



Agroindustrial Science

Agroind Sci 6 (2), 2016

Escuela de Ingeniería
Agroindustrial

Universidad Nacional de Trujillo

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Aplicación del propóleo en envasado activo

Propoli's application on active packaging

Rogger Rebaza^a; Laura Amaya^a; Anghela Gutiérrez^a; Ronald Haro^a; Marlon Tumbajulca^a; Flor Valera^a; Yordin Vargas^a; Gabriela Barraza-Jauregui^{a, b}; Jackeline M. León Vargas^c; Jesús A. Sánchez-González^{a, *}

a. Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Trujillo) Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

b. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú.

c. Facultad de Ingeniería, Universidad Privada del Norte, Mz. G Lote 24 Urb. Dean Saavedra – Trujillo, Perú.

*Autor para correspondencia: jsanchezg@unitru.edu.pe (J.A. Sánchez-González).

Recibido 03 Noviembre 2016; Aceptado 30 Diciembre 2016.

RESUMEN

Las investigaciones relacionadas con el envasado activo están encaminados hacia la caracterización de nuevas películas basadas en hidrocoloides de fuentes no convencionales y la adición de agentes que proporcionen funcionalidad al envase. A los propóleos se les atribuyen diferentes propiedades biológicas, tales como: antitumorales, antiprotozoarias, antivirales, antioxidantes, antiinflamatorias, antibacteriales y antifúngicas; en particular, se ha encontrado que esta sustancia inhibe el desarrollo de patógenos de poscosecha como *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum*. El efecto de la incorporación de propóleo en propiedades funcionales de películas de quitosano, dentro de las propiedades estudiadas se determinó que la adición de propóleo redujo la permeabilidad de vapor de agua en las películas. Por otro lado, la incorporación de propóleo en películas a base de hidroxipropilmetilcelulosa, dieron lugar a una ligera disminución en la densidad y el pH. Respecto a las propiedades mecánicas, las películas de propóleo mostraron mayor alargamiento a la rotura (%) y los valores más bajos de resistencia a la tracción y módulos elásticos. El estudio permitió demostrar el efecto antibacteriano de ambos extractos de propóleo (los extractos etanólicos de propóleo fueron más efectivos que los extractos acuosos), además de que la actividad antibacteriana depende del lugar del que se extrae el propóleo y de la resistencia de estos microorganismos, siendo que las bacterias Gram-positivas son más susceptibles que las bacterias Gram-negativas. Las películas que contienen propóleos mostraron una notable actividad antifúngica contra los hongos ensayados, que fue más intensa frente a *A. niger* contra *Penicillium specie* y componentes del propóleo tales como la rutina, quercetina y naringenina fueron los principales compuestos fenólicos del propóleo por lo que a la vez fueron los principales contribuyentes a la actividad antioxidante.

Palabras clave: Envase activo, propóleo, propiedades mecánicas, antibacterial, antifúngico, antioxidante.

ABSTRACT

The researches related to active packaging are directed towards the characterization of new films based on hydrocolloids from unconventional sources and the addition of agents to provide functionality to the package. A propolis are attributed different biological properties such as: anti-tumor, antiprotozoal, antiviral, antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial and antifungal; in particular, it has been found that this substance inhibits the development of postharvest pathogens such as *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. The effect of incorporating propolis into functional properties of chitosan films within the properties studied determined that the addition of propolis reduced the permeability of water vapor in the movies. Otherwise propolis addition in films to hydroxypropyl methylcellulose base, gave in a slight decrease in the density and pH. Regarding the mechanical properties, the films of propolis showed higher elongation at break (%) and the lowest values of tensile strength and elastic moduli. The study allowed demonstrating the antibacterial effect of both extracts of propolis (ethanolic extracts of propolis were more effective than the aqueous extracts), in addition to the antibacterial activity it depends on the place that propolis is extracted and resistance of these microorganisms, It is that the Gram-positive bacteria are more susceptible than Gram-negative bacteria. Ls films containing propolis showed remarkable antifungal activity against fungi tested, which was stronger against *A. niger* against *Penicillium specie* and components of propolis such as rutin, quercetin and naringenin were the major phenolic compounds of propolis so to both were the main contributors to antioxidant activity.

Keywords: Active packaging, propolis, mechanical properties, antibacterial, antifungal, antioxidant.

1. Introducción

Las tecnologías emergentes en materia de conservación de alimentos, se han convertido en el centro de atención de gran parte de la industria alimentaria (Rodríguez-Sauceda *et al.*, 2014). Actualmente los envases presentan un rol muy importante en la conservación, protección y comercialización de los alimentos (Martínez-Tenorio y López-Malo, 2011). Debido a eso se han desarrollado nuevas tecnologías para poder cubrir ciertas funciones que antes no se consideraban como parte de un envase, un ejemplo de estos son los envases activos, los cuales son capaces de tener una serie de interacciones con el producto extendiendo la vida de anaquel, manteniendo su calidad y mejorando la seguridad y atributos sensoriales (Rodríguez-Sauceda *et al.*, 2014). Este tipo de envase se puede aplicar para distintos tipos de alimentos tanto como lácteos, cárnicos y productos de panificación (Ozdemir y Floros, 2010). El concepto de envases activos empezó con el cambio de las funciones de protección al pasar de envases pasivos a activos (Sun-Lee y Poergiovanni, 2008). Anteriormente los materiales de los envases primarios eran considerados como pasivos, refiriéndose a que su función solo se limitaba a la protección contra el oxígeno y humedad a través de una barrera inerte, según Coles *et al.* (2003) diversos materiales han sido desarrollados para poder tener una serie de interacciones con el producto. Por otro lado, los estudios relacionados con el envasado activo están encaminados hacia la caracterización de nuevas películas basadas en hidrocoloides de fuentes no convencionales y hacia la determinación de la capacidad que éstas poseen para liberar compuestos con funciones preestablecidas (Cha y Chinnan, 2004; Weber *et al.*, 2008; Tharanathan, 2008; López-Rubio *et al.*, 2006). Asimismo, deben evaluarse las interacciones y la estabilidad que puedan ofrecer dichas matrices. Un agente que podría ser utilizado para el biocontrol de enfermedades de frutas y hortalizas durante el manejo poscosecha es el propóleo (Bankova *et al.*, 2006).

Esta sustancia de origen natural elaborada por las abejas melíferas (*Apis mellifera*) a partir de los exudados de las cortezas y diversos tejidos de las plantas (Barrera *et al.*,

2012), está constituida por una gran variedad de compuestos químicos como los fenólicos, flavonoides, etc. (Mouhoubi-Tafinine *et al.* 2016; Fawole *et al.*, 2009), que son conocidos por actuar como antioxidantes primarios o terminadores de radicales libres es decir actúan como agentes inhibidores de los iones metálicos que los alimentos poseen (Cottica *et al.*, 2011; Gülçin *et al.*, 2010), su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia (Farré *et al.*, 2007). Comúnmente es utilizado al interior de la colmena para controlar el crecimiento de bacterias, hongos microorganismos, generando un ambiente aséptico (Barrera *et al.*, 2012) En general, el propóleo está compuesto de resinas (Kumazawa *et al.*, 2004) como también de bálsamos (50%), ceras (30%), aceites esenciales y aromáticos (10%), polen (5%) y un 5% de otras sustancias (Barrera *et al.*, 2012). A los propóleos se les atribuyen diferentes propiedades biológicas, tales como: antitumorales, antiprotozoarias, antivirales, antioxidantes, antiinflamatorias, antibacteriales y antifúngicas (Santos *et al.*, 2006); en particular, se ha encontrado que esta sustancia inhibe el desarrollo de patógenos de poscosecha como *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* (Tripathi y Dubey, 2010). Una de las propiedades más importantes del propóleo es su actividad antibacteriana, la cual se le atribuye fundamentalmente a los flavonoides (Mahmoud, 2006). Según Moreno *et al.* (2007), el propóleo presenta actividad antibacteriana frente a numerosos microorganismos tales como la *Bacillus larvae*, *B. subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces sobrinus*, *S. mutans*, *S. cricetus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Bacteroides nodosus*, *Klebsiella pneumoniae*, incluso algunos resistentes a los antibióticos. Sin embargo, no todos los propóleos son iguales, algunos investigadores explican que la variación de capacidad antioxidante de propóleos depende de los diferentes lugares geográficos en el mundo de los que se obtiene (Kumazawa *et al.*, 2004) así como de su composición química, estación climática, método de extracción, etc. (Vargas-Sánchez *et al.*, 2013). Esto queda demostrado en la

investigación de Kumazawa *et al.* (2004) cuando preparó extracto etanólico de propóleos (EEP) de diferentes lugares del planeta y se evaluaron para determinar la actividad antioxidante de muestras de extracto etanólico de propóleo.

