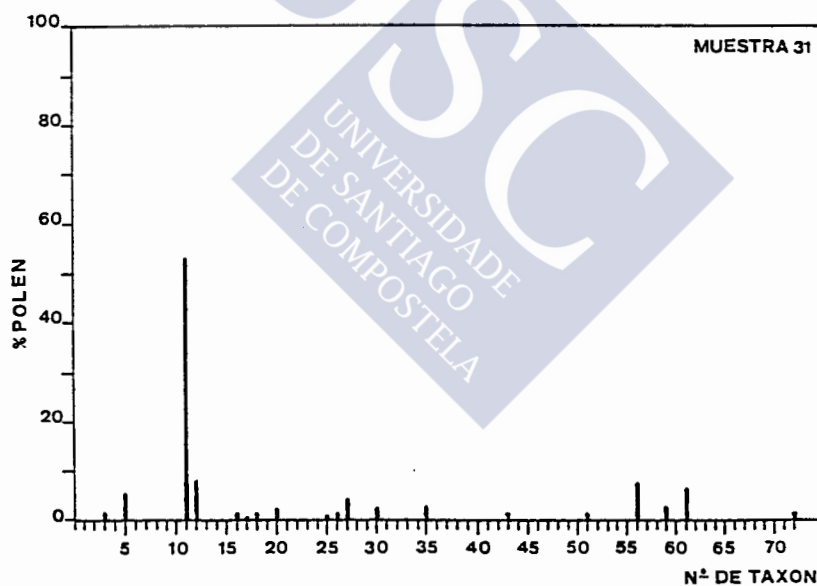
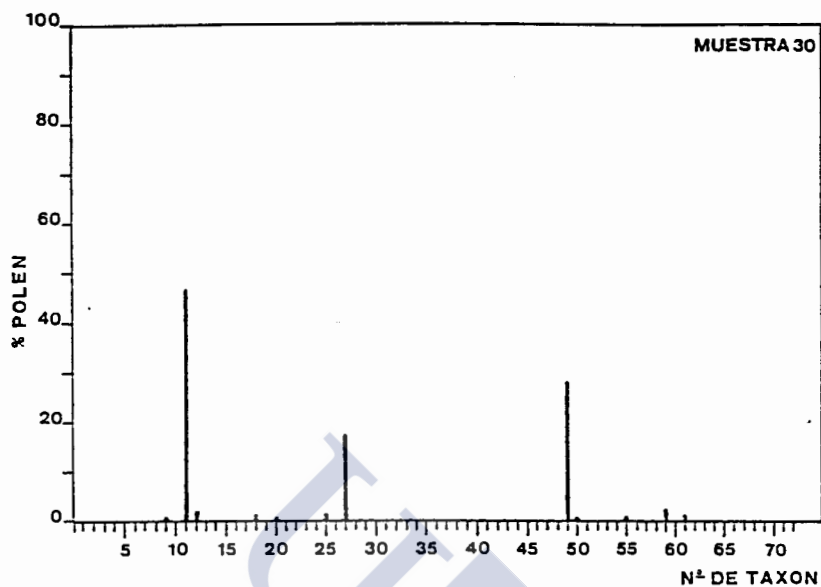


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa).

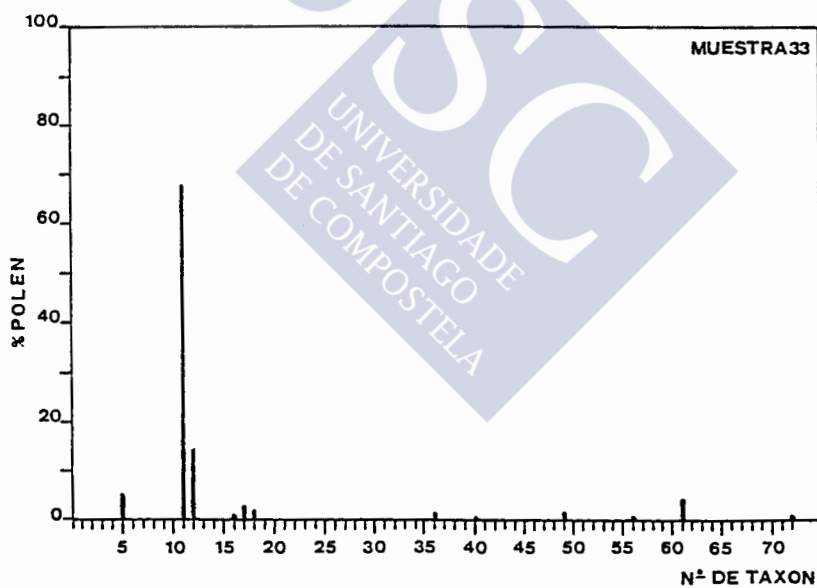
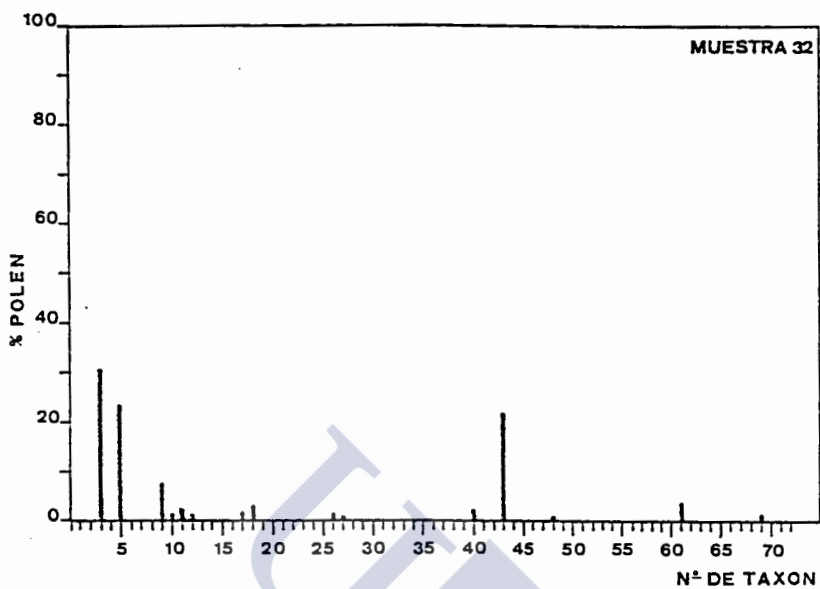


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Continúa) .

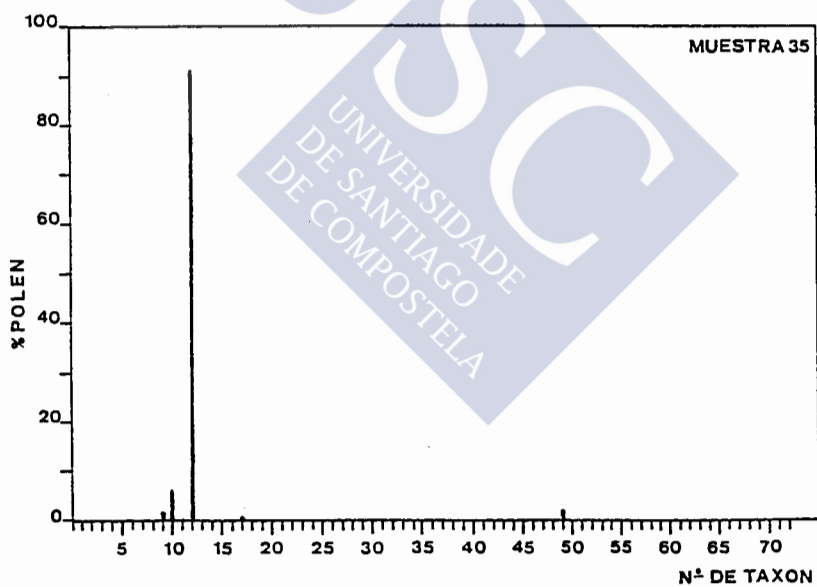
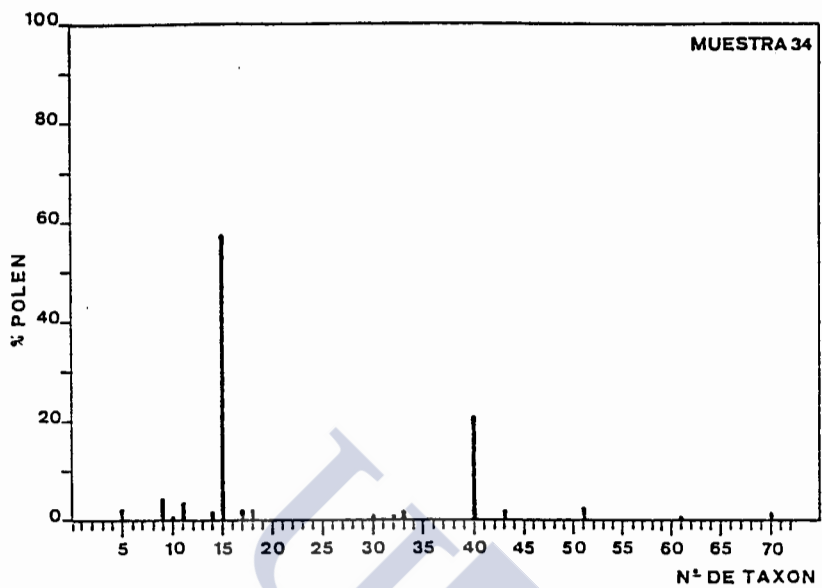


FIGURA 23.- Atlas de gráficos del origen botánico de las muestras de polen apícola estudiadas (Y continuación) .

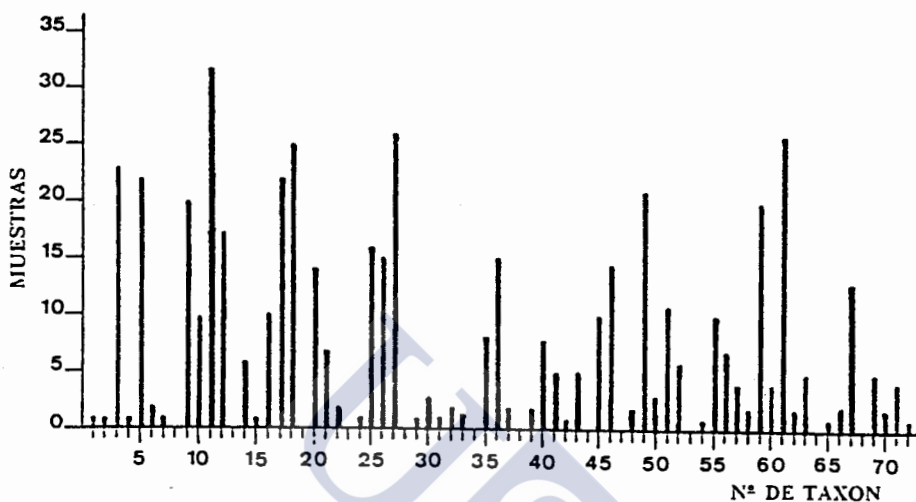


FIGURA 24.- Frecuencia de aparición de los taxones identificados en las 32 muestras de polen apícola estudiadas. El valor global de las familias no aparece representado (Taxones n^{os} 8, 13, 19, 23, 34, 38, 44, 47, 54, 64 y 58).

5.3.- FRACCION LIPIDICA

5.3.1.- Extracto etéreo y fracción insaponificable

Los resultados hallados para el extracto etéreo y la fracción insaponificable, de las 35 muestras comerciales de polen apícola analizadas, se recogen en la Tabla XVIII.

Así mismo, con los datos obtenidos y al objeto de facilitar su comprensión y discusión, se han realizado las Figuras 25 y 26.

TABLA XVIII
RESULTADOS EN PORCENTAJE EN PESO DEL EXTRACTO ETereo E INSAPONIFICABLE DE LAS MUESTRAS DE
POLEN APICOLA COMERCIAL ANALIZADAS

Nº de orden	Domicilio Social	Contenido en Agua (P/P) (*)	Extracto Etereo Sin hidró-lisis Materia seca	Extracto Etereo Con hidró-lisis Materia seca	Insaponifi-cable Materia seca
1	OS DE BALAGUER - LERIDA	4,3	5,1	6,0	33,1
2	CALDES DE MONTBUY - BARCELONA	6,0	4,9	6,3	32,2
3	MONTORNES DEL VALLES - BARCELONA	4,3	6,4	7,7	25,4
4	BARCELONA	4,2	4,9	6,0	25,5
5	BARCELONA	4,2	5,0	5,8	30,9
6	BARCELONA	4,0	4,9	5,9	30,9
7	BARCELONA	3,9	4,8	6,1	30,3
8	BARCELONA	4,3	5,3	6,2	36,9
9	BARCELONA	6,0	4,9	6,5	35,9
10	BARCELONA	5,0	5,1	6,1	30,1
11	LA NUNIA DE CASTELLVI - BARCELONA	5,7	4,4	6,0	22,6
12	ALMAZORA CASTELLON	4,0	5,1	5,3	30,8
13	ALMAZOLA CASTELLON	4,1	6,5	7,4	33,9
14	VALENCIA	4,2	5,2	6,3	31,9
15	MONTROY - VALENCIA	5,5	4,6	5,7	29,7
16	AYORA - VALENCIA	3,5	5,3	6,7	31,6
17	FORNENTERA DEL SEGURA - ALICANTE	4,4	5,0	7,1	34,0
18	SALAMANCA	5,0	5,0	6,6	28,3
19	SALAMANCA	8,3	1,8	6,0	31,3
20	ALDEATEJADA - SALAMANCA	3,5	6,2	7,8	30,3
21	VALERO DE LA SIERRA - SALAMANCA	4,6	5,2	6,7	29,9
22	GUADALAJARA	4,4	5,4	6,7	30,4
23	MILLANA - GUADALAJARA	3,1	4,4	5,7	27,6
24	MADRID	4,2	4,2	5,4	33,5
25	MADRID	4,1	5,5	6,4	31,3
26	MADRID	5,1	4,7	6,0	32,4
27	MADRID	4,0	4,1	5,8	35,4
28	MADRID	4,9	5,2	6,1	32,0
29	VELILLA SAN ANTONIO - MADRID	3,4	3,5	6,5	29,1
30	PLASENCIA - CACERES	5,4	4,5	5,5	35,4
31	PLASENCIA - CACERES	4,4	4,8	5,5	35,4
32	CRUCE DE SERRERIAS - CACERES	3,9	5,9	5,9	30,2
33	PILAS - SEVILLA	6,0	5,1	5,5	29,2
34	VILA VIÇOSA - PORTUGAL	5,5	5,0	6,5	30,2
35	PENAHACOR - PORTUGAL	3,0	2,8	6,8	23,9
<hr/>					
\bar{x}		4,6	4,9	6,2	31,0
S_{n-1}		1,03	0,89	0,61	3,19
Valor mínimo		3,0	1,8	5,3	22,6
Valor máximo		8,3	6,5	7,8	35,8

* Según datos obtenidos por MUÑOZBRO, SIMAL y MUNIATEGUI (1986)

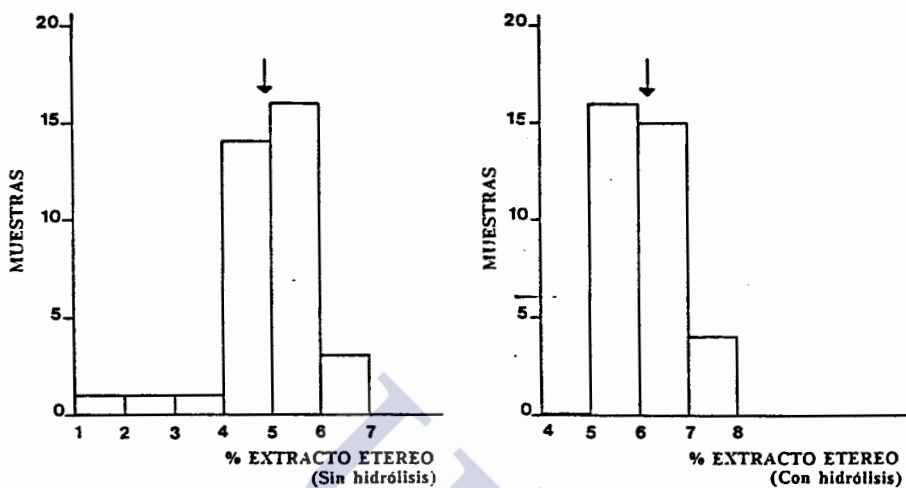


FIGURA 25.- Distribución del porcentaje de extracto etéreo (ms).
A) Sin hidrólisis clorhídrica previa. B) Con hidrólisis clorhídrica previa.

La flecha indica el valor promedio.

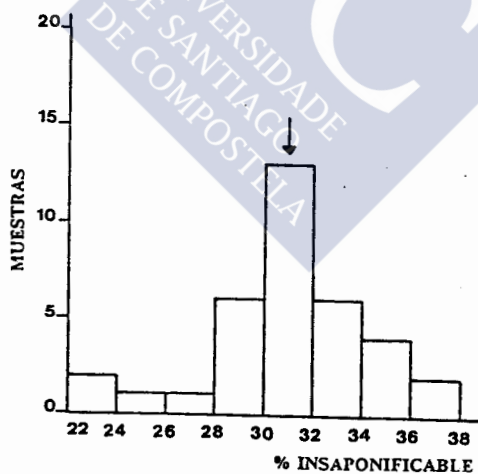


FIGURA 26.- Distribución del porcentaje de insaponificable (ms).

La flecha indica el valor promedio

A la vista de los resultados obtenidos en dicha Tabla, el extracto etéreo presenta un valor promedio del 4,9% en peso seco, oscilando entre el 1,8 y el 6,5%. Cabe destacar, que a excepción de dos muestras con valores muy bajos de extracto etéreo (1,8 y 2,8%) el resto oscila ligeramente entre el valor promedio, con una dispersión del 18,24%. También indicar, que estos valores son más altos, como era de esperar al realizar la separación de los lípidos tras la hidrólisis clorhídrica de la muestra.

Con relación a la fracción insaponificable, el valor promedio de las muestras es del 31,0% de los lípidos totales, oscilando entre el 22,6 y el 36,8%, siendo la variación relativa del 10,30% (Véase el gráfico de barras de la Figura 26).

5.3.2.- Lípidos neutros

Para la separación de las distintas clases de lípidos del polen apícola, en una primera etapa, se utilizó la cromatografía en capa fina, aislándose distintas fracciones tales como: Fosfolípidos (localizados en el origen), esteroides, ácidos grasos, triglicéridos, ésteres de esteroides y ceras.

Al realizar la cuantitativa de las muestras, se observan inconvenientes en la precisión de la medida y en la repetitividad de los R_f ocasionados, sin duda, por la dificultad de lograr unas condiciones idénticas en todos los casos (saturación de la cubeta...). Aunque ciertamente la cromatografía en capa fina tiene innumerables ventajas y posibilidades, se ha preferido para la cuantificación de las clases de lípidos, la cromatografía líquida de alta resolución, por su mayor precisión y rapidez.

Mediante el empleo de esta técnica (HPLC) se han conseguido separar las principales clases de lípidos neutros del polen apícola.

Como se observa en el cromatograma de la Figura 27, se aislan 4 fracciones: La primera de componentes poco polares o apolares representada fundamentalmente por los ésteres de esteroleos, así como hidrocarburos, ceras y carotenoides; la segunda la constituyen los triglicéridos y por último, los ácidos grasos aparecen separados en dos fracciones.

Al comparar la muestra con una mezcla patrón (Figura 28) formada por éster de colesterol, éster metílico del ácido oleico, trioleína, ácido oleico y colesterol, se observa claramente que los ésteres de ácidos grasos y esteroleos se presentan en cantidad no detectable en la muestra. Es de destacar la aparición de dos picos correspondientes a los ácidos grasos (separados posiblemente en función del grado de insaturación o del peso molecular de los mismos).

En relación con la primera fracción (TR=2,61), se ha comprobado que se corresponde con ésteres de esteroleos, hidrocarburos, ceras y carotenoides.

Por otra parte y con objeto de corroborar la identificación de las distintas fracciones separadas por HPLC se desarrolla una cromatografía en capa fina, cuyos valores de R_f se recogen en la Tabla XIX donde se representan los componentes de la mezcla patrón así como también las fracciones colectadas de la muestra.

De esta forma, al coleccionar la primera fracción y realizar un desarrollo por cromatografía en capa fina, se observa en primer lugar, la aparición de una coloración amarilla al concentrar la fracción en la cromatoplaca, debido a la presencia de carotenoides.

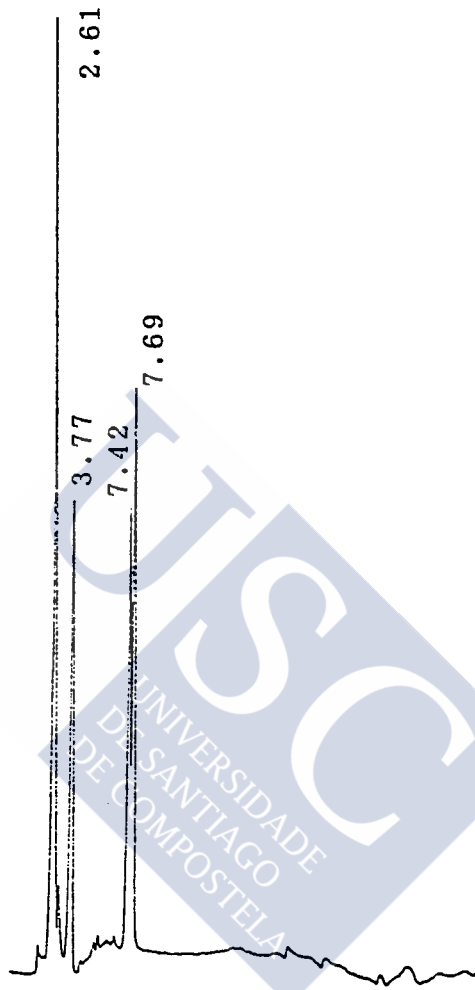


FIGURA 27.- Cromatograma de las distintas clases de lípidos neutros, separados mediante HPLC: Esteres de esteroides, hidrocarburos, ceras y carotenoides; triglicéridos; ácidos grasos TR= 7,42; ácidos grasos TR=7,69. Columna Lichrosorb Si 60 de 7 micras y 25 x 0,46 cm. Detección 206 nm. Fase móvil: n-hexano 2-propanol ácido acético (100:0,5:0,1). Gradiente según 4.8.4.

