

Clasificación geográfica de propóleos de Tucumán utilizando parámetros físicoquímicos y análisis quimiométrico

MALDONADO, L.M.¹; BORELLI, R.S.¹; SALOMON, V.M.¹; ALVAREZ, A.R.¹; SAYAGO, J.²; ISLA, M.I.³; BORELLI, V.⁴

RESUMEN

El propóleo es un producto que elaboran las abejas, mezclando sustancias resinosas que recolectan de ciertos vegetales con polen, impurezas y su cera. Es utilizado en alimentos, cosmética e higiene personal, medicina veterinaria e incluso en humanos. En los últimos años, la apicultura en Argentina se ha extendido a regiones extrapampeanas de gran biodiversidad, por lo que los objetivos del presente trabajo consistieron en: a) evaluar parámetros físicoquímicos de propóleos producidos en tres localidades de la provincia de Tucumán: Amaicha del Valle, Famaillá y Leales; b) aplicar el análisis quimiométrico para establecer si poseen patrones relacionados con su origen geográfico que permitan diferenciarlos. Se analizaron 44 muestras, determinándose los parámetros físicoquímicos: ceras, resinas, impurezas mecánicas, fenoles totales y flavonoides totales de acuerdo a la norma IRAM-INTA 15935-1. Para el análisis quimiométrico se aplicaron los análisis de componentes principales, de conglomerados y discriminante. Los resultados obtenidos para los parámetros físicoquímicos mostraron concordancia con otros informados previamente para propóleos del noroeste argentino y además que los de Amaicha del Valle se asocian con el contenido de impurezas mecánicas y flavonoides totales, los de Leales con las ceras y los de Famaillá con resinas y fenoles totales. Contrastando con los requisitos establecidos en el Código Alimentario Argentino resulta que todos pueden ser aprovechados, ya sea procesados o como propóleos en bruto. Las muestras pudieron separarse en dos conglomerados y los parámetros físicoquímicos mostraron su capacidad discriminante respecto del origen geográfico, lo que permitiría clasificar nuevas muestras en una de las tres localidades consideradas.

Palabras clave: propóleos, origen geográfico, diferenciación, valor agregado, apicultura, Tucumán.

ABSTRACT

Propolis is a product made by bees, mixing resinous substances that collect from certain vegetables with pollen, impurities and their wax. It is used in food, cosmetics and personal hygiene, in veterinary medicine and even in humans. In the last years, beekeeping in Argentina has spread to extrapampean regions of great biodiversity, so the objectives of this work were: a) evaluate physico chemical parameters of propolis produced in three localities of the Tucumán province: Amaicha del Valle, Famaillá and Leales, b) apply the chemometric analysis to establish if they have patterns related to their geographical origin that allow to differentiate them. 44 samples were analyzed, determining the physico chemical pa-

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Famaillá. Ruta pcial. 301 km 32. (4132) Famaillá. Tucumán. Argentina. Correo electrónico: maldonado.luismaria@inta.gob.ar

²Universidad Nacional de Tucumán (UNT), Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Batalla de Ayacucho 471. CPA T4000INI. San Miguel de Tucumán. Tucumán. Argentina.

³Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo (IML), Instituto de Bioprospección y Fisiología Vegetal (INBIOFIV) (Conicet). Miguel Lillo 205. 4000. San Miguel de Tucumán. Tucumán. Argentina.

⁴Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Las Breñas. Ruta Nacional 89, km 51. (3722) Las Breñas, Chaco. Argentina.

rameters: waxes, resins, mechanical impurities, total phenols and total flavonoids according to the IRAM-INTA 15935-1 standard. For the chemometric analysis, the principal components, cluster and discriminant analyzes were applied. The results obtained for the physical and chemical parameters showed agreement with others previously reported for propolis from northwestern Argentina, and also that those of Amaicha del Valle are associated with the content of mechanical impurities and total flavonoids, those of Leales with the waxes and those of Famaillá with resins and total phenols. In contrast to the requirements established in the Argentine Food Code, it turns out that all can be exploited, either processed or as raw propolis. The samples could be separated into two conglomerates and the physical-chemical parameters showed their discriminating capacity with respect to the geographical origin, which would allow to classify new samples in one of the three localities considered.

Keywords: propolis, geographical origin, differentiation, value added, beekeeping, Tucumán.

INTRODUCCIÓN

El propóleo es un producto que elaboran las abejas, mezclando sustancias resinosas recolectadas de ciertos vegetales con su cera, polen e impurezas, colocándolo en determinados lugares de la colmena según su finalidad: ya sea como elemento sanitizante o bien con fines estructurales. Se denomina propóleo en bruto, al que se obtiene directamente de la colmena (IRAM-INTA, 2008).

Posee una fracción de resinas con compuestos del tipo fenólico: ácidos, ésteres, chalconas y flavonoides, responsables de su actividad biológica: antioxidante (Isla *et al.*, 2001; Kurek-Górecka *et al.*, 2013), antimicrobiana (Nieva Moreno *et al.*, 1999; Salas *et al.*, 2014) y antiinflamatoria (Ramos *et al.*, 2007; Salas *et al.*, 2016). Por esta razón, es utilizado en la industria alimenticia (Bernardi *et al.*, 2013; Feas *et al.*, 2014), en cosmética e higiene personal (Gregoris *et al.*, 2011), en medicina veterinaria (Oliveira *et al.*, 2006; Lozina *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2013) e incluso en humanos (Kucharzewski *et al.*, 2013).

