



## Estandarización y Caracterización Organoléptica y Físico-Química de 15 Propóleos Argentinos

Laura A. LOZINA <sup>1\*</sup>, María E. PEICHOTO <sup>1</sup>, Ofelia C. ACOSTA <sup>1</sup> & Gladys E. GRANERO <sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2139 (3400) Corrientes, Argentina.*

<sup>2</sup> *Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.*

**RESUMEN.** El propóleo es una mezcla de composición química compleja que posee propiedades biológicas de gran interés para fines terapéuticos. Existen distintos tipos de propóleos que difieren en su composición química de acuerdo a su origen botánico. En la actualidad se carece de un estándar de calidad de propóleos. Por esta razón, en este trabajo fueron determinados los caracteres organolépticos, propiedades físico-químicas y el contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides de 15 muestras de propóleos recolectadas de diferentes regiones de Chaco, Corrientes, Santiago del Estero y Mendoza, para así brindar una estandarización que permita producir medicamentos de propóleos de seguridad y eficacia demostrable. Se encontró gran variación en las propiedades de los diferentes propóleos estudiados, incluso de aquellos provenientes de una misma región. Los propóleos difirieron principalmente en su contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, siendo significativamente superiores en los propóleos originarios de Mendoza, donde la vegetación más abundante pertenece a *Populus* sp.

**SUMMARY.** "Standardization and organoleptic and physicochemical characterization of 15 Argentinean Propolis". Propolis is a mixture of complex chemical composition that possesses biological properties of great interest for therapeutic purposes. Different types of propolis exist, which differ in its chemical composition according to its botanical origin. At present, there is not a quality standard for propolis. For this reason, in this work the organoleptic characteristics, the physicochemical properties, the total content of phenolic compounds and the flavonoid composition of 15 samples of propolis collected from different regions of Chaco, Corrientes, Santiago del Estero, and Mendoza were determined, for providing an standardization that allows the production of effective and safe propolis products. It was found great variation in the properties of the different studied propolis, even of those from the same region. Principally, propolis differed in its phenolic and flavonoids content, being significantly higher in propolis from Mendoza, where the most abundant vegetation belongs to *Populus* sp.

### INTRODUCCION

El propóleo es una sustancia gomo-resinosa, producto del procesamiento, por parte de las abejas *Apis mellifera*, de resinas vegetales de variado tipo. Su composición es muy compleja ya que depende de su origen botánico y de las condiciones geográficas y climáticas donde se encuentren las plantas que producen las resinas. Durante la colecta del propóleos, las abejas mezclan cera y las resinas con una enzima 13-glicosidasa presente en su saliva, provocando la

hidrólisis de los flavonoides glicosados en flavonoides agliconas <sup>1</sup>. Posteriormente lo transportan al interior de la colmena, para ser utilizado con diferentes fines <sup>2</sup>. Debido a la participación de la abeja, la composición del propóleos difiere de las resinas vegetales, pudiendo considerarse por lo tanto, un producto de origen mixto, vegetal y animal <sup>3</sup>. La importancia del propóleos como "arma química" de las abejas para proteger la colmena de microorganismos patógenos, ha atraído la atención de numerosos científicos,

**PALABRAS CLAVE:** *Apis mellifera*, Caracterización, Compuestos fenólicos, Estandarización, Flavonoides, Propóleos.

**KEY WORDS:** *Apis mellifera*, Characterization, Flavonoids, Phenolic compounds, Propolis, Standardization.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: lauratt1@hotmail.com

quienes por más de 30 años han publicado sobre la composición química, la actividad biológica y farmacológica del propóleo<sup>4</sup>. La dependencia geográfica en los constituyentes del propóleo se ve ejemplificada en análisis realizados en muestras provenientes de Europa, Sudamérica, China, Canadá y España<sup>5,6</sup>. Un análisis primario de cualquier muestra de propóleo permitirá determinar, en líneas generales, la presencia de cera íntimamente mezclada en proporciones de 20-30%, resinas y bálsamos aromáticos (40-50%), aceites esenciales (5-10%), polen (4-5%) e impurezas mecánicas (10-30%). Cada región presenta distinta flora, dependiendo de la temperatura, las precipitaciones, el tipo de suelo, la humedad relativa, la insolación y la evapotranspiración, lo que implica una variación en la composición de los propóleos<sup>7</sup>.

En Europa, América del Norte y oeste de Asia, la fuente dominante del propóleo es el exudado de brotes de álamos, especie vegetal perteneciente al género *Populus*. En cambio en América del Sur esta especie no es nativa, existiendo una gran variedad de especies vegetales para la obtención de la resina lo que dificulta la correlación del propóleo con la fuente productora<sup>8</sup>. Distintos tipos de propóleos han sido definidos de acuerdo al origen botánico y a su composición química, entre ellos se describen los de tipo álamo antes mencionado, tipo abedul (*Betula verrucosa*) provenientes de Rusia, propóleo verde de Brasil (*Baccharis* sp), Propóleo rojo en Venezuela y Cuba (*Clusia* sp)<sup>9</sup>.