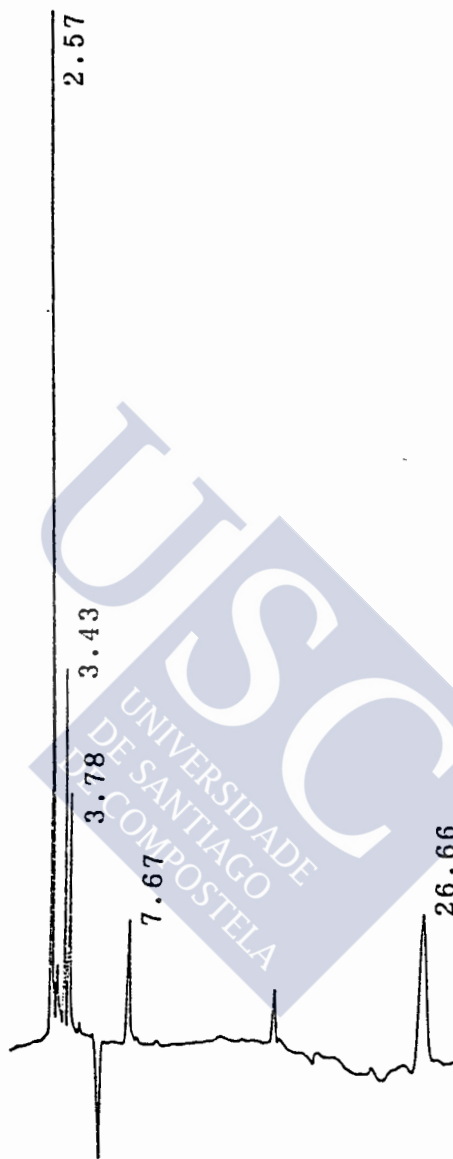


FIGURA 28.- Cromatograma de patrones de lípidos neutros aislados por HPLC: Ester de colesterol, éster de ácido oleico, trioleína, ácido oleico y colesterol.

TABLA XIX

**VALORES DE R_f DE LAS FRACCIONES DE LIPIDOS NEUTROS SEPARADAS POR HPLC
Y DESARROLLADOS POR TLC**

	Patrón R_f	Muestra R_f
Colesterol.....	0,30	-
Acido oleico	0,40	0,38 (3 ^{ra} fracción)
Trioleína	0,54	0,52 (2 ^{da} fracción)
Ester metílico del ácido oleico.....	0,57	-
Ester de colesterol.....	0,66	0,64+0,68 (1 ^{ra} fracción)

Por otra parte, al revelar la cromatoplaca con vapores de yodo, se obtienen dos componentes para esta fracción, uno de los cuales coincide con el R_f de los ésteres de esteroides patrón y el otro corresponde a las ceras.

En relación a los triglicéridos se observa una clara coincidencia con el R_f del patrón.

Con respecto a los dos picos que se separan a tiempos de retención de 7,42 y 7,69 mediante HPLC, corresponden como se comprueba por TLC a una única fracción debida a los ácidos grasos, aunque no se ha determinado la razón de la separación de los mismos.

También por TLC se comprueba la ausencia de ésteres de ácidos grasos en cantidad apreciable.

En el método empleado no se realiza la separación previa de los componentes polares, sino que se utiliza la propia columna para este fin, observándose que con lavados y reactivaciones frecuentes no se modifica la eficacia de la columna.

En la Tabla XX se recogen los resultados del porcentaje en área de cada uno de los componentes aislados cuya representación gráfica aparece en la Figura 29.

El componente mayoritario corresponde a la fracción de ésteres de esteroides y otros componentes apolares con un 40,6% de valor promedio, oscilando entre el 23,9 y el 66,0%.

La proporción de ácidos grasos y triglicéridos en las muestras es muy similar, donde los primeros presentan un promedio total de 29,5% (11,0 + 18,5%), oscilando entre el 8,5 (1,8 + 6,7%) y el 53,9% (19,3 + 34,6%). Por su parte los triglicéridos, tienen un valor promedio del 29,2%, cuyos valores extremos son 9,9 y 41,6% respectivamente.

5.3.3.- Fracción esteróica

En relación a la fracción esteróica estudiada se representa en la Figura 30 el cromatograma obtenido de una de las muestras analizadas, donde se han aislado 8 componentes (22-dehidrocolesterol, colesterol, esterol no identificado, 24-metilcolesterol, *beta*-sitosterol, *delta*⁵-avenasterol, *delta*⁷-estigmasterol y *delta*⁷-avenasterol), de los cuales 5 están claramente identificados por sus tiempos de retención relativos.

TABLA XX

RESULTADOS EN PORCENTAJE EN AREA DE LOS LIPIDOS NEUTROS AISLADOS EN LAS MUESTRAS DE POLEN APICOLA COMERCIAL ANALIZADAS MEDIANTE HPLC

Nº de orden	Ovaccilio Social	Esteres de es- teroles, Hidro- carburos, Ceras, Carotenoides	Triglicé- ridos	Acidos grasos	
		TR = 2,91	TR=3,77	TR=7,42	TR=7,52
1	OS DE BALAGUER - LERIDA	55,23	22,31	9,08	11,55
2	CALDES DE MONTBUY - BARCELONA	38,33	20,70	14,12	23,24
3	MONTORNES DEL VALLES - BARCELONA	54,53	21,41	2,35	23,71
4	BARCELONA	35,53	13,39	15,12	30,25
5	BARCELONA	46,25	35,06	10,21	6,73
6	BARCELONA	51,47	25,95	9,01	12,35
7	BARCELONA	44,98	32,55	9,00	9,05
8	BARCELONA	66,04	9,37	11,57	12,57
9	BARCELONA	41,37	32,02	7,10	12,75
10	BARCELONA	37,93	32,50	10,21	18,55
11	LA MUNTIA DE CASTELLVI - BARCELONA	31,62	29,80	14,94	23,11
12	ALMAZORA CASTELLON	41,36	31,37	11,59	15,15
13	ALMAZOLA CASTELLON	52,77	24,33	5,07	17,73
14	VALENCIA	44,53	22,42	11,23	21,75
15	MONTROY - VALENCIA	35,31	33,40	11,09	17,04
16	AYORA - VALENCIA	38,45	33,55	11,23	17,19
17	FORMENTERA DEL SEGURA - ALICANTE	39,99	36,27	9,10	14,37
18	SALAMANCA	24,46	41,59	12,30	21,35
19	SALAMANCA	23,92	29,45	14,18	31,92
20	ALDEATEJADA - SALAMANCA	38,48	38,22	8,84	14,12
21	VALERO DE LA SIERRA - SALAMANCA	23,85	37,42	13,47	24,74
22	GUADALAJARA	42,38	28,69	9,98	18,41
23	MILLANA - GUADALAJARA	35,28	28,15	9,58	25,56
24	MADRID	38,40	21,95	19,27	19,72
25	MADRID	54,84	21,83	10,27	12,73
26	MADRID	43,07	35,92	11,33	8,40
27	MADRID	27,52	39,51	13,77	18,54
28	MADRID	44,52	23,58	14,61	15,46
29	VELILLA SAN ANTONIO - MADRID	45,80	20,06	6,48	27,20
30	PLASENCIA - CACERES	38,34	29,96	11,91	17,59
31	PLASENCIA - CACERES	32,37	31,11	16,23	19,59
32	CRUCE DE SERRERIAS - CACERES	37,83	25,08	12,48	23,04
33	PILAS - SEVILLA	34,28	37,62	14,25	13,17
34	VILA VIÇOSA - PORTUGAL	40,69	22,65	1,75	34,53
35	PENAMACOR - PORTUGAL	37,38	41,03	10,25	11,13
\bar{x}		40,80 %	29,21 %	10,99 %	18,43 %
S_{n-1}		9,36	7,41	3,58	5,79
Valor mínimo		23,85 %	9,87 %	1,75 %	6,73 %
Valor máximo		66,04 %	41,59 %	19,27 %	34,63 %

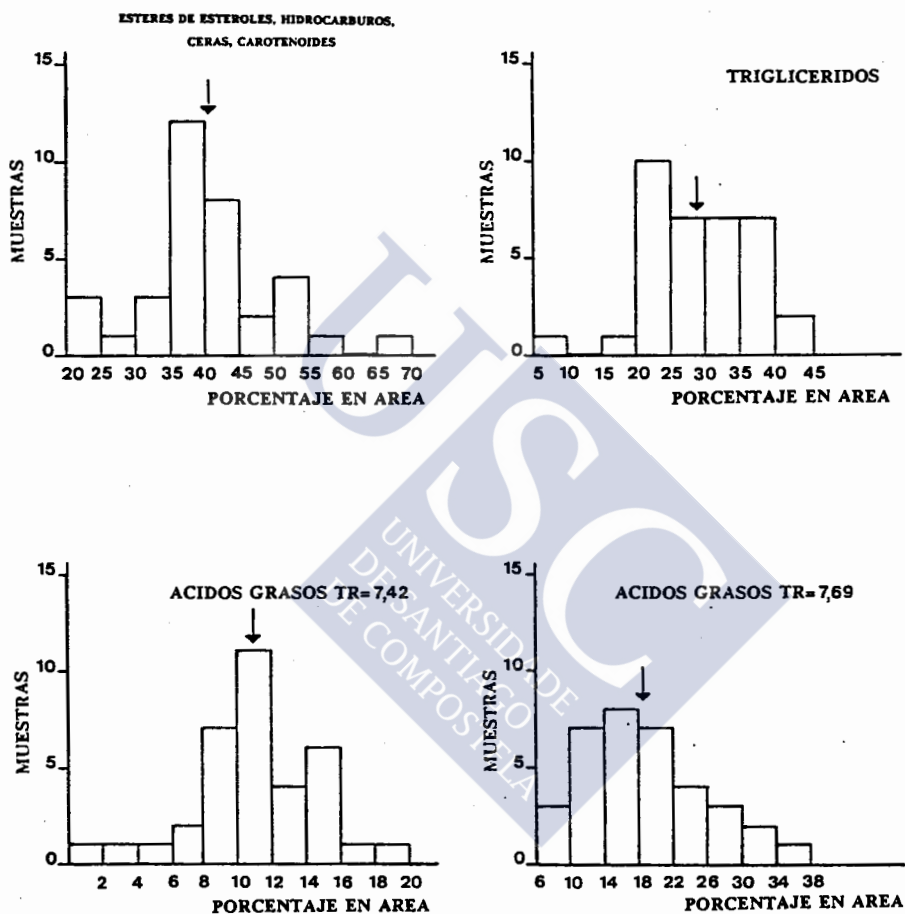


FIGURA 29.- Distribución del porcentaje en área de las clases de lípidos neutros aislados por HPLC en las muestras de polen apícola estudiadas. La flecha indica el valor promedio.

De la observación de los resultados obtenidos en el examen de la fracción esterólica de las 35 muestras analizadas (Tabla XXI y Figura 31), podemos considerar que el δ^5 -avenasterol y el 24-metilencolesterol están presentes en la fracción esterólica de todas las muestras y constituyen el porcentaje más elevado.

El 22-dehidro colesterol (TRR=0,54), con un valor promedio de 0,05%, es un esteroles minoritario presente en varias muestras, alcanzando tan solo un 0,34% de valor máximo.

En el caso del colesterol (TRR=0,60), presente en todas las muestras, el valor promedio es de 3,97%, oscilando su contenido entre 0,33 y 18,13%.

El esteroles de TRR=0,71 probablemente sea el polinastanol, identificado entre otros por BATTAGLINI, BOSI y RICCIARDELLI D'ALBORE, 1970. Está ausente en 6 de las 35 muestras analizadas con valores promedio y máximo de 1,70 y 11,39% respectivamente.

En cuanto al 24-metilen colesterol (TRR=0,83) es uno de los esteroides mayoritarios, como lo demuestra su valor promedio de 29,80% oscilando entre 14,85 y 45,51%. Estos datos concuerdan perfectamente con los de otros autores ya mencionados.

El β -sitosterol (TRR=1,00) muestra un 16,71% de valor promedio pudiendo variar entre 9,01 y 36,61%. Es en consecuencia un esteroles importante dentro de esta fracción en las muestras analizadas, aunque presenta en general valores inferiores a los mencionados en la bibliografía.

Sin duda el esteroles mayoritario en todas las muestras, a excepción de cuatro, es el δ^5 -avenasterol (TRR=1,12), cuyo valor promedio es de 46,44% con valores máximos y mínimos de 62,60 y 19,25% respectivamente.

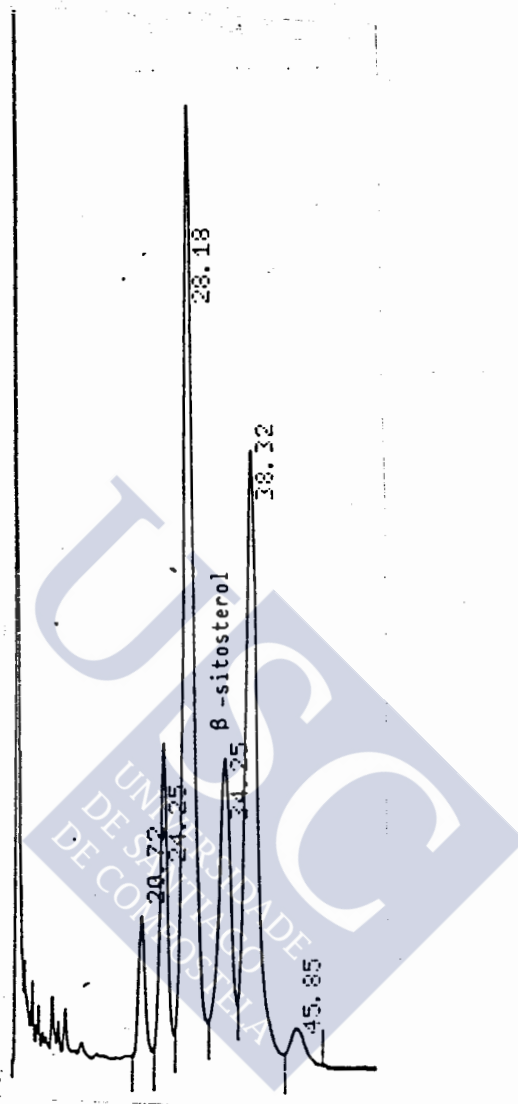


FIGURA 30.- Cromatograma de la fracción esterólica, separada mediante GLC de una muestra de polen apícola: Colesterol, esterol ni (TRR= 0,72); 24-metilencolesterol, beta-sitosterol, delta⁵-avenasterol y delta⁷-avenasterol. Columna 2 m x 2 mm diámetro interno, relleno de OV-17 al 6% sobre Chromosorb W-HP (80-100 mallas). Temperatura de la columna: 260° C. Gas portador: Nitrógeno.



TABLA XXI (Continúa)

RESULTADOS EN PORCENTAJE EN AREA DE LOS ESTEROLES PRESENTES EN LAS MUESTRAS DE POLEN APICOLA
COMERCIAL ANALIZADAS MEDIANTE GLC

Número de orden	Domicilio Social	22-Dehidro- Colesterol IRR = 0,54	Colesterol IRR = 0,61	Esterol ni IRR = 0,71	24-Metilen- Colesterol IRR = 0,83	β -Sitosterol IRR = 1,00	Δ^5 -Avenasterol IRR = 1,12	Δ^7 -Estigmasterol IRR = 1,17	Δ^7 -Avenasterol IRR = 1,33
1	OS DE BALAGUER - LERIDA	-	8,28	-	29,07	11,60	51,03	-	-



TABLE XXI (Y continuación)

RESULTADOS EN PORCENTAJE EN AREA DE LOS ESTEROLES PRESENTES EN LAS MUESTRAS DE POLEN APICOLA COMERCIAL, ANALIZADAS MEDIANTE GLC

Húmero de orden	Domicilio Social	22-Dehidro-Colesterol IRR = 0,54	Colesterol IRR = 0,61	Esterol. ni IRR = 0,71	24-Metilen Colesterol IRR = 0,83	B -Sitosterol IRR = 1,00	Δ^5 Avenasterol IRR = 1,12	Δ^7 Estigmasterol IRR = 1,17	Δ^7 -Avenast IRR = 1,17
18	SALAMANCA	0,23	0,49	1,39	36,66	18,74	42,26	-	trazas
19	SALAMANCA	trazas	0,33	0,54	29,92	20,15	44,53	-	1,54

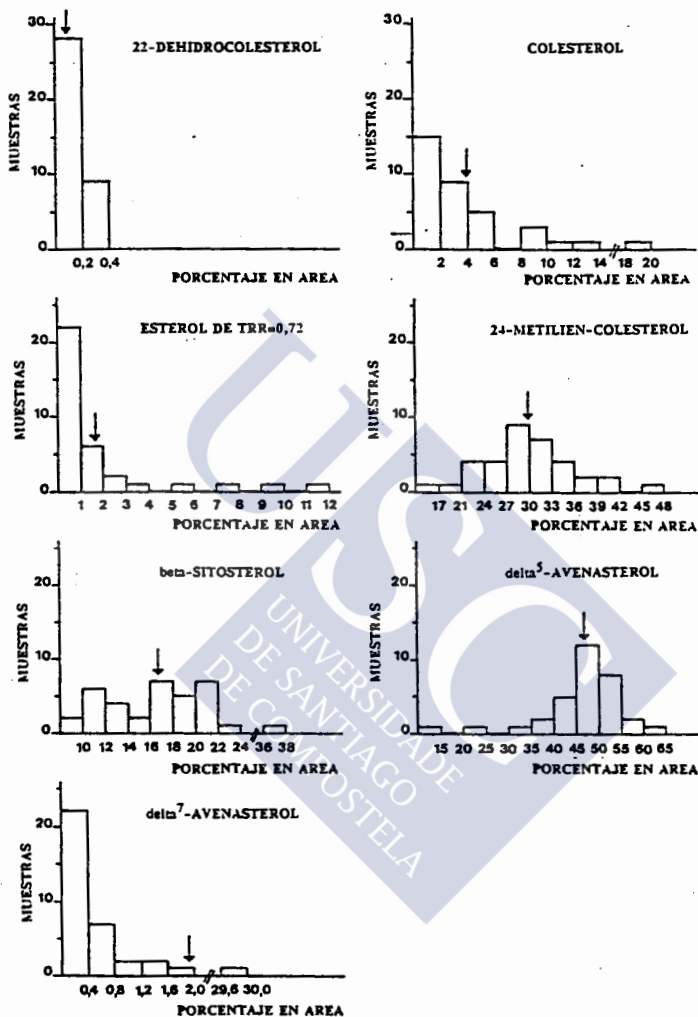


FIGURA 31.- Distribución del porcentaje en área de los distintos componentes de la fracción esterólica aislados en las muestras de polen apícola estudiadas. La flecha indica el valor promedio.

Hay que destacar que este dato difiere de los encontrados en la bibliografía, que no lo obtienen en tan elevada proporción. Posiblemente esta diferencia sea ocasionada porque la mayoría de los análisis de esteroides en el polen, se han realizado con fases sin selectividad, prácticamente apolares como la SE-30. De forma que en el valor más elevado que obtienen para el *beta*-sitosterol se incorpora el *delta*⁵-avenasterol, ya que no se separan perfectamente ambos componentes, como lo confirman en estudios realizados en aceites de semillas entre otros autores: KNIGHT, 1965, ITHO, TAMURA y MATSUMOTO, 1973 y TISCORNA y BERTINI, 1974.

Se ha determinado en sólo una muestra en cantidad significativa el *delta*⁷-estigmasterol (TRR=1,17) (Figura 32). No se descarta la posibilidad de que esté presente en otras muestras en menor cantidad sumado al *delta*⁵-avenasterol.

Finalmente, el *delta*⁷-avenasterol (TRR=1,33) está presente únicamente en 16 muestras en cantidad perfectamente determinable con un promedio de 1,19%, mientras que en otras se encuentra en trazas (menos del 0,20%). Es de destacar que en una de las muestras es el esteroide mayoritario con un 29,65%, cantidad ciertamente elevada.

En general se puede decir que las muestras analizadas presentan una distribución donde destacan fundamentalmente tres esteroides principales, cuya suma se corresponde con más del 90% del total. Un esteroide mayoritario en muy alto porcentaje es el *delta*⁵-avenasterol (hasta el 62%); otro también importante, el 24-metilen colesterol, aunque algo más bajo (hasta el 45,5%) es mayoritario en tres muestras y por último el *beta*-sitosterol que no llega a ser mayoritario en ninguna muestra, aunque en un caso alcance el valor del 36,61%.