La composición química, los atributos sensoriales y la actividad biológica son variables y dependen principalmente de su origen botánico/geográfico (Sforcin *et al.*, 2000; Bedascarrasbure *et al.*, 2006; Isla *et al.*, 2012; Vera *et al.*, 2011). A partir de 2008 es incorporado al Código Alimentario Argentino (CAA) en el capítulo xvi "Correctivos y coadyuvantes" artículo 1308 bis, estableciéndose el marco regulatorio para su utilización.

En los últimos años, la apicultura en Argentina se ha extendido hacia regiones extrapampeanas por diversos motivos: expansión de la frontera agrícola, cambio climático, etc., pero también, impulsada por la estrategia del Programa Nacional Apícola del INTA (PROAPI) para consolidar la apicultura como una herramienta de desarrollo social (Bedascarrasbure *et al.*, 2011). Se han intensificado las investigaciones relacionadas con las características físicoquímicas y actividad biológica de los productos de la colmena, especialmente propóleos, para aprovechar la biodiversidad de las diferentes regiones del país (Bedascarrasbure *et al.*, 2000; Solórzano *et al.*, 2008).

Tucumán es la provincia más pequeña de la Argentina con una superficie de 22.524 km², que representan el 0,6% del país. Se sitúa entre los paralelos 26° y 28° de latitud sud, y los meridianos de 64° 30' y 66° 30' de longitud oeste. El clima está caracterizado como subtropical con estación seca. Posee gran diversidad de paisajes: llanuras y montañas, climas secos y húmedos, selvas exuberantes y tierras áridas. Una vasta zona de llanuras hacia el este y altas cumbres con numerosas cuencas, ríos y valles hacia el oeste forman el relieve de la provincia. Se destacan los valles Calchaquíes y de las Sierras del Aconquija con los picos más elevados.

En ese contexto, los objetivos del presente trabajo consistieron en: a) evaluar parámetros físicoquímicos de propóleos producidos en tres localidades de la provincia de Tucumán: Amaicha del Valle, Famaillá y Leales; b) aplicar el análisis quimiométrico para establecer si las muestras poseen patrones relacionados con su origen geográfico que permitan diferenciarlas entre sí.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

El reactivo de Folin-Ciocalteu, el carbonato de sodio, el ácido gálico, el tricloruro de aluminio y la quercetina se compararon de Sigma-Aldrich Argentina, mientras que el n-hexano, el etanol 96° y el metanol se adquirieron de Sintorgan.

Muestras de propóleos

Se analizaron 44 muestras cosechadas entre los años 2001 a 2014, obtenidas tanto de apicultores como de apiarios utilizados para otros ensayos, aplicando en todos los casos el sendero tecnológico de INTA-PROAPI.

Diez muestras provinieron de la localidad de Amaicha del Valle (Amaicha) ubicada al oeste de la provincia en el departamento de Tafí del Valle, zona de los valles Calchaquíes (2000 m s. n. m.) donde se encuentran especies vegetales como: brea (*Cercidium praecox*), jarilla macho

(*Larrea divaricata* Cav.), jarilla hembra (*Larrea cuneifolia* Cav.), poposa (*Zuccagnia punctata* Cav.), churqui (*Acacia caven*), atamisqui (*Atamisquea emarginata*), algarrobos (*Prosopis* spp), tuscas (*Acacia aroma*), arcas (*Acacia visco*), chañar (*Geoffraea decorticans*) y talas (*Celtis tala*). (Nieva Moreno *et al.*, 2005; Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

Otras veintitrés provinieron de apiarios ubicados en el Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido de INTA, al este provincial, en el departamento de Leales (500 m s. n. m.). Las especies vegetales relevadas en las proximidades del apiario fueron: vil-vil (*Myrcianthes cisplatensis*), lecherón (*Sapium haematospermum*), viraró (*Ruprechtia laxiflora*), molle (*Schinus fasciculata*), tusca (*Acacia aroma*), algarrobo negro (*Prosopis nigra*), cochucho (*Fagara coco*), pacara (*Enterolobium contortitsilicum*) y tala (*Celtis tala*). (Asoc. Coop. INTA Leales, 2016, datos no publicados).

Las once muestras restantes se lograron de un apiario en el INTA EEA Famaillá, ubicado en el departamento del mismo nombre, en la zona central de la provincia (750 m s. n. m.). La vegetación circundante al apiario se compone mayoritariamente de árboles: eucalipto (*Eucaliptus grandis*, *Eucaliptus camaldulensis*), pino (*Pinus taeda*), fresno (*Fraxinus* sp.), ibirapitá (*Peltophorum dubium*), limón, naranja, pomelo (*Citrus* spp.) y espinillo o aroma (*Acacia* spp.). Existen además plantaciones de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y frutilla (*Fragaria ananassa*). (J. Grignola, 2017, com. pers.).

