



**Pesquizaje de diferentes parámetros en propóleos de la provincia de Holguín;  
Cuba**

**Screening procedure of different parameters in propolis from Holguin province;  
Cuba**

**Autor(es):** MSc. Gisela Valdés González<sup>1</sup>, Lic. Mario Fajardo Cárdenas<sup>1</sup>, Téc. Yaneisy Naranjo Alonso<sup>1</sup>, Téc. Rosalina García Neninger<sup>1</sup> y Téc. Arelys Pérez Nápoles<sup>1</sup>.

1-Centro de Investigaciones Apícolas, Carretera de El Cano a El Chico km/0.Arroyo Arenas, La Lisa, La Habana, Cuba. Teléfono: 72020890.

[microbiología2ciapi.minag.cu](mailto:microbiología2ciapi.minag.cu)

**Recibido:** 20 - 6- 2016

**Aprobado:** 19 -7- 2016

## **RESUMEN**

Se plantea la marcada relación entre el origen vegetal del propóleo y sus características químicas, organolépticas y biológicas, lo que hace que existan diferentes tipos de propóleos, por lo que se deben determinar las particularidades de los mismos en cada una de las regiones. La amplia diversidad en la composición química de este producto apícola y su empleo ya generalizado en la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia han traído como consecuencia la necesidad del control de su calidad y su normalización. Este trabajo tuvo como objetivo conocer el comportamiento de parámetros fisicoquímicos y el efecto antimicrobiano de propóleos recolectado por el sistema de raspado en diferentes apiarios pertenecientes a la provincia de Holguín. Se realizó la determinación de la humedad, índice de oxidación, sustancias solubles en n-hexano, sustancias solubles en alcohol e impurezas mecánicas por Soxhlet, también se determinó la actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se obtuvo como resultado que los valores medios del contenido de sustancias solubles en n-hexano y contenido de sustancias solubles en alcohol no cumplieron con las especificaciones de otros países. Las impurezas mecánicas, la humedad o pérdida por calentamiento y el Índice de oxidación tuvieron valores medios inferiores a los límites admisibles establecidos en las legislaciones o normativas conocidas de otros países.

Todas las muestras de propóleos presentaron efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Palabras clave:** Propóleos, parámetros fisicoquímicos, efecto antimicrobiano.

## **ABSTRACT**

The strong relationship between plant origin of propolis and its chemical, organoleptic and biological characteristics arises, which means that there are different types of propolis, which should determine the characteristics of it in each of the regions. The wide diversity in the chemical composition of this bee product and its widespread use in the food and pharmaceutical, cosmetic and alimentary have resulted in the need for quality control and standardization. This study aimed to understand the behavior of physical-chemical parameters and anti-microbial effect of propolis collected by scraping the system in different apiaries belonging to the province of Holguin. By determining moisture, oxidation rate, soluble substances in n-hexane, soluble in alcohol and mechanical impurities by Soxhlet substances, the antibacterial activity was also determined against the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. It was obtained

as a result that the mean values of soluble solids content in n-hexane soluble content of alcohol did not meet the specifications of other countries. While mechanical impurities, moisture or heat loss and oxidation index were lower than the permissible limits established in the laws or regulations of other countries known average values. All propolis samples showed antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC strain 25923.

**Keywords:** Propolis, physic-chemical parameters, anti-microbial effect.

## **INTRODUCCION**

El propóleo es un producto de la colmena formado por resinas que las abejas recolectan de ciertas especies de plantas, de las flores y brotes de las hojas, las cuales mezclan con la saliva, enzimas y otras secreciones propias de las abejas.