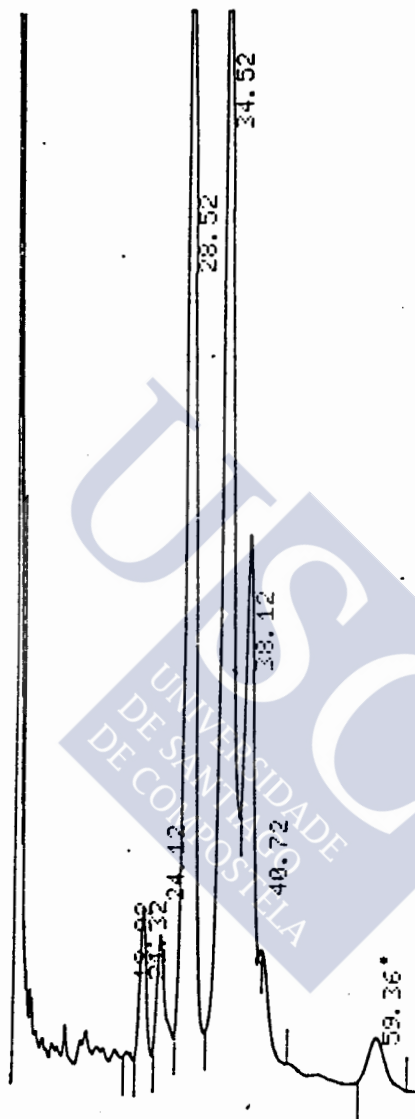


FIGURA 32.- Cromatograma de la fracción esterólica de la muestra de polen apícola n^o 22, donde se observa el delta⁷-estigmasterol TRR= 1,17 (TR= 40,72). * Alcohol triterpénico= Eritrodiol.

5.3.4.- Carotenoides

Con relación a los carotenoides, al efectuar la comprobación de su estructura (carotenos o xantofilas mono o dihidroxipigmentos) se observa que predominan casi exclusivamente los carotenos, aislándose en cromatografía en columna de manera efectiva, mientras que las xantofilas mono y dihidroxipigmentos se hallan en cantidades prácticamente no detectables.

En la Figura 33 se recoge el cromatograma de una de las muestras estudiadas. Así mismo, los valores de carotenoides obtenidos para cada una de las muestras se recogen en la Tabla XXII y su representación gráfica en la Figura 34, expresándolos como *beta*-caroteno en mg/100 g de grasa.

Se obtiene un valor promedio de 46,7 mg/100 de grasa con una fuerte oscilación desde 0,8 hasta 315 mg/100 g de grasa, destacando 6 muestras con valores superiores a 90 mg/100 g de grasa.

5.4.- VALOR CALORICO

En la Tabla XXIII se recoge el valor calórico (expresado en Kcal/100 g de polen) para cada una de las muestras de polen apícola analizadas, calculado a partir de los contenidos en hidratos de carbono (expresados en glucosa), proteínas y grasas (en % ms), y transformados en Kcal con los factores de conversión de 4,1 para los hidratos de carbono y proteínas y 9,3 para las grasas.

Se obtiene, un valor calórico promedio de 377 Kcal, oscilando entre 313 y 431 Kcal, aportadas por el 58,1% de hidratos de carbono (250 Kcal), 16,0% proteínas (69 Kcal) y 6,4% de grasas (58 Kcal).

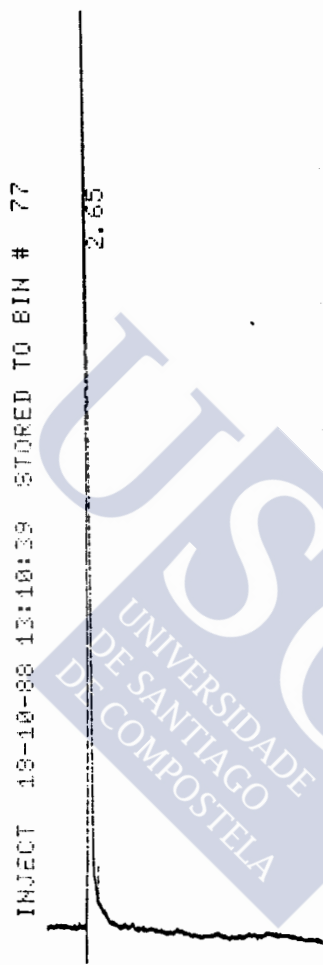


FIGURA 33.- Cromatograma de los carotenoides del polen apícola aislados mediante HPLC. Columna Lichrosorb Si 60 de 7 micras y 25 x 0,46 cm. Detección a 453 nm. Fase móvil: n-hexano, 2-propanol, ácido acético (100:0,5:0,1). Flujo: 1 ml/min.

TABLA XXII
RESULTADOS DEL CONTENIDO EN CAROTENOIDES (expresados en β -caroteno) (mg/100 g de grasa) DE LAS
MUESTRAS DE POLEN APICOLA COMERCIAL ANALIZADAS MEDIANTE HPLC

Nº de Orden	Domicilio social	CAROTENOIDES (expresados en β -caroteno) mg/100 g de grasa
1	OS DE BALAGUER - LERIDA	20,0
2	CALDES DE MONTBUY - BARCELONA	65,5
3	MONTORNES DEL VALLES - BARCELONA	315,1
4	BARCELONA	8,4
5	BARCELONA	14,0
6	BARCELONA	12,2
7	BARCELONA	5,5
8	BARCELONA	12,3
9	BARCELONA	4,3
10	BARCELONA	0,8
11	LA MUMIA DE CASTELLVI - BARCELONA	40,9
12	ALMAZORA CASTELLON	3,9
13	ALMAZOLA CASTELLON	132,7
14	VALENCIA	5,0
15	MONTROY - VALENCIA	6,4
16	AYORA - VALENCIA	31,3
17	FORMENTERA DEL SEGURA - ALICANTE	85,1
18	SALAMANCA	1,6
19	SALAMANCA	1,3
20	ALDEATEJADA - SALAMANCA	130,4
21	VALERO DE LA SIERRA - SALAMANCA	2,5
22	GUADALAJARA	22,0
23	MILLANA - GUADALAJARA	37,0
24	MADRID	2,6
25	MADRID	76,1
26	MADRID	6,5
27	MADRID	3,9
28	MADRID	53,2
29	VELILLA SAN ANTONIO - MADRID	129,3
30	PLASENCIA - CACERES	1,8
31	PLASENCIA - CACERES	15,5
32	CRUCE DE SERRERIAS - CACERES	76,1
33	PILAS - SEVILLA	98,7
34	VILA VIÇOSA - PORTUGAL	198,5
35	PENANACOR - PORTUGAL	12,7
\bar{x}		46,7
S_{n-1}		67,6
Valor mínimo		0,8
Valor máximo		315,1

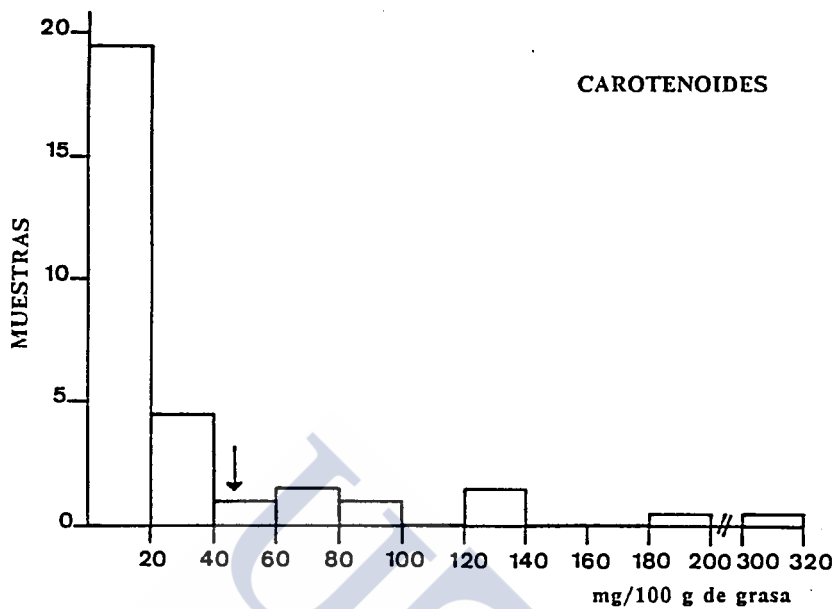


FIGURA 34.- Distribución del contenido en carotenoides en el polen apícola expresados en mg/100 g de grasa.
La flecha indica el valor promedio.

Al establecer una comparación con otros tipos de alimentos se observa una gran semejanza con el grupo de los cereales, en cuanto a valor calórico y distribución de la proporción de los principios inmediatos.

TABLA XXIII

CALORIAS APORTADAS POR LOS HIDRATOS DE CARBONO (expresados en glucosa), PROTEINAS Y GRASA, ASI COMO SU VALOR TOTAL REFERIDO A 100 g (ms) HALLADOS EN LAS MUESTRAS DE POLEN APICOLA COMERCIAL ANALIZADAS

nº de orden	Domicilio Social	Calorias aportadas por			Valor Calórico (%)
		Hidratos de Carbono (1) (expresados en glucosa)	Proteinas (2)	Grasa	
1	OS DE BALAGUER - LERIDA	255	67	56	378
2	CALDES DE MONTSUY - BARCELONA	294	78	59	431
3	MONTORNES DEL VALLES - BARCELONA	214	75	72	351
4	BARCELONA	255	69	55	381
5	BARCELONA	262	64	54	380
6	BARCELONA	248	68	54	370
7	BARCELONA	280	71	57	387
8	BARCELONA	250	67	58	364
9	BARCELONA	231	67	60	358
10	BARCELONA	242	72	57	371
11	LA MURIA DE CASTELLVI - BARCELONA	241	75	55	372
12	ALMAZORA CASTELLON	266	69	49	384
13	ALMAZOLA CASTELLON	227	78	69	374
14	VALENCIA	253	63	59	375
15	MONTEY - VALENCIA	250	65	53	363
16	AYORA - VALENCIA	253	65	62	360
17	FORNENTERA DEL SEGURA - ALICANTE	248	80	66	374
18	SALAMANCA	254	69	61	334
19	SALAMANCA	215	68	56	339
20	ALDEATEJADA - SALAMANCA	256	59	73	387
21	VALERO DE LA SIERRA - SALAMANCA	245	65	62	372
22	GUADALAJARA	257	73	62	392
23	MILLANA - GUADALAJARA	265	65	53	383
24	MADRID	274	74	50	399
25	MADRID	260	66	60	386
25	MADRID	248	70	56	374
27	MADRID	253	66	54	373
28	MADRID	256	66	57	379
29	VELILLA SAN ANTONIO - MADRID	222	78	60	350
30	PLASENCIA - CACERES	251	70	51	372
31	PLASENCIA - CACERES	262	68	51	381
32	CRUCE DE SERRERIAS - CACERES	261	79	55	395
33	PILAS - SEVILLA	254	64	51	359
34	VILA VIÇOSA - PORTUGAL	188	85	61	313
35	PENANACOR - PORTUGAL	262	64	63	350
\bar{X}		250	69	58	377
Sn-1		19,03	5,09	5,77	18,29
Valor mínimo		188	59	49	313
Valor máximo		294	79	73	431

(1) Según datos obtenidos por Simal, Huidobro y Muniategui (1987)

(2) Según datos obtenidos por Huidobro, Simal y Sancho (1986).

5.5.- TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS. "ANALISIS CLUSTER"

Con la finalidad de hacer patente la similitud y agrupación entre las muestras analizadas, hemos aplicado en este estudio el "análisis cluster". Dicho análisis se caracteriza por el uso de semejanzas (llamadas también similitudes y distancias) entre los objetos a estudiar.

Dentro de este método estadístico, el jerárquico aglomerativo, es el más ampliamente conocido y utilizado (CANCELA,1986; JACOBSEN y GUNDERSON, 1986...).

En la obra de JACOBSEN y GUNDERSON (1986) se recogen numerosos ejemplos de estudios donde el análisis "cluster" es aplicado a distintos campos de la ciencia de los alimentos (identificación de microorganismos contaminantes, tratamiento y selección de zumos, análisis químicos en el control de calidad de distintos alimentos, etc.).

Para realizar este análisis se utilizó el programa P2M del paquete BMDP, versión de Abril de 1985, con el ordenador MV/20000 DATA GENERAL del Centro de Cálculo de la Universidad de Santiago de Compostela.

Un ejemplo de las características de entrada para la ejecución del programa figura en la Tabla XXIV.

El BMDP2M forma "clusters" o grupos de casos, basado en la medida de la asociación o similitud entre las muestras o más concretamente en la medida de la distancia de separación de los casos. Inicialmente cada "cluster" contiene una variable únicamente. A cada paso los dos "clusters" más similares se van uniendo para formar uno nuevo, hasta que todas las variables estén en un único "cluster".

TABLA XXIV

CARACTERISTICAS DE ENTRADA PARA LA EJECUCION DEL PROGRAMA BMDP2M

PROGRAM CONTROL INFORMATION	
/PROBLEM	TITLE IS "LIPIDOS NEUTROS DEL POLEN APICOLA".
/INPUT	VARIABLES ARE 4. FORMAT IS "(F4.2,3F5.2)". FILE="DATSOLIP".
/VARIABLE	NAMES ARE ESTEREST, TRIGL, ACGRASOA,ACGRASOB. USE= ALL.
/PROCEDURE	NO STANDARDIZE. LINK IS CENTROID.
/PRINT	DIST. HIST.
/END.	

Como distancia de medida de similitud entre las muestras, hemos empleado el método más popular y frecuentemente aplicado que es la "*distancia euclídea*"; que se define como la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las diferencias entre valores de variables para dos casos (j y k):

$$d_{j,k} = (\sum_i (x_{ij} - x_{ik})^2)^{1/2}$$

Donde: $d_{j,k}$ es la distancia euclídea; x_{ij} es el valor de la variable i en el caso j ; de igual forma x_{ik} .

Con estos datos se forma la matriz de similitud sobre la cual se realiza el proceso de agrupación.

De otra parte y como métodos de enlace se emplean en este caso, el sencillo o single y el centroide, aunque también existe el del vecino más lejano ("furthest neighbor").

En el enlace sencillo, también llamado del vecino más próximo ("nearest neighbor"), en cada etapa un único "cluster" se une con el más cercano, entendiendo la distancia entre dos "clusters" como el mínimo de las distancias entre dos elementos, uno de cada "cluster" (d_1 en la Figura 35).

Por su parte, el método del vecino más lejano se define como la máxima distancia entre pares de datos, uno de cada "cluster" (d_2 en la Figura 35).

En el enlace centroide por su parte, definido en términos geométricos, cada "cluster" tiene su centro y la similitud entre grupos se define por la menor distancia entre centros (d_3 en la Figura 35).

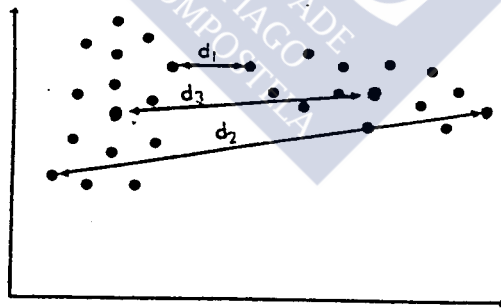


FIGURA 35.- Distancias entre "clusters" según el método de enlace: d_1 ("single", sencillo o vecino más próximo); d_2 (vecino más lejano) y d_3 (centroide o vecino promedio) (JACOBSEN y GUNDERSON ,1986).

En ocasiones, los resultados del análisis "cluster" aplicando el método de enlace sencillo, pueden no ser satisfactorios debido a la propensión del método al encadenamiento, produciendo "clusters" largos en los cuales muchos miembros tienen poco en común, pero son unidos por una cadena de unidades intermedias. Cuando esto ocurre, es conveniente la utilización de otros procedimientos de enlace como es el centroide o bien el del vecino más lejano o enlace completo.

Tras realizar el procedimiento de agrupación y al objeto de facilitar su comprensión, se construye el "*dendrograma o árbol*" que describe gráficamente el resultado de la agrupación realizada. A la izquierda se representa el valor de la distancia de aglomeración a la que surgen los "clusters" formados y en la parte inferior el número de las muestras agrupadas.

5.5.1.- Análisis "cluster" del origen botánico

Al aplicar el análisis "cluster" al origen botánico del polen apícola se excluyen los taxones que representan el valor global de las familias por lo que se consideran 60 variables. De este modo se obtienen los "dendrogramas" de las Figuras 36 a y b. En el primer caso, al utilizar como procedimiento el enlace sencillo se produce un encadenamiento de las muestras muy poco diferenciadas entre sí, a excepción de la 34.

Por esto, parece recomendable el uso del método centroide, resultando así el "dendrograma" de la Figura 36b donde se evidencia algo mejor la agrupación de las muestras. Tomando la distancia 32 como fin de la aglomeración se obtienen las muestras agrupadas en los siguientes grupos o "clusters":

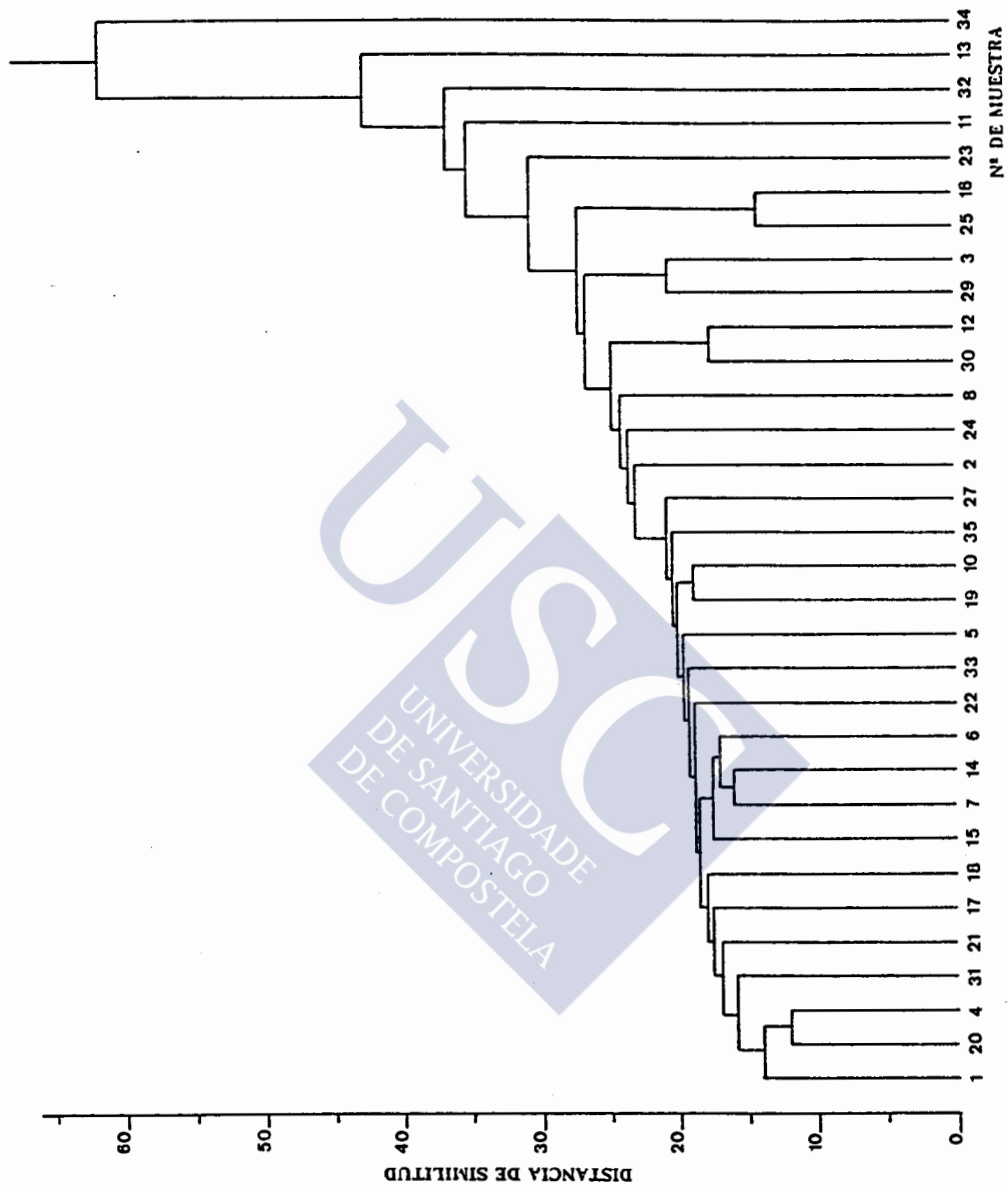


FIGURA 36a.- "Dendrograma" del origen botánico de las muestras de polen analizadas. "Enlace sencillo".

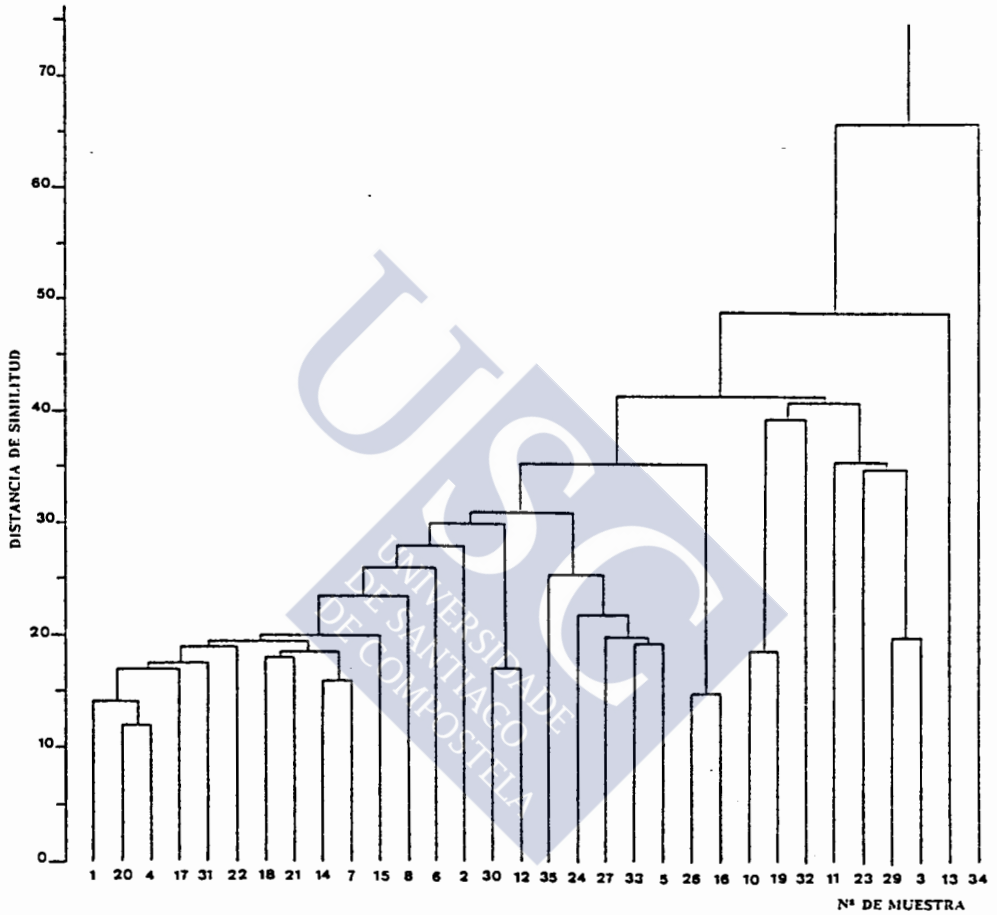


FIGURA 36b.- "Dendrograma" del origen botánico de las muestras de polen analizadas. "Enlace centroide".