Park *et al.*<sup>8</sup> reportaron similitud en estudios realizados sobre propóleos procedentes del sur de Brasil, Argentina (Tucumán y Buenos Aires) y Uruguay, realizando un perfil fitoquímico comparativo mediante el cual demostraron que el origen botánico de estos propóleos es la especie vegetal *Populus alba*.

Estudios realizados sobre 65 muestras de propóleos procedentes de diferentes regiones de Cuba, han permitido sugerir una tipificación para los propóleos procedentes de este país. Así se tienen los propóleos pardos (tipo I) a partir de los cuales se pueden obtener extractos pardos rojizos, los que se caracterizan químicamente por la presencia de nemorosona; los propóleos rojos (tipo II) que son de color rojo y en su composición química prevalecen los isoflavonoides, fundamentalmente vestitol, medicarpina, neovestitol e isosativan; y los propóleos amarillos (tipo III) que han sido menos estudiados en comparación con los anteriores; sin embargo, se

conoce que en sus extractos predominan compuestos alifáticos, probablemente triterpenos<sup>10</sup>.

Argentina es un país que por su extensión geográfica ofrece una gran variedad de especies botánicas. Debido a ello, son varios los grupos de propóleos que se podrían definir; sin embargo, éstos aun no han sido clasificados. En función de que esta clasificación debe ser realizada a partir de la caracterización de propóleos, el propósito del presente trabajo fue determinar las características organolépticas y las propiedades físico-químicas de propóleos en bruto y sus extractos recolectados de distintos puntos geográficos de Argentina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Muestras de propóleos*

Un total de 15 muestras de propóleos, obtenidas por el método de raspado de colmenas ubicadas en diferentes provincias argentinas (Chaco, Corrientes, Mendoza, Santiago del Estero), fueron seleccionadas para el presente trabajo. Cada muestra fue fraccionada y una porción de 20 g fue utilizada para el análisis de los caracteres organolépticos y fisicoquímicos. El material restante fue mantenido a temperatura de -20 °C.

### *Caracterización del propóleo crudo*

#### *Caracteres organolépticos*

El aspecto, la consistencia, el color, el olor y el sabor se determinaron mediante pruebas sensoriales descriptivas, realizadas por un grupo de 10 personas con cierto adiestramiento que calificaron los atributos, en sesiones de 5 muestras cada una, utilizando escalas de intervalo. Las escalas fueron de 5 puntos para el aspecto (polvo, granulado, trozos irregulares opacos, trozos irregulares con poco brillo, trozos irregulares con brillo), de 2 puntos para la consistencia (rígida, maleable), para el olor (resinoso, aromático) y para el sabor (dulce, amargo, picante, insípido, resinoso), y de 10 puntos para el color (distintas tonalidades de marrón y negro, con diversos tintes)<sup>11</sup>. Para el análisis se colocaron las muestras, codificadas, en frascos de vidrio oscuros, con tapa a rosca y se conservaron a 25 °C durante 3 días, al cabo de los cuales se evaluaron, primeramente, el olor y el sabor, y luego el resto de los caracteres comparando cada muestra con controles adecuados. El aspecto se determinó por observación visual, la consistencia por opresión de la muestra con los dedos, el color mediante la comparación con una escala de colores.

*Residuo seco, libre de humedad y sustancias volátiles (Peso seco)*

En una cápsula se colocaron 10 g de propóleos finamente molido, se calentó a 100 °C durante 5 h, se colocó en desecador y se pesó hasta peso constante. La cápsula con la muestra así tratada se reservó para la determinación de cenizas. Los resultados se expresaron como un porcentaje del peso original de propóleos en bruto <sup>12</sup>.

*Determinación de cenizas*

La determinación de cenizas se realizó por calcinación en mufla a 550 °C, se llevó a desecador, se pesó hasta constancia de masa, lo cual se verifica cuando dos pesadas sucesivas no difieren entre sí en más de 5 mg <sup>13,14</sup>.

*Determinación de impurezas mecánicas, ceras y preparación de los extractos*

La determinación de impurezas mecánicas se realizó tomando 10 g de propóleos, los cuales se extrajeron a reflujo con etanol al 80% durante 6 h en equipo Soxhlet. Las impurezas mecánicas se secaron en estufa a 105 °C durante 2 h. El residuo se dejó enfriar en desecadora y se pesó <sup>13-15</sup>.

Los extractos obtenidos a través del extractor de Soxhlet se mantuvieron a -20 °C durante la noche para inducir la cristalización de la cera y filtrar a continuación a una temperatura de aproximadamente 0°C, y de esa manera extraer la cera del extracto. El residuo sólido ceroso se dejó secar a temperatura ambiente en campana de extracción. Posteriormente se llevó a calentamiento en estufa a 50°C durante 10 min hasta peso constante, de acuerdo a la Norma Salvadoreña <sup>16</sup>.

**Caracterización de los extractos etanólicos**

Todos los extractos etanólicos del propóleos (EEP), después de la extracción de la cera, se transvasaron cuantitativamente a un matraz aforado de 100 mL y se llevaron a volumen con etanol <sup>17</sup>. Se tomaron 50 mL y se colocaron en un balón de destilación previamente pesado, se evaporaron hasta sequedad y se pesaron para obtener el rendimiento. Los resultados se expresaron como un porcentaje del peso original de propóleos en bruto. El volumen restante se colocó en un frasco color caramelo, con tapa y con capacidad adecuada, el cual se reservó para las determinaciones posteriores <sup>18</sup>.

