

COMPARACIÓN DE PROPIEDADES BIOACTIVAS Y ANTIMICROBIANAS DE
EXTRACTOS DE PROPÓLEO OBTENIDOS POR DISTINTOS MÉTODOS DE
EXTRACCIÓN

Luz Alejandra González Orjuela
María Isabel Vargas Moreno

Fundación Universitaria Agraria de Colombia
Facultad de Ingeniería
Ingeniería de Alimentos
Bogotá D.C
2025

COMPARACIÓN DE PROPIEDADES BIOACTIVAS Y ANTIMICROBIANAS DE
EXTRACTOS DE PROPÓLEO OBTENIDOS POR DISTINTOS MÉTODOS DE
EXTRACCIÓN

Luz Alejandra González Orjuela

María Isabel Vargas Moreno

Trabajo de Grado

Director

Cindy Andrea Nieto Veloza

Ph.D. Ciencia de los Alimentos

Codirector

Camila Andrea Bernal Castro

MSc. Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Fundación Universitaria Agraria de Colombia

Facultad de Ingeniería

Ingeniería de Alimentos

Bogotá D.C

2025

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, damos gracias a Dios, por su infinita bondad y sabiduría, que nos ha permitido llegar hasta donde estamos hoy día. Su guía y apoyo constante nos han dado fuerza y determinación para recorrer este arduo pero gratificante camino universitario. A Él debemos la fortaleza para culminar una de las etapas más significativas de nuestra vida.

Nuestro más sincero agradecimiento a nuestras familias, quienes han sido el pilar fundamental en nuestro camino. Gracias a su amor, comprensión y sacrificios, hoy este sueño profesional está alcanzando la realidad. Sin su apoyo incondicional, este logro no habría sido posible.

A nuestras queridas directoras de tesis, las docentes Andrea Nieto y Camila Bernal, queremos expresar nuestra profunda gratitud. Su dedicación, paciencia y sabiduría han sido esenciales para nuestro crecimiento académico y profesional. Gracias por su orientación constante y por ayudarnos a desarrollar este proyecto con la rigurosidad y pasión que nos inspiró a lo largo de todo el proceso.

Nuestro agradecimiento también al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias) y SENNOVA, por la financiación de este proyecto de investigación a través de la convocatoria 926 de 2022 (contrato 80740-010-2023).

A la Compañía Campo Colombia SAS, entidad ejecutora del proyecto y cofinanciadora con recursos en especie, al Tecnoparque SENA nodo Bogotá y al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Nacional de Colombia, por facilitar los espacios y recursos necesarios para el desarrollo experimental de este trabajo. Su colaboración fue fundamental para la ejecución de la investigación.

A Gregorio Medina y Esperanza Pulido, responsables del Laboratorio de Microbiología del ICTA, les expresamos nuestro más profundo reconocimiento por su paciencia, disposición y excelente enseñanza. Sin su apoyo en las técnicas especializadas, este proyecto no habría sido posible.

A nuestra compañera Daniela Bosa, Joven Investigadora de la convocatoria 926 de 2022, le agradecemos sinceramente por su dedicación y colaboración durante el proceso experimental. Tu compañerismo y compromiso fueron una gran fuente de motivación.

A la Fundación Universitaria Agraria de Colombia, por brindarnos una formación integral que ha fortalecido nuestra vocación investigativa, promoviendo el desarrollo de iniciativas que beneficien al sector rural y a nuestra comunidad.

Finalmente, a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron, directa o indirectamente, a que este proyecto se hiciera realidad. ¡A todos ustedes, nuestro más sincero y profundo agradecimiento!

CONTENIDO

	pág.
AGRADECIMIENTOS	3
INDICE DE TABLAS.....	8
INDICE DE FIGURAS	9
RESUMEN.....	10
1. INTRODUCCIÓN	12
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.2 JUSTIFICACIÓN	14
1.3 OBJETIVOS.....	16
1.3.1 Objetivo General	16
1.3.2 Objetivos Específicos	16
2. MARCO REFERENCIAL	17
2.1 MARCO TEÓRICO - CONCEPTUAL	17
2.2 MARCO HISTÓRICO	20
2.3 MARCO GEOGRÁFICO	22
2.4 MARCO LEGAL	23
2.5 ESTADO DEL ARTE.....	25
3. METODOLOGÍA	31

3.1	CINÉTICA DE EXTRACCIÓN DEL PROPÓLEO	31
3.1.1	Adecuación del Propóleo	31
3.1.2	Condiciones de Extracción Convencional.....	32
3.1.3	Cuantificación de Fenoles Totales en los Extractos	32
3.2	CARACTERIZACIÓN BIOACTIVA DE LOS EXTRACTOS	32
3.2.1	Preparación de Extractos.....	32
3.2.2	Cuantificación de Fenoles Totales en los Extractos	33
3.2.3	Cuantificación de Flavonoides Totales en los Extractos	33
3.2.4	Medición de Capacidad Antioxidante por DPPH	34
3.3	EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS	34
3.3.1	Activación y caracterización de Cepas Bacterianas.....	34
3.3.2	Medición de Capacidad Antimicrobiana por Difusión en Disco	36
3.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1	CINÉTICA DE EXTRACCIÓN CONVENCIONAL	37
4.2	CONTENIDO TOTAL DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LOS EXTRACTOS.....	39
4.3	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO.....	45

4.4	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN: VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN EL SECTOR APÍCOLA.....	48
5.	CONCLUSIONES	50
6.	RECOMENDACIONES	51
7.	BIBLIOGRAFIA	52

INDICE DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Composición Fenólica de Extractos de Propóleo del Noroeste de México	19
Tabla 2. Parámetros Fisicoquímicos determinantes en la Calidad del Propóleo ...	24
Tabla 3. Parámetros Microbiológicos determinantes en la Calidad del Propóleo ..	24
Tabla 4. Parámetros Fisicoquímicos Cualitativos para el Procesamiento del Propóleo	25
Tabla 5. Parámetros Fisicoquímicos Cuantitativos para el Procesamiento del Propóleo	25
Tabla 6. Métodos Convencionales para la extracción de Propóleo	28
Tabla 7. Métodos Alternativos para la extracción de Propóleo	29
Tabla 8. Contenido de compuestos fenólicos totales en los extractos expresados como mg de equivalente de ácido gálico (GAE) extraído / g de propóleo	40
Tabla 9. Contenido total de flavonoides en los extractos expresado como mg de equivalente de quercetina (QE) extraído/g de propóleo.....	42
Tabla 10. Actividad antioxidante de los extractos expresada como IC 50	43
Tabla 11. Actividad antimicrobiana de los extractos expresada en centímetros	46

INDICE DE FIGURAS

	pág.
Ilustración 1. Zonas de mayor producción de miel en Colombia	23
Ilustración 2. Adecuación del propóleo. A) propóleo crudo obtenido del proveedor, B) propóleo molido y tamizado.....	31
Ilustración 3. Extractos de Propóleo.....	33
Ilustración 4. Extractos de Propóleo.....	34
Ilustración 5. Crecimiento de las cepas en los agares selectivos: Staphylococcus aureus en Baird Parker (A); Escherichia coli en EMB (B); Salmonella entérica sv enteritidis en SSH, XLD y SB (C, D y E respectivamente).....	35
Ilustración 6. Cinética de extracción de compuestos fenólicos totales mediante el método de extracción convencional durante 7 horas durante el primer día de extracción (A); y durante varios días (B) hasta completar el ciclo de extracción ...	37

RESUMEN

El propóleo es una sustancia resinosa producida por las abejas, su composición incluye una amplia variedad de compuestos bioactivos a los que se les atribuyen diversas propiedades biológicas, entre ellas la actividad antioxidante y antimicrobiana. Sin embargo, estudios afirman que el rendimiento de extracción de estos compuestos depende principalmente del origen botánico del propóleo, de las condiciones de extracción y del solvente utilizado. El objetivo de este estudio fue evaluar las características bioactivas y antimicrobianas del propóleo extraído mediante diferentes métodos de extracción. Los extractos de propóleo se prepararon utilizando cuatro métodos de extracción (convencional – maceración durante 15 días, licuadora, ultraturrax y ultrasonido) y cuatro solventes (etanol al 95%, etanol al 70%, aceite de oliva y propilenglicol). Para cada extracto se cuantificó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, flavonoides totales por el método de cloruro de aluminio, actividad antioxidante por DPPH y actividad antimicrobiana frente a *Salmonella entérica sv enteritidis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por difusión en agar. Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA y una prueba de Tuckey para establecer diferencias significativas entre los métodos de extracción y solventes respecto a los parámetros evaluados. La extracción con propilenglicol como solvente presentó mayor contenido de compuestos fenólicos totales que el resto de los extractos con $35,3 \pm 7,8$ mg GAE/g de propóleo. En cuanto al contenido de flavonoides, los extractos obtenidos utilizando etanol al 95%, mediante los métodos de extracción convencional y licuadora fueron los que presentaron el mayor contenido de estos compuestos con $132,0 \pm 7,8$ y $207,8 \pm 21,6$ mg (QE) extraídos/g de propóleo respectivamente. La extracción convencional con propilenglicol es la que presenta la mejor actividad antioxidante con un IC50 de $15,0 \pm 0,2$. En cuanto a la actividad antimicrobiana, los extractos con propilenglicol por ultrasonido y etanol al 95% por licuadora mostraron la mayor capacidad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, con diámetros de inhibición de $2,7 \pm 0,6$ mm y $2,8 \pm 0,4$ mm, respectivamente, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos. En el caso de *Salmonella entérica sv enteritidis*, todos los extractos elaborados con propilenglicol independientemente del método de extracción, mostraron una capacidad antimicrobiana significativa, sin diferencias entre sí, lo que sugiere una eficacia comparable. Frente a *Escherichia coli*, solo el extracto preparado con propilenglicol mediante licuadora presentó actividad antimicrobiana significativa ($0,5 \pm 0,4$ mm). En conclusión, el propilenglicol se destacó como el solvente más eficaz para extraer compuestos fenólicos utilizando el método de extracción convencional, mientras que el etanol al 95% fue el más efectivo para la obtención de flavonoides bajo el método de licuadora. Por otro lado, los extractos elaborados con etanol al 70% y métodos de alta energía (ultraturrax y ultrasonido) presentaron actividad antioxidante comparable a la observada con propilenglicol. En cuanto a la actividad antimicrobiana, los extractos obtenidos con propilenglicol y etanol al 95% mediante licuadora mostraron mayor efectividad, especialmente frente a *Staphylococcus*

aureus y *Escherichia coli*, lo que resalta el potencial de este método como una alternativa eficiente para la obtención de extractos bioactivos.

Palabras Clave: Actividad Antimicrobiana, Flavonoides, Compuestos Fenólicos y Eliminación de Radicales.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La apicultura se ha consolidado como una actividad productiva en crecimiento en Colombia (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020), desempeñando un papel crucial en la seguridad alimentaria y la sostenibilidad ambiental. La apicultura no solo es esencial para la producción de alimentos, sino que también se presenta como una actividad sostenible que promueve el uso responsable de los recursos naturales (Organización de las Naciones Unidas, 2024a).

En este contexto, es fundamental destacar el papel que tienen las abejas para mantener la biodiversidad y la salud de los ecosistemas agrícolas y forestales, su actividad de polinización asegura la reproducción de una amplia variedad de plantas, muchas de las cuales son cultivos alimentarios (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2021). Al fomentar prácticas apícolas responsables, es posible preservar tanto a las abejas como los ecosistemas que dependen de ellas, lo cual es esencial para el equilibrio ambiental y el desarrollo sostenible (Cantú-Martínez, 2024; Sastoque Vargas, 2024). Las abejas son esenciales para la polinización, lo que asegura la reproducción de una amplia variedad de cultivos alimentarios y mantiene la biodiversidad de los ecosistemas agrícolas y forestales. Sin embargo, a pesar de su relevancia, la apicultura enfrenta desafíos significativos que limitan su potencial de crecimiento y desarrollo sostenible.

Dentro de esta actividad, además de proporcionar alimentos de alta calidad, como la miel, la jalea real y el polen, también se generan otros productos valiosos como la cera de abeja y el propóleo (Organización de las Naciones Unidas, 2022). El propóleo, en particular, es un producto resinoso elaborado por las abejas a partir de exudaciones vegetales para ser empleado como sellante en la construcción de las colmenas. Su rica composición química incluye ácidos fenólicos y sus ésteres, flavonoides, terpenos, aldehídos aromáticos, alcoholes, ácidos grasos y aminoácidos, entre otros (Orian et al., 2020), lo que le confiere diversas propiedades bioactivas, entre las que se destacan su capacidad de combatir algunas bacterias, virus y hongos (Salamanca Grosso, 2017).

A pesar de su bajo volumen de producción en comparación con la miel, el interés por el propóleo ha crecido debido a la creciente demanda de productos naturales y saludables. Este producto puede emplearse en suplementos dietéticos, bebidas funcionales, productos lácteos, entre otros (Cedeño Carpio, 2018; Lisboa González et al., 2020; Salamanca Grosso, 2017), reflejando un interés creciente en alternativas saludables para la nutrición. Sin embargo, su uso y comercialización enfrenta diversos desafíos, como la falta de estandarización en su recolección y procesamiento (Salamanca Grosso, 2017).

El aprovechamiento de los compuestos bioactivos presentes en el propóleo presenta múltiples retos debido a su naturaleza física. En primer lugar, el propóleo tiene una consistencia resinosa, pegajosa y quebradiza, lo que dificulta tanto su extracción como su formulación en productos alimenticios (Sancho Ortiz, 2019). Estas características pueden limitar su incorporación en diferentes matrices alimenticias, ya que su textura podría afectar la palatabilidad y, en consecuencia, la aceptación del producto final por parte de los consumidores (Hidalgo, 2021). Además, el propóleo posee propiedades organolépticas muy particulares, con sabores que van desde insípido hasta amargo o incluso picante, y aromas que varían entre suaves e intensamente aromáticos, dependiendo de su origen (Salamanca Grosso, 2017).

Estos factores son poco atractivos para los consumidores dificultando su empleo directo como ingrediente funcional en alimentos. Por otra parte, la extracción de los compuestos bioactivos del propóleo mediante maceración ha sido una de las formas más comunes de aprovechamiento del propóleo, y aunque este método ha sido tradicionalmente utilizado, presenta limitaciones importantes, entre las que se destaca el prolongado tiempo de extracción (Rodríguez Pérez et al., 2020), lo que puede derivar en un uso ineficiente de los recursos y un aumento de los costos de producción; además de que resulta complicado mantener condiciones óptimas durante estos periodos prolongados. También, la consistencia del propóleo complica la extracción efectiva de sus componentes bioactivos, y esta condición puede provocar su degradación, lo que limita tanto la recuperación como la calidad de los compuestos obtenidos (Oroian et al., 2020).

En los últimos años, se han implementado diversas aplicaciones tecnológicas modernas para la extracción del propóleo, como la extracción con fluidos supercríticos y la extracción por ultrasonido, las cuales han demostrado ser más efectivas al reducir el tiempo de extracción y mejorar los rendimientos de los compuestos bioactivos. Estos métodos permiten un ahorro significativo de tiempo y energía, además de ofrecer una buena selectividad de los compuestos deseados (Kalkan Yildirim, 2022; Oroian et al., 2020). Sin embargo, estas técnicas requieren tecnologías avanzadas que no son accesibles para todos los apicultores en la actualidad. Resulta crucial desarrollar soluciones accesibles y sostenibles que permitan a los apicultores mejorar la extracción del propóleo de manera eficiente y económica. Esto no solo diversificaría sus ingresos, sino que también contribuiría a una producción más sostenible y al aprovechamiento óptimo del propóleo en diversas aplicaciones.