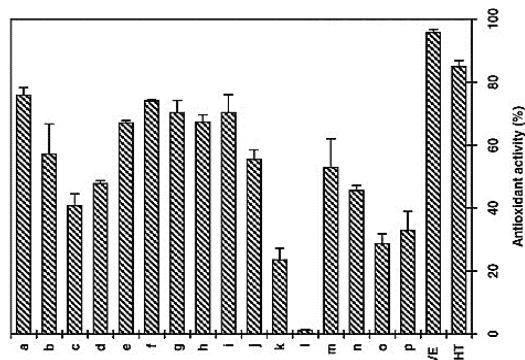


Figura 1. Actividad antioxidante de propóleo de diversos orígenes geográficos (Kumazawa *et al.*, 2004).

La actividad antioxidante de propóleo de diversos orígenes geográficos, según la figura 1, mediante el sistema de ácido β -caroteno-linoleico. Donde a=Argentina, b=Australia, c=Brasil, d=Bulgaria, e=Chile, China (f=Hebei, g=Hubei y h=Zhejiang), i= Hungría, j=Nueva Zelanda, k=Sudáfrica, l= Tailandia, m=Ucrania, n=Uruguay, o=Estados Unidos, y p=Uzbekistán α -tocoferol (VE); hidroxitolueno butilado (BHT). Cada muestra de se utilizó para el ensayo a la concentración final de 10 mg / ml. VE y BHT se utilizó a la concentración final de 1 mg / ml. Las medidas se llevaron a cabo por triplicado.

El contenido de polifenoles y flavonoides en propóleos es un parámetro importante que establece tanto la calidad del material como su potencial biológico (Palomino *et al.*, 2009), en especial para la actividad antioxidante (Álvarez-Suárez *et al.*, 2013).

Como se observa en la figura 1 y en la tabla 1 se ha encontrado una alta correlación entre el contenido de flavonoides totales y la capacidad antioxidante (Kumazawa *et al.*, 2004) de la misma manera se comprobó esta correlación en extractos etanólicos de propóleos brasileños probados in vitro (Mendes *et al.*, 2006) esto, debido a que los flavonoides vendrían a ser antioxidantes más abundantes y eficaces que contiene el propóleo (Ahn *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2002).

Tabla 1. Cuantificación del contenido total de polifenoles y flavonoides en propóleos extraídos de diferentes países

Lugar de recolección	Total polifenoles (mg/g de)	Flavonoides (mg/g de)
Argentina	212±9,2	130±5,5
Australia	269±16,3	145±6,5
Brasil	120±5,6	51,9±2,4
Bulgaria	220±2,5	157±8,9
Chile	210±11,1	116±9,3
China (Hebei)	298±8,7	147±9,3
China (Hubei)	299±0,5	158±10,8
China (Zhejiang)	262±12,6	136±17,4
Hungría	242±0,2	176±1,7
Nueva Zelanda	237±6,0	152±12,6
Sudáfrica	99,5±4,4	50,8±0,8
Tailandia	31,2±0,7	2,5±0,8
Ucrania	255±7,4	63,7±3,2
Uruguay	187±8,5	168±6,4
Estados Unidos	256±15,7	122±6,2
Uzbekistan	174±6,7	94,2±6,8

Fuente: Kumazawa *et al.* (2004).

En muchos países, se lo utiliza además como aditivo por sus propiedades antioxidantes. Unas gotas de solución de propóleos incluidas en productos envasados o en alimentos frescos, pueden prolongar entre dos y tres veces su vida útil lo que se ha comprobado en trabajos realizados con pescados congelados, grasas y aceites, ron y bebidas alcohólicas y podrían extenderse a otra clase de alimentos tales como carne vacuna, cordero, cerdo, pollo, fruta, etc. (Cerezal *et al.*, 2002). En otra investigación realizada por (Chang-Bravo *et al.*, 2012) evaluaron su efectividad como envase activo de una película a base de almidón con extractos de propóleos rojo cubano en el que se obtuvo una capacidad antioxidante de 319,86 (S=1,2) μ M /100 g y un 21 % de inhibición de la oxidación lipídica de la película en el modelo evaluado, por otro lado el contenido total de fenoles se mantuvo en los tres meses evaluados estables, por lo que se mantiene la capacidad antioxidante de la película.

Durante esta última década este tipo de envases ha tenido mucho auge y se han publicado múltiples trabajos e investigaciones sobre este tema en particular, es por ello que el objetivo de este trabajo es realizar una investigación documental sobre la aplicación de propóleos en envases activos como nueva alternativa de dichos envases en el que se describe la funcionalidad de los diferentes tipos de envases activos con antimicrobianos,

antifúngicos, antibacteriales, la acción y los posibles aplicaciones que tiene dentro del campo de los alimentos.

2. Efecto de la incorporación del propóleo en las propiedades físicas de los envases

Existen diferentes estudios sobre la investigación sobre la incorporación de los propóleos para mejorar las propiedades físicas de las películas de embalaje. El propóleo contiene una variedad de compuestos químicos tales como polifenoles (agliconas de flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos fenólicos, alcoholes y cetonas), quininas sesquiterpénicas, cumarinas, aminoácidos y compuestos inorgánicos (Bankova, 2005; Falcao *et al.*, 2010). Los flavonoides (flavonas, flavonoles y flavononas), ácidos aromáticos y compuestos fenólicos son los componentes activos más importantes de propóleos y parecen ser los principales componentes responsables de las actividades biológicas de este compuesto (Silici y Kutluca, 2005). Se ha investigado que posee diversas actividades biológicas, tales como antibacteriano, antiviral, antitumoral, antiinflamatorios, anticancerígenos, antifúngicos, y las propiedades antitumorales (Falcao *et al.*, 2010). Como una buena fuente de polifenoles con múltiples actividades biológicas, el propóleo tiene un alto potencial para ser utilizado como un agente activo que se puede incorporar en películas.

Permeabilidad de vapor de agua y oxígeno

Siripatrawan y Vitchayakitti (2016) estudiaron el efecto de la incorporación de propóleo en propiedades funcionales de películas de quitosano, dentro de las propiedades estudiadas determinaron que la adición de propóleo redujo la permeabilidad de vapor de agua en las películas, debido a que los compuestos polifenólicos pueden ser capaces de encajar en la matriz de quitosano y establecer interacciones tales como la unión hidrógeno o covalente con grupos reactivos de quitosano (Siripatrawan y Harte, 2010; Wu *et al.*, 2013). Las interacciones de hidrógeno o covalentes entre la red de quitosano y compuestos polifenólicos limitan la disponibilidad de grupos de hidrógeno para formar la unión hidrófila con agua, lo que lleva a una disminución en la afinidad de las películas

de quitosano hacia el agua y menor permeabilidad de vapor de agua de las películas. También evaluaron el efecto sobre la permeabilidad de oxígeno de las películas de quitosano, el cual se redujo con el aumento de la concentración de extracto de propóleo 0 a 20% w/w. Esta disminución fue probablemente debido a las interacciones entre la matriz de polímero de quitosano y compuestos fenólicos propóleos. Generalmente, los cambios en la permeabilidad de gas dependen de la microestructura de la película, el grosor, el volumen vacío en la estructura del polímero, y la disposición de la cadena de polímero. La adición de propóleo posiblemente ocasionó un aumento de las interacciones entre los monómeros de quitosano, apretando las interacciones polímero de cadena-cadena y, en consecuencia, condujo a una disminución de la permeabilidad al oxígeno.