*Propiedades antioxidantes*

Dos mL del EEP (10 mg/mL) se mezclaron con 48 mL de agua destilada. A un tubo de ensayo previamente tratado con una mezcla sulfo-

crómica, se agregaron 0,5 mL del diluido de EEP, 0,5 mL de agua destilada y 1 mL de ácido sulfúrico al 20 %. Todos los tubos se sometieron a refrigeración en baño de hielo a 18-20 °C. Se adicionaron 50 µL de una solución de KMnO<sub>4</sub> 0,1 N, estandarizada frente a oxalato de sodio. A continuación, se puso en marcha un cronómetro, que permitió estimar el tiempo en el cual la solución ácida de permanganato se reduce a iones manganeso (Mn<sup>2+</sup>), lo cual se evidencia por la desaparición de color. Todas las pruebas se realizaron por triplicado <sup>19</sup>.

*Análisis cromatográfico de las muestras de propóleos*

Se realizó un análisis fitoquímico sobre los 15 EEP. Los componentes de éstos fueron separados por cromatografía en placa fina (TLC), en sílica gel 60 F254 Merck. Se utilizó como fase móvil una mezcla (A) constituida por tolueno-cloroformo-acetona 45:25:35 y una mezcla (B) constituida por hexano:acetato de etilo-ácido acético 60:40:1. Se sembraron 5 µL de cada uno de los extractos. Los componentes separados se visualizaron bajo luz UV 365 nm, lámpara UV modelo SI-58Mineralight Lamp <sup>20</sup> y se revelaron con FeCl<sub>3</sub> al 1%, vainillina-acido sulfúrico y reactivo de Dragendorff <sup>21</sup>.

*Determinación del contenido de flavonoides*

El contenido de flavonoides fue determinado por el método descrito por Mendes da Silva *et al.* <sup>2</sup>, empleando AlCl<sub>3</sub> para formar un complejo, el cual se mide espectrofotométricamente a 425 nm. Se utilizó un patrón de quercetina para realizar la curva de calibración, y los resultados fueron expresados como mg de quercetina por cada g de propóleos.

*Determinación de compuestos fenólicos*

Los compuestos fenólicos fueron determinados por el método de Folin-Cicoalteu <sup>23</sup>. Se usó el ácido gálico para construir la curva de calibración, y los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico por cada g de propóleos.

*Análisis estadístico*

Las variables peso seco, cenizas totales, impurezas mecánicas y ceras fueron tratadas mediante estadísticas descriptivas, intervalos de confianza de un 95 %, al igual que las características del extracto alcohólico (rendimiento, índice de oxidación, compuestos fenólicos y flavonoides). Las diferencias entre las muestras de las distintas áreas estudiadas se analizó mediante el análisis de la varianza, utilizando el test de Fisher LSD para un p ≤ 0,05.

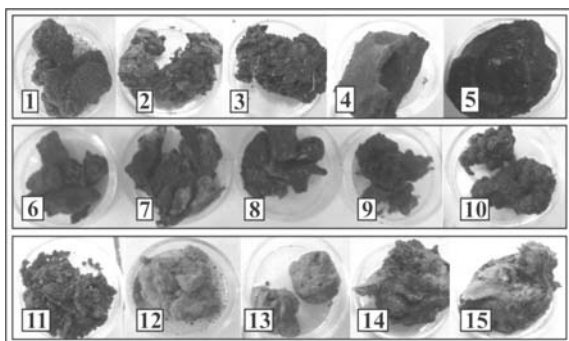
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN****Caracterización de los propóleos crudos***Caracteres organolépticos*

Los resultados de los distintos atributos sensoriales de los propóleos estudiados en este trabajo se muestran en la Tabla 1 y la Figura 1. El color constituye una de las características organolépticas más importantes para clasificar a los propóleos de orígenes diversos. El 60 % de las muestras de propóleos presentaron al corte color marrón oscuro con tintes rojizos, verdes o

amarillos. Estas muestras fueron recolectadas de colmenas ubicadas en Corrientes, Santiago del Estero y Chaco. Un 33,34% de las muestras presentaron un color marrón claro con tintes amarillos y verdosos (aquellas procedentes de Mendoza y algunas de Santiago del Estero). Una única muestra (6,66%) presentó un color negro brillante, la cual correspondió a un propóleo de Chaco. Estos propóleos presentaron distintos grados de brillo. La ausencia de brillo (opacidad) evidenciada en algunas muestras estaría re-