Las muestras se mantuvieron a -20 °C hasta ser analizadas. Previo al análisis, se homogeneizaron y se trituraron en mortero de porcelana. Los parámetros físicoquímicos determinados fueron: ceras, resinas, impurezas mecánicas, fenoles totales y flavonoides totales, en todos los casos evaluados por duplicado y de acuerdo a la norma IRAM-INTA 15935-1.

Análisis quimiométrico

La estadística descriptiva de los parámetros físicoquímicos se efectuó con Microsoft Excel 2013 y el modelado quimiométrico con los softwares InfoStat (Di Renzo *et al.*, 2013) y R (R Core Team, 2017). Para evaluar la relación entre los parámetros físicoquímicos se efectuó el análisis de componentes principales. El análisis de conglomerados permitió clasificar las muestras en grupos, por su grado de similitud y mediante el análisis discriminante se determinó la capacidad discriminante de los parámetros físicoquímicos respecto del origen geográfico de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios obtenidos para los parámetros físicoquímicos en cada localidad se presentan en la figura 1. Las figuras 2, 3, 4 y 5 presentan los resultados del modelado quimiométrico.

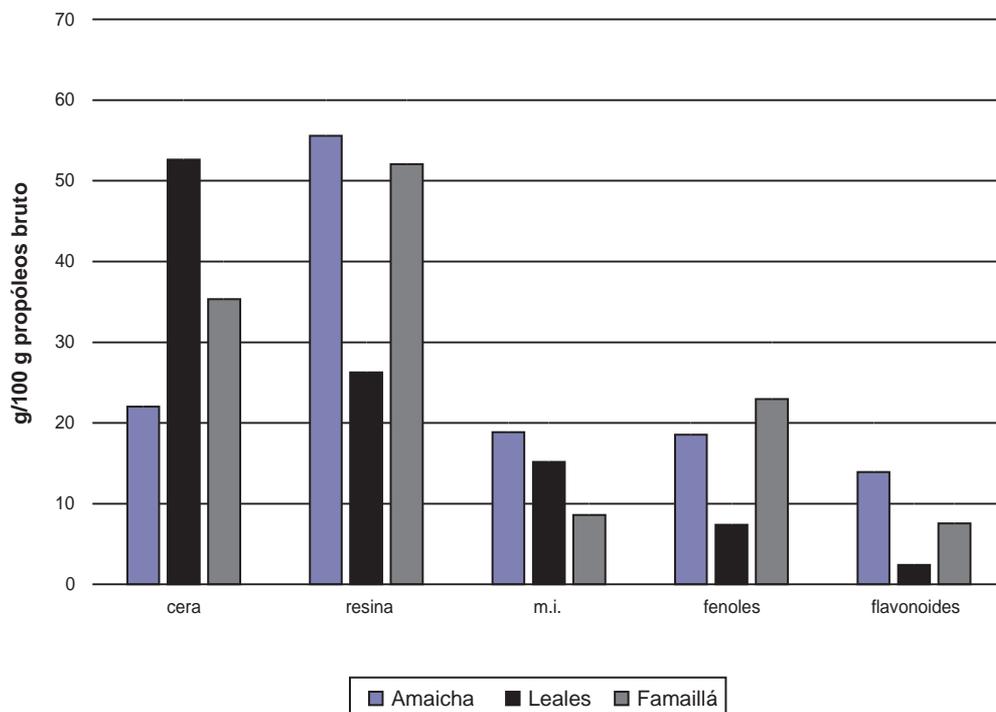


Figura 1. Valores medios de los parámetros físicoquímicos en cada localidad de origen.

Barras verticales sobre las medias indican el error estándar.

i.m.: impurezas mecánicas, fenoles: Fenoles totales, flavonoides: Flavonoides totales.

Parámetros físico químicos

Por un lado, los resultados obtenidos para los parámetros físicoquímicos mostraron concordancia con los informados previamente para propóleos del NOA (Maldonado, 2000). Con referencia a propóleos de Tucumán, el contenido medio global de fenoles totales obtenido fue 16,3 g ácido gálico equiv./100 g propóleos bruto que resultó menor al determinado por otros autores: 20,4 g ácido gálico equiv./100 g propóleos bruto, aunque sin especificar las localidades de procedencia (Isla *et al.*, 2005). El valor medio global de flavonoides totales obtenido fue de 8,0 g quercetina equiv./100 g propóleos bruto, que representa más del doble del reportado por otros autores, aunque aplicando una metodología analítica diferente (Nieva Moreno *et al.*, 2005). En particular el contenido de fenoles y flavonoides totales en los de Amaicha resultaron comparables a los publicados previamente por nuestro equipo de trabajo para propóleos del valle Calchaquí (Bedascarrasbure *et al.*, 2004). Además, en esta localidad se obtuvieron los mayores valores de: resinas, impurezas mecánicas y flavonoides, en este último caso debido a que las plantas que desarrollan en zonas áridas los sintetizan para poder soportar y sobrevivir a las condiciones climáticas adversas. (Bedascarrasbure *et al.*, 2004; Solórzano *et al.*, 2012).

