



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“Análisis comparativo de especificaciones físico-químicas de extractos etanólicos de propóleo de *Apis mellifera* L. de los años 2022, 2023 y 2024 obtenidos por dos metodologías de extracción; provenientes del campus Amazcala, UAQ”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Médico Veterinario Zootecnista

Presenta:

Ana Valeria Medina Vega

Dirigido por:

MVZ Carlos Alberto Robles Ríos y la Dra. Karla Itzel Alcalá Escamilla

Santiago de Querétaro, Qro., 11 de junio de 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



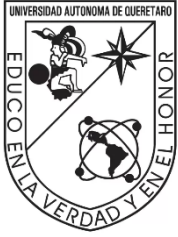
SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“Análisis comparativo de especificaciones físico-químicas de extractos etanólicos de propóleo de *Apis mellifera* L. de los años 2022, 2023 y 2024 obtenidos por dos metodologías de extracción; provenientes del campus Amazcala, UAQ”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Médico Veterinario Zootecnista

Presenta:

Ana Valeria Medina Vega

Dirigido por:

MVZ Carlos Alberto Robles Ríos y Dra. Karla Itzel Alcalá Escamilla

Sinodales

MVZ Carlos Alberto Robles Ríos
Presidente

Dra. Karla Itzel Alcalá Escamilla
Secretario

Mto. Kevin Ávila Parra Sinodal
Vocal

Dra. Samantha Elizabeth Bautista Marín
Vocal

Dr. Juan Carlos Silva Jarquin
Vocal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi alma máter, la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), y en particular a la Facultad de Ciencias Naturales, por brindarme la formación, los espacios y las herramientas necesarias para llevar a cabo este proyecto.

Expreso un especial agradecimiento al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal (CENID-FyMA) del INIFAP, por abrirme sus puertas y permitirme el uso de sus laboratorios e instalaciones, sin los cuales esta investigación no habría sido posible.

Al MVZ Carlos Robles y a la Dra. Itzel Alcala, por compartir conmigo su pasión por las abejas y por empaparme de sus conocimientos en esta área. Gracias por guiarme, inspirarme y por ser piezas fundamentales en mi desarrollo profesional.

A mis amigos, por motivarme a perseguir lo que me apasiona y ser mi apoyo en los momentos de estrés. Gracias por las risas compartidas y las palabras de apoyo en todo momento.

A mis padres, Teresa y Gustavo, mi cimiento y motor. Gracias por darme la oportunidad de estudiar y dedicarme a lo que me apasiona, por creer en mí en los momentos de duda y enseñarme el valor de la perseverancia. Todo lo alcanzado hoy es, en gran medida, gracias a ustedes.

A mi novio, Rodrigo, por ser mi compañero constante y mi refugio durante este proceso. Gracias por escucharme hablar de abejas y propóleos a todas horas, y por impulsarme a ser mejor cada día. Tu apoyo ha sido fundamental para no rendirme.

A mi perrita Regina, quien me acompañó con su alegría y fidelidad durante gran parte de este camino. Aunque hoy solo me acompaña su recuerdo, su huella permanece presente en cada paso que doy y en mi dedicación a la salud animal.

RESUMEN

El propóleo es un material resinoso elaborado por *Apis mellifera* L. con un perfil fitoquímico variable y propiedades bioactivas de gran interés para la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. El objetivo de este trabajo fue analizar las especificaciones físicas y químicas de extractos etanólicos de propóleo obtenidos mediante dos metodologías de extracción: agitación constante por 72 h y baño ultrasónico. Las muestras fueron cosechadas en el Apiario-escuela del Campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro, durante el periodo otoño-invierno de los años 2022, 2023 y 2024. Las características físicas (color, aroma, sabor y consistencia) se evaluaron a través de un panel de 30 jueces afectivos no entrenados. En las características químicas se determinó la actividad antioxidante mediante los ensayos DPPH, ABTS y FRAP. La actividad antibacteriana se determinó contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC BAA-976 y *Enterococcus faecalis* CDBB-B1533) y Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* AT5 0145). Se observó que la evaluación física no presentó variaciones significativas interanuales, validando la estabilidad sensorial del producto almacenado. Químicamente, el método de agitación constante mostró un mayor rendimiento en la extracción de polifenoles totales (88.14 ± 27.67 mg EAG/g) y generó valores significativamente mayores en todos los ensayos de actividad antioxidante. El método de baño ultrasónico potenció la liberación de flavonoides, destacando significativamente la muestra del año 2024 (124.71 ± 3.64 mg ER/g). En las pruebas microbiológicas, únicamente se observó inhibición frente a las cepas bacterianas Gram positivas, independientemente del método de extracción. A partir de estos resultados se demuestra que el método por agitación constante favorece la extracción de polifenoles totales y maximiza el potencial antioxidante, mientras que el baño ultrasónico optimiza la extracción de flavonoides. Se concluye que el propóleo del Apiario-escuela del Campus Amazcala posee potencial bioactivo; y que el método de extracción debe seleccionarse estratégicamente según el objetivo de interés, validando a este propóleo regional como una materia prima de calidad para el desarrollo de productos con propiedades antioxidantes y antibacterianas.

Palabras clave: Actividad antioxidante, actividad antimicrobiana, *Apis mellifera*, métodos de extracción, propóleo.

ABSTRACT

Propolis is a resinous material produced by *Apis mellifera* L. with a variable phytochemical profile and bioactive properties of great interest to the pharmaceutical, cosmetic, and food industries. The objective of this study was to analyze the physical and chemical specifications of ethanolic extracts of propolis obtained through two extraction methodologies: constant agitation for 72 hours and ultrasonic bath. Samples were harvested at the Apiary-school of the Amazcala Campus of the Autonomous University of Querétaro during the autumn-winter periods of 2022, 2023, and 2024. Physical characteristics (color, aroma, flavor, and consistency) were evaluated by a panel of 30 untrained affective judges. Chemical characteristics were determined by measuring antioxidant activity through DPPH, ABTS, and FRAP assays. Antibacterial activity was determined against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC BAA-976 and *Enterococcus faecalis* CDBB-B1533) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 8739 and *Pseudomonas aeruginosa* AT5 0145). The results showed that the physical evaluation presented no significant interannual variations, validating the sensory stability of the stored product. Chemically, the constant agitation method showed a higher yield in total polyphenol extraction (88.14 ± 27.67 mg GAE/g) and generated significantly higher values in all antioxidant activity assays. The ultrasonic bath method enhanced the release of flavonoids, with the 2024 sample standing out significantly (124.71 ± 3.64 mg RE/g). In microbiological tests, inhibition was only observed against Gram-positive bacterial strains, regardless of the extraction method. Based on these results, it is demonstrated that the constant agitation method favors the extraction of total polyphenols and maximizes antioxidant potential, while the ultrasonic bath optimizes flavonoid extraction. It is concluded that the propolis from the Amazcala Campus Apiary-school possesses bioactive potential and that the extraction method should be strategically selected according to the objective of interest, validating this regional propolis as a high-quality raw material for the development of products with antioxidant and antibacterial properties.

Keywords: Antioxidant activity, antimicrobial activity, *Apis mellifera*, extraction methods, propolis.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
i. El propóleo.....	3
ii. El propóleo en la antigüedad.....	4
iii. Producción de los propóleos	4
a. Propóleo a nivel mundial y en México	5
iv. Composición química	6
a. Componentes fenólicos	6
v. Especificaciones físicas y químicas de propóleos	7
a. Especificaciones físicas.....	8
b. Especificaciones químicas.....	8
vi. Actividad biológica.....	8
a. Actividad antioxidante.....	9
b. Actividad antibacteriana	10
3. HIPÓTESIS	11
4. JUSTIFICACIÓN.....	12
5. OBJETIVOS	13
i. Objetivo general	13
ii. Objetivos específicos	13
6. MATERIALES Y MÉTODOS	14
i. Recolección de los propóleos.....	14
ii. Limpieza.....	14
iii. Extracto Etanólico de Propóleo	15
iv. Especificaciones físicas.....	15
a. Análisis tipo sensorial	15
v. Especificaciones químicas	17
a. Prueba cualitativa de flavonoides	18

b.	Prueba cualitativa de fenoles totales	18
c.	Índice de oxidación.....	18
d.	Determinación polifenoles totales	19
e.	Determinación de flavonoides	19
f.	Determinación actividad antioxidante	20
i	Ensayo DPPH	20
ii	Ensayo ABTS	20
iii	Ensayo de poder de reducción/antioxidante férrico (FRAP).....	21
g.	Actividad antibacteriana	21
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
i.	Análisis tipo sensorial.....	23
ii.	Pruebas cualitativas	25
iii.	Pruebas cuantitativas	26
a.	Determinación polifenoles totales	26
b.	Determinación de flavonoides	27
iv.	Actividad antioxidante.....	28
a.	Ensayo DPPH	28
b.	Ensayo ABTS	29
c.	Ensayo de poder de reducción/antioxidante férrico (FRAP).....	29
v.	Actividad antibacteriana	32
8.	CONCLUSIONES	35
9.	REFERENCIAS	36
10.	ANEXOS	47

Índice de tablas

Tabla 1.1 Especificaciones físicas del propóleo	8
Tabla 1.2 Especificaciones químicas del propóleo	8
Tabla 2.1 Identificación de muestras	15
Tabla 2.2 Identificación muestras para análisis tipo sensorial	16
Tabla 2.3 Escala hedónica	16
Tabla 3.1 Clasificación de las muestras de propóleo.....	23
Tabla 3.2 Resultados prueba cualitativa de fenoles totales, flavonoides e índice de oxidación	25
Tabla 3.3 Composición bioactiva y actividad antioxidante de los Extractos Etanólicos de Propóleo (EEP).....	28
Tabla 3.4 Actividad antibacteriana de EEP	33

Índice de figuras

Fig. 1.1 <i>Apis mellifera</i> L., recolectando resinas de un encino (<i>Quercus spp.</i>)	3
Fig. 1.2 A. Método de cortina, B. Método uso de mallas de plástico.....	5
Fig. 1.3 Producción de propóleo 2022 (SENASICA- Operación Orgánica Nacional; mencionado en SAGARPA,2010)	6
Fig. 1.4 Estructura química fenol.....	6
Fig. 2.1 A. Esquema de caja Petri con sus respectivos pozos. ET70: Etanol al 70%. AB: Antibiótico. B. Medición del diámetro en cm.....	22
Fig. 3.1 Resultados de prueba hedónica.....	24
Fig. 3.2 Izq. Prueba índice de oxidación. Drcha. Prueba cualitativa de fenoles totales	26

1. INTRODUCCIÓN

La apicultura en México tiene un gran impacto económico para las áreas rurales, particularmente en comunidades donde la producción de miel y sus derivados representan una fuente primordial de ingresos. Este sector es impulsado por más de 43,000 personas dedicadas a la apicultura distribuidos en todo el país. Según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2024^a) la producción nacional alcanzó las 61,993 toneladas a finales del 2023, lo que posiciona a México como el noveno productor mundial y uno de los principales exportadores por su calidad y diversidad de mieles valoradas en mercados internacionales.

México se divide en cinco regiones apícolas: Región Norte, Región Golfo, Región Costa del Pacífico, Región Altiplano y Región Suroeste o Península de Yucatán (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER], 2024). En cada una de estas zonas, las características organolépticas de la miel, como su color, sabor y aroma, son distintas ya que dependen directamente de las fuentes florales que visitan las abejas. Además de la producción de miel, las abejas generan otros productos, entre los que se incluyen: jalea real, cera, veneno, polen y propóleo (Bava et al., 2024). Las propiedades y la composición de estos productos también varían significativamente según la vegetación y la ubicación geográfica de cada región.

El estado de Querétaro pertenece a la región del Altiplano y a la región del Golfo, en el año 2022 se reportó una producción total del estado de 56.63 toneladas de miel, siendo los municipios de Querétaro, El Marqués y Colón los principales productores estatales (SIAP, 2023). Entre los productos derivados de la colmena, el propóleo ha adquirido popularidad debido a sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antiinflamatorias, así como su potencial de aplicación en los sectores alimentario, farmacéutico y cosmético (Pasupuleti et al., 2017)

El propóleo es un producto elaborado a partir de resinas, ceras y otras secreciones de diversas fuentes botánicas como árboles y brotes de las plantas. Las abejas lo utilizan en la colmena como un material de construcción y protección, sirviendo para sellar grietas, desinfectar la colmena y defenderse de patógenos y depredadores. Históricamente es conocido también por su uso en la antigüedad con fines medicinales desde el año 300 A.C. (Russo et al., 2004; Uzel et al., 2005).

El valor de este producto reside en sus componentes bioactivos, que son las sustancias responsables de sus propiedades terapéuticas, como las antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias. Dentro de estos componentes, los grupos más importantes son los compuestos fenólicos. A su vez, dentro de los componentes fenólicos se encuentran los flavonoides, que son considerados los principales responsables de la actividad biológica del propóleo (Silva et al., 2012).