Este producto es muy apreciado por sus actividades biológicas antibacteriana, antiviral, antifúngica, anticancerígena, antioxidante, cicatrizante, inmunoestimulante, anestésica, analgésica y fitoinhibidora, entre otras. Estas características están relacionadas con su composición química, origen botánico, época de recolección y la especie de abeja recolectora. Durante los últimos 30 años se ha retomado su uso en diversos países como Argentina, Brasil, China, Japón y México, para el tratamiento de diversos padecimientos, tales como diabetes, quemaduras, faringitis y úlceras estomacales, así como también en la industria alimenticia. Debido a su composición diversa, el propóleo posee características muy complejas, por lo que su empleo a nivel industrial, trae como consecuencia la necesidad de establecer normalización y controles de calidad, tomando como punto de partida su origen botánico, composición química, propiedades biológicas, características fisicoquímicas y organolépticas, así como su toxicidad. Conocer el comportamiento de determinados parámetros físico-químicos permite establecer o dirigir la obtención de este producto apícola con vista a lograr producciones de mejor calidad biológica y mejores rendimientos. Es el contenido de ceras, un parámetro que influye notablemente en la calidad del propóleo, así como lo es el contenido de resina soluble en etanol, que cuanto mayor sea el valor de esta fracción mejor será, en términos de rendimiento, la calidad del producto final, puesto que es allí donde se encuentran los compuestos con actividad biológica. Para el caso del índice de oxidación es una referencia de la presencia de compuestos oxidables, este indicador es un parámetro ampliamente utilizado para evaluar los propóleos, ya que se relaciona con algunas de sus actividades biológicas y con la presencia de compuestos fenólicos. Así como, la humedad es un factor desfavorable porque crea condiciones propicias para el desarrollo de algunas especies de mohos y fermentaciones en el almacenamiento de muestras crudas. Se hace necesario determinar patrones de calidad de este producto, la obtención de propóleos con bajos niveles de cera, impurezas mecánicas, índice de oxidación y humedad y con altos valores de resina proporciona un producto con calidad. Este trabajo tuvo como objetivo conocer el comportamiento de parámetros fisicoquímicos y el efecto antimicrobiano de propóleos, recolectado por el sistema de raspado en diferentes apiarios pertenecientes a la provincia de Holguín.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se trabajó con 17 muestras de propóleos recolectadas por el sistema de raspado, en diferentes apiarios pertenecientes a la provincia de Holguín (ver tabla No.1), las cuales fueron conservadas en congelación hasta su estudio. Antes de iniciar las determinaciones en el laboratorio, se procedió a acondicionar la muestra eliminando las impurezas visibles que acompañan al propóleos, tales como: virutas de madera, partes de abejas, partículas de cera, restos de pintura, restos vegetales, etc. y posteriormente fueron trituradas con el empleo de mortero. El estudio físico-químico consistió en la determinación de la humedad a 105°C, índice de oxidación, sustancias solubles en n-hexano (contenido de cera), sustancias solubles en alcohol e impurezas mecánicas por Soxhlet. También se determinó la actividad antibacteriana a los extractos hidroalcohólicos obtenidos de una maceración en etanol al 70% y ajustados al 5% de Sólidos Solubles Totales (SST), los que fueron enfrentados a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 proveniente de cultivos de 18 horas, a una concentración de  $10^8$  células por mL empleando para ello el método de difusión radial en doble capa de medio agarizado con cortes cilíndricos en Agar Mueller Hinton.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados obtenidos del contenido de sustancias solubles en n-hexano o contenido de cera (ver tabla No.2), como generalmente se denomina al proceso de extracción con este solvente, estuvieron entre los valores 31,45 y 70,97% con un valor medio de 60,15%, donde solo una muestra estuvo por debajo del 35%, que es el valor máximo admitido de especificación de calidad para este parámetro. Al comparar con legislaciones de otros países donde consideran 25 y 30% los valores máximos admitidos, ninguna de las muestras de propóleos cumplieron con este parámetro. Por lo tanto, los propóleos analizados quedaron mayoritariamente fuera de los estándares establecidos para la presencia de sustancias solubles en n-hexano o contenido de cera. Cupull-Santana y col encontraron en propóleos cubanos, obtenidos por raspado procedentes de las provincias de Villa Clara, Cienfuegos y Sancti Spíritus, que los valores de sustancias extraíbles con éter de petróleo fueron 53,2, 51,21 y 45,22%, respectivamente y que tampoco cumplieron con el valor admisible para este parámetro, estuvieron también altos como los obtenidos en este estudio. Los valores de cera también fueron superiores a los encontrados por Chaillou y col cuyo valor medio fue de 30,04%, sin embargo, estuvieron más cercanas y en algunos casos inferiores, para muestras de propóleos de Colombia cuyo valor medio fue de 74,32% de sustancias extraíbles con n-hexano. Al comparar con los resultados obtenidos por

Álvarez en tres muestras de Perú, que correspondieron a los valores de 20, 51 y 63% de ceras, encontraron variabilidad donde solo uno de sus muestras estuvo dentro de los límites admisibles.