Nº muestra	Procedencia		Color	Olor	Sabor	Aspecto	Consistencia
	Localidad	Provincia					
1	Resistencia	Chaco	Marrón oscuro	Resinoso	Amargo	Trozos irregulares opacos	Rígida
2	Barranqueras	Chaco	Marrón oscuro	Resinoso	Dulce	Trozos irregulares opacos	Maleable
3	Saenz Peña	Chaco	Marrón oscuro	Resinoso	Picante	Trozos irregulares opacos	Maleable
4	Tres Isletas	Chaco	Marrón oscuro	Resinoso agradable	Amargo	Trozos irregulares opacos	Maleable
5	Juan José Castelli	Chaco	Negro	Resinoso agradable	Amargo	Trozos irregulares con brillo	Rígida
6	Paso de la Patria	Corrientes	Marrón oscuro con tintes rojos	Resinoso	Insípido	Trozos irregulares con brillo	Rígida
7	Corrientes	Corrientes	Marrón oscuro	Resinoso	Insípido	Trozos irregulares opacos	Maleable
8	Caá Catí	Corrientes	Marrón oscuro con tintes rojizos	Resinoso	Amargo	Trozos irregulares opacos	Maleable
9	San Luis del Palmar	Corrientes	Marrón oscuro	Resinoso	Amargo	Trozos irregulares opacos	Rígida
10	La Banda	Santiago del Estero	Marrón oscuro	Resinoso	Insípido	Trozos irregulares opacos	Rígida
11	Santiago del Estero	Santiago del Estero	Marrón claro con tintes amarillos y verdes	Aromático	Dulce	Trozos irregulares con brillo	Rígida
12	Robles	Santiago del Estero	Marrón claro con tintes amarillos y verdes	Aromático	Picante	Trozos irregulares opacos	Maleable
13	Tunuyán	Mendoza	Marrón claro con tintes amarillos y verdes	Aromático	Insípido	Trozos irregulares con brillo	Maleable
14	Tunuyán	Mendoza	Marrón claro con tintes amarillos y verdes	Aromático	Insípido	Trozos irregulares con brillo	Maleable
15	Tunuyán	Mendoza	Marrón claro con tintes amarillos y verdes	Aromático	Insípido	Trozos irregulares con brillo	Maleable

**Tabla 1.** Características organolépticas de los propóleos procedentes de Chaco, Corrientes, Santiago del Estero y Mendoza.



**Figura 1.** Aspecto de los propóleos crudos obtenidos de las diferentes regiones analizadas.

lacionada con la fitogeografía y la oxidación externa que sufre la resina <sup>24</sup>.

Los ensayos de consistencia realizados a temperatura ambiente mostraron que el 40 % de las muestras son rígidas y el 60% son maleables. El olor que presentaron las muestras fue resinoso para el 66.67% de las muestras, y aromático para el 33.33 % de las mismas. La mezcla de olores de la miel, de las hierbas aromáticas, el pino y del álamo, según describe la norma rusa <sup>25</sup>, se pudo evidenciar en las muestras procedentes de la provincia de Mendoza y en algunas de Santiago del Estero; en las muestras restantes se percibió un olor más resinoso y penetrante. En relación al sabor, el atributo insípido se encontró en el 40% de las muestras, amargo en el 33.33%, dulce en el 13.33%, y picante también en el 13.33%. Estos resultados mostraron una clara tendencia de los propóleos a presentar sabores del tipo amargo o estar exentos de sabores definidos (insípido).

*Peso seco, cenizas totales, impurezas mecánicas y contenido de ceras*

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos realizados para la determinación del peso seco, las cenizas totales, las impurezas mecánicas y el contenido de ceras de los propóleos crudos analizados en este estudio.

En el ensayo de residuo seco, libre de humedad y sustancias volátiles, se evidenció que únicamente las muestras obtenidas de Mendoza presentaron una diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ; LSD Test) respecto a las procedentes de las otras provincias. Un comportamiento similar se observó cuando se analizó el contenido de cenizas. Si bien otras normativas <sup>16</sup> denominan este requisito como humedad, el método aplicado (pérdida por calentamiento) determina no solo humedad sino también otras sustancias volátiles en las condiciones de ensayo <sup>14</sup>. Las medias aritméticas de los valores de impurezas mecánicas obtenidas para las muestras de Chaco, Corrientes, Santiago del Estero y Mendoza fueron de 31,50%, 16,48%, 22,57% y 13,57%, respectivamente.

Entre las impurezas mecánicas se encontraron abejas o restos de éstas, virutas de madera, restos vegetales, piedras, arena, entre otros. Considerando que la técnica de obtención de las muestras fue por raspado, todas las muestras presentaron un contenido de impurezas mecánicas por debajo del 25%, que es el máximo permitido por las normas IRAM-INTA <sup>14</sup>, a excepción de las muestras de la provincia del Chaco cuya media fue del 31,50%.

En cuanto al contenido de cera, todas las muestras presentaron valores que estuvieron

Muestras	Peso seco (g/100g)	Cenizas (g/100g)	Impurezas Mecánicas (g/100g)	Ceras (g/100g)
1	92,50 ± 0,15	1,91 ± 0,25	22,00 ± 1,50	12,00 ± 1,75
2	95,28 ± 0,16	1,51 ± 0,05	39,80 ± 1,70	23,50 ± 0,05
3	95,22 ± 0,25	1,55 ± 0,03	38,00 ± 1,50	24,50 ± 1,25
4	95,33 ± 0,35	1,92 ± 0,16	29,80 ± 0,05	25,60 ± 0,05
5	95,42 ± 0,45	1,49 ± 0,11	27,90 ± 1,45	30,60 ± 0,05
6	93,4 ± 0,55	1,55 ± 0,12	12,00 ± 1,55	12,60 ± 0,05
7	94,9 ± 0,45	1,52 ± 0,10	15,00 ± 0,75	2,80 ± 0,75
8	93,0 ± 0,65	1,92 ± 0,05	18,90 ± 1,65	14,60 ± 0,15
9	94,28 ± 0,78	1,91 ± 0,15	20,00 ± 1,35	5,40 ± 0,15
10	95,5 ± 0,46	2,10 ± 0,05	22,00 ± 1,80	10,00 ± 0,15
11	94,25 ± 0,55	1,98 ± 0,05	29,00 ± 1,89	12,00 ± 0,05
12	95,90 ± 0,15	1,60 ± 0,05	16,70 ± 1,85	19,00 ± 0,25
13	96,20 ± 0,34	1,55 ± 0,02	8,90 ± 1,89	11,50 ± 0,21
14	97,30 ± 0,45	1,70 ± 0,01	16,20 ± 1,95	12,00 ± 0,15
15	98,00 ± 0,54	1,70 ± 0,05	15,90 ± 1,87	13,80 ± 0,25