Diversas investigaciones han señalado que las técnicas de extracción del propóleo tienen un impacto directo en la composición química y las propiedades del propóleo. Por ejemplo, Bankova & Marcucci (2000) indican que la elección del solvente y la técnica empleada pueden modificar significativamente la concentración de flavonoides y ácidos fenólicos en el producto final. Además, Marquele-Oliveira et al. (2019) subrayan que el uso del baño ultrasónico puede optimizar la extracción al romper las paredes celulares de las resinas, reduciendo tanto el tiempo como el consumo energético, aunque el uso de este equipo no es de fácil acceso para todos los productores apícolas. El método más utilizado para la producción de extractos de propóleo es la extracción con etanol al 70%, puesto que los compuestos bioactivos son más solubles en etanol que en un medio acuoso, además que se obtiene un extracto con bajo porcentaje de cera (Pietta et al., 2002).

En México, existe la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017 “Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento” (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2017), donde se mencionan dos metodologías de extracción: maceración por 72 h con agitación constante y baño ultrasónico por 20 min; no obstante, se desconoce el efecto del método de extracción sobre las propiedades de un extracto etanólico de propóleo mexicano, ya que en la literatura revisada no se encontraron hasta el momento estudios que aborden esta interrogante.

2. ANTECEDENTES

i. El propóleo

La etimología de la palabra propóleo deriva del griego *pro* “para o en defensa de” y *polis* “ciudad”, lo cual hace referencia a su función biológica como protector de la colmena. Este material se utiliza para el sellado de grietas, permitiendo regular la temperatura interna y sirviendo como un mecanismo de profilaxis (Bedascarrasbure et al., 2006). Asimismo, el propóleo actúa como agente antimicrobiano que protege a la colmena y a la colonia contra microorganismos patógenos (Silva-Carvalho et al., 2015).

El propóleo es un material resinoso elaborado principalmente a partir de exudaciones y resinas de distintas especies de plantas; sus características físicas; como el color, aroma, consistencia y sabor pueden variar según su origen botánico. En cuanto al color se pueden encontrar propóleos desde rojo, amarillo-rojizo, amarillo oscuro, verde castaño, pardo o negro. Tiene un aroma a madera (resinoso) o a cera (balsámico). Su sabor es suave, aunque puede ser picante tipo especia, a temperatura ambiente presenta una consistencia que puede ser tanto maleable como rígida (Kuropatnicki et al., 2013).

Según Salamanca (2017), las abejas pecoreadoras especializadas recolectan secreciones resinosas de diversas plantas para la elaboración de propóleo. El proceso de recolección comienza una vez que las pecoreadoras reciben estímulos de búsqueda relacionados con factores higiénicos. Este proceso inicia cuando la abeja raspa la resina de la fuente botánica utilizando su sistema mandibular. Posteriormente, transporta este material en sus corbículas, ubicadas en el tercer par de patas; una vez en la colmena, la resina cruda es procesada por otras abejas obreras, quienes la amoldan y la mezclan con cera y secreciones enzimáticas salivales para producir el propóleo final (Castaldo & Capasso, 2002).



Fig. 1.1 *Apis mellifera* L., recolectando resinas de un encino (*Quercus* spp.)

ii. El propóleo en la antigüedad

El propóleo se conoce por el hombre desde la antigüedad, fue usado por árabes, egipcios, judíos, romanos y griegos, anteriormente lo consideraban pegamento (Asis, 1989). Según Salamanca (2017), gracias a la observación del comportamiento de las abejas, se cree que los antiguos egipcios aprendieron a usar el propóleo en sus procesos de embalsamamiento. Puesto que las abejas embalsaman a los intrusos muertos, como roedores o pequeños reptiles, que no pueden sacar de la colmena, utilizan propóleo y cera para cubrirlos. Al embalsamar a los invasores se disminuye la propagación de procesos infecciosos y descomposición de los mismos.

En cambio, en el año 350 A.C. en la Antigua Grecia se usó el propóleo como ingrediente para elaborar perfumes muy particulares que recibía el nombre de “Polyanthus”, al igual se utilizó con fines medicinales para tratar abscesos y úlceras en la piel. Por otro lado, los judíos conocían el propóleo con el nombre “Tzori” (hebreo); incluso sus propiedades terapéuticas son mencionadas en el Antiguo Testamento, el famoso bálsamo de Galaad bíblico se fabricaba a base del propóleo. En Judea, Tzori se llegó a comercializar durante 1500 años desde el Mar Muerto, recibiendo reconocimiento gracias a sus propiedades medicinales y aroma característico (Salamanca, 2017).

En el siglo XX, el propóleo fue ampliamente utilizado en la Guerra de los Boers y durante la Revolución Rusa; en ambos acontecimientos el uso del propóleo fue como cicatrizante y antiséptico de heridas aplicándose en unguento (Galdo, 2005; Campo, 2008).

iii. Producción de los propóleos

El propóleo destaca por su amplia actividad biológica, lo que lo convierte en un ingrediente valioso para la elaboración de alimentos y otros productos de uso humano. Para obtener este producto se han implementado diversos métodos para su cosecha, tales como el uso de mallas de plástico o el método de cortina como se observa en la Fig. 1.2. El material que

se opte por usar debe ser inocuo para optimizar la calidad y cantidad a cosechar (SAGARPA, 2017).



Fig. 1.2 A. Método de cortina, B. Método uso de mallas de plástico

a. Propóleo a nivel mundial y en México

La producción del propóleo se encuentra en auge a nivel mundial. Los principales países productores son China, Brasil, Argentina, Cuba, Chile, Uruguay y Canadá, mientras que los mayores consumidores incluyen a Alemania, Francia, Hungría, Ucrania y Estados Unidos de América (Cruz et al., 2025); siendo Japón el líder global en la importación de propóleos (Salatino et al., 2005). El mercado del propóleo ha crecido significativamente en Estados Unidos, la Unión Europea y Japón, donde este producto es utilizado en cosméticos, medicinas alternativas y suplementos dietéticos (Bankova & Marcucci, 2000).

En México, la producción de propóleo no ha sido explotada al máximo, ya que la apicultura se ha centrado principalmente en la cosecha de miel (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER], 2010). No obstante, la obtención del propóleo ha ido en aumento en el país desde que se han reconocido sus propiedades benéficas. A nivel nacional, los estados con mayor producción son Morelos, Jalisco, Yucatán y Oaxaca (Fig. 1.3). Por ejemplo, en 2022, Morelos registró una producción total de 4 toneladas anuales. El mercado mexicano está segmentado por el tipo de producto, incluyendo cápsulas, extractos, cremas, tabletas y dulces, entre otros.

Entidad	Propóleos (ton)
Morelos	4
Jalisco	1.56
Yucatán	1.47
Oaxaca	0.9

Fig. 1.3 Producción de propóleo 2022 (SENASICA- Operación Orgánica Nacional; mencionado en SAGARPA,2010)

iv. Composición química

La composición química de los propóleos está influenciada principalmente por el origen botánico y la ubicación geográfica de donde las abejas recolectan las resinas, por lo tanto, puede ser variable (Bankova et al., 1992b).

Los propóleos están formados por una amplia variedad de componentes químicos, de los cuales algunos son fotosensibles (Huang et al., 2014). Estos componentes se clasifican de manera general de la siguiente manera: 50% de resinas de plantas, 30% de cera, 10% de aceites esenciales y aromáticos, 5% de polen y 5% de otras sustancias orgánicas; de los componentes que conforman el propóleo sobresalen los compuestos fenólicos.

a. Componentes fenólicos

Los componentes fenólicos son compuestos orgánicos que se encuentran principalmente en las plantas y que poseen en su estructura molecular al menos un grupo fenol y un anillo aromático (fenil) unido al menos a un grupo funcional hidroxilo (OH) (Peñarrieta et al., 2014).

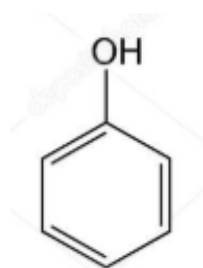


Fig. 1.4 Estructura química fenol

Estos compuestos cumplen funciones vitales en las plantas, tales como la defensa contra patógenos y herbívoros, dan soporte mecánico, confieren pigmentación lo que puede atraer polinizadores y alejar depredadores, la protección contra la radiación UV y la acción como agentes alelopáticos por mencionar algunas (Kroon & Williamson, 1999; Martínez-Flórez et al., 2002).

Los compuestos fenólicos, a menudo denominados polifenoles, constituyen un amplio grupo de sustancias químicas que se pueden clasificar de diferentes maneras. De acuerdo a su estructura química se pueden agrupar en flavonoides y no flavonoides. Los flavonoides poseen una estructura característica de tres anillos (Rojas, 2021), mientras que el grupo de los no flavonoides incluye diversas familias de compuestos como los ácidos fenólicos, los estilbenos y los lignanos (Rathor & Singh, 2021).

Dentro de la compleja composición química del propóleo, los componentes fenólicos constituidos por flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres han sido identificados como los principales compuestos bioactivos responsables de su actividad biológica (Bedascarrasbure, et al., 2004).

v. Especificaciones físicas y químicas de propóleos

El propóleo presenta una variedad de características físicas que incluyen color, aroma, sabor y consistencia, las cuales dependen principalmente de su origen botánico y de las condiciones ambientales durante la recolección de resinas y elaboración del propóleo por parte de las abejas. Es un producto gomoso y pegajoso a temperatura ambiente, mientras que a bajas temperaturas se puede endurecer y ser quebradizo. Alcivar-Saldaña et al., (2024) reportaron que el propóleo recolectado durante temporada de lluvias en el municipio de Cuautitlán Izcalli, México presentó una coloración verdosa con tonos marrones, consistencia pegajosa y un aroma más intenso. El aroma de los propóleos se percibe como balsámico o resinoso, tiende a adoptar estos aromas debido a los aceites volátiles que son parte de su composición (de Oliveira et al., 2021)

La NOM-003-SAG/GAN-2017 (SAGARPA, 2017) establece las especificaciones físicas (Tabla 1.1) y químicas (Tabla 1.2) para el propóleo.

a. Especificaciones físicas

Tabla 1.1 Especificaciones físicas del propóleo

PARÁMETROS	CARACTERÍSTICAS
COLOR	Rojo, amarillo-rojizo, amarillo-oscuro, verde castaño, pardo o negro, variando conforme a su origen botánico.
AROMA	Resinoso (amaderado) o balsámico (cera), dependiendo el origen botánico.
SABOR	Variable, de suave balsámico, a fuerte y picante, depende el origen botánico.
CONSISTENCIA	A temperatura ambiente maleable o rígido, depende el origen botánico.

b. Especificaciones químicas

Tabla 1.2 Especificaciones químicas del propóleo

DETERMINACIÓN CUALITATIVA	PARÁMETROS
Flavonoides	Presencia
Fenoles Totales	Presencia
Índice de oxidación	Máximo 22 segundos

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA	PARÁMETROS
Compuestos Fenólicos	Expresados como equivalentes de ácido gálico
Flavonoides	Expresados como equivalentes de quercetina
Actividad antioxidante (CA50)	Mínimo 100µg/ml

vi. Actividad biológica

Se refiere a la capacidad de alterar una o más funciones químicas o fisiológicas de una célula, tejido, órgano u organismo y ofrecer un beneficio. El propóleo es reconocido por su amplio espectro de actividades biológicas, que incluyen efectos anticancerígenos, antiparasitarios, antifúngico, antiviral, antibacteriano y antioxidante. (Wagh, 2013). Estas

propiedades son de gran interés para el sector alimenticio, cosmético y farmacéutico, convirtiéndolo en un producto atractivo con alto potencial de desarrollo. Entre las actividades biológicas más estudiadas destacan la actividad antioxidante y la antibacteriana.

a. Actividad antioxidante

Es importante definir el estrés oxidativo para entender la actividad antioxidante. Este se describe como un desequilibrio en el organismo entre la producción de radicales libres (RL) y la capacidad del sistema de defensa para neutralizarlas (Galina et al., 2018).

Los RL son moléculas con uno o más electrones desapareados en su órbita externa que tienden a reducirse con la finalidad de estabilizarse, lo que los hace altamente reactivos. Si bien son beneficiosos en pequeñas cantidades producidas por el organismo, su exceso, causado por factores internos o ambientales puede ocasionar un desequilibrio. Este desequilibrio ocasiona que los RL busquen estabilizarse robando electrones de otras moléculas. Este proceso de oxidación, además de estabilizar al radical original, convierte a la molécula donante en un nuevo RL, iniciando una reacción en cadena. (Avello & Suwalsky, 2006; Coba et al., 2010).

La actividad antioxidante es el mecanismo que combate este desequilibrio, se lleva a cabo por un grupo de sustancias (antioxidantes) que tienen la capacidad de retardar o prevenir significativamente la oxidación de otras moléculas, aun estando presente en bajas concentraciones (Venereo, 2002).

El propóleo es reconocido por poseer una potente actividad antioxidante, la cual se atribuye a su composición química. Entre ellos, los componentes fenólicos son considerados los principales responsables de sus efectos antioxidantes (Bankova et al., 1992a).

