



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS**

**TESIS DE GRADO:**  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN  
INDUSTRIAS AGROPECUARIAS

**MODALIDAD:**  
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**TEMA:**  
EVALUACIÓN DE FLAVONOIDES EN PROPÓLEOS PROCEDENTES DE  
DIVERSAS PARROQUIAS DEL CANTÓN CHONE

**AUTORA:**  
LARA MERA MARÍA MONSERRATE

**DIRECTOR DE TESIS:**  
BLGO. MRNO. GERARDO J. CUENCA-NEVÁREZ, MSc.

**CHONE – MANABÍ – ECUADOR**

AGOSTO, 2022

## **DEDICATORIA**

Se lo dedico a mi hija por ser el motivo que me impulso y me impulsa cada día a ser mejor, se lo dedico a mis 2 madres y a mi padre por ser un pilar importante y por demostrar siempre su amor para conmigo, a mi tía Isabel a quien quiero como una madre más, por compartir momentos significativos conmigo, a mi hermano y mis tías, pero sobre todo se la dedico al ángel más hermoso que, aunque no esté físicamente a mi lado vive siempre en mi corazón.

***María Monserrate Lara***

## **AGRADECIMIENTO**

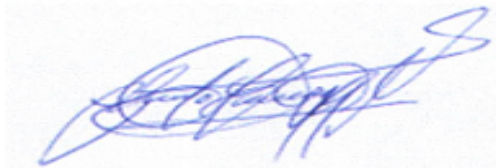
Agradezco principalmente a Dios por permitirme ser fuerte y llegar a este punto de mi vida, agradezco a la Universidad Técnica de Manabí por haberme aceptado ser parte de ella, agradezco a cada uno de los docentes que brindan sus conocimientos, agradezco también a mi tutor de tesis el Biólogo Gerardo Cuenca por haberme dado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científicos así como también haberme tenido toda la paciencia, y sobre todo a mi familia por estar siempre apoyándome.

*María Monserrate Lara*

## CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Blgo. Mrno. Gerardo Cuenca-Nevárez, MSc. catedrático de la Facultad de Ciencias Zootécnicas, extensión Chone de la Universidad Técnica de Manabí CERTIFICO, que el presente trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE FLAVONOIDES EN PROPÓLEOS PROCEDENTES DE DIVERSAS PARROQUIAS DEL CANTÓN CHONE”**, ha sido realizada por la egresada: Lara Mera María Monserrate; bajo la dirección del suscrito habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Chone, agosto, 2022



---

Blgo. Mrno. Gerardo J. Cuenca-Nevárez, MSc.  
**DIRECTOR DE TESIS**

# CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE REVISIÓN Y EVALUACIÓN

## TESIS DE GRADO

Sometida a consideración del Tribunal de Revisión y Evaluación designado por: el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Zootécnicas, extensión Chone de la Universidad Técnica de Manabí, como requisito previo a la obtención del título de:

## INGENIERO EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS

### TEMA:

**“EVALUACIÓN DE FLAVONOIDES EN PROPÓLEOS PROCEDENTES DE  
DIVERSAS PARROQUIAS DEL CANTÓN CHONE”**

### REVISADA Y APROBADA POR:

Dr. Mario Bonilla Loor  
**REVISOR DE TESIS**

\_\_\_\_\_

Ing. -----

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

Ing. -----

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

Ing. -----

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

## **DECLARACIÓN SOBRE LOS DERECHOS DE LOS AUTORES**

LARA MERA MARÍA MONSERRATE, declara bajo juramento que el presente proyecto de investigación es absolutamente original y de mi autoría, siendo el más fiel reflejo de los conocimientos adquiridos en mi formación académica superior, me permito manifestar que las referencias bibliográficas han sido consultadas y son de mi absoluta responsabilidad.

---

**LARA MERA MARÍA MONSERRATE**

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	II
AGRADECIMIENTO .....	III
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS .....	IV
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE REVISIÓN Y EVALUACIÓN .....	V
DECLARACIÓN SOBRE LOS DERECHOS DE LOS AUTORES .....	VI
ÍNDICE .....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
RESUMEN .....	XI
ABSTRACT.....	XII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del Problema.....	3
2. JUSTIFICACIÓN .....	5
3. OBJETIVOS.....	6
3.1 Objetivo General .....	6
3.2 Objetivos Específicos.....	6
4. HIPÓTESIS.....	6
5. MARCO REFERENCIAL.....	6
5.1. EL PROPÓLEO.....	6
5.2. ORIGEN GEOGRÁFICO DEL PROPÓLEO .....	9
5.3. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL PROPÓLEO.....	9
5.4. PRODUCCIÓN DEL PROPÓLEO.....	10
5.5. POTENCIAL TERAPÉUTICO DEL PROPÓLEO.....	11

5.6. LOS FENOLES .....	12
5.7. LOS FLAVONOIDES .....	13
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
6.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	15
6.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO .....	16
6.2.1. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LOS PROPÓLEOS.....	18
6.2.2. ANÁLISIS DE LOS FENOLES TOTALES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO .....	20
6.2.3. ANÁLISIS DE LOS FLAVONOIDES TOTALES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO.....	21
6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	21
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	21
7.1. ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO .....	21
7.2. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LOS PROPÓLEOS.....	23
7.3. ANÁLISIS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	28
7.4. ANÁLISIS DE LOS FLAVONOIDES TOTALES .....	30
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	32
8.1. CONCLUSIONES .....	32
8.2. RECOMENDACIONES.....	33
9. BIBLIOGRAFÍA.....	33



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición de los propóleos .....	10
<b>Tabla 2.</b> Aspecto de los propóleos provenientes de los sitios muestreados. ....	15
<b>Tabla 3.</b> Características físicas de los propóleos obtenidos en los sitios de muestreo .....	16
<b>Tabla 4.</b> Resultados de los rendimientos de extractos de propóleos secos .....	22
<b>Tabla 5.</b> Concentración de la actividad antioxidante de los propóleos evaluados .....	28
<b>Tabla 6.</b> Contenido de los fenoles totales de los propóleos analizados en el presente estudio. ....	29
<b>Tabla 7.</b> Contenido de los flavonoides de los propóleos analizados en el presente estudio .....	30

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de los flavonoides y flavanonas.....	14
<b>Figura 2.</b> Porcentaje de humedad de los propóleos analizados .....	23
<b>Figura 3.</b> Porcentaje de ceniza de los propóleos analizados.....	24
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de ceras de los propóleos analizados .....	25
<b>Figura 5.</b> Porcentaje de sustancias solubles en EtOH de los propóleos analizados .	26
<b>Figura 6.</b> Porcentaje de Impurezas mecánicas de los propóleos analizados .....	26
<b>Figura 7.</b> Comportamiento del punto de fusión de cada uno de los propóleos analizados.....	27
<b>Figura 8.</b> Biplot de las variables analizadas en esta investigación.....	31

## RESUMEN

Se realizó una evaluación de los flavonoides presentes y una caracterización de las propiedades fisicoquímicas de los propóleos procedentes de las parroquias Convento, Eloy Alfaro, Ricaurte, Santa Rita, Canuto, San Antonio y Boyacá en el cantón Chone; Adicionalmente, se determinó la concentración de fenoles totales y flavonoides, así como la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de propóleos (EEP), mediante la técnica de DPPH. El análisis fisicoquímico de los propóleos mostró valores promedio de 23.18%, 7.96%, 1.39%, 14.93%, 22.06%, 77.94%, y 84.76%, para el rendimiento, humedad, ceniza, ceras, sustancias insolubles en EtOH, impurezas mecánicas y punto de fusión respectivamente. La determinación de los fenoles totales, se encuentra un valor promedio de 56.97mg GAE gEEP<sup>-1</sup>, en lo que respecta a la cantidad de flavonoides tenemos como promedio 47.09mg QE gEEP<sup>-1</sup>. En lo referente a la capacidad antioxidante de los extractos de propóleos tenemos un valor promedio de 950.16umol gEEP<sup>-1</sup>. En general los resultados obtenidos mostraron una gran variabilidad de los datos fisicoquímicos de los propóleos muestreados en las diferentes parroquias, cumpliendo en algunos casos y en otros no con las normativas de control de calidad tanto ecuatoriana como brasilera; es menester, destacar que los EEP analizados presentaron un nivel de concentración media de fenoles totales, los cuales, dan lugar a niveles de actividad antioxidante altos.

**Palabras clave:** actividad antioxidante, análisis fisicoquímico, concentración flavonoides, fenoles totales, propóleos.

## ABSTRACT

An evaluation of the flavonoids presents and a characterization of the physicochemical properties of propolis from the parishes of Convento, Eloy Alfaro, Ricaurte, Santa Rita, Canuto, San Antonio and Boyacá in the canton of Chone was carried out; in addition, the concentration of total phenols and flavonoids was determined, as well as the antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis (EEP), using the DPPH technique. The physicochemical analysis of propolis showed average values of 23.18%, 7.96%, 1.39%, 14.93%, 22.06%, 77.94%, and 84.76%, for yield, moisture, ash, waxes, EtOH-insoluble substances, mechanical impurities, and melting point, respectively. The determination of total phenols, we found an average value of 56.97mg GAE gEEP-1, regarding the number of flavonoids we have an average of 47.09mg QE gEEP-1. Regarding the antioxidant capacity of the propolis extracts we have an average value of 950.16umol gEEP-1. In general, the results obtained showed a great variability of the physicochemical data of the propolis sampled in the different parishes, complying in some cases and in others not complying with the Ecuadorian and Brazilian quality control regulations; it is necessary to emphasize that the EEP analyzed presented an average concentration level of total phenols, which give rise to high levels of antioxidant activity.

**Key words:** antioxidant activity, physicochemical analysis, flavonoid concentration, total phenols, propolis.

## 1. INTRODUCCIÓN

La palabra propóleo tiene su origen a partir del vocablo griego Pro que significa delante de o en la entrada de y Polis que significa comunidad o ciudad (Aminimoghadamfarouj & Nematollahi, 2017). De esta manera, vale mencionar que el propóleo se utilizó desde el 300 a.C. como medicina ancestral (Kuropatnicki, Szliszka, & Krol, 2013). Así mismo, es importante mencionar que existen fuertes indicios de que fueron médicos romanos quienes identificaron las propiedades curativas del propóleo (Machado et al., 2017).

Para obtener el propóleo las abejas obreras lo recolectan a partir de secreciones resinosas de diversas plantas (Ciftci et al., 2017). Es así como el propóleo, es una mezcla de sustancias resinosas que son recolectadas por las abejas a partir del néctar de las flores o de su savia y que son utilizadas por las mismas para proteger la colmena rellenando sus paredes, ayudando a temperar la temperatura durante los días fríos y evitando la entrada de intrusos (Kedzia, 2008). Así mismo, es importante destacar que dependiendo de la planta donde las abejas recolecten la materia prima, puede existir un propóleo con una gran variedad de colores, sabores y olores (Zabaiou et al., 2017).

La composición química del propóleo varía entre si debido a factores tales como los geográficos, así como también el tipo de planta usada para producir estos propóleos (Schnitzler et al., 2010). Debido a esta variación en la composición química de los propóleos estos presentan propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antiparasitarias, antiinflamatorias y antioxidante (de Freitas et al., 2017).

En los países tropicales, como Brasil, existen variedades de propóleos, los mismos que se diferencian entre sí gracias a su origen botánico y es en los climas tropicales, donde

la recolección de propóleo por parte de las abejas se lo realiza todo el año (Bueno-Silva et al., 2017). Por otra parte, existen otros tipos de propóleos, llamados geopropolis, los mismos que provienen de las abejas sin aguijón (*Melipona mondury*, *M. scutellaris*), Este producto es muy parecido tanto en composición como en actividad biológica al propóleo generado por las abejas del género *Apis* (Santos et al., 2017).

De acuerdo con Lefkovits et al en (1997); existen una serie de compuestos dentro de los propóleos, los cuales poseen propiedades antimicrobianas y que se conocen como flavonoides, entre los cuales tenemos la galangina, pinobanskina, pinocembrina, entre otros; los mismos que presentan respuestas de carácter inmunomodulador, antiinflamatorio y antimutagénico. En este orden de cosas, las aplicaciones de los flavonoides radican en que ayudan para contrarrestar las infecciones tanto de tipo bacteriano como fúngico (Lopes-Rocha et al., 2012)

Es menester destacar, que los caracteres morfológicos del propóleo de acuerdo con Galindo et al (2016), pueden variar en función de la diversidad vegetal de la zona, el área geográfica donde se encuentra dicha vegetación y las condiciones ambientales imperantes en dicha zona; así mismo, es necesario hacer notar que el color del propóleo depende de su origen y edad, con un sabor fuerte y un olor aromático propio

La composición química del propóleo es un factor a considerar al momento de determinar su calidad, ya que se presentan variaciones a causa de factores como el ambiente, fuente de exudados, tiempo de recolección y vegetación circundante (Hernandez-Zarate et al., 2018). Así mismo en el campo agrícola se ha realizado una gran cantidad de estudios sobre todo en contaminación microbiológica por *Listeria*

*monocytogenes* en frutas como el melón, por lo que se ha evaluado el efecto antibacterial del propóleo (Vicente & Escobar, 2012).

Actualmente los consumidores de productos alimenticios elaborados buscan alternativas naturales a los preservantes a base de productos sintéticos; por lo que cada día más se utilizan productos derivados de las abejas, como la miel o los propóleos que tienen propiedades antibióticas que se pueden utilizar dentro de una formulación (Buestán & Torres, 2018).

### **1.1. Planteamiento del Problema**

En cuanto a la problemática detectada en el Ecuador existen escasos estudios sobre los propóleos, ya que la actividad apícola, está empezando a tener fuerza, pero mientras tanto los apicultores existentes no tienen conocimientos sólidos sobre la miel de abeja y sus derivados, es por esto que se determina que es importante conocer la génesis del propóleo, la misma que está determinada por la flora existente de la región geográfica, la época del año, el método de recolección y la especie de abeja que produce este producto (Buestán & Torres, 2018).