Por otro lado, contrastando con los requisitos establecidos en el CAA para propóleos bruto, se observa que los de Amaicha los satisfacen totalmente, no así los de Leales y parcialmente los de Famaillá, debido a valores elevados de cera y bajos de resinas. No obstante, los contenidos de fenoles y flavonoides totales superaron en todos los casos los requisitos mínimos, por lo que pueden ser aprovechados tanto como propóleos en bruto como transformados en extractos u otros productos de mayor valor agregado.

Análisis de componentes principales

Previo al análisis de componentes principales se graficaron las relaciones entre los parámetros físicoquímicos y se determinaron las correlaciones entre ellos:

Como se observa en la figura 2 y en la tabla 1, se obtuvieron altas correlaciones entre los parámetros: cera, resina, fenoles, flavonoides y bajas entre impurezas mecánicas y los demás parámetros. El análisis de componentes principales explicó el 89% de la varianza total de los parámetros físicoquímicos con dos componentes (CP) (tabla 2).

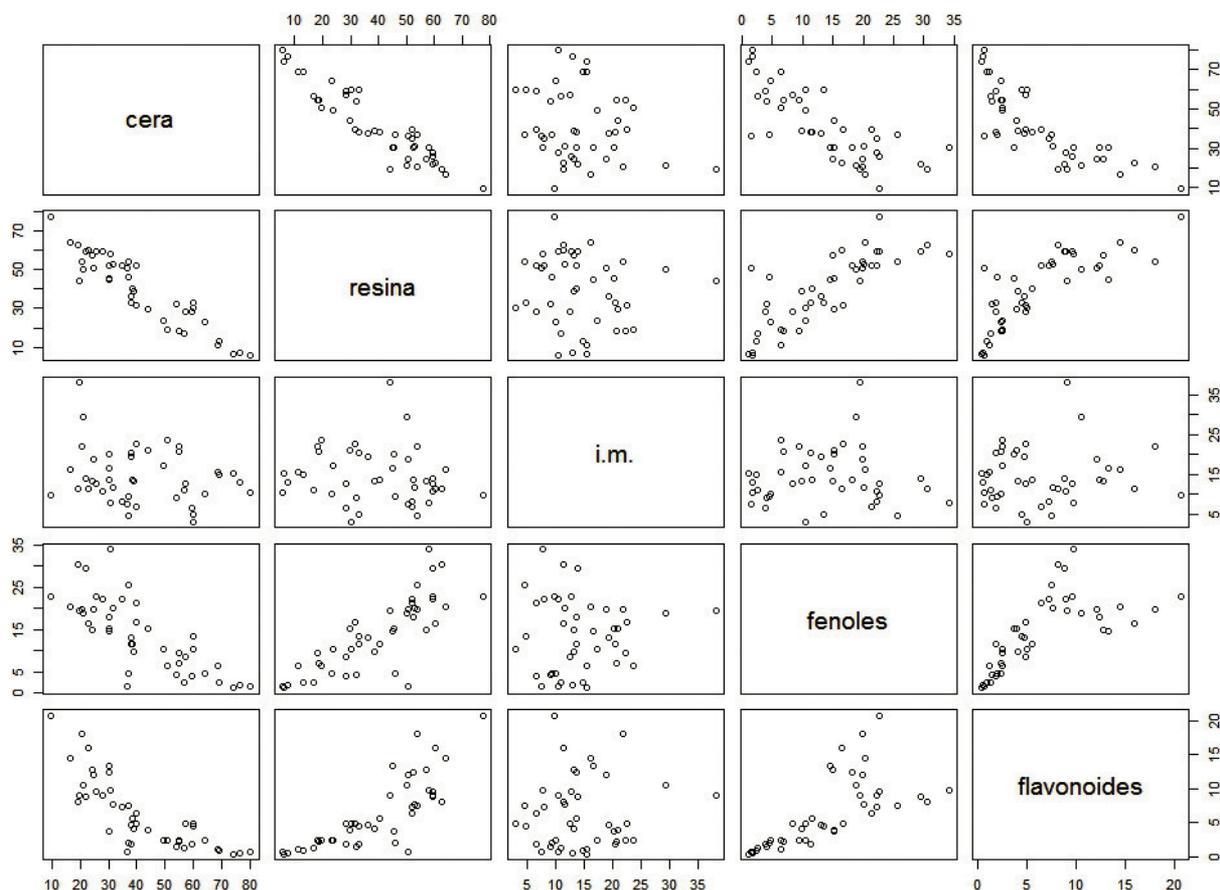


Figura 2. Relaciones entre los parámetros físicoquímicos.