Considerando lo anteriormente expuesto, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué métodos de extracción son eficientes y accesibles para asegurar el aprovechamiento de los compuestos bioactivos del propóleo, considerando las limitaciones técnicas y económicas que enfrentan los apicultores en su implementación?

1.2 JUSTIFICACIÓN

La apicultura se ha consolidado como una actividad esencial para la seguridad alimentaria, proporcionando productos altamente nutritivos como miel, polen y jalea real, ricos en micronutrientes vitales para la salud humana (Verde, 2014). Según la Organización de las Naciones Unidas (2016), las abejas desempeñan un papel crucial en la producción agrícola, beneficiando a aproximadamente 2 mil millones de pequeños agricultores en todo el mundo, este apoyo no solo mejora el acceso a alimentos, sino que también contribuye a la nutrición de una población global en constante crecimiento. Además, alrededor del 75% de los cultivos alimentarios dependen de la polinización, subrayando la importancia de las abejas en la cadena alimentaria (Merlos, 2023). En Colombia, se estima que hay alrededor de 3.000 apicultores y que la producción de miel alcanzó las 3.838 toneladas en 2019, un crecimiento del 14% respecto al año anterior (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

En este sentido, otro de los productos obtenidos a través de la apicultura es el propóleo. Su composición, propiedades sensoriales y actividad biológica varían dependiendo de la ubicación geográfica de las colmenas, esto se debe, a que las abejas utilizan como materia prima los compuestos que producen las especies vegetales del entorno en el que viven para elaborar este producto (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015). La cantidad de propóleo producido por una colmena dependerá de dos factores principales: La especie de abeja y la ubicación, Romero et al., (2023) afirman que las colmenas situadas en bosques o cerca de ríos contienen más propóleo que las que se encuentran en zonas llanas, la cantidad estimada de propóleo que se obtiene de una colmena al año está entre 150 y 300 gramos.

Por ello, la implementación de métodos modernos de extracción del propóleo podría beneficiar a un número considerable de personas dedicadas a esta actividad, permitiendo no solo diversificar sus ingresos, sino también optimizar el aprovechamiento de un recurso natural valioso. Dado el creciente interés por productos naturales y saludables, tener procesos eficientes contribuiría a nivel económico como en términos de sostenibilidad ecológica.

En Colombia, la promoción del uso del propóleo mediante técnicas de transformación eficientes y escalables podría ofrecer una importante fuente de ingresos para los apicultores, quienes actualmente dependen de la producción de la miel, y donde se generan al menos 9.000 empleos (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020). Diferentes estudios han demostrado que el desarrollo de productos derivados del propóleo no solo diversifica la oferta apícola, sino que también crea nuevas oportunidades en el mercado (Farieta Montenegro, 2024; Rodríguez Pérez et al., 2020). Además, su aplicación potencial en sectores como la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria está respaldada por investigaciones que demuestran las propiedades bioactivas del mismo (Salamanca Grosso & Osorio

Tangarife, 2019), lo cual favorece a la transición del propóleo de solo la investigación a su utilización para diferentes fines comerciales. De este modo, la implementación de estos procesos contribuiría tanto al crecimiento económico del sector apícola como a la innovación de diversas áreas industriales del país (Gómez Valencia & Vélez, 2022; Salamanca Grosso, 2017).

La Fundación Universitaria Agraria de Colombia – Uniagraria, con su enfoque en la sustentabilidad, el emprendimiento y el desarrollo regional, busca formar profesionales comprometidos con el desarrollo integral del país. Este enfoque es particularmente relevante en el contexto de la apicultura, siendo una actividad predominantemente rural en Colombia, por lo cual el desarrollo de este proyecto se alinea con la identidad institucional de Uniagraria de contribuir al desarrollo sostenible y al impulso de economías rurales ya que al fomentar la investigación aplicada no solo se aporta al desarrollo de la comunidad apícola, sino que también se fortalece la conexión con el sector agroindustrial, promoviendo alternativas innovadoras y naturales para la conservación de los alimentos.

La promoción de la actividad apícola mediante un mejor aprovechamiento de los recursos derivados, como el propóleo, contribuye significativamente a la seguridad alimentaria y a la protección del medio ambiente en Colombia. Al optimizar el uso de productos apícolas, se incrementa la diversidad de alimentos disponibles y se potencian sus beneficios nutricionales y de conservación (Organización de las Naciones Unidas, 2024b). Además, la apicultura es esencial para la polinización de cultivos, lo que mejora la productividad agrícola y sostiene la biodiversidad (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural & Gobierno de Colombia, 2018). Por lo tanto, el impulso a esta actividad no solo fortalece la economía rural, sino que también apoya prácticas agrícolas sostenibles que son fundamentales para el equilibrio ecológico y la resiliencia de los ecosistemas (Cantú-Martínez, 2024; Sastoque Vargas, 2024).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Evaluar las características bioactivas y antimicrobianas del propóleo extraído mediante diferentes métodos de extracción.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Establecer la cinética de extracción convencional del propóleo empleando diferentes solventes, para identificar el efecto del tiempo de extracción sobre el contenido de compuestos fenólicos totales.
- Determinar el efecto de diferentes solventes y métodos de extracción sobre las características bioactivas de los extractos de propóleo, para optimizar las condiciones que potencian las propiedades en el producto final.
- Comparar el efecto antimicrobiano de los extractos de propóleo obtenidos mediante diferentes métodos y solventes de extracción frente a patógenos de origen alimentario *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica sv enteritidis*.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 MARCO TEÓRICO - CONCEPTUAL

El propóleo es una sustancia resinosa y pegajosa, producida por las abejas a partir de resinas naturales recolectadas de árboles y plantas, combinadas con ceras y secreciones salivales (Salamanca Grosso, 2017). Este material se utiliza para sellar y proteger la colmena actuando como agente antimicrobiano y antifúngico que ayuda a mantener la salud de la colmena (Pasupuleti et al., 2017).

El propóleo es de naturaleza compleja si se tiene en cuenta las múltiples fuentes botánicas del que ha sido elaborado (Salamanca Grosso, 2017). La composición química del propóleo es altamente variable, dependiendo de la flora disponible en la zona biogeográfica de la colmena. Entre los componentes químicos que pueden encontrarse en los propóleos se incluyen ácido benzoico y sus derivados, derivados de benzaldehído, alcohol cinámico, ácido cinámico y sus derivados, hidrocarburos alifáticos, azúcares, vitaminas, alcoholes, cetonas, fenoles, compuestos heterocíclicos aromáticos, minerales y otros componentes (González Montiel, 2023).

La variabilidad de su composición también se refleja en el color, pues en la literatura se han descrito colores como amarillo claro, marrón oscuro, verde oscuro, café oscuro con tintes amarillos y sabores amargos, picantes e insípidos (Sosa López et al., 2017; Vilorio B et al., 2012). Se han identificado más de 300 compuestos bioactivos en el propóleo (Betances Salcedo, 2018; Salamanca Grosso, 2017), a continuación, se describen algunos de los más relevantes:

- **Flavonoides**

Se han identificado más de 150 flavonoides en el propóleo, lo que lo convierte en uno de sus principales grupos de componentes, el cual además está estrechamente relacionado con sus propiedades farmacológicas (González Montiel, 2023). Estos compuestos destacan por su capacidad para eliminar radicales libres y ejercer un efecto protector frente a la oxidación de lípidos y la vitamina C, además de poseer propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, anticancerígenas, entre otras (Hernández Zarate et al., 2017). Dentro de los diferentes grupos de flavonoides presentes en el propóleo se incluyen flavonas, flavonoles, flavanonas, flavononoles, flavandioles, así como otros compuestos relacionados como isoflavonoides, neoflavonoides, antocianinas, auronas, chalconas y dihidrochalconas (Salamanca Grosso, 2017). Las flavanonas son particularmente relevantes, ya que han sido detectadas en más de 40 tipos de propóleo en distintas regiones del mundo (González Montiel, 2023). Aunque las flavonas y flavonoles también son comunes en el propóleo, su concentración suele ser menor en comparación con las flavanonas (González Montiel, 2023).

- **Terpenos**

Los terpenos son compuestos volátiles que constituyen aproximadamente el 10% del propóleo y son los principales responsables de su aroma, además de contribuir a sus propiedades farmacológicas, tales como efectos antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatorios y anticancerígenos (González Montiel, 2023; Rodríguez Pérez et al., 2020).

La fracción volátil del propóleo está compuesta principalmente por monoterpenos (monoterpenoides), sesquiterpenos (sesquiterpenoides) y fenilpropanos (fenilpropanoides) (Salamanca Grosso, 2017). Los monoterpenos presentes en el propóleo se clasifican en acíclicos, monocíclicos y dicíclicos, junto con sus derivados. En los grupos de monoterpenos acíclicos y monocíclicos se incluyen compuestos como el mirceno, los p-mentanos y el cineol, los cuales son muy aromáticos, con notas de menta y trementina. Por su parte, los diterpenos destacan por su amplio espectro de propiedades farmacológicas, especialmente su notable actividad antibacteriana, principalmente contra bacterias Gram positivas (Graikou et al., 2016).

- **Hidrocarburos**

En el propóleo se han identificado varios tipos de hidrocarburos, entre los que se encuentran alcanos, alquenos, alcadienos, monoésteres, diésteres, ésteres aromáticos, ácidos grasos y esteroides, estos compuestos contribuyen a las características físicas del propóleo, como su consistencia y viscosidad (González Montiel, 2023). La composición específica de hidrocarburos en el propóleo está influenciada por factores genéticos de las plantas de origen, lo que puede afectar su perfil químico y sus propiedades terapéuticas (Ecem Bayram et al., 2018).

- **Compuestos Fenólicos**

Los compuestos fenólicos, considerados metabolitos secundarios, son abundantes en las plantas y desempeñan un papel crucial como mecanismos de defensa frente a ataques de microorganismos, plagas y otros organismos que pueden afectar su metabolismo (Salamanca Grosso, 2017). En el propóleo, la cantidad y la composición de estos compuestos varían considerablemente según factores como la fuente vegetal de los exudados recolectados por las abejas y el origen geográfico del propóleo (Vargas Sánchez et al., 2020).

Entre los compuestos fenólicos comúnmente presentes en distintos tipos de propóleo se encuentran el ácido gálico, ácido cumárico, ácido p-cumárico, quercetina, luteolina, apigenina, pinocembrina, crisina, galangina y naringenina, entre otros (Rodríguez Pérez et al., 2020; Silva Beltrán et al., 2022; Vargas Sánchez et al., 2020).

Es importante destacar que la concentración de estos compuestos puede fluctuar significativamente según el origen botánico y las condiciones ambientales. A continuación, se presenta una tabla con los contenidos estimados para extractos de propóleo del noroeste de México, obtenidos por el método de maceración, empleando como solvente etanol y lavado tres veces con n-hexano para eliminar los rastros de ceras que pueden quedar en el extracto.

Tabla 1. Composición Fenólica de Extractos de Propóleo del Noroeste de México

Compuesto	Valor Mínimo	Valor Máximo
Ácido Cinámico	1,6 ± 0,5	3,5 ± 0,5
Ácido p-cumárico	0,1 ± 0,0	3,2 ± 1,0
Naringenina	7,6 ± 1,0	136 ± 5,4
Quercetina	0,1 ± 0,0	29,5 ± 3,1
Luteolina	0,1 ± 0,0	3,6 ± 0,5
Kaempferol	0,05 ± 0,0	0,8 ± 0,1
Apigenina	0,1 ± 0,0	4,9 ± 1,3
Pinocebrina	4,7 ± 1,5	101,9 ± 5,8
Crisina	2,2 ± 1,0	13 ± 1,5
Galangina	1,2 ± 0,5	35,5 ± 2,5
Acacetin	0,1 ± 0,1	8,7 ± 1,0

Fuente: Datos tomados de (Vargas Sánchez et al., 2020).

- **Actividad Antimicrobiana del Propóleo**

La actividad antimicrobiana del propóleo se atribuye principalmente a la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos. Esta propiedad es esencial y se manifiesta tanto en la inhibición del crecimiento bacteriano (acción bacteriostática) como en la destrucción de las bacterias (acción bactericida). Los mecanismos involucrados incluyen la interferencia en la síntesis de ácidos nucleicos, el daño a la integridad de la membrana citoplasmática y la alteración de los canales iónicos. Estas acciones afectan procesos bioquímicos clave, como la fosforilación y desfosforilación, lo que reduce la movilidad de las bacterias y disminuye su capacidad para causar infecciones (Rodríguez Pérez et al., 2020).

La mayoría de los propóleos muestran una mayor efectividad contra bacterias grampositivas en comparación con las gramnegativas, esto se debe a la estructura celular de las bacterias gramnegativas, cuya membrana externa contiene enzimas hidrolíticas que pueden degradar los componentes activos del propóleo (Przybyłek & Karpiński, 2019).

No obstante, (Bucio Villalobos & Martínez Jaime, 2016) reporta que algunos estudios han encontrado una mayor inhibición en bacterias gramnegativas como *E. coli* y *Salmonella*, lo cual podría estar relacionado con el origen botánico del propóleo. En un estudio realizado con extractos etanólicos de propóleos, se evaluó su actividad antimicrobiana contra los patógenos *S. aureus*, *S. typhi*, *P. aeruginosa* y *S. pyogenes*, los resultados revelaron que *P. aeruginosa* mostró la mayor sensibilidad al propóleo, con una concentración mínima bactericida promedio de 3,33 mg/ml, mientras que *S. typhi* también fue susceptible, con 9,82 mg/ml (Rodríguez Pérez et al., 2020).

2.2 MARCO HISTÓRICO

La apicultura ha sido una actividad presente en Europa, Asia y África desde la antigüedad, evolucionando desde la recolección primitiva de miel por parte de grupos nómadas hasta el desarrollo de técnicas rudimentarias de cría de abejas (López, 2018). El registro más antiguo de esta práctica data de entre los años 6000 y 3000 a.C., con las pinturas rupestres de la Cueva de La Araña en Bicorp, Valencia, donde se muestra a un recolector obteniendo miel de una colmena (López, 2018). En el antiguo Egipto, la apicultura ya era una práctica establecida, con la miel utilizada como edulcorante y el propóleo empleado para embalsamar cadáveres. La relevancia de la miel se extiende al antiguo Israel, descrito en la Biblia como "una tierra que mana leche y miel", y confirmada por restos arqueológicos en Tel Rehov, en el valle del Jordán, donde se encontró un colmenar datado entre los siglos X y IX a.C.

La apicultura también se practicaba en la península ibérica durante la antigüedad, como lo demuestran los hallazgos de colmenas de cerámica de los siglos III-II a.C. en asentamientos ibéricos (Gil Zubillaga & Luezas Pascual, 2015). En la época romana, la miel fue un alimento central en la dieta, utilizada en la elaboración de postres y bebidas, como el "mulsum" o vino endulzado con miel. Escritores romanos como Plinio el Viejo y Marcial describieron la importancia de la apicultura y sus productos, mientras que el agrónomo Columela dedicó parte de su obra a esta actividad, abordando aspectos técnicos sobre la ubicación y el manejo de los colmenares (Gil Zubillaga & Luezas Pascual, 2015; Morillo et al., 2019).