El propóleo contiene una amplia variedad de compuestos químicos; se han identificado más de 300 (Bueno-Silva et al., 2017), tales como polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos, alcoholes y cetonas fenólicas), terpenoides, esteroides, aminoácidos, y compuestos inorgánicos (De Figueiredo et al., 2015). Sin embargo, la composición de este producto de la colmena es altamente variable y dependiente de la flora local en el sitio de recolección (Chaillou & Nazareno, 2009).

Así, algunos estudios han demostrado que los propóleos de regiones templadas (Europa, Norte América, Oeste de Asia) poseen como principales constituyentes

compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos cinámicos, y derivados), los cuales son colectados a partir de los exudados de diferentes brotes de álamo (*Populus spp.*), abedul (*Betula alba*), castaño de Indias (*Aesculus hippocastanum*) y otros árboles. No obstante, en las regiones tropicales dónde está ausente esta vegetación, las abejas visitan otras plantas como fuente para la producción de propóleos, lo que conduce a diferencias en la composición química (Huang et al., 2014).

En Brasil, por ejemplo, se han encontrado como constituyentes principales de este producto apícola, terpenoides y derivados prenilados de ácidos p-cumáricos (Marcucci, 1995), mientras que en Chile se encontraron predominantemente lignanos (Kuropatnicki, Szliszka, & Krol, 2013), y en Venezuela, Brasil y Cuba se hallaron benzofenonas preniladas (Libério et al., 2009)

Hoy en día, es un tanto difícil determinar la calidad de los productos a base de propóleo que se expenden tanto a nivel de medicina natural como para conservantes alimentarios por lo que el saber del origen geográfico y de los factores antropogénicos que están alrededor de los sitios de extracción de los propóleos es determinante a la hora de declarar su calidad bioquímica y poder establecer criterios de uso (Galindo, Suárez, & Guerrero, 2016). En Ecuador se desaprovecha por desconocimiento el potencial que tienen los propóleos como inhibidores de la proliferación de bacterias y hongos; ya que estas características varían de acuerdo al contenido de flavonoides y que estos se hallan ligados al clima, el ecosistema circundante, la flora de procedencia. Por lo tanto, se plantea si:

¿La evaluación de flavonoides en propóleos procedentes de las parroquias del cantón chone ayudará a determinar la calidad de los propóleos?



## 2. JUSTIFICACIÓN

Los productos provenientes de las abejas, principalmente los propóleos, que son sustancias resinosas y aromáticas de origen vegetal utilizadas por las abejas en la construcción de sus colmenas para protegerlas del viento y del ingreso de organismos extraños a sus colmenas, actualmente están siendo utilizados en la industria cosmética y farmacéutica por las diferentes propiedades biológicas que presentan, entre ellas las actividades microbiológicas.

En el Ecuador se han realizado muy pocos estudios o casi nulos sobre la composición química y actividad antifúngica de los propóleos, por lo que no se está aprovechando de manera adecuada los múltiples beneficios que este producto ofrece (Macias y Yunda, 2015). Esta falta de estudios se ha convertido en un factor limitante para usar los propóleos como un ingrediente de origen natural dentro de una formulación alimenticia que evite la contaminación con hongos y levaduras (Yoong, 2004)

Es importante manifestar, que el propóleo debe de cumplir con ciertas exigencias al momento de ser considerado como un producto de calidad dentro de la elaboración de algún alimento o producto farmacéutico; está debe de pasar por estrictos controles de calidad e inocuidad. Para esto, se hace necesario, que se considere al momento de evaluar la calidad del propóleo la normativa técnica ecuatoriana NTE INEN 2794 (2015).

Es menester, determinar que en base a todo lo expuesto anteriormente en el presente trabajo bibliográfico se plantea como objetivo realizar la cuantificación del contenido de flavonoides mediante cromatografía líquida de alta resolución en propóleos procedentes de las parroquias del cantón Chone; para determinar el cumplimiento de este producto con la normativa establecida y evidenciar en la medida en que la

localización de los apiarios de los alrededores del cantón Chone están relacionados directamente con la contenido de flavonoides de la misma.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Evaluar los flavonoides presentes en propóleos procedentes de diversas parroquias del cantón Chone.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Analizar las características fisicoquímicas de extractos etanólicos de propóleos de acuerdo con su procedencia geográfica, descritos en la normativa técnica NTE INEN2794:2015.
- Determinar el contenido de flavonoides totales de los extractos etanólicos de propóleo mediante espectrofotometría UV-VIS
- Establecer la concentración de fenoles presentes en los extractos etanólicos de propóleo mediante el método de Folin-Ciocalteu.

### **4. HIPÓTESIS**

El contenido de flavonoides y las propiedades fisicoquímicas de los propóleos provenientes de diversas parroquias del cantón Chone varía de acuerdo a la zona geográfica de origen.

### **5. MARCO REFERENCIAL**

#### **5.1. EL PROPÓLEO**

El propóleo naturalmente procede de una mezcla de resinas naturales producidas por las abejas a partir de sustancias obtenidas de secreciones de plantas y ciertos brotes de las mismas (Wagh, 2013). De acuerdo con Zabaïou et al., (2017), determinaron que

los propóleos se usaban para preservar sus cadáveres de la descomposición, por parte de los egipcios. En Inglaterra, por su parte el propóleo fue empleado en el tratamiento de heridas durante el siglo XVII (Kuropatnicki et al., 2013). Es importante destacar, que en la China el propóleo es usado como medicamento coadyuvante en el tratamiento del cáncer y otras infecciones (Chan et al., 2013).

Cabe destacar que el propóleo se perfila como un producto apícola de gran utilidad por sus diversas características antibacterianas, antivirales, anestésicas, antiulcerosas, antifúngicas, entre otras. Es por esto, que en años recientes se ha incrementado su uso tanto en medicina humana naturista como veterinaria; razón por la cual, la industria farmacéutica de cosméticos y también de alimentos hacen uso de esta materia prima para la fabricación de diversos productos (Chaillou & Nazareno, 2009).

De acuerdo con Bankova (2005), define al propóleo como un producto de consistencia resinosa elaborada por las abejas melíferas al momento de mezclar enzimas mandibulares, ceras y polen con resinas naturales recolectadas. Cabe mencionar que, para sellar pequeñas secciones de la colmena, las abejas usan propóleos, así como también para reconstruir panales y bloquear el ingreso a la colmena de otros insectos invasores (Silva-Carvalho, Baltazar & Almeida-Aguiar, 2015).

La síntesis química del propóleo se ve afectada por muchos factores, como el origen geográfico y botánico, el clima y la época de cosecha, y determina su bioactividad (Calegari et al., 2020; Huang et al., 2014; Isla et al., 2009). Típicamente, el propóleo se compone de resina y bálsamo vegetal (50%), cera (30%), polen (5%), aceites esenciales y aromáticos (5%) y varias otras sustancias (5%) (Burdock, 1998), formando

un “chicle pegajoso”. Para el consumo humano, el propóleo se utiliza principalmente en extractos.

Los extractos también se preparan durante los procedimientos de investigación. Dichos extractos generalmente se pueden obtener mediante la aplicación de etanol o metanol (Agra et al., 2006). También se han utilizado otros disolventes orgánicos como el cloroformo o el hexano para la extracción de propóleos (Negri, Salatino & Salatino, 2003), es importante mencionar que, a más de este tipo de solventes, en ciertos casos se ha usado soluciones acuosas (Moura et al., 2011). Muchos factores influyen directamente en la producción química del propóleo, entre estos factores la localidad y el origen botánico, por un lado, así como la temporada de cosecha y el clima determinando por su parte la bioactividad (Calegari et al., 2017).

Existe una mezcla natural en los componentes, es decir, en los metabolitos secundarios presentes en los propóleos, los cuales son responsables directos de las muchas de las bioactividades que van desde antibacterianos hasta antivirales (De Figueiredo et al., 2015), Así mismo, el propóleo está constituido por varios tipos de otros metabolitos vegetales secundarios, cuyas concentraciones son diferente producto de la época del año, la zona geográfica, métodos de recolección, así como la cercanía de una colmena a la flora circundante.

Varios grupos de investigadores documentaron que todos los tipos de propóleos tienen propiedades antibacterianas. Veiga et al (2017); informaron que el propóleo procedente del álamo presenta propiedades antibacterianas contra Gram (+) y Gram (-), incluyendo también al grupo de bacterias llamadas multirresistentes, sobre todo a las bacterias que presentan resistencia a la meticilina. Por otra parte, también existen estudios que han demostrado el amplio espectro de acción de los propóleos contra diversos

microorganismos, tales como levaduras, virus, bacterias y parásitos (Saeed et al., 2016).

## **5.2. ORIGEN GEOGRÁFICO DEL PROPÓLEO**

Los propóleos procedentes del Álamo (*Populus nigra*), presentan los siguientes componentes ésteres de ácido cafeico y alcoholes grasos de cadena larga, incluidos hexadecanol, docecanol y tetradecanol; cabe mencionar que el álamo es un árbol que se encuentra en Estados Unidos, Canadá y Europa (Bankova, 2005). Así mismo, los propóleos procedentes de Rusia son colectados a partir de *Betula verrucosa* y contienen flavonoles y flavonas distintas a las que se encuentran en el propóleo de álamo (Popova et al., 2004).

Mientras que en zonas tropicales se pueden acceder a propóleos ricos en sesquiterpenoides que incluyen germacren d, ledol y espatulenol. Tal es el caso del propóleo de origen brasileño el mismo que contiene artepilina C en gran cantidad, el mismo que es un éster fenetílico del ácido cafeico (Rodríguez et al., 2020).

En lo que se refiere a la industria apícola ecuatoriana, tenemos que la Agencia Ecuatoriana Aseguramiento de la Calidad tiene registros de que esta actividad se halla distribuida en 902 explotaciones apícolas, de las cuales el 63% están ubicadas en la sierra, el 27% en el litoral, y el 4% en la Amazonía. La acción catastral registró 12188 colmenas, las cuales se hallan establecidas con el 46% en colmenas de dos pisos, 27% en colmenas de un piso, y 14% en colmenas de tres pisos.

## **5.3. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL PROPÓLEO**

La composición química del propóleo está estrechamente relacionada con las resinas y bálsamos de fuentes vegetales. utilizado para producirlo. Junto con el progreso de la investigación, más de 300 componentes químicos de se han identificado propóleos. Los

principales grupos de compuestos químicos que se encuentran presentes en propóleos excepto las resinas son ceras, polifenoles (ácidos fenólicos, flavonoides) y terpenoides.

De acuerdo con Pimenta et al., (2015), los polifenoles y terpenoides también se consideran los más activos. El grupo de los flavonoides incluye crisina, pinocembrina, apigenina, galangina, kaempferol, quercetina, tectocrisina, pinostrobin y otros. Entre otros grupos críticos de compuestos del propóleo son los ácidos aromáticos, entre los que se encuentran que ocurren con mayor frecuencia en los ácidos ferúlico, cinámico, cafeico, benzoico, salicílico y p-cumarico (Kedzia & Hołderna 2017). Esta diversidad de la composición química le da al propóleo una ventaja adicional como antibacteriano agente. La combinación de muchos principios activos y su presencia en diversas proporciones previene que se produzca la resistencia bacteriana (Pamplona et al., 2011).

**Tabla 1.** Composición de los propóleos

<b>COMPOSICIÓN</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>
Resinas y bálsamos	50-55
Cera de abejas	30-40
Aceites esenciales o volátiles	5-10
Polen	5
Materiales orgánicos y minerales	5

#### **5.4. PRODUCCIÓN DEL PROPÓLEO**

De acuerdo con Rueda, (2015); el propóleo es proporcionado por las abejas, ya que estas son las encargadas de recorrer largas distancias con la finalidad de encontrar un tipo de vegetación que ellas requieran para producirlo. Es así como el tipo de abeja encargada de este proceso es el grupo de abejas exploradoras, cuya función dentro de la colmena es examinar el lugar para encontrar alimento propicio para que el resto de la colmena sepan dónde recolectar. En sí el mecanismo de extracción del propóleo por

parte de estas abejas, es mediante el uso de sus mandíbulas y con ayuda de sus primeras par de patas.

Por su parte, Nieva-Moreno et al., (2005); determinan que gracias a sus exudaciones salivares proveniente de sus glándulas mandibulares que secretan ácido 10 – hidroxidecenoico es lo que permite que se ablande para que el proceso de trituración sea más sencillo y poderlo transportar hasta la colmena, donde al ingresar ellas se quedan quietas para que otro tipo de abejas las propolizadoras, extraigan las partículas de esta sustancia y en las que se adiciona cera para saturar las celdillas.

Actualmente, en la mayoría del territorio ecuatoriano la apicultura es una actividad que va creciendo sostenidamente, pero es en la región sierra donde esta actividad se enfoca con relevancia, sobre todo en la provincia de Pichincha ya que posee una flora melífera abundante, gracias al clima que posee y que permite el desarrollo de las colmenas (Granda, 2017). La diversidad climática de la provincia de Pichincha se ve determinada por aspectos tales como: la altitud que va desde los 115msnm a los 5790msnm con climas propios de estas altitudes como el tropicla húmedo, semihúmedo y vegetación exuberante con predominio del eucalipto (Altamirano, 2017).

## **5.5. POTENCIAL TERAPÉUTICO DEL PROPÓLEO**

Uno de los componentes que se encuentran en el propóleo, es sin lugar a dudas los flavonoides, los mismos que presentan propiedad supresora ante los virus responsables del herpes tipo 1 y 2, aunque también lo presentó ante el poliovirus; gracias a que reducen la síntesis del ADN viral, tal como lo señala (Noriega, 2014).