	Cera	Resina	I.M.	Fenoles	Flavonoides
Cera	1,0000000	-0,9269506	-0,2236214	-0,7762026	-0,8021938
Resina	-0,9269506	1,0000000	-0,1254482	0,8034389	0,8048219
I.M.	-0,2236214	-0,1254481	1,0000000	0,0237611	0,0836526
Fenoles	-0,7762026	0,8034389	0,0237611	1,0000000	0,7000564
Flavonoides	-0,8021938	0,8048218	0,0836526	0,7000564	1,0000000

Tabla 1. Coeficientes de correlación entre los parámetros físicoquímicos.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Desviación estándar	1,8480438	1,0296402	0,5464016	0,4644697	0,1014305
Proporción de varianza	0,6830532	0,2120318	0,0597110	0,0431464	0,0020576
Proporción acumulada	0,6830532	0,8950850	0,9547960	0,9979424	1,0000000

Tabla 2. Importancia de los componentes.

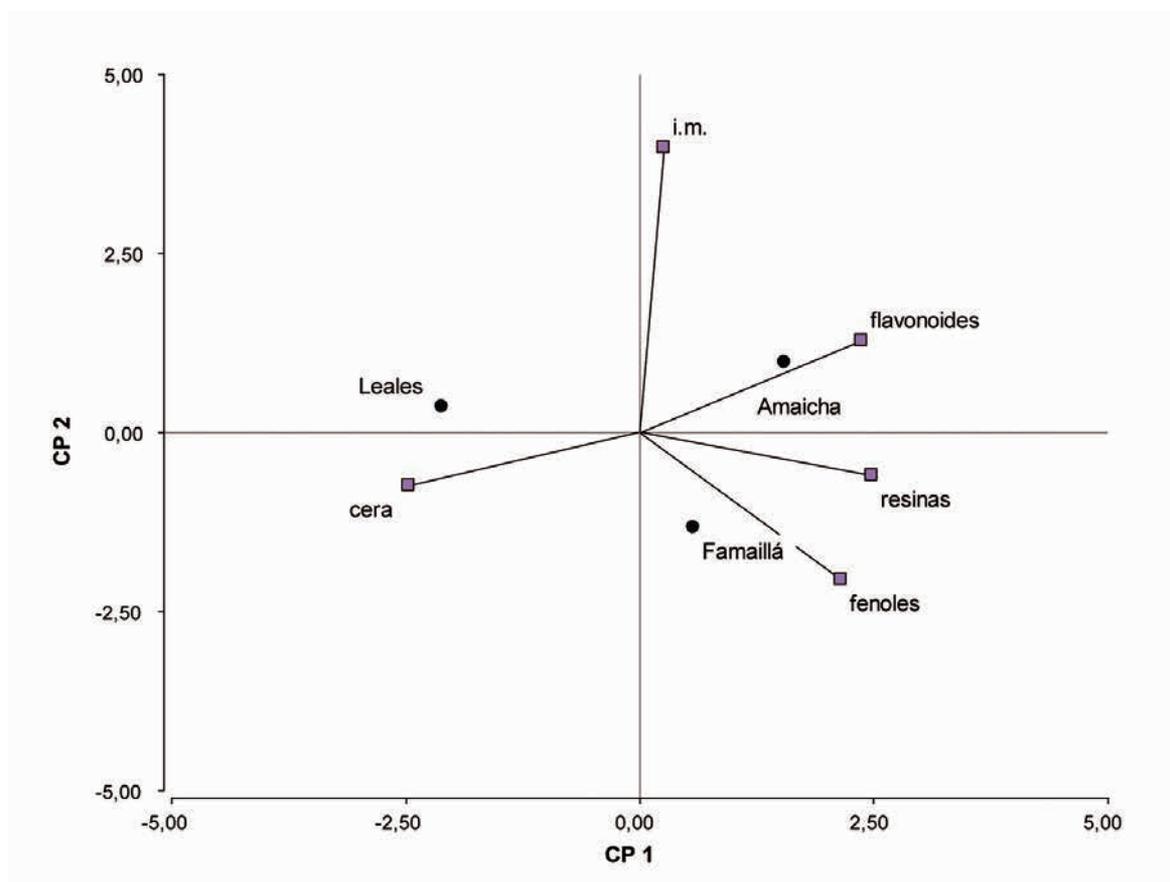


Figura 3. Gráfico biplot que indica la representación de muestras (medias) y variables.
i.m.: impurezas mecánicas.