La relevancia de la miel y la cera continuó en la Edad Media, siendo productos esenciales para las comunidades judía, cristiana y musulmana en la península ibérica. La cera era fundamental para la iluminación de iglesias, y la miel tenía usos rituales y medicinales en las tres religiones. En la era moderna, las menciones a la miel y la cera en documentos históricos, especialmente como pago de diezmos, indican su importancia económica (Gil Zubillaga & Luezas Pascual, 2015).

La apicultura llegó al continente americano durante la expansión ultramarina de las naciones europeas en el siglo XVI, con la introducción de la abeja *Apis mellifera* en América del Sur en 1583 y en Virginia, Estados Unidos, en 1622. Aunque las técnicas de manejo eran rudimentarias, la invención de las colmenas móviles por Lorenzo Langstroth en 1852 marcó el inicio de la apicultura moderna al facilitar la cosecha sin destruir las colmenas (López, 2018).

El cultivo y manejo de la producción apícola en Colombia, es una actividad de carácter agropecuario que se encuentra desarrollando desde la época precolombina (Moreno Pérez & Arias Ramírez, 2020). La cultura muisca, asentada en el altiplano oriental, fue una de las primeras en cultivar abejas, la miel producida por estas abejas se utilizaba para endulzar bebidas y alimentos, mientras que la cera tenía un uso destacado en la orfebrería. De manera similar, la cultura Tairona, ubicada en la Sierra Nevada de Santa Marta, también practicaba la apicultura, empleando la miel en la alimentación y la cera en la elaboración de objetos de oro. Por su parte, los Chibchas se dedicaban a la recolección de miel y cera a partir de nidos silvestres que encontraban en las riberas del río Cauca, aprovechando estos recursos naturales para sus actividades cotidianas (Moreno Pérez & Arias Ramírez, 2020).

La apicultura en Colombia se desarrolló de manera artesanal y rudimentaria durante siglos, con un crecimiento lento en pequeñas áreas del territorio. El primer avance significativo ocurrió a finales del siglo XIX y principios del siglo XX, gracias al trabajo del sacerdote italiano Remigio Rizzardi, miembro de la orden de los salesianos, quien es reconocido como el precursor de la apicultura moderna en el país. Rizzardi fundó el primer apiario científico con abejas italianas en el Noviciado de Mosquera, Cundinamarca, y promovió diversas actividades apícolas. Además, escribió el libro *Apicultura Racional*, publicado en 1993, con el objetivo de difundir conocimientos apícolas en el campo colombiano (Cámara Procultivos de la ANDI, 2017).

Desde 1927, personas como Pedro Pablo Pérez Chaparro, influenciado por el sacerdote francés Gonzalo Carlos, contribuyeron al fortalecimiento de la apicultura en regiones como Boyacá, Casanare y Santander. Pérez Chaparro fundó el Apiario Colombiano Apicultura Pérez, conocido por su enfoque innovador. A partir de la década de 1930, la implementación de la apicultura moderna generó un cambio considerable en las prácticas apícolas tradicionales (Moreno Pérez & Arias Ramírez, 2020).

El Ministerio de Economía desempeñó un papel crucial al fomentar la actividad apícola mediante programas de importación de abejas y colaboración con empresas y entidades. En la década de 1950, el Ministerio de Agricultura creó la granja experimental La Picota, donde se realizaron exposiciones sobre producción agropecuaria, y más adelante estableció la División de Apicultura en la Oficina de Industria Animal. En 1953, se lanzó la Campaña Apícola Nacional, que capacitó a numerosos apicultores y formuló nuevos proyectos de producción (Cámara Procultivos de la ANDI, 2017).

El impulso de la apicultura en el país se intensificó en 1956 gracias a las actividades de capacitación y divulgación, especialmente a través de la televisión nacional con Gabriel Trillas, quien compartía su experiencia desde su apiario La Conchita en Funza, Cundinamarca. Trillas fue uno de los primeros en comercializar productos apícolas en Colombia y escribió el libro *Vida de las abejas*, un documento técnico sobre apicultura rentable. En 1959, Trillas organizó la Asociación Nacional de Apicultores, y en 1967, Miguel Gómez promovió el reconocimiento del trabajo del padre Rizzardi, lo que llevó a la designación del 26 de abril como el Día del Apicultor Colombiano, fecha celebrada desde el primer congreso de apicultura realizado en 1956 (Moreno Pérez & Arias Ramírez, 2020).

En la década de 1970, se reportó la llegada de la abeja africanizada a Colombia. Este híbrido surgió del cruce entre la subespecie africana natural *Apis mellifera scutellata* y abejas domésticas europeas de distintas subespecies de *Apis mellifera*. Para 1983, se estimaba que la totalidad del país ya había sido invadida por estas abejas. La introducción de la abeja africanizada se realizó con la intención de mejorar la productividad y la adaptación de las abejas a los ambientes tropicales, aunque también trajo consigo desafíos debido a su alto grado de defensividad (Cámara Procultivos de la ANDI, 2017).

En este contexto, es relevante destacar que la apicultura con abejas melíferas en Colombia constituye una actividad productiva que, en muchos casos, forma parte de la economía familiar rural. Cuando se aplican buenas prácticas apícolas y agrícolas, se promueve el uso sostenible de la biodiversidad, lo que evidencia su contribución al desarrollo rural (Claro Carrascal et al., 2020).

2.3 MARCO GEOGRÁFICO

En Colombia, la mayor concentración de colmenas se encuentra en las regiones Andina y Atlántica, con departamentos como Sucre, Bolívar, Córdoba y Huila que son reconocidos tradicionalmente por su producción apícola. En los últimos años, departamentos como Antioquia, Magdalena y Cesar, así como los de la región de la Orinoquía, han incrementado el número de colmenas, impulsados por proyectos que fomentan la sustitución de cultivos ilícitos y la reducción del impacto ambiental causado por la minería y otras actividades. Además, la apicultura ha mostrado un notable crecimiento en los Llanos Orientales, asociado con las plantaciones de *Acacia mangium*, una importante fuente de miel (Cámara Procultivos de la ANDI, 2017).

Las principales zonas de actividad apícola en Colombia son la región Andina, la región Caribe y la región de la Orinoquía. La región Andina, con 12 departamentos productores de miel de abejas, aporta el 49% de la producción nacional, alcanzando un total de 1.874 toneladas. En la región Caribe, la producción de miel representa el 31% de la producción nacional, con un volumen regional de 1.211 toneladas.

Por su parte, la región de la Orinoquía, con 4 departamentos dedicados a la apicultura, contribuye con el 19% de la producción nacional, sumando 711 toneladas. Todos estos datos fueron reportados por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural para el año 2019. En la imagen 1 se muestra la producción de miel de abejas en toneladas, clasificada por colores según la cantidad producida.

Ilustración 1. Zonas de mayor producción de miel en Colombia



Fuente: (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

De acuerdo con los principales indicadores del mismo año, en el país había 135.117 colmenas que generaban un total de 3.834 toneladas de miel, distribuidas en 4.074 apiarios con un promedio de 30 colmenas cada uno (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

2.4 MARCO LEGAL

En Colombia, no existe una legislación actual que regule la identidad y calidad de los propóleos (Ferreira et al., 2011). Por ello, para evaluar estos aspectos, se recurre a normativas internacionales. La regulación internacional sobre la calidad del propóleo y sus extractos es limitada; sin embargo, existen algunas normativas relevantes que establecen parámetros de calidad y requisitos específicos. Entre ellas destacan:

- **Norma Salvadoreña NSO 65.19.02:03**

Esta norma define los requisitos de calidad para el propóleo crudo, incluyendo tanto características sensoriales como parámetros fisicoquímicos. Los requisitos específicos son los siguientes:

Tabla 2. Parámetros Fisicoquímicos determinantes en la Calidad del Propóleo

Análisis	Resultado
Compuestos Fenólicos	Reacción positiva
Flavonoides	Reacción positiva
Solubilidad en Etanol	30-35%

Fuente: Datos tomados de la Norma Salvadoreña NSO 65.19.02:03 (2017).

Tabla 3. Parámetros Microbiológicos determinantes en la Calidad del Propóleo

Análisis	Resultado
Recuento de bacterias mesófilas (UFC/g)	<10.000
Coliformes fecales (UFC/g)	0
Coliformes totales (UFC/g)	<100
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	100
Hongos (UFC/g)	1-100

Fuente: Datos tomados de la Norma Salvadoreña NSO 65.19.02:03 (2017).

La norma también establece requisitos sobre aditivos, contaminantes y otros aspectos, y especifica los métodos a emplear en las pruebas de calidad fisicoquímica para asegurar su cumplimiento.

- **Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017**

Esta norma establece especificaciones físicas, químicas y de actividad antimicrobiana para la producción y procesamiento de propóleos. A continuación, se detallan las especificaciones químicas y de actividad antimicrobiana:

Tabla 4. Parámetros Fisicoquímicos Cualitativos para el Procesamiento del Propóleo

Análisis	Resultado
Flavonoides	Presencia
Fenoles Totales	Presencia
Índice de Oxidación	Max 22 seg

Fuente: Datos tomados de la Norma Oficial Mexicana NOM 003 SAG GAN (2017).

Tabla 5. Parámetros Fisicoquímicos Cuantitativos para el Procesamiento del Propóleo

Análisis	Resultados
Compuestos Fenólicos	Expresados como equivalentes de ácido gálico: mínimo 5% (peso/peso)
Flavonoides	Expresados como equivalentes de quercetina: mínimo 0.5% (peso/peso)
Actividad Antioxidante	Mínimo 100 microgramos/mililitro

Fuente: Datos tomados de la Norma Oficial Mexicana NOM 003 SAG GAN (2017).

- **Actividad Antimicrobiana**

Todas las muestras deben someterse a pruebas de actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC), *Escherichia coli* (ATCC) y *Candida albicans* (ATCC), debido a su relevancia en la salud pública. Un laboratorio autorizado deberá emitir los resultados de actividad antimicrobiana, indicando el número de referencia ATCC utilizado en el análisis.

2.5 ESTADO DEL ARTE

La extracción del propóleo es un proceso crucial para obtener sus compuestos bioactivos, y la eficiencia de este proceso puede verse influenciada por diversos factores, tales como:

- **Tipo de Solvente**

La extracción de propóleos se ve afectada por el tipo de solvente utilizado debido a las propiedades químicas de los compuestos que se desean extraer y la naturaleza de la matriz de propóleos. Los solventes más comunes incluyen etanol, agua y mezclas de ambos. La elección del solvente afecta la solubilidad de los compuestos activos (Guanche Gallardo, 2022).

Los solventes polares (como el agua) son más efectivos para extraer compuestos polares, mientras que los solventes apolares (como el etanol) son más adecuados para extraer compuestos menos polares. Esto significa que la elección del solvente puede influir en la cantidad y tipo de compuestos bioactivos que se extraen (El-Sakhawy, 2023; Kalkan Yildirim, 2022).

En un estudio realizado (Freitas et al., 2022) se prepararon extractos de propóleo utilizando diferentes disolventes tales como etanol puro, una mezcla de etanol/agua, aguardiente de miel, hidromiel, propilenglicol y agua. Los resultados mostraron que los extractos con mayor rendimiento de extracción fueron los obtenidos con etanol puro ($61,6 \pm 1,2\%$), etanol/agua ($68,3 \pm 0,7\%$) y propilenglicol ($64 \pm 5,2\%$). Cabe destacar, que estos extractos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí. Los compuestos presentes en el propóleo tienen mayor afinidad por ciertos disolventes, siendo los compuestos menos polares más afines al etanol, lo que dificulta su extracción con disolventes polares y viceversa. En este sentido, se puede concluir que el propilenglicol dada su naturaleza, tiene una mayor afinidad a los compuestos bioactivos presentes en el propóleo lo que permite una mayor extracción de estos, convirtiéndolo en un potencial solvente de extracción.

En otro estudio realizado (Kubiliene et al., 2015) se evaluaron extractos de propóleo elaborados con diferentes solventes como polietilenglicol, aceite de oliva, agua y etanol al 70%, el mayor contenido de compuestos fenólicos se encontró en el extracto etanólico de propóleo ($12,7 \pm 1,2$ mg/ml GAE) y el menor contenido de compuestos fenólicos se encontró en el extracto oleoso de propóleo ($0,5 \pm 0,2$ mg/ml GAE). Sin embargo, se evaluaron dos extractos de propóleo que tenían una combinación de solventes: La primera mezcla fue polietilenglicol, aceite de oliva y agua y la segunda mezcla fue polietilenglicol y agua obteniendo un contenido de compuestos fenólicos de $9,5 \pm 1,3$ mg/ml GAE y $10,7 \pm 1,2$ mg/ml GAE respectivamente. Lo anterior, demuestra que el aceite tiene una afinidad a ciertos compuestos bioactivos que no se pueden extraer empleando otros solventes de extracción.

- **Tiempo de Extracción**

El tiempo de extracción es un factor clave en la obtención de compuestos de interés. Métodos tradicionales como la maceración requieren tiempos prolongados, generalmente de al menos tres días, mientras que técnicas más modernas, como la extracción asistida por ultrasonido, pueden reducir este tiempo a menos de una hora. Un estudio demostró que al utilizar una solución hidroalcohólica a 85 °GL, se lograron resultados óptimos en un periodo de 56 horas, obteniendo rendimientos superiores en comparación con los tiempos más largos empleados con soluciones de menor concentración (Martínez Rojas et al., 2005).

- Condiciones Experimentales

La temperatura es un parámetro crítico, ya que su variación puede afectar tanto la solubilidad de los compuestos como su estabilidad. Se recomienda mantener temperaturas entre 30 °C y 50 °C para maximizar la extracción sin provocar la degradación térmica de los compuestos sensibles. Temperaturas más altas pueden resultar en la descomposición de ciertos componentes bioactivos, mientras que temperaturas demasiado bajas pueden limitar la solubilidad y, por ende, la recuperación de estos (Dueñas-Rivadeneira et al., 2016).

El tamaño de las partículas del material a extraer también juega un papel importante. Partículas más pequeñas aumentan la superficie de contacto con el solvente, facilitando una mejor disolución y transferencia de masa. Esto se traduce en una mayor eficiencia en el proceso de extracción. Un tamaño adecuado de las partículas puede reducir significativamente el tiempo necesario para alcanzar una extracción óptima (Ordoñez Castillo, 2005).

La agitación durante el proceso de extracción puede mejorar significativamente la eficiencia al aumentar la interacción entre el solvente y el material a extraer. La agitación ayuda a mantener el sistema homogéneo y a facilitar la transferencia de masa (Dueñas-Rivadeneira et al., 2016).

La extracción de propóleo es un proceso fundamental para aprovechar sus propiedades bioactivas, que incluyen efectos antioxidantes, antimicrobianos y antiinflamatorios. Dada la complejidad de su composición química, que abarca una amplia variedad de compuestos fenólicos, flavonoides y resinas, la selección del método de extracción adecuado es crucial para maximizar el rendimiento y la calidad del producto final. En la tabla 6 se presenta una relación de los métodos convencionales de extracción, mientras que en la tabla 7 se detallan los métodos alternativos de extracción.