- 1, 20, 4, 17, 31, 22, 18, 21, 14, 7, 15, 8, 6, 2, 30, 12, 35, 24, 27, 33 y 5.
- 26 y 16.
- 10 y 19.
- 32.
- 11.
- 23.
- 29 y 3.
- 13.
- 34.

Observando esta distribución, se puede decir que en el primer "cluster" formado se agrupan las muestras donde el *Cistus* es claramente la especie predominante, con un valor promedio de 50,5% y una desviación estándar de 15,8. Las muestras restantes presentan como mayoritarias otras especies distintas al *Cistus* (*Echium* sp., Compositae Tipo S (*Serratula* sp.); *Campanula* sp.; Compositae Tipo H; *Quercus* sp.; Rosaceae...) o bien, como ocurre en las muestras 16, 11 y 29, la proporción de *Cistus* y otras especies es sumamente similar e igualmente elevada. Este caso se manifiesta en la agrupación de las muestras 26 y 16, donde en la primera predominan el *Quercus* sp. (42,5%) seguido de la familia Cistaceae (41,5%) y en la segunda, la Cistaceae 37,0% y la Fagaceae 31,5%. Igualmente algo similar ocurre en la agrupación de las muestras 29 y 3.

En las muestras 10, 19 y 32 es el *Echium* sp. la especie mayoritaria, que está en proporción similar en la 10 y 19, pero algo diferente en la 32 debido a la presencia en porcentajes importantes de especies de Compositae y *Olea* sp.

Por otra parte, la muestra 34 presenta gran diferencia con las restantes al tener como especie mayoritaria la Compositae Tipo H (62,0%) muy poco representada en las demás muestras y el *Eucalyptus* sp. en gran

proporción (20,5%).

Finalmente, con objeto de resaltar la agrupación se eliminan las variables que presenten valores máximos inferiores al 10%. Con este procedimiento se obtienen "dendrogramas" donde se confirma la separación anterior, sin aportar ventaja alguna sobre éste.

5.5.2.- Análisis "cluster" del extracto graso total

Con la aplicación del análisis "cluster" al extracto graso total del polen apícola, se obtiene el "dendrograma" de la Figura 37a, al utilizar el enlace sencillo como método de unión. En dicha Figura se observa con claridad el encadenamiento que se produce entre las muestras. Se hace por tanto necesario utilizar el método del centroide, resultando la agrupación que se recoge en el "dendrograma" de la Figura 37b. Tomando la distancia de 0,6 como fin de la similitud, aparecen las muestras agrupadas en 3 "clusters" o grupos:

- 1, 4, 11, 19, 26, 32, 8, 28, 10, 7, 15, 23, 27, 6, 5, 30, 31, 33, 24 y 12. Promedio 5,8% y desviación 0,26.
- 16, 21, 22, 35, 9, 29, 34, 18, 25, 14 y 2. Promedio 6,5% y desviación 0,17.
- 13, 17, 20 y 3. Promedio 7,5% y desviación 0,32.

Considerando los valores de la desviación estándar se comprueba que los grupos son muy homogéneos, con escasa dispersión.

Es de señalar por último, la gran semejanza que existe entre algunas de las muestras presentando valores de distancia de similitud de 0 y 0,1.

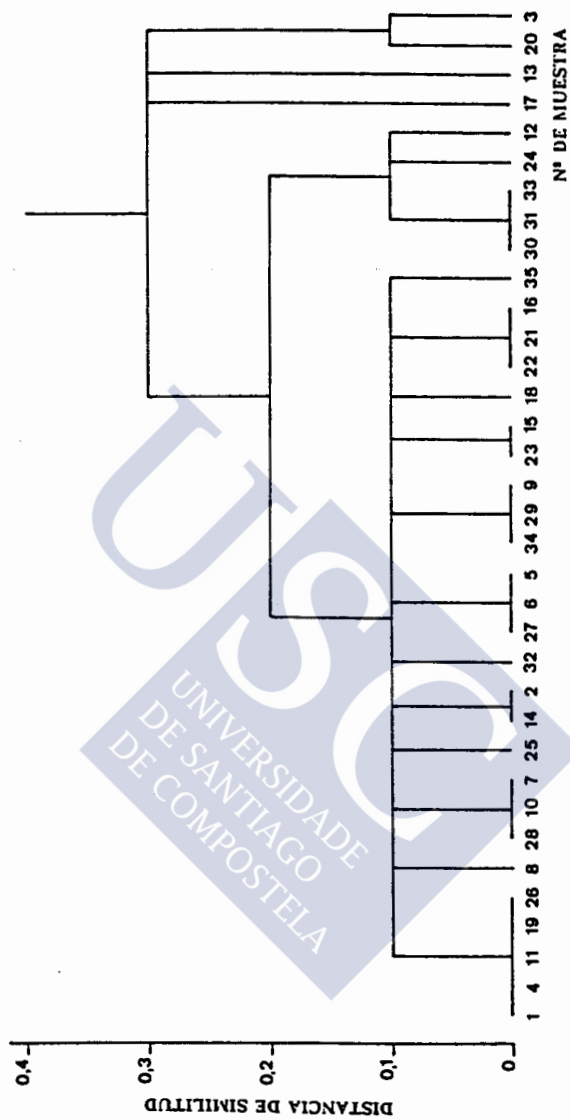


FIGURA 37a.- "Dendrograma" del extracto etéreo de las muestras de polen apícola analizadas. "Enlace sencillo".

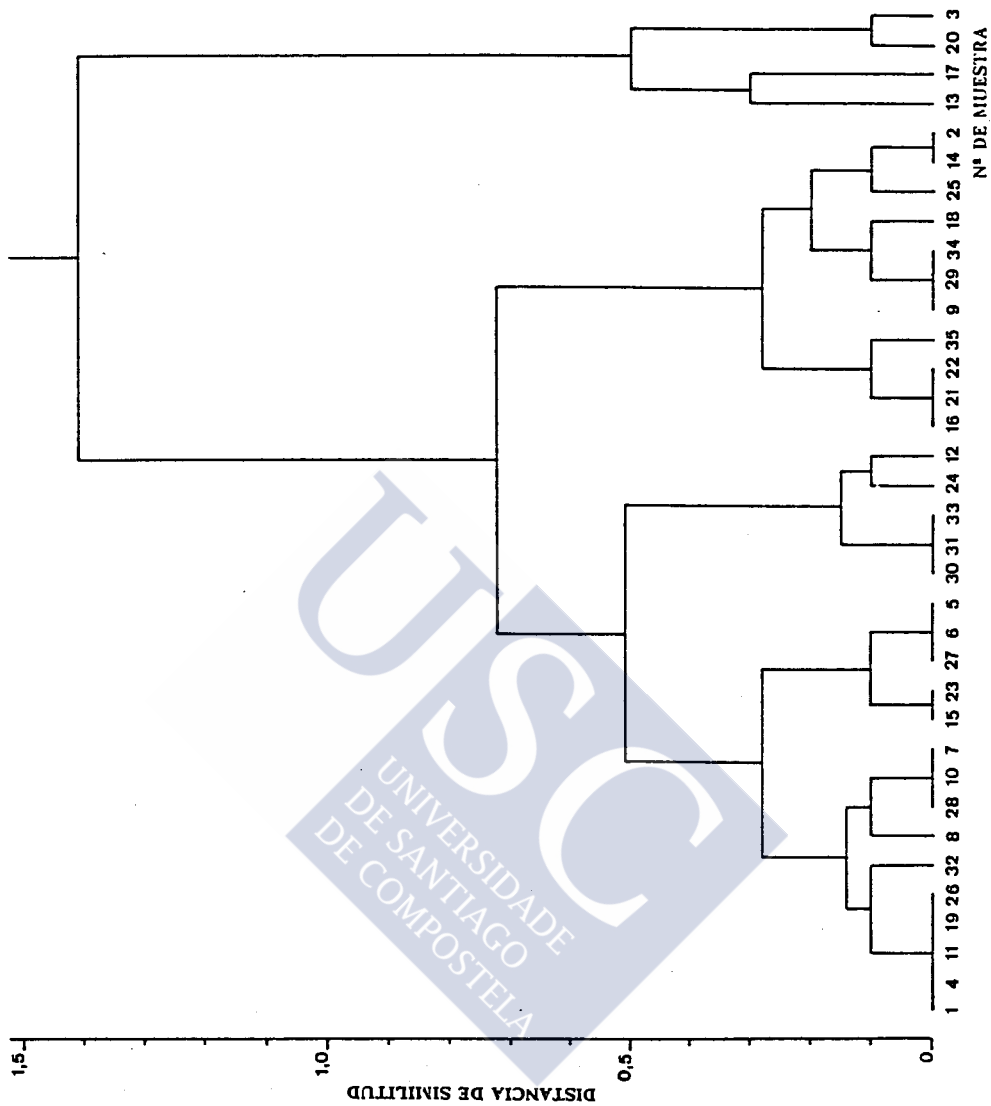


FIGURA 37b.- "Dendrograma" del extracto etéreo de las muestras de polen apícola analizadas." Enlace centroide".

5.5.3.- Análisis "cluster" de la fracción insaponificable

De la aplicación del análisis "cluster" a los valores obtenidos para la fracción insaponificable de las muestras de polen apícola, resultan los "dendrogramas" de la Figura 38 a y b. Al emplear el enlace sencillo (Figura 38a) se produce un encadenamiento de las muestras que no permite precisar la agrupación de las mismas, destacando únicamente el grupo formado por las muestras 11, 35 y 3.

De otra parte, con el método del centroide (Figura 38b), no se produce ese encadenamiento y se puede considerar como distancia de aglomeración 3,5; apareciendo las muestras agrupadas en 3 "clusters" bastante homogéneos como se deduce de sus valores de desviación estándar:

- 1, 24, 17, 13, 27, 30, 31, 9 y 8. Promedio 34,9% y desviación 1,37.
- 4, 18, 33, 29, 23, 7, 20, 22, 32, 34, 10, 21, 15, 5, 6, 12, 25, 16, 14, 28, 26 y 2. Promedio 30,4% y desviación 1,27.
- 11,35 y 3. promedio 24,0% y desviación 1,40.

5.5.4.- Análisis "cluster" de los lípidos neutros

Al aplicar el análisis "cluster" a los lípidos neutros del polen apícola se obtienen los "dendrogramas" de las Figuras 39 a y b, según que el procedimiento de medida empleado sea el enlace sencillo o el centroide respectivamente.

Así, en la Figura 39a empleando el método sencillo se observa un encadenamiento de las muestras, donde sólo resalta, con notoria diferencia del resto, la muestra número 8 como "agrupada artificialmente", al contrario del "agrupamiento natural" de las restantes.

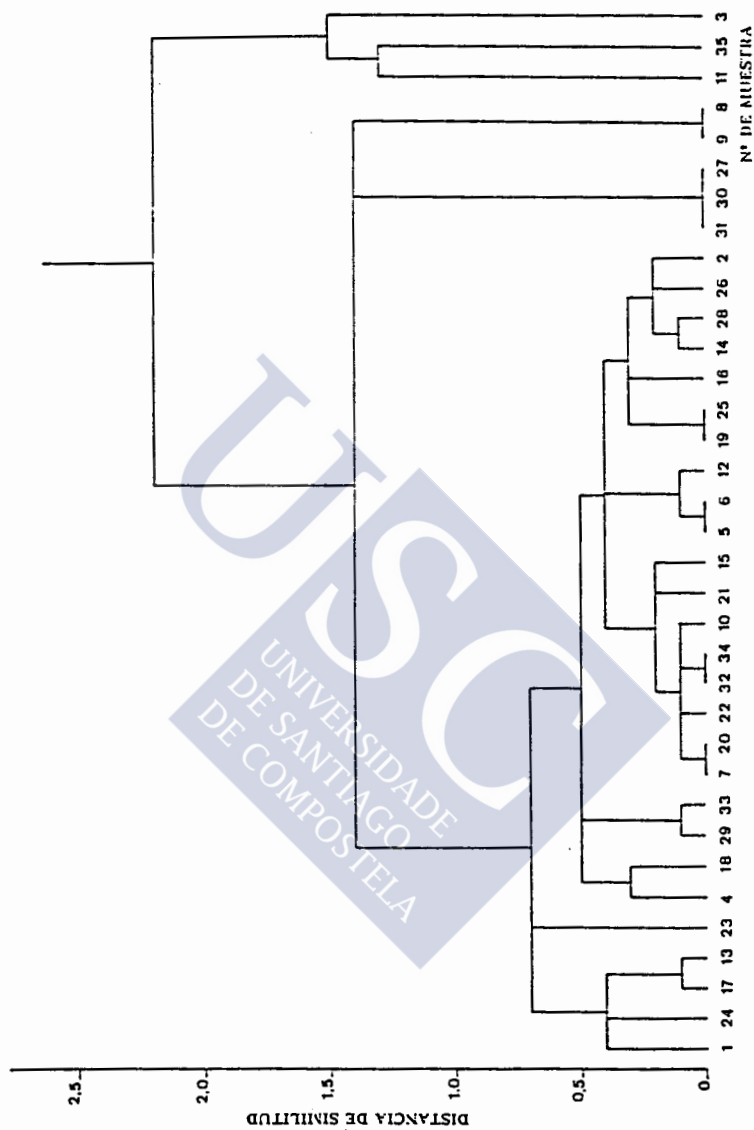


FIGURA 38a.- "Dendrograma" de la fracción insaponificable de las muestras de polen apícola analizadas. "Enlace sencillo".

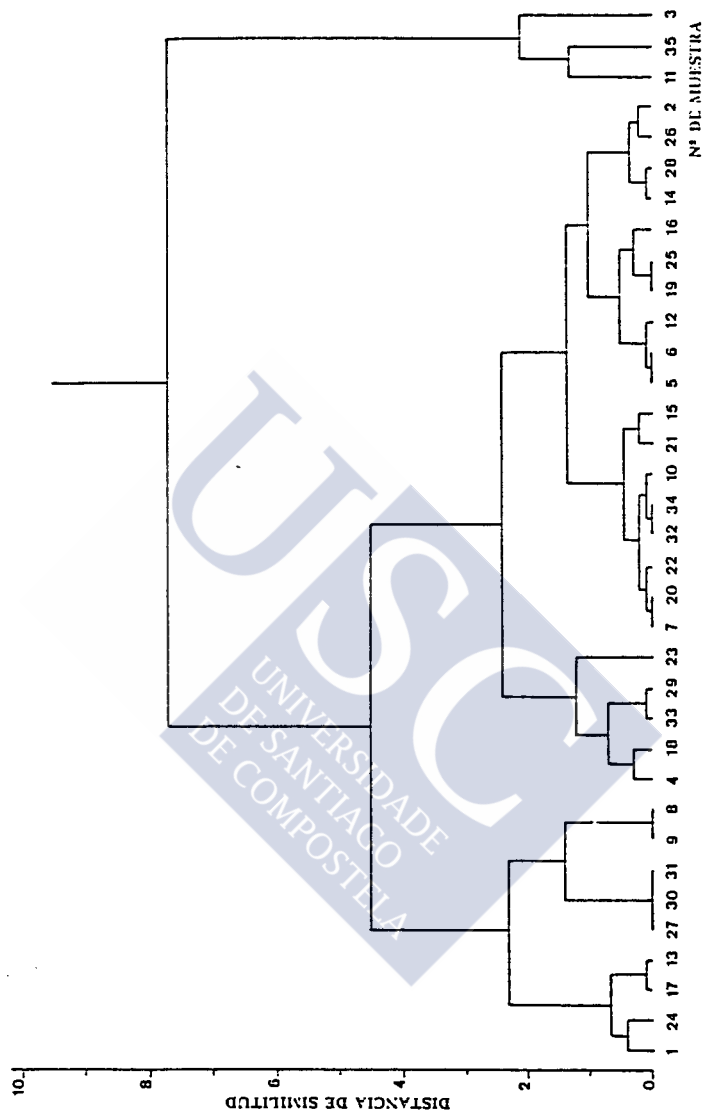


FIGURA 38b.- "Dendrograma" de la fracción insaponificable de las muestras de polen apícola analizadas."Enlace centroide".

Por otra parte, al aplicar el método del centroide y como se observa en el "dendrograma" de la Figura 39b, aparecen las muestras agrupadas en 7 "clusters" o grupos, tomando la distancia de 12 como fin de la aglomeración:

- 1, 25, 6, 13 y 3.
- 8.
- 29 y 34.
- 18, 27 y 21.
- 19.
- 5, 26, 7, 33, 35, 10, 16, 15, 30, 12, 22, 17, 20 y 9.
- 11, 31, 32, 23, 24, 28, 14, 4 y 2.

Los promedios y desviaciones para cada grupo están recogidos en la Tabla XXV.

El primer grupo presenta como componentes mayoritarios los ésteres de esteroides, hidrocarburos, ceras y carotenoides y en menor proporción los triglicéridos. El segundo, con un marcado predominio de los ésteres de esteroides, hidrocarburos, ceras y carotenoides y muy baja cantidad de triglicéridos. Un tercer grupo, donde la primera fracción de ácidos grasos se encuentra en un porcentaje realmente bajo, con cantidad importante de ésteres de esteroides, hidrocarburos, ceras y carotenoides y segunda fracción de ácidos grasos. En el cuarto grupo, predominan claramente los triglicéridos. En el quinto, los ácidos grasos de la segunda fracción seguidos de los triglicéridos en cantidad importante. En el sexto grupo, los ésteres de esteroides, hidrocarburos, ceras y carotenoides se encuentran en proporción parecida a los triglicéridos. En el último grupo predominan los ésteres de esteroides, hidrocarburos, ceras y carotenoides con cantidades menores pero similares entre sí de triglicéridos y de la segunda fracción de ácidos grasos.

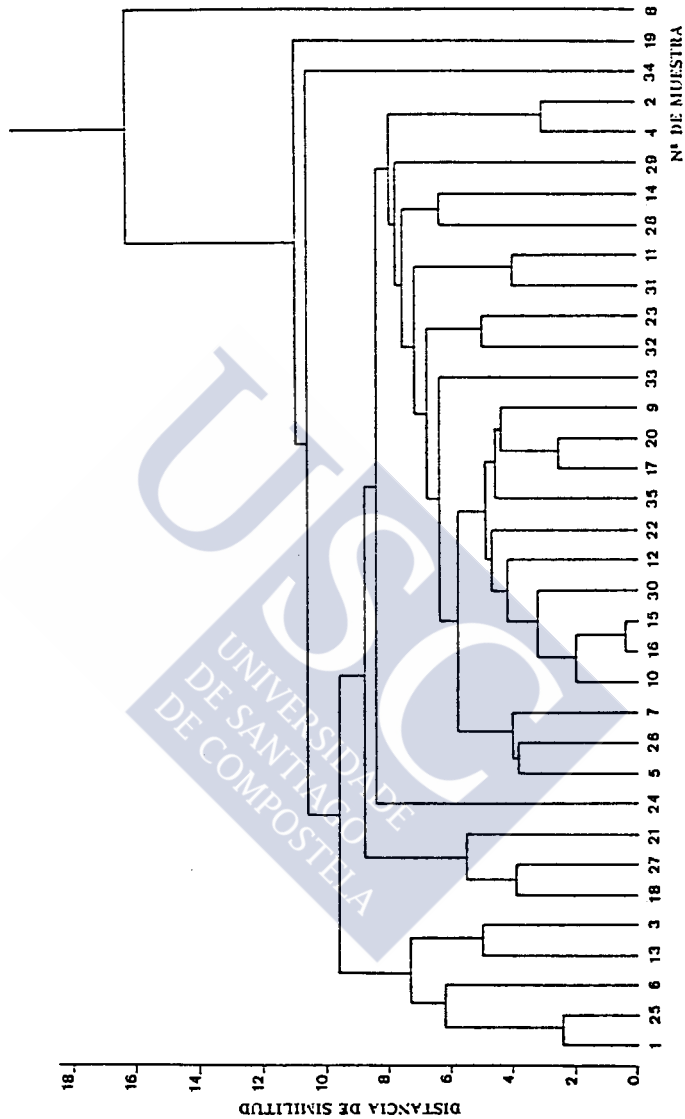


FIGURA 39a.- "Dendrograma" de los lípidos neutros de las muestras de polen apícola analizadas." Enlace sencillo.