Ojagh *et al.* (2010) evaluaron las propiedades físicas de películas que contienen aceite esencial de canela y basados en quitosano, sugiriendo que una fuerte interacción entre los componentes de polímero de quitosano y los compuestos fenólicos de aceite esencial de canela produce un efecto de reticulación que conduce a una estructura compacta de las películas resultantes, disminuyendo el volumen libre y la movilidad molecular del polímero. Por lo tanto, la disposición estructural de la red de quitosano inducida por los compuestos fenólicos y los componentes distintos de propóleos podría explicar la propiedad de barrera.

Bodini *et al.* (2013) determinaron que la incorporación del EEP llevó a una reducción significativa en la permeabilidad de vapor de agua (WVP) en relación con la película de control (0 g/100 g de gelatina). Sin embargo, no fue posible correlacionar WVP y el aumento de las concentraciones de EEP. La reducción de la WVP fue causada por incorporación de EEP, fue posiblemente relacionado con la difusividad del vapor de agua en la matriz causado por variaciones estructurales que se observaron en el microscopio electrónico, la solubilidad no se vio fuertemente afectada por la adición de EEP. También se determinó que la alta concentración de EEP puede alterar la interacción entre el vapor de agua y la matriz de polímero, posiblemente debido a la

reducción de higroscopicidad de las películas como una función de la concentración aumentada de compuestos hidrófobos en la matriz de proteína de propóleos.

Color

En cuanto al color, Bodini *et al.* (2013) determinaron que el aumento de la concentración de EEP dio lugar a películas de color naranja más intenso, en comparación con películas de control (películas de gelatina tipo A (2 g / 100 g de solución filmógena, a la que se le añadió el sorbitol como agente plastificante (30 g / 100 g de gelatina), de color amarillo claro. Esto es una consecuencia de las sustancias de color presentes en el propóleo (Pastor *et al.*, 2010). Ojagh *et al.* (2010) también informaron de cambios de color de las películas de quitosano como consecuencia de la adición de aceite esencial de canela. Sin embargo, el color de la película revelada puede afectar a la aceptabilidad del consumidor de los productos en la aplicación de esta película a los alimentos de color claro.

Solubilidad y humedad

Otros estudios mostraron que la adición de extracto de propóleo no provocó variaciones en la solubilidad en agua y el contenido de humedad de las películas, en comparación con los controles, como se muestran en la tabla 2. Este resultado sugiere que el EEP no interfirió con la disposición de las cadenas de proteínas, y no cambió la característica hidrófila de las películas. Los resultados de FTIR (Espectrometría infrarroja por Transformadas de Fourier) mostraron que no hubo interacción entre los grupos funcionales del EEP y la gelatina, un hecho que puede justificar estos resultados (Bodini *et al.*, 2013).

Tabla 2. Solubilidad en agua y contenido de humedad en películas

Concentración extracto de propóleo	Solubilidad en agua	Humedad
0	30,6 ± 1,6 ^b	13,7 ± 0,9 ^a
5	32,4 ± 1,1 ^b	14,3 ± 0,7 ^a
40	30,9 ± 1,1 ^b	14,3 ± 0,7 ^a
200	31,1 ± 1,0 ^b	11,8 ± 0,4 ^b

(a, b) Las diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las concentraciones de EEP (Bodini *et al.*, 2013).

El valor ideal de solubilidad de la película depende de su aplicación o uso propuesto. Cuando la actividad de agua del alimento a envasar es alta, las películas pueden ser usadas como material de embalaje para mejorar la integridad del producto y resistencia al agua en los alimentos (Cerqueira *et al.*, 2012).

Densidad y pH

Pastor *et al.* (2010) evaluaron el efecto de la incorporación de extracto de propóleo en películas a base de hidroxipropilmetilcelulosa, la incorporación dio lugar a una ligera disminución en la densidad y el pH de las dispersiones formadoras de películas (DFP). La disminución del pH se debe atribuir a la disociación de algunos compuestos de carácter ácido en la solución acuosa. La disminución en el tema de tamaño de partícula puede estar relacionada con la presencia de compuestos anfifílicos en el extracto. El pH juega un papel importante en las películas biodegradables, condiciones alcalinas traen como consecuencia el aumento a la resistencia a la tracción y una disminución de la solubilidad (Bourtoom, 2008; Sharma y Singh, 2016).

Propiedades mecánicas

La respuesta mecánica del material se ve afectada principalmente por la distribución espacial de los diferentes constituyentes, su estado físico y por las interacciones que se establecen entre ellos. Por lo general, la incorporación de una fase dispersa causa una disminución en los parámetros de carga (módulo de elasticidad y resistencia a la tracción a la rotura), como se ha informado anteriormente por diferentes autores en los lípidos basados en películas compuestas (Brindle y Krochta, 2008; Fabra *et al.*, 2008; Monedero *et al.*, 2009; Sánchez-González, *et al.*, 2009; Vargas *et al.*, 2009); Según Pastor *et al.* (2010) esto es atribuido a la presencia de discontinuidades estructurales que reduce la resistencia matriz de la película a la fractura. En las películas obtenidas, la incorporación de propóleo no produjo un efecto de debilitamiento en la matriz ya que ninguna disminución en el módulo elástico (ME) y resistencia a la tracción (RT) se observó cuando la concentración de propóleo aumentó. Esto podría ser debido a las interacciones de compuestos con la hidroxipropilmetil-

celulosa (HPMC) y a la formación de algunas zonas cristalinas, como anteriormente comentadas. Los componentes (resinas, bálsamos que contienen flavonoides, ácidos fenólicos o sus ésteres) tienen características polares y pueden interactuar con los grupos hidrófilos a lo largo de la columna vertebral de celulosa de las moléculas de películas comestibles a base de HPMC. Estas interacciones pueden dar como resultado una adhesión interfacial más fuerte que conduce a una resistencia más eficaz a la tensión mecánica. La formación de cristales puede reducir la flexibilidad de la película y la capacidad de estiramiento que se observó a través del desarrollo de alargamiento a la rotura cuando el contenido de EEP aumentó en la película (Fabra *et al.*, 2009).

Chang-Bravo *et al.* (2014) evaluaron las propiedades mecánicas de tres tipos de películas que se muestran en la Tabla 3. En tiempo inicial, las películas de control y yerba mate mostraron un comportamiento similar: bajo alargamiento a la rotura (%) y altos valores de resistencia a la tracción y el módulo elástico. Mientras que, las películas de propóleo mostraron mayor alargamiento a la rotura (%) y los valores más bajos de resistencia a la tracción y módulos elásticos en comparación con las muestras de control. Este comportamiento podría atribuirse a la fuerte interacción entre el extracto de propóleo y la matriz de polímero.

Tabla 3. Las propiedades mecánicas de las películas de almidón-carragenano con y sin extractos de yerba mate y propóleos

Muestra	RT (MPa)	E (%)	ME (MPa)
Películas de control	53,3 ± 9,3	2,3 ± 1,1	32,1 ± 0,6
Películas de yerba mate	47,9 ± 2,3	2,2 ± 0,2	34,2 ± 6,3
Películas de propóleo	25,7 ± 0,1	12,9 ± 0,3	10,4 ± 0,5

Donde: Resistencia a la tracción (RT), alargamiento a la rotura (E) y el módulo elástico (ME) (Chang-Bravo *et al.*, 2014).