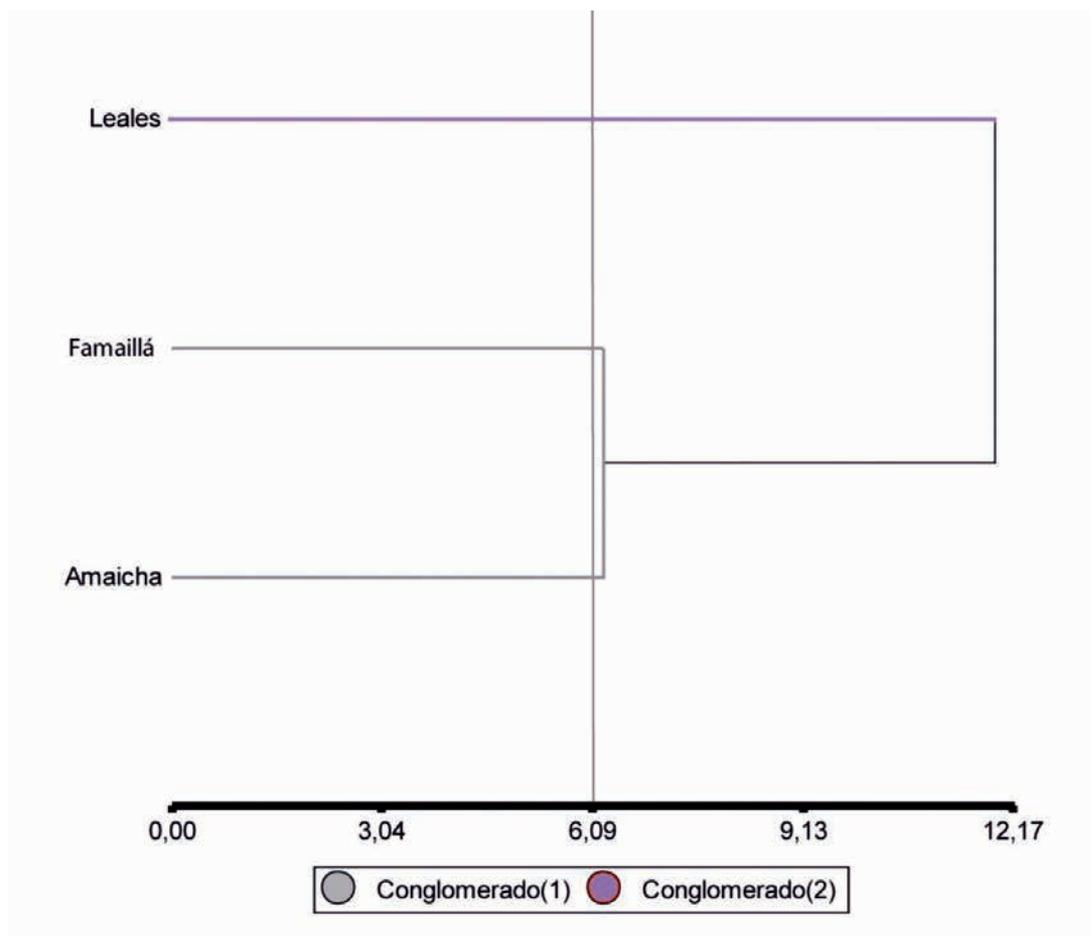


Figura 4. Dendrograma que separa en dos conglomerados los propóleos según su procedencia.

CP1 explicó el 68% de la varianza y estuvo asociado fuertemente al contenido de cera y resinas, pero en direcciones opuestas (figura 3), por lo que opondrá localidades de procedencia donde sus propóleos muestren mayores valores de ceras y resinas, en este caso Leales y Famaillá. CP2 aportó el 21% restante de la varianza total y estuvo muy asociado al contenido de impurezas mecánicas. La ortogonalidad de las CP garantiza que CP2 nos provea la información que explica la variabilidad entre los contenidos de fenoles, resinas y flavonoides entre Famaillá y Amaicha que no es explicada por CP1.

El ángulo entre los vectores de los parámetros físicoquímicos se puede interpretar como la correlación entre ellos, por lo que el contenido de resinas tiene correlación positiva con el de fenoles totales y negativa con el de ceras.

Se observó que el componente CP1 separa la cera del resto de los parámetros físicoquímicos, por lo tanto la mayor variabilidad entre los propóleos de las distintas zonas se explica por este parámetro. Los propóleos de Leales se encuentran más asociados al contenido de ceras, los de Amaicha al contenido de impurezas mecánicas y flavonoides totales, en tanto que los de Famaillá a resinas y fenoles totales (figura 3).

	Función 1	Función 2
Constante	-5,88	-14,98
Cera	0,03	0,15
Resinas	0,04	0,13
I.M.	0,17	2,90E-03
Fenoles	-0,22	0,24
Flavonoides	0,63	0,01

Tabla 3. Coeficientes de las funciones canónicas discriminantes.

Función	Autovalor	% de varianza	% varianza acumulada
1	6,82	64,29	64,29
2	3,79	35,71	100,00

Tabla 4. Resumen de funciones discriminantes canónicas.