**Tabla 2.** Contenido de humedad, cenizas, impurezas mecánicas y ceras en las muestras de propóleos analizadas. Los resultados representan la media de 3 determinaciones ± desviación estándar.

dentro del máximo permitido por la norma rusa que es de no más del 30%<sup>25</sup>. Así mismo, las normas IRAM-INTA 2008, expresan este valor en un máximo de 35%, considerando en éste el porcentaje de otras sustancias extraíbles en n-hexano además de la cera<sup>14</sup>. Con la metodología utilizada en el presente trabajo, las muestras que presentaron el contenido de ceras más elevado correspondieron a las procedentes de la provincia de Chaco (23,24%).

Estos resultados son inferiores a los reportados por Chaillou *et al.*, quienes obtuvieron un promedio de 30,34% para el contenido de cera de muestras procedentes de Santiago del Estero<sup>26</sup>, y a lo reportado por Maldonado para propóleos del noroeste argentino (36,19%)<sup>27</sup>.

### Caracterización de los extractos

Los valores del rendimiento de los extractos etanólicos son significativamente más elevados para la provincia de Mendoza ( $p \leq 0,05$ ) en coincidencia con el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides encontrados. De la comparación del contenido medio de flavonoides y compuestos fenólicos, surge que aquellas muestras procedentes de Chaco y Corrientes presentan similitud, y son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ; Test LSD) a las muestras de Santiago del Estero y Mendoza (Tabla 3).

En la Tabla 3 se muestran los índices de oxidación que se obtuvieron para las diferentes muestras analizadas. El análisis de este parámetro evidencia que algunos propóleos procedentes de Corrientes y Chaco, no cumplen con las exigencias de las normas nacionales e interna-

cionales que fijan el límite en  $< 22$  s<sup>17-25</sup>. Esto está en concordancia con lo reportado por Maldonado, quien informa valores superiores a 120 s para las muestras del noreste argentino<sup>27</sup>.

Las propiedades terapéuticas del propóleo son atribuidas principalmente a la presencia de compuestos fenólicos, en especial a los flavonoides y ácidos fenólicos<sup>22,28</sup>. Respecto al contenido de flavonoides hallados en las muestras analizadas, expresados como equivalentes de quercetina, se pueden definir dos grupos homogéneos, uno formado por muestras procedentes de Chaco y Corrientes (niveles más bajos) y el otro constituido por muestras de Santiago del Estero y Mendoza (niveles más altos), estos se muestran en la tabla 3 y son comparables con los obtenidos por Nieva Moreno *et al.*<sup>29</sup>, quienes también analizaron muestras de propóleos de diferentes regiones de Argentina, encontrando concentraciones de flavonoides comprendidas entre 13-42,6 mg/g de propóleos. Park *et al.* observaron que muestras de propóleos del sur de Brasil, Argentina y Uruguay presentan los mismos tipos de flavonoides, variando solamente en la proporción, lo que sugiere una misma fuente vegetal para el origen botánico de estos propóleos. Esto puede ser explicado en parte por la variación climática, lo que puede causar una cierta variación en la proporción de los componentes de la fuente vegetal primaria en cada estación del año<sup>30</sup>.

El contenido de compuestos fenólicos hallado en las muestras de propóleos analizadas se muestra en la Tabla 3.