Los espectros FTIR de las películas de propóleos mostraron diferencias notables en comparación con los de control que indica una fuerte interacción entre el extracto y la

matriz polimérica. Este hecho es positivo desde el punto de vista mecánico, ya llevado a películas con propiedades mecánicas adecuadas. Varios autores han reportado que la respuesta mecánica de las películas se ve afectada principalmente por su grado de cristalinidad, interacción compuesto de polímero-composición activo, contenido de humedad, entre otros (Lafargue *et al.*, 2007; Mali *et al.*, 2002).

Bodini *et al.* (2013), en su estudio determinaron que la resistencia a la tracción de las películas con añadido de EEP (Tabla 4) mostró una reducción significativa en función del aumento de la concentración EEP, en comparación con películas de control. Para el módulo de elasticidad, la adición del extracto en concentraciones iguales a 40 y 200 g / 100 g de gelatina produjo una reducción significativa de este parámetro. Este resultado posiblemente indica que el extracto de etanol-propóleo actuó como un agente plastificante, el aumento de la movilidad de la matriz de polímero que, a su vez, promovió la reducción de la resistencia a la tracción y el aumento de la elongación de la película. Además, la dispersión EEP en la matriz de polímero también puede producir áreas de discontinuidad, lo que reduce la resistencia de la matriz a la fractura, y que reduzca la resistencia a la tracción y módulo de elasticidad de las películas (Pastor *et al.*, 2010). De acuerdo con este estudio, este resultado puede haber ocurrido debido a las interacciones entre los componentes de EEP y de hidroxipropilmetilcelulosa, produciendo zonas cristalinas que llevaron a la elongación reducida.

Tabla 4. Propiedades mecánicas de las de las películas como una función de la concentración de extracto de etanol-propóleo (CEEP)

CEEP	RT (MPa)	E (%)	ME (MPa)
0	50,4 ± 1,9 ^a	5,7 ± 1,4 ^b	13,4 ± 2,2 ^a
5	45,0 ± 4,2 ^b	5,8 ± 1,1 ^b	11,3 ± 1,0 ^{ab}
40	44,4 ± 5,2 ^b	7,9 ± 2,1 ^b	9,0 ± 3,0 ^{bc}
200	31,7 ± 2,3 ^c	6,8 ± 1,6 ^{ab}	8,4 ± 2,0 ^c

Donde: Resistencia a la tracción (RT), alargamiento a la rotura (E) y el módulo elástico (ME). CEEP = g/100 g de gelatina. Las diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p < 0,05) entre la EEP concentraciones (Bodini *et al.*, 2013).

3. Efecto antibacterial del propóleo en envases activos

Uno de los principales beneficios que se le atribuyen al propóleo es su efecto antibacteriano. La composición del propóleo es distinta en cada región debido a que las abejas sustraen las resinas de las plantas que se encuentran cerca de sus panales, teniendo estas resinas componentes y propiedades distintas. Debido a esto puede darse el caso que las propiedades antibacterianas de un propóleo varíen dependiendo del lugar del cual se extraiga (Wilson *et al.*, 2014; Bankova *et al.*, 2014). Dado que el propóleo tiene un potencial terapéutico puede ser considerado un aditivo natural con propiedades funcionales por lo que puede ser empleado para la conservación y protección de los alimentos mediante la aplicación directa o indirecta, esta última por medio de películas o recubrimientos protectores para dar un valor agregado además de inhibir ciertos microorganismos (Wilson *et al.*, 2014; Araujo *et al.*, 2015).

Se han realizado algunas investigaciones para estudiar la actividad antimicrobiana del propóleo mediante su extracción con etanol o con agua; por ejemplo unos investigadores (Carrillo *et al.*, 2011) obtuvieron extractos etanólicos y acuosos de propóleo procedentes de cuatro apiarios de la Huasteca Potosina en México y los utilizaron sobre bacterias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus agalactiae*; y en las bacterias Gram-negativas: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Klebsiella pneumoniae*. La extracción la realizaron mediante un equipo Soxhlet, en su matraz se colocaron 200 mL de etanol al 80% para la extracción etanólica y 200 mL de agua para la extracción acuosa. El estudio permitió demostrar el efecto antibacteriano de ambos extractos de propóleo (los extractos etanólicos de propóleo fueron más efectivos que los extractos acuosos), además de que la actividad antibacteriana depende del lugar del que se extrae el propóleo y de la resistencia de estos microorganismos, siendo que las bacterias Gram-positivas son más susceptibles que las bacterias Gram-negativas. En otra investigación (Siripatrawan *et al.*, 2013) se utilizaron únicamente soluciones de etanol, pero a distintas concentraciones: 30%, 40%, 50% y

70%; y se evaluaron sus efectos antibacteriales aplicándolos contra *Staphylococcus aureus* (Gram-positivo), *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativos) mediante difusión en disco de papel. Todos los microorganismos evaluados fueron inhibidos en la superficie de contacto con el papel, mientras que solo en la bacteria Gram-positiva se mostró una zona inhibidora para todas las concentraciones excepto la de 70% de etanol. De este modo se probó el efecto inhibitor para el desarrollo de bacterias potencialmente peligrosas que se encuentran en los alimentos, además la bacteria Gram-positiva (*S. aureus*) fue más vulnerable al propóleo que las bacterias Gram-negativas. En ambas investigaciones (Carrillo *et al.*, 2011; Siripatrawan *et al.*, 2013) los autores coinciden en indicar que probablemente las bacterias Gram-negativas sean más resistentes que las bacterias Gram-positivas debido a la compleja estructura de su pared celular ya que está formada por varias capas.

Aprovechando su actividad antibacteriana, algunas investigaciones apuntan a que en el futuro sea posible la utilización del propóleo para la fabricación de envases activos. En una investigación (Mascheroni *et al.*, 2010), las experimentaciones se hicieron mediante dos diluciones: gránulos de ácido poliláctico diluidos con acetato de etilo y gránulos de ácido poliláctico diluidos en una mezcla de acetato de etilo y bentonita cálcica al 10% y polietilenglicol al 15%, ambos a 40 °C. A las muestras se le agregaron propóleo disuelto en 5mL de acetato de etilo, se dejó evaporar el disolvente a temperatura ambiente y se formaron los envases. La capacidad de los films para ser utilizados con propósitos antibacterianos se midió mediante la cinética de migración de compuestos polifenólicos de los films hacia agua a 25 °C obteniendo una satisfactoria migración de estos compuestos y demostrando que se puede emplear el propóleo para la elaboración de envases activos aplicados a alimentos. En otra investigación Torlak y Sert (2013), elaboraron películas de polipropileno y encima se echaron soluciones de revestimiento de 0,5 mm de espesor elaborados a partir de una solución acuosa de ácido acético al que se agregó quitosano, glicerol como agente plastificante, y el

extracto etanólico de propóleo obteniendo una concentración de 10% en peso de resina de propóleo/quitosano. Para determinar la actividad antibacteriana se mantuvo a las bacterias en contacto con las películas de quitosano obteniendo resultados favorables, ya que el extracto de propóleo aumentó las propiedades antibacterianas del quitosano, sobre todo para alimentos con elevada humedad.

Algunos autores (Costa *et al.*, 2014) emplearon almidón (4%) para elaborar las películas activas, agregándole glicerol (0,1%), celulosa (0-1%) y extractos alcohólicos de propóleo rojo (0,4-1,0%) envasando láminas de queso y realizando un recuento periódico de *Staphylococcus coagulasa-positivo* hasta 28 días. Las muestras controles (láminas de queso no envasadas y envasadas con películas sin propóleo) mostraron mayor crecimiento microbiano que las muestras protegidas con películas activas de propóleo. También se utilizó el almidón de yuca (Araujo *et al.*, 2015) al que se agregaron extractos etanólicos de propóleo y se realizaron una serie de análisis entre ellos la actividad antimicrobiana logrando inhibir el desarrollo de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Entre los compuestos detectados se encontraron los componentes fenólicos, a los que le atribuyen la principal actividad antibacteriana.