Los valores altos de cera encontrados en este estudio pueden deberse al sistema de recolección empleado (raspado) o también a una deficiente vegetación presente en el apiario y por tanto la abeja para cubrir o sellar espacios, incorpora mayor cantidad de cera al no disponer de suficientes resinas; hay que destacar que en todos los casos fue propóleo fresco, recogido para este estudio. También pudo estar influenciado estos valores altos de cera por el método aplicado que determina otras sustancias extraíbles en n-hexano distintas de las ceras, no obstante, denominan este requisito como: ceras diversas normativas y trabajos de investigación, empleando este mismo procedimiento analítico. El contenido de sustancias solubles en alcohol o resinas del propóleo bruto (ver tabla No. 2), estuvieron entre 4,55 y 56,97% para un valor medio de 21,79%, solo 3 muestras de las 17 analizadas tuvieron valores por encima del 35%, valor mínimo de calidad, para este parámetro recogido en las especificaciones de otros países. Cupull-Santana y col en su estudio en los propóleos procedentes de las provincias de Villa Clara, Cienfuegos y Sancti Spíritus, obtuvieron también valores bajos de sustancias solubles en alcohol (15.34, 13.34 y 12.82%), respectivamente.

El valor medio encontrado en el presente trabajo estuvo por debajo también de los obtenidos por Chaillou, y col cuyo valor medio fue de 44.7%, pero algunas muestras presentaron valores superiores a los encontrados por Palomino y col en propóleos de Colombia y Álvarez con valores medios de 14.08% y 20.66%, respectivamente.

El mayor número de muestras analizadas no cumplieron con ese valor mínimo internacional, de igual forma que lo analizado para el contenido de cera, se puede plantear que la fuente de resina fue baja o escasa.

Las 3 muestras que tuvieron un contenido de resina por encima de 35% su contenido de cera también quedaron fuera del rango aceptable referido en la información de otros países.

Con respecto a los resultados de las impurezas mecánicas, los valores variaron entre 0,95 y 18,9% con un valor medio de 10,16%, donde todas las muestras estuvieron por debajo del 25%, límite máximo considerado por la Norma Argentina. Para el caso de otras normativas los valores máximos considerados son de 40 y 30% (13,14).

Por lo tanto, para este parámetro los propóleos estudiados cumplieron con las legislaciones establecidas en Brasil, Salvador y Argentina y además fueron también inferiores a los encontrados por Chaillou y col y Álvarez, que encontraron una media de 24.06 y 26%, respectivamente.

El comportamiento de la humedad tuvo valores mínimo y máximo de 4.07 y 13.44% respectivamente, con un valor medio de 7,44%. Para este parámetro 15 muestras de los propóleos estudiados cumplieron con las normativas de Brasil y El Salvador cuyo valor máximo admitido es del 8% y del 10% para la Norma de Argentina.

Estos resultados fueron superiores a los encontrados por Cupull-Santana y col, en los propóleos cubanos procedentes de las provincias de Villa Clara, Cienfuegos y Sancti Spíritus, donde obtuvieron valores bajos de humedad correspondiéndose a 2.75, 2,43 y 2.13% respectivamente.

Hay que tener en cuenta que las normativas denominan este requisito de humedad como pérdida por calentamiento y que determina no sólo humedad sino también otras sustancias volátiles en las condiciones de ensayo, lo que pudiera estar sucediendo en las muestras que quedaron fuera de los parámetros establecidos .Por otro lado, esta determinación es considerada como un indicador del manejo y ambiente en que se ha producido y cosechado el propóleos.

Los resultados del comportamiento del Índice de oxidación (ver tabla No.2), estuvieron entre los valores mínimos y máximos de 0,0 y 39.0 segundos respectivamente, donde 11 de las muestras cumplieron con el valor admisible de un máximo de 22 segundos. Estas variaciones pueden asociarse con el tipo de compuestos presentes en los extractos analizados, que no necesariamente contienen flavonoides pudiendo existir otros compuestos que le confieren propiedades diferentes a los propóleos, los cuales modificarían la respuesta del índice de oxidación.

No obstante a los valores encontrados, el valor medio de este estudio fue de 20,05 segundos inferior al límite admisible (22 segundos), pero fue superior al encontrado por Chaillou y col, que obtuvieron una media de 9.85 segundos.

Con respecto a la actividad antimicrobiana (ver tabla No.2), se encontró que todos los extractos de propóleos obtenidos de la maceración en alcohol al 70% y que fueron ajustados a una concentración de SST del 5% presentaron efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Los valores de los halos de inhibición variaron entre los límites mínimos y máximos de 10,6 (para una muestra solamente) y 26mm de diámetro respectivamente, para un valor medio de 20,25mm.

Varios estudios han encontrado la presencia de una efectividad del propóleos frente a la cepa *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, Manrique encontró igualmente a este trabajo un efecto inhibitorio de los extractos etanólicos de propóleos frente a esta misma cepa bacteriana, utilizando la misma concentración de inóculo y un procedimiento similar obteniendo como valor

medio 23.9mm (algo superior al del presente trabajo) y donde plantea la utilización de este microorganismo como bacteria de prueba.