Por otra parte, el papel de las flavanonas, radica en el poder cicatrizante y antiinflamatorio gracias al poder regenerativo de la epitelización, el cual acelera la división celular en la curación de heridas, así como coadyuvante en la prevención y detección de procesos inflamatorios que se hayan relacionados con la presencia de ácido cafeico y a la quercetina en algunas variedades de propóleo, donde se comprobó que estas sustancias actuaban a nivel de los macrófagos suprimiendo la producción de prostaglandinas y leucotrienos (Vicente & Escobar, 2012).

## **5.6. LOS FENOLES**

Los compuestos fenólicos están formados por un anillo aromático unido por lo menos a un grupo oxhidrilo. La estructura más sencilla es la del ácido benzoico, pero con otros sustituyentes en el anillo se forman ácidos fenólicos como el cafeico, ferúlico, cumárico y cinámico, comunes en los vegetales y en el propóleo. Dicha composición les proporciona propiedades bactericidas, fungicidas y antivirales (Pant et al., 2022).

La amplitud de compuestos fenólicos en la naturaleza da como resultado propóleo con características físicoquímicas y propiedades variables. Son elementos de interés biológico que se valoran en el propóleo, donde la mayoría de las propiedades son atribuidas a los flavonoides y ácidos fenólicos. Los ácidos fenólicos y flavonoides son capaces de absorber radiación electromagnética del espectro uv-visible en un rango de 250 a 450 nm, lo cual representa una protección natural para el material vegetal contra la radiación solar. Sobre la base de esto, se justifica el efecto protector sobre la piel de productos a base de propóleo (Rodríguez et al., 2012).

Estudios realizados por Popova et al., (2007); Kędzia & Hołderna-Kędzia en (2017), y que son citados por Torres et al., (2018) afirman que los ésteres de ácidos fenólicos



como el caféico, ferúlico (3- metilbut-2-enil cafeato, 3-metilbutil ferulato, respectivamente) y ciertos flavonoides a manera de agliconas (luteolina, pinocembrina) presentan importantes actividades biológicas.

Los compuestos fenólicos presentan un numeroso grupo ampliamente distribuido en la naturaleza. Son componentes importantes en la dieta humana, el consumo promedio de fenoles en los países europeos se estima en 23 mg/día. Existe un interés creciente en los compuestos fenólicos debido a su efecto contra algunas enfermedades como ciertos cánceres y desordenes cardíacos derivados de su poderosa actividad antioxidante (Zhang et al., 2017).

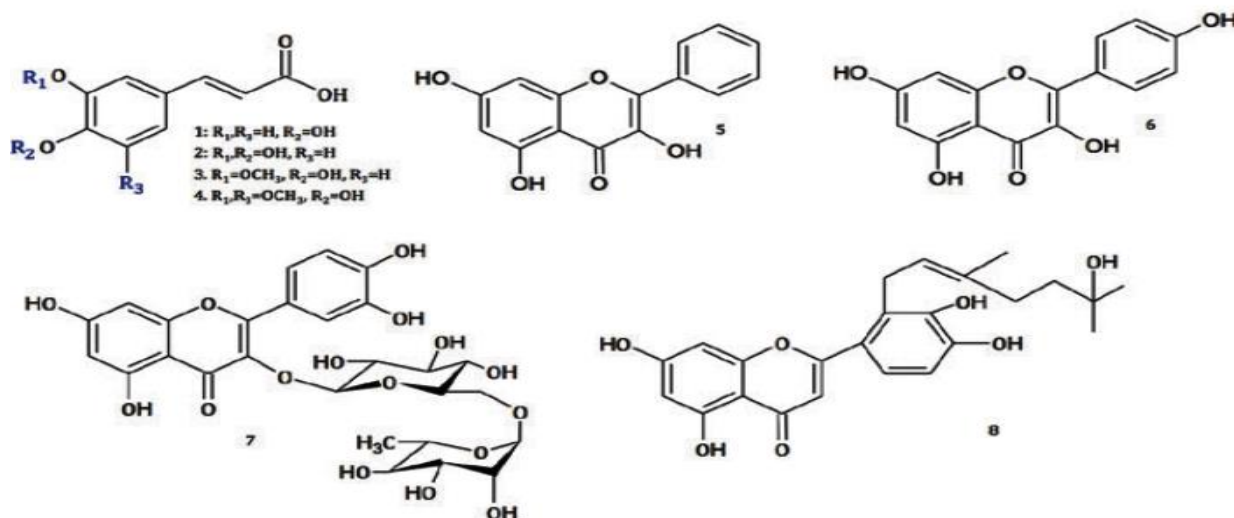
Los compuestos fenolicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captores de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes. Además, debido a su reactividad, se encuentran en la mayoría de los casos combinadas con un ácido orgánico, un azúcar o bien, con ellas mismas para formar un polímero (Silva-Carvalho et al., 2015).

## **5.7. LOS FLAVONOIDES**

Los flavonoides son una serie de compuestos polifenólicos que se hallan normalmente en las plantas bajo la forma de glicósidos, cabe mencionar, que los flavonoides contienen alrededor de 8000 compuestos conocidos, pero este número se encuentra en crecimiento por la gran variedad estructural de bajo peso molecular lo que les permite compartir un esqueleto común de difenilpiranos ( $C_6-C_3-C_6$ ), estructurado por dos anillos de fenilos (A y B) unidos a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se enlistan del 2 al 8, mientras que los del anillo B lo hacen desde el 2' al 6' (Pant et al., 2022).

Los flavonoides contenidos en los propóleos pueden evidenciar efectos antivirales debido a la producción de Interferones (INFs), Dichas sustancias presentan el fortalecimiento de la membrana celular, la inducción de las nucleasas que destruyen el genoma viral y la modificación del patrón de la fosforilación del factor de iniciación eucariótico (eIFs), el cual influye directamente en la transducción de las proteínas deteniendo totalmente la biosíntesis de estas, incluyendo la de los virus (Veckenstedt, Guttner, & Beladi, 1987).

Se determina que los flavonoides y algunas sustancias cinámicas contenidas en los propóleos tienen acción antibacteriana (Mirzoeva, Grishanin, & Calder, 1997), De acuerdo, con Havsteen en (2002), los flavonoides del propóleo inducen a la interferencia del metabolismo bacteriano ligando metaloenzimas, como las fosfatasas las cuales inhiben ciertas enzimas que pueden hidrolizar la red de proteoglicanos.




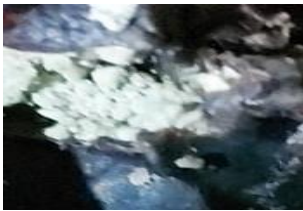


**Figura 1.** Estructura de los flavonoides y flavanonas




## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

Las muestras serán suministradas por 7 fincas asentadas en diversas parroquias del cantón Chone (Convento, Eloy Alfaro, Ricaurte, Santa Rita, Canuto, San Antonio y Boyacá) que se dedican a labores apícolas; se tomaron 3 muestras, las mismas que antes de ser procesados se mantuvieron a temperatura ambiente y bajo oscuridad.

**Tabla 2.** Aspecto de los propóleos provenientes de los sitios muestreados.

Lugar	Coordenadas		Peso (g)	Aspecto
	x	y		
Convento	608249.8	9969630.5	111.09	
Eloy Alfaro	602313.1	9956181.4	98.7	
Ricaurte	607070.9	9935914.2	128.14	
Santa Rita	601968.1	9923386.6	108.92	

Canuto	596958.3	9912149	137.15	
San Antonio	592571	9922866.4	121.03	
Boyacá	591646	9937359.8	93.32	

## 6.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO

Antes de proceder a realizar el trabajo de laboratorio, se procedió a limpiar los propóleos eliminando cualquier resto de vegetación, restos de insectos o de las mismas abejas, luego de haber limpiado los propóleos se trituraron y pesaron. Los pesos fueron registrados. Así mismo, se determinaron características externas que se describieron a simple vista, dichas características se expusieron en la ficha de registro que se detalla en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Características físicas de los propóleos obtenidos en los sitios de muestreo

Lugar	Consistencia	Color	Aroma	Sabor
Convento	Rígido	Marrón verdoso	Balsámico	Amargo
Eloy Alfaro	Rígido	Marrón verdoso con vetas amarillas	Resinoso	Amargo
Ricaurte	Maleable	Marrón verdoso con vetas amarillas	Resinoso	Amargo

Santa Rita	Maleable	Marrón con vetas amarillas	Balsámico	Amargo
Canuto	Maleable	Marrón verdoso con vetas amarillas	Resinoso	Amargo
San Antonio	Maleable	Marrón con vetas amarillas	Balsámico	Amargo
Boyacá	Rígido	Marrón verdoso	Balsámico	Amargo

Posteriormente, se realizó la extracción etanólica, para esto, se tomó 30g cada propóleo procedente de cada una de las parroquias del cantón Chone se colocaron en una botella ámbar la misma que contenía etanol con una concentración del 70% en una cantidad 1 parte de propóleo y 3 partes de etanol, a continuación, se dejó en maceración por 48 horas a temperatura ambiente, durante este tiempo debe de agitarse unas dos veces cada 24 horas y depositarla en un lugar oscuro.

Luego de las 48 horas se procedió a filtrar al vacío en una sola etapa, empleando para este fin papel filtro tipo Whatman #5 (Graham, 2004). A las fracciones filtradas se les quitó el exceso de etanol empleando para este propósito un rotavapor giratorio y con condensador de bobina diagonal con revestimiento plástico Cole Parmer™ a 115 rpm de forma constante a una temperatura de vapor de 25 °C y temperatura de baño de 55 °C.

Cada muestra de propóleo se secó mediante evaporación bajo una campana de vacío. Los extractos se guardaron en botellas de color ámbar, en oscuridad y a temperatura de -18°C (Rodríguez et al., 2012). El rendimiento obtenido de los extractos de propóleo se calculó bajo criterio del empleo de la siguiente fórmula:

$$R (\%) = \frac{\text{Peso del extracto (g)}}{\text{Peso inicial de la muestra (g)}} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

### 6.2.1. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LOS PROPÓLEOS

- **Determinación de pérdida de peso (humedad).**

Para la realización de esta actividad se utilizó el método termogravimétrico; para lo cual se pesó 1,00g de propóleo el cual se introdujo en una cápsula de porcelana la cual estaba tarada con anticipación, a continuación, se colocó en una estufa a 105°C por un tiempo de tres horas; luego, se enfrió en un desecador que contenía silicagel hasta obtener un peso constante, Cabe mencionar que los pesos deben de estar dentro de un margen de error de  $\pm 5$  mg (A.O.A.C, 1990).

- **Determinación de cenizas.**

Para el análisis de este parámetro se pesó 1,00 g del propóleo en un crisol el cual estaba inicialmente tarado, luego se introdujo en una mufla a 550°C para su calcinación por un tiempo de tres horas. Posteriormente, el crisol con la ceniza se introdujo en un desecados con silicagel hasta obtener un peso constante (A.O.A.C, 1990).

- **Determinación de ceras y material extractable en etanol (EEP).**

Estos parámetros se determinaron por gravimetría de acuerdo con los protocolos estipulados en la Norma del Ministerio de Agricultura de Brasil (1999) con algunas modificaciones. El propóleo se introdujo en un dedal de celulosa y se realizó la extracción soxhlet durante seis horas empleando como sustancia solvente n-hexano.

Mediante filtración las ceras se precipitaron y se eliminaron por filtración, usando para esto papel Whatman #1; el precipitado ceroso que se retuvo en el papel filtro se secó en estufa a 45 °C hasta alcanzar un peso constante. La diferencia de peso se expresó como porcentaje de ceras (p/p). Finalmente, se eliminó el solvente del filtrado por

evaporación usando un rotaevaporador; el residuo obtenido se expresó como porcentaje de extractables con etanol (PEE), por gravimetría hasta obtener un peso constante.

- **Determinación de material insoluble.**

El material insoluble retenido en el dedal de celulosa al final del proceso de la extracción soxhlet, fue llevado a estufa a 80 °C, luego se retira de la estufa, se coloca en un desecador con silicagel hasta llegar a temperatura ambiente, posteriormente se pesa y se continua hasta llegar a tener un peso que en dos pesadas sucesivas no difieran entre sí en más de 5mg.

$$IM = \frac{P1-P}{m} * 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

IM = contenido de impurezas mecánicas, en fracción de masa expresada en porcentaje

P1 = masa del cartucho (o el papel) seco, en gramos

P = masa del cartucho (o el papel) vacío seco, en gramos

m = masa de la muestra, en gramos

- **Punto de fusión.**

Para la determinación de este parámetro fisicoquímico, se utilizó un fusiómetro y se siguió el método descrito por Chaillou et al., (2004); para lo cual se utilizó un tubo capilar, en el cual se coloca la muestra, sujeto a un termómetro, los cuales se sometieron a un baño de glicerina. Se registró la temperatura de inicio y fin de la fusión; para el análisis de los resultados se tomó el valor promedio de ambas temperaturas.

Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados en porcentajes, excepto el punto fusión (°C).

- **Actividad antioxidante**

Para realizar este análisis, se realizó gracias a la capacidad captadora del radical 1,1-difenil-2-picril hidracilo (DPPH) y además se empleó la metodología propuesta por Rojano et al., (2008). Cabe mencionar que los resultados se convirtieron a inhibición porcentual y se expresaron como capacidad antioxidante en  $\mu\text{mol}$ , equivalente de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico; TE) g  $\text{EEP}^{-1}$  (TEAC). El antioxidante sintético butil-hidroxitolueno (BHT) se utilizó como referencia externa.