4. Efecto antifúngico en envases activos

En la actualidad los cambios en las tendencias de estilo de vida, demandan mayores cantidades de alimentos mínimamente procesados y sin conservantes (De Oliveira *et al.*, 2011). Dentro de estos se encuentran ciertas frutas y verduras, las cuales deben pasar por una serie de procesos, desde su recolección en el campo hasta llegar a manos del consumidor (Lehto *et al.*, 2011). En este contexto, los envases activos juegan un rol importante en la cadena productiva y mejoramiento de la calidad. Dentro de estos, destacan los envases antimicrobianos, ya que los alimentos en general se ven atacados por diversos microorganismos como bacterias y hongos (Chen y Brody, 2013). En el caso particular de frutas y verduras frescas, estas reciben mayor ataque por parte de hongos filamentosos. Un claro ejemplo es la especie

fitopatógeno *B. cinerea*, la cual produce una enfermedad común de frutas y hortalizas, llamada “moho gris” (Latorre y Torres, 2012).

El propóleo tiene múltiples propiedades de las cuales en este punto nos interesa, antifúngica y antiprotozoaria. Es capaz de inhibir tanto el crecimiento de hongos (*Candida albicans* y *Trichophyton verrucosa*) como de algunos protozoos (*Trichomonas vaginalis*, *Giardia lamblia*, *Trypanosoma cruzi*, etc.) Investigaciones realizadas en Brasil (Fernandes *et al.*, 2007) para evaluar la actividad antimicótica in vitro del extracto de propóleo en diferentes concentraciones sobre una cepa ATTC90112 de *Cryptococcus neoformans*, demostraron una actividad fungistática del extracto del propóleo sobre el crecimiento del hongo en concentraciones que oscilaron desde 0,2 mg.ml. – 1,6 mg.ml. En la investigación hecha por Pineda *et al.* (2010), se evidenció la propiedad antifúngica del propóleo sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides* procedente de cepas obtenidas de frutos de aguacate (*Persea americana*), lechosa (*Carica papaya*) y parchita (*Passiflora edulis*) observándose un porcentaje de inhibición del 30%. Otros trabajos muestran la eficacia fungica contra *Aspergillus niger*, *Candida albicans* y *Botrytis cinerea* (Kalogeropoulos, 2009; Mirzoeva, 1997; Ozcan, 1999).

Se han realizado investigaciones respecto a la incorporación de propóleo en diferentes envases activos (Juliano *et al.*, 2007), las películas que contienen propóleo mostraron una notable actividad antifúngica contra los hongos ensayados, que fue más intensa frente a *A. niger* contra *Penicillium specie*. La incorporación de propóleo en películas comestibles hidroxipropilmetilcelulosa mejora las propiedades antifúngicas de este compuesto natural y así, se podrían utilizar para controlar la descomposición por hongos en los productos alimenticios (Pastor *et al.*, 2010). El efecto inhibitorio de las películas de HPMC enriquecidos con propóleo en *P. italicumis* y *A. niger* se muestra en la Tabla 5.

También se han desarrollado envases activos antimicrobianos, destinados a la industria cárnica, en base a propóleo en Chile.

Tabla 5. El efecto inhibitorio de las películas de HPMC enriquecidos con propóleos sobre *Penicillium italicum* y *Aspergillus niger* inoculados en placas de PDA y almacenados 5 días a 20 °C. Los valores medios y (desviación estándar)

FFD	Reducción antifúngica (log UFC/cm ²)	
	<i>Penicillium italicum</i>	<i>Aspergillus niger</i>
M	0,24(0,2) ^a	0,44(0,03) ^a
M-0.125P	0,57(0,14) ^a	0,53(0,06) ^{ab}
M-0.25P	1,27(0,04) ^b	0,56(0,07) ^{ab}
M-0.5P	1,90(0,05) ^b	0,74(0,13) ^b
M-1P	1,92(0,13) ^{bc}	1,97(0,2) ^c
M-1.5P	2,02(0,13) ^c	2,84(0,13) ^d

a-d Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa de acuerdo (p<0.05) (Juliano *et al.*, 2007).

Rivieri (2015) menciona estudio realizado, por la Dra. Mónica Valdenegro, investigadora CREAS (Centro Regional de Estudios en Alimentos Saludables) afirmó que uno de los problemas más importantes durante la conservación refrigerada de los productos hortofrutícolas en general, y en el arándano en particular, es la resistencia que tiene el hongo *Botrytis cinerea* a los productos (certificados) que hoy existen en el mercado para su control. Se prepararon diversos recubrimientos y se les dio un baño a los frutos, luego se hizo un proceso de secado (a escala laboratorio). Se hizo un seguimiento de la conservación refrigerada de diferentes formulaciones con este extracto incorporado y con otros elementos para dar mejor cobertura sobre el fruto. En las primeras etapas de la investigación se centraron en el uso de extractos caracterizados de propóleos, granada (cáscara) y maqui (frutos y hojas), optando finalmente por el propóleo dado su efectividad en pruebas “in vitro” de control anti-fúngico. En un primer momento, se vio que este componente era muy bueno para controlar el hongo pero que removía el bloom; lo cual no era una alternativa comercial viable.

5. El propóleo y sus propiedades antioxidantes en el envasado

Una gran variedad de alimentos presenta problemas de oxidación de los lípidos que contienen lo que afecta su calidad nutricional y sensorial haciendo que el producto sea rechazado por los consumi-

dores, debido a ello la industria alimentaria utiliza agentes antioxidantes químicos como butihidroxianisol (BHA), butihidroxitolueno (BHT) y terbutilhidro-xiquinona (TBHQ), pero tienen un gran problema que son los precursores de tumores y cáncer (Huang *et al.*, 2011). Es así que los propóleos aparecen como una alternativa en el uso de la industria alimenticia que debido a sus propiedades antioxidantes aprovechadas para alargar la vida útil de los alimentos (Saltos, 2015).

El propóleo como antioxidante en envases activos

Siripatrawan y Vitchayakitti (2016), encontraron que el contenido fenólico total y 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) en películas de quitosano aumentaban al agregar y aumentar la proporción de propóleo, además se determinó que componentes del propóleo tales como la rutina, quercetina y naringenina fueron los principales compuestos fenólicos del propóleo por lo que a la vez fueron los principales contribuyentes a la actividad antioxidante. Así como también se desarrolló un sistema de liberación antioxidante/antimicrobiano para la aplicación en envasado de alimentos mediante la incorporación de propóleo en una película de ácido poliláctico (PLA) obteniéndose la migración de compuestos fenólicos antioxidante a la película: pinobanksina, pinobanksina-5-metil-éter como flavanonol, crisina como flavon y p-ácido cumárico como ácido fenólico.

Por otro lado, Rizzolo *et al.* (2016) estudiaron la posibilidad de aplicación de propóleos en jamón cocido almacenado por cuatro días a 4 °C, donde se hizo una comparación entre el jamón envasado en papel activo incorporado con propóleo al 0,4% (API) y el jamón envasado solo en papel activo (APP), obteniéndose que el efecto antioxidante permitía que no exista influencia en las propiedades sensoriales, mientras que el jamón envasado solo en papel activo presentó cambios en su composición química, oxidación lipídica y no lipídica y por ende generó las características sensoriales del jamón cocido.

Vargas-Sánchez *et al.* (2015) estudiaron las propiedades de estructura antirradical de flavonoides (crisina, galangina, pinocembrina y pinostrobin) y ácido fenólico

(éster de ácido cafeico fenetil) se encuentra comúnmente en propóleo, para lo cual se tuvo en cuenta el mecanismo de inhibición de transferencia H-átomo (HAT), la transferencia de electrones-etapas de transferencia de protones (Splet) y la transferencia secuencial de la pérdida de protones de electrones (SET-PT). Termodinámicamente, el mecanismo de HAT contribuye mucho en la actividad antirradical de grupo reactivo (O-H y C-H) de compuestos fenólicos. Todos los compuestos presentan una mayor tendencia a dar electrones que para atraerlos. Se encontraron diferentes sitios reactivos para el ataque nucleófilo, electrófilo y radical en las moléculas, lo que podría marcar diferencias en su actividad antirradical.