El principal mecanismo antioxidante de los componentes fenólicos se basa en su capacidad de inhibir RL y quelar iones metálicos. La eficacia de ambos procesos está fuertemente relacionada a la capacidad de los grupos estructurales de estos compuestos para donar electrones (Jovanovic et al., 1994; Yao et al., 2004). Los componentes fenólicos del propóleo actúan como antioxidantes al donar iones de hidrógeno a los radicales libres. Este mecanismo les permite neutralizar los radicales, previniendo así el daño oxidativo a lípidos, ácidos nucleicos, proteínas y membranas celulares (Anjum et al., 2019). El exceso de RL se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades crónicas como el cáncer y trastornos cardiovasculares (Erkoc et al., 2003; Lenhninger et al., 1995).

b. Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se debe a la compleja composición fitoquímica del propóleo. Dumitrescu et al., (2021) mencionan que la eficacia biológica del propóleo se debe a una mezcla sinérgica de compuestos, principalmente flavonoides, ácidos aromáticos y sus ésteres. Los compuestos presentes en la fracción resinosa del propóleo actúan dañando la pared y membrana celular bacteriana, entre otros mecanismos (Osés et al., 2024; Bankova et al., 1999).

Al estar comprometida la membrana celular bacteriana, se desencadena una lisis celular lo que aumenta su permeabilidad generando una alteración en el flujo energético de la membrana, por consecuencia se reduce la motilidad de la bacteria (Mirzoeva et al., 1997). Altas concentraciones de compuestos fenólicos de extractos etanólicos de propóleo (EEP) pueden desnaturalizar proteínas, como las enzimas. Los flavonoides en el propóleo pueden actuar sobre la patogenicidad de las bacterias Gram (+), disminuyendo la actividad de la lipasa e impidiendo la formación de biopelículas (Vargas- Sánchez et al., 2014).

3. HIPÓTESIS

La metodología de extracción del propóleo y el año de cosecha tiene un impacto significativo en las especificaciones físicas, la actividad biológica y concentración de los componentes bioactivos del propóleo, por lo que los extractos obtenidos utilizando los dos métodos establecidos en la NOM-003-PROPOLEO-SAG/GAN-2017, agitación constante por 72h y baño ultrasónico por 20 min, presentaran diferencias cuantificables en cuanto a sus características químicas, así como en la respuesta antioxidante y antibacteriana de los propóleos a pesar de haber sido recolectadas en la misma temporada otoño-invierno.

4. JUSTIFICACIÓN

La producción de propóleos se caracteriza por una alta variabilidad fitoquímica, la cual está ligada a la ubicación geográfica, la floración y el clima de su procedencia. En este sentido, el perfil fitoquímico de un propóleo recolectado en el estado de Querétaro diferirá de aquellos producidos en otros estados del país o del mundo. Por consiguiente, un factor crítico en la comercialización es la temporalidad y el almacenamiento; es común que los productores no logren colocar la totalidad de su cosecha en el mismo ciclo productivo, optando por resguardar el producto para su venta posterior.

Por ello, este proyecto busca realizar un análisis de muestras de propóleos de diferentes años (2022, 2023 y 2024) cosechados bajo las mismas condiciones geográficas y estacionales. Esto permitirá determinar si los componentes bioactivos que le confieren sus propiedades se preservan a pesar del tiempo de almacenamiento, validando así la viabilidad comercial y terapéutica de propóleos rezagados.

Adicionalmente, este trabajo de investigación busca comparar las metodologías de extracción establecidas por el gobierno mexicano en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017 "Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento" la cual establece dos métodos de elaboración de extractos etanólicos: maceración por 72h y baño ultrasónico por 20min, no obstante, se desconoce el efecto del método de extracción sobre las propiedades de los extractos finales. Por consiguiente, esta investigación podría aportar información a los apicultores o transformadores a la elaboración de EEP enfocados a actividades biológicas, beneficiando directamente al sector apícola local.

5. OBJETIVOS

i. Objetivo general

Analizar las especificaciones físicas y químicas de extractos etanólicos de propóleo de *Apis mellifera* L., obtenidos mediante dos metodologías de extracción: agitación constante por 72 h y baño ultrasónico; a partir de muestras cosechadas en el Apiario-escuela del Campus Amazcala perteneciente a la Universidad Autónoma de Querétaro; en el periodo otoño-invierno de los años 2022, 2023 y 2024.

ii. Objetivos específicos

A continuación, se enlistan los objetivos específicos.

1. Obtención de extractos etanólicos de propóleo según las metodologías descritas en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017 "Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento" de los propóleos colectados en los años 2022, 2023 y 2024 de la temporada otoño-invierno.
2. Describir las características físicas y químicas de los extractos de propóleo con base a los parámetros establecidos en la NOM-003-PROPOLEO-SAG/GAN-2017 de los propóleos colectados de los años 2022, 2023 y 2024 utilizando dos metodologías de extracción.
3. Determinar la actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos de propóleo de los distintos años, 2022, 2023 y 2024 de dos diferentes metodologías de extracción.
4. Evaluar la actividad antibacteriana de cada extracto mediante el método modificado de pozos de agar utilizando las siguientes cepas de referencia; bacterias Gram (-) *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* AT5 0145, y Gram (+) *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-976 y *Enterococcus faecalis* CDBB-B1533.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

i. Recolección de los propóleos

Se colectaron los propóleos en la temporada otoño-invierno de los años 2022, 2023 y 2024 en el Apiario-escuela de la Universidad Autónoma de Querétaro en el Campus Amazcala localizado en Carretera a San Miguel, km 1, Amazcala, El Marqués, Querétaro. Todos los propóleos se manipularon en las mismas condiciones durante el proceso de cosecha.

Se utilizó el método de cortina, al momento de la cosecha se usó una cuña esterilizada, una vez recolectado el propóleo se almacenó en un contenedor de plástico para alimentos de polietileno libre de BPA, éste mismo se resguardó de los rayos del sol cubriéndose con papel aluminio y se conservó en congelación.

Los propóleos de los años 2022, 2023 y 2024 se cosecharon con la finalidad de elaboración de productos e investigación. Una muestra representativa del propóleo del 2022 y 2023 se encontraba resguardada en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal (CENID FyMA), INIFAP, localizado en el Km 1 Carretera a Colón, Ajuchitlán, Colón, Querétaro, y fue la que se utilizó para el estudio; mientras que el propóleo del 2024 se almacenó en el Campus Amazcala.

ii. Limpieza

El proceso de limpieza se realizó en las instalaciones del CENID-FyMA del INIFAP y en el laboratorio apícola del Campus Amazcala. Se trituró el propóleo congelado en un mortero de porcelana previamente almacenado en el congelador para facilitar el proceso dado que el material se torna rígido y quebradizo, de esta manera se retiró cada residuo no perteneciente al propóleo como semillas, exoesqueletos de abejas, pequeñas hojas y madera. Tal proceso se realizó con el uso de guantes, cofia y cubrebocas para no contaminar el propóleo.

Se prepararon 30 muestras de propóleo de cada año conteniendo cada muestra 0.5g; en bolsas con cierre hermético individuales de 4 x 3cm, manteniéndose en refrigeración y protegidas de la luz del sol, las muestras se destinaron para la evaluación tipo sensorial. Además, se separaron 10g de propóleo de cada año para la elaboración de los extractos etanólicos.

iii. Extracto Etanólico de Propóleo

La preparación de los extractos etanólicos de propóleo (EEP) se realizaron en el laboratorio apícola en el Campus Amazcala, UAQ, y en las instalaciones del CENID FyMA. Para todos los extractos se utilizó etanol al 70% en una proporción de 1:3 (propóleo: etanol) y se usaron los métodos de preparación descritos en la NOM-003-PROPOLEO-SAG/GAN-2017 (SAGARPA, 2017), se pesó la misma cantidad de propóleo limpio en bruto de cada año; se destinaron 5 g para el extracto por el método de agitación constante por 72 h y 5 g para el extracto por baño ultrasónico.

El método de extracción de agitación constante se realizó con el uso de una Placa Agitadora Magnética Anzeser, Modelo SH-2 durante 72 h; previo a colocar la suspensión se cubrió el envase de la luz del sol con papel aluminio. Por otro lado, el baño ultrasónico se elaboró en el equipo Elmasonic S 10H, con una frecuencia ultrasónica de 37 kHz y una potencia nominal de 90 W, este proceso consistió en colocar la suspensión de propóleo en tubos de centrifuga nuevos de 50 ml para cada extracto por 20 min a temperatura ambiente (SAGARPA, 2017).

Una vez que trascurrió el tiempo de extracción se filtró con papel filtro con un tamaño del poro de 30 μm , y se conservó en frascos color ámbar en refrigeración. Para la identificación de cada muestra se etiquetaron como se observa en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 Identificación de muestras

MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y AÑO	IDENTIFICACIÓN MUESTRA
2022 - Agitación 72 h	VA2
2023 - Agitación 72 h	VA3
2024 - Agitación 72 h	VA4
2022 - Baño Ultrasónico	VU2
2023 - Baño Ultrasónico	VU3
2024 - Baño Ultrasónico	VU4

iv. Especificaciones físicas.

a. Análisis tipo sensorial

El análisis tipo sensorial se llevó a cabo en las instalaciones del CENID FyMA del INIFAP, y en el laboratorio apícola de la UAQ. Se utilizaron los parámetros físicos establecidos en

la NOM-003-SAG/GAN-2017 (SAGARPA, 2017), que corresponden a color, aroma, sabor y consistencia.

Las muestras se identificaron según su año de recolección, tal como se observa en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2 Identificación muestras para análisis tipo sensorial

AÑO DE COLECTA	IDENTIFICACIÓN MUESTRA
2022	P22
2023	P23
2024	P24

Se conformó un panel de 30 jueces afectivos no entrenados. La prueba se realizó en habitaciones a temperatura ambiente e iluminadas con luz natural. Previo a la evaluación, se proporcionó a cada participante información sobre el propóleo, el propósito del estudio y un formato de consentimiento informado para firmar (Anexo 1). Posteriormente, se les entregó una boleta de evaluación (Anexo 2).

Se usó una escala hedónica de cinco puntos mostrada en la 2.3. De este modo se evaluó la preferencia y aceptación del propóleo (Watts et al., 1995; Ramírez-Navas, 2012).

Tabla 2.3 Escala hedónica

Puntaje	Categoría
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta
3	Ni me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

1. Procedimiento

Determinación del color: Se colocó la muestra sobre una superficie blanca y se comparó con una escala de colores. Se utilizó el Catálogo Internacional de Colores RAL Classic (Anexo 3).

Determinación del aroma: Se retiró una porción de la muestra a fin de que el envase no interfiera en la percepción olfativa. Se le proporcionó al participante un recipiente con cera de abeja y otro con madera, debido a que la cera de abeja es uno de sus componentes

estructurales. Por otro lado, el aroma a madera se comporta de la misma manera, ya que las resinas son recolectadas de exudados de árboles y cortezas, por ende, el producto final puede contener micropartículas de madera de la colmena. Además, se ofreció en un recipiente con granos molidos de café en dado caso que el participante se saturará del aroma.

Determinación del sabor: Se recomendó a los jueces colocar una porción de la muestra en la parte media de la lengua y masticar por 30 segundos con la finalidad de distinguir el sabor de la muestra, clasificando las opciones en dulce, amargo, picante tipo especia o insípido. Posterior a que el participante calificara este parámetro se ofreció una galleta neutra y agua simple para limpiar el paladar.

Consistencia a temperatura ambiente: Se retiró una porción de la muestra y se sugirió colocarla en una superficie limpia, hasta que se alcanzó la temperatura ambiente. Se determinó la consistencia de las muestras tocándola con los dedos y se calificó la muestra como maleable, muy maleable, rígida o poco rígida.

Los datos sensoriales se analizaron con el programa GraphPad Prism 8.4[®]. Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para determinar si existían diferencias significativas entre las muestras de propóleo, con base en las calificaciones de la escala hedónica. Se consideró un resultado como estadísticamente significativo si el valor de $P < 0.05$.

v. Especificaciones químicas

Las evaluaciones de las especificaciones químicas se llevaron a cabo en el CENID-FyMA, del INIFAP de acuerdo con las metodologías descritas en la NOM-003-PROPOLEO-SAG/GAN-2017 (SAGARPA, 2017) para las pruebas: cualitativa de flavonoides, cualitativa de fenoles totales, índice de oxidación, determinación de polifenoles totales, actividad antioxidante DPPH y ABTS. Adicionalmente se realizó FRAP de acuerdo con la metodología de Aboulghazi et al., (2022) con ligeras modificaciones; y determinación de flavonoides con la metodología descrita por Alencar et al., (2007).