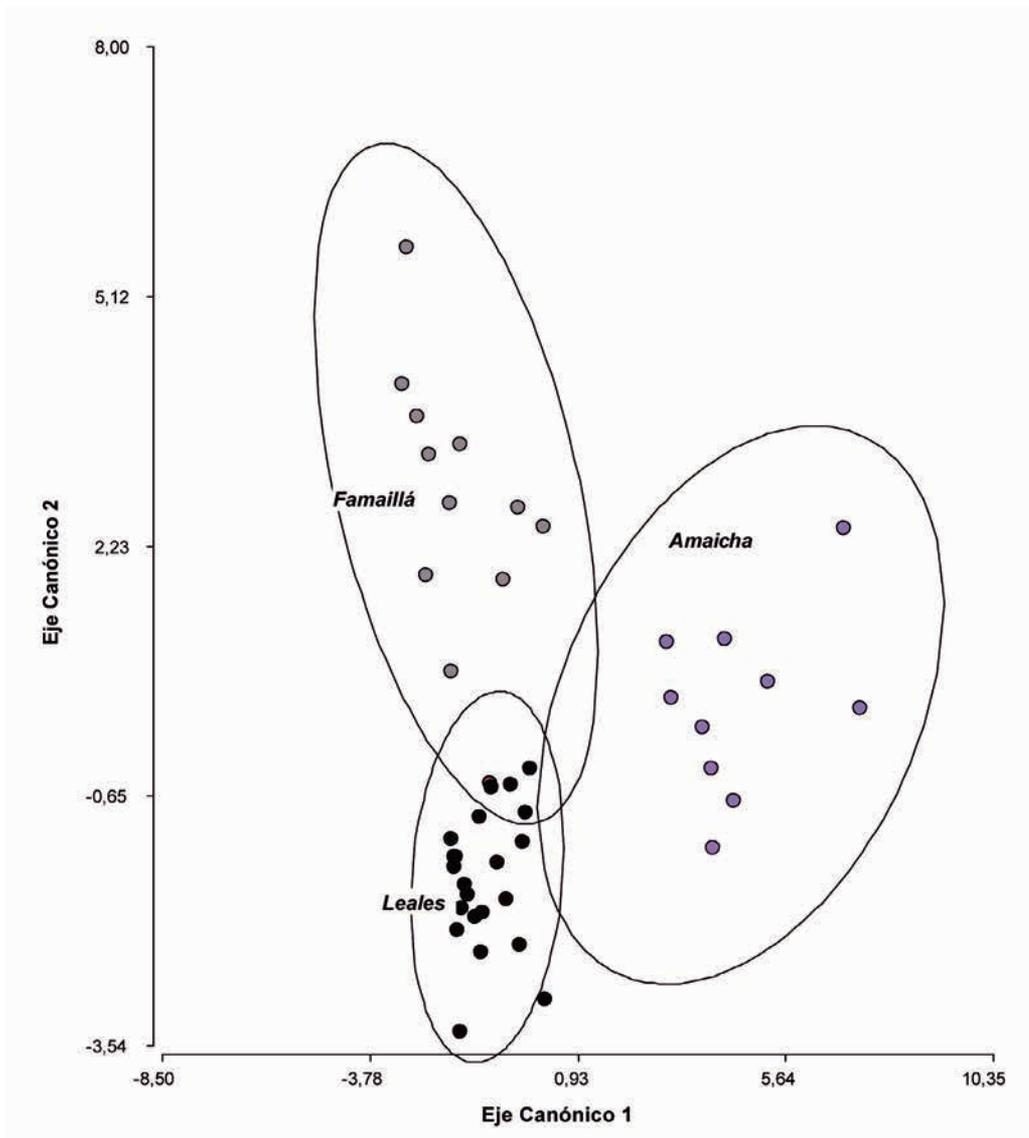


Figura 5. Representación de observaciones multivariadas en tres grupos, definidos *a priori*, en el espacio discriminante conformado por los ejes canónicos 1 y 2 del análisis. Contornos corresponden a elipses de predicción.

Grupo	Amaicha	Famaillá	Leales	Total	Error (%)
Amaicha	10	0	0	10	0,00
Famaillá	0	11	0	11	0,00
Leales	0	0	23	23	0,00
Total	10	11	23	44	0,00

Tabla 5. Tabla de clasificación cruzada (tasa de error aparente).

Análisis de conglomerados

Se observa que los propóleos de Leales se separan del resto formando un grupo (figura 4). Famaillá y Amaicha conforman otro grupo.

Análisis discriminante

Con el objeto de lograr una representación de las observaciones en el espacio donde las diferencias entre los grupos sean maximizadas se realizó un análisis discriminante

sobre las variables estudiadas con respecto a la localidad de origen, considerada como variable de clasificación.

Se utilizaron dos funciones para el análisis, donde los coeficientes de ponderación corresponden a los coeficientes de las funciones canónicas discriminantes que se presentan a continuación:

En la tabla 4 se indican los autovalores, es decir, el peso de cada una de las funciones a la hora de explicar el total de la varianza (% acumulado).

Se observa que la función 1 explica el 64% de la variación en las tres localidades analizadas.

En cada una de las pruebas se realizó la tabla de clasificación cruzada (tabla 5) que permite identificar datos outliers o mal clasificados, encontrando que en todos los casos resultó ser cero la tasa de error aparente.

La figura 5 indica que podrían clasificarse nuevas muestras de propóleos en uno de los tres grupos de acuerdo a los valores que asuman los parámetros fisicoquímicos.

CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos de los propóleos de Tucumán mostraron concordancia con los informados previamente para propóleos del noroeste argentino. Los de Amaicha del Valle se asocian con el contenido de impurezas mecánicas y flavonoides totales, los de Leales con las ceras y los de Famaillá con resinas y fenoles totales. Contrastando con los requisitos del Código Alimentario Argentino resulta que todos pueden ser aprovechados, ya sea como propóleos en bruto o bien procesándolos para obtener otros productos con mayor valor agregado, promoviendo la diversificación de los apiarios y mejorando la competitividad de los apicultores.