6. Estudios recientes de la aplicación de propóleo en envasado activo

Recientemente, la investigación y el desarrollo en el envasado de alimentos activa se han centrado en los materiales de envasado funcionales de base biológica que incorporan compuestos e ingredientes (Madureira, 2015). Se han realizado muchos estudios sobre la utilización de los polifenoles vegetales como alternativas a los agentes antimicrobianos y antioxidantes sintéticos (Evrendilek, 2015). El propóleo, surge como alternativa confiable, debido a que es una sustancia considerada como una buena fuente de antioxidantes naturales y antibacterianos (Bnakova, 2005).

Dentro de los principales compuestos químicos de propóleo se encuentran los polifenoles (agliconas de flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos fenólicos, alcoholes y cetonas), quininas sesquiterpénicas, cumarinas, aminoácidos y compuestos inorgánicos (Falcão, 2010). Según Chang-Bravo *et al.* (2014) los estudios actuales relacionados con el envasado activo están encaminados hacia la caracterización de nuevas películas basadas en hidrocoloides de fuentes no convencionales y hacia la determinación de la capacidad que estas poseen para liberar compuestos con funciones preestablecidas. Asimismo, deben evaluarse las interacciones y la estabilidad que puedan ofrecer dichas matrices. Realizaron estudios para medir la capacidad antioxidante por el método FRAP (Ferric Reducing Ability of plasma)

utilizado para medir la actividad antioxidante del plasma humano. Actualmente, se le denomina Ferric Reducing/ antioxidant Power y su utilización se ha extendido al estudio de diferentes compuestos, mezclas o extractos biológicos. El fundamento del método consiste en la reducción de un compuesto o mezcla de compuestos (X) sobre el Fe^{3+} presente en un complejo con un compuesto orgánico: Tripiridiltriazina (TPTZ). Cuando el hierro del complejo es reducido a la forma ferrosa toma un color azul que presenta un máximo de absorción a 593 nm y cuya intensidad del color es proporcional a la capacidad reductora del compuesto ensayado. Este método se utilizó en una película base almidón con extractos de propóleos rojo cubano y evaluar su efectividad como envase activo a partir de la determinación del grado de inhibición de la oxidación lipídica en carne molida de cerdo refrigerada cubierta con la película, por el método del ácido tiobarbitúrico TBA. Se obtuvo una capacidad antioxidante de 319,86 (S=1,2) μM /100 g expresado como oxidación del ión ferroso y un 21% de inhibición de la oxidación lipídica de la película en el modelo evaluado.

La Fig. 2 muestra el contenido total de fenoles, posibles responsables de la capacidad antioxidante de la película conteniendo el extracto. En general se aprecia una tendencia a la estabilidad en los valores en el tiempo.

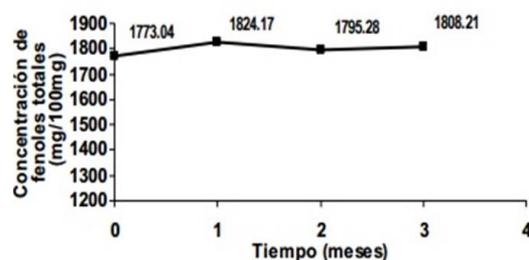


Figura 2. Variación del contenido de fenoles totales de una película base almidón con extractos de propóleos almacenada a temperatura ambiente por 3 meses (Siripatrawan y Vitchayakitti, 2016).

Los valores del contenido de fenoles totales obtenidos para la película en estudio expresados como mg de ácido gálico/ g de películas fueron de 17,73, mínimo a 18,24 mg GA/g película, máximo. Para la actividad antioxidante, descrita como la

capacidad para inhibir la acumulación de especies oxidativas, así como radicales libres. El contenido total de fenoles se mantuvo en los tres meses evaluados estables, por lo que se mantiene la capacidad antioxidante de la película.

Siripatrawan y Vitchayakitti (2016) desarrollaron y caracterizaron las películas de quitosano con propiedades funcionales mejoradas para su uso potencial como el envasado de alimentos activa de quitosano con la incorporación de extracto de propóleos. El propóleo fue extraído siguiendo los métodos de Siripatrawan (2013). Tres gramos de propóleo de tierra se extrajeron con 100 mL de solución acuosa al 30% de etanol. Se extrajo la solución a 50 °C en una incubadora de baño maría de agua con agitación (New Brunswick Scientific, Edison, EE.UU.) a 200 oscilación / min durante 24 h y después se filtró a través de papel de filtro Whatman No. 1. La solución del extracto se concentró utilizando un evaporador rotativo (Rotavapor R-200, BÜCHI Equipo de laboratorio, Flawil, Suiza) bajo presión reducida a 45 °C. Según este estudio la Permeabilidad de oxígeno de las películas disminuyó ($p \leq 0,05$) como la concentración de PE aumentó de 0 a 20% w / w de quitosano. Esta disminución se debe probablemente a las interacciones entre los compuestos de matriz de polímero y fenólicos propóleo de quitosano.

Esto puede deberse a que los cambios en la permeabilidad de gas dependen de la microestructura película, el grosor, el volumen vacío en la estructura del polímero, y la disposición de la cadena de polímero. La adición de PE, posiblemente, resultó en un aumento de las interacciones entre los monómeros de quitosano, el endurecimiento de las interacciones polímero de cadena a cadena y, en consecuencia, condujo a una disminución de la permeabilidad al oxígeno. Una propiedad de alta barrera al oxígeno se requiere en la mayoría de los paquetes de alimentos para mantener las calidades y vida útil de los alimentos ya que el oxígeno permeado a través de materiales de embalaje puede causar el enranciamiento y otra degradación oxidativa en los alimentos que contienen lípidos, que resultan en pérdidas de calidad. Los resultados de este estudio sugieren que es posible obtener películas de

quitosano con una mejor barrera de oxígeno cuando PE se incorpora en las películas.

Rizzolo *et al.* (2016) estudiaron la posibilidad de aplicación de propóleos como conservante de alimentos, las hojas de papel activo obtenido por cualquiera de las superficies de dispersión (APP) o mediante la incorporación de propóleos en la masa de papel a 0,4% (API) se utilizaron para empacar lonchas de jamón cocido. Un almacenamiento de 4 días por el consumidor a 4 °C, se llevó a cabo y jamón cocido lleno de APP, se presentaron propiedades antioxidantes y muestras para el análisis sensorial (prueba triangular). Rebanadas envasadas en papel API mostraron propiedades antioxidantes similares para controlar las rebanadas y la migración gradual de terpenoides de envasado en lonchas de jamón no influir sobre las propiedades sensoriales. Por el contrario, en lonchas envasadas en papel de APP, tanto DPPH actividad captadora de radicales y compuestos reductores aumentaron con el almacenamiento, y los cambios en aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y alcoholes cantidades y composición indicaron lípidos y oxidaciones no lipídicos, lo que impactó en las sensoriales características de jamón cocido.

Desde el año 2010, un proyecto de demostración fue financiado por el Ministerio de Desarrollo Económico de Italia, con el objetivo de desarrollar sistemas de envasado de liberación controlada que actúan como un "caso" y como un "dispensador de tiempo controlado" (Mascheroni *et al.*, 2010), para los compuestos activos de propóleos, que no esté integrado directamente a la comida y puesto en libertad después de que el contacto con el contenido de humedad de los alimentos (Cattaneo *et al.*, 2014). Como consecuencia de los diferentes tipos de propóleos, se caracterizan por perfiles químicos distintos, en función de su origen vegetal, que se han asociado con la presencia de tipos de compuestos específicos, tales como polifenoles, terpenoides, acetofenonas e isoflavonoides prenylated (Popova, 2011). Cattaneo *et al.* (2014), estudió las propiedades sensoriales por cromatografía de gases-olfatometría de diferentes tipos de envases activos, realizadas a través de la incorporación o la superficie difusión de un

extracto de propóleos, y se encontró que el método de adición de propóleos en el embalaje el material ejerce una gran influencia en el perfil olfatométrica de los envases.