Los Propóleos de Mendoza presentan el ma-

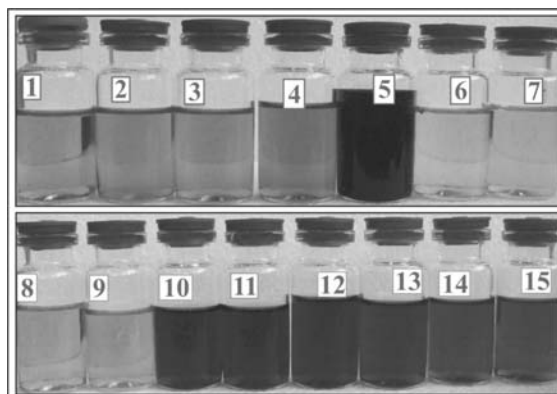
N° Muestra	Color	Rendimiento (g/100 g)	Índice de Oxidación (seg)	Compuestos fenólicos (mg/g)	Flavonoides (mg/g)
1	Ámbar	6,66 ± 0,45	30	18,67 ± 0,010	0,24 ± 0,00
2	Ámbar	9,61 ± 0,93	24	19,2 ± 0,07	0,12 ± 0,00
3	Ámbar	12,55 ± 0,05	11	10,90 ± 0,10	2,48 ± 0,02
4	Ámbar	15,04 ± 0,95	13	13,15 ± 0,15	2,30 ± 0,01
5	Café	14,9 ± 0,05	5	145,50 ± 0,25	3,87 ± 0,03
6	Ámbar claro	9,63 ± 0,68	18	16,92 ± 0,85	0,85 ± 0,00
7	Ámbar claro	9,65 ± 0,76	110	1,43 ± 0,01	2,06 ± 0,00
8	Pardo	21,9 ± 0,88	17	103,75 ± 5,05	1,51 ± 0,01
9	Ámbar claro	19,1 ± 0,45	12	100,50 ± 5,01	0,79 ± 0,05
10	Ámbar claro	20,2 ± 0,85	7	70,08 ± 2,05	0,48 ± 0,12
11	Pardo	22,11 ± 0,95	2	288,21 ± 2,01	27,91 ± 0,10
12	Pardo oscuro	16,5 ± 0,35	2	220,92 ± 2,01	30,39 ± 0,25
13	Pardo oscuro	25,5 ± 0,65	2	280,92 ± 2,15	30,33 ± 0,25
14	Pardo	22,5 ± 0,75	2,5	208,58 ± 2,81	28,51 ± 0,05
15	Pardo oscuro	20,6 ± 0,45	2	181,33 ± 2,01	10,7 ± 0,05

**Tabla 3.** Color, rendimiento, índice de oxidación, compuestos fenólicos y flavonoides de las muestras de propóleos analizadas. Los resultados representan la media de 3 determinaciones ± desviación estándar.

por contenido medio de compuestos fenólicos seguidos por los de Santiago del Estero y Corrientes. Los propóleos procedentes de Chaco, presentaron valores muy bajos de estos compuestos, a excepción de una muestra que presentó un contenido de 144 mg/g de propóleos. Similares resultados fueron obtenidos por Isla *et al.*, quienes encontraron valores de 58,23-67,60 mg/g en muestras de propóleos procedentes de la misma provincia y de 182,25-237,90 mg/g en aquellas de Santiago del Estero <sup>31</sup>.

La coloración de los extractos varió del ámbar claro al negro (Fig. 2); la intensidad del color está íntimamente relacionada con el contenido de los compuestos bioactivos. Por otra parte, se debe considerar que propóleos muy oscuros podrían contener flavonoides altamente tóxicos <sup>32</sup>.

La Tabla 4 muestra la vegetación más abundante en los sitios circundantes a las colmenas de cada localidad de donde se obtuvieron las muestras de propóleos analizadas en este estudio. En el parque chaqueño que comprende Chaco y Santiago del Estero, el mistol (*Zizyphus mistol*), quebracho blanco (*Aspidosperma que-*

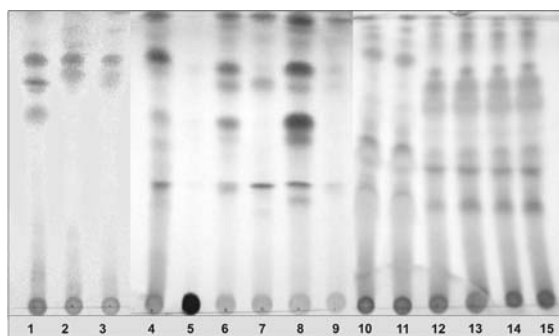


**Figura 2.** Tonalidad de los extractos etanólicos de las 15 muestras de propóleos analizadas.

*bracho-blanco*), quebracho colorado santiagueño (*Schinopsis lorentzii*), y varios algarrobos (*Prosopis alba*, *P. nigra*), son las especies arbóreas nativas más comunes que contribuirían a la composición del propóleos. En Corrientes, el clima cálido sin estación seca provee de una vegetación similar a la del parque chaqueño. La vegetación está mezclada con ejemplares de quebrachos y en los suelos más bajos y fácil-