Tabla 6. Métodos Convencionales para la extracción de Propóleo

Método	Ventajas	Limitaciones
Maceración	<ul style="list-style-type: none"> - Sencillo y económico. - Ideal para pequeñas cantidades. - No requiere equipo especializado. - Permite extraer una amplia gama de compuestos activos. (Alba de Armas et al., 2022; Guanche Gallardo, 2022). 	<ul style="list-style-type: none"> - Puede ser lento; requiere tiempo y control. - La temperatura puede afectar la calidad del extracto. - Riesgo de contaminación microbiana, especialmente en maceraciones prolongadas con agua. - Extracción incompleta de algunos compuestos.
Soxhlet	<ul style="list-style-type: none"> - Permite una alta extracción de los compuestos bioactivos del propóleo. - Se utiliza una pequeña cantidad de solvente, y el solvente se recicla durante el proceso. - Permite reducir el desperdicio de solvente, lo que puede ser más ecológico y económico. - Con tiempos de extracción entre 4 y 6 horas, el rendimiento es alto. 	<ul style="list-style-type: none"> - La exposición prolongada a temperaturas altas puede degradar compuestos termolábiles del propóleo. - La extracción de propóleo a altas temperaturas puede aumentar la solubilidad de las ceras, lo que puede reducir la calidad del extracto. - El equipo Soxhlet no es tan accesible o económico.

Tabla 6. (Continuación)

Método	Ventajas	Limitaciones
Extracción con Etanol	<ul style="list-style-type: none"> - Permite obtener extractos ricos en compuestos bioactivos (fenoles y flavonoides) y bajos en cera. - La mayoría de los compuestos activos del propóleo son fácilmente solubles en etanol. - Existen numerosos estudios que respaldan su eficacia y optimización. - Es un proceso sencillo, ampliamente estudiado y fácil de implementar en laboratorios y a escala industrial. - El etanol es un solvente común, económico y de fácil acceso. - Los compuestos obtenidos en etanol son estables y conservan sus propiedades biológicas. 	<ul style="list-style-type: none"> - El extracto etanólico tiene un sabor residual pronunciado, limitando su aceptación sensorial. - Algunos compuestos menores del propóleo no son extraíbles con etanol (Guanche Gallardo, 2022).

Tabla 7. Métodos Alternativos para la extracción de Propóleo

Método	Ventajas	Limitaciones
Extracción por Microondas	<ul style="list-style-type: none"> - Alta eficiencia en la extracción de compuestos. - Reducción de tiempos de extracción. - Método limpio y de bajo impacto ambiental. - Baja inversión inicial en equipos. - Versatilidad en su aplicación. - Mejora propiedades funcionales del extracto. - Parámetros ajustables para optimización (Campos Montiel et al., 2023). 	<ul style="list-style-type: none"> - Dependencia de parámetros como frecuencia, tiempos y potencia. - Requiere trabajar en un sistema líquido. - Generación de calor local que puede degradar compuestos termolábiles - Limitaciones en la escalabilidad industrial. - Variabilidad en la eficiencia según el solvente utilizado - Posible desgaste del equipo por cavitación (Kalkan Yıldırım, 2022).

Tabla 7. (Continuación)

Método	Ventajas	Limitaciones
Ultrasonido	<ul style="list-style-type: none"> - Tiempos de extracción más cortos. - Mayor rendimiento de compuestos bioactivos como fenoles y flavonoides. - Menor uso de solventes, lo que lo hace más económico. - Alta selectividad de compuestos. - Mayor nivel de automatización, los equipos permiten un control preciso de parámetros como temperatura, tiempo y potencia - Eficiencia energética (Campos Montiel et al., 2023). 	<ul style="list-style-type: none"> - Costo elevado de equipos por su nivel de especialidad. - Alto riesgo de degradación de compuestos si no se controla de manera adecuada la temperatura. - Requiere de experiencia técnica para ajustar parámetros, y poder ser utilizado. - Limitada escalabilidad a nivel industrial (Campo Vera et al., 2018).
Extracción con CO₂ Supercrítico	<ul style="list-style-type: none"> - Produce extractos sin solventes orgánicos residuales, por lo tanto, es de alta pureza e ideal para aplicaciones farmacéuticas y alimentarias. - Utiliza CO₂ que es seguro, no toxico y no deja residuos en los extractos - Adecuado para la extracción de compuestos no polares y algunos polares con la ayuda de cosolventes. - Se ha demostrado que los extractos obtenidos por este método tienen alta actividad antibacteriana y antioxidante (Campos Montiel et al., 2023). 	<ul style="list-style-type: none"> - Los equipos para CO₂ supercrítico son complejos y requieren una inversión significativa. - Requiere de altas presiones para funcionar por lo tanto se incrementan los costos operativos. - Los procesos de extracción pueden tomar varias horas - Equipos específicos para CO₂ supercrítico no están ampliamente disponibles. -Matrices extremadamente polares pueden requerir ajustes complejos o cosolventes. - Los sistemas de alta presión requieren mantenimiento especializado (Hangişi, 2024).

3. METODOLOGÍA

Este proyecto se basó en una investigación experimental con enfoque cuantitativo, empleando herramientas de medición de distinta índole. La población estudiada corresponde al propóleo producido en Colombia. La muestra consistió en propóleo recolectado mediante mallas en colmenas de abejas *Apis mellifera* durante los meses de cosecha de la empresa Mellifera Colombia S.A.S., ubicada en el municipio de Puerto López, vereda la Serranía, en el departamento del Meta, Colombia.

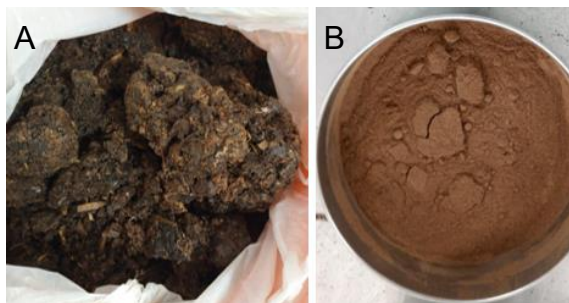
Hipótesis: Los métodos de baja energía como la licuadora podrían favorecer la obtención de extractos de características bioactivas y antimicrobianas comparables a las generadas por los métodos de alta energía y eficiencia como el ultraturrax y el ultrasonido, pero empleando equipos de menor complejidad y más accesibles para los apicultores.

3.1 CINÉTICA DE EXTRACCIÓN DEL PROPÓLEO

3.1.1 Adecuación del Propóleo

El propóleo fue limpiado manualmente para eliminar las impurezas macroscópicas, posteriormente fue sometido a ciclos de ultracongelación a -85°C e impacto con mortero para reducir su tamaño de partícula. Finalmente, el propóleo fue molido utilizando un molinillo de café convencional y tamizado para obtener un polvo homogéneo, con un tamaño de partícula de $250\ \mu\text{M}$. El procedimiento anterior se repitió varias veces hasta que todo el propóleo quedó con el tamaño de partícula establecido anteriormente.

Ilustración 2. Adecuación del propóleo. A) propóleo crudo obtenido del proveedor, B) propóleo molido y tamizado



Fuente: Propia

3.1.2 Condiciones de Extracción Convencional

Se utilizaron diferentes disolventes para cada uno de los métodos de extracción, incluyendo etanol comercial con una concentración del 95% (E95), etanol preparado al 70% en agua (E70), aceite de oliva (AO) y propilenglicol (PP). Los extractos se prepararon utilizando una proporción de 1 gramo de propóleo molido por cada 30 mL de disolvente.

Para la determinación de la cinética de extracción convencional, la mezcla de extracción, preparada por triplicado, se sometió a agitación constante en un Shaker orbital marca Biobase a 100 rpm durante 15 días a temperatura ambiente. Se tomaron alícuotas de 0,6 mL en cada uno de los siguientes tiempos: 1, 5, 10, 15 y 30 min, 1, 2, 3, 4 y 7 horas y 1, 2, 3, 7, 9, 15 días. Cada muestra se centrifugó por 2 minutos a 22 °C y 4000 rpm en una centrifuga para Eppendorfs marca Sigma 1-14 para sedimentar los sólidos suspendidos. El sobrenadante se utilizó para medir el contenido de compuestos fenólicos totales.

3.1.3 Cuantificación de Fenoles Totales en los Extractos

El contenido total de fenoles se midió utilizando el método de Folin-Ciocalteu descrito por Gracia Nava, (2009) con algunas modificaciones. Brevemente, se mezcló 30 µL de extracto de propóleo con 3 mL de agua destilada y 200 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Finalmente, se añadieron 600 µL de carbonato de sodio al 20% m/v, se agitó vigorosamente empleando un vortex por 30 segundos para homogeneizar y se almacenó en oscuridad a temperatura ambiente durante 2 h, tiempo después del cual se midió la absorbancia a 765 nm, empleando un espectrofotómetro de absorción atómica marca Jenway UV/visible 6305. Se utilizó una curva de calibración de ácido gálico preparado en etanol, con concentraciones entre 0 y 500 µg/ mL. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (GAE) por g de propóleo.

3.2 CARACTERIZACIÓN BIOACTIVA DE LOS EXTRACTOS

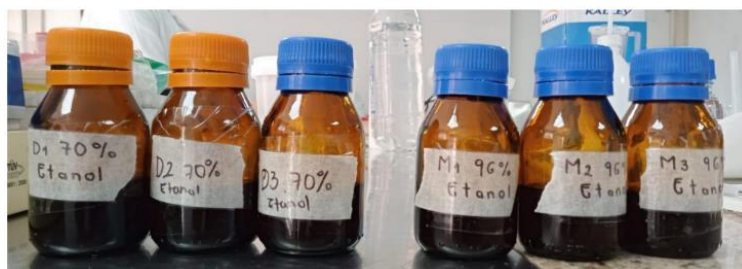
3.2.1 Preparación de Extractos

La proporción de la mezcla de extracción se mantuvo en 1g de propóleo por cada 30 mL de disolvente. Los extractos por el método convencional se prepararon empleando la técnica descrita anteriormente en la sección 3.1.2 (15 días de agitación constante a temperatura ambiente). Para la extracción en licuadora, se utilizó una licuadora de cocina común, marca Kalley K-Ipp40s, y se licuó a máxima velocidad durante 1 minuto. En el caso de la extracción con ultraturrax, se utilizó un equipo marca IKA Basic 19 con un accesorio de homogeneización estándar, sometiendo la mezcla a una velocidad de 25.000 rpm durante 6 min.

Finalmente, para la extracción por ultrasonido, se empleó un equipo marca Branson con un accesorio de homogeneización estándar a condiciones de 40 Hz durante 6 min, controlando que la temperatura de la mezcla no superará los 50°C, para lo cual el proceso de homogeneización se realizó manteniendo la muestra sumergida en un baño de agua-hielo.

Al finalizar los procesos de extracción, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 10.000 rpm en una centrifuga universal de mesa HEX – 301.00V04 Hermle y el sobrenadante se transfirió a frascos color ámbar. Los extractos fueron almacenados a 4°C hasta su posterior análisis. Cada extracto fue preparado por triplicado.

Ilustración 3. Extractos de Propóleo



Fuente: Propia

3.2.2 Cuantificación de Fenoles Totales en los Extractos

La cuantificación se realizó siguiendo el método previamente descrito en la sección 3.1.3.

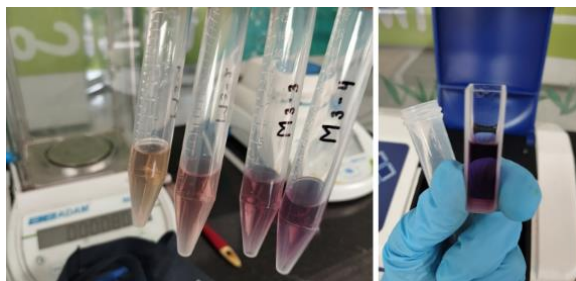
3.2.3 Cuantificación de Flavonoides Totales en los Extractos

El contenido total de flavonoides se midió utilizando el método de cloruro de aluminio descrito por Gracia Nava, (2009), con algunas modificaciones. Se mezclaron 400 μ L de extracto de propóleo con 1,6 mL de agua destilada y 120 μ L de NaNO_2 al 5% m/v. Posteriormente, la mezcla se agitó durante 30 segundos en un vortex y se dejó reaccionar por 5 min. Transcurrido este tiempo, se añadieron 120 μ L de AlCl_3 al 5% m/v en etanol, se agitó nuevamente por 30 segundos y se dejó reaccionar durante 6 min. Finalmente, se incorporaron 800 μ L de NaOH 1M y 960 μ L de agua destilada, agitando la mezcla en vortex durante el tiempo previamente establecido. La absorbancia se midió a 510 nm, utilizando una curva de calibración de quercetina preparada en etanol, con concentraciones que varían entre 0 y 1100 μ g/ mL. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina (QE) por g de propóleo.

3.2.4 Medición de Capacidad Antioxidante por DPPH

La actividad antioxidante se midió por el método descrito por Rojano et al., (2008) con algunas modificaciones. Para cada uno de los extractos, se prepararon diluciones de 50%, 25%, 12,5% y 6,25% del extracto original utilizando metanol. De cada muestra (extracto, disolvente de dilución y de extracción), se transfirieron 30 μ L a tubos de ensayo independientes y a cada uno se le añadió 2790 μ L de una solución de DPPH preparada a una concentración de 100 μ M en metanol. La mezcla se agitó en vórtex por 30 segundos, se dejó reaccionar en oscuridad durante 30 min y se midió la absorbancia a 517 nm. La señal generada por los respectivos disolventes de extracción se restó de la absorbancia de cada dilución y extracto.

Ilustración 4. Extractos de Propóleo



Fuente: Propia

Se realizó la medición de metanol como blanco. El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó mediante la ecuación 1. Para determinar la concentración de extracto necesaria para inhibir el radical DPPH al 50% se construyó una gráfica del porcentaje de inhibición vs la concentración de las diluciones para cada extracto y se determinó la ecuación de la recta para cada uno. A partir de las ecuaciones se determinó la IC50.

$$\% \text{ Inhibición} = \left(\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del blanco}} \right) * 100\%$$

Ecuación 1

3.3 EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS

3.3.1 Activación y caracterización de Cepas Bacterianas

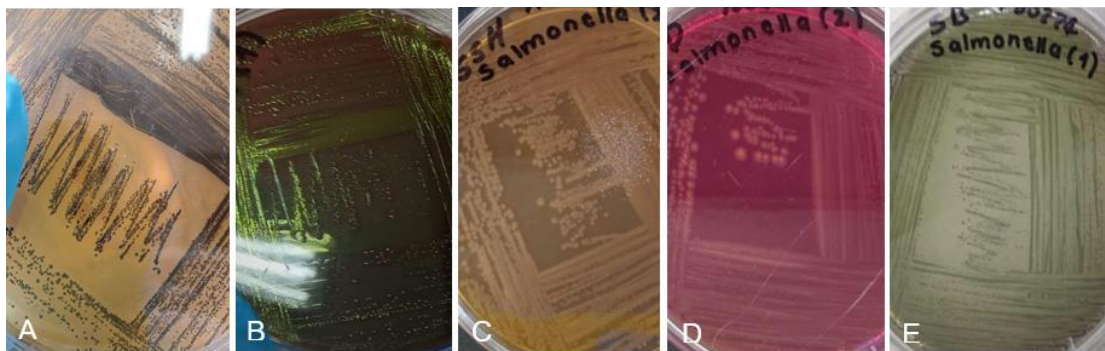
Para la activación y caracterización de las cepas se siguió el método descrito por (Instituto del Mar del Perú, 2019) con algunas modificaciones. Se obtuvieron cepas ATCC certificadas por la compañía Thermo Fisher Scientific, correspondientes a *Staphylococcus aureus* (29737), *Salmonella entérica sv enteritidis* (13076) y *Escherichia coli* (11775).