### **6.2.2. ANÁLISIS DE LOS FENOLES TOTALES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO**

Para el análisis de los compuestos fenólicos presentes en el propóleos de las diferentes parroquias del cantón Chone, se procedió a usar los diversos extractos etanólicos de propóleo en una concentración de 0,1% (v/v) junto con el reactivo de Folin–Ciocalteu, además se agregó 20 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 15%. A continuación, se llevó a baño María por 5 minutos a 50°C; posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y con el empleo de un espectrofotómetro se leyó la absorbancia a 765nm. Para determinar la concentración de fenoles totales se realizó primero el diseño de la curva de calibración en base a concentraciones conocidas de soluciones patrón de ácido gálico; el valor obtenido, se expresa en  $\text{mg g}^{-1}$  (Zhang et al., 2017). Además, se usó una solución de ácido gálico (Sigma-Aldrich) de 50 a 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para construir la curva de calibración, cabe mencionar que los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) g  $\text{EEP}^{-1}$ .



### **6.2.3. ANÁLISIS DE LOS FLAVONOIDES TOTALES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO**

El contenido de flavonoides se determinó usando el método Dowd; para lo cual se tomó 3 ml de 2% de tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) en metanol se mezcló con igual volumen de la solución de extracto ( $0,2\text{mg ml}^{-1}$ ). Luego, se realizarán lecturas de absorción a 415 nm empleando para tal efecto un espectrofotómetro Thermo Scientific™ UV-VIS Lambda 25. El contenido total de flavonoides (mg de equivalentes de quercetina (CE)  $\text{g}^{-1}$  de extracto), se determinó utilizando una curva estandarizada con quercetina. Las pruebas se las realizó por triplicado (Ramamoorthy & Bono 2007).

### **6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Con la finalidad de evaluar el efecto del origen geográfico en la fisicoquímica y la bioactividad de la miel de abeja, se realizará la comparación de muestras mediante un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de mostrar si existen diferencias significativas entre los sitios de procedencia de los propóleos analizados ( $p < 0.05$ ). En caso de existir diferencias significativas se utilizó la prueba post hoc de Tukey para determinar diferencias entre los sitios muestreados. Así mismo, se realizarán las correlaciones correspondientes por el método de Pearson coeficiente ( $r$ ), en el nivel de confianza ( $p < 0,05$ ). Para realizar un análisis de componentes principales, usando el software estadístico libre R-4.0.0 (2021).

## **7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **7.1. ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO**

El rendimiento obtenido de los extractos de propóleo por maceración se utilizó ya que de acuerdo con Ciftci-Yilmaz et al., (2017), este método de extracción al no usar calor no altera la constitución química de los propóleos. A continuación, se detallan los

rendimientos de las muestras de propóleos obtenidas de las parroquias del cantón Chone.

**Tabla 4.** Resultados de los rendimientos de extractos de propóleos secos

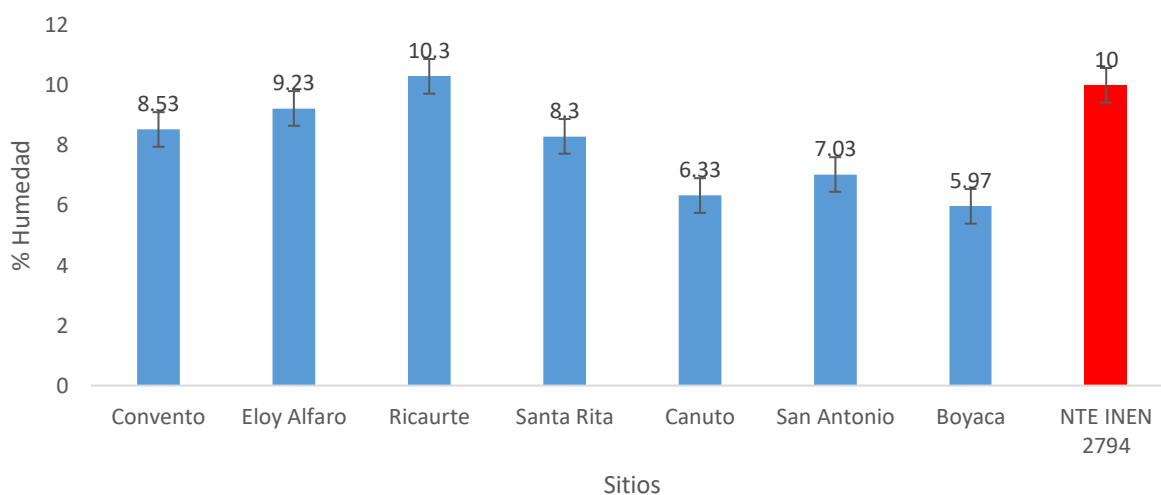
<b>Lugar</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Peso de extractos secos (g)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Convento	111,09	28,85	25,97
Eloy Alfaro	98,87	15,56	15,74
Ricaurte	128,14	36,12	28,19
Santa Rita	105,92	19,13	18,06
Canuto	137,15	43,05	31,39
San Antonio	121,03	32,07	26,50
Boyacá	93,32	15,29	16,38

Los porcentajes obtenidos de rendimiento de extractos de propóleo seco procedente de las parroquias del cantón Chone, varían entre 15,74 y 31,39% estos valores son análogos a los obtenidos por Buestán & Torres en (2018) en un estudio realizado en el austro ecuatoriano sobre la composición química y actividad antifúngica de extractos de propóleos.

Cabe destacar que los valores obtenidos como porcentaje de rendimiento varían de acuerdo con aspectos tales como el tipo de solvente usado para la extracción, así mismo, como factores ecológicos de la zona como flora circundante y temporada del año en la que se realiza la recolección. Así mismo, es importante destacar que el rendimiento no tiene relación directa con el contenido de grupos fenólicos, ya que también existen otros compuestos de interés que influyen en la calidad del propóleo (Galindo, Suárez, & Guerrero, 2016).

## 7.2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LOS PROPÓLEOS

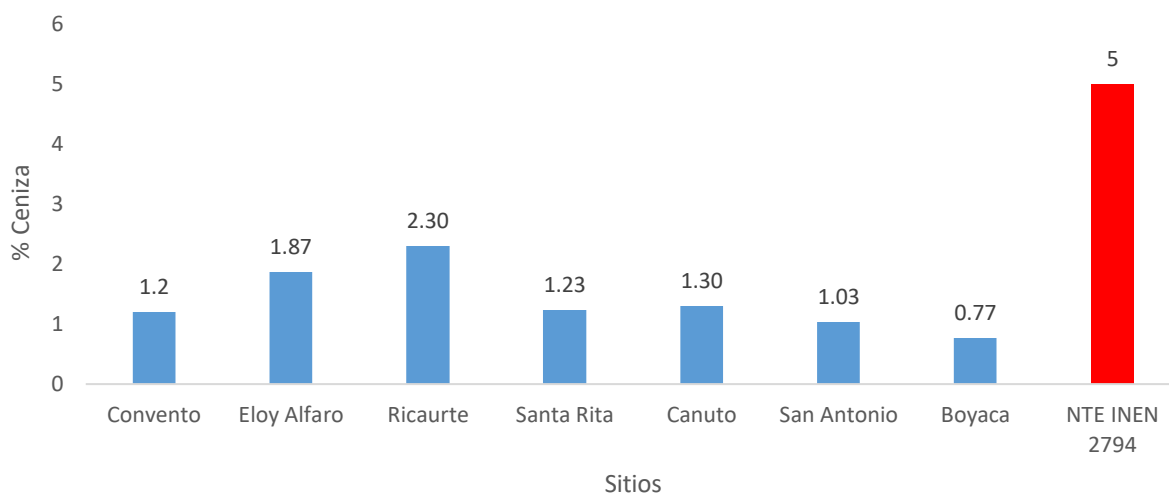
El propóleo es una compleja mezcla de resinas, ceras, aceites esenciales, productos balsámicos, polen y otros microelementos; así mismo, para tener criterios de calidad en torno al producto propóleo se determinaron sus características fisicoquímicas. Uno de estos parámetros trascendentales a la hora de tomarlo como indicador de calidad de los propóleos es el porcentaje de humedad ya que valores por encima de lo estipulado por la normativa técnica ecuatoriana vigente NTE INEN 2794:2015; determina que dicho propóleo no es susceptible de almacenamiento ya que valores altos al 10% son propicios para el crecimiento microbiano (Przybyłek & Karpinski, 2019).



**Figura 2.** Porcentaje de humedad de los propóleos analizados

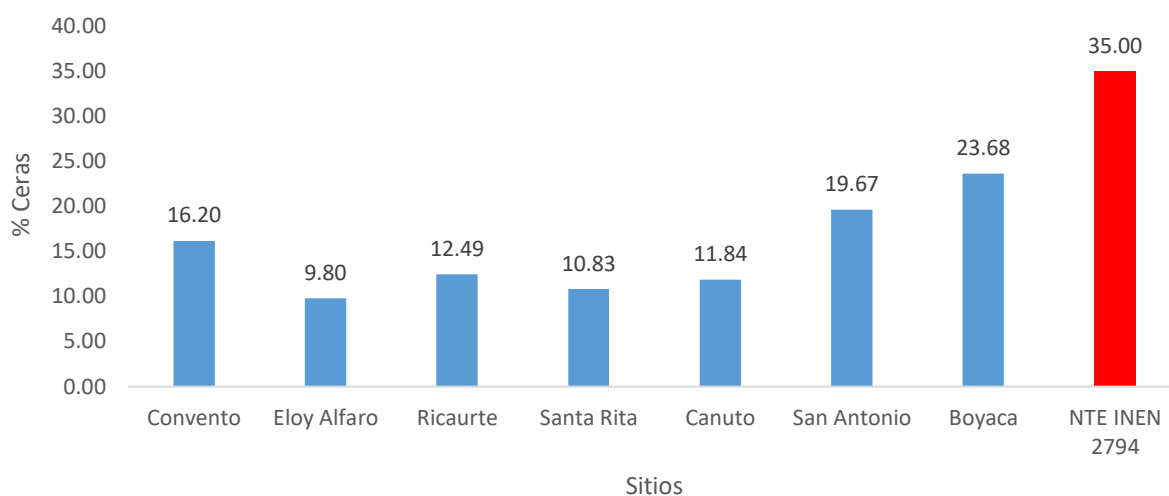
Los porcentajes de humedad obtenidos en el presente estudio determinaron que los propóleos de las zonas de Convento ( $8,53\% \pm 0,35$ ), Eloy Alfaro ( $9,23\% \pm 0,5$ ), Santa Rita ( $8,3\% \pm 0,4$ ), Canuto ( $6,33\% \pm 0,6$ ), San Antonio ( $7,03\% \pm 0,51$ ) y Boyacá ( $5,97\% \pm 0,31$ ) están dentro de los rangos permitidos por la normativa técnica ecuatoriana; mientras que los propóleos de las zonas de Chibunga ( $11,17\% \pm 0,31$ ) y Ricaurte ( $10,3\% \pm 0,4$ ) están por fuera de la normativa (INEN, 2015).

En lo que respecta al contenido de cenizas hallado para los ocho propóleos de las parroquias del cantón Chone, tenemos que se encuentran por debajo del 3,3% (Chibunga 3,23%±0,35; Convento 1,2%±0,3; Eloy Alfaro 1,87%±0,31; Ricaurte 2,3%±0,56; Santa Rita 1,23%±0,4; Canuto 1,3%±0,4; San Antonio 1,03%±0,4 y Boyacá 0,77%±0,35) por lo que todos estos propóleos cumplen con lo previsto en la normatividad ecuatoriana e internacional (máximo 5%). Esto nos permite tener criterios de calidad como la no adulteración por parte de los apicultores (Hernandez-Zarate et al., 2018). Así mismo, cabe manifestar que el contenido mineral de los propóleos presenta caracteres terapéuticos que son aportados por las abejas al momento de la recolección (Pant et al., 2022).



**Figura 3.** Porcentaje de ceniza de los propóleos analizados

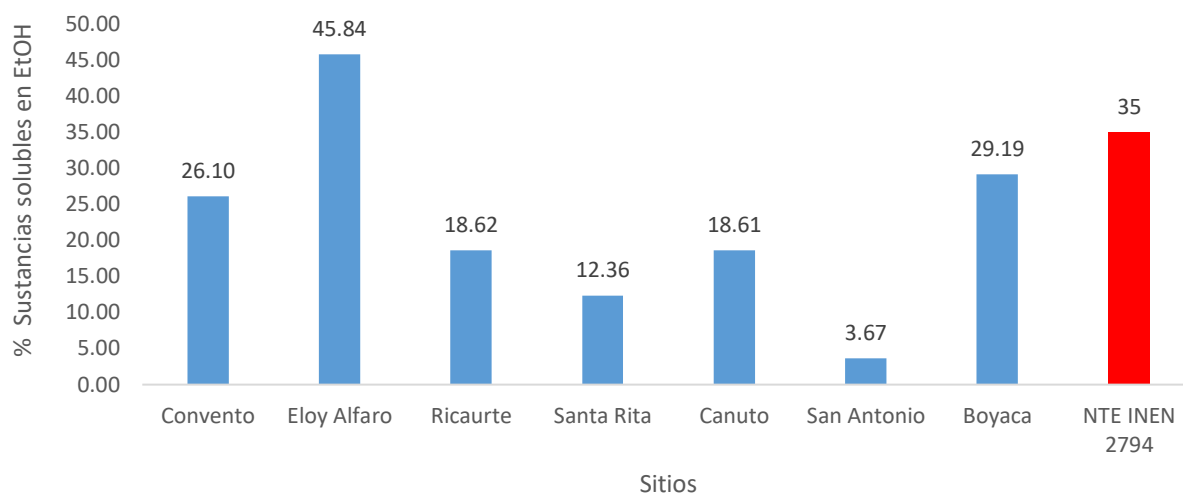
El contenido de ceras de los propóleos procedentes de las parroquias del cantón Chone fue analizado mediante la extracción Soxhlet con *n*-hexano, y el mismo se encuentra en un rango que va desde 1,87 a 7,3% por lo tanto, todos los propóleos se encuentran dentro de los valores permitidos por la normativa ecuatoriana.