Nº Muestra	Regiones de recolección	Especies de plantas dominantes en cada región
1	Barranqueras, Chaco	<i>Copernicia alba</i> , <i>Prosopis</i> sp, <i>Schinopsis</i> sp
2	Resistencia, Chaco	<i>Prosopis</i> sp, <i>Schinopsis</i> sp, <i>Aspidosperma quebracho-blanco</i>
3	Sáenz Peña, Chaco	<i>Schinopsis</i> sp, <i>Cercidium praecox</i> (= <i>Cercidium australe</i> )
4	Tres Isletas, Chaco	<i>Prosopis</i> sp, <i>Cercidium praecox</i> , <i>Schinopsis</i> sp, <i>Opuntia</i> sp
5	Juan José Castelli, Chaco	<i>Prosopis</i> sp, <i>Cercidium praecox</i> , <i>Schinopsis</i> sp, <i>Opuntia</i> sp
6	Paso de la Patria, Corrientes	<i>Handroanthus impetiginosus</i> (= <i>Tabebuia avellaneda</i> ), <i>Astronium balansae</i> , <i>Prosopis algarrobilla</i>
7	Corrientes, Corrientes	<i>Mangifera indica</i> , <i>Nectandra angustifolia</i> (= <i>Nectandra falcifolia</i> ), <i>Pouteria gardneriana</i> (= <i>Pouteria sawis</i> )
8	Caá Catí, Corrientes	<i>Astronium balansae</i> , <i>Copernicia alba</i>
9	San Luis del Palmar, Corrientes	<i>Tabebuia avellaneda</i> , <i>Persea americana</i>
10	La Banda, Santiago del Estero	<i>Prosopis</i> sp, <i>Schinus molle</i> , <i>Casuarina</i> sp
11	Santiago del Estero, Santiago del Estero	<i>Eucalyptus</i> sp, <i>Prosopis</i> sp, <i>Schinus molle</i> , <i>Zizyphus mistol</i>
12	Robles, Santiago del Estero	<i>Prosopis</i> sp, <i>Pinus</i> sp, <i>Salix humboldtiana</i> , <i>Schinus</i> sp
13-14-15	Tunuyán, Mendoza	<i>Populus</i> sp, <i>Pinus</i> sp, <i>Larrea cuneifolia</i> , <i>Larrea divaricata</i> , <i>Salix humboldtiana</i> , <i>Schinus</i> sp, <i>Geoffraea decorticans</i>

**Tabla 4.** Vegetación circundante a las colmenas donde se extrajeron las muestras de propóleos analizadas.



**Figura 3.** Cromatografía en placa fina de los extractos de propóleos analizados. Cromatografía en placa fina de los extractos de propóleos analizados. Solvente de corrida: Hexano: acetato de etilo: ácido acético (60:30:1) y Revelador: vainillina sulfúrica.

mente inundables hay bosques de algarrobos (*Prosopis* sp), urunday (*Astronium balansae*) y palmares de caranday (*Copernicia alba*). La contribución de la vegetación de la provincia de Mendoza a la propolización incluyen jarilla (*Larrea* sp), chañar (*Geoffraea decorticans*), molle (*Schinus* sp), y algarrobo (*Prosopis alpataco*); en las áreas cultivadas abundan *Populus* sp y *Salix* sp.

En Mendoza el cultivo del álamo es la actividad forestal de mayor importancia dentro de los bosques de cultivo bajo riego. Se estima que la superficie cultivada alcanza unas 16.000 ha, incluyendo las plantaciones en macizo y las plantaciones en línea o cortinas<sup>33</sup>. La abundancia de esta especie en la zona circundante a las colmenas de la localidad de Tunuyán (Mendoza), hace que se pueda clasificar al propóleos de este lugar como de tipo poplar o álamo, presentando características diferenciales al resto de los propóleos estudiados.

Park *et al.*<sup>8</sup> desarrollaron un método de cromatografía en placa delgada en fase reversa para la clasificación de propóleos de Brasil, demostrando la utilidad del mismo en la diferenciación de 12 tipos de propóleos de ese país. En este estudio se obtuvo el perfil cromatográfico de todas las muestras de propóleos analizadas, mostrándose los resultados en la Figura 3.

El análisis fitoquímico revela que las muestras analizadas no contienen alcaloides. El sistema de elución constituido por la mezcla A y revelado con  $\text{Cl Fe}_3$  no evidenció una buena separación de los componentes en todas las muestras. Sin embargo, el sistema B, utilizando vainillina sulfúrica para visualizar los componentes, permitió evidenciar manchas en la gama del azul violáceo en las muestras de Chaco y

Corrientes, mientras que en aquellas correspondientes a Santiago del Estero y Mendoza se observaron tonos marrón claro, amarillo y naranja en compuestos más polares y de polaridad intermedia, y tonos azul violáceo en compuestos menos polares. Las técnicas de cromatografía en placa fina permitieron diferenciar las muestras de procedencias diferentes y, por lo tanto, sirven a los fines del control de calidad.

## CONCLUSIONES

En general, las propiedades biológicas del propóleos han sido muy investigadas en los últimos años; sin embargo, es difícil comparar los resultados de diferentes estudios, debido tanto a la variabilidad en la composición del propóleos como a los métodos utilizados para su estudio. Se sabe que diferentes propóleos pueden presentar diferentes propiedades químicas y farmacológicas. Por lo tanto, las características descriptivas y técnicas de control de calidad evaluadas en este trabajo son necesarias para poder estandarizar el producto y así poder utilizarlo con fines terapéuticos.

En este trabajo queremos resaltar las características del propóleos tipo álamo, que se extrae de colmenas de Mendoza, inigualables por sus características organolépticas, propiedades físico-químicas y su elevado contenido de compuestos bioactivos.

**Agradecimientos.** A los técnicos apicultores Natalia Livieres, José E. Nuñez Camellino y Víctor Rusas por proporcionar las muestras de propóleos de Corrientes y Chaco, y a la Bioq. Ma. Laura Ortiz por su colaboración en los métodos espectrofotométricos. Este trabajo fue financiado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste. Este trabajo forma parte del Trabajo de Tesis Doctoral de la Farm. L.A. Lozina en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba (Argentina), quien es Becaria de Postgrado del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas - Universidad Nacional del Nordeste (Argentina).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Greenway, W., T. Scaysbrook & F.R. Whatley (1990) *Bee World* **71**: 107-18.
2. Hegazi, G.H. (2000) *Actas del Congreso Internacional de Propóleos*. Buenos Aires. Argentina.
3. Serra Bonhevi, J., F.V. Coll & R.E. Jordá (1994) *J. Oil Chem. Soc.* **71**: 529-32.
4. Bankova, V. (2005) *e CAM* **2**: 29-32.