Las metodologías espectrofotométricas se leyeron en un lector de microplaca UV-VIS Agilent EPOCH2NS. Para la prueba cualitativa de fenoles totales se diluyó el EEP a una proporción 1:10 (v/v), para la prueba determinación de flavonoides se usó el EEP al 100% de cada muestra, en el caso de índice de oxidación se usaron diluciones de 1:1,000 del

EEP donde se almacenaron en tubos de centrifuga de 2 ml. Para las pruebas de determinación de polifenoles totales, DPPH, ABTS, FRAP y flavonoides se hicieron las diluciones necesarias que fueron consideradas dentro del factor de dilución al momento de realizar los cálculos finales.

a. Prueba cualitativa de flavonoides

Se usó hidróxido de sodio (NaOH) (CAS: 1310-73-2), al 20%, cuyo fundamento consiste en que al agregar el reactivo a la muestra afecta el pH de los flavonoides, volviéndose un medio alcalino, lo que provoca la ionización de los grupos hidroxilo fenólicos presentes en los flavonoides. Esta ionización altera la forma en la que la estructura del flavonoide interactúa con la luz provocando un cambio de color característico. Un color amarillo intenso indica la presencia de flavonoides en el extracto (Harborne, 1998).

Se agregaron 50 μ L de cada muestra de EEP en viales de 2 ml y se adicionaron 50 μ L de NaOH al 20% y se observaron cambios de coloración; dicho cambio puede variar de amarillo intenso a naranja según la cantidad de flavonoides presentes.

b. Prueba cualitativa de fenoles totales

Se utilizó cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (CAS: 10025-77-1) al 10%, esta prueba tiene como fundamento la capacidad de los grupos fenólicos libres para formar complejos con iones férricos (Fe^{3+}); generando un cambio de color, según la cantidad y tipo de fenoles presentes (Harborne, 1998; Singleton et al., 1999).

Se agregaron 50 μ L de la solución del cloruro férrico hexahidratado al 10% a cada muestra de extracto previamente preparadas en viales de 2 ml, en el cual se observó y registró el cambio de coloración enseguida de haber agregado la solución. En la presencia de fenoles se observa una coloración azul, verde, rojo, morado o negro por lo tanto la presencia de fenoles se considera positivo.

c. Índice de oxidación

La metodología para esta prueba se basa en la capacidad antioxidante del EEP frente a una solución de permanganato de potasio (KMnO_4) (CAS: 7722-64-7) 0.1 N, el cual es un agente oxidante fuerte. Los compuestos fenólicos presentes en el EEP actúan como agentes reductores, de este modo reaccionan con KMnO_4 provoca su reducción y así mismo la pérdida del color púrpura en la solución. A mayor concentración de fenoles totales, el tiempo de la reacción es más rápido (SAGARPA, 2017).

Se tomaron 300 μl de muestra y se añadió 150 μl de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 20% en tubos de centrifuga de 2 ml, posteriormente se esperó 1 minuto para agregar 50 μl de KMnO_4 sin tocar las paredes; de este modo se cronometró y registró el tiempo en que tarda en desaparecer el color púrpura del KMnO_4 . Se contemplaron los siguientes criterios establecidos en la NOM-003-PROPOLEO-SAG/GAN-2017 (SAGARPA, 2017) para la interpretación de los resultados, con un tiempo límite de reacción de 22 segundos:

- **Resultado positivo:** desaparición completa de la coloración púrpura
- **Resultado negativo:** persistencia de la coloración púrpura.

d. Determinación polifenoles totales

El método se basa en la reacción redox entre los compuestos fenólicos presentes en el extracto y el reactivo de Folin-Ciocalteu ($3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5\text{I}3\text{WO}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$); (CAS: 12111-13-6), este reactivo está compuesto por una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico, que en la presencia de fenoles y en un medio alcalino son reducidos formando un complejo de color azul intenso. La intensidad del color azul es proporcional a la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el extracto. Se mide la intensidad del color espectrofotométricamente a una longitud de onda de 765 nm y la absorbancia se compara con una curva de calibración elaborada con un estándar fenólico, como el ácido gálico (CAS:149-91-7) (Singleton et al.,1999).

Se colocaron 500 μl de EEP en tubos de vidrio y 3,000 μl de agua destilada posteriormente, se agregaron 250 μl de reactivo de Folin-Ciocalteu, y se cronometraron 5 min. Se adicionaron 750 μl de la solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) (CAS: 497-19-8) al 20% y se aforó con agua destilada a un volumen final de 5 ml. Se colocaron las muestras 1 hora a temperatura ambiente y protegidas de la luz, para que se lleve a cabo la reacción y se determinó la absorbancia a 765 nm. Los fenoles totales se calcularon como equivalentes de ácido gálico por estimación a partir de una curva de calibración expresados como mg ácido gálico/g de propóleo (mg EAG/g).

e. Determinación de flavonoides

Se determinó de acuerdo con la metodología de Alencar et al. (2007) con ligeras modificaciones. Se tomaron 30 μl del EEP,150ml de agua destilada y se adicionaron 10 μl de nitrito de sodio (NaNO_2) (CAS: 7632-00-0) en cada pozo de la microplaca; agitándose la solución, al minuto 5 se agregó 10 μl de cloruro de aluminio (AlCl_3) (CAS: 7446-70-0) volviendo a agitarse de nuevo la solución. La absorbancia se determinó al finalizar de

agregar el último reactivo a una longitud de onda de 514 nm. El contenido de flavonoides se determinó utilizando el método colorimétrico de AlCl_3 descrito por Zhishen et al., (1999) con ligeras modificaciones, los resultados se expresaron como equivalentes de rutina (CAS:207671-50-9) por estimación a partir de una curva de calibración expresados como mg rutina/g de propóleo (mg ER/g).

f. Determinación actividad antioxidante

i Ensayo DPPH

Se determinó la actividad antioxidante por el método de captura de radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (CAS: 1898-66-4). El DPPH tiene una coloración violeta intenso gracias a su electrón desapareado, cuando se expone a un extracto con actividad antioxidante capaz de donar un electrón o un hidrógeno, se reduce el DPPH a DPPH-H, cambiando la coloración a amarillo pálido (Brand-Williams et al.,1995).

Se colocaron 50 μl de cada EEP en cada pozo de la microplaca y se agregó 150 μl del reactivo DPPH. Una vez transcurridos 30 min se determinó la absorbancia a 515 nm. Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (CAS: 53188-07-1) por estimación a partir de una curva de calibración expresados como mg Trolox/g de propóleo.

ii Ensayo ABTS

Este método se basa en la inhibición del radical ABTS^+ 2,2-azinobis-(3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfónico) (CAS: 30931-67-0) asociado a la medición de la pérdida de color de la reacción, debido a la interacción de antioxidantes presentes en la muestra. El radical catiónico ABTS^+ se genera por la reacción oxidación del ABTS, sal diamonio, con persulfato de potasio, generando el radical de color verde-azul que absorbe luz a una longitud de onda de 734 nm.

Se diluyó 1 ml de solución de ABTS de radical previamente activado, en 1 ml de etanol al 70%, hasta obtener una absorbancia de 0.7, posteriormente se agregaron 50 μL de cada muestra de los extractos en cada pozo de la placa y se añadió 150 μL de la solución de ABTS diluida. Una vez transcurridos 7 min se determinó la absorbancia a 734nm. Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox por estimación a partir de una curva de calibración expresados como mg Trolox/g de propóleo.

iii Ensayo de poder de reducción/antioxidante férrico (FRAP)

FRAP se basa en la actividad reductora de compuestos; a través de las reacciones de transferencia de electrones, implica la reducción del complejo $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ a $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ (Benzie & Strain, 1996).

El reactivo FRAP se preparó en una proporción 10:1:1 de las siguientes soluciones: Buffer de Acetato (300mM a un pH de 3.6), solución de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) (CAS: 3682-35-7) preparada en ácido clorhídrico (HCl) (CAS: CAS 7647-01-0) (40Mm), y solución acuosa de cloruro de hierro (III) hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (CAS: 10025-77-1).

Se añadieron 50 μL de cada EEP en la microplaca y se adicionaron 150 μL del reactivo FRAP, el cual tiene una absorbancia de 0.7 nm aproximadamente; la actividad reductora se determinó a 593 nm a los 7 min transcurridos. Los resultados se calcularon a partir de una curva de calibración elaborada con Trolox. El poder antioxidante se expresó como mg Trolox/g de propóleo.

g. Actividad antibacteriana

Las cepas de referencia que se usaron fueron: Gram (+) *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-976 y *Enterococcus faecalis* CDBB-B1533; y para Gram (-) *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 10145. Previo a la prueba de actividad antimicrobiana, cada cepa se tuvo que activar para su uso.

De cada cepa se tomaron de 3 a 4 colonias y se colocaron en 5 mL de solución salina (0.85%). La turbidez de las suspensiones celulares se ajustó a 0.08-0.1 DO en un espectrofotómetro a 600 nm que corresponde a 2.6×10^7 UFC/mL - 8.0×10^7 UFC/mL.

La actividad antibacteriana se evaluó con el método modificado de pozos de agar. Se utilizó agar Muller-Hilton (MCD Lab) el cual se preparó de acuerdo con las indicaciones del proveedor y se colocó en cajas Petri de vidrio estériles de 100x15mm (Sánchez et al., 2016). Las bacterias se sembraron por estriado en la superficie del agar con hisopos estériles y posteriormente con la ayuda de puntas estériles de micropipeta se realizaron cinco pozos en el agar de un diámetro de 8mm.

Con etanol al 70% se prepararon cuatro diluciones de cada muestra de propóleo, al 100%, 50%, 25% y 12.5%; de cada dilución se colocaron 100 μL por pozo como se muestra en la Fig. 2.1. Al pozo del centro se le añadieron 100 μL de alcohol al 70% como control negativo

o un disco para antibiograma como control positivo; para las bacterias Gram (+) se utilizó discos de vancomicina (Oxoid®), y para las Gram (-) discos de gentamicina (Oxoid®).

Las cajas se incubaron durante 24 h a 37°C; transcurrido el tiempo, se verificó la formación de los halos alrededor de los pozos. La presencia de halos indica la inhibición del crecimiento bacteriano. Finalmente, se midió y se registró el diámetro de cada halo en centímetros (Fig. 2.1).

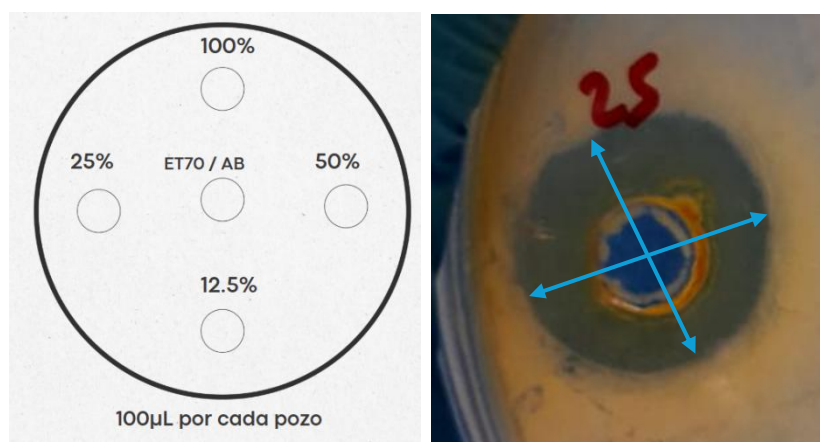


Fig. 2.1 A. Esquema de caja Petri con sus respectivos pozos. ET70: Etanol al 70%. AB: Antibiótico. B. Medición del diámetro en cm

Los resultados de la actividad antioxidante y antimicrobiana se analizaron con el software GraphPad Prism 8.4®. Se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, seguido de una prueba Tukey para la comparación de medias. Los métodos de extracción se compararon entre si con una prueba t de Student. Para todas las pruebas se utilizó un nivel de significancia de $P < 0.05$.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

i. Análisis tipo sensorial

De la totalidad de los jueces que participaron en la evaluación de los tres propóleos, se encontró que el 79% ya había consumido propóleo previamente.

Entre los jueces, la presentación más consumida fue en dulces (46%) esto puede deberse al fácil acceso y costo accesible de los productos elaborados, además es importante considerar que este porcentaje reportado podría ser un área de oportunidad con desarrollo a futuro en la elaboración de productos derivados apícolas, seguido del mayor porcentaje están las gotas (19%). Las presentaciones de jarabe, espray y en greña quedaron empatadas debido a que eran conocidas y consumidas por el 13% de los evaluadores. Finalmente, las formas de consumo menos conocidas fueron el extracto (11%) y como componente de un producto antigripal (5%). En la Tabla 3.1 se observa la clasificación otorgada por los jueces a las tres muestras de propóleo.