**Figura 4.** Porcentaje de ceras de los propóleos analizados

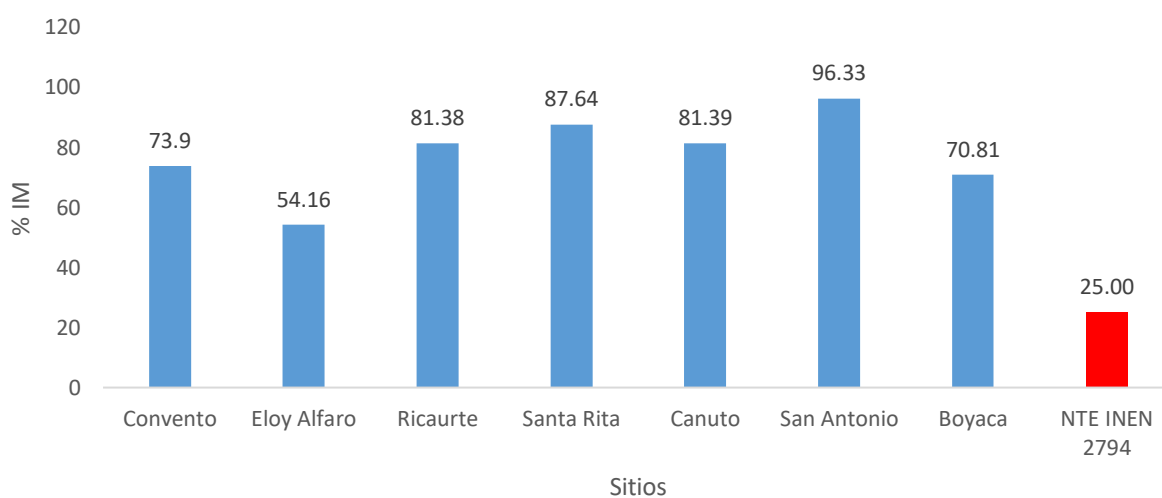
Podemos mencionar que el propóleo con menor contenido de cera se encontró en la parroquia de Santa Rita. Estos valores son ligeramente mayores a los reportados por Bueno-Silva et al., (2017); quienes encontraron valores entre 1,8 a 6,1% en propóleos provenientes del Atlántico colombiano. Esto se debe a su asociación con la actividad biológica, realizada por los compuestos fenólicos (Santos et al., 2017).

En lo que respecta al análisis de sustancias solubles en etanol determinó que ninguno de los propóleos analizados llegaba al mínimo requerido por la normativa ecuatoriana vigente, sin embargo, podemos destacar que los propóleos de Santa Rita (29,40%±0,5) y Canuto (28,43%±0,5) son los que más se acercan a lo requerido por dicha norma (mínimo 35%); esto nos permite vislumbrar que estas dos zonas pueden presentar propóleos con mayor contenido de fenoles y flavonoides (Torres et al., 2018).



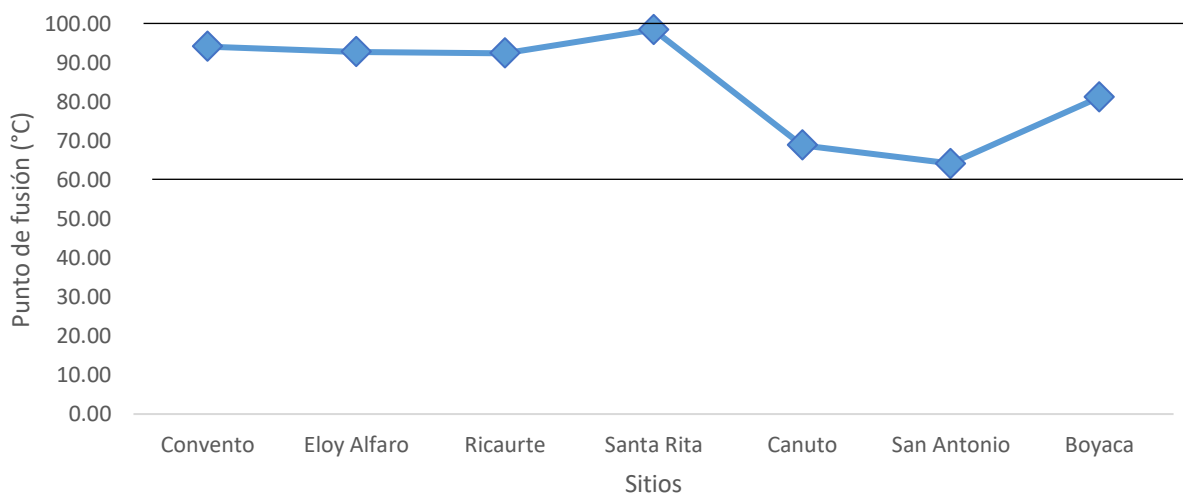
**Figura 5.** Porcentaje de sustancias solubles en EtOH de los propóleos analizados

Como promedio de los valores hallados en cuanto al contenido de impurezas mecánicas tenemos que este estudio determina un porcentaje de 38,54%; el cual se sitúa por encima de la normativa ecuatoriana (máximo 25%). Este valor se ubica por encima de lo registrado en un estudio por regiones fitogeográficas realizado por Pant et al., (2022), en el que este valor se ubica en un 30%. Cabe mencionar que los valores más altos se ubican en las parroquias de Chibunga, Eloy Alfaro y San Antonio con  $54,8\% \pm 0,46$ ;  $43,93\% \pm 0,75$  y  $40,23\% \pm 0,57$  respectivamente.



**Figura 6.** Porcentaje de Impurezas mecánicas de los propóleos analizados

De acuerdo con de Freitas et al., (2017), el rango más frecuente de temperatura de fusión de los propóleos oscila entre 60 y 100°C; en este estudio vemos que todos los propóleos obtenidos de las diferentes parroquias del cantón Chone, están dentro de este rango, tal como lo demuestra la figura 7. Cabe señalar que la temperatura promedio de fusión de los propóleos en este estudio es de 72,13°C.



**Figura 7.** Comportamiento del punto de fusión de cada uno de los propóleos analizados

La tabla 5 muestra la actividad antioxidante de las diferentes muestras, expresada en el equivalente de Trolox, que es el antioxidante de control. La actividad antioxidante difiere dependiendo de los lugares de procedencia de los propóleos. La mayor actividad antioxidante se observó en los propóleos de San Antonio, Convento y Santa Rita, a continuación, le siguen los propóleos de Ricaurte, Canuto, Boyacá y Eloy Alfaro. Es menester destacar que los propóleos analizados en el presente estudio tienen valores más altos comparados con los propóleos estudiados en el Atlántico colombiano por Bueno-Silva et al., (2017); donde la actividad actioxidante se ubicó en un valor promedio de 202.18µmol gEEP<sup>-1</sup>.

**Tabla 5.** Concentración de la actividad antioxidante de los propóleos evaluados

Lugar	DPPH TEACH <sup>#</sup> ±DE ( $\mu\text{mol gEEP}^{-1}$ )
Convento	1046.23±5.16
Eloy Alfaro	828.88±2.57
Ricaurte	923.33±4.96
Santa Rita	1032.47±15.34
Canuto	884.33±2.95
San Antonio	1092.13±18.75
Boyacá	843.73±8.54

### 7.3. ANÁLISIS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Las muestras analizadas presentaron como contenidos medios de compuestos fenólicos y flavonoides 56.97mg GAE g EEP<sup>-1</sup> y 47.09mg QE gEEP<sup>-1</sup> respectivamente. El contenido de estos compuestos fenólicos supera el valor mínimo de 50mg g EEP<sup>-1</sup> para el caso de los fenoles totales y para lo que tiene que ver con los flavonoides no supera el valor mínimo, establecido en el reglamento brasileño de calidad de propóleos (Buestán & Torres, 2018).

El contenido promedio de compuestos fenólicos totales que se encontró en los propóleos analizados en las parroquias del cantón Chone es inferior al reportado en un estudio realizado en el atlántico colombiano (81.53mg GAE g EEP<sup>-1</sup>), establecido por Rodríguez et al., (2020); la diferencia entre estos valores y áreas geográficas probablemente se deba a las diferentes especies de flora endémica que las abejas utilizan como reservorios de resinas. tiempo de cosecha y el tipo de abeja que coloniza el sector. Resumiendo, la presencia de fenoles y flavonoides es un criterio de calidad tomado como tal por los entes de producción y control de calidad de propóleos de



países tales como Argentina (IRAM-INTA, 2004) y Brasil (Ministerio de Agricultura de Brasil-APACAME, 1999).

Como se puede apreciar en la tabla 6 el valor del contenido fenólico de los propóleos analizados oscila en un rango muy amplio comprendido entre los 6.90 y 131.22mg de GAE g de EEP<sup>-1</sup>; siendo el propóleo procedente de la parroquia Eloy Alfaro el que menor contenido de compuestos fenólicos presento, mientras que los propóleos procedentes de las parroquias Ricaurte, Convento, Boyacá Canuto, San Antonio y Santa Rita presentan valores entre 22.81 y 131.22mg de GAE g de EEP<sup>-1</sup> que son considerados altos al compararse con estudio previos realizados en el departamento de Antioquía-Colombia por Bueno-Silva et al., (2017). Cabe mencionar que la legislación brasilera dictamina que la presencia de compuestos fenólicos en el propóleo debe ser de mínimo 50mg de GAE g de EEP<sup>-1</sup>; por lo que los propóleos de las parroquias Eloy Alfaro, Ricaurte, Convento y Boyacá no cumplen con la normativa estipulada anteriormente.

**Tabla 6.** Contenido de los fenoles totales de los propóleos analizados en el presente estudio.

<b>Sitio</b>	<b>Fenoles totales (mg de GAE g de EEP<sup>-1</sup>)</b>
Convento	29.08 <sup>c</sup>
Eloy Alfaro	6.90 <sup>a</sup>
Ricaurte	22.81 <sup>b</sup>
Santa Rita	131.22 <sup>g</sup>
San Antonio	101.79 <sup>f</sup>
Canuto	69.05 <sup>e</sup>
Boyacá	37.92 <sup>d</sup>

#### 7.4. ANÁLISIS DE LOS FLAVONOIDES TOTALES

El contenido de flavonoides es otra propiedad que ayuda a calificar la calidad de los propóleos ya que según estudios realizados por Torres et al., (2018); le confieren características antioxidantes y en menor medida la actividad biológica a los propóleos. Los valores obtenidos de flavonoides van en el orden de 42.24mg de QE g de EEP<sup>-1</sup> en la parroquia de Eloy Alfaro a 51.99mg de QE g de EEP<sup>-1</sup> en la parroquia de San Antonio por lo que todos los valores obtenidos en este estudio cumplen con la normativa brasilera que determina que el contenido de flavonoides en un propóleo para ser usado como materia prima, mínimo debe tener 5mg g<sup>-1</sup>.

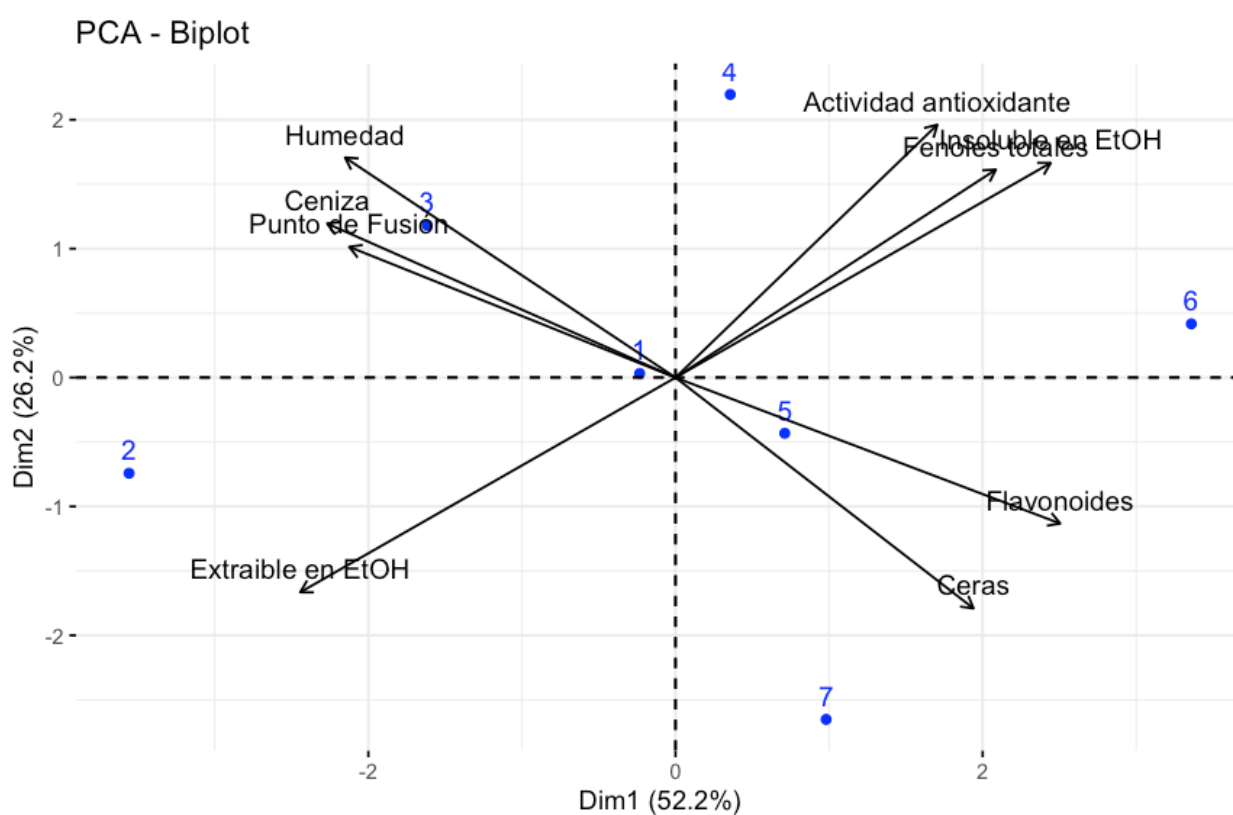
**Tabla 7.** Contenido de los flavonoides de los propóleos analizados en el presente estudio

<b>Sitio</b>	<b>Flavonoides (mg de QE g de EEP<sup>-1</sup>)</b>
Convento	47.85 <sup>e</sup>
Eloy Alfaro	42.24 <sup>a</sup>
Ricaurte	46.23 <sup>c</sup>
Santa Rita	43.68 <sup>b</sup>
San Antonio	51.99 <sup>g</sup>
Canuto	47.16 <sup>d</sup>
Boyacá	50.49 <sup>f</sup>

Ya para determinar la correlación de todas las variables analizadas en el presente estudio, se procedió a realizar un biplot, tal como se detalla en la Figura 8. Es así como tenemos que el biplot presentado explica en su primer eje el 52.2% y en su segundo eje el 26.2% de la correlación de sus variables. En virtud de esto tenemos que el contenido de ceniza se relaciona directamente con la humedad, las sustancias extraíbles en EtOH se relaciona inversamente con sustancias insolubles en EtOH. La

concentración de fenoles totales se relaciona directamente con sustancias insolubles en EtOH e inversamente con sustancias extraíbles en EtOH.