6. Conclusiones

De acuerdo a las investigaciones presentadas se tiene que el propóleo como tal es una sustancia que se encuentra en la naturaleza cuya composición y propiedades funcionales dependen del lugar del que se extraigan.

De las investigaciones presentadas por Bodini *et al.* (2013), Pastor *et al.* (2010) y Ojagh *et al.* (2010) se observó que el color de las películas cambió al adicionar propóleo, esto no es muy conveniente ya que actualmente los envases son considerados como parte importante de los productos comercializados y las modificaciones en sus propiedades sensoriales pueden afectar a la aceptabilidad de todo el producto como tal. Sin embargo, se necesitan realizar más investigaciones sobre los cambios sensoriales que la adición de los extractos de propóleo puedan producir en los envases, además de proponer alternativas para solucionar estos problemas si es que se verifica que ocurran estos resultados con mayor frecuencia.

Al adicionar extracto de propóleo en las soluciones base para la elaboración de envases activos las propiedades mecánicas se ven mejoradas, siendo que actúa como un agente plastificante aumentando la elasticidad, la elongación y reduciendo la resistencia a la tracción de los envases. Sus propiedades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas hacen que sea un potencial agente activo utilizable para elaborar envases cuyas funciones no se limiten solo a proteger y conservar el producto, sino que además le agreguen importantes características que protejan a los productos contra las bacterias, hongos y agentes externos e internos a los productos que puedan alterarlos negativamente. Los extractos de propóleo pueden ser aplicados a varios tipos de alimentos, aunque en algunos de ellos presenta dificultades en su uso, como es el caso del arándano, ya que se elimina el Bloom. También se requiere ampliar en los estudios sobre la factibilidad de utilizar los

extractos de propóleo en envases de distintos tipos de alimentos, tanto para los que se comercializan frescos como para los procesados.

Referencias

- Ahn, M.; Kumasawa, S.; Usui, Y.; Nakamura, J.; Matsuka, M.; Zhu, F.; Nakayama, T. 2007. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry* 101(4): 1383-1392.
- Álvarez-Suárez, J.; Giampieri, F.; Battino, M. 2013. Honey as a Source of Dietary Antioxidants: Structures, Bioavailability and Evidence of Protective Effects Against Human Chronic Diseases. *Curr. Medicina Chem* 20(5): 621-638.
- Araujo, G.P.; Souza, S.J.; Silva, M.V.; Yamashita, F.; Gonçalves, O.H.; Leimann, F.V.; Shirai, M.A. 2015. Physical, antimicrobial and antioxidant properties of starch-based film containing ethanolic propolis extract. *International Journal of Food Science and Technology* 50(9): 2080-2087.
- Bankova, V. 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology* 100(1-2): 114-117.
- Bankova, V.; Popova, M.; Bogdanov, S.; Sabatini A. 2006. Chemical composition of European propolis: Expected and unexpected results. *Z Naturforsch.* 57:530-533.
- Bankova, V.; Popova, M.; Trusheva, B. 2014. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central Journal* 8(1): 28.
- Barrera, E.; Gil, M.; García, C.; Durango, D.; Gil, J. 2012. Empleo de un Recubrimiento formulado con propóleos para el manejo poscosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiana). *Rev Fac Nal Agr Medellín* 65(1): 6497-6506.
- Bodini, R.; Sobral, P.; Favaro-Trindade, C.; Carvalho, R. 2013. Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. *LWT - Food Science and Technology* 51(1): 104-110.
- Bourtoom, T. 2008. Factors affecting the properties of edible film prepared from mung bean proteins. *International Food Research Journal* 15(2): 167-180.
- Brindle, L.; Krochta, J. 2008. Physical properties of whey proteinhydroxypropylmethylcellulose blend edible films. *Journal of food Science E: Food Engineering and Physical Properties* 73(9): E446-E545.
- Carrillo, M.L.; Castillo, L.N.; Mauricio, R. 2011. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). *Información Tecnológica* 22(5):21-28.
- Cattaneo, K.C.; Cremonesi, K.; Barzaghi, S. 2014. The applicability of near infrared spectroscopy for monitoring properties of food packaging materials. *NIR News* 25(1): 7-10.
- Cerezal, P.; Ponce, J.; Quilobrán, C. 2002. Aplicación de propóleos como preservante natural en la conservación de pulpa de manzana por factores combinados. *Revista Salud Pública y Nutrición: RESPYN edición especial* (4): Sección 6(078).
- Cerqueira, M.; Souza, B.; Teixeira, J.A.; Vicente, A. 2012. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films – A comparative study. *Food Hydrocolloids* 27(1): 175-184.
- Cha, D.S.; Chinnan, N.S. 2004. Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review. *Crit Rev Food Sci Nutri.* 44(4): 223-237.
- Chang-Bravo, L.; Martino, M.; Rodríguez-Sánchez, J.L.; Fajardo-Cárdenas, M. 2012. Aplicación del extracto hidroalcohólico de propóleos rojo cubano en el desarrollo de una biopelícula activa. *Apiciencia* 13(3): 79-87.