Tabla 3.1 Clasificación de las muestras de propóleo

PARÁMETRO	P22			
COLOR	Principalmente tonos marrones seguidos de tonos verdosos			
AROMA	Cera: 36.67%		Madera: 63.33%	
CONSISTENCIA	Maleable: 36.67%	Muy maleable: 50%	Poco rígido: 13.33%	
SABOR	Insípido: 53.33%	Amargo: 23.33%	Picante: 23.33%	
	P23			
COLOR	Principalmente tonos marrones seguidos de tonos grises			
AROMA	Cera: 53.33%		Madera: 46.67%	
CONSISTENCIA	Maleable: 56.67%	Muy maleable: 33.33%	Poco rígido: 6.67%	Rígido: 3.33%
SABOR	Insípido: 76.67%	Amargo: 20%	Dulce: 3.33%	
	P24			
COLOR	Principalmente tonos marrones seguidos de tonos amarillos			
AROMA	Cera: 26.67%		Madera: 73.33%	
CONSISTENCIA	Maleable: 60%	Muy maleable: 33.33%	Poco rígido: 3.33%	Rígido: 3.33%
SABOR	Insípido: 70%	Amargo: 16.67%	Dulce: 6.67%	Picante: 6.67%

En la Fig. 3.1 se muestran los resultados de la prueba hedónica; en la preferencia general la característica que más agrado fue el aroma y la consistencia, mientras que para el color fueron calificadas en un punto intermedio. La variable que menos agradó a los jueces que fue el sabor sin importar el año. Por otro lado, los resultados muestran que no hay una diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre los años, por cada variable evaluada, por lo tanto, resulta factible el uso de propóleos recolectados en diferentes años siempre y cuando el producto se haya almacenado de manera correcta con las medidas indicadas en la NOM-003-PROPOLEO-SAG/GAN-2017 (SAGARPA, 2017).

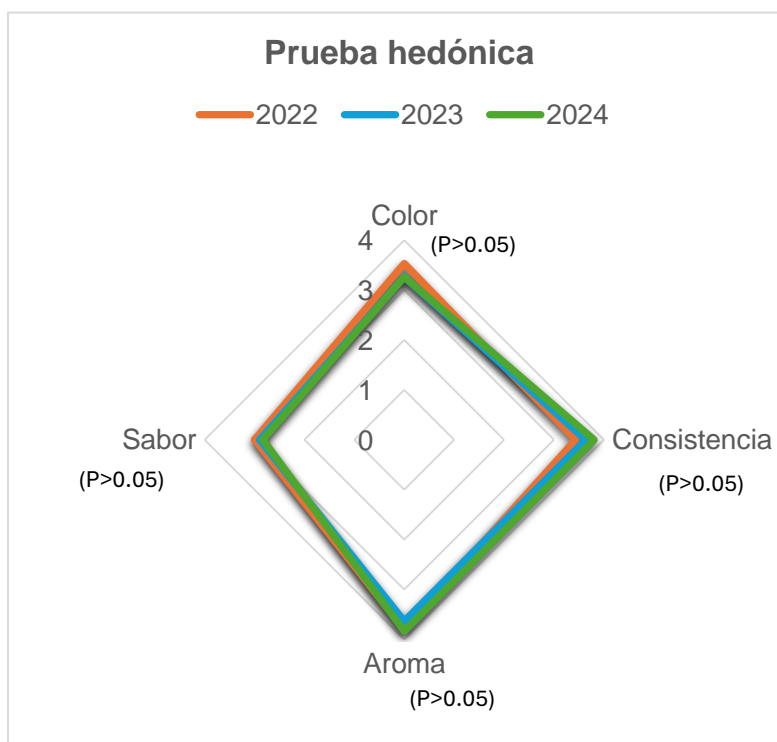


Fig. 3.1 Resultados de prueba hedónica

Los presentes hallazgos, clasifican los propóleos en tonos marrones, los cuales son consistentes con lo reportado por Rodríguez et al. (2020) y Moguel et al. (2023). Es importante destacar que, esta similitud en la coloración se mantiene a pesar de que los propóleos provienen de distintos géneros de abejas. Mientras que este estudio y el de Rodríguez et al. (2020) se enfocaron en propóleos de *Apis mellifera* L., los resultados de Moguel et al. (2023) corresponden a propóleos de meliponinos provenientes de diferentes estados de la República Mexicana.

Los resultados mostraron una clasificación similar a la de Rodríguez et al. (2020) en cuanto al aroma y consistencia de los propóleos provenientes del Estado de México y Guanajuato. Por otro lado, se observó una diferencia significativa en el parámetro de sabor: mientras que el estudio de Rodríguez et al. (2020) reportó un sabor amargo, en las muestras predominó un sabor insípido. Por otra parte, los hallazgos de Moguel et al. (2023) mostraron que sus propóleos tenían un aroma predominantemente a cera balsámica. A diferencia de lo anterior, el aroma amaderado resinoso fue el que sobresalió en los propóleos de Querétaro.

Esta variabilidad puede explicarse por la influencia de factores como la especie de abeja, floración, ubicación geográfica y el clima. Por lo tanto, la diferencia en los parámetros físicos de los propóleos puede estar relacionada con el origen geográfico y el tipo de abeja como factor clave de la composición del propóleo.

ii. Pruebas cualitativas

Todos los extractos resultaron positivos en las pruebas cualitativas para la detección de fenoles totales y flavonoides (Tabla 3.2). Los resultados de flavonoides coinciden con el trabajo de Samara-Ortega et al., (2011) quienes trabajaron con propóleos provenientes del municipio de Totoró y Buenos Aires en el Departamento del Cauca, Colombia.

Tabla 3.2 Resultados prueba cualitativa de fenoles totales, flavonoides e índice de oxidación

MUESTRA	PRESENCIA FENOLES TOTALES	PRESENCIA DE FLAVONOIDES	ÍNDICE DE OXIDACIÓN (s)
VA2	POSITIVO	POSITIVO	3
VA3	POSITIVO	POSITIVO	2
VA4	POSITIVO	POSITIVO	2
VU2	POSITIVO	POSITIVO	2
VU3	POSITIVO	POSITIVO	1
VU4	POSITIVO	POSITIVO	1

Los resultados del índice de oxidación de todos los extractos se muestran en la 3.2, estos indican la presencia de fenoles totales (Fig. 3.2). A mayor concentración de fenoles totales, el tiempo de la reacción es más rápido. Los resultados de esta investigación difieren con los de Rodríguez et al., (2020), quienes reportaron un tiempo de hasta 70s del propóleo proveniente de El Oro, Estado de México.

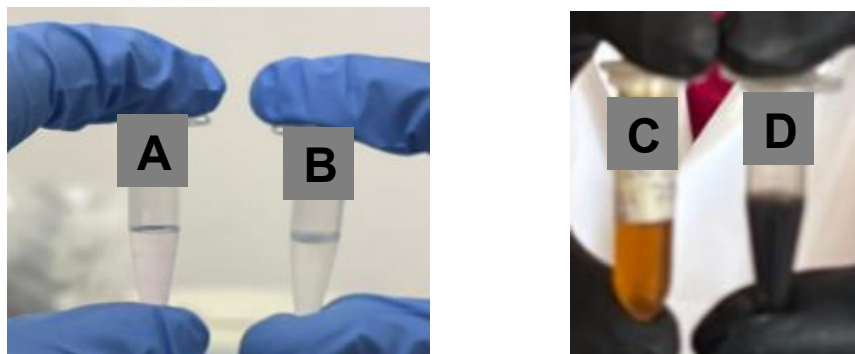


Fig. 3.2 Izq. Prueba índice de oxidación. Drcha. Prueba cualitativa de fenoles totales

- A. Muestra con presencia del reactivo KMnO_4 . B. Muestra después de reaccionar con el reactivo.
 C. Muestra de EEP sin el reactivo $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. D. Muestra después de reaccionar con el reactivo.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la prueba índice de oxidación se sugiere que exista una asociación entre los compuestos fenólicos presentes en los EEP (Tabla 3.2), ya que estos compuestos son los principales agentes reductores, sugiriendo también que la concentración de estos componentes es alta; debido a que, a mayor concentración de fenoles totales, el tiempo de reacción en la prueba es más rápido.

iii. Pruebas cuantitativas

a. Determinación polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales fue mayor en los extractos obtenidos por el método VA ($P < 0.05$) con un valor promedio de 88.14 ± 27.67 mg EAG/g comparado con el método VU, que obtuvo un promedio de 54.57 ± 32.45 mg EAG/g (Tabla 3.3).

Al comparar por métodos de extracción (VA y VU) entre años, en el método VA, la muestra que presentó mayor contenido de polifenoles totales fue la del año 2022 ($P < 0.05$), y en el caso del método VU, fue la muestra del 2023 ($P < 0.05$); no obstante, la muestra que posee mayor contenido de polifenoles totales de todas las muestras fue VA (Tabla 3.3).

En un estudio de propóleos en donde utilizaron etanol al 80% para elaborar EEP mediante agitación constante por 48 h a 20°C diferentes regiones del estado de Guanajuato se obtuvieron resultados de 68 a 500 mg EAG/g de propóleo de polifenoles totales, (Hernández et al., 2018). Por otro lado, en el estado de Jalisco evaluaron propóleos del Bosque La Primavera, Zapopan y reportaron 260 mg EAG/g de propóleo de contenido de polifenoles totales (Delgado et al. 2015); tales datos son similares en ambos métodos de extracción

evaluados en este trabajo, probablemente debido a la posible floración o clima similar al del estado de Querétaro.

b. Determinación de flavonoides

Respecto a lo reportado, se muestra una diferencia estadísticamente significativa entre métodos de extracción ($P < 0.05$), el método VA mostró un valor promedio de 25.96 ± 4.98 mg ER/g, en comparativa con el método VU que resultó con un promedio mayor de 47.90 ± 59.52 mg ER/g.

Al comparar por método de extracción, se observaron los valores más altos en la muestra del año 2024 (VU) y los valores más bajos en 2022 (VA) ($P < 0.05$); por otro lado, la muestra que mostró un rendimiento superior es VU ($P < 0.05$) (Tabla 3.3).

Es notable el valor atípico en la muestra VU4 en comparación con los resultados de VA y VU reportados de flavonoides, ya que es veinte veces superior al valor más bajo (VU3, 8.33 ± 1.06 mg ER/g de propóleo); el valor de VU4 podría considerarse similar a los valores reportados por Delgado et al. (2015) en el estado de Jalisco en el Bosque La Primavera, Zapopan, quienes reportaron 130 mg equivalentes de quercetina por gramo de EEP.

Mientras que en comparación con las demás muestras estudiadas los resultados obtenidos son similares a los reportados por Hernández et al. (2018) en ambos métodos de extracción evaluados, ya que cuantificaron datos que oscilan de 13 a 379 mg EQ/g; lo cual sugiere que el propóleo recolectado de la muestra VU4 poseía un perfil fitoquímico único por lo tanto, puede deberse a que la resina producida por la flora de la región produjo una resina bastante rica en un tipo específico de flavonoide que se extrajo con eficiencia a través del método de baño ultrasónico o que la presencia de este compuesto estaba en altas concentraciones posiblemente debido a la respuesta adaptativa de la vegetación frente a condiciones de estrés abiótico y biótico prevalentes en el año 2024; factores como una mayor radiación UV, estrés hídrico severo o presencia de herbívoros predisponen a que la vegetación sintetice resinas con mayor carga fitoquímica para su supervivencia.

Tabla 3.3 Composición bioactiva y actividad antioxidante de los Extractos Etanólicos de Propóleo (EEP)

Muestra	Polifenoles Totales (mg EAG/g)	Flavonoides Totales (mg ER/g)	Actividad DPPH (mg ET/g)	Actividad ABTS (mg ET/g)	Actividad FRAP (mg ET/g)
VA2	109.88±0.27 ^a	29.70±1.59 ^b	9.61±0.56 ^a	51.05±4.05 ^a	16.33±0.30 ^a
VA3	52.73±0.60 ^c	20.36±4.77 ^{bc}	3.89±0.59 ^b	49.55±1.16 ^a	20.72±3.16 ^a
VA4	101.81±1.33 ^{ab}	27.83±1.06 ^b	10.33±0.46 ^a	34.69±2.12 ^{ab}	15.35±1.28 ^a
VU2	36.97±1.25 ^d	10.68±1.00 ^c	5.75±0.17 ^b	17.68±4.37 ^{bd}	4.74±0.31 ^b
VU3	96.19±1.86 ^b	8.33±1.06 ^{cd}	4.61±1.13 ^b	14.24±3.66 ^d	3.84±0.15 ^b
VU4	30.56±4.77 ^d	124.71±3.64 ^a	3.87±0.31 ^b	16.28±5.40 ^d	5.55±0.15 ^b

Los valores representan la media \pm desviación estándar (DE). EAG = Equivalentes de Ácido Gálico; ER= Equivalentes de Rutina; ET = Equivalentes de Trolox. . a-d Diferentes literales por columna indican diferencias significativas entre las muestras, (P<0.05)

iv. Actividad antioxidante

a. Ensayo DPPH

Los extractos obtenidos por el método de agitación mostraron una actividad antioxidante significativamente mayor (P<0.05), con un valor promedio de 7.95±3.18 mg ET/g, en comparación con el método de baño ultrasónico que obtuvo un promedio de 4.74±1.0 mg ET/g. Al comparar la concentración de ET/g de las seis muestras de extractos se observa que las muestras VA2 y VA4 presentan los valores con mayor concentración de mg ET/g (P<0.05) (Tabla 3.3).

En contraste con los resultados de los diferentes años por cada método de extracción no se encontraron diferencias significativas (P>0.05) en la extracción por el método de baño ultrasónico entre los diferentes años; sin embargo, para el método de agitación se observaron diferencias significativas (P<0.05) siendo el año 2023 en donde hay menor concentración de mg ET/g (Tabla 3.3).