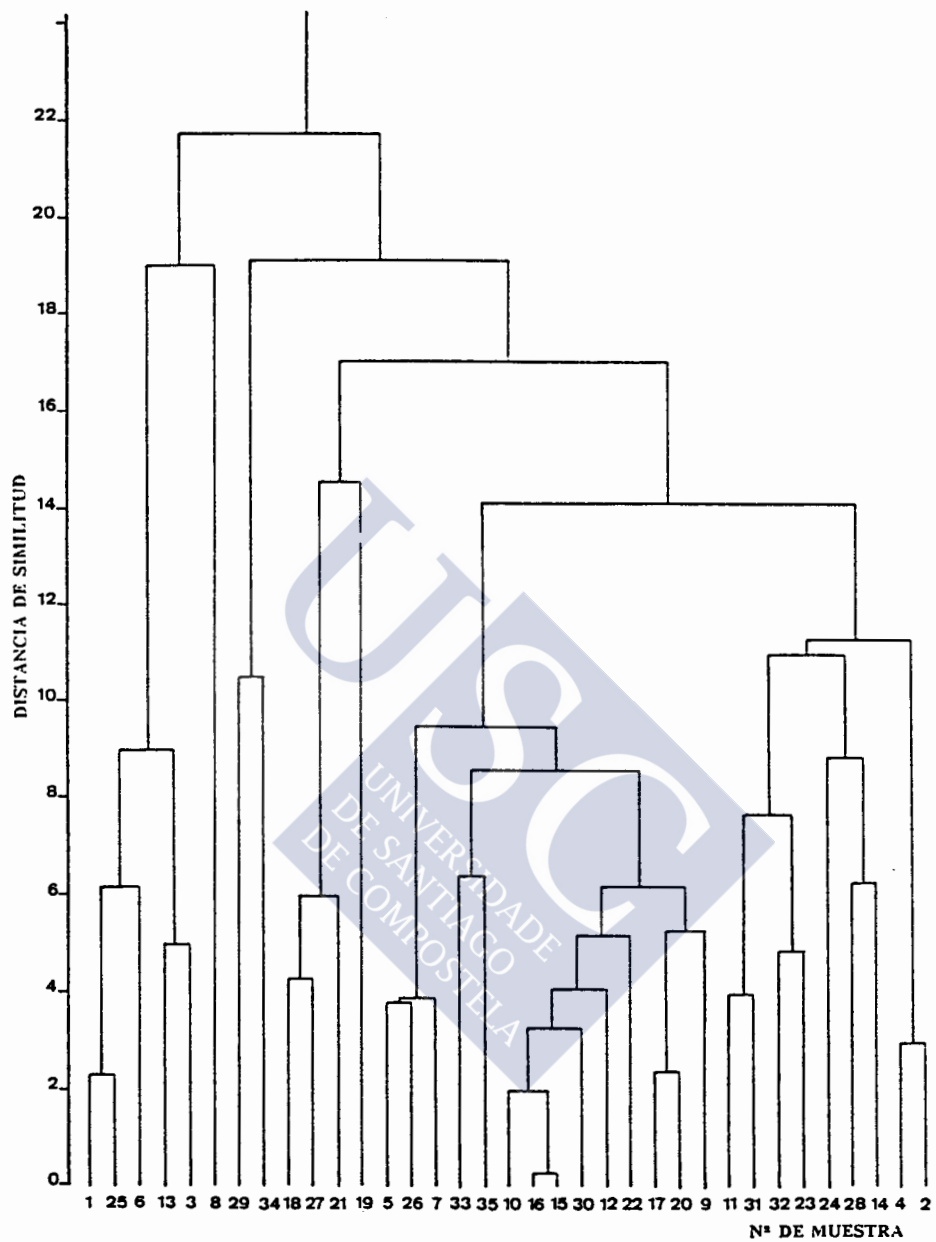


FIGURA 39b.- "Dendrograma" de los lípidos neutros de las muestras de polen apícola analizadas. "Enlace centroide".

TABLA XXV
PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTANDAR DE LOS "CLUSTERS" FORMADOS CON LOS
LIPIDOS NEUTROS DE LAS MUESTRAS DE POLEN APICOLA

"Cluster" n ^o	Fracciones (*)			
	I	II	III	IV
	Promedios (% en área) y <i>desviaciones estándar</i>			
1	54,00	23,46	7,49	15,03
	3,48	5,05	11,49	16,08
2	66,04	9,87	11,57	12,07
3	43,25	21,35	4,12	10,92
	13,06	3,35	11,18	27,6
4	25,31	39,54	13,18	21,54
	4,10	4,35	0,60	9,64
5	23,92	29,45	14,18	31,92
6	39,80	33,83	10,58	14,54
	11,07	23,29	4,65	28,64
7	37,37	24,74	14,18	23,08
	21,48	18,08	8,02	19,15

FRACCIONES(*):

I.- Esteres de esteroides, hidrocarburos, ceras y carotenoides.

II.- Triglicéridos.

III.- Acidos grasos de TR=7,42.

IV.- Acidos grasos de TR=7,69.

5.5.5.- Análisis "cluster" de la fracción esterólica

En relación con los esteroides de las muestras analizadas, al aplicar el método de enlace sencillo del análisis "cluster", se observa una gran homogeneidad entre ellas produciéndose un evidente encadenamiento de las mismas tal como se recoge en el "dendrograma" de la Figura 40a, con muy clara diferencia de las muestras 22 y 35 del resto del conjunto, poco diferenciado entre sí.

Al aplicar el método del centroide se obtiene el "dendrograma" representado en la Figura 40b, donde se encuentran las muestras agrupadas en 6 "clusters" o grupos, tomando 14 como fin de la aglomeración:

- 1, 14, 7, 8, 33, 34, 6, 5, 24, 15, 26, 19, 27, 10, 31, 20, 21, 30, 9, 28, 4, 17, 25, 16, 32 y 18.
- 23, 29, 12 y 11.
- 13.
- 3 y 2.
- 35.
- 22.

La mayor parte de las muestras aparecen agrupadas en un "cluster" con gran similitud entre sí; sin embargo, surgen una serie de muestras que se diferencian de las anteriores, a las que se encuentran débilmente ligadas; así, en el "cluster" formado por las muestras 23, 29, 12 y 11 se puede decir que presentan una agrupación débil. Por el contrario, las muestras 2 y 3, presentan mayor similitud entre sí, apareciendo débilmente ligadas al resto.

Las muestras 13 y sobre todo la 35 y 22 se consideran claramente como "extrañas", muy diferentes a las demás. Esto es debido a que la muestra 35 posee cantidades muy semejantes de 24-metilcolesterol, *beta*-sitosterol, *delta*⁵-avenasterol y *delta*⁷-avenasterol.

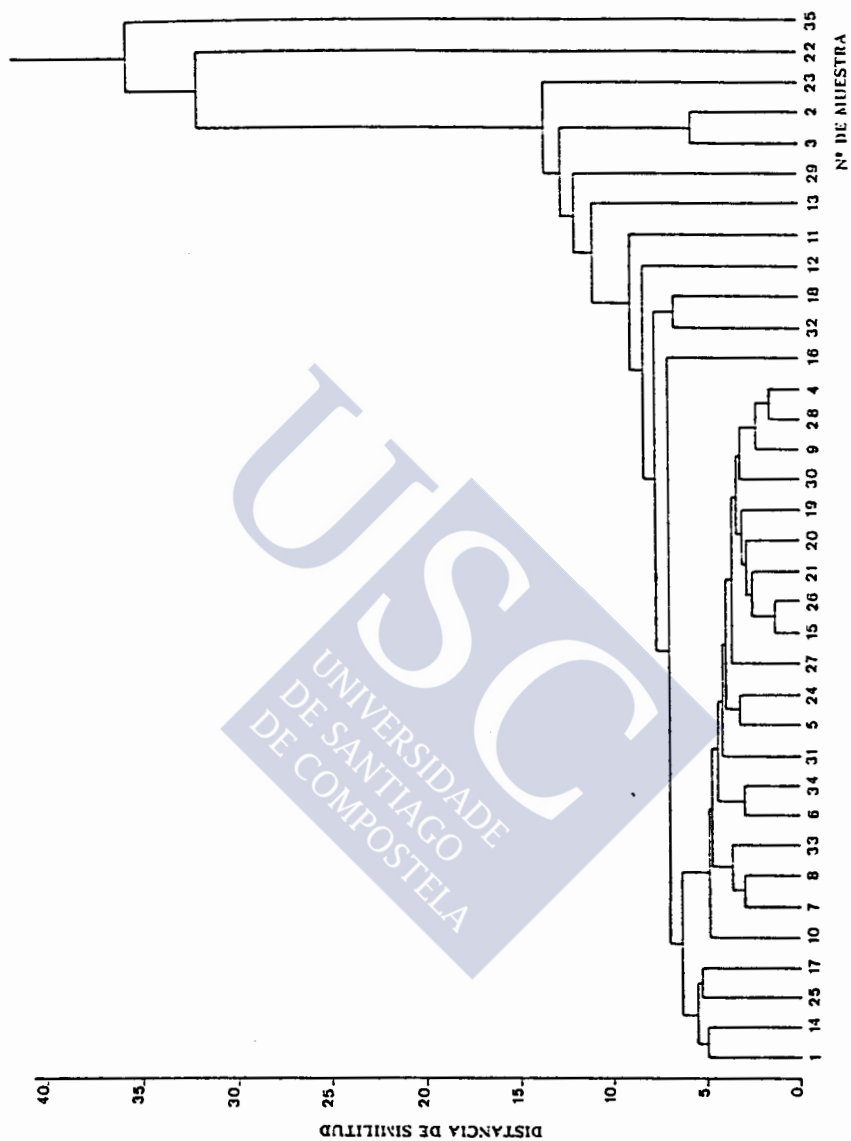


FIGURA 40a.- "Dendrograma" de la fracción esterólica de las muestras de polen apícola analizadas. "Enlace sencillo".

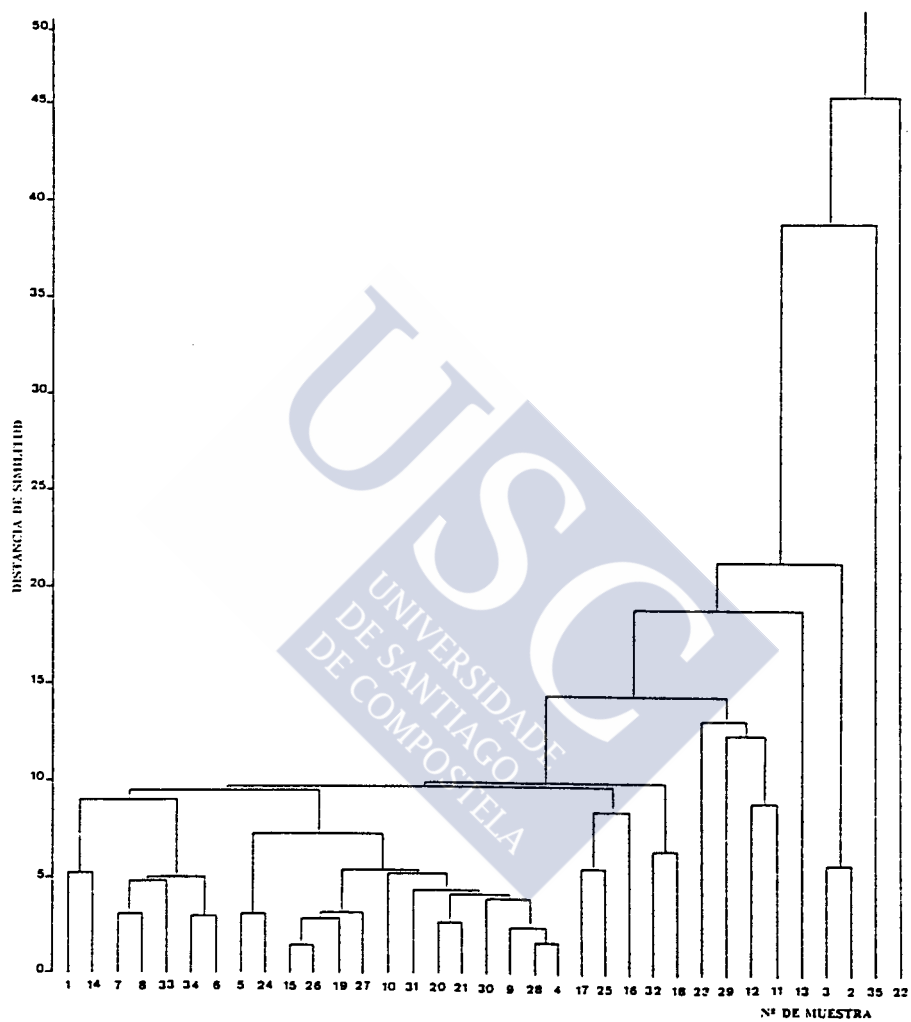


FIGURA 40b.- "Dendrograma" de la fracción esterólica de las muestras de polen apícola analizadas. "Enlace centroide".

Por su parte, la 22 presenta el valor máximo para el 24-metilcolesterol y *beta*-sitosterol y el mínimo para el *delta*⁵avenasterol, además es la única que presenta en cantidad cuantificable el *delta*⁷-estigmasterol.

En la Tabla XXVI se recogen los promedios y las desviaciones estándar de cada uno de los componentes de la fracción esterólica, de las muestras de polen apícola, agrupadas en los distintos "clusters".

Con el fin de mejorar en lo posible la agrupación de las muestras, se pensó excluir la variable 22-dehidrocolesterol por presentarse en proporción realmente insignificante en todas las muestras; sin embargo al aplicar de esta forma el análisis "cluster" no se observó cambio alguno en los resultados.

5.5.6.- Análisis "cluster" de los carotenoides

Con la aplicación del análisis "cluster" a los carotenoides del polen apícola se obtiene una distribución de grupos notoriamente diferente a la hallada con los distintos parámetros analizados anteriormente.

Considerando en el "dendrograma" de la Figura 41a, en primer lugar la similitud 7,5 como fin de la aglomeración, se distinguen 10 grupos o "clusters" integrados por las muestras de promedios y desviaciones estándar siguientes:

- 1, 22, 5, 35, 8, 6, 31, 7, 14, 12, 27, 9, 26, 15, 21, 24, 18, 30, 19, 10 y 4 (promedio 7,46 mg/100 g de grasa y desviación 39,4).
- 16, 23 y 11 (promedio 36,4 mg/100 g de grasa y desviación 23,3).
- 28 (53,2 mg/100 g de grasa).
- 17 (85,1 mg/100 g de grasa).
- 32 y 25 (promedio 76,1 mg/100 g de grasa y desviación 0).

TABLA XXVI

**PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTANDAR DE LOS "CLUSTERS" FORMADOS CON LA
FRACCION ESTEROLICA DE LAS MUESTRAS DE POLEN APICOLA**

"Cluster" n ^o	Componentes de la fracción esterólica (*)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	Promedios (% en área) y desviaciones estándar							
1	tr. 3,23	3,58 1,14	0,79 3,39	30,41 17,02	19,86 3,74	48,32		tr
2	0,23 0,00	3,44 4,52	3,53 5,30	19,73 4,00	15,18 3,13	57,62 4,28		
3	tr	18,13	2,60	23,57	16,11	38,43		1,20
4	tr	3,81 0,36	8,46 1,53	40,94 1,10	12,52 1,53	33,04 3,15		1,22 0,86
5	tr	2,48	0,20	22,66	21,11	23,89		29,65
6	tr.	3,96	3,58	45,51	36,61	10,25	1,04	

Componentes de la fracción esterólica (*):

1.- 22-dehidrocolesterol; 2.- Colesterol; 3.- Esterol ni; 4.- 24-metilencolesterol; 5.- Beta-sitosterol; 6.- Delta⁵-avenasterol; 7.- Delta⁷-estigmasterol; 8.- Delta⁷-avenasterol .

- 2 (65,5 mg/100 g grasa).
- 33 (98,7 mg/100 g grasa).
- 20, 29 y 13 (promedio 130,8 mg/100 g de grasa y desviación 3).
- 34 (198,5 mg/100 g de grasa).
- 3 (315,1 mg/100 g de grasa).

El primer "cluster" formado presenta una gran dispersión de las muestras, como se refleja en el valor de la desviación estándar. De forma que, si se observa el "dendrograma" con detenimiento podemos subdividir este grupo en dos subgrupos diferenciados, lo que se observa con más claridad cuando se utiliza como procedimiento de enlace el método del centroide (Figura 41b), así las muestras estarían distribuidas en grupos más homogéneos tomando como fin de similitud la distancia de 10:

- 1, 22, 6, 8, 35, 31 y 5 (promedio 15,5 mg/100 g de grasa y desviación 15,6).
- 7, 14, 26, 15, 12, 27, 9, 21, 24, 18, 30, 19, 10 y 4 (promedio 3,5 mg/100 g de grasa y desviación 3,75).

Además se agrupa la muestra 17 a la 32 y 25, resultando un promedio de 79,1 mg/100 g de grasa y una desviación del 27,0.

Destaca además, el agrupamiento de las muestras 20, 29 y 13 que aunque con clara similitud entre ellas su afinidad es muy débil con las demás por lo que se puede considerar un agrupamiento artificial.

Finalmente es de resaltar, la exagerada desproporción que presenta la muestra 34 y sobretodo la 3 con respecto al conjunto de las muestras objeto de esta discusión.

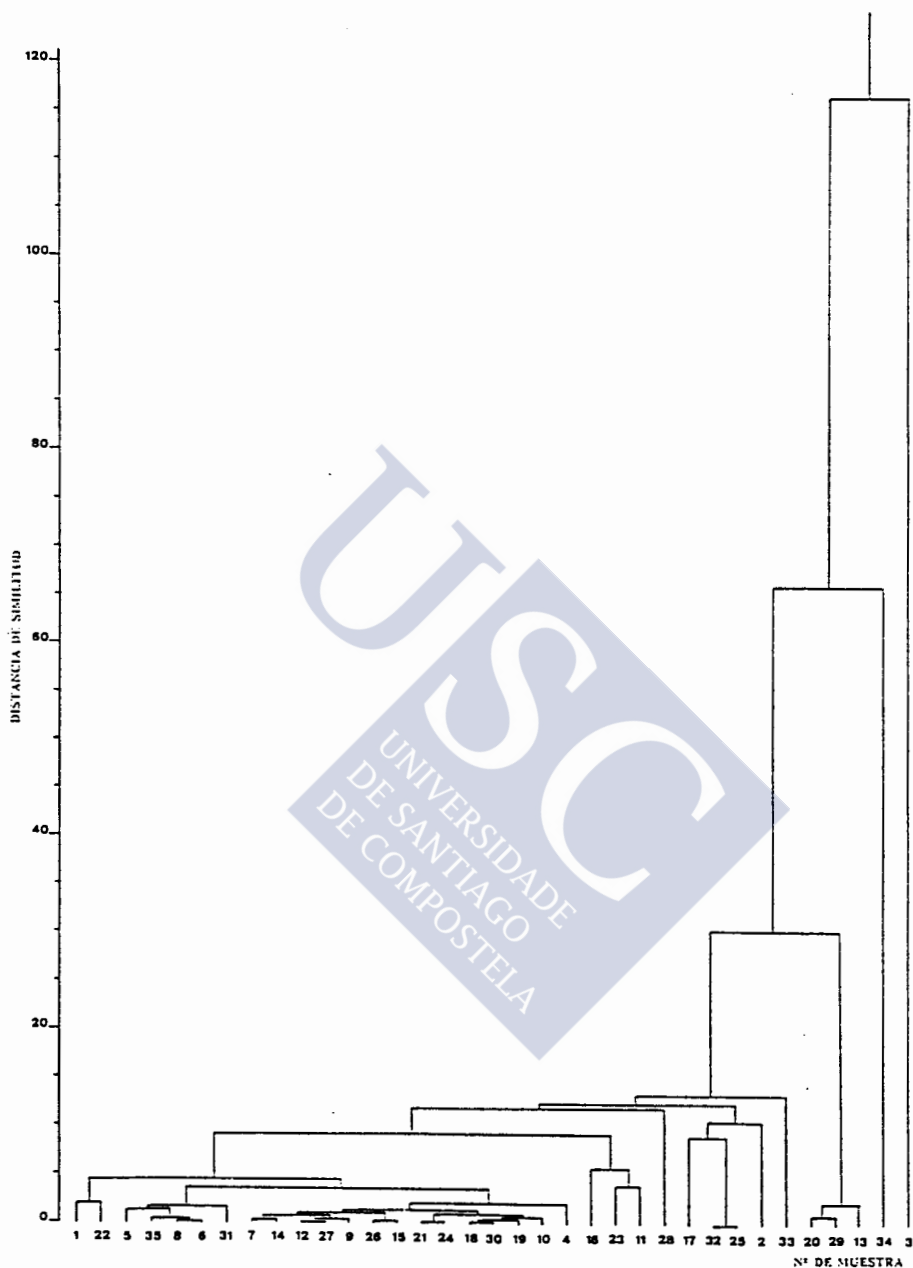


FIGURA 41a.- "Dendrograma" de los carotenoides de las muestras de polen apícola analizadas. "Enlace sencillo".