Para la activación de las cepas, se introdujo el asa que contenía la bacteria en un tubo de ensayo con 6 mL de caldo BHI (infusión cerebro corazón/PanReac AppliChem). Posteriormente, el tubo fue incubado a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, realizando este procedimiento de manera individual para cada cepa. Después de 30 minutos de incubación, se agitaron los tubos vigorosamente de forma manual para homogenizar y se volvieron a incubar a la misma temperatura por un tiempo de 18 a 24 horas.

Transcurrido el tiempo estipulado, se verificó el crecimiento de las bacterias. De cada tubo se tomaron 500 uL, que se dispensaron en un tubo de ensayo con 6 mL de caldo BHI estéril de manera independiente. Este procedimiento se realizó por duplicado para cada bacteria, después los tubos se llevaron a incubación a la temperatura óptima de crecimiento de los microorganismos por un tiempo de 18 a 24 horas. Al finalizar el tiempo de incubación recomendado, en agar Nutritivo, agar Müller Hinton y agar Trypticasa de Soya se realiza una siembra por estría (Cada bacteria se siembra en los tres medios por separado) y se llevaron nuevamente a incubación a la temperatura óptima.

Para la caracterización de las cepas, se verificó que en la siembra por estría el crecimiento de las colonias fuera uniforme, sin detectar colonias diferentes de la misma cepa. Adicional a esto, se realizó una siembra por agotamiento en agares selectivos para cada bacteria, los agares seleccionados fueron: Baird Parker para *Staphylococcus aureus*, EMB (Eosina azul de metileno) para *Escherichia coli* y SSH (Salmonella-Shigella), XLD (Xilosa lisina desoxicolato) y SB (Bismuto sulfito) para *Salmonella entérica*. Después de realizar la siembra las cajas Petri se llevaron a incubación a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por un periodo de tiempo de 18 a 24 horas.

Ilustración 5. Crecimiento de las cepas en los agares selectivos: *Staphylococcus aureus* en Baird Parker (A); *Escherichia coli* en EMB (B); *Salmonella entérica* sv enteritidis en SSH, XLD y SB (C, D y E respectivamente)



Fuente: Propia

3.3.2 Medición de Capacidad Antimicrobiana por Difusión en Disco

La actividad antimicrobiana se midió utilizando el método de difusión en disco descrito por Silva Beltrán et al., (2022) con algunas modificaciones. Al hacer la activación de las cepas, cada bacteria fue estandarizada a la escala de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) en agua peptonada. Seguido a esto, en cajas Petri con agar Müller Hinton se adicionaron 100 uL del inóculo (bacteria) y con ayuda de un rastrillo drigalsky se distribuyó uniformemente en toda la superficie del agar. A continuación, empleando una pinza se colocaron 4 sensidiscos de 6 mm de diámetro distribuidos en todo el agar y sobre estos se adicionaron 10 uL del extracto de propóleo a evaluar, las muestras se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18 a 24 h. Los diámetros de las zonas de inhibición se midieron con una regla y se expresaron en cm.

Como control negativo se utilizó un disco impregnado con el disolvente de extracción y como control positivo un disco impregnado con amoxicilina a una concentración de 1,3 mg/ml.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

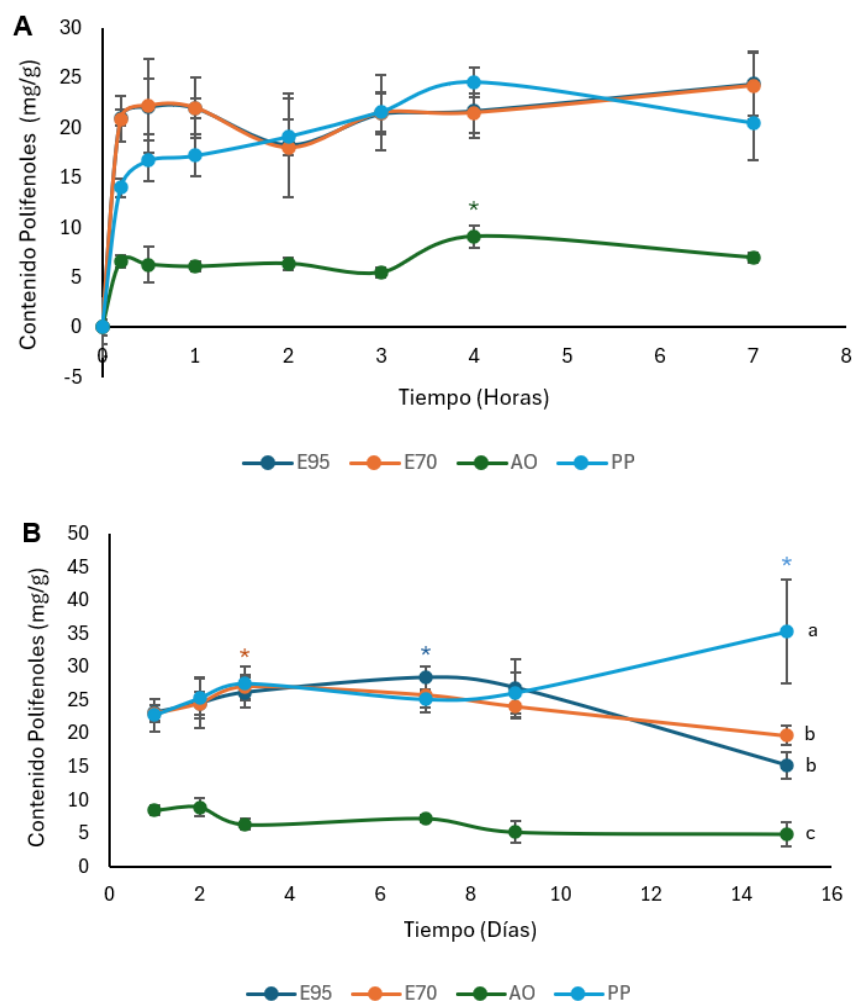
Para establecer si existen diferencias estadísticamente significativas entre los solventes y métodos de extracción, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias mediante la prueba de Tuckey utilizando el software Minitab® 17.1.0 con un valor de significancia de 0,05. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CINÉTICA DE EXTRACCIÓN CONVENCIONAL

La Ilustración 6 presenta la variación del contenido de compuestos fenólicos totales a través del tiempo para los cuatro solventes, utilizando el método de extracción convencional. Como se puede observar, el aceite fue el solvente con el que se generó la menor tasa de extracción, alcanzando un máximo de $9,1 \pm 1,1$ mg GAE/g a las 4 horas de extracción, mientras que los extractos preparados con etanol comercial, etanol al 70% y propilenglicol alcanzaron máximos de extracción de $28,3 \pm 1,8$; $26,9 \pm 1,8$ y $35,3 \pm 7,8$ mg GAE/g a los 7, 3 y 15 días respectivamente.

Ilustración 6. Cinética de extracción de compuestos fenólicos totales mediante el método de extracción convencional durante 7 horas durante el primer día de extracción (A); y durante varios días (B) hasta completar el ciclo de extracción



Al comparar los valores obtenidos el último día de extracción para cada solvente, se observa que el propilenglicol es estadísticamente diferente al resto, ya que para este punto específico presentó un contenido de compuestos fenólicos totales, aproximadamente 1,3 veces mayor que los etanoles y 3,9 veces mayor que el aceite. Sin embargo, al comparar el punto máximo de concentración de compuestos fenólicos totales alcanzado por cada extracto independientemente del tiempo, se encontró que no existe diferencia significativa entre dichos máximos (p-valor 0,071) para el propilenglicol ($35,3 \pm 7,8$ mg GAE/g) y los etanoles con concentraciones de 95% y 70% ($28,3 \pm 1,7$ mg GAE/g y $26,9 \pm 1,8$ mg GAE/g respectivamente), lo que significa que extraen la misma concentración de compuestos fenólicos totales del propóleo, pero en tiempos diferentes. Finalmente, se comparó la concentración máxima de compuestos fenólicos totales con la concentración observada en el último día de extracción para cada extracto. Se evidenció una disminución significativa en la concentración de compuestos fenólicos totales tras alcanzar su punto máximo, con reducciones del 53,7% para el E95 ($p = 0,001$), 73,2% para el E70 ($p = 0,011$) y 53,8% para el AO ($p = 0,002$). Estos resultados sugieren que la disminución observada podría deberse a un proceso de degradación de los compuestos fenólicos totales después de haber alcanzado su concentración máxima.

Diversos estudios han demostrado que los compuestos fenólicos pueden degradarse con el tiempo, lo que explica por qué en algunos solventes se observa un máximo en la extracción seguido de una disminución en la cantidad recuperada. La degradación de estos compuestos puede ser resultado de una exposición prolongada a factores como el oxígeno, la temperatura y la luz, así como de la inestabilidad química de ciertos compuestos fenólicos en solución. En una investigación llevada a cabo por Peng et al., (2023), se evidenció que, una vez alcanzada la saturación, los compuestos pueden comenzar a degradarse o transformarse debido a reacciones secundarias en el medio de extracción. Esta observación se alinea con hallazgos previos, como los reportados por Wang et al., (2020) quienes describieron la degradación de compuestos fenólicos en sistemas acuosos, provocada por efectos mecánicos durante el proceso de extracción. Dicho estudio, demostró que la generación de radicales hidroxilos durante los procesos de extracción asistidos por ultrasonido, puede acelerar la degradación de compuestos fenólicos como la rutina y el cianidina-3-glucósido. Por otro lado, Brglez et al., (2016) indica que temperaturas superiores a 70 °C pueden acelerar la degradación de antocianinas y otros compuestos fenólicos, reduciendo su rendimiento y actividad biológica, además, que el tiempo prolongado de extracción puede favorecer reacciones de oxidación y polimerización, afectando la calidad del extracto final.

En el estudio realizado por Medina Jaramillo et al., (2022), se determinó el rendimiento de extracción de tres extractos de propóleo bajo dos métodos de extracción: Convencional y Ultrasonido, el contenido máximo de sólidos extraídos para todos los extractos ocurrió el día 15, el contenido de sólidos osciló entre 13% y 18% utilizando extracción convencional y entre 20% y 28% utilizando extracción

asistida por ultrasonido. Al analizar la información obtenida en el estudio anterior frente al presente, se puede observar (Ilustración 6) que a los 15 días solo el extracto preparado con propilenglicol obtuvo la máxima concentración de compuestos fenólicos totales. En contraste, los extractos preparados con otros solventes ya mostraban una disminución en la concentración de estos compuestos, lo que sugiere que estaban en proceso de degradación. Sin embargo, tomando en cuenta que en el artículo de Medina Jaramillo et al., (2022) se midió el contenido de sólidos en los extractos y en este el contenido de compuestos fenólicos totales, se puede deducir que dependiendo de los componentes que se busquen extraer, se pueden fijar las mejores condiciones de extracción, ya que para el contenido de sólidos los extractos mostraron un incremento directamente proporcional al tiempo de extracción, mientras que para la concentración de compuestos fenólicos totales, el tiempo es una condición que debe seleccionarse cuidadosamente, dependiendo del solvente empleado.

Para este primer objetivo se podría inferir que el tiempo de extracción empleando el método convencional depende del solvente a emplear, de modo que el uso de etanol al 70% resulta el solvente que logra una extracción más rápida (3 días), seguido del etanol al 95% (7 días). Esto implica que es necesario que las prácticas de extracción convencional que comúnmente realizan los apicultores, y que conlleva tiempos prolongados de más de una semana y hasta un mes, sean reevaluadas, si se tiene como objetivo la extracción de compuestos de tipo fenólico, pues el uso de tiempos prolongados de extracción no solamente es innecesario, sino que además es contraproducente en la medida en que aparentemente permite la degradación progresiva de los compuestos fenólicos extraídos.

4.2 CONTENIDO TOTAL DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LOS EXTRACTOS.

La calidad del propóleo y su potencial biológico están determinados por el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides que contiene (Rebaza et al., 2016), convirtiéndose en un parámetro importante a la hora de utilizarlo como materia prima en la elaboración de un producto (Palomino G et al., 2009).

En la Tabla 8 se muestra el contenido de compuestos fenólicos totales para los diferentes métodos de extracción y solventes evaluados. Como se puede observar, en los métodos de extracción convencional, ultraturrax y ultrasonido, los extractos realizados con propilenglicol como solvente presentan un mayor contenido de compuestos fenólicos totales que el resto de los extractos, destacándose como el solvente más favorable para la obtención de este tipo de compuestos y confirmando el comportamiento observado en la cinética de extracción.

En un estudio en el que se extrajeron compuestos fenólicos totales de pulpa de café, mediante el método de ultrasonido y utilizando diferentes solventes de extracción (propilenglicol, glicerina, butilenglicol y agua), se evaluó la capacidad que tenían los solventes para extraer estos compuestos, los resultados obtenidos demostraron que las muestras con propilenglicol acuoso produjeron el mayor contenido fenólico ($8,91 \pm 0,40$ mg GAE/g) seguido de la glicerina ($8,64 \pm 0,40$ mg GAE/g), cabe resaltar que, aunque estos dos solventes no fueron estadísticamente diferentes ($p \geq 0,05$) entre ellos, al compararlos con el butilenglicol ($7,44 \pm 0,52$ mg GAE/g) y el agua ($6,88 \pm 0,07$ mg GAE/g) si presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre sí. (Myo & Khat-udomkiri, 2022). Adicional a esto, estudios en los que comparan diferentes solventes de extracción para propóleo mediante el método tradicional de maceración, también han puesto de relieve las ventajas de disolventes más polares como el propilenglicol, el glicerol y el polietilenglicol. Estos disolventes son relativamente seguros, ampliamente utilizados en aplicaciones farmacéuticas y alimentarias, y proporcionan altos rendimientos de extracción en comparación con las mezclas hidroalcohólicas tradicionales (Šuran et al., 2021).

Tabla 8. Contenido de compuestos fenólicos totales en los extractos expresados como mg de equivalente de ácido gálico (GAE) extraído / g de propóleo

Solvente	Convencional	Licuadora	Ultraturrax	Ultrasonido
E 95%	$15,2 \pm 2,0$ ^{b β}	$20,3 \pm 1,4$ ^{a α}	$17,9 \pm 1,4$ ^{b αβ}	$19,9 \pm 3,5$ ^{b αβ}
E 70%	$19,7 \pm 1,4$ ^{b α}	$18,7 \pm 2,0$ ^{a α}	$20,1 \pm 1,3$ ^{b α}	$20,2 \pm 2,2$ ^{ab α}
AO	$0,0 \pm 2,3$ ^{c β}	$2,1 \pm 3,2$ ^{b αβ}	$5,9 \pm 1,2$ ^{c α}	$4,5 \pm 0,8$ ^{c α}
PP	$35,3 \pm 7,8$ ^{a α}	$16,6 \pm 4,2$ ^{a β}	$25,6 \pm 0,6$ ^{a β}	$24,8 \pm 1,7$ ^{a β}

*Diferentes letras latinas (a, b, c) en la misma columna indican diferencias significativas entre los solventes para el mismo método de extracción. Diferentes letras griegas (α, β) en la misma fila indican diferencias significativas entre los métodos de extracción para el mismo solvente.