Los resultados más bajos obtenidos en esta investigación son similares con lo reportado por Palomino et al. (2009), quienes analizaron propóleos del Departamento de Antioquia, Colombia de diferentes municipios, como Medellín; uno de sus propóleos recolectados en el apiario de Lima obtuvo 33.9±9.7 μ mol ET/g de propóleo. Por el contrario, los valores de

este trabajo resultaron inferiores a los hallados por Portela-Márquez et al. (2022) en BÁCUM, Sonora (México). En dicho estudio, utilizaron EEP preparados mediante baño ultrasónico por 20 min, se registró una actividad antioxidante mayor, alcanzando los $295.855 \pm 11.4 \mu\text{mol ET/g}$.

b. Ensayo ABTS

En la evaluación de la actividad captadora del radical ABTS, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre los métodos de extracción. El método de (VA) presentó un promedio general de $45.10 \pm 8.36 \text{ mg ET/g}$, mientras que el método (VU) mostró un promedio de $16.06 \pm 3.84 \text{ mg ET/g}$ (Tabla 3.3).

Al comparar los resultados de los diferentes años por cada método de extracción no se encontraron diferencias significativas en VU ($P > 0.05$), sin embargo, en el caso de VA se observó diferencias significativas ($P < 0.05$), siendo el año 2024 en donde se presentan menores concentraciones de mg ET/g

En comparación con los resultados obtenidos en este estudio, el propóleo recolectado en el departamento del Atlántico, proveniente del municipio de Sabanalarga, Colombia presentó valores de $739.74 \pm 14.51 \mu\text{mol ET/g}$, en EEP al 96% obtenidos por agitación durante 48 h (Rodríguez et al., 2012); superando al valor más alto obtenido en este trabajo; al igual que con los propóleos recolectados en el municipio de Torreón, Coahuila, México, pues reportaron que a la concentración de 5000 a $320 \mu\text{g/mL}$ de propóleo en EEP elaborados con etanol absoluto y una agitación de 24 h (Martínez-Rojas et al., 2024); sus valores reportados oscilaron entre 60.53 y 3.87 mg EAG/g de propóleo), mientras que en este estudio los valores de la muestra VU3, fueron los resultados más bajos.

c. Ensayo de poder de reducción/antioxidante férrico (FRAP)

El método VA mostró un poder reductor promedio significativamente mayor ($P < 0.05$), con un valor de $17.47 \pm 2.98 \text{ mg ET/g}$, en comparación con el método VU que obtuvo $4.71 \pm 0.79 \text{ mg ET/g}$. Además, no se presentaron diferencias significativas en el método de extracción por baño ultrasónico ($P > 0.05$); sin embargo, en los diferentes años el método de agitación obtuvo diferencias significativas ($P < 0.05$), siendo el año 2023 el que presentó los valores más altos de concentración de mg ET/g .

Los resultados obtenidos difieren con los reportados por Hernández et al. (2018), quienes registraron un rango de 32.0 a 1983.9 mg TEAC/g de propóleo en propóleos macerados durante 24h en etanol al 80%.

Este ensayo a diferencia de los ensayos de captación de RL mide el poder reductor total de una muestra, es decir, la capacidad de los compuestos presentes en la muestra para donar un electrón y reducir el complejo férrico (Huang et al., 2005). Es posible que los métodos de extracción hayan favorecido la extracción de compuestos en específico como de agentes reductores bastante favorables. Cualquier molécula con potencial redox bajo podría ser responsable de esta alta actividad en FRAP (Prior et al., 2005).

La evaluación de los EEP mostró una variabilidad en la composición bioactiva y la actividad antioxidante, que se ve influenciada tanto por el método de extracción (VA y VU) como por el año de recolección. A pesar de la falta de consistencia uniforme entre todas las pruebas, se identificaron patrones claros relacionados con la eficiencia de extracción y la respuesta fitoquímica ante factores ambientales.

Se observó un comportamiento diferencial en la eficiencia de los métodos. El método VA fue superior en la extracción de polifenoles totales (88.14 mg EAG/g promedio), mientras que el método VU resultó más eficiente para la extracción de flavonoides (47.90 mg ER/g promedio).

La mayor concentración de polifenoles totales y la superior actividad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) observada en los extractos obtenidos por agitación (VA) sugieren que el solvente (ET70%) y la matriz del propóleo estén en contacto un período más prolongado favorece la extracción de componentes bioactivos complejos que no suelen liberarse instantáneamente, como ciertos terpenoides, ácidos aromáticos y resinas. Además, al ser un método menos agresivo que el baño ultrasónico, se sugiere que la agitación constante protege a compuestos lábiles (como vitaminas o ciertos terpenoides) de la degradación mecánica (Šuran et al., 2021).

Por el contrario, la menor eficiencia del método de baño ultrasónico (VU) contrasta con la eficiencia reportada en matrices vegetales más simples, como el salvado de trigo (Wang et al., 2008). El propóleo, a diferencia de las fibras vegetales, posee una matriz compleja rica en ceras y resinas; esta estructura puede actuar como una barrera física que dificulta la penetración del solvente. Por consiguiente, es probable que el tiempo de extracción del método VU podría haber sido insuficiente para permear esta matriz o que la energía de cavitación indujo la degradación de los compuestos fenólicos lábiles.

Diferentes autores asocian la actividad antioxidante con el contenido de polifenoles totales (Bedascarrasbure et al., 2004); siendo más eficiente las muestras del método VA. Sin

embargo, la muestra VA3 presentó un comportamiento atípico, al mostrar la actividad FRAP más alta a pesar de tener el contenido de polifenoles más bajo dentro de su grupo. Este hallazgo concuerda con lo reportado por Hernández et al. (2018), quienes evidenciaron que una alta capacidad reductora no siempre depende de altos niveles de polifenoles. Se ha reportado que diversos compuestos no fenólicos poseen actividad antioxidante, responsables de la bioactividad, principalmente en propóleos no fenólicos como es el caso de algunos propóleos brasileños (Kasote et al., 2022); lo que sugiere que el extracto VA3 posee un perfil químico único, rico en agentes reductores no fenólicos. La capacidad reductora medida por el ensayo FRAP puede estar influenciada por moléculas con bajo potencial redox (Benzie & Strain, 1996), tales como terpenoides, vitaminas (como ácido ascórbico) o azúcares reductores (Moniruzzaman et al., 2012). Es probable que el método de extracción VA haya favorecido la solubilización de estos compuestos específicos, los cuales, en sinergia con los fenoles presentes, potenciaron la donación de electrones.

No obstante, la variabilidad interanual en todos los EEP fue notable, destacando la muestra VU4 que mostró un contenido de flavonoides muy alto. Este fenómeno podría explicarse por la respuesta adaptativa de la vegetación ante condiciones de estrés abiótico presentes en el año 2024. Factores como la precipitación, la temperatura, presencia de plagas y radiación solar, influyen de manera directa en el metabolismo secundario de las plantas, lo que tiene un efecto en la producción y composición química de las resinas que producen; estos factores ambientales son condiciones de estrés para la planta por lo que existe una mayor producción de fitoquímicos en las resinas como mecanismo de defensa (Pereira & Teixeira, 2009).

La especificidad del método VU para extraer estos compuestos sugiere que la resina de ese año era particularmente rica en un tipo de flavonoide que se libera eficientemente mediante ultrasonido. Por lo tanto, la variabilidad presente en los resultados de este estudio es característica intrínseca del propóleo. La composición del propóleo está fuertemente relacionada con las resinas vegetales que las abejas recolectan en campo que a su vez está vinculado a factores ambientales (Bankova et al., 2014). Por ende, la actividad de tipo antioxidante se difiere con este trabajo por la variabilidad existente de factores ambientales, principalmente el clima y la vegetación circundante de la zona.

Los resultados obtenidos en esta investigación validan que todos los EEP presentan concentraciones cuantificables de polifenoles totales y flavonoides, además de actividad antioxidante. Sin embargo, la eficiencia es variable; el método VU demostró ser más

consistente debido a que en las pruebas realizadas no presento diferencias estadísticamente significativa en los años ($P>0.05$), por lo tanto demostró ser más constante en comparación con el método VA que mostró valores y diferencias estadísticamente significativas entre los años ($P<0.05$) para los valores reportados en la actividad antioxidante; además, que el método VU reveló un probable potencial para la extracción de marcadores de estrés que se manifiestan en condiciones climáticas adversas como los flavonoides, de este modo los resultados indican que no existe un método de extracción superior, sino que la elección del método estaría fuertemente relacionado con el objetivo de investigación o el metabolito que se busque extraer.

v. Actividad antibacteriana

Se observó actividad antibacteriana únicamente contra las bacterias Gram (+) *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-976 y *Enterococcus faecalis* CDBB-B1533. Estos resultados coinciden con los de Portela-Márquez et al. (2022), quienes trabajaron con EEP del sur de Sonora, obtenidos mediante baño ultrasónico, reportaron un efecto inhibitorio contra bacterias Gram (+).

Los resultados reportados en este trabajo coinciden con los de Sanabria-Galindo et al., (2002) quienes utilizaron extracto etanólico de una muestra de propóleo comercial en Colombia contra las bacterias Gram (-): *E. coli*, *Salmonella typhi* y *Klebsiella pneumoniae*, y no observaron actividad de tipo antibacteriana. Además, coincide con lo reportado por Kujumgiev et al. (1999) quienes analizaron muestras de propóleo de diferentes regiones geográficas (zonas tropicales y templadas) contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, y, aunque todas las muestras analizadas mostraron actividad contra *S. aureus*, ninguna presentó actividad contra *E. coli*.

La mejor respuesta del propóleo hacia las bacterias Gram (+) puede deberse a las diferencias en la composición estructural de cada grupo de bacterias según menciona Madigan et al., (2003), ya que la pared celular en las bacterias Gram (-) está compuesta por una membrana externa adicional que la forman lipopolisacáridos, esta membrana funciona como una barrera de permeabilidad selectiva y eficiente hidrofílica, que dificulta el paso de los componentes bioactivos del propóleo, que en su mayoría son hidrofóbicos (flavonoides y ésteres fenólicos) (Madigan et al., 2021).

Mientras que las bacterias Gram (+) carecen de esta membrana externa, están compuestas por una gruesa capa de peptidoglicano expuesta directamente al medio, es mucho más

permeable, de este modo se facilita el acceso a los sitios diana en la membrana citoplasmática y el interior celular de los componentes bioactivos del propóleo (Dörr et al., 2019). Y esta podría ser la razón por la que los efectos del propóleo sobre cepas bacterianas están más estudiados en bacterias Gram (+), siendo el agente principal de estudio *Staphylococcus aureus*; en cambio las bacterias Gram (-) presentan menor inhibición, siendo *Escherichia coli* una de las principales bacterias de estudio para este grupo (Wagh, 2013).

Por otro lado, no se reportó diferencia estadísticamente significativa para *S. aureus* entre métodos de extracción, años y diluciones ($P > 0.05$) (Tabla 3.4). Mientras que en el caso de *Enterococcus faecalis* se mostró una diferencia estadísticamente significativa entre método de extracción en la concentración de EPP de 100% en el año 2024, donde se observa el método VU con mejor respuesta ($P < 0.05$).

Tabla 3.4 Actividad antibacteriana de EEP

MUESTRA	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA <i>Staphylococcus aureus</i> (diámetro de inhibición cm)				ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA <i>Enterococcus faecalis</i> (diámetro de inhibición cm)			
	CONCENTRACIÓN				CONCENTRACIÓN			
	100	50	25	12.5	100	50	25	12.5
VA2	2.2±0.3 ^a	1.9±0.3 ^a	2.1±0.4 ^a	1.7±0.2 ^a	1.3±0.2 ^a	1.2±0.2 ^a	1.2±0.2 ^a	1.1±0.2 ^a
VA3	2.0±0.5 ^{ab}	1.6±0.3 ^a	1.7±0.2 ^a	1.6±0.3 ^a	1.3±0.1 ^a	1.30.2 ^a	1.3±0.1 ^a	1.2±0.0 ^a
VA4	1.8±0.4 ^{ab}	1.6±0.4 ^a	1.7±0.4 ^a	1.6±0.3 ^a	1.5±0.1 ^a	1.5±0.2 ^a	1.5±0.1 ^a	1.3±0.0 ^a
VU2	1.4±0.2 ^{ab}	1.6±0.3 ^a	1.5±0.3 ^a	1.3±0.1 ^a	1.6±0.2 ^a	1.5±0.0 ^a	1.4±0.1 ^a	1.3±0.1 ^a
VU3	1.5±0.2 ^{ab}	1.4±0.1 ^a	1.3±0.1 ^a	1.3±0.1 ^a	1.6±0.1 ^a	1.4±0.1 ^a	1.4±0.3 ^a	1.3±0.1 ^a
VU4	1.4±0.1 ^b	1.4±0.2 ^a	1.3±0.0 ^a	1.4±0.0 ^a	1.2±0.0 ^a	1.3±0.2 ^a	1.3±0.1 ^a	1.1±0.1 ^a

Media ± DE. a-b Diferentes literales por columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Los halos de inhibición del crecimiento de *S. aureus* y *E. faecalis* que se observó en todos los EEP es un hallazgo que se puede relacionar a la composición fitoquímica esperada para los propóleos de la región del Altiplano. De acuerdo a la clasificación de Granados & Pérez (2020), esta región normalmente produce propóleos del tipo "álamo", el cual se especifica que la fuente botánica para este tipo de propóleo son las resinas de árboles *Populus aigeiros* (álamos) y sus híbridos; cuya actividad antibacteriana se puede atribuir a un perfil rico en flavonoides como por ejemplo la pinocembrina, la galangina y la crisina, así como también ésteres de ácidos fenólicos como el éster fenético del ácido cafeico por mencionar algunos, la posible presencia de tales componentes bioactivos en los propóleos de

Querétaro puede relacionarse con la actividad antibacteriana obtenida ya que estos componentes son conocidos por su capacidad para dañar la membrana celular bacteriana (Rivero-Cruz et al., 2020).