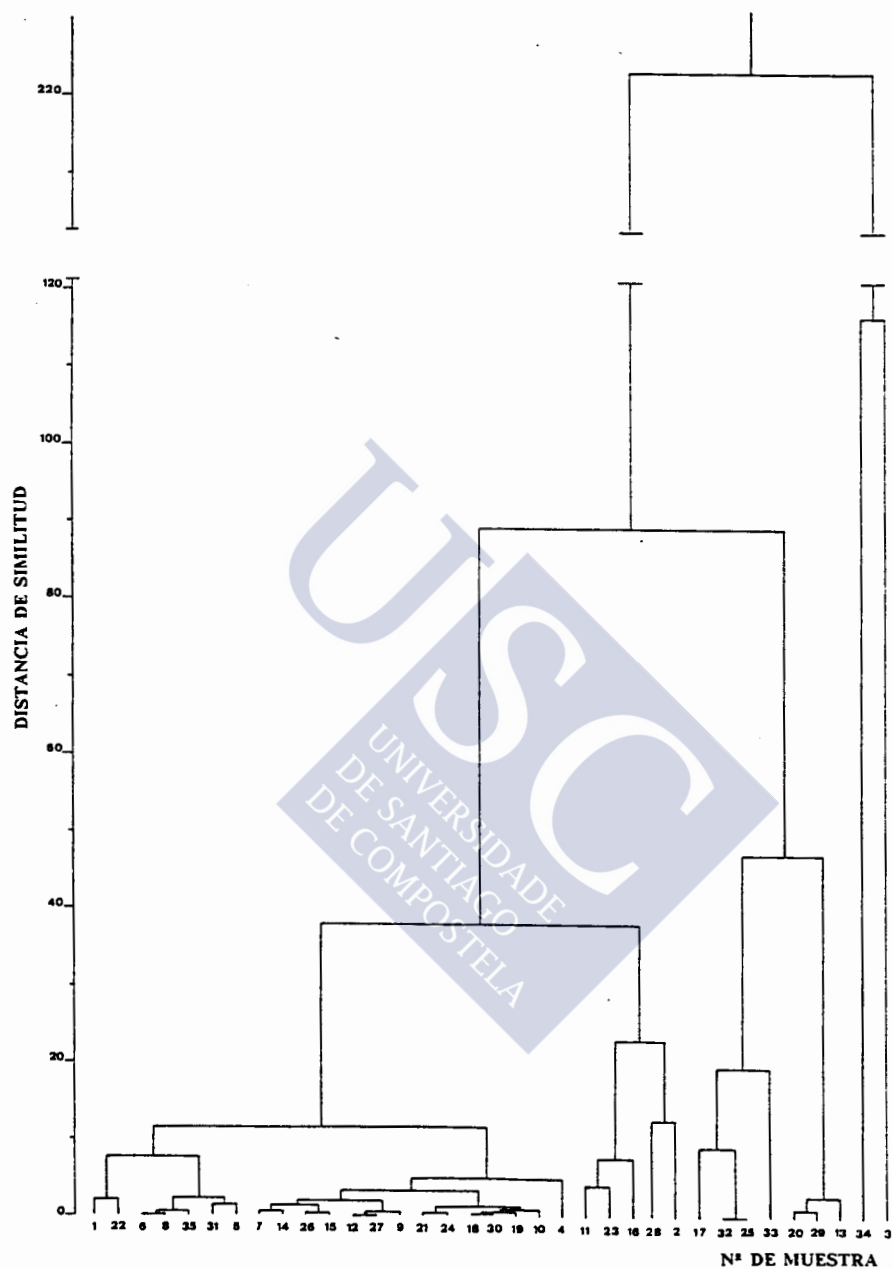


FIGURA 41b.- "Dendrograma" de los carotenoides de las muestras de polen apícola analizadas. "Enlace centroide".

5.5.7.- Análisis "cluster" de todos los parámetros que hacen referencia a la grasa

Cuando se aplica el "análisis cluster" conjuntamente a los parámetros anteriores (extracto graso, fracción insaponificable, lípidos neutros, esteroides y carotenoides) se observa, con el enlace sencillo (Figura 42a), que las muestras están poco diferenciadas entre sí, salvo la número 34 y sobretodo la número 3.

Con objeto de resaltar más la agrupación se aplica el método del centroide (Figura 42b), donde si tomamos 70 como distancia de fin de similitud obtenemos las muestras distribuidas en 4 "clusters" o grupos:

- 1, 8, 18, 21, 27, 19, 5, 7, 6, 12, 26, 10, 15, 30, 9, 31, 14, 24, 4, 28, 16, 23, 11, 35 y 22.
- 13, 29, 20, 17, 33, 25, 32 y 2.
- 34.
- 3.

Destacan, como ya se ha mencionado, las muestras números 34 y 3 muy distantes de las restantes, debido al elevado valor que presentan para los carotenoides; lo mismo ocurre en la agrupación de las muestras 13, 29, 20, 17, 33, 25, 32 y 2.

Esto se corrobora excluyendo el valor de los carotenoides del estudio "cluster" de los parámetros referentes a la grasa y como se representa en la Figura 43, utilizando el método del centroide la agrupación de las muestras en este caso es totalmente diferente. Las muestras son bastante homogéneas separándose del conjunto la 35 y 22 en razón al valor de la fracción esterólica.



FIGURA 42a.- "Dendrograma" de los todos los parámetros referentes a la grasa. "Enlace sencillo".

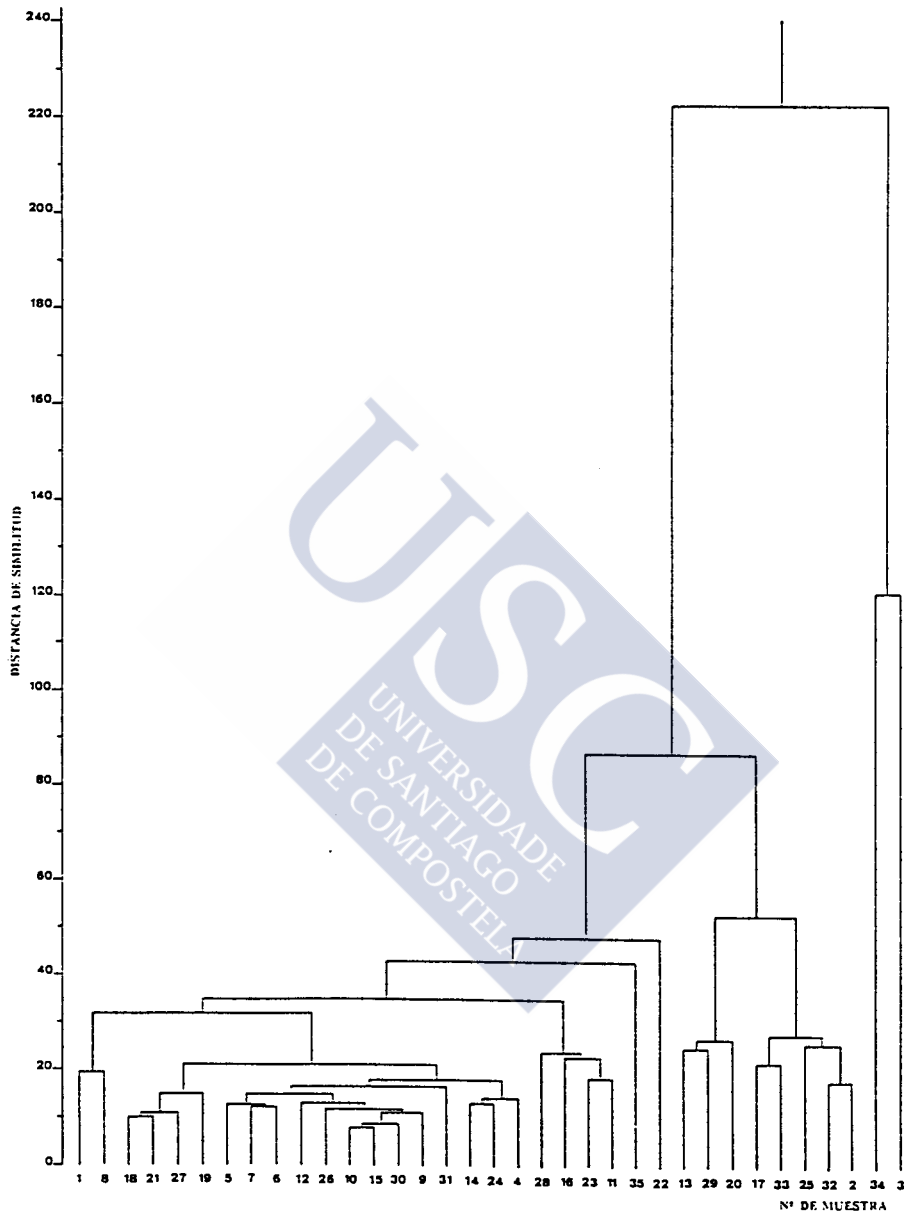


FIGURA 42b.- "Dendrograma" de los todos los parámetros referentes a la grasa. "Enlace centroide".

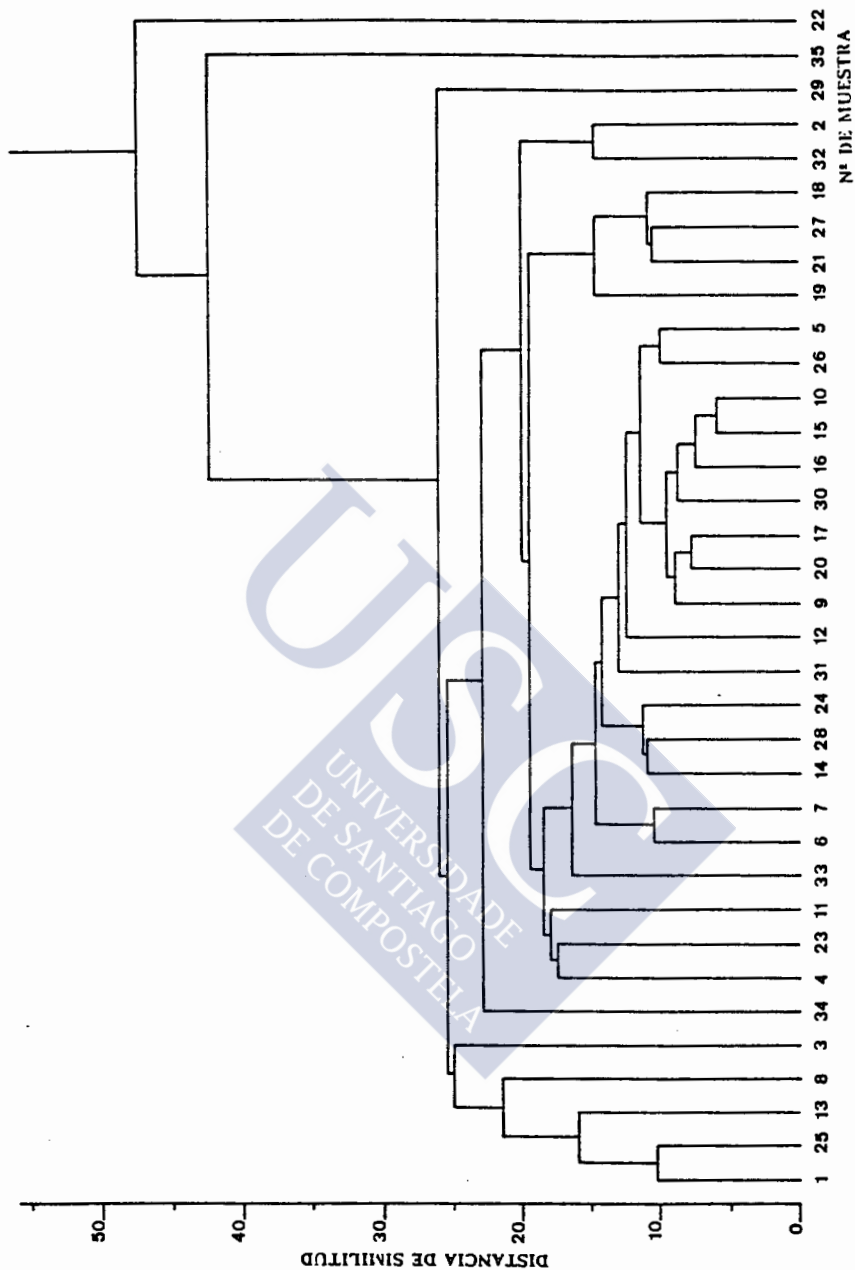
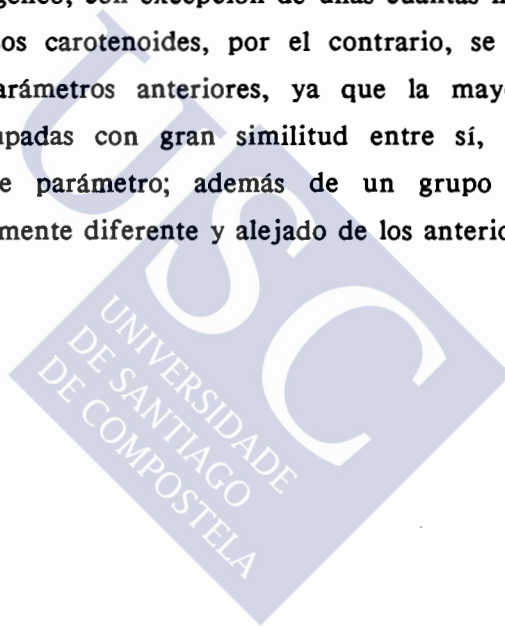


FIGURA 43.- "Dendrograma" de los todos los parámetros referentes a la grasa con excepción del valor de los carotenoides. "Enlace centroide".

Por último y con objeto de lograr una idea general de la distribución de las muestras para cada uno de los parámetros estudiados se recogen los *histogramas* de las Figuras 44 al 51.

Se comprueba claramente que el origen botánico de las muestras analizadas presenta gran homogeneidad y dispersión, al igual que el extracto graso, fracción insaponificable y lípidos neutros. En cuanto a los esteroides la mayoría de las muestras se encuentran agrupadas en un conjunto bastante homogéneo, con excepción de unas cuantas muestras que se separan del resto. Los carotenoides, por el contrario, se diferencian notoriamente de los parámetros anteriores, ya que la mayoría de las muestras aparecen agrupadas con gran similitud entre sí, presentando valores bajos para este parámetro; además de un grupo de valores intermedios y otro sumamente diferente y alejado de los anteriores.



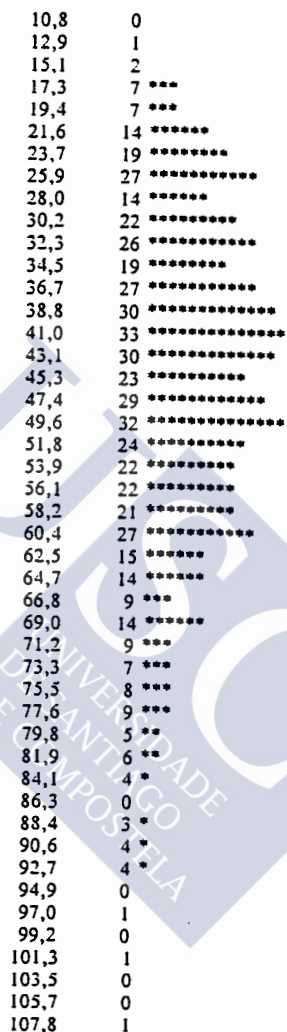


FIGURA 44.- Histograma de distancias entre casos del origen botánico de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo, respectivamente.

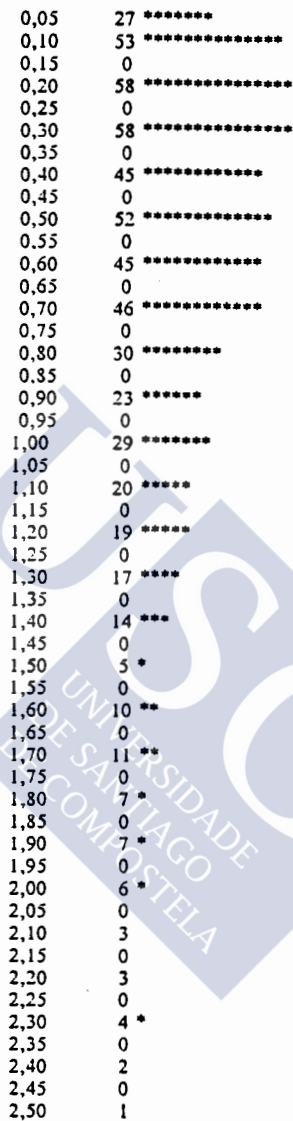


FIGURA 45.- Histograma de distancias entre casos del extracto graso de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo, respectivamente.

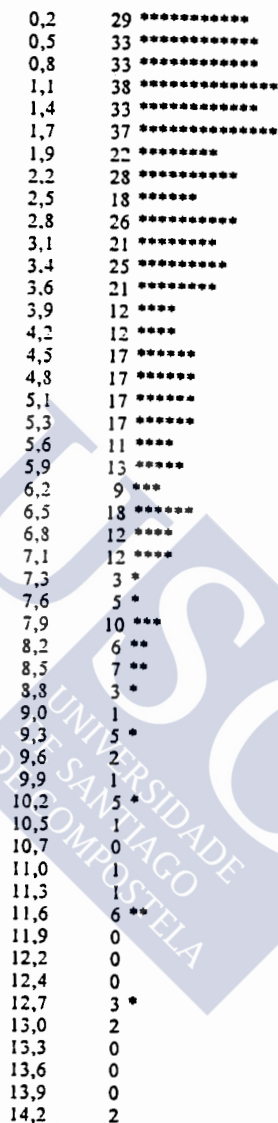


FIGURA 46.- Histograma de distancias entre casos de la fracción insaponificable de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo, respectivamente.

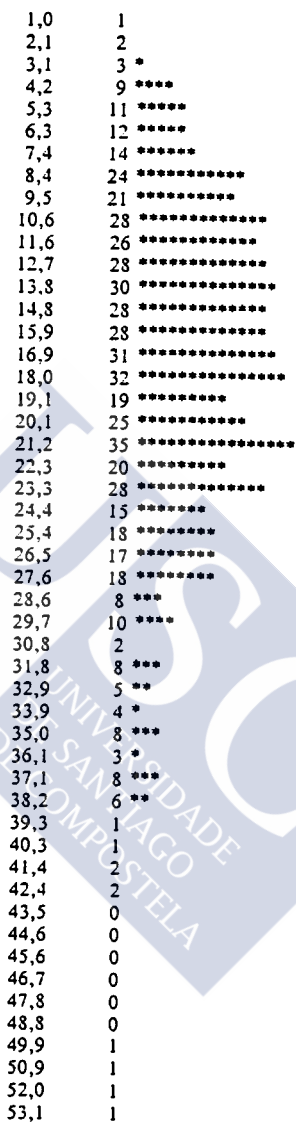


FIGURA 47.- Histograma de distancias entre casos de los lípidos neutros de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo, respectivamente.

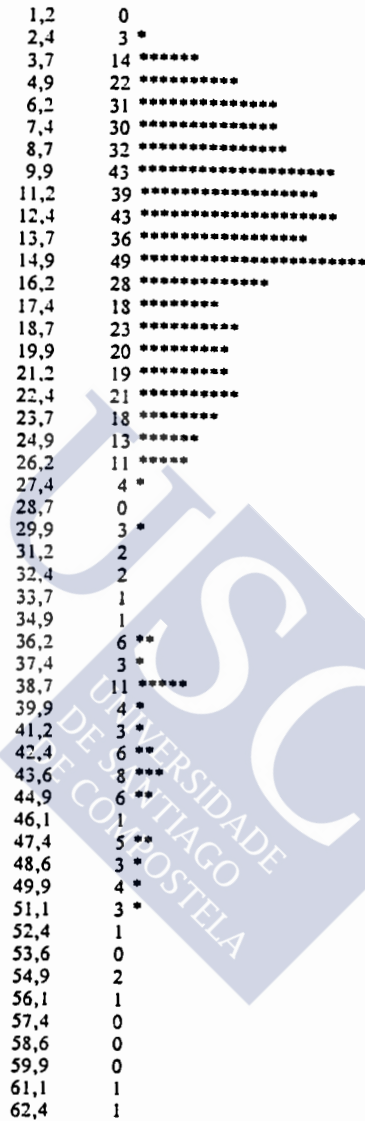


FIGURA 48.- Histograma de distancias entre casos de la fracción esterólica de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo, respectivamente.

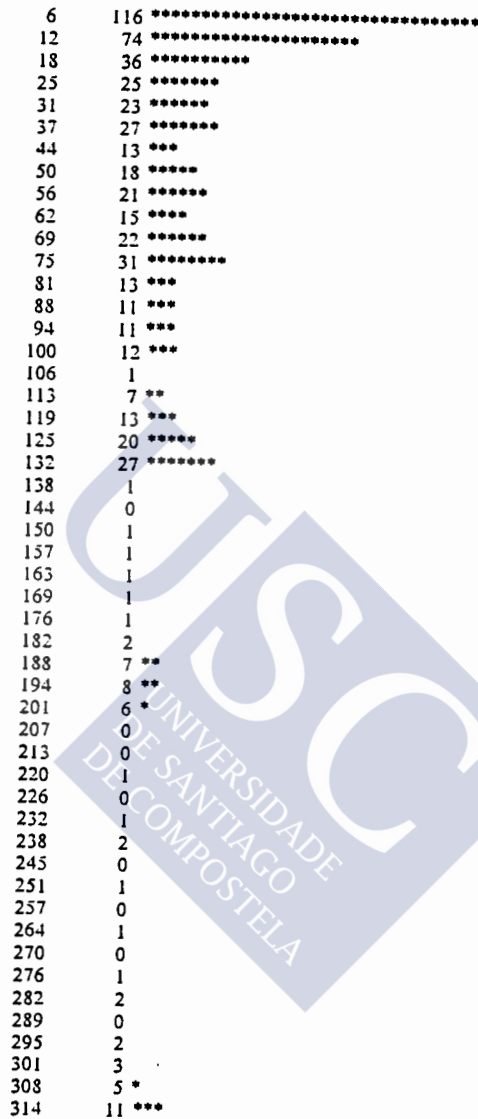


FIGURA 49.- Histograma de distancias entre casos de los carotenoides de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo, respectivamente.