Al comparar los métodos de extracción para cada solvente, no se observa una diferencia significativa entre los métodos cuando se trabaja con etanol al 70% ($p=0,658$), lo que implica que el uso de una licuadora de cocina común durante 1 minuto genera los mismos compuestos fenólicos totales en el extracto que los obtenidos macerando durante 15 días. Para el etanol en concentración comercial, la extracción convencional es la menos eficiente, mientras que la extracción con licuadora es la más eficiente, la cual ofrece un nivel de extracción comparable al ultrasonido o ultraturrax. Caso contrario ocurre para el propilenglicol, donde la extracción convencional es el método más eficiente, sin que los otros tres métodos presenten diferencias significativas. Finalmente, el aceite de oliva bajo los métodos de alta energía como el ultraturrax y el ultrasonido mejoraron significativamente su capacidad para extraer compuestos fenólicos totales del propóleo, aunque todavía bastante baja en comparación con los otros disolventes.

Esto sugiere que cuando se requiere una aplicación orgánica, el uso de ultraturrax o ultrasonido es una forma razonable de obtener algunos compuestos valiosos del propóleo utilizando aceite de oliva como solvente.

La actividad anfifílica del etanol le permite extraer una amplia gama de sustancias (Kubiliene et al., 2015). Sin embargo, algunos estudios han demostrado que concentraciones muy altas de etanol pueden disminuir la capacidad de extracción de los compuestos fenólicos totales (Sai-Ut et al., 2023). Esta reducción posiblemente se deba a que el agua tiene una mayor afinidad por los compuestos ácidos presentes en el propóleo que no se pueden extraer con etanol (Kubiliene et al., 2015), por eso se recomienda utilizar mezclas con agua para incrementar la polaridad (Rojas et al., 2019). No obstante, los resultados obtenidos en el presente estudio no apoyan la afirmación anterior, debido a que la adición de un 30 % de agua al etanol (E70) no mejoró significativamente sus características en comparación con el E95, ya que el contenido de compuestos fenólicos totales de estos extractos no tuvo una diferencia importante en ningún método de extracción. En un estudio realizado por Freitas et al., (2022) se prepararon extractos de propóleo utilizando diferentes disolventes (etanol puro, etanol/agua, aguardiente de miel, hidromiel, propilenglicol y agua), bajo el método de maceración y se observó que los extractos con un mayor contenido de compuestos fenólicos totales fueron el etanol puro, etanol al 70% y propilenglicol ($224,60 \pm 10,86$ mg GAE/g, $255,30 \pm 3,26$ mg GAE/g y $207,49 \pm 8,55$ mg GAE/g respectivamente), los extractos anteriores no fueron significativamente diferentes entre sí.

Sin embargo, al contrastar dichos resultados contra este estudio se puede observar que, empleando el método de extracción por licuadora, estos tres solventes tampoco tienen una diferencia significativa. Lo anterior, nos permite inferir que no solo el solvente y su concentración tienen una influencia en la extracción de compuestos bioactivos si no también otros factores como el método de extracción utilizado, la relación muestra – solvente, temperatura y tiempo de extracción (Freitas et al., 2022).

Adicional a lo anterior, diversos autores (Guntero et al., 2015; Rojas et al., 2019), afirman que la temperatura afecta desfavorablemente la estabilidad de los compuestos fenólicos totales debido a una posible degradación térmica. Considerando que métodos de alta energía como el ultraturrax y ultrasonido generan incrementos de temperatura, es de resaltar que en las condiciones experimentales propuestas el posible efecto negativo de la temperatura solamente se haya evidenciado en el uso de propilenglicol, siendo el único solvente para el cual estos métodos presentaron una concentración significativamente menor de compuestos fenólicos totales.

Para la obtención de compuestos fenólicos totales, el propilenglicol es el disolvente que mejores resultados ofrece, siendo la técnica convencional con la que se consigue el mayor nivel de extracción, pero si se desea obtener extractos etanólicos la mejor opción es utilizar etanol comercial mediante la técnica del licuado.

En la Tabla 9 se presenta el contenido de flavonoides totales obtenidos en cada uno de los extractos de propóleo. Entre todas las técnicas, el etanol comercial se destaca como el mejor solvente para extraer flavonoides, exhibiendo rendimientos significativamente más altos que los otros solventes en todos los casos. Cabe destacar, que los métodos de mayor energía (ultraturrax y ultrasonido) logran un contenido de flavonoides estadísticamente igual usando propilenglicol, mientras que los métodos de energía media y baja (licuadora y maceración convencional) no lo logran con este mismo solvente.

Una razón para este fenómeno podría ser la viscosidad del propilenglicol, que es más alta que la del etanol. Las viscosidades más altas hacen que sea más difícil que el solvente interactúe con la muestra (Huang et al., 2019), como se ve en el método convencional y de licuadora. Sin embargo, los métodos de alta energía como ultraturrax y ultrasonido tienden a producir un aumento en la temperatura y mayores velocidades de corte, que reducen la viscosidad del propilenglicol y facilitan el proceso de extracción (Huang et al., 2019). Esta misma razón explica por qué el etanol comercial da como resultado una mejor extracción de flavonoides. Dado que este método no produce un aumento drástico de la temperatura, los efectos negativos que las altas temperaturas tienen sobre los compuestos bioactivos son mínimos (Mokrani & Madani, 2016).

Tabla 9. Contenido total de flavonoides en los extractos expresado como mg de equivalente de quercetina (QE) extraído/g de propóleo

Solvente	Convencional	Licuadora	Ultraturrax	Ultrasonido
E 95%	132,0 ± 7,8 ^{aβ}	207,8 ± 21,6 ^{aα}	138,1 ± 5,8 ^{aβ}	176,0 ± 24,1 ^{aα}
E 70%	100,7 ± 1,4 ^{bα}	82,7 ± 8,0 ^{bαβ}	74,4 ± 26,6 ^{bαβ}	63,8 ± 16,5 ^{bβ}
AO	9,3 ± 2,8 ^{cα}	3,9 ± 2,6 ^{dα}	8,2 ± 2,4 ^{cα}	5,2 ± 3,5 ^{cα}
PP	105,8 ± 4,1 ^{bβ}	46,6 ± 13,4 ^{cε}	135,2 ± 37,1 ^{aαβ}	156,3 ± 13,5 ^{aα}

*Diferentes letras latinas (a, b, c) en la misma columna indican diferencias significativas entre los solventes para el mismo método de extracción. Diferentes letras griegas (α, β) en la misma fila indican diferencias significativas entre los métodos de extracción para el mismo solvente.

En un estudio realizado por (Rebaza et al., 2016), se cuantificó el contenido total de flavonoides en extractos de propóleos recolectados de diferentes países, utilizando extracción convencional y etanol como solvente, el contenido de estos compuestos varió entre 2,5 ± 0,8 y 176 ± 1,7 mg de QE/g, valores que son comparables a los obtenidos en el presente estudio, considerando las variaciones inherentes que se presentan en la materia prima, condiciones y solvente de extracción, así como la zona y época de recolección del propóleo.

El ensayo DPPH es un método ampliamente utilizado para evaluar la capacidad que tienen los antioxidantes para neutralizar radicales libres como el DPPH (Gulcin & Alwasel, 2023) . Al analizar diferentes niveles de dilución del compuesto de interés, se puede estimar la concentración necesaria para inhibir el 50 % de los radicales DPPH presentes en la solución (IC50). Una concentración menor indica una mayor

capacidad de eliminación de radicales del compuesto. La Tabla 10 presenta los valores de IC50 de los extractos.

Tabla 10. Actividad antioxidante de los extractos expresada como IC 50

Solvente	Convencional	Licuada	Ultraturrax	Ultrasonido
E 95%	37,3 ± 1,8 ^{aα}	19,0 ± 1,1 ^{b£}	22,0 ± 1,3 ^{bβ}	19,1 ± 1,0 ^{b£}
E 70%	22,2 ± 2,1 ^{bα}	18,5 ± 1,4 ^{bβ}	15,1 ± 0,6 ^{c£}	15,9 ± 0,4 ^{b£}
AO	33,4 ± 1,2 ^{aβ}	47,2 ± 3,8 ^{aα}	38,9 ± 3,2 ^{aβ}	38,2 ± 5,0 ^{aβ}
PP	15,0 ± 0,2 ^{c£}	21,1 ± 2,0 ^{bβ}	15,9 ± 2,2 ^{c£}	34,9 ± 1,3 ^{aα}

*Diferentes letras latinas (a, b, c) en la misma columna indican diferencias significativas entre los solventes para el mismo método de extracción. Diferentes letras griegas (α, β) en la misma fila indican diferencias significativas entre los métodos de extracción para el mismo solvente.

El uso de propilenglicol mediante los métodos convencional y ultraturrax, así como etanol al 70% con ultraturrax y ultrasonido, presentan el mismo nivel de actividad antioxidante, siendo las combinaciones más efectivas para lograr la mayor actividad antioxidante en extractos de propóleo. En la extracción con licuadora, todos los extractos excepto el aceite tiene la misma capacidad antioxidante, mientras que la extracción convencional con etanol comercial logra niveles de actividad antioxidante tan bajos como los obtenidos con el aceite. (Palomino G et al., 2009), afirma que existe una correlación entre el contenido de fenoles y flavonoides con la actividad antioxidante, dado que en su estudio los extractos de propóleo que presentaron mayores contenidos de dichos compuestos bioactivos también exhibieron altos valores en su capacidad antioxidante.

Sin embargo, nuestros resultados indican que si bien el extracto convencional con propilenglicol presenta consistentemente un alto contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y actividad antioxidante, los extractos con 70% de etanol no destacan particularmente por la presencia de fenoles y flavonoides, pero aun así, exhiben actividad antioxidante de igual magnitud a la de los extractos con propilenglicol, lo que sugiere que la presencia de agua en este solvente logra extraer otros componentes no cuantificados en este trabajo, pero con importantes propiedades antioxidantes, por lo que se sugiere realizar un análisis composicional más amplio y detallado que permita establecer la identidad de los compuestos que pueden estar presentes en los extractos elaborados con etanol al 70% y que contribuyen a la actividad antioxidante del propóleo.

Un estudio realizado por Guanche Gallardo, (2022) reportó que los extractos elaborados con 30% y 70% de etanol presentaron los segundos valores más altos en términos de contenido fenólico (2,68 ± 0,11 mg GAE/ml; 1,44 ± 0,01 mg GAE/ml respectivamente) y flavonoides totales (0,23 ± 0,01 mg QE/ml; 0,04 ± 0,01 mg QE/ml respectivamente) después de los extractos preparados con etanol puro, de estos últimos se obtuvieron contenidos fenólicos que oscilaron entre 23,21 ± 1,92 mg

GAE/ml y $24,90 \pm 2,99$ mg GAE/ml y valores de flavonoides que oscilaron entre $1,91 \pm 0,01$ mg QE/ml y $2,61 \pm 0,01$ mg QE/ml.

Asociado a esto, el estudio demuestra que a pesar de las diferencias entre el contenido de fenoles y flavonoides entre los extractos etanólicos y acuosos, la actividad antioxidante no tuvo diferencias significativas, por lo que deducen que los disolventes utilizados no solo son capaces de extraer compuestos fenólicos si no otros grupos que son lo suficientemente fuertes como para generar una capacidad antioxidante similar a la generada con compuestos extraídos solo con etanol, corroborando los resultados obtenidos en el presente estudio.

En la Tabla 10, también se puede observar que el ultrasonido con propilenglicol produce extractos con altos niveles de compuestos fenólicos totales y flavonoides, pero la actividad de eliminación de radicales alcanzada se encuentra entre las más bajas en comparación con otros extractos. Lo anterior, se debe a que la alta energía liberada durante la homogeneización con tecnología ultrasónica resulta en un aumento significativo de la temperatura, lo que puede afectar negativamente la actividad biológica de estos compuestos (Mokrani & Madani, 2016). Por lo tanto, los flavonoides y los compuestos fenólicos totales podrían estar presentes y ser detectables, pero inactivos como eliminadores de radicales. Esto es coherente con los resultados de Ultraturax y la maceración convencional, métodos de extracción con menor liberación de energía, para los cuales el propilenglicol destaca como un buen disolvente en todos los casos.

Como era de esperar, el aceite, por su naturaleza hidrofóbica, fue el solvente que presentó los menores contenidos de compuestos fenólicos y flavonoides, y la menor actividad antioxidante para todos los métodos de extracción, ya que los compuestos evaluados son en su mayoría hidrofílicos y polares. En un estudio realizado (Kubiliene et al., 2015) se evaluaron extractos de propóleo elaborados con diferentes solventes como polietilenglicol, aceite de oliva, agua y etanol al 70%, el mayor contenido de compuestos fenólicos se encontró en el extracto etanólico de propóleo ($12,7 \pm 1,2$ mg/ml GAE) y el menor contenido de compuestos fenólicos se encontró en el extracto oleoso de propóleo ($0,5 \pm 0,2$ mg/ml GAE), sin embargo, se evaluaron dos extractos de propóleo que tenían una combinación de solventes: La primera mezcla fue polietilenglicol, aceite de oliva y agua y la segunda mezcla fue polietilenglicol y agua obteniendo un contenido de compuestos fenólicos de $9,5 \pm 1,3$ mg/ml GAE y $10,7 \pm 1,2$ mg/ml GAE respectivamente. Lo anterior, confirma los resultados obtenidos en este estudio, debido a que el aceite por sí solo no es capaz de extraer una gran cantidad de compuestos bioactivos del propóleo. Sin embargo, al combinarse con otros solventes puede extraer compuestos bioactivos que, por su naturaleza, tienen mayor afinidad con solventes menos polares.

4.3 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS DE PROPÓLEO

La actividad antimicrobiana permite evaluar la inhibición que ejerce el producto en estudio frente al crecimiento de diversos microorganismos. Pensando en el potencial uso de los extractos de propóleo en la industria alimentaria, se evaluó su capacidad para inhibir 3 bacterias patógenas comúnmente relacionadas con la aparición de enfermedades transmitidas por alimentos.

En la Tabla 11 se presenta el diámetro de los halos de inhibición generados por los diferentes extractos de propóleo como indicadores de la inhibición del crecimiento microbiano.