Todos los estudios conocidos sobre los resultados de la sensibilidad de esta cepa frente al propóleo, avalan las normativas cubanas de especificaciones de calidad para extractos fluidos de propóleo, que tiene incluida el empleo de esta bacteria para determinar el efecto antimicrobiano de este producto apícola, como un modo de conocer o monitorear la presencia de la calidad biológica del mismo.

## **CONCLUSIONES**

El valor medio del contenido de sustancias solubles en n-hexano o contenido de cera se comportó por encima del máximo admitido en especificación de calidad internacional.

El contenido de sustancias solubles en alcohol o resinas del propóleo bruto estuvieron por debajo del valor mínimo de calidad para este parámetro recogido en las especificaciones de otros países.

Las impurezas mecánicas estuvieron por debajo de los límites máximos recogido en las especificaciones de otros países.

La humedad o pérdida por calentamiento se comportó por debajo de los límites máximos recogido en las especificaciones de otros países.

El valor medio del Índice de oxidación fue inferior al límite máximo recogido en las especificaciones de otros países.

Todas las muestras de propóleo presentaron efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, M.S. (2012). *Caracterización organoléptica y físico química de propóleos del Departamento de la Libertad*, Perú. The Biologist. (Lima). Vol 10, No. 1
- Arrate, L. 2008. *Propóleos, el antibiótico natural de la colmena*. Sustrai: Revista Agropesquera 13 (85), 56-61.
- Carrillo, M.I, Castillo, M.L y Mauricio, R. (2011). *Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina* (México) Información Tecnológica Vol. 22(5), 21-28 La Serena. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642011000500004>
- Cupull-Santana, R.D, Cortés-Rodríguez, R, Olazábal-Manso, E.E y Hernández-Medina, C.A. (2013). *Actividad antifúngica de propóleos obtenidos en tres provincias de Cuba sobre hongos contaminantes en cultivo de tejidos vegetales*. Universidad de Guanajuato. Acta Universitaria. Vol. 23 No. 6
- Chaillou LL & Nazareno MA. (2009). *Bioactivity of propolis from Santiago del Estero, Argentina*, related to their chemical composition. Food Sci. Technol. 42: 1422-1427.
- Chaillou, L.L; Herrera, H.A y Maidana, J.F. (2004). *Estudio del propóleos de Santiago del Estero, Argentina*. Cienc.Tecnol. Aliment. Vol 24, No. 1
- Choi YM, Noh DO, Cho SY, Suh HJ, Kim KM, y Kim JM. (2006). *Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea*. LWT- Food Science and Technology. 39:756-761
- Farré R, Frassetto I & Sánchez A. (2004). *El própolis y la salud*. Ars Pharm. 45: 23-43.
- Gregoris E, Fabris S, Bertelle M, Grassato L, Stevanato R. (2011). *Propolis as potential cosmeceutical sunscreen agent for its combined photo protective and antioxidant properties*. Int J. Pharm. 405: 97-101.
- Instrução normativa nº 3.2001 Legislação. Anexo VI. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis.
- Lozina, L.A, Peichoto, M.E, Acosta, O.C y Granero, G.E. (2010). *Estandarización y Caracterización Organoléptica y Físico-Química de 15 Propóleos Argentinos*. Lat. Am. J. Pharm. 29 (1): 102-10
- Manrique AJ y Santana WC. (2008). *Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, Melipona quadrifasciata, Melipona compressipes, Tetragonisca angustula y Nannotrigona sp. de Brasil y Venezuela*. Zootecnia Trop. 26: 157-166.
- Martínez G.J, García, P.C, Durango, R.D, Gil, G.J. (2012). *Caracterización de propóleos provenientes del municipio de Caldas obtenido por dos métodos de recolección*. Rev.MVZ Córdoba 17(1):2861-2869.