El análisis quimiométrico mostró que los parámetros fisicoquímicos poseen además capacidad discriminante respecto del origen geográfico, lo que permitiría clasificar otros propóleos en una de las tres localidades consideradas, no obstante sería necesario analizar un número mayor de muestras para construir un modelo más robusto.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo se realizó en el marco del proyecto específico PNAPI 1112043 "Estrategias para agregar valor a la producción apícola argentina".

A Juan Domingo Sal y a Josefina Gringola por las listas de especies vegetales en Leales y Famaillá.

BIBLIOGRAFÍA

BEDASCARRASBURE, E.; MALDONADO, L.; PÉREZ, O.; SEGURA, C.; ÁLVAREZ, A.; VAN DER HORST, A.; TABERA, A. 2000. Caracterización de propóleos argentinos. II. Valles Calchaquies. Congreso Internacional de Propóleos, 1-2 de septiembre de 2000. Buenos Aires.

BEDASCARRASBURE, E.; MALDONADO, L.; ÁLVAREZ, A.; RODRÍGUEZ, E. 2004. Contenido de Fenoles y Flavonoides del Propóleos Argentino. *Acta Farmacéutica Bonaerense*. 23 (3): 369-72.

BEDASCARRASBURE, E.; MALDONADO, L.; FIERRO MORALES, W.; ÁLVAREZ, A. 2006. Propóleos: Caracterización y normalización de propóleos argentinos. Revisión y actualización de composición y propiedades. Edit. Magna. S.M. de Tucumán, Tucumán, Argentina. p. 218.

BEDASCARRASBURE, E. 2011. Consolidando la apicultura como herramienta de desarrollo. Gestión innovadora: claves del éxito colectivo. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. p. 88.

BERNARDI, S.; FAVARO-TRINDADE, C.S.; TRINDADE, M.A.; BALIEIRO, J.C.C.; CAVENAGHI, A.D.; CONTRERAS CASTILLO, C.J. 2013. Italian-type salami with propolis as antioxidant. *Italian Journal Food Science*, 25, 433-441.

CODIGO ALIMENTARIO ARGENTINO. Capítulo xvi. Correctivos y coadyuvantes. (Disponible: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XVI.pdf verificado: 22 de febrero de 2017).

DE OLIVEIRA, J.S.; DE QUEIROZ, A.C.; LANA, R.D.P.; MANTOVANI, C.; ANTÔNIA, R.; GENEROSO, R. 2006. Efeito da monensina e da própolis sobre a atividade de fermentação de aminoácidos in vitro pelos microrganismos ruminais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(1), 275-281.

DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (Disponible: <http://www.infostat.com.ar> verificado: 14 de agosto de 2017).

FEÁS, X.; PACHECO, L.; IGLESIAS, A.; ESTEVINHO, L. 2014. Use of Propolis in the Sanitization of Lettuce. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7), 12243-12257. <http://doi.org/10.3390/ijms150712243>

GREGORIS, E.; FABRIS, S.; BERTELLE, M.; GRASSATO, L.; STEVANATO, R. 2011. Propolis as potential cosmeceutical sunscreen agent for its combined photoprotective and antioxidant properties. *International Journal of Pharmaceutics*, 405(1-2), 97-101. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.11.052>

IRAM-INTA 15935-1. Propóleos en bruto. Norma Argentina.2008. Subcomité de productos agroalimentarios del NOA. Grupo de trabajo Miel Regional. Subgrupo de Trabajo propóleos. Buenos Aires. Argentina.

ISLA, M.I.; NIEVA MORENO, M.I.; SAMPIETRO, R.; VATTUONE, M.A. 2001. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2), 165-70. (Disponible: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11390131> verificado: 14 de agosto de 2017).

ISLA, M.I.; PAREDES-GUZMAN, J.F.; NIEVA MORENO, M.I.; KOO, H.; PARK, Y.K. 2005. Some Chemical Composition and Biological Activity of Northern Argentine Propolis. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1166-1172.

ISLA, M.I.; NIEVA MORENO, M.I.; SAMPIETRO, R.; VATTUONE, M.A. 2001. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2), 165-70. (Disponible: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11390131> verificado: 14 de agosto de 2017).

KUCHARZEWSKI, M.; KÓZKA, M.; URBANEK, T. 2013. Topical treatment of nonhealing venous leg ulcer with propolis ointment. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM* 254017. <http://doi.org/10.1155/2013/254017>

KUREK-GÓRECKA, A.; RZEPECKA-STOJKO, A.; GÓRECKI, M.; STOJKO, J.; SOSADA, M.; SWIERCZEK-ZIEBA, G. 2013. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(1), 78-101. <http://doi.org/10.3390/molecules19010078>

LOZINA, L.; PEICHOTO, M.; BOEHRINGER, S.; KOSCINCZUK, P.; GRANERO, G.; ACOSTA, O. 2010. Efficacy of Argentine

- propolis formulation for topical treatment of canine otitis externa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia*, 62(6), 1359-1366. <http://doi.org/10.1590/S0102-09352010000600010>
- MALDONADO, L. 2000. Perfil de los propóleos argentinos. Congreso Internacional de propóleos. Buenos Aires. Argentina.
- NIEVA MORENO