La concentración de flavonoides se relaciona inversamente con el porcentaje de humedad y ceniza. Por otra parte las ceras se relaciona directamente con el contenido de flavonoides e inversamente con el porcentaje de humedad y cenizas. El punto de fusión. Se relaciona directamente con la humedad mientras que inversamente con el contenido de flavonoides.



1 = Convento, 2 = Eloy Alfaro, 3 = Ricaurte, 4 = Santa Rita, 5 = Canuto, 6 = San Antonio, 7 = Boyacá

**Figura 8.** Biplot de las variables analizadas en esta investigación

Por su parte la actividad antioxidante se relaciona directamente con sustancias insolubles en EtOH y contenido de fenoles totales en tanto que lo hace de manera inversa con sustancias extraíbles en EtOH.

Así mismo, es importante destacar que las variables humedad, ceniza y punto de fusión se encuentran mejor representadas en las parroquias Convento y Ricaurte. Las variables actividad antioxidante, sustancias insolubles en EtOH y fenoles totales se encuentran mejor representadas en Santa Rita y San Antonio.

Los parámetros flavonoides y ceras se encuentran mejor representadas en Canuto y Boyacá. Por último, el parámetro sustancias extraíbles en EtOH se representa de mejor manera en la parroquia Eloy Alfaro.

## **8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **8.1. CONCLUSIONES**

- En este estudio, observamos que la variabilidad de los valores en los parámetros fisicoquímicos aquí detallados se encuentra asociados al lugar de procedencia geográfica de cada uno de los propóleos; de la misma forma es necesario considerar que los valores asociados a impurezas mecánicas en los propóleos se ubican por fuera de los criterios de calidad que impone la normativa ecuatoriana vigente en torno a calidad de propóleos, debido a que la recolección de propóleos en estas zonas se realizan de forma artesanal.
- Así mismo, en lo que respecta al bajo contenido de fenoles totales en las parroquias de Convento, Eloy Alfaro, Ricaurte y Boyacá (mínimo 50mg de GAE g de EEP<sup>-1</sup>; se determina que la flora acompañante a estos propóleos está asociada a la baja calidad de los mismos.
- El contenido de flavonoides determinados mediante espectrofotómetro UV-VIS Lambda 25, están por encima a lo estipulado por la normativa brasilera, por lo

que el contenido de flavonoides de estos propóleos goza de calidad y pueden ser usados con fines alimenticios y farmacéuticos.

## 8.2. RECOMENDACIONES

- Realizar un inventario ecológico de las áreas donde se extraen propóleos, para poder tener una perspectiva más clara de los parámetros fisicoquímicos que determinan la calidad de los propóleos.
- Por otra parte, es necesario determinar mediante un análisis de HPLC la calidad y cantidad de los flavonoides, para conocer el tipo de compuestos que se hallan presentes en la muestra.
- Además, de acuerdo a los resultados obtenidos se hace necesario tener una perspectiva de cooperar con la naturaleza para buscar la resiliencia de la flora y fauna endémica asociada a la concentración de fenoles y flavonoides propendiendo a fortalecer la calidad de los propóleos y por ende la sostenibilidad del sector apícola del área estudiada.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Altamirano, P. (2017). *Costos de producción de la miel de abejas en las provincias de Pichincha, Imbabura y Carchi, por categoría de explotación*. Quito-Ecuador: Trabajo de Investigación. Universidad Central del Ecuador.
- Agra, R., Rodríguez, E., Marcucci, M., Ramalho, A., Domínguez, N., y Esfrain, W. (2006). Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da paraiba. Brasil. *Ciencia Rural*, 36; 1842-1848.
- Aminimoghdamfarouj, N., y Nematollahi, A. (2017). Propolis Diterpenes as a Remarkable Bio-Source for Drug Discovery Development: A Review. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1290.

- A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> Edition. Washington D.C.
- Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 114-117.
- Bueno-Silva, B., Marsola, A., Ikegaki, M., Alencar, M., y Rosalen, L. (2017). The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. *Natural product research*, 31(11), 1318-1324.
- Buestán Orellana, R., y Torres Sigüenza, L. (2018). *Estudio de la composición química y actividad antifúngica de extractos de propóleos de la región del austro ecuatoriano*. (Master's thesis).
- Burdock, A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical toxicology*, 36(4), 347-363.
- Calegari, A., Ayres, B., dos Santos Tonial, M., de Alencar, M., y Oldoni, C. (2020). Fourier transform near infrared spectroscopy as a tool for predicting antioxidant activity of propolis. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 784-790.
- Cardoso, R., Maboni, F., Machado, G., Alves, H., y De Vargas, C. (2010). Antimicrobial activity of propolis extract against Staphylococcus coagulase positive and Malassezia pachydermatis of canine otitis. *Veterinary Microbiology*. 142; 432-434.
- Chaillou, L., y Nazareno, A. (2009). Bioactivity of propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to their chemical composition. *LWT-Food Science and Technology*, 42(8), 1422-1427.
- Chan, F., Cheung, W., y Sze, Y. (2013). The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 44(3), 262-273.

- Ciftci-Yilmaz, S., Azman, N., Kosem, K., Gunduz, E., y Grenman, R. (2017). Evaluating antioxidant capacity of different propolis samples from konya, Turkey and their inhibitory effect on head and neck cancer cells. *BioRxiv*, 183913.
- Cunha, I., Sawaya, A., Caetano, F., Shimizu, M., Marcucci, M., Drezza, F., y Carvalho, P. (2004). Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15(6), 964- 970.
- de Freitas, C., de Miranda, B., de Oliveira, T., Vieira-Filho, A., Caligiorne, B., y de Figueiredo, M. (2017). Biological activities of red propolis: A review. *Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery*, 11(1), 3-12.
- De Figueiredo, M., Binda, S., Almeida, M., Lemos, R., de Abreu, S., Pastore, G., Park, K. (2015). Green propolis: Thirteen constituents of polar extract and total flavonoids evaluated during six years through RP-HPLC. *Curr. Drug Discov. Technol* 12, 229-239.
- Galindo, P., Suárez, P., y Guerrero, C. (2016). Análisis proximal y fisicoquímico de propóleos (propolis) provenientes de apiarios boyacenses. *BISTUA Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 14(2),, 126-140.
- Graham, T. (2004). Fundamentos de Química Orgánica. Florida, USA: Limusa.
- Granda, R. (2017). *Análisis potencial de la actividad apícola como desarrollado socioeconómico en sectores rurales*. Quito-Ecuador: Trabajo de Investigación. Universidad San Francisco de Quito.
- Havsteen, H. (2002). La bioquímica y el significado médico de los flavonoides. . *Farmacología y Terapéutica*. 96(2-3):, 67-202.
- Hernandez Zarate, S., Abraham Juarez, R., Ceron Garcia, A., Ozuna Lopez, C., Gutierrez Chavez, J., Segoviano Garfias, N., y Avila Ramos, F. (2018).

- Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas. *Food Science and Technology*, 38,, 210-215.
- Huang, S., Zhang, P., Wang, K., Li, Q., y Hu, L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19(12), 19610-19632.
- INEN. (2015). *Productos de Apicultura. Propóleos*. Quito: NTE INEN 2794.
- IRAM-INTA (2004). Instituto Argentino de Normalización-Subcomité de productos Agroalimentarios del NOA. Norma 15935-1. Scheme 1. Buenos Aires, Argentina.
- Isla, M., Zampini, C., Ordóñez, M., Cuello, S., Juárez, C., Sayago, E., y Maldonado, M. (2009). Effect of seasonal variations and collection form on antioxidant activity of propolis from San Juan, Argentina. *Journal of Medicinal Food*, 12(6), 1334-1342.
- Kedzia, B. (2008). Propolis pomocny w ostrym zapaleniu gardła i migdałków podniebiennych. . *Pszczelarz Polski*, (01).
- Kuropatnicki, K., Szliszka, E., y Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-based complementary and alternative medicine*.
- Kędzia, B., y Holderna-Kędzia, E. (2017). Pinocembrin–flavonoid component of domestic propolis with delaying effect of the development of Alzheimer’s disease. *Postępy Fitoterapii*.
- Kuropatnicki, K., Szliszka, E., y Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evid Based Complement Alternat Med*. 964149.
- Lefkovits, N., Su, Z., Fisher, P., y Grunberger, R. (1997). Caffeic acid phenethyl ester profoundly modifies protein synthesis profile in type 5 adenovirus-transformed cloned rat embryo fibroblast cells. *International journal of oncology*, 11(1), 59-67.



- Libério, S., Pereira, A., Araújo, M., Dutra, R., Nascimento, F., Monteiro-Neto, V., y Guerra, R. (2009). The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *J. Ethnopharmacol.* 125(1), 1-9.
- Lopes-Rocha, R., Miranda, L., Lima, L., Ferreira, O., Santos, S., Verli, D., & Marinho, A. (2012). Effect of topical propolis and dexamethasone on the healing of oral surgical wounds. *Wound Healing Southern Africa*, 5(1), 25-30.
- Machado, B., Pulcino, N., Silva, L., Tadeu, D., Melo, S., y Mendonça, G. (2017). Propolis as an alternative in prevention and control of dental cavity. *Immunity*, 19, 24.
- Macías, M., y Yunda, F. (2015). *Aplicación de extracto de propóleo como agente conservante en carne de res molida que se expenden en el mercado de Sauces IV de la ciudad de Guayaquil*. Guayaquil: (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad Ciencias Químicas.
- Maidana, J. (1997). Tesis Doctoral, para obtener el título de Doctor en Biología. Facultad de Agronomía y Zootecnia. *Características Físicoquímicas del Propóleos de la República Argentina Tucumán*. Tucumán, Argentina: Universidad Nacional de Tucumán (UNT).
- Meda, A., y Mattos, A. (1994). Própolis um bem da humanidade Produção e controle. *Anales del X Congreso Brasileiro de Apicultura Pousada do Rio Quente Do. Brasil*, 4650.
- Ministerio de Agricultura de Brasil, APACAME (1999). Reglamento Técnico para Fijar la Identidad y calidad de propóleos. *Revista Mensagem Doce*, 52.
- Mirzoeva, K., Grishanin, N., y Calder, P. (1997). Acción antimicrobiana del propóleo y algunos de sus componentes: Los efectos sobre el crecimiento, el potencial de membrana y la motilidad de las bacterias. *Res. microbiol.* 152(3):, 239-246.

- Moura, D., Negri, G., Salatino, A., Lima, C., Dourado, A., Mendes, B., y Cara, C. (2011). Aqueous extract of Brazilian green propolis: primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Negri, G., Salatino, F., y Salatino, A. (2003). Unusual chemical composition of a sample of Brazilian propolis, as assessed by analysis of a chloroform extract. *Journal of apicultural research*, 42(4), 53-56.
- Nieva Moreno, I., Zampini, C., Ordóñez, M., Jaime, S., Vattuone, A., y Isla, M. (2005). Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity, mutagenicity, and antimutagenicity of propolis from Tucuman, Argentina. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(23), 8957-8962.
- Noriega, V. (2014). *El propóleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica*. Cantabria: Tesis de grado, Universidad de Cantabria.
- Palomino, L., Martínez, J., García, C., Gil, J., y Durango, D. (2010). Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleos en el Municipio de la Unión (Antioquia, Colombia). *Rev. Fac. Nacional de Agronomía - Medellín*. 63(1), 5373-5383.
- Pamplona, & Z. (2011). Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of an ethanol extract of Brazilian classified propolis on strains of *Staphylococcus aureus*. *Braz. J. Microbiol, São Paulo*, v. 42, n. 4,, 1259-1264.
- Pant, K., Thakur, M., Chopra, K., Dar, N., y Nanda, V. (2022). Assessment of fatty acids, amino acids, minerals, and thermal properties of bee propolis from Northern India using a multivariate approach. *Journal of Food Composition and Analysis*, 111, 104624.