- Manrique, A.J. (2006). *Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela*. Efecto de la variación estacional Zootecnia Tropical, Vol. 24, No. 1, pp. 43-53
- Norma Argentina. (2008). *Propóleos en Bruto*. Norma IRAM-INTA 15935-1. Instituto Argentino de Normalización. Buenos Aires, Argentina
- Norma Salvadoreña Obligatoria. (2003). *Calidad del Propóleos Crudo*. Norma NSO 65.19.02:03. CONACYT. Diario Oficial. Tomo 360. San Salvador, El Salvador.
- NRAG. 272.2013 Apicultura. Extractos de propóleos. Especificaciones de Calidad
- Palomino Garcia, Lady Rossana y col. (2010) *physicochemical characterization and antimicrobial activity of propolis from municipality of la union (antioquia, colombia)*. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín [online]. vol.63, n.1, pp. 5373-5383. ISSN 0304-2847
- Papotti G, Bertelli D, Bortolotti L, Plessi M. (2012). *Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods*. J. Agric Food Chem. 60: 2852-2862.
- Peña, R.C. (2008). *Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos*. Cien. Inv. Agr. 35(1): 17-26. [www.rcia.puc.cl](http://www.rcia.puc.cl)
- .Salamanca, G.G, Correa, I.L y Principal, J. (2007). *Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos*. Zootecnia Tropical 25(2):95-102.
- Valencia D, Alday E, Robles-Zepeda R, Garibay- Escobar A, Gálvez-Ruiz JC, Salas-Reyes M., Jiménez-Estrada M, Velázquez- Contreras E, Hernández J, Velázquez C. (2012). *Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis*. Food Chem. 131: 645-651.
- Vargas-Sánchez RD, Torrescano-Urrutia GR, Mendoza-Wilson AM, Vallejo-Galland B, Acedo-Félix E, Sánchez- Escalante JJ, Peñalba-Garmendia MC y Sánchez-Escalante A. (2013). *Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante Antibacteriana del propóleos*. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. Volumen XVI, Número 1. [www.biotechia.uson.mx](http://www.biotechia.uson.mx)
- Velázquez, C., Navarro, M., Acosta, A., Angulo, A., Domínguez, Z., Robles, R., Robles-Zepeda, R., Lugo, E., Goycoolea, F.M., Velázquez, E.F., Astiazaran, H. y Hernández, J. (2007). *Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis*. Journal of Applied Microbiology. 103: 1747–1756.
- Yang H, Dong Y, Du H, Shi H, Peng Y, Li X. (2011). *Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China*. Moléculas 16: 3444-3455.

Tabla No.1. Información de la procedencia de las muestras de propóleos.

No	Municipio	Apiario	Fecha de recolección	Tipo de Apiario
1	Sagua de Tánamo	Guagui	01/2015	Orgánico
2	Sagua de Tánamo	La Demajagua	01/2015	Orgánico
3	Frank País	No.1 El Quemado	04/2014	Orgánico
4	Frank País	Tánamo	01/2015	Orgánico
5	Frank País	Collaso	01/2015	Orgánico
6	Banes	Retrete 2	02/2015	Orgánico
7	Banes	Boca de Goma	02/2015	Producción
8	Banes	La Vealda	02/2015	Producción
9	Báguano	La Cueva	02/2015	Producción
10	Gibara	Loma alta	02/2015	Producción
11	Cueto	Birán	11/2014	Producción
12	Sagua de Tánamo	El Sitio	11/2014	Producción
13	Procedente de la producción almacenada en la UEB			
14	Cueto	Centro 4	01/2015	Orgánico
15	Rafael Freyre	Santa Rosa	01/2015	Orgánico
16	Rafael Freyre	Vita	01/2015	Orgánico
17	Mayarí	Colorado	01/2015	Producción

Leyenda: UEB Unidad Empresarial Básica

Tabla No.2. Resultados de los parámetros físico químicos y antibacteriano encontrados en las muestras de propóleos estudiadas.

No. muestr	Cera (%)	Resina (%)	Impurezas mecánicas (%)	Humedad (%)	Índice de oxidación (segundos)	Halo de Inhibición (mm)
1	70,9	18,3	9,0	10,26	19	21,3
2	67,9	31,9	6,2	11,26	11	24,6
3	55,9	42,3	2,6	13,28	22	24,6
4	57,2	36,7	6,3	11,22	25	23,3
5	42,8	56,9	4,3	13,44	10	22,6
6	62,1	11,8	16,9	7,26	39	20,6
7	69,6	6,2	15,2	4,54	27	24,0
8	62,9	18,4	10,8	4,46	37	20,0
9	66,2	7,8	16,3	4,08	36	22,6

---

11	65,0	21,6	4,4	6,85	19	16,0
12	66,3	4,5	11,7	6,65	29	19,3
13	59,8	13,6	10,5	4,26	21	18,6
14	53,9	12,1	11,5	5,94	0	10,6
15	61,9	14,2	0,95	4,79	13	20,0
16	31,45	9,75	18,9	8,01	7	24,6
17	66	43,4	16,4	6,25	6	19,3
Valor						
Medio	60,15	21,79	10,16	7,44	20,05	20,25

---