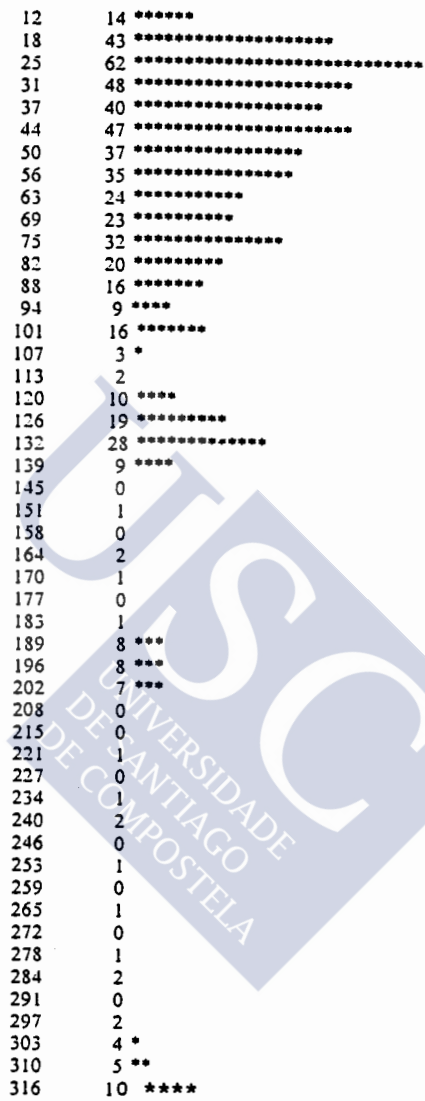


FIGURA 50.- Histograma de distancias entre casos de todos los parámetros referentes a la grasa de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo, respectivamente.

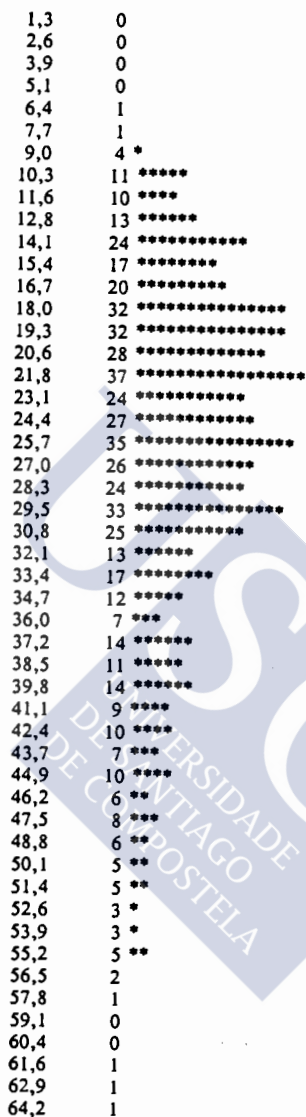


FIGURA 51.- Histograma de distancias entre casos de todos los parámetros referentes a la grasa con excepción de los carotenoides de las muestras de polen apícola analizadas. Los valores de la izquierda representan el valor más alto y la frecuencia para cada intervalo.

5.6. CORRELACION DEL ORIGEN BOTANICO CON EL COLOR Y CAROTENOIDES DEL POLEN APICOLA

Con objeto de hallar una posible correlación del origen botánico con el color y los carotenoides del polen apícola, se utiliza el programa de correlación múltiple paso a paso, P2R perteneciente al paquete estadístico BMDP.

5.6.1.- Correlación entre origen botánico y color

Tras su aplicación al origen botánico y color (sobre los datos de longitudes de onda dominantes, obtenidos en el trabajo de HUIDOBRO, SIMAL, MUNIATEGUI y GARCIA, 1986), se observa que existe ciertamente una correlación entre ambos parámetros en el polen apícola, presentando un coeficiente de correlación de 0,9496. El color por tanto, está relacionado con los siguientes taxones:

nº	Variable	Coefficiente de correlación
40	Eucaliptus sp.	0,5679
25	Ericaceae	0,6566
57	Ranunculus sp.	0,7115
43	Olea sp.	0,7658
18	Compuesta Tipo T (Taraxacum sp.)	0,8047
45	Hypocoum sp.	0,8446
12	Cistus ladaniferus L.	0,8927
73	Parietaria sp.	0,9109
29	Erodium sp.	0,9242
9	Cistus clusii Dunal	0,9387
54	Pinus sp.	0,9496

Siendo la ecuación que los relaciona:

nº	Variable	Coefficientes de regresión
40	Eucaliptus sp.	0,332
25	Ericaceae	0,228
57	Ranunculus sp.	-2,075
43	Olea sp.	0,161
18	Compositae Tipo T(Taraxacum sp.)	0,117
45	Hypocoum sp.	0,305
12	Cistus ladaniferus L.	0,032
73	Parietaria sp.	4,952
29	Erodium sp.	-4,254
9	Cistus clusii Dunal	0,131
54	Pinus sp.	3,232
	<i>Término independiente</i>	577,07

Es de destacar la inclusión de 4 taxones, que se encuentran en un número muy reducido de muestras y en una proporción del 0,5%; de forma que, eliminando aquellos taxones cuyo valor máximo sea inferior al 5%, se obtiene una relación con los siguientes taxones implicados con un coeficiente de correlación de 0,8396, algo inferior al obtenido con la totalidad de los taxones:

n ²	Variable	Coefficiente de correlación
40	Eucaliptus sp.	0,5679
25	Ericaceae	0,6566
5	Campanula sp.	0,7114
17	Compositae Tipo S (Serratula sp.)	0,7553
12	Cistus ladaniferus L.	0,7936
9	Cistus clusii Dunal	0,8396

Donde la ecuación que los une es la siguiente:

n ²	Variable	Coefficiente de regresión
40	Eucaliptus sp.	0,302
25	Ericaceae	0,184
5	Campanula sp.	0,079
17	Compositae Tipo S (Serratula sp.)	0,098
12	Cistus ladaniferus L.	0,026
9	Cistus clusii Dunal	0,182
	<i>Término independiente</i>	577,37

5.6.2.- Correlación entre origen botánico y carotenoides.

Igualmente, al aplicar el programa de correlación múltiple paso a paso BMDP2R, al origen botánico y carotenoides del polen apícola, se obtiene una clara correlación entre ambos con un coeficiente de 0,9144 en la que intervienen los siguientes taxones:

n ²	Variable	Coefficiente de correlación
17	Compositae Tipo S (Serratula sp.)	0,7230
40	Eucaliptus sp.	0,8385
29	Erodium sp.	0,8805
5	Campanula sp.	0,8992
60	Sanguisorba officinalis L.	0,9144

Dichas variables están relacionadas por la siguiente ecuación:

n ²	Variable	Coefficiente de regresión
17	Compuesta Tipo S (Serratula sp.)	0,868
40	Eucaliptus sp.	0,831
29	Erodium sp.	20,703
5	Campanula sp.	0,161
60	Sanguisorba officinalis L.	-6,996
	<i>Término independiente</i>	<i>1,491</i>

Dado que entre los taxones relacionados existen 2 que se encuentran representados con un 0,5%, se aplica la correlación eliminando las variables cuyo valor máximo sea inferior al 5%, siendo en este caso el coeficiente de correlación de 0,8698; de esta forma los taxones relacionados son:

n°	Variable	Coefficiente de correlación
17	Compositae Tipo S (Serratula sp.)	0,7230
40	Eucaliptus sp.	0,8385
18	Compositae Tipo T (Taraxacum sp.)	0,8698

Siendo la ecuación que los relaciona:

n°	Variable	Coefficiente de regresión
17	Compositae Tipo S (Serratula sp.)	0,852
40	Eucaliptus sp.	0,829
18	Compositae Tipo T (Taraxacum sp.)	0,270
	<i>Término independiente</i>	1,042



6.- Conclusiones



1.- Se señala que este producto está ausente del Código Alimentario Español (1967) y solamente se cita dentro de la Reglamentación Técnico Sanitaria sobre preparados alimenticios para regímenes dietéticos y/o especiales. Figura registrado, por una parte como polen de flores en productos de parafarmacia y por otra, desde 1987, como especialidad farmacéutica conteniendo las fracciones oleosolubles e hidrosolubles del polen.

2.- Se propone como método de estudio del origen botánico del polen apícola comercial por microscopía óptica el basado en disgregar los gránulos en solución acuosa previo tratamiento de la muestra con éter etílico, posterior utilización de solución hidroalcohólica de hidrato de cloral y éter etílico y finalmente tinción con verde de metilo según técnica de TERRADILLOS, SIMAL y HUIDOBRO (1986a).

De este modo se identifican 72 taxones pertenecientes a 33 familias botánicas, observándose un claro predominio del *Cistus ladaniferus* L. con un 39,5% de valor promedio. En menor proporción, pero importante, aparecen entre otros, *Echium* sp., *Quercus* sp., *Campanula* sp., *Compositae* tipo T (*Taraxacum*), *Rosaceae* tipo frutal, *Papilionaceae* tipo *Genista*...

3.- Se comprueba que en el análisis de la grasa total del polen apícola comercial es satisfactoria la aplicación de la norma UNE 34-082-76, que somete la muestra a una hidrólisis clorhídrica previa y posterior extracción de la grasa con éter de petróleo, obteniéndose en todos los casos, valores más altos de este parámetro al someter la muestra a dicha hidrólisis, ya que permite liberar componentes lipídicos ligados, lo que no sucede cuando se realiza la extracción directa de la muestra.

4.- Se propone en la determinación de las diferentes clases de lípidos neutros del polen apícola comercial la aplicación de la cromatografía líquida de alta resolución, en condiciones isocráticas, con detección ultravioleta a 206 nm e inyección directa de la muestra, por su precisión y rapidez.

Se aíslan tres fracciones de lípidos neutros: Esteres de esteroides y otros componentes apolares como ceras, hidrocarburos y carotenoides; triglicéridos y finalmente ácidos grasos separados en dos picos. La fracción mayoritaria es la de los componentes más apolares, hallándose los ácidos grasos y triglicéridos en porcentajes muy semejantes entre sí. Por otra parte, los ésteres de ácidos grasos y esteroides se encuentran en cantidad no detectable frente al resto de los componentes.

5.- Se confirma la validez del método UNE 55.019 en la separación de la fracción de esteroides del polen apícola comercial por cromatografía en capa fina, donde se sugiere un desarrollo doble unidimensional, con el fin de facilitar el aislamiento de la banda esteróica y posterior separación de los mismos por cromatografía gaseosa.

Se aíslan 8 componentes, de los cuales, se identifican 7 por comparación de sus tiempos de retención relativos al *beta*-sitosterol con los de las referencias bibliográficas: 22-dehidro- colesterol, colesterol, 24-metilen-colesterol, *beta*-sitosterol, δ^5 -avenasterol, δ^7 -avenasterol y δ^7 -estigmasterol, apareciendo éste último sólo en una de las muestras. El esteroide no identificado de TRR=0,72 puede corresponderse con el polinastanol. Como esteroide mayoritario en todas las muestras analizadas se encuentra el δ^5 -avenasterol, con excepción del 24-metilen-colesterol en tres muestras y el δ^7 -avenasterol en una.

6.- Se propone para la determinación de los carotenoides del polen apícola comercial el empleo de la cromatografía líquida de alta resolución, en condiciones isocráticas, con detección a 453 nm e inyección directa de la muestra, por su precisión ($C_v\%=1,7$) y rapidez (unos dos minutos).

Se comprueba además, que predominan casi exclusivamente los carotenos, presentando seis muestras valores de carotenos mucho mayores que las restantes.

7.- En el "análisis cluster" de los parámetros considerados de forma individual y en conjunto, resulta más satisfactorio como método de enlace el centroide debido, probablemente, al hecho de que las muestras comerciales analizadas son mezclas de pólenes de diferentes orígenes.

Así mismo, se constata en cada parámetro que la mayor parte de las muestras se encuentran agrupadas en un conjunto bastante homogéneo a excepción de los carotenoides, donde se observa una agrupación muy diferente de las mismas, en la que existen muestras claramente alejadas de las restantes.

8.- Se comprueba la existencia de correlación entre el origen botánico y el color de las muestras de polen apícola, con un coeficiente de 0,9496. Tomando en consideración los taxones cuyo valor máximo sea superior al 5%, el coeficiente de correlación obtenido es de 0,8396 resultando relacionados con el color: *Eucalyptus* sp., *Ericaceae*, *Campanula* sp., *Compositae* Tipo S (*Serratula* sp.), *Cistus ladaniferus* L. y *Cistus clusii* Dunal.

Igualmente, se observa una correlación de 0,9144 entre el origen botánico y los carotenoides del polen apícola. Eliminando los taxones cuyo valor máximo sea inferior al 5% se obtiene un coeficiente de correlación de 0,8698, interviniendo en esta relación los pólenes de: Compositae Tipo S (*Serratula* sp.), *Eucaliptus* sp. y Compositae Tipo T (*Taraxacum* sp.).





7.- Referencias bibliográficas



- AITZETMÜLLER, K. 1977. "High Performance Liquid Chromatographic analysis of partial glycerides and other technical lipid mixtures". *Journal of Chromatography* 139, 61-68.
- AITZETMÜLLER, K. and KOCH, J. 1978. "Liquid chromatographic analysis of sebum lipids and other lipids of medical interest". *Journal of chromatography* 145, 195-202.
- ANDERSON, R.J. 1923. *J Biol. Chem.* 55, 611. Citado por Barbier (1971) y Stanley y Linskens (1974).
- ANDERSON, R.J. and KULP, W.L. 1922. *J. Biol. Chem.* 50, 433. Citado por Barbier (1971).
- ANDRIKOPOULOS, N.K., SIAFAK-KAPADAI, A., DEMOPOULOS, C.A. and KAPOULAS, V.M. 1985. "Lipids of *Pinus halepensis* pollen". *Phytochemistry*. 24 (12), 2953-2957.
- ASK-UPMARK, E. 1963. *Z. Urol.* 56, 3. Citado por Stanley y Linskens (1974).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS (AOAC). 1984. Official Methods of Analysis. Arlington, Virginia. 22204, USA.
- BAILEY, I.W. 1960. "Some useful techniques in the study and interpretation of pollen morphology". Citado por Faegri y Iversen (1966).
- BARBIER, M. 1971. "Chemistry and Biochemistry of pollens". *Progress in Phytochemistry* 2 (1), 153.
- BARBIER, M., HÜGEL, M.F. et LEDERER, E. 1960. "Isolement du 24-méthyléné-cholesterol a partir du pollen de différentes plantes". *Bulletin de la Société de Chimie Biologique* XLII (1), 91-97.
- BARBIER, M., REICHSTEIN, T., SCHINDLER, O. and LEDERER, E. 1959. "Isolation of 24-methylenecholesterol from honeybees (*Apis mellifera* L.)". *Nature* 184, 732-734. Citado por Battaglini (1970) y Barbier (1971).
- BATTAGLINI, M. e BOSI, G. 1965. "Contributo alla conoscenza dei lipidi del polline. 1.- Gli acidi grassi". *L'Apicoltore d'Italia* 4-5.

- BATTAGLINI, M. e BOSI, G. 1968. "Studio degli acidi grassi dei pollini piú intensamente bottinate da *Apis m. linguistica* spin., nella zona di Perugia". *L'Apicoltore d'Italia* 2.
- BATTAGLINI, M., BOSI, G. e RICCIARDELLI D'ALBORE, G. 1970. "Sugli steroli di venti pollini raccolti dalle api". *La Nuova Chimica* 5.
- BELITZ, H. D. y GROSCH, W. 1988 " Química de los alimentos" Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, 198-209.
- BELMONTE, J., PEREZ-OBIOL, R y ROURE, J.M. 1984. "Introducción a la determinación de los pólenes de las principales especies melíferas de la Península Ibérica". *II Congreso Nacional de Apicultura. Gijón. Fundación Principado de Asturias*. Instituto de Investigación y Desarrollo de la Apicultura.
- BLIGH, E.G. and DYER, W.J. 1959. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911. Citado por Andrikopoulos y col. (1985).
- BMDP (Biomedical Computers Program). 1985. University of California Press. Berkeley.
- BOLETIN OFICIAL DEL ESTADO. 1976. Nº 284 del 26 de Noviembre. "Reglamentación Técnico Sanitaria sobre preparados alimenticios para regímenes dietéticos y/o especiales". Madrid.
- BOLETIN OFICIAL DEL ESTADO. 1982. Del 12 de Agosto. "Norma general de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios envasados". Madrid.
- BONNIER, G. et DE LAYENS G. 1977. "Flore complète portative de la France, de la Suisse et de la Belgique". Libraire Générale de L'Enseignement. Paris.
- BOSI, G. et RICCIARDELLI D'ALBORE, G.C. 1975. "La détermination quantitative des acides aminés dans certains pollens butines par l'abeille mellifère". *XXV Congreso Internacional de Apicultura*, 493-498. Grenoble. Citado por Serra y col. (1985).
- BROOKS, J. and SHAW, G. 1968a. "The post-tetrad ontogeny of the pollen wall and the chemical structure of the sporopollenin in *Lilium Henryi*". *Grana* 8, 227-234. Citado por Saenz (1978).

- BROOKS, J. and SHAW, G. 1968b. "Chemical structure of the exine of pollen walls and a new function for carotenoids in nature". *Nature* 219, 522-623. Citado por Saenz (1978).
- CALVINO, E.G.M. 1952. *Nuovo Gior. Botan. Ital.* 59 (1). Citado por Stanley y Linskens (1974).
- CANCELA, R.A. 1986. "Estudio de problemas notables en análisis cluster". *Tesis Doctoral en Matemáticas*. Universidad de Santiago de Compostela.
- CAVANILLES. Citado por Saenz (1978).
- CEGARRA, G y SANCHEZ, E. 1983. "La industrialización del polen". *I Congreso Nacional de Apicultura*. San Fernando de Henares. Madrid.
- CERRI, R., CORDELLA, G., DE SIMONE, F. e SENATORE, F. 1981. "Acidi Grassi e Steroli nei Pollini di Castanea sativa, Cedrus silani e Cucurbita pepo". *Rendiconto dell'accademia delle Scienze Fisiche e Matematiche XLVII*.
- CERRI, R., DE SIMONE, F., SENATORE, F. and ZOLLO, F. 1979. "Fatty acids, long chain, sterols from pollens of three species of Pinus". *Societa Nazionale di Scienze, Lettere e Arti in Napoli. Rendiconto Dell'Accademia delle Scienze Fisiche e Matematiche XLV (IV)*. Anno CXVII.
- CHAUVIN, R. 1959. "La valeur dietetique el therapeutique des produits de la rouche. Les Pollens". *Produits pharmaceutiques* 14 (16).
- CHING, T.M. and CHING, K.K. 1962. *Science* 138 (890), 147-149. Citado por Stanley y Linskens (1974).
- CHRISTIE, W.W. 1986. "Separation of lipid classes by high-performance liquid chromatography whit the mass detector". *Journal of Chromatography* 361, 396-399.
- CLARK, A.J. and BLOCH, K. 1959. *J. Biol. Chem.* 234, 2578. Citado por Barbier y col. (1960).

- COBO, A. 1980. "El polen: Recogida, manejo y aplicaciones". *Hojas divulgadoras del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación* 8/80. HD. Madrid.
- COBO, A. 1984. "El Polen: problemática y perspectivas". *El Campo del Banco de Bilbao*. Apicultura. Enero-Marzo, 93. Bilbao.
- CODIGO ALIMENTARIO ESPAÑOL. 1967. Boletín Oficial del Estado. 1^{era} ed. Madrid.
- CUMMINGS, M.M. et HUDGINS, P.C. 1958. "Chemical constituents of pine pollen and their possible relationship to sarcoidosis". *American Journal Medical Science* 236, 311-317. Citado por Battaglini y Bosi (1965).
- DENIS, L.J. 1966. *Acta Urol. Belg.* 34, 49. Citado por Stanley y Linskens (1974).
- DEVYS, M. and BARBIER, M. 1965. "Cholesterol as the main sterol in the Pollen of *Hypochoeris radicata*". *Compt. Rend.* 261 (22) (Groupe 13), 4901-4903. *Chem. Abst.* 1966. 64:10084g.
- DEVYS, M. and BARBIER, M. 1967. "Isolation of Pollinastanol and a series of - sterols from pollens from two compositae species". *Bulletin de la Societé de Chimie Biologique* 49 (7), 865-871. *Chem. Abst.* 1967. 67: 105316u.
- DUPRE, M. 1979. "Breve Manual de Análisis Polínico". *Instituto Juan Sebastian Elcano. CSIC. Departamento de Geografía. Universidad de Valencia.*
- DUSTMANN, J.H. et GUNST, E. 1981. "Les inhibines et l'action bacteriostatique du pain d'abeille". *XXVIII Congreso Internacional de Apicultura*. Acapulco.
- ERDTMAN, G. 1952. "Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms" Almquist & Winksel, L. Estocolmo.
- ERDTMAN, G. 1960. "The Analysis Method" *Svensk. Bot. Tidsks* 54, 561-564.
- ERDTMAN, G. 1969. *Handbook of Palynology*. Scandinavian University Books. Munksgaard. Copenhagen.

- FAEGRI, K. 1956. "Recent trends in Palynology". *Bot. Rev.* **22**, 639-644.
- FAEGRI, K. and IVERSEN, J. 1966 "Textbook of Pollen Analysis". *Scandinavian University Books*. Munsksgaard. Copenhagen.
- FARAG, R.S., AHMED, A.I., RASHAD, S.E. and EWIES, M.A.. 1980. "Unsaponifiable matter of six pollens collected by honeybees in Egypt". *Journal of Apicultural Research* **19** (4), 248-254. *Chem. Abst.* 1981. **94**: 188637f.
- FARAG, R.S., YOUSSEF, A.H., EWIES, M.A. and HALLABO, S.A.S. 1978. "Long chain fatty acids of six pollens collected by honeybees in Egypt". *Journal of Apicultural Research* **17** (2), 100-104. *Chem. Abst.* **89**, 193865e.
- FEDELI, E. e MARIANI, C. 1974. "Complexit  della frazione sterolica e triterpenica degli oli vegetali. Nota III". *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* **LI**.
- FENNEMA, O. R. 1982. "Introducción a la ciencia de los alimentos" Tomo III. Ed. Reverté. Barcelona.
- FOOD and NUTRITION BOARD. 1964. "Recommended dietary allowances". 7^a ed. National Academy of Sciences. National Research Council. Washington.
- FRICKE, H.S.G. and OEHLenschL GER, J. 1982. "Separation of lipids from Antarctic Krill (*Euphausia Superba* Dana) by isocratic high-performance liquid chromatography on silica using flow-program". *Journal of Chromatography* **252**, 331-334.
- GOMEZ, C. 1984. "Origen botánico del polen comercializado en España". *II Congreso Nacional de Apicultura*. Gijón. Fundación Principado de Asturias. Instituto de Investigación y Desarrollo de la Apicultura.
- GOSS, J.A. 1968. *Botan. Rev.* **34**, 333. Citado por Stanley y Linskens (1974).
- GOZALBEZ, F. 1984. "El Polen Apícola Español: Composición botánica y características fisicoquímicas". *El Campo del Banco de Bilbao. Apicultura*. Enero-Marzo, **93**. Bilbao.