Tabla 11. Actividad antimicrobiana de los extractos expresada en centímetros

Microorganismo	Solvente	Control	Convencional	Licuada	Ultraturax	Ultrasonido	P-value
<i>Staphylococcus aureus</i> (29737)	E 95%	0,9 ± 0,1 ^c	1,6 ± 0,3 ^b	2,7 ± 0,6 ^a	1,9 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,2 ^b	0,000
	E 70%	0,9 ± 0,1 ^b	1,6 ± 0,1 ^a	1,8 ± 0,3 ^a	1,5 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,2 ^a	0,000
	AO	0,7 ± 0,3	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,4	0,583
	PP	0,0 ± 0,0 ^c	2,3 ± 0,1 ^b	2,2 ± 0,2 ^b	2,4 ± 0,3 ^{ab}	2,8 ± 0,4 ^a	0,000
<i>Escherichia coli</i> (11775)	E 95%	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,4	0,109
	E 70%	0,6 ± 0,5	0,3 ± 0,5	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1	0,140
	AO	0,7 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,1 ^{ab}	0,2 ± 0,4 ^{bc}	0,0 ± 0,0 ^c	0,6 ± 0,1 ^{ab}	0,000
	PP	0,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^b	0,5 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^b	0,009
<i>Salmonella enteritidis</i> (13076) SV	E 95%	1,4 ± 0,4	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2 ^{ab}	0,936
	E 70%	1,0 ± 0,1 ^b	1,0 ± 0,1 ^{ab}	1,2 ± 0,1 ^a	1,1 ± 0,1 ^{ab}	1,1 ± 0,1	0,024
	AO	0,5 ± 0,4	0,5 ± 0,9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,227
	PP	0,0 ± 0,0 ^b	0,8 ± 0,1 ^a	1,1 ± 0,3 ^a	0,9 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,1 ^a	0,000

**Letras diferentes (a, b, c) en la misma fila indican diferencias significativas entre los métodos de extracción para el mismo solvente. El control positivo se realizó con amoxicilina para los tres microorganismos. Las zonas de inhibición para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica* fueron 4.4 ± 0.1 , 3.0 ± 0.1 y 1.8 ± 0.2 respectivamente.

Para *Staphylococcus aureus*, se observó que el uso de aceite de oliva como solvente no presentó diferencias significativas entre los distintos métodos de extracción, lo que indica una baja efectividad general. En contraste, los otros tres solventes sí mostraron diferencias significativas. El propilenglicol presentó la mayor actividad antimicrobiana cuando se utilizó en combinación con ultrasonido, evidenciado por el mayor diámetro del halo de inhibición. El etanol al 95 % también mostró un resultado destacado con el método de licuadora, con una actividad antimicrobiana comparable a la del propilenglicol. Por su parte, el etanol al 70 % mostró una menor actividad en general, aunque se evidenció una ligera mejora con el uso de ultrasonido, con resultados similares a los obtenidos mediante licuadora.

En el caso de *Salmonella entérica sv enteritidis*, se identificó que tanto el etanol al 95 % como el aceite de oliva no presentaron diferencias significativas entre métodos. Sin embargo, con etanol al 70 % se observaron diferencias significativas en comparación con el control cuando se utilizó la licuadora, lo que indica un efecto positivo del proceso sobre la actividad antimicrobiana. Los resultados más relevantes se presentaron con propilenglicol, ya que todos los métodos de extracción generaron halos de inhibición significativamente mayores que el control. No obstante, entre sí, los métodos no mostraron diferencias significativas, lo que sugiere que cualquier método aplicado con este solvente permitiría obtener una actividad antimicrobiana comparable.

Para *Escherichia coli*, no se observaron diferencias significativas entre métodos al utilizar etanol al 95 % y al 70 %. En el caso del aceite de oliva, la actividad antimicrobiana del extracto fue incluso menor que la del solvente solo, lo que sugiere una posible interferencia del extracto con la acción antimicrobiana del aceite. Finalmente, con propilenglicol se evidenció actividad antimicrobiana significativa únicamente cuando se utilizó el método de licuadora, siendo esta la única condición efectiva frente a este microorganismo.

En general, se puede inferir que los extractos obtenidos con etanol al 95 % y propilenglicol presentan mayor potencial antimicrobiano, y que la licuadora se destacó como un método eficaz, especialmente frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

En un estudio realizado por (Martínez et al., 2012), se observó que los extractos de propóleo utilizando etanol destilado al 96% y bajo extracción convencional no presentaron capacidad de inhibición frente a *E. coli*, *Salmonella tify* y *S. aureus*, dado que la medición de los halos fueron muy similares al control, sin embargo, el extracto etanólico colectado en trampa presentó un efecto bacteriostático y bactericida frente a *B. subtilis*, resaltando la acción efectiva de los extractos de propóleo frente a bacterias gram positivas y la acción limitada frente a bacterias gram negativas. Las bacterias gram negativas como *E. coli* poseen una membrana adicional que les confiere un mayor grado de resistencia a los antimicrobianos (Sforcin et al., 2000).

Al comparar los resultados del presente estudio con el mencionado anteriormente, se puede afirmar que el método de extracción y el origen de la materia prima son aspectos que también influyen significativamente en la extracción de los compuestos que conforman la actividad antimicrobiana, ya que los extractos provenientes del municipio de Caldas no presentaron efecto contra *S. aureus* a pesar de ser grampositivos, sin embargo, el extracto empleado en este proyecto proveniente de la región del Meta sí lo presenta.

Para el tercer objetivo, los resultados de este estudio indican que existen factores que influyen en la capacidad inhibitoria de los extractos frente a las bacterias analizadas. El etanol al 95 % y el propilenglicol fueron los solventes más eficaces para extraer compuestos bioactivos con capacidad inhibitoria, mientras que el aceite de oliva mostró una efectividad limitada en todos los casos. Entre los métodos evaluados, la licuadora destacó como una alternativa eficiente, no solo por su accesibilidad y simplicidad, sino también por su capacidad para potenciar la actividad antimicrobiana en combinación con solventes adecuados. Estos hallazgos sugieren que el uso de tecnologías accesibles como la licuadora, junto con solventes como el etanol al 95 % o el propilenglicol, puede representar una estrategia viable para la obtención de extractos naturales con potencial antimicrobiano aplicables en la industria alimentaria.

4.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN: VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN EL SECTOR APÍCOLA.

El método de extracción del propóleo tiene un impacto directo en el rendimiento y la calidad del extracto. Actualmente, la búsqueda de técnicas de extracción sostenibles se ha convertido en uno de los temas más importantes para la industria; la incidencia y propagación de nuevas enfermedades como el COVID-19 ha centrado el interés en los compuestos naturales y sus derivados (Campos Montiel et al., 2023). Los métodos de extracción se clasifican en dos grandes grupos: Métodos convencionales y métodos emergentes (Hernández et al., 2023), en este estudio solo se evaluó un método de extracción convencional, mientras que los demás se clasifican como métodos emergentes.

Una de las principales desventajas de la extracción con técnicas convencionales es que los compuestos bioactivos se degradan y pierden su efectividad. Los factores responsables de esto son principalmente la alta temperatura y el tiempo de extracción. Así mismo, los solventes utilizados son compuestos orgánicos volátiles y sustancias tóxicas que representan un peligro para la salud, la seguridad y el medio ambiente (Campos Montiel et al., 2023). Lo anterior ha generado la necesidad de buscar tecnologías que puedan mejorar la forma en la que se extraen los compuestos bioactivos sin que estos se vean afectados (Hernández et al., 2023).

De los métodos emergentes evaluados en este artículo (licuadora, ultrasonido y ultraturrax), el que ha cobrado mayor relevancia en los últimos tiempos es la extracción por ultrasonido, la cual destaca por tener menores tiempos de extracción, mayor rendimiento y capacidad de extraer compuestos bioactivos, sustancias de bajo peso molecular y otros metabolitos de las plantas (Campos Montiel et al., 2023), sin embargo, la principal desventaja es el costo de adquisición, el cual se estima aproximadamente en 26.254.201 pesos (Fisher Scientific, 2024; Sino Sonics, 2024), con una capacidad máxima de procesamiento de 1000 mL (Direct Industry / Connect, 2024). El otro método es la extracción con Ultraturrax, este tiene un procesamiento rápido que protege las muestras de daños por calentamiento producto de homogeneizaciones prolongadas, además asegura que las fases sólida, líquida y gaseosa inmiscibles tengan una emulsificación instantánea y uniforme (Lobov Científica, 2024). Sin embargo, su principal desventaja también es el costo de adquisición, el cual es de 22.326.780 pesos con una capacidad entre 1 y 1500 ml (Open Sky Colombia, 2024).

Si bien las técnicas de extracción antes mencionadas tienen características importantes para la obtención de compuestos bioactivos, el equipo que se utiliza es muy costoso y poco accesible para los apicultores, por lo que en este proyecto se propuso una técnica adicional utilizando la licuadora como técnica de extracción. Los resultados obtenidos demuestran que la extracción de compuestos bioactivos con el método de la licuadora es comparable a la cantidad que se puede extraer utilizando ultraturrax y ultrasonido, además, el acceso que pueden tener los apicultores a esta técnica y su equipo es mayor en comparación con el resto, el valor de una licuadora con capacidad de 30 litros se estima aproximadamente entre 2.400.000 pesos y 2.800.000 pesos (Casa de la Licuadora Industrial, 2024).

5. CONCLUSIONES

La cinética de extracción sugiere que el método convencional (maceración por 15 días) debe ser reconsiderado debido a la disminución en la concentración de compuestos fenólicos totales posiblemente debido a procesos de deterioro que se hacen significativos a partir del noveno día para el aceite, decimotercer día para el etanol 70% y decimocuarto día para el etanol 95%.

El propilenglicol resultó ser el solvente con el que se logra un mayor nivel de extracción de compuestos fenólicos totales utilizando el método de extracción convencional, mientras que el etanol al 95% es el que permite una mejor obtención de flavonoides utilizando una licuadora como mecanismo de extracción. Sin embargo, los extractos preparados con etanol al 70% mediante métodos de alta energía como ultraturrax y ultrasonido alcanzan niveles de actividad antioxidante comparables a los evidenciados en el propilenglicol con mayor contenido de compuestos fenólicos totales. Los métodos de extracción licuadora y ultraturrax son igualmente efectivos en la extracción utilizando etanol al 70% como solvente, con mayor contenido de flavonoides y actividad antioxidante en comparación con los resultados obtenidos en la extracción convencional.

En relación con la actividad antimicrobiana, los extractos con propilenglicol mediante ultrasonido y etanol al 95% mediante licuadora mostraron la mayor capacidad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, sin diferencias significativas entre ellos. Para *Salmonella entérica sv enteritidis*, todos los extractos elaborados con propilenglicol mostraron inhibición significativa, independientemente del método de extracción. Finalmente, frente a *Escherichia coli*, únicamente el extracto elaborado con propilenglicol mediante licuadora presentó una actividad antimicrobiana significativa, posicionándose como la opción más efectiva frente a este microorganismo.

6. RECOMENDACIONES

Los extractos oleosos no mostraron un efecto prominente en relación con los compuestos fenólicos totales y flavonoides. No obstante, se recomienda realizar un estudio que evalúe cómo los diferentes métodos de extracción pueden favorecer la obtención de compuestos orgánicos valiosos, como fitoesteroles, esteroides, estanoles y fitoestrógenos, los cuales podrían ser extraídos más eficientemente por el aceite en comparación con otros solventes, debido a su afinidad particular con estos compuestos.

Se sugiere realizar procesos de transferencia del conocimiento dirigida a los apicultores sobre las técnicas de extracción del propóleo que han desarrollado, enseñándoles métodos más eficientes para obtener los extractos, sin necesidad de recurrir a tiempos prolongados que podrían ser contraproducentes para la obtención de los compuestos bioactivos. Además, se podría presentar una variedad de técnicas y solventes alternativos al método convencional, lo que contribuiría a incrementar la extracción de dichos compuestos, reduciendo el tiempo de extracción y aumentando la productividad.

Existen diversas variables que influyen de manera significativa en el proceso de extracción, siendo el origen del propóleo uno de los factores más determinantes. Por esta razón, resulta fundamental validar los resultados obtenidos en el presente estudio considerando el análisis de propóleos provenientes de diferentes orígenes y características, con el fin de comprobar si exhiben un comportamiento similar.

Se sugiere ampliar el análisis de los compuestos bioactivos con el fin de identificar, bajo las condiciones de extracción evaluadas, otros componentes presentes en los extractos, distintos a los compuestos fenólicos totales y flavonoides, que puedan contribuir a incrementar la capacidad antioxidante y antimicrobiana.

7. BIBLIOGRAFIA

- Alba de Armas, M. Á., Saucedo Hernández, Y., Sotolongo Moya, L., Norman Montenegro, O., Gómez Saucedo, M., & Rodríguez, M. E. (2022). Optimización de la Tecnología de Elaboración de Tintura de Propóleo. *Revista Centro Azúcar*, 49, 69–77.
- Betances Salcedo, E. V. (2018). *Caracterización de la Composición Química y Propiedades Funcionales de los Propóleos*. Universidad de Salamanca.
- Brglez, E., Knez, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(7), 2–38.
<https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
- Bucio Villalobos, C. M., & Martínez Jaime, O. A. (2016). Actividad Antibacteriana de un Extracto Acuoso de Propóleo del Municipio de Irapuato, Guanajuato, México. *Agromía Mesoamericana*, 28(1), 223.
<https://doi.org/10.15517/am.v28i1.24253>
- Cámara Procultivos de la ANDI. (2017). *Línea Base de la Población de Apicultores en Colombia* (Cámara Procultivos de la ANDI, Ed.; pp. 1–16).
<https://abejasenagricultura.org/wp-content/uploads/2018/07/Linea-de-Base-Poblacion-Apicultores.pdf>
- Campo Vera, Y., Gélvez Ordoñez, V. M., & Ayala Aponte, A. (2018). Ultrasonido en el Procesamiento (Homogenización, Extracción y Secado) de Alimentos. *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(1), 102–113.
<https://doi.org/10.18684/bsaa.v16n1.628>
- Campos Montiel, R. G., Hernández Martínez, J. A., Peláez Acero, A., Hernández Soto, I., & Reyes Munguía, A. (2023). Tecnologías Sustentables (Microondas, Ultrasonido y CO2 Supercrítico) para Extracción de Compuestos Bioactivos en Propóleo. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, 9(Especial), 20–25.
<https://doi.org/10.29057/icap.v9iespecial.9260>
- Cantú-Martínez, P. C. (2024). *La Apicultura como Práctica para la Sustentabilidad*.
- Casa de la Licuadora Industrial. (2024). *Licuadoras Industriales*.
<https://casadelalicuadoraindustrial.com/categoria-producto/linea-bebidas/licuadoras-industriales/>

- Cedeño Carpio, X. A. (2018). *Evaluación de Propóleo como Conservante Natural en la Leche Chocolateada*. Instituto Politécnico de Leiria.
- Claro Carrascal, R. A., Henao, J. P., & Medina, C. A. (2020). *Abeja de la Miel en Colombia*.
<https://reporte.humboldt.org.co/biodiversidad/2020/cap4/408/#seccion3>
- Direct Industry / Connect. (2024). *Homogenizador por ultrasonido SFX 550*. Direct Industry / Connect. <https://www.directindustry.es/prod/branson-ultrasonics/product-5555-1951090.html>
- Dueñas-Rivadeneira, A., Sacon-Vera, E., Bravo-Sánchez, L., Villanueva-Ramos, G., & Alcívar Cedeño, U. (2016). Determinación de las Condiciones de Extracción de Compuestos Fenólicos a partir de Chuquiraga Jussieuif Gmel Usando la Lixiviación de Muestras Sólidas. *Tecnología Química*, 36(2), 198–209. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445546335005>
- Ecem Bayram, N., Sorkun, K., Cevahir Öz, G., Salih, B., & Topçu, G. (2018). Chemical Characterization of 64 Propolis Samples from Hakkari, Turkey. *Records of Natural Products*, 12(6), 569–581.
<https://doi.org/10.25135/rnp.78.16.12.585>
- El-Sakhawy, M. (2023). Propolis Harvesting and Extraction. *Egyptian Journal of Chemistry*, 66(1), 313–321.
<https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2022.122043.5469>
- Farieta Montenegro, J. (2024). *Avances y Perspectivas del Uso de Propóleo en Animales Domésticos*. Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas.
- Ferreira, E., Guzmán, D., Figueroa, J., Tello, J., & Oliveira, D. (2011). Caracterización Antimicrobiana y Fisicoquímica de Propóleos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) de la Región Andina Colombiana. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 175–184.
- Fisher Scientific. (2024). *Branson Ultrasonics™ Baño de limpieza de ultrasonidos de la serie CPXH*. Fisher Scientific.
<https://www.fishersci.es/shop/products/branson-bransonic-cpxh-series-ultrasonic-cleaners-model-cpx1800h-2/p-4576105>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). Good Beekeeping Practices for Sustainable Apiculture. In Food and Agriculture Organization of the United Nations (Ed.), *Good beekeeping practices for sustainable*