5. Tomás-Barberán, F., C. García-Viguera, P. Vit-Olivier, F. Ferreres & F. Tomás-Lorente (1993) *Phytochemistry* **34**: 191-6.
6. Garcia-Viguera C., Greenaway W. & Whatley F. R. (1992) *Z. Naturforsch.* **47**: 634-7.
7. Asís, M. (1989) *Propóleos: el oro púrpura de las abejas*, Ed. CIDA, La Habana, pp 55-89.
8. Park, K.Y., S.M. Alencar & L.C. Aguiar (2002) *J. Agr. Food Chem.* **50**: 2502-6.
9. Bankova, V. (2005) *J. Ethnopharmacol.* **100**: 114-7.
10. Campo Fernández, M., O. Cuesta-Rubio, I. Márquez Hernández, A. Rosado Pérez & R. Montes de Oca Porto (2008) *Lat. Am. J. Pharm.* **27**: 380-6.
11. Maidana, J.F. (1997) Características Físico-químicas del Propóleos de la República Argentina. *Tesis para obtener el título de Doctor en Biología*. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán. Argentina.
12. Cunha, I., A. Sawaya, F. Caetano, M. Shimizu, M. Marcucci, F. Drezza, G. Povia & P. Carvalho (2004) *J. Braz. Chem. Soc.* **15**: 964-70.
13. AOAC International (1990) *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 15<sup>th</sup> Edition. Washington D.C.
14. Normas IRAM-INTA 15935-1 (2008) *Productos del Noroeste Argentino. Parte 1: Propóleos en bruto*. Primera Edición.
15. Woisky, R.G., A. Giesbrecht & A. Salatino (1994) Actividade Antibacteriana de uma Formulação preparada a partir de Própolis de *Apis mellifera* L. *Actas del IV Congreso Iberoamericano de Apicultura. I Foro Expo-Comercial Internacional de Apicultura*. Rio Cuarto. Córdoba. Argentina. pp. 213-6.
16. Norma salvadoreña 65.19.02:03, Diario oficial tomo N° 360.
17. Normas IRAM-INTA 15935-2 (2008) *Productos del Noroeste Argentino. Parte 2: Extractos de propóleos*. Primera Edición.
18. Tolosa, L. & E. Cañizares (2002) *Ars Pharmaceutica* **43**: 187-204.
19. Agra da Silva, R., A.E. Rodrigues, M.C. Marcucci-Ribeiro, A. Ramalho-Custódio, N.E. Domingues-Andrade & W.E. Pereira (2006) *Ciência Rural* **36**: 1842-8.
20. Zampini, I.C., N. Cudmani & M.I. Isla (2007) *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* **41**: 385-93.
21. Krebs, K., D. Heusser & H. Wimmer (1969) *Spray Reagents in: Thin Layer Chromatography a Laboratory Handbook* (E. Stahl, ed.) Springer-Verlag, Berlín, pp. 854-905.
22. Mendes da Silva, J.F., M.C. Souza, S. Ramalho-Matta, M. Ribeiro de Andrade & F. Vila Nova Vidal (2006) *Food Chem.* **99**: 431-5.
23. Singleton V.L., R. Orthofer & R.M. Lamuela-Raventos (1999) *Meth Enzymol.* **299**: 152-78.
24. Tosi, E.A., M.C. Ciappini, A.F. Cazzolli & L.M. Tapiz (2006) *APIACTA* **41**: 110-20.
25. Norma rusa RST-RSFSR-317-77. *Propóleos. Métodos analíticos para el control de su calidad*.
26. Chaillou, L.L., H.A. Herrera & J.F. Maidana (2004) *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **24**: 11-15.
27. Maldonado, L. (2000) Perfil de los Propóleos argentinos. *Actas del Congreso Internacional de Propóleos*. Buenos Aires. Argentina. pp. 11-17.
28. Brushi, M.L., S.L. Franco & M.P. Gremiao (2003) *J. Liq. Chromatog. R.T.* **26**: 2399-409.
29. Nieva Moreno, M.I., M.I. Isla, A.R. Sampietro & M.A. Vattuone (2000) *J. Ethnopharmacol.* **71**: 109-14.
30. Park, Y.K., S.M. Alencar, L.C. Aguiar, A. Scamparini, M. González & M.A. Molina (2001) *Mensagem Doce* **61**: 997-1003.
31. Isla, M.I., J.F. Paredes-Guzman, M.I. Nieva-Moreno, H. Koo & Y.K. Park (2005) *J. Agr. Food Chem.* **53**: 1166-72.
32. Peña, R. (2008) *Cienc. Inv. Agr.* **35**: 17-26.
33. Calderón, A., V. Settepani, J. Bustamante & N. Riu (2005) *Rev. Fac. Cs. Agr. UN Cuyo* **37**: 61-5.