Es importante reconocer que la eficacia de la actividad antibacteriana de los EEP se debe a la compleja interacción sinérgica entre la variedad de componentes que poseen los EEP analizados. (Fernandes et al., 2005). Además, existen estudios mexicanos que han demostrado que la variabilidad biológica que poseen los propóleos puede estar relacionada a las diferentes concentraciones de los mismos compuestos bioactivos (Rodríguez, et al., 2020).

8. CONCLUSIONES

Con relación al análisis de las características físicas, el uso de propóleos cosechados en distintos años no influye en la percepción de los parámetros sensoriales. Es por esto, que puede ser una excelente área de oportunidad que beneficia a productores o transformadores de productos de la colmena, ya que permitiría elaborar productos que mantengan el mismo perfil sensorial con propóleos cosechados en diferentes años cosechados en la misma época.

Por otra parte, la metodología de extracción y el año de cosecha influyen de manera directa en la capacidad antioxidante de los extractos de propóleo, validando así la hipótesis de esta investigación respecto a las características químicas. Mientras que el método de baño ultrasónico demostró ser mejor elección para una mayor extracción de flavonoides, el método de agitación por 72 h resultó en una mayor extracción de compuestos polifenólicos en comparación con el baño ultrasónico por 20 min, sugiriendo que la energía ultrasónica tal vez pudo haber inducido la degradación de ciertos componentes sensibles o tal vez se requeriría más potencia y/o tiempo para la extracción de estos compuestos.

Este alto contenido fenólico se ve respaldado por el corto tiempo de índice de oxidación reportado en todos los EEP, lo cual indica la calidad de la materia prima y abre un área de oportunidad para los productores apícolas del estado de Querétaro.

Asimismo, la variación en la respuesta de los ensayos que miden la actividad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) evidencia la naturaleza multifacética de la actividad biológica del propóleo; esto demuestra que la eficacia del extracto dependerá del mecanismo de acción antioxidante evaluado, más que la selectividad hacia un compuesto en específico.

Finalmente, todos los EEP demostraron poseer actividad antibacteriana contra bacterias Gram (+) independientemente del método de extracción. Sin embargo, la selección del método es un factor crítico por considerar en función de la actividad biológica deseada, ya que la composición química y la actividad biológica del propóleo están fuertemente ligadas a factores ambientales que varían anualmente, como la flora disponible y las condiciones climáticas.

9. REFERENCIAS

- Aboulghazi, A., Bakour, M., Fadil, M., & Lyoussi, B. (2022). *Simultaneous optimization of extraction yield, phenolic compounds and antioxidant activity of Moroccan propolis extracts: Improvement of ultrasound-assisted technique using response surface methodology. Processes, 10(2)*, 297. <https://doi.org/10.3390/pr10020297>
- Alencar, S. M., Oldoni, T. L. C., Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A., Rosalen, P. L., & Ikegaki, M. (2007). *Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. Journal of Ethnopharmacology, 113(2)*, 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.005>
- Alcivar-Saldaña, J. J., Rodríguez-Monroy, M. A., Carrillo-Miranda, L., & Canales-Martínez, M. M. (2024). *Botanical origin and biological properties of honey and propolis from Cuautitlan, State of Mexico, Mexico. Antioxidants, 13(7)*, 874. <https://doi.org/10.3390/antiox13070874>
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M. A., Tahir, M., Ansari, M. J., Ghramh, H. A., Adgaba, N., & Dash, C. K. (2019). *Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(7)*, 1695–1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- Asis, M. (1989). *Propóleo. El oro púrpura de las abejas*. Ed. CIDA.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). *Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección [Free radicals, natural antioxidants and protection mechanisms]*. Atenea, 494, 161–172.
- Bankova, V., Christov, R., Popov, S., Marcucci, M. C., Tsvetkova, I., & Kujumgiev, A. (1999). *Antibacterial activity of essential oils from Brazilian propolis. Fitoterapia, 70(2)*, 190–193. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(98\)00045-8](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(98)00045-8)
- Bankova, V., Christov, R., Stoev, G., & Popov, S. (1992a). *Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography. Journal of Chromatography A, 607(1)*, 150–153. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)87067-1](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)87067-1)

- Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S., Evstatieva, L., Kuleva, L., Pureb, O., & Zamjansan, Z. (1992b). *Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: Phenolic compounds and plant origin*. *Apidologie*, 23(1), 79–85. <https://doi.org/10.1051/apido:19920109>
- Bankova, V., & Marcucci, M. C. (2000). *Standardization of propolis: Present status and perspectives*. *Bee World*, 81(4), 182–188.
- Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B., Ghisalberty, E. L., Mohdaly, A. A. A., & Mahmoud, A. A. (2014). *Volatile constituents of propolis from honey bees and stingless bees from Yucatán*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(36), 9069–9075. <https://doi.org/10.1021/jf502237t>
- Bava, R., Castagna, F., Lupia, C., Poerio, G., Liguori, G., Lombardi, R., Naturale, M. D., Bulotta, R. M., Biondi, V., Passantino, A., Britti, D., Statti, G., & Palma, E. (2024). *Hive products: Composition, pharmacological properties, and therapeutic applications*. *Pharmaceuticals*, 17(5), 646. <https://doi.org/10.3390/ph17050646>
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Alvarez, A., & Rodríguez, E. (2004). *Contenido de fenoles y flavonoides del propóleos argentino [Content of phenols and flavonoids in Argentine propolis]*. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23(3), 369–372.
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Fierro Morales, W., & Álvarez, A. (2006). *Propóleos: caracterización y normalización de propóleos argentinos. Revisión y actualización de composición y propiedades*. Ediciones Magna.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay*. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

- Campo, F., M. (2008). *Estudio químico de propóleos rojos cubanos [Chemical study of Cuban red propolis]*. Repositorio de Tesis de la Red de Salud de Cuba. <http://tesis.repo.sld.cu/219/>
- Castaldo, S., & Capasso, F. (2002). *Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia*, 73(Suppl. 1), S1–S6. [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(02\)00185-5](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(02)00185-5)
- Coba, P., Mayacu, T. L., & Vidari, G. (2010). *Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de los extractos en etanol del género Oryctanthus [Importance of antioxidant activity and evaluation of ethanol extracts of the genus Oryctanthus]*. *La Granja*, 11(1), 22–30.
- Cruz S., T., Rodríguez P., B., Canales-Martínez, M., Penieres C., G., Martínez P., de A., L. R., García T., R., Carrillo M., L., Esquivel N., E., Medellín P., R., & Vázquez C., R. D. (2025). *Beneficios económicos de la producción de propóleo*. BM Editores. <https://bmeditores.mx/entorno-pecuario/beneficios-economicos-de-la-produccion-de-propoleo/>
- Delgado A., M. L., Andrade O., J. Á., & Ramírez B., C. A. (2015). *Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco [Physicochemical characterization of propolis collected in the La Primavera Forest, Zapopan, Jalisco]*. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6(28), 74–87.
- De Oliveira, M. S., Cruz, J. N., Ferreira, O. O., Pereira, D. S., Pereira, N. S., Oliveira, M. E. C., Venturieri, G. C., Guilhon, G. M. S. P., Souza Filho, A. P. d. S., & Andrade, E. H. d. A. (2021). *Chemical composition of volatile compounds in Apis mellifera propolis from the northeast region of Pará State, Brazil. Molecules*, 26(11), 3462. <https://doi.org/10.3390/molecules26113462>
- Dörr, T., Moynihan, P. J., & Mayer, C. (2019). *Editorial: Bacterial cell wall structure and dynamics. Frontiers in Microbiology*, 10, 2051. <https://doi.org/10.3390/antiox9010070>
- Dumitrescu, E., Harfas, C., Kraunovic, M. C., Orășan-Alic, A. S., Moruzi, R. F., Mohamed, E., Doma, A. O., Muselin, F., & Cristina, R. T. (2021). *The antimicrobial activity of a propolis extract. Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug*, 15(2), 90–104.

- Erkoç, Ş., Erkoç, F., & Keskin, N. (2003). *Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers*. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 631(1-3), 141–146. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(03\)00155-2](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(03)00155-2)
- Fernandes J., A., Balestrin, E. C., Betoni, J. E., Orsi, R.de O., da Cunha, M.deL., & Montelli, A. C. (2005). *Propolis: anti-Staphylococcus aureus activity and synergism with antimicrobial drugs*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(5), 563–566. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762005000500018>
- Galdo, F., A. (2005). *Prodigio de las abejas: El propóleos y la jalea real*. *Salud Vida. Lo Natural y Tradicional*. <http://www.sld.cu/saludvida/naturaltradicional/temas.php?idv=13094>
- Galina H., M. Á., Ortiz Rubio, M., & Guerrero Cruz, M. (2018). *Estrés oxidativo y antioxidantes [Oxidative stress and antioxidants]*. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 22(1), 47–61.
- Granados P., J., & Pérez R., J. M. (2020). *Advances in chemical composition and biological activity of Mexican propolis*. *LOJ Pharmacy & Clinical Research*, 2(3), 000137. <https://doi.org/10.32474/LOJPCR.2020.02.000137>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis (3rd ed.)*. Chapman & Hall.
- Hernández Z., M. S., Abraham J., M. R., Cerón G., A., Ozuna L., C., Gutiérrez C., A. J., Segoviano G., J. J. N., & Avila R., F. (2018). *Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico*. *Food Science and Technology*, 38(2), 210–215. <https://doi.org/10.1590/fst.29916>
- Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L. (2014). *Recent advances in the chemical composition of propolis*. *Molecules*, 19(12), 19610–19632. <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
- Jovanovic, S. V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., & Simic, M. G. (1994). *Flavonoids as antioxidants*. *Journal of the American Chemical Society*, 116(11), 4846–4851. <https://doi.org/10.1021/ja00090a032>

- Kasote, D., Bankova, V., & Viljoen, A. M. (2022). *Propolis: Chemical diversity and challenges in quality control. Phytochemistry Reviews*, 21(6), 1887–1911. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09816-1>
- Kroon, P. A., & Williamson, G. (1999). *Hydroxycinnamates in plants and food: Current and future perspectives. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 355–361. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(19990301\)79:3<355::AID-JSFA255>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(19990301)79:3<355::AID-JSFA255>3.0.CO;2-G)
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., & Popov, S. (1999). *Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), 235–240. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00131-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00131-7)
- Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., & Krol, W. (2013). *Historical aspects of propolis research in modern times. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 964149. <https://doi.org/10.1155/2013/964149>
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (1995). *Principios de bioquímica [Principles of biochemistry]* (2nd ed.). Ediciones Omega.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2003). *Brock biology of microorganisms (10th ed.)*. Prentice Hall.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock biology of microorganisms (16th ed.)*. Pearson.
- Marquele-Oliveira, F., Barud, H. S., Torres, E. C., Machado, R. T. A., Caetano, G. F., Leite, M. N., Frade, M. A. C., Ribeiro, S. J. L., & Berretta, A. A. (2019). *Development, characterization and pre-clinical trials of an innovative wound healing dressing based on propolis (EPP-AF®)-containing self-microemulsifying formulation incorporated in biocellulose membranes. International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 570–578. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.135>

- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes [Flavonoids: Properties and antioxidant actions]*. *Nutrición Hospitalaria*, 17(6), 271–278.
- Martínez-Rojas, P. S., Olvas-Calderón, H. E., Pedroza-Escobar, D., Avalos-Soto, J., García-Lujan, C., Hernandez-González, S. I., Castillo-Maldonado, I., & Téllez-López, M. Á. (2024). *Evaluación in vitro de la actividad cicatrizante y antioxidante del extracto etanólico de propóleo: El propóleo y su capacidad cicatrizante [In vitro evaluation of the healing and antioxidant activity of the ethanolic extract of propolis: Propolis and its healing capacity]*. *Revista Bio Ciencias*, 11, e1645. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1645>
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., & Calder, P. C. (1997). *Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effects on growth, membrane potential and motility of bacteria*. *Microbiological Research*, 152(3), 239–246. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(97\)80031-1](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(97)80031-1)
- Moguel O., Y., Ramírez A., E., Medina C., M., González C., J., & Betancur A., D. (2023). *Características físicas, químicas y actividad antioxidante de propóleos de meliponinos recolectados en México [Physical, chemical characteristics and antioxidant activity of meliponine propolis collected in Mexico]*. En *Memorias, Congreso Internacional de Actualización Apícola* (pp. 147–152).
- Moniruzzaman, M., Khalil, M. I., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2012). *Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by Apis cerana, Apis dorsata and Apis mellifera*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 1-12.
- Nam, J. B., Oh, G. H., Yang, S. M., Lee, S.-E., & Kang, S.-G. (2018). *Evaluation of antioxidant activities of water extract from microwave torrefied oak wood*. *Journal of the Korean Wood Science and Technology*, 46(2), 178–188. <https://doi.org/10.5658/WOOD.2018.46.2.178>
- Osés, S. M., Fernández-Muiño, M. A., Rodríguez-Fernández, A., Sancho, M. T., Lázaro, R., & Bayarri, S. (2024). *Phenolic composition, antiradical, antimicrobial, and anti-inflammatory*

activities of propolis extracts from North East Spain. Journal of Medicinal Food.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2023.0206>

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).* Vitae, 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, 2017, Artículo 1259510.
<https://doi.org/10.1155/2017/1259510>

Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). *Phenolic compounds in food.* Revista Boliviana de Química, 31(2), 68–81.