- apiculture*. FAO, IZSLT, Apimondia and CAAS.
<https://doi.org/10.4060/cb5353en>
- Freitas, A. S., Cunha, A., Parpot, P., Cardoso, S. M., Oliveira, R., & Almeida-Aguiar, C. (2022). Propolis Efficacy: The Quest for Eco-Friendly Solvents. *Molecules*, 27(21), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules27217531>
- Gil Zubillaga, L., & Luezas Pascual, R. A. (2015). De Panales y de Abejas. Apicultura Riojana Ayer y Hoy. *Revista de Cultura Popular y Tradiciones de La Rioja (Belezos)*, 29, 38–47.
- Gómez Valencia, A., & Vélez, D. (2022). *EAFIT y CES desarrollaron 11 Productos a base de Propóleos con Asociaciones Campesinas*. <https://www.eafit.edu.co/noticias/agenciadenoticias/2022/EAFIT-y-CES-desarrollaron-11-productos-a-base-de-propoleos-con-asociacionescampesinas>
- González Montiel, L. (2023). *Evaluación de Compuestos Bioactivos y Propiedades Funcionales Durante la Digestión In Vitro Simulada de Emulsiones con Extractos de Propóleos*. Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo.
- Gracia Nava, M. A. (2009). *Cuantificación de Fenoles y Flavonoides Totales en Extractos*.
- Graikou, K., Popova, M., Gortzi, O., Bankova, V., & Chinou, I. (2016). Characterization and Biological Evaluation of Selected Mediterranean Propolis Samples. Is it a New Type? *LWT - Food Science and Technology*, 65, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.025>
- Guanche Gallardo, D. (2022). Evaluación de Diferentes Extractos de Propóleos. *Centro Nacional de Investigaciones Científicas*, 53(3), 243–251.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), 1–20. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Guntero, V. A., Longo, M. B., Ciparicci, S. A., Martini, R. E., & Andreatta, A. E. (2015). *Comparación de Métodos de Extracción de Polifenoles a Partir de Residuos de la Industria Vitivinícola*.
- Hangişi, B. (2024). A Novel Approach on Propolis Extraction: Supercritical Carbon Dioxide Extraction, Advantages and Disadvantages. *Bee Studies- Apiculture Research Institute*, 16, 33–40. <https://doi.org/10.51458/BSTD.2024.43>

- Hernández, J. A., Campos, R. G., & Medina, G. (2023). *Compuestos Bioactivos, Actividad Antioxidante y Antidiabética de Extractos de Propóleo obtenidos por Ultrasonido en Condiciones de Digestión Simulada*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Hernández Zarate, M. S., Abraham Juárez, M. R., Cerón García, A., Gutiérrez Chávez, A. J., Gutiérrez Arenas, D. A., & Ávila Ramos, F. (2017). Contenido de Flavonoides, Fenoles y Actividad Antioxidante de Propóleos Colectados en Guanajuato, México. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2, 607–612.
- Hidalgo, M. (2021). *Proponen Incorporar el Propóleo como un Ingrediente para la Alimentación Saludable*. <https://www.cic.gba.gob.ar/proponen-incorporar-el-propoleo-como-un-ingrediente-para-la-alimentacion-saludable/>
- Huang, H., Xu, Q., Belwal, T., Li, L., Aalim, H., Wu, Q., Duan, Z., Zhang, X., & Luo, Z. (2019). Ultrasonic Impact on Viscosity and Extraction Efficiency of Polyethylene glycol: A Greener Approach for Anthocyanins Recovery from Purple Sweet Potato. *Food Chemistry*, 283, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.017>
- Instituto del Mar del Perú. (2019). *Protocolo de Crioconservación de Cepas Bacterianas*.
- Kalkan Yildirim, H. (2022). Assessment of Propolis Treated by Different Extraction Methods. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, 1–11. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210251>
- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., Kubilius, R., Kasparaviciene, G., & Savickas, A. (2015). Alternative Preparation of Propolis Extracts: Comparison of Their Composition and Biological Activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0677-5>
- Lisbona González, M. J., Reyes Botella, C., Muñoz Soto, E., Vallecillo Rivas, M., Moreno Fernández, J., & Díaz Castro, J. (2020). Positive Effect of a Propolis Supplement on Lipid Profile, Glycemia, and Hepatic Antioxidant Status in an Experimental Animal Model. *Nutrición Hospitalaria*, 37(4), 770–775. <https://doi.org/10.20960/nh.03060>
- Lobov Científica. (2024). *Homogeneizador de alta velocidad tipo “Ultraturrax” HA, diámetro rotor 25mm, completo*. <https://www.lobov.com.ar/homogeneizadores->

alta-velocidad-homogeneizador-de-alta-velocidad-tipo-ultraturrax-ha-diametro-rotor-25mm-completo--det--HFJ-25#detalle-form

- López, M. (2018). Guerra de Mieles: Hipótesis para una Historia Ambiental de la Miel de Abeja en Costa Rica. *Historia Ambiental Latinoamericana y Caribeña (HALAC)*, 8(2), 121–151. <http://halacsolcha.org/index.php/>
- Martínez, J., García, C., Durango, D., & Gil, J. (2012). Caracterización de Propóleos Provenientes del Municipio de Caldas Obtenido por Dos Métodos de Recolección. *Revista MVZ Córdoba*, 17(1), 2861–2869.
- Martínez Rojas, J. M., Fajardo Cárdenas, M., & Pérez Morales, J. C. (2005). Obtención de Tintura de Propóleos en las Plantas de Productos Naturales. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 36, 1–5.
- Medina Jaramillo, C., Carvajal Díaz, L. M., & López Córdoba, A. (2022). Propolis from Native Stingless Bees: Ultrasound-Assisted extraction. *Vitae*, 29(2). <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v29n2a347446>
- Merlos, E. (2023). *Las Abejas son Guardianas de la Seguridad Alimentaria y el Desarrollo Sostenible de los Territorios*.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). *Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura*. www.minagricultura.gov.co
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020). *Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura*. 1–16.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, & Gobierno de Colombia. (2018). *Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura* (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural & Gobierno de Colombia, Eds.; pp. 1–19). <https://sioc.minagricultura.gov.co/Apicola/Documentos/2018-12-30%20Cifras%20sectoriales.pdf>
- Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of Solvent, Time and Temperature on the Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Peach (*Prunus persica* L.) Fruit. *Separation and Purification Technology*, 162, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.043>
- Moreno Pérez, B. S., & Arias Ramírez, Á. S. (2020). *Informe Final Plan de Negocio Apícola A&M*. Universidad Cooperativa de Colombia.
- Morillo, Á., Morais, R., & Wallace Hare, D. (2019). Apicultura Romana, un Nuevo Campo en Arqueología de la Producción. Aportaciones desde el Ámbito de la

Epigrafía y la Onomástica. In J. Cabrero Piquero & P. (eds.), González Serrano (Eds.), *Estudios sobre el Mundo Antiguo Dedicados a la Profesora Pilar Fernández Uriel* (pp. 443–461). Salamanca: Signifer Libros.

Myo, H., & Khat-udomkiri, N. (2022). Optimization of Ultrasound - Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Coffee Pulp using Propylene Glycol as a Solvent and their Antioxidant activities. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106127>

Norma Oficial Mexicana NOM 003 SAG GAN (2017).
<https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-003-sag-gan-2017?state=published>

Norma Salvadoreña NSO 65.19.02:03 (2017).
https://www.oirsa.org/contenido/2017/EI_Salvador_INOCUIDAD/8.%20NSO%2065%2019%2002%2003%20-%20CALIDAD_DE_PROPOLEO_CRUDO.pdf

Open Sky Colombia. (2024). *Homogenizador Dispensor Ultra Turrax - T - 18 IKA*.
<https://www.openskycolombia.com/tienda/instrumentacion-y-laboratorio/homogenizador-dispensor-ultra-turrax-t-18-ika/?srsltid=AfmBOorc-nfl3AOVaafcZ6kDq9C2mHUYXq-C4eglHVIBNtWHra2TA5Wn>

Ordoñez Castillo, A. F. (2005). *Exploración de la Extracción de Cafeína con CO2 Supercrítico* [Universidad de los Andes].
<https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/b57cbc3f-0c87-4ff2-9a7b-bf3c59d9a338/content>

Organización de las Naciones Unidas. (2016). *FAO destaca la Importancia de las Abejas para la Seguridad Alimentaria*.
<https://news.un.org/es/story/2016/02/1351301>

Organización de las Naciones Unidas. (2022). *¿Por qué las Abejas son Esenciales para las Personas y el Planeta?* <https://www.unep.org/es/noticias-y-reportajes/reportajes/por-que-las-abejas-son-esenciales-para-las-personas-y-el-planeta#:~:text=Los%20mayores%20polinizadores,y%20el%20veneno%20de%20abeja>.

Organización de las Naciones Unidas. (2024a). *Dependemos de la Supervivencia de las Abejas*.

Organización de las Naciones Unidas. (2024b). *Dependemos de la Supervivencia de las Abejas*. <https://www.un.org/es/observances/bee-day>

- Oroian, M., Ursachi, F., & Dranca, F. (2020). Influence of Ultrasonic Amplitude, Temperature, Time and Solvent Concentration on Bioactive Compounds Extraction from Propolis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105021>
- Palomino G, L. R., García P, C. M., Gil G, J. H., Rojano, B. A., & Durango R, D. L. (2009). Determinación del Contenido de Fenoles y Evaluación de la Actividad Antioxidante de Propóleos Recolectados en el Departamento de Antioquia (Colombia). *Viate, Revista de La Facultad de Química Farmacéutica*, 16(3), 388–395.
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–21. <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
- Peng, S., Zhu, M., Li, S., Ma, X., & Hu, F. (2023). Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Chinese Propolis. *Sustainable Food Systems*, 1–5.
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules*, 24(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
- Rebaza, R., Amaya, L., Gutiérrez, A., Haro, R., Tumbajulca, M., Valera, F., Vargas, Y., Barraza, G., León, J. M., & Sánchez, J. A. (2016). Aplicación del Propóleo en Envasado Activo. *Agroindustrial Science*, 6(2), 239–252.
- Rodríguez Pérez, B., Canales Martínez, M. M., Penieres Carrillo, J. G., & Cruz Sánchez, T. A. (2020). Composición Química, Propiedades Antioxidantes y Actividad Antimicrobiana de Propóleos Mexicanos. *Acta Universitaria* 30, 30, 1–29. <http://doi.org/10.15174.au.2020.2435>
- 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). *Journal of Molecular Structure*, 877(1–3), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2007.07.010>
- Rojas, T., Fuentes, M. E., Contreras, E., Gómez, S., & Muñoz, A. M. (2019). Extracción Asistida por Ultrasonido de Compuestos Fenólicos de la Cáscara Dde Sanky (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 85(2), 258–267.

- Romero, H. J., Martínez, S. E., Olivarez, J., & Achitte, E. A. (2023). Análisis de Algunas Técnicas de Recolección de Propóleos con Propiedades Curativas de Usos Alternativos. *Revista Digital de La Facultad de Odontología de La U.N.N.E*, 7, 2591–2763.
- Sai-Ut, S., Kingwascharapong, P., Mazumder, M. A. R., & Rawdkuen, S. (2023). Optimization of Ethanolic Extraction of Phenolic Antioxidants from Lychee and Longan Seeds Using Response Surface Methodology. *Foods*, 12(15). <https://doi.org/10.3390/foods12152827>
- Salamanca Grosso, G. (2017). *Origen, Naturaleza, Propiedades Fisicoquímicas y Valor Terapéutico del Propóleo*. Universidad del Tolima.
- Salamanca Grosso, G., & Osorio Tangarife, M. P. (2019). Palynological Analysis of Red Propolis from San Andrés Insular Zone, Colombia. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(169), 689–698. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.897>
- Sancho Ortiz, M. T. (2019). *Caracterización de los Propóleos y Futura Normativa Legal*.
- Sastoque Vargas, J. J. (2024). *Evaluación de la Sostenibilidad en el Sistema de Producción Apícola de la Hacienda Verona Localizada en el Municipio de Zambrano-Bolívar*. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.
- Sforcin, J. M., Fernandes, A., Lopes, C. A. M., Bankova, V., & Funari, S. R. C. (2000). Seasonal Effect on Brazilian Propolis Antibacterial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 243–249. www.elsevier.com/locate/jethpharm
- Silva Beltrán, N., Portela Márquez, M., Ruíz Cruz, S., Morán Palacio, E., & Chaidez Quiroz, C. (2022). Composición Fenólica, Actividad Antihemolítica, Antiinflamatoria y Antibacteriana de Propóleos del Sur de Sonora. *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud (Biotecnia)*, 24(3), 77–86. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i3.1746>
- Sino Sonics. (2024). *SONOBIO homogeneizador ultrasónico*. Sino Sonics. https://www.sinosonics.com/es/shop/homogeneizador-ultrasonico/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjw7dm-BhCoARIsALFk4v8nMwV24xkYHyimDVwcr4d063G-3GOPDpObm2TWPc7DioiznYJKIwlaAh9UEALw_wcB

- Sosa López, Á. A., Cabrera, M. G., & Álvarez, M. Y. (2017). Parámetros Físicos y Características Organolépticas de Propóleos Provenientes de la Provincia de Misiones, Argentina. *Selva Andina Biosphere*, 5(1), 51–58.
- Šuran, J., Cepanec, I., Mašek, T., Radić, B., Radić, S., Gajger, I. T., & Vlainić, J. (2021). Propolis Extract and its Bioactive Compounds—From Traditional to Modern Extraction Technologies. *Molecules*, 26(10). <https://doi.org/10.3390/molecules26102930>
- Vargas Sánchez, R. D., Martínez Benavidez, E., Hernández, J., Torrescano Urrutia, G. R., & Sánchez Escalante, A. (2020). Effect of Physicochemical Properties and Phenolic Compounds of Bifloral Propolis on Antioxidant and Antimicrobial Capacity. *Nova Scientia*, 12(24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2134>
- Verde, M. M. (2014). Apicultura y Seguridad Alimentaria. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(1), 25–31.
- Viloria B, J. D., Gil G, J. H., Durango R, D. L., & García P, C. M. (2012). Caracterización Físicoquímica del Propóleo de la Región del BAJO Cauca Antioqueño (Antioquia, Colombia). *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), 77–86.
- Wang, P., Cheng, C., Ma, Y., & Jia, M. (2020). Degradation Behavior of Polyphenols in Model Aqueous Extraction System Based on Mechanical and Sonochemical Effects Induced by Ultrasound. *Separation and Purification Technology*, 247, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116967>