- Peña, R. (2008). Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Ciencia e Investigación Agraria: Revista Latinoamericana de Ciencias de La Agricultura*, 35(1). <https://doi.org/10.4067/S0718-16202008000100002>, 17-26.
- Pimenta, C., Violante, P., Muis, D., Borges, H., y Aranha, F. (2015). In vitro effectiveness of Brazilian brown propolis against *Enterococcus faecalis*. *Brazilian oral research*, 29, 1-6.
- Popova, P., Bankova, S., Bogdanov, S., Tsvetkova, I., Naydenski, C., Marcazzan, L., y Sabatini, G. (2007). Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. *Apidologie*, 38(3), 306-311.
- Przybyłek, I., y Karpiński, M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047.
- Ramamoorthy, K., y Bono, A. (2007). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes," *Journal of Engineering Science and Technology*, vol. 2, no. 1, 70–80.
- Rodríguez Pérez, B., Canales Martínez, M., Penieres Carrillo, G., y Cruz Sánchez, A. (2020). Chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of Mexican propolis. *Acta universitaria*, 30.
- Rodríguez, Y., Catalán, F., Rojano, B., Durango, D., Gil, J., y Marín, J. (2012). Physicochemical characterization and evaluation of antioxidant activity of propolis collected in the Atlantic Department, Colombia. *Rev. U. D. C. A Act & Div. Cient.* 15(2), 303-311.
- Rojano, B., Saez, J., Schinella, G., Quijano, J., Vélez, E., Gil, A., & Notario, R. (2008). Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of

- isoespintanol (2-isopropyl-3,6-dimethoxy- 5-methylphenol). *J. Mol. Struct.* 877(1-3), 1-6.
- Rueda Jácome, F. (2015). *Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano del extracto de propóleo Ecuatoriano vs gluconato de clorhexidina contra Streptococcus mutans*. (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Saeed, F., Ahmad, S., Arshad, U., Niaz, B., Batool, R., Naz, R., & Ansar, H. (2016). Propolis to curb lifestyle related disorders: An overview. *Int. J. Food Prop.* 19 , 420–437.
- Santos, T., Queiroz, R., Sawaya, A., Lopez, B., Soares, M., Bezerra, D., Waldschmidt, A. (2017). Melipona mondury produces a geopropolis with antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities. *An. Acad. Bras. Cienc.* 89, 2247-2259.
- Schnitzler, P., Neuner, A., Nolkemper, S., Zundel, C., Nowack, H., Sensch, H., & Reichling, J. (2010). Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytotherapy Research*, 24(S1), S20-S28.
- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: a complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Soo-Hyun, S., Gwang-Ho, C., Nam-Woo, L., & Byung-Cheul, S. (2017). External Use of Propolis for Oral, Skin, and Genital Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 10.
- Torres, A., Sandjo, L., Friedemann, M., Tomazzoli, M., Maraschin, M., Mello, C., & Santos, A. (2018). Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial

- activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 51, e7118.
- Veckenstedt, A., Guttner, J., & Beladi, I. (1987). Acción sinérgica de la quercetina y el interferón alfa/beta murino en el tratamiento de la infección por el virus Mengo en ratones. *Res. antivirales.* 7(3), 169-178.
- Veiga, S., De Mendonça, S., Mendes, B., Paulino, N., Mimica, J., Lagareiro, A., . . . Marcucci, C. (2017). Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. *Appl. Microbiol.* 122, 911-920.
- Vicente, B., & Escobar, M. (2012). Efecto antibacterial del propóleo sobre *Listeria monocytogenes* in vitro y en la superficie de melón (*Cucumis melo*).
- Viloria, B., Gil, G., Durango, R., & García, P. (2012). Caracterización fisicoquímica del propóleo de la región del bajo Cauca Antioqueño (Antioquia, Colombia). *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), 77-86.
- Wagh, D. (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences.*
- Yoong, M. (2004). *Caracterización físico-química del propóleo de la Escuela Agrícola Panamericana y su efecto antioxidante en aceite de soya.*
- Zabaiou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., & Lobaccaro, A. (2017). Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids*, 207, 214-222.
- Zhang, C., Shen, X., Chen, J., Jiang, X., & Hu, F. (2017). Identification of Free Radical Scavengers from Brazilian Green Propolis Using Off-Line HPLC-DPPH Assay and LC-MS. *Food Technol.* 14-9.

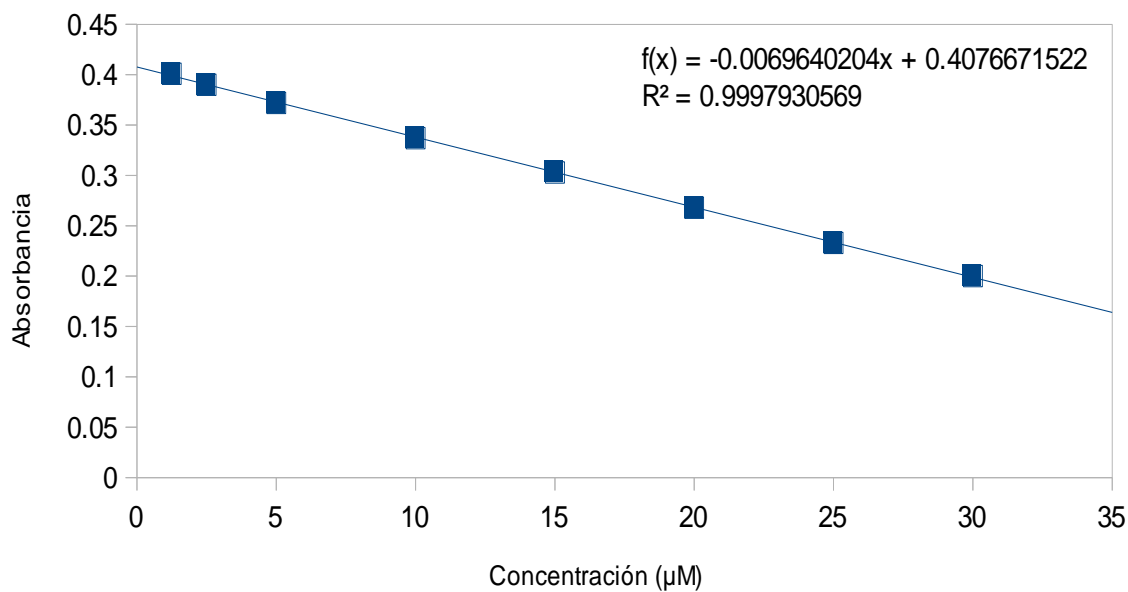
# ANEXOS

### A.1. Curvas de calibración para capacidad antioxidante

Curva de calibración para capacidad antioxidante (Datos tomados y entregados por FCZ-LAB)

Concentración ( $\mu\text{M}$ )	Absorbancia
1.25	0.401
2.5	0.39
5	0.372
10	0.337
15	0.303
20	0.268
25	0.233
30	0.2

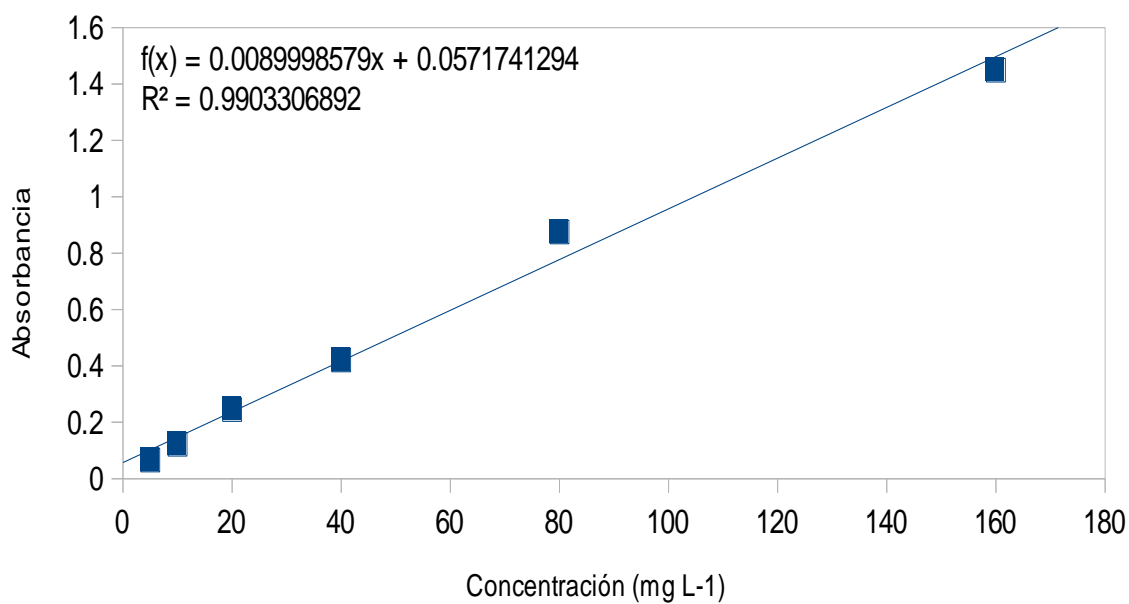
Curva de calibración TEAC DPPH



### Curva de calibración Fenoles totales (Datos tomados y entregados por FCZ-LAB)

Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Absorbancia
5	0.066
10	0.122
20	0.245
40	0.421
80	0.875
160	1.449

### Curva de calibración Ácido Gálico (FOLIN-CIOCALTEU)





## A.2. Análisis estadístico

Variable analizada: HUMEDAD

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SITIOS	6	45.05	7.50	37.10	0.0000
error	14	2.83	0.20		

Total corregido 20 47.891429

CV (%) = 5.65

Media general: 7.957 Número de observaciones: 21

Test de Tukey para a FV SITIOS

DMS: 1,254

NMS: 0,05

Media armónica del número de repeticiones (r): 3

Error patrón: 0,259

Sitios	Medias	Resultados del test
Boyaca	5.966667	a
Canuto	6.333333	a
San Antonio	7.033333	a
Santa Rita	8.300000	b
Convento	8.533333	b
Eloy Alfaro	9.233333	b c
Ricaurte	10.300000	c





Variable analizada: EXTRAIBLE\_

-----  
TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA  
-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SITIOS	6	3266.76	544.46	1020.16	0.0000
error	14	7.47	0.53		
-----					
Total corregido	20	3274.232295			
-----					
CV (%) =	3.31				
Media general:	22.0561905		Número de observaciones:	21	

-----  
Teste Tukey para a FV SITIOS  
-----

DMS: 2,037

NMS: 0,05  
-----

Media armónica del número de repeticiones (r): 3

Error patrón: 0,421

Tratamientos	Medias	Resultados del test			
San Antonio	3.663333	a			
Santa Rita	12.363333		b		
Canuto	18.606667			c	
Ricaurte	18.623333			c	
Convento	26.103333				d
Boyaca	29.193333				e
Eloy Alfaro	45.840000				f

Variable analizada: FENOLES\_TO

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SITIOS	6	37447.79	6241.29	114080.67	0.0000
error	14	0.76	0.05		

Total corregido 20 37448.561695

CV (%) = 0.41

Média geral: 56.97 Número de observaciones: 21

Test de Tukey para FV SITIOS

DMS: 0,652

NMS: 0,05

Media armónica del número de repeticiones (r): 3

Erro padrão: 0,135

Tratamientos	Medias	Resultados del test			
Eloy Alfaro	6.906667	a			
Ricaurte	22.810000		b		
Convento	29.083333			c	
Boyaca	37.923333				d
Canuto	69.050000				e
San Antonio	101.796667				f
Santa Rita	131.223333				g

Variable analizada: FLAVONOIDE

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SITIOS	6	216.22	36.03	0.82	0.5706
error	14	613.05	43.78		

Total corregido 20 829.284495

CV (%) = 14.05

Media general: 47.093 Número de observaciones: 21

Test de Tukey para FV SITIOS

DMS: 18,454

NMS: 0,05

Media armónica del número de repeticiones (r): 3

Erro padrão: 3,820

Tratamientos	Médias	Resultados del test
Eloy Alfaro	42.240000	a
Santa Rita	43.686667	a
Ricaurte	46.230000	a
Canuto	47.160000	a
Convento	47.850000	a
Boyaca	50.496667	a
San Antonio	51.993333	a



Variable analizada: PUNTO\_DE\_F

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SITIOS	6	3278.47	546.41	72.62	0.0000
erro	14	105.333	7.52		

Total corregido 20 3383.809524

CV (%) = 3.24

Média geral: 84.7619048 Número de observações: 21

Test de Tukey para FV SITIOS

DMS: 7,649

NMS: 0,05

Media armónica del número de repeticiones (r): 3

Error patrón: 1,583

Tratamientos	Medias	Resultados del test
San Antonio	64.333333	a
Canuto	69.000000	a
Boyaca	81.333333	b
Ricaurte	92.666667	c
Eloy Alfaro	93.000000	c
Convento	94.333333	c
Santa Rita	98.666667	c





### A.3. Análisis de Laboratorio



**FCZ-LAB**

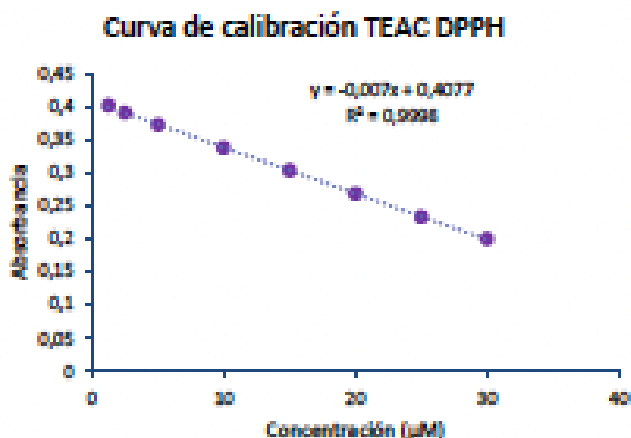
Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**EXTENSIÓN CHONE**

<b>Cliente</b>	Monserate Lara	<b>N° de análisis:</b> 24
<b>Dirección</b>	CHONE	<b>Fecha de recibido</b>
<b>Teléfono</b>	0988232600	1/03/2022
<b>Muestra</b>	Propóleo	<b>Fecha del análisis</b>
<b>Cantidad recibida</b>	5 g por Muestra	18/03/2022
<b>Objetivo del análisis</b>	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propóleos	<b>Fecha de reporte</b> 30/03/2022

#### ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

##### Curva de calibración TROLOX-Método DPPH

Concentración (µM)	Absorbancia
1,25	0,401
2,5	0,39
5	0,372
10	0,337
15	0,303
20	0,268
25	0,233
30	0,2





**FCZ-LAB**

Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**EXTENSIÓN CHONE**

<b>Cliente</b>	Monserate Lara	<b>N° de análisis:</b> 24
<b>Dirección</b>	CHONE	<b>Fecha de recibido</b>
<b>Teléfono</b>	0988252600	1/05/2022
<b>Muestra</b>	Propóleo	<b>Fecha del análisis</b>
<b>Cantidad recibida</b>	5 g por Muestra	18/05/2022
<b>Objetivo del análisis:</b>	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propóleos	<b>Fecha de reporte</b>
		30/05/2022

**Actividad antioxidante equivalente a trolox (TEAC)- MÉTODO DPPH**

Muestra	µmol Equivalente a Trolox / g de muestra seca (soluble en alcohol)		
	1	2	3
T 1	1042,2	1044,44	1032,04
T 2	829,12	831,32	826,2
T 3	918,88	922,44	928,68
T 4	1023,00	1024,24	1030,16
T 5	881,56	884	887,44
T 6	1059,84	1062,84	1093,72
T 7	839,92	837,76	853,52

Método: Espectrofotométrico / DPPH

Referencia: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85632845001.pdf>



**FCZ-LAB**

Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**EXTENSIÓN CHONE**

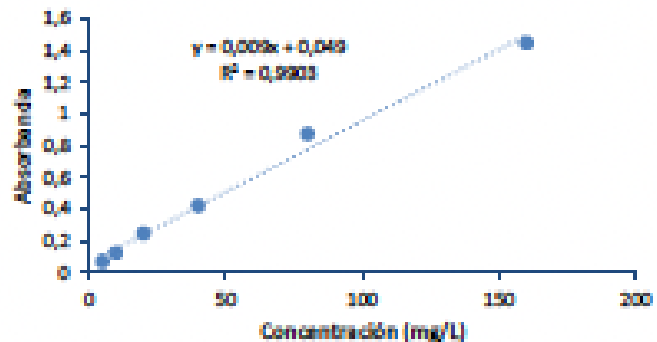
Cliente	Monserate Lara	N° de análisis: 24
Dirección	CHONE	Fecha de recibido
Teléfono	0988252600	1/05/2022
Muestra	Propóleo	Fecha del análisis
Cantidad recibida	5 g por Muestra	18/05/2022
Objetivo del análisis	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propóleos	Fecha de reporte 30/05/2022

**FENOLES TOTALES**

**Curva de calibración ACIDO GÁLICO-Método FOLIN-CIOCALTEU**

Concentración (mg/L)	Absorbancia
5	0,066
10	0,122
20	0,245
40	0,421
80	0,875
160	1,449

**Curva de calibración ácido gálico - Fenoles**



**Fenoles totales equivalente a ácido gálico (GAE)- FOLIN-CIOCALTEU**



**FCZ-LAB**

Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**EXTENSIÓN CHONE**

<b>Cliente</b>	Monserate Lara	<b>N° de análisis:</b> 24
<b>Dirección</b>	CHONE	<b>Fecha de recibido</b>
<b>Teléfono</b>	0988252600	1/05/2022
<b>Muestra</b>	Propóleo	<b>Fecha del análisis</b>
<b>Cantidad recibida</b>	5 g por Muestra	18/05/2022
<b>Objetivo del análisis</b>	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propóleos	<b>Fecha de reporte</b>
		30/05/2022

Muestra	mg Equivalente de ácido gálico / g de muestra seca		
	1	2	3
T 1	28,972	29,122	29,155
T 2	6,901	7,022	6,804
T 3	23,029	22,774	22,632
T 4	130,849	131,394	131,433
T 5	68,809	69,234	69,11
T 6	101,386	101,924	102,077
T 7	37,701	38,038	38,033

Método: Espectrofotométrico / Folin- Ciocalteu

Referencia: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165237013001411>



**FCZ-LAB**

Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**EXTENSIÓN CHONE**

<b>Cliente</b>	Monserate Lara	<b>N° de análisis:</b> 24
<b>Dirección</b>	CHONE	<b>Fecha de recibido</b>
<b>Teléfono</b>	0988252600	1/05/2022
<b>Muestra</b>	Propóleo	<b>Fecha del análisis</b>
<b>Cantidad recibida</b>	5 g por Muestra	18/05/2022
<b>Objetivo del análisis</b>	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propóleos	<b>Fecha de reporte</b> 30/05/2022

Muestra	Extraíble en alcohol etílico (%)		
	1	2	3
T 1	25,750	24,745	27,8111
T 2	45,268	45,9842	46,2666
T 3	18,661	18,611	18,601
T 4	12,696	12,685	11,699
T 5	18,946	17,954	18,9159
T 6	3,554	3,55	3,89
T 7	28,857	29,865	28,8488

Método: Gravimétrico

Referencia: <http://www.scielo.org.co/pdf/bca/v10n1/v10n1a10.pdf>



**FCZ-LAB**

**Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ  
FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS  
EXTENSIÓN CHONE**

<b>Cliente</b>	Monseñate Lara	<b>N° de análisis:</b> 24
<b>Dirección</b>	CHONE	<b>Fecha de recibido</b>
<b>Teléfono</b>	0988252600	1/05/2022
<b>Muestra</b>	Propóleo	<b>Fecha del análisis</b>
<b>Cantidad recibida</b>	5 g por Muestra	18/05/2022
<b>Objetivo del análisis</b>	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propóleos	<b>Fecha de reporte</b> 30/05/2022

Muestra	Insoluble en alcohol etílico (%)		
	1	2	3
T 1	74,250	75,255	72,189
T 2	54,732	54,016	53,733
T 3	81,339	81,389	81,399
T 4	87,304	87,315	88,301
T 5	81,054	82,046	81,084
T 6	96,446	96,450	96,110
T 7	71,143	70,135	71,151

Método: Gravimétrico

Referencia: <http://www.scielo.org.co/pdf/bcaa/v10n1/v10n1a10.pdf>



**FCZ-LAB**

Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**EXTENSIÓN CHONE**

<b>Cliete</b>	Monsestate Lara	<b>N° de análisis:</b> 24
<b>Dirección</b>	CHONE	<b>Fecha de recibido</b>
<b>Teléfono</b>	0988252600	1/05/2022
<b>Muestra</b>	Propóleo	<b>Fecha del análisis</b>
<b>Cantidad recibida</b>	5 g por Muestra	18/05/2022
<b>Objetivo del análisis:</b>	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propóleos	<b>Fecha de reporte</b>
		30/05/2022

Muestra	Ceras (%)		
	1	2	3
T 1	16,28	16,90	15,83
T 2	9,90	9,77	9,72
T 3	12,48	12,48	12,48
T 4	10,78	10,78	10,90
T 5	11,80	11,80	11,93
T 6	19,69	19,69	19,62
T 7	23,79	23,46	23,80

Método: Extracción por convección con n-hexano

Referencia: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n1/a13v63n01.pdf>





**FCZ-LAB**

Investigamos para cambiar el sector Agropecuario  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS**  
**EXTENSIÓN CHONE**

<b>Cliente</b>	Monserate Lara	<b>N° de análisis: 24</b>
<b>Dirección</b>	CHONE	<b>Fecha de recibido</b>
<b>Teléfono</b>	0988252600	1/05/2022
<b>Muestra</b>	Propoleo	<b>Fecha del análisis</b>
<b>Cantidad recibida</b>	5 g por Muestra	18/05/2022
<b>Objetivo del análisis</b>	Realizar caracterización fitoquímica y funcional propoleos	<b>Fecha de reporte</b>
		30/05/2022

Muestra	Punto de fusión (°C)		
	1	2	3
T 1	98	90	95
T 2	91	96	92
T 3	93	94	91
T 4	99	101	96
T 5	67	69	71
T 6	68	60	63
T 7	81	82	81

Método: Thiele

Referencia: [http://www.ssmat.gov.ec/webssmat/marcosmr/ACTA02-13/Anexo 02 Determinaci%F3n del punto de fusi%F3n ver 13.pdf](http://www.ssmat.gov.ec/webssmat/marcosmr/ACTA02-13/Anexo%20Determinaci%F3n%20del%20punto%20de%20fusi%F3n%20ver%2013.pdf)

#### A.4. Normativa NTE INEN 2794



Quito – Ecuador

NORMA  
TÉCNICA  
ECUATORIANA

**NTE INEN 2794**

**PRODUCTOS DE APICULTURA. PROPÓLEOS.  
REQUISITO**

PROPOLIS. REQUIREMENTS

PROYECTO 42

<b>NORMA TÉCNICA ECUATORIANA</b>	<b>PRODUCTOS DE APICULTURA. PROPÓLEOS. REQUISITOS</b>	<b>NTE INEN 2794:2015</b>
--	---	-------------------------------

## 1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos del propóleo producido por las abejas *Apis mellifera*.

## 2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son referidos en este documento y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN 1631, *Miel de abejas. Muestreo*

NTE INEN CODEX CAC/MRL 1, *Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas*

NTE INEN CODEX CAC/MRL 2, *Límites Máximos para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos*

NTE INEN-CODEX 193, *Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos*

## 3. TERMINOS Y DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

**3.1 Propóleo.** Producto compuesto de sustancias resinosas, gomosas y aromáticas, ceras, aceites esenciales, polen y microelementos, de consistencia viscosa, elaborado por las abejas (*Apis mellifera*) a partir de ciertas especies vegetales, que son transportadas al interior de la colmena y modificadas parcialmente con sus secreciones salivales. La composición de los propóleos puede variar, según las fuentes vegetales de origen, y de su función específica dentro de la colmena.

**3.2 Balsámico.** Aroma propio de las resinas vegetales (por ejemplo: pino, eucalipto, etc).

## 4. REQUISITOS

### 4.1 Requisitos generales

**4.1.1** Los materiales que se utilicen en la recolección del propóleo deben estar limpios y libres de sustancias que lo contaminen.

**4.1.2** El propóleo no debe contener sustancias extrañas o posibles impurezas visuales.

**4.1.3** En la inspección visual, el propóleo debe tener un olor característico del producto (resinoso o aromático) y un sabor que puede variar de suave y balsámico a fuerte y picante, según su origen botánico o geográfico.

### 4.2 Requisitos específicos

**4.2.1 Requisitos físico-químicos.** El propóleo debe tener los requisitos físicos y químicos que se mencionan en la tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos físicos y químicos**

REQUISITO	UNIDAD	Mín.	Máx	MÉTODO DE ENSAYO
-----------	--------	------	-----	------------------

Pérdida por calentamiento	% <sup>a</sup>	-	10,0	Anexo A.2
Cenizas	%	-	5,0	Anexo A.3
Sustancias extraíbles en n-hexano (ceras)	%	-	35,0	Anexo A.4
Sustancias solubles en etanol	%	35,0	-	Anexo A.5
Impurezas mecánicas	%	-	25,0	Anexo A.6
Compuestos fenólicos totales, expresados como ácido gálico	%	5,0	-	Anexo A.7
Flavonoides	%	1,0	-	Anexo A.8
Índice de oxidación	s	-	22	Anexo A.9
Espectro de absorción al UV	nm	270	315	Anexo A.10
<sup>a</sup> Porcentaje de fracción de masa				

**4.2.2 Aditivos.** No se debe agregar aditivos de ningún tipo al propóleo.

**4.2.3 Contaminantes.** El propóleo no debe tener metales pesados en cantidades superiores al máximo permitido en la NTE INEN-CODEX 193.

**4.2.4 Residuos de plaguicidas.** El propóleo no debe tener residuos de plaguicidas en cantidades superiores al máximo permitido en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 1.

**4.2.5 Residuos de antibióticos y medicamentos veterinarios.** Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para serán los establecidos en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 2.

**4.2.6 Requisitos complementarios.** El almacenamiento se debe llevar a cabo en un lugar fresco y seco.

## 5. INSPECCIÓN

**5.1 Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 1631.

**5.2 Aceptación o rechazo.** Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

## 6. ENVASADO

El propóleo debe ser envasado en recipientes inocuos y seguros, que no alteren las características y composición del producto. Además, el envase debe dar al producto una protección adecuada respecto de la humedad y la temperatura excesiva. El envasado de propóleos debe efectuarse en envases opacos para que la incidencia de la luz sea menor.

## INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

---

<b>Documento:</b>	<b>TÍTULO: PRODUCTOS DE APICULTURA. PROPÓLEOS.</b>	<b>Código ICS:</b>
<b>NTE INEN 2794</b>	<b>REQUISITOS</b>	<b>65.140</b>

ORIGINAL:

Fecha de iniciación del estudio:

REVISIÓN:

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma Oficialización con el Carácter de por Resolución No. publicado en el Registro Oficial No.

Fecha de iniciación del estudio:

---

Servicio Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno E8-29 y Av. 6 de Diciembre  
Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2)2 501885 al 2 501891

Dirección Ejecutiva: E-Mail: [direccion@normalizacion.gob.ec](mailto:direccion@normalizacion.gob.ec)

Dirección de Normalización: E-Mail: [consultanormalizacion@normalizacion.gob.ec](mailto:consultanormalizacion@normalizacion.gob.ec) Dirección Zonal

Guayas: E-Mail: [inenguayas@normalizacion.gob.ec](mailto:inenguayas@normalizacion.gob.ec) Dirección Zonal Azuay: E-Mail:  
[inencuenca@normalizacion.gob.ec](mailto:inencuenca@normalizacion.gob.ec)

Dirección Zonal Chimborazo: E-Mail: [inenriobamba@normalizacion.gob.ec](mailto:inenriobamba@normalizacion.gob.ec)

[URL:www.normalizacion.gob.ec](http://www.normalizacion.gob.ec)