- GRAILLE, J., FRATER, C. and PIOCH, D. 1983. "HPLC analysis of glicerides in lipolysis and alcoholysis reaction". *Fat Science* 16th ISF Congress. Budapest, 79-90.

- GREENSPAN, M.D. and SCHROEDER, E.A. 1982. "Separation and detecton of neutral lipids and free fatty acids in a liver extract by high-performance liquid chromatography". *Analytical Biochemistry* 127, 441-448.

- GUNASEKARAN, M. and ANDERSEN, W.R. 1973. Personal communication. Citado por Stanley y Linskens (1974).

- HAMILTON, F.G. and CONAI, K. 1984. "Separation of neutral lipids and free fatty acids by high-performance liquid chromatography using low wavelenght ultraviolet detection". *Journal of Lipids Research* 25, 1142-1148.

HELANDER, E. 1960. *Grana Palynol.* 2 (2), 165. Citado por Stanley y Linskens (1974).

- HEROLD, E. 1970. "Heilwert aus dem Bienevolk Ehrenwirth". Verlag-München, Band G. Citado por Solberg y Remedios (1980).

- HOEBERICHTS, J.A. and LINSKENS, H.F. 1968. "Lipids in ungerminated Pollen of Petunia". *Acta Bot. Neer.* 17 (6), 433-436. *Chem. Abst.* 1969. 70: 65115f.

- HOPKINS, C.Y., JEVANS, A. W. and BOCH, R. 1966. "Occurrence of octadeca-trans-2 cis-9 cis-12-trienoico acid in pollen attractive to honey bee". *Canadian J. Biochem.* 47 (4), 433-436.

- HÜGEL, M.F. 1962. "Étude de quelques constituants du pollen". *Ann. de L'Abeille* 5, 97.

- HÜGEL, M.F., VETTER, W., AUDIER, H., BARBIER, M. et LEDERER, E. 1964. "Analyse des sterols du pollen par spectrometrie de masse". *Phytochemistry* 3, 7-16.

- HUIDOBRO, J.F. 1983. "La miel. Algunos parámetros de interés en su control de calidad". *Tesis Doctoral en Farmacia*. Santiago de Compostela.

- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1984a. "Mieles de Galicia". *I Congreso Nacional de Apicultura*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1984b. "Determinación del color y la turbidez en las mieles". *Anales de Bromatología XXXVI* (2), 225-245.
- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1984c. "Contribución a la determinación de azúcares en la miel". *Anales de Bromatología XXXVI* (2), 247-264.
- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1984d. "Parámetros de calidad de la miel: Cenizas". *Offarm 3* (10). Barcelona.
- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1984e. "Parámetros de calidad de la miel: Índice de diastasas". *Offarm 3* (11). Barcelona.
- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1984f. "Parámetros de calidad de la miel: Hidroximetilfurfural". *Offarm 3* (12). Barcelona.
- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1984g. "Parámetros discriminantes del origen de la miel". *II Congreso Nacional de Apicultura*. Fundación Principado de Asturias. Gijón.
- HUIDOBRO, J.F. y SIMAL, J. 1985. "Parámetros de calidad de la miel: Comentario a los resultados encontrados en muestras comerciales". *Offarm 4* (2). Barcelona.
- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. y COUSO, I. 1986. "Determinación en la miel de prolina y sólidos insolubles en agua". *Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia*. Universidad de Santiago.
- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. y GARCIA, M. 1987. "Color y extracto graso en el polen apícola". *Tesina de Licenciatura. Área de Nutrición y Bromatología*. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Santiago de Compostela. (Pendiente de publicación).
- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. y MUNIATEGUI, S. 1986a. "Polen apícola: Determinación del contenido en agua y glúcidos (Azúcares reductores, glucosa, fructosa, maltosa "aparente", sacarosa "aparente" y polisacáridos)". Resumen 26-010-o. *XXI Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Química*. Septiembre. Santiago de Compostela.

- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. y MUNIATEGUI, S. 1986b. " El polen: Determinación del contenido en agua". *Offarm* 5 (3), 73-77.
- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. y MUNIATEGUI, S. 1987. "El polen apícola: Determinación del contenido en glúcidos". *Offarm* 6 (5), 57-71.
- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J., MUNIATEGUI, S. y PEREZ, S. 1988. "Algunos parámetros fisicoquímicos en el estudio de la grasa del polen apícola". *Tesina de Licenciatura. Area de Nutrición y Bromatología*. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Santiago de Compostela. (Pendiente de publicación).
- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. y SANCHO, M.T. 1986. "Determinación de componentes nitrogenados en el polen apícola. I.- Proteína bruta. II.- Prolina, ácido glutámico y su relación ". *Tesina de Licenciatura. Area de Nutrición y Bromatología*. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Santiago de Compostela.
- HUIDOBRO, J.F., SIMAL, J. y TERRADILLOS, L.A. 1984. "Comprobación de mieles monoflorales comerciales". *II Congreso Nacional de Apicultura*. Fundación Principado de Asturias. Gijón.
- HYDE, H.A. 1944. "Pollen analysis and the museums". *Museums Journal* 44, 145-149. London.
- HYDE, H.A. and ADAMS, K.F. 1958. *An Atlas of Airborne Pollen Grains*. Ed. Mac Millan and col. Ltd. London.
- IDIEN'OPUTE, F. 1975. "Lipid and sterol composition of the pollen of west african oilpal, *Elaeis guineensis*". *Phytochemistry* 14 (4), 1023-1026. *Chem. Abst.* 1975. 83: 55696a.
- ITOH, T., TAMURA, T. and MATSUMOTO, T. 1973. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 50, 122. Citado por Tiscorna y Bertini (1974).
- IVANOV, Z., ENCHEVA, D. and K'OSEV, H. 1985. "A study on Pollen and Royal Jeil lipid composition using thin layer chromatography". *Zhinotnovud Nauki (Animal Science)* 22 (10), 69-73.
- IZCO, J. y SAENZ, C. 1976 a y b. Los pólenes. Dept. de Alergia. Abelló. Madrid.

- JACOBSEN, T. and GUNDERSON, R.W. 1986. "Applied cluster analysis". Statistical procedures in food research, 361-408. Edited by J.R. Piggott. El Servier Applied Science Publishers LTD. England.
- KLEINSCMIDT, G.J. y KONDOS, A.C. 1971. "El efecto de las proteínas del alimento en la productividad de la colmena." *XXVI Congress Int. de Apimondia*. Australia. Citado por Serra y col. (1985).
- KNIGHTS, B.A. 1965. *Phytochemistry* 4, 857.
- KNIGHTS, B.A. 1968. "Cruciferae: Sterols in pollen of *Brassica napus*". *Phytochemistry* 7 (9), 1707-1708. *Chem. Abst.* 1968. 69: 84110w.
- KOESSLER, J.H. 1918. *J. Biol. Chem.* 35, 415. Citado por Stanley y Linskens (1974).
- KREMP, G.O. 1968. "Morphologic Encyclopedia of Palynology. An international collection of definitions and illustrations of spores and pollen". The University of Arizona Press. Tucson.
- KVANTA, E. 1968. "Sterols in Pollen". *Acta Chem. Scand.* 22 (7), 2161-2165. *Chem. Abst.* 1969. 70: 26342h.
- KWIATKOWSKI, A. 1964. *Acta Soc. Botan. Polon.* 33, 547. Citado por Stanley y Linskens (1974).
- LAPIN, B.P., PISEVA, N.A., RUBTSOVA, T.E. and IAKEVICH, M.L. 1986. "Separation of lipophilic fractions by high-performance liquid chromatography". *Journal of chromatography* 365, 229-235.
- LERCKER, G., CONTE, L.S., CAPELLA, P. e FREGA, N. 1983. "La composizione dell'olio di malva (*Abution avicennae*, Gaertn.)". *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* LX. Dicembre.
- LINNE. Citado por Saenz (1978).
- LOPER, G.M., STANDIFER, L.N., THOMPSON, M.J. and GILLIAM, M. 1980. "Biochemistry and microbiology of bee-collected almond (*Prunus dulcis*) pollen and bee bread. I.- Fatty acids, sterols, vitamins and minerals". *Apidologie* 11 (1), 63-73.

- LOPEZ, M.J., SIMAL, J. y VARELA, M. 1987. "Contribución a la determinación de carotenoides en piensos mediante espectroscopía visible". *Técnicas de Laboratorio XI* (139), 429-434.
- LOTTI, G. e ANNELLI, G. 1970. "Indagini sui grassi estratti dai pollini". *Agrochimica. Rivista Internazionale di Chimica Vegetale, Pedologia e Fertilizzazione del suolo XIV* (2-3), 148-156.
- LOUVEAUX, J. 1970. "Atlas photographique d'analyse pollinique des miels". *Annex microphotographiques aux méthodes officielles d'analyse III*. Service de la repression des fraudes et du controle de la qualité.
- LOUVEAUX, J., MAURIZIO, A. and VORWOLHL, G. 1970. "Internationales Kommission für Bienen Botanik der I.U.B.S. Methodik der Melissopalynologie". *Apidologia* 1 (2), 193-209.
- LOUVEAUX, J., MAURIZIO, A. and VORWOHL, G. 1978. "Methods of Melissopalynology". *Bee World* 59 (4), 139-157.
- LUKOSCHUS and KEULARTS. 1968. Citados por Loper y col. (1980).
- LUNDEN, R. 1954. "A short Introduction to the Literature on Pollen Chemistry". *Svensk. Kem. Tidskr.* 66 (7), 201-213.
- MATSUYAMA, J., ISHIKAWA, M. and TOMODA, G. 1973. "Lipids in Royal Jelly. II.- Sterols in Royal Jelly, Worker jelly, Worker larvae and Pollen". *Tamagawa Daigaku Nogakubu Kenkyu Hokoku* 13, 46-53. *Chem. Abst.* 1975. 82: 70417h.
- MAURIZIO, A. 1953. *Beich. Schweiz Bienenz* 20 (486), 95-96. Citado por Serra y col. (1985).
- MAURIZIO, A. und GRAFL, I. 1969. "Das Trachpflarenbuch e hrenwirth". Verlag München. Citado por Serra y col. (1985).
- MCGREGOR, S.E. 1979. "La apicultura en los Estados Unidos". 1ª ed. Ed. Limusa. México.
- MIYAKE, S. 1922. "Chemical studies of corn pollen. 4.- Isolation of Phytosterol and Inosite". *J. Biochem. Tokyo* 2 (1), 27-32. Citado por Standifer (1966) y Stanley y Linskens (1974).

- MOORE, P.D. and WEBB, J.A. 1983. "An Illustrated guide to pollen analysis". Hodder and Stoughton Educational. Hong Kong.
- MUNIATEGUI, S., SIMAL, J. y HUIDOBRO, J.F. 1988. "Estudio de la fracción esterólica del polen apícola". *Grasas y Aceites*. (Aceptada su publicación).
- MUNIATEGUI, S., SIMAL, J., HUIDOBRO, J.F. y GARCIA, M. 1988. "Estudio de los ácidos grasos del polen apícola". *Grasas y aceites*. (Aceptada su publicación).
- NILSSON, M., RYHAGE, R and VON SYDOW, E. 1957. "Constituents of pollen. II.- Long-chain Hydrocarbons and alcohols". *Acta Chemica Scandinavica* 11, 634-639.
- OHMOTO, T. NIKAIDO, T. and IKUSE, M. 1972. "Constituents of pollen. 1.- Constituents of *Quercus acutissima*". *Shoyakugaku zasshi* 26 (1), 36-40. *Chem. Abst.* 1973. 78: 1995a.
- OHMOTO, T., NIKAIDO, T. and IKUSE, M. 1974a. "Studies on the constituents of pollen. II.- Constituents of pollen grains of *Ambrosia elatior* L." *Yakugaku zasshi* 94 (3), 362-366.
- OHMOTO, T., NIKAIDO, T. and IKUSE, M. 1974b. "Studies on constituents of pollen. III.- Constituents of pollen grains of *Alnus japonica* Steud." *Yakugaku Zasshi* 94 (3), 367-370.
- OHMOTO, T., UDAGAWA, M. and YAMAGUCHI, K. 1986. "Constituents of pollen. XII.- Constituents of pollen grains of *Helianthus annuus* L." *Shoyakugaku zasshi* 40 (2), 172-176.
- PARK, O.W. 1928. *Bull. Agric. Exp. Stat. Iowa*, 108-184. Citado por Serra y col. (1985).
- PARKER, R.L. 1926. *Men. cornell Univ. Agric. Exp. Stat.*, 98, 7, 89, 95, 100, 102, 108. Citado por Serra y col. (1985).
- PERCIVAL, M. 1955. "The presentation of pollen in certain angiosperms and its collection by *Apis mellifera*". *The New Phyt.* 54 (3), 353-368. Citado por Serra y col. (1985).

- PEREZ, F., GOMEZ, A. y MOLINS, J.L. 1987. "Origen floral y coloración de las pelotas del polen". *Vida apícola* 25, 33-45.
- PERIS, J. 1984. "Producción y comercio de los productos apícolas en España". El Campo del Banco de Bilbao. Apicultura. Enero-Marzo, nº 93. Bilbao.
- PLA DALMAU, J.M. 1961. "Polen. Estructura y características de los granos de polen.-Precisiones morfológicas sobre el polen de especies recolectadas en el N.E. de España.- Polinización y aeropalinología. Ilustraciones (esquemas y microfotografías) del autor". Talleres Gráficos D.C.P. Gerona.
- RICHERT, M.T. 1971. "Lipids of oil palm pollen". *Oleagineux*, 26 (4), 261-262. *Chem. Abst.* 1971. 75: 95350z.
- RITCHIE, J. and JEE, F. 1985. "High-performance liquid chromatographic techniques for the separation of lipids classes". *Journal of chromatography* 329, 273-280.
- ROBINSON, F.A. and NATION, J.L. 1970. "Long chain fatty acids in honeybees in relation to sex, caste, and food during development". *Journal of Apicultural Research* 9 (3), 121-127.
- ROOT, A.I. 1976. ABC y XYZ de la Apicultura. 10ª ed. Ed. Librería Hachette, S.A. Buenos Aires.
- SAENZ, C. 1978. Polen y esporas (Introducción a la Palinología y Vocabulario Palinológico). 1ª ed. H. Blume Ediciones. Madrid.
- SASSEN, M.M.A. 1964. In Linskens H.F. (Ed) Pollen psysiology and fertilizacion, 167. Citado por Stanley y Linskens (1971).
- SERRA, J., GOMEZ, A. y GONELL, J. 1985. "Caracterización del polen de abejas. Estudio de sus factores de composición (humedad, aminoácidos, proteínas, espectro de azúcares, grasas, fibra bruta, elementos minerales, origen botánico, test organoléptico) y de su conservación". Departament d'Agricultura Ganaderia i Pesca. Generalitat de Catalunya.
- SIMAL, J. y HUIDOBRO, J.F. 1984. "Parámetros de calidad en la miel: Acidez e índice de formol". *Offarm* 3 (9). Barcelona.

- SIMAL, J. y HUIDOBRO, J.F. 1985. "Parámetros de calidad en la miel: Azúcares". *Offarm* 4 (1). Barcelona.
- SIMAL, J., HUIDOBRO, J.F. y ARAQUISTAIN, J.L. 1983a. "Parámetros de calidad en la miel: Determinación del contenido en agua". *Offarm* 2 (7/8). Barcelona.
- SIMAL, J., HUIDOBRO, J.F. y ARAQUISTAIN, J.L. 1983b. "Parámetros de calidad de la miel: Determinación de la intensidad de color". *Offarm* 2 (9). Barcelona.
- SOLBERG, Y and REMEDIOS, G. 1980. "Chemical composition of pure and bee collected pollen". *Scientific report of the Agricultural University of Norway* 59 (18).
- SOSA, A. et SOSA-BOURDOUIL, C. 1952. "Etudes de quelques constituants chimiques du pollen de *Corylus avellana* L.". *C. R. Acad. Sci.* 235, 971-973.
- SOSA-BOURDOUIL, C. 1943. "Composition of espores and pollens with respect to their phosphorus content". *Compt. Rend.* 217, 617. *Chem. Abst.* 1947, 41, 172c.
- SOSA-BOURDOUIL, C. et SOSA, A. 1954. "Recherches sur la composition du pollen de *Corylus avellana*". *Bull. Soc.Chem. Biol.* 36, 393-404. Citado por Barbier (1971) y Battaglini (1970).
- SPERRY, W.M. and WEBB, M. 1950. "A revision of the Schvenheimer-Sperry method for cholesterol determination". *J. Biol. Chemistry* 187, 97-106. Citado por Standifer (1966).
- STANDIFER, L.N. 1966. "Some lipids constituents of pollens collected by Honeybees". *Journal Apicultural Research* 5 (2), 93-98.
- STANDIFER, L.N., DEVYS, M. and BARBIER, M. 1968. "Pollen sterols. A Mass Spectrographic Survey". *Phytochemistry* 7, 1361-1365.
- STANLEY, R.G. and LINSKENS, H.F. 1974. "Pollen: Biology Biochemistry Management". Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York.

- SVOBODA, J.A., HERBERT, E.W.Jr., LUSBY, W.R. and THOMPSON, M.J. 1983. "Comparation of sterols of Pollens, honeybee workers and prepupae from field sites". *Archives of Insect Biochemistry Physiology* 21 (1), 25-31.
- SYNGE, A.D. 1947. *J. Animal Ecol.* 16 (122), 95. Citado por Serra y col. (1985).
- TERRADILLOS, L.A. 1984. "Contribución a la identificación de mieles monoflorales comerciales. I. Algunos parámetros fisicoquímicos. II. Estudio microscópico del sedimento". *Tesina de Licenciatura en Farmacia*. Universidad de Santiago de Compostela.
- TERRADILLOS, L.A. 1988. "Estudio microscópico del sedimento de la miel y su aplicación en la caracterización de la miel de Galicia". *Tesis Doctoral en Farmacia*. Universidad de Santiago de Compostela.
- TERRADILLOS, L.A., SIMAL, J. y HUIDOBRO, J.F. 1986a. "Nueva técnica de tinción para el análisis polínico". *III Congreso Nacional de Apicultura*. Guadalajara. (En prensa).
- TERRADILLOS, L.A., SIMAL, J. y HUIDOBRO, J.F. 1986b. "Micrografía de impurezas morfológicas en la miel". *I Congreso Nacional de Farmacéuticos en la Alimentación*. La Coruña.
- TISCORNA, E. e BERTINI, G.C. 1974. "Ulteriori indagini sulla composizione della frazione sterolica dell'oleo europeo, del *Carthamus tinctorius* e dell'*Helianthus annuus*". *La Rivista Italiana delle Sostanze grasse* LI. Febrero.
- TODD, F.E. and BRETHERICK, O. 1942. "The composition of pollen". *Journal of Economic Entomology*. 35 (3). *Chem. Abst.* 36: 6198c.
- TONKOVIC, M. and HADZIJA, O. 1979. "Analysis of basic Pollen Components". *Prehrambeno-Tehnoloska revija* 17 (2), 79-80.
- TORRAS, M.L. 1982. "Aplicación del análisis polínico a la datación de paleosuelos en Galicia". *Tesis Doctoral de la Facultad de Biología*. Universidad de Santiago de Compostela.

- UNA NORMA ESPAÑOLA, UNE 34.082.76. Determinación de la grasa total. Instituto de Racionalización del Trabajo.
- UNA NORMA ESPAÑOLA, UNE 55-011. Instituto de Racionalización del trabajo.
- UNA NORMA ESPAÑOLA, UNE 55-012. Instituto de Racionalización del trabajo.
- UNA NORMA ESPAÑOLA, UNE 55-013. Instituto de Racionalización del trabajo.
- UNA NORMA ESPAÑOLA, UNE 55-015. Instituto de Racionalización del trabajo.
- UNA NORMA ESPAÑOLA, UNE 55.019. Instituto de Racionalización del trabajo.
- VILLAR, J. SIMAL, J. y VILA, J. 1986. "La cromatografía de desarrollo múltiple unidimensional". *Técnicas de Laboratorio X* (128), 99-107.
- VON PLANTA, A. 1885. "Ueber die Chemische Zusammensetzung des Blüthensraubes der gemeinen Kiefer (*Pinus silvestris*)". *Landwirt. Vers. Stn.* 32, 215-230. Citado por Barbier (1971) y Standifer (1966).
- WEAVER, N. and KUINEN, K.A. 1951. *J. Econ. Entomol.* 44, 635. Citado por Barbier (1971).
- WILLSTAETTER. 1980. Citado por LOPEZ y col. (1987).
- WODEHOUSE, R.P. 1935. "Pollen grains". Ed. McGraw-Hill. New York.
- WOLFF, J.P. 1980. "Recentes progrès dans l'analyse des stérols". *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* LVII. Abril.
- ZANDER, E. 1950. "Palinología al servicio del estudio de la miel". *Anales de Edafología y Fisiología Vegetal* 9, 195-209.