Pereira, G. C. O. R., Barchuk, A. R., & Teixeira, I. R. do V. (2009). *Environmental factors influencing propolis production by the honey bee Apis mellifera in Minas Gerais State, Brazil.* Journal of Apicultural Research, 48(3), 176–180. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.3.05>

Pietta, P. G., Gardana, C., & Pietta, A. M. (2002). *Analytical methods for quality control of propolis.* Fitoterapia, 73(Suppl. 1), S7–S20. [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(02\)00186-7](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(02)00186-7)

Portela-Márquez, M. A., Ruiz C., S., Morán-Palacio, E. F., Chaidez-Quiroz, C., & Silva-Beltrán, N. P. (2022). *Composición fenólica, actividad antihemolítica, antiinflamatoria y antibacteriana de propóleos del sur de Sonora.* Biotecnia, 24(3), 77–86.
<https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i3.1746>

Ramírez-Navas, J. S. (2012). *Análisis Sensorial: Pruebas orientadas al consumidor.* Universidad del Valle.

Rathor, N., & Singh, R. (2021). *Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases.* International Journal of Physiology Nutrition and Physical Education, 6(1), 293–301. <https://doi.org/10.22271/journalofsport.2021.v6.i1e.2236>

- Rivero-Cruz, J. F., Granados-Pineda, J., Pedraza-Chaverri, J., Pérez-Rojas, J. M., Kumar-Passari, A., Diaz-Ruiz, G., & Rivero-Cruz, B. E. (2020). *Phytochemical constituents, antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activities of the ethanolic extract of Mexican brown propolis*. *Antioxidants*, 9(1), 70. <https://doi.org/10.3390/antiox9010070>
- Rodríguez P., B., Canales M., M. M., Penieres C., J. G., & Cruz S., T. A. (2020). *Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos* [Chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of Mexican propolis]. *Acta Universitaria*, 30, e2435. <https://doi.org/10.15174/au.2020.2435>
- Rojas, M., F. S. (2021). *Revisión bibliográfica de compuestos fenólicos, su efecto en la salud, métodos de encapsulación y digestión simulada in vitro* [Memoria de pregrado, Universidad de Chile]. Repositorio Académico de la Universidad de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/181156>
- Russo, A., Cardile, V., Sanchez, F., Troncoso, N., Vanella, A., & Garbarino, J. A. (2004). *Chilean propolis: Antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines*. *Life Sciences*, 76(5), 545–558. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.07.019>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2010). *Situación actual y perspectiva de la apicultura en México*. *Revista Claridades Agropecuarias*, 199, 3-34.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2024). *Producción de miel en México* [Honey production in Mexico]. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/produccion-de-miel-en-mexico>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). *NORMA Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento*. *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5500103

- Salamanca, G. (2017). *Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo [Origin, nature, physicochemical properties and therapeutic value of propolis]*. Sello Editorial Universidad del Tolima.
- Salatino, A., Teixeira, É. W., Negri, G., & Message, D. (2005). *Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 33–38.
- Samara-Ortega, N., Benitez-Campo, N., & Cabezas-Fajardo, F. A. (2011). *Actividad antibacteriana y composición cualitativa de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del departamento del Cauca [Antibacterial activity and qualitative composition of propolis from two climatic zones of the department of Cauca]*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(1), 8–16.
- Sanabria-Galindo, A., Cárdenas, L. A., & Parroquiano, M. L. (2002). *Actividad antimicrobiana y examen fitoquímico preliminar de siete angiospermas y una muestra de propóleo [Antimicrobial activity and preliminary phytochemical examination of seven angiosperms and a propolis sample]*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 31(1), 35–40.
- Sánchez, E., Rivas-Morales, C., Castillo, S., Leos-Rivas, C., García-Becerra, L., & Ortiz-Martínez, D. M. (2016). *Antibacterial and antibiofilm activity of methanolic plant extracts against nosocomial microorganisms. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 1572697. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1572697>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). *Anuario Estadístico de la Producción Ganadera 2022*. Gobierno de México. https://nube.siap.gob.mx/anuario_ganadero/
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024a). *Atlas Nacional de las Abejas y Derivados Apícolas. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Gobierno de México*. <https://www.gob.mx/siap/documentos/atlas-nacional-de-las-abejas-y-derivados-apicolas>

- Silva, J. C., Rodrigues, S., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2012). *Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1790–1795. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.097>
- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). *Propolis: A complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 206439. <https://doi.org/10.1155/2015/206439>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Šuran, J., Cepanec, I., Mašek, T., Radić, B., Radić, S., Tlak Gajger, I., & Vlainić, J. (2021). *Propolis Extract and Its Bioactive Compounds-From Traditional to Modern Extraction Technologies. Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(10), 2930. <https://doi.org/10.3390/molecules26102930>
- Uzel, A., Sorkun, K., Onçağ, O., Çoğulu, D., Gençay, Ö., & Salih, B. (2005). *Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiological Research*, 160(2), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.01.002>
- Vargas-Sánchez, R. D., Torrescano-Urrutia, G. R., Mendoza-Wilson, A. M., Vallejo-Galland, B., Acedo-Félix, E., Sánchez-Escalante, J. J., Peñalba-Garmendia, M. C., & Sánchez-Escalante, A. (2014). *Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante y antibacteriana del propóleos [Mechanisms involved in the antioxidant and antibacterial activity of propolis]. Biotecnia*, 16(2), 32–37.
- Venereo, G., J. R. (2002). *Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes [Oxidative damage, free radicals and antioxidants]. Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126–133.
- Wagh, V. D. (2013). *Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. Advances in Pharmacological Sciences*, 2013, 308249. <https://doi.org/10.1155/2013/308249>

- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). *Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran*. *Food Chemistry*, 106(2), 804–810. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062>
- Watts, B., Ylimaki, G., Jeffery, L., & Elías, L. (1995). *Métodos Sensoriales básicos para la Evaluación de Alimentos*. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomás-Barberán, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004). *Flavonoids in food and their health benefits*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(3), 113–122. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-2588-x>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals*. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

10. ANEXOS

i. Anexo 1. Formato consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto de investigación: “Análisis comparativo de especificaciones físico-químicas de extractos etanólicos de propóleo de *Apis mellifera* L. de los años 2022, 2023 y 2024 obtenidos por dos metodologías de extracción; proveniente del campus Amazcala, UAQ”

Director de Tesis: MVZ Carlos Alberto Robles Ríos y Dra. Karla Itzel Alcalá Escamilla

Tesista: Ana Valeria Medina Vega

Institución: Universidad Autónoma de Querétaro

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO

Yo, _____ identificado/a como participante voluntario número _____, declaro que:

1. Entiendo que los datos recopilados podrán ser analizados y presentados en publicaciones académicas, garantizando la confidencialidad y anonimato de los participantes, salvo que se acuerde lo contrario.
2. Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo solicitar la exclusión de mis datos en cualquier momento sin consecuencias adversas.
3. Autorizo el uso de la información proporcionada para los fines antes mencionados con la seguridad de que será tratada de acuerdo con las normativas éticas y de protección de datos vigentes.

FIRMAS

Nombre del participante: _____

Edad: _____

Fecha: _____

Firma: _____

Nombre del tesista: Ana Valeria Medina Vega

Firma: _____

Lugar: Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro/CENID FyMA

ii. Anexo 2. Formato de evaluación sensorial

EVALUACIÓN SENSORIAL DEL PROPÓLEO

Frente a usted se presenta una muestra de propóleo (medio gramo), por favor, observe, califique y pruebe la muestra. Indique el grado en que le gusta o le disgusta cada atributo, de acuerdo al puntaje/categoría, escribiendo el número en la línea de "PxC". De manera adicional, se le solicita marque con una "X" la clasificación que mejor describa el parámetro evaluado. Para la determinación del color se le facilitará la carta RAL de colores para que anote la referencia más cercana.

Puntaje	Categoría
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta
3	Ni me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

<p>¿Conocía "físicamente" el propóleo?</p>
<p>¿De manera previa ha tenido contacto o consumido productos con propóleo? ¿cuales?</p>

Para calificar el sabor mastique la muestra por un periodo de 30 a 60 seg. Posterior al proceso de masticado calificar. (Se recomienda no tragarlo)

Picante tipo especia


Amargo como café sin endulzar

Parámetro	PxC	Clasificación	
Color			
Aroma		Madera (resinoso)	
		Cera (balsámico)	
Consistencia		Muy maleable	Poco rígida
		Maleable	Rígida
Sabor		Dulce	Picante
		Amargo	Insípido

Comentarios:

iii. Anexo 3. Tabla de colores RAL

Tabla de colores RAL

RAL 1000		RAL 4007		RAL 7008	
RAL 1001		RAL 4008		RAL 7009	
RAL 1002		RAL 4009		RAL 7010	
RAL 1003		RAL 5000		RAL 7011	
RAL 1004		RAL 5001		RAL 7012	
RAL 1005		RAL 5002		RAL 7013	
RAL 1006		RAL 5003		RAL 7015	
RAL 1007		RAL 5004		RAL 7016	
RAL 1011		RAL 5005		RAL 7021	
RAL 1012		RAL 5007		RAL 7022	
RAL 1013		RAL 5008		RAL 7023	
RAL 1014		RAL 5009		RAL 7024	
RAL 1015		RAL 5010		RAL 7026	
RAL 1016		RAL 5011		RAL 7030	
RAL 1017		RAL 5012		RAL 7031	
RAL 1018		RAL 5013		RAL 7032	
RAL 1019		RAL 5014		RAL 7033	
RAL 1020		RAL 5015		RAL 7034	
RAL 1021		RAL 5017		RAL 7035	
RAL 1023		RAL 5018		RAL 7036	
RAL 1024		RAL 5019		RAL 7037	
RAL 1027		RAL 5020		RAL 7038	
RAL 1028		RAL 5021		RAL 7039	
RAL 1032		RAL 5022		RAL 7040	
RAL 1033		RAL 5024		RAL 7042	
RAL 1034		RAL 6000		RAL 7043	
RAL 2000		RAL 6001		RAL 7044	
RAL 2001		RAL 6002		RAL 7045	
RAL 2002		RAL 6003		RAL 7046	
RAL 2003		RAL 6004		RAL 7047	
RAL 2004		RAL 6005		RAL 8000	
RAL 2008		RAL 6006		RAL 8001	
RAL 2009		RAL 6007		RAL 8002	

RAL 2010		RAL 6008		RAL 8003	
RAL 2011		RAL 6009		RAL 8004	
RAL 2012		RAL 6010		RAL 8007	
RAL 3000		RAL 6011		RAL 8008	
RAL 3001		RAL 6012		RAL 8011	
RAL 3002		RAL 6013		RAL 8012	
RAL 3003		RAL 6014		RAL 8014	
RAL 3004		RAL 6015		RAL 8015	
RAL 3005		RAL 6016		RAL 8016	
RAL 3007		RAL 6017		RAL 8017	
RAL 3009		RAL 6018		RAL 8019	
RAL 3011		RAL 6019		RAL 8022	
RAL 3012		RAL 6020		RAL 8023	
RAL 3013		RAL 6021		RAL 8024	
RAL 3014		RAL 6022		RAL 8025	
RAL 3015		RAL 6024		RAL 8028	
RAL 3016		RAL 6025		RAL 9001	
RAL 3017		RAL 6026		RAL 9002	
RAL 3018		RAL 6027		RAL 9003	
RAL 3020		RAL 6028		RAL 9004	
RAL 3022		RAL 6029		RAL 9005	
RAL 3027		RAL 6032		RAL 9006	
RAL 3031		RAL 7000		RAL 9007	
RAL 4001		RAL 7001		RAL 9010	
RAL 4002		RAL 7002		RAL 9011	
RAL 4003		RAL 7003		RAL 9016	
RAL 4004		RAL 7004		RAL 9017	
RAL 4005		RAL 7005		RAL 9018	
RAL 4006		RAL 7006			