- Chang-Bravo, L.; Lopez-Cordoba, A.; Martino, M. 2014. Biopolymeric matrices made of carrageenan and corn starch for the antioxidant extracts delivery of Cuban red propolis and yerba mate. *Reactive & Functional Polymers* 85: 11-19.
- Chen, J.; Brody, A. 2013. Use of active packaging structures to control the microbiological quality of a ready-to-eat meat product. *Food Control* 30: 306-310.
- Coles, R.; McDowell, D.; Kirwan, M. 2003. *Food packaging technology*. Blackwell Publishing & CRC Press. Boca Raton, USA.
- Costa, S.; Druzian, I.; Machado, S.; De Souza, O.; Guimarães, G. 2014. Bifunctional biobased packing of the cassava starch, glycerol, licuri nanocellulose and red propolis. *Public Library of Science* 9 (11).
- Cottica, S.; Sawaya, A.; Eberlin, M.; Franco, S.; Zeoula, L.; Visenteiner, J. 2011. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *J Braz Chem Soc* 22: 929-935.
- De Oliveira, M.; De Souza, V.; Morato, A.; Pereira, E. 2011. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brasil. *Food Control* 22:1400-1403.
- Evrendilek, G. 2015. Empirical prediction and validation of antibacterial inhibitory effects of various plant essential oils on common pathogenic bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 202: 35-41.
- Fabra, M.J.; Jiméñez, A.; Atarés, L.; Talens, P.; Chiralt, A. 2009. Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. *Biomacromolecules* 10(6): 1500-1507.
- Fabra, M.J.; Talens, P.; Chiralt, A. 2008. Tensile properties and water vapor permeability. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering* 85(3): 393-400.
- Falcao, S.; Vilas-Boas, M.; Estevinho, L.; Barros, C.; Domingues, M.; Cardoso, S. 2010. Phenolic characterization of northeast portuguese propolis: Usual and unusual compounds. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396: 887-897.
- Farré, R.; Frasset, I.; Sánchez, A. 2007. El propolis y la salud. *Ars Pharmaceutica* 45(1): 21-43.
- Fawole, O.; Ndhlala, A.; Amoo, S.; Finnie, J.; VanStaden, J. 2009. Antiinflammatory and phytochemical properties of twelve medicinal plants used for treating gastrointestinal ailments in South Africa. *J Ethnopharmacol* 123: 237-243.
- Fernandes, F.; Dias, A.; Ramos, C.; Ikegaki, M.; Siqueira, A.; Franco, M. 2007. The "in vitro" antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 49(2): 93-95.
- Gülçin, I.; Bursal, E.; Sehitoglu, M.; Bilsel, M.; Görden, A. 2010. Polyphenols contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food Chem Toxicol* 48: 2227-2238.
- Huang, B.; He, J.; Ban, X.; Zeng, H.; Yao, X.; Wang, Y. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizoma knot and leaf. *Meat Sci* 87: 46-53.
- Juliano, C.; Pala, C.; Cossu, M. 2007. Preparation and characterisation of polymeric films containing propolis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 3(17): 177-181.
- Kalogeropoulos, N. 2009. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry* 116: 452-461.
- Kumazawa, S.; Hamasaka, T.; Nakayama, T. 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* 84(3): 329-339.
- Lafargue, D.; Lourdin, D.; Doublier, J. 2007. Film-forming properties of a modified starch/ κ -carrageenan mixture in relation to its rheological behaviour. *Carbohydrate Polymers* 70(1): 101-111.
- Latorre, B.; Torres, R. 2012. Prevalence of isolates of *Botrytis cinerea* resistant to multiple fungicides in Chilean vineyards. *Crop Protection* 40: 49-52.
- Lehto, M.; Kuismab, R.; Maattab, J.; Kymalainenb, H.; Makkic, M. 2011. Hygienic level and surface contamination in fresh-cut vegetable production plants. *Food Control* 22: 469-475.
- Liu, M.; Li, X.; Weber, C.; Lee, C.; Brown, J.; Liu, R. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2926-2930.
- Lopez-Rubio, A.; Gavara, R.; Lagaron, J. 2006. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends Food Sci Technol* 17(10): 567-575.
- Madureira, A. 2015. Current state on the development of nanoparticles for use against bacterial gastrointestinal pathogens. Focus on chitosan nanoparticles loaded with phenolic compounds. *Carbohydrate Polymers* 130: 429-439.
- Mahmoud, L. 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 7: 22-31.
- Mali, S.; Grossmann, M.; Garcia, M.; Martino, M.; Zaritzky, N. 2002. Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrate Polymers* 50(4): 379-386.
- Martinez-Tenorio, Y.; Lopez-Malo, V. 2011. Envases activos con agentes antimicrobianos y su aplicación en los alimentos. *Temas selectos de Ingenieria de alimentos* 5(2): 1-12.
- Mascheroni, E.; Guillard, V.; Nalin, F.; Mora, L.; Piergiovanni, L. 2010. Diffusivity of propolis compounds in polylactic acid polymer for the development of anti-microbial packaging films. *Journal of Food Engineering* 98(3): 294-301.
- Mendes, J.; De Souza, M.; Ramalho, M.; Ribeiro, A.; Nova, V. 2006. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem* 99: 431-435.
- Mirzoeva, O. 1997. Antimicrobial action of propolis and its components, the effect on growth membrane potential, and mobility of bacteria. *Microbiological Research* 239-246.
- Monedero, F.; Fabra, M.; Talens, P.; Chiralt, A. 2009. Effect of oleic acidbeeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. *Journal of Food Engineering* 95: 509-515.
- Moreno, Z.; Martínez, P.; Figueroa, J. 2007. Efecto antimicrobiano in vitro de propóleos argentinos, colombianos y cubanos sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Rev Nova* 5(7): 70-75.
- Mouhoubi-Tafinine, Z.; Ouchemoukh, S.; Tamendjari, A. 2016. Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products* 82:85-90.
- Ojagh, S.; Rezaei, M.; Razavi, S.; Hosseini, S. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry* 122(1): 166-166.
- Ozcan, M. 1999. Antifungal properties of propolis. *Oil and fat* 50: 395-398.
- Ozdemir, M.; Floros, J.D. 2010. Active food packaging technologies. *Critical reviews in food science and nutrition* 44(3): 185-193.
- Palomino, R.; García, C.; Gil, J.; Rojano, B.; Durango, R. 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.
- Pastor, C.; Sánchez-González, L.; Cháfer, M.; Chiralt, A.; González-Martínez, C. 2010. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Carbohydrate Polymers* 82(4): 1174-1183.
- Pineda, J.; Principal, J.; Barrios, C.; Milla, D.; Solano, Y.; Gil, E. 2010. Propiedad fungistática in vitro de propóleos sobre tres aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Zootecnia Trop* 28(1): 83-91.

- Popova, M. 2011. The specific chemical profile of Mediterranean propolis from Malta. *Food Chemistry* 126: 1431-1435.
- Rivieri, E. 2015. Comunicaciones CREAS: Exitoso desarrollo de envases activos para exportación de arándanos. Red ciencia. Disponible en: www.redciencia.net/article/exitoso-desarrollo-de-envases-activos-para-exportacion-de-arandanos
- Rizzolo, A.; Bianchi, G.; Povolò, M.; Migliori, C.; Contarini, G.; Pelizzola, V.; Cattaneo, T. 2016. Volatile compound composition and antioxidant activity of cooked. *Food Packaging and Shelf Life* 8(8): 41–49.
- Rodríguez-Sauceda, R.; Rojo-Martínez, G.; Martínez-Ruiz, R.; Piña-Ruiz, H.; Ramírez-Valverde, B.; Vaquera-Huerta, H.; Cong-Hermida, M. 2014. Envases inteligentes para la conservación de alimentos. *Ra Ximhai* 10(6): 151-173.
- Salto, Y. 2015. Análisis de la conservación de papa fresca (*Solanum phureja*) como producto de IV gama usando extracto acuoso de propóleo. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/3948/1/56T00520%20UDCTFC.pdf>
- Sánchez-González, L.; Vargas, M.; González-Martínez, C.; Chiralt, A.; Cháfer, M. 2009. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids* 23: 2102-2109.
- Santos, E.M.; Maia, A.B.; Uzeda, M.; Carvalho, M.A.; Farias, L.M.; Moreira, E.S. 2006. Brazilian propolis: physicochemical properties, planta origin and antibacterial activity on periodontopathogens. *Pytotherapy Research* 17(3): 285-289.
- Sharma, L.; Singh, C. 2016. Sesame protein based edible films: Development and characterization. *Food Hydrocolloids* 61: 139-147.
- Silici, S.; Kutluca, S. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 69-73.
- Siripatrawan, U.; Harte, B. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 24: 770-775.
- Siripatrawan, U.; Vitchayakitti, W. 2016. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids* 61: 695-702.
- Siripatrawan, U.; Vitchayakitti, W.; Sanguandeeikul, R. 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *International Journal of Food Science and Technology* 48(1): 22-27.
- Sun-Lee, D.; Yam, K.; Piergiovanni, L. 2008. *Food packaging Science and Technology*. CRC Press. Boca Raton, USA.
- Tharanathan, R. 2008. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci Technol* 14: 71–78.
- Torlak, E.; Sert, D. 2013. Antibacterial effectiveness of chitosan–propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules* 60: 52-55.
- Tripathi, P.; Dubey, N. 2010. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 32(3): 235–245.
- Vargas, M.; Albors, A.; Chiralt, A.; González-Martínez, C. 2009. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids* 23(2): 536-547.
- Vargas-Sánchez, R.D.; Mendoza-Wilson, A.; Torrescano-Urrutia, G.; Sánchez-Escalante, A. 2015. Antiradical potential of phenolic compounds fingerprints of propolis extracts: DFT approach. *Computational and Theoretical Chemistry* 1066: 7-13.
- Vargas-Sánchez, R.D.; Torrescano-Urrutia, G.; Sánchez-Escalante, A. 2013. El propóleo: conservador potencial para la industria alimentaria. *Interciencia* 38(10): 705-711.
- Weber, C.J.; Haugaard, V.; Festersen, R.; Bertelsen, G. 2008. Production and applications of biobased packaging materials for the food industry. *Food Additives & Contaminants* 19: 172–177.
- Wilson, M.B.; Brinkman, D.; Spivak, M.; Gardner, G.; Cohen, J. D. 2014. Regional variation in composition and antimicrobial activity of US propolis against *Paenibacillus larvae* and *Ascopheara apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, Manuscript in preparation 144: 44-50.
- Wu, J.; Chen, S.; Ge, S.; Miao, J.; Li, J.; Zhang, Q. 2013. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 32: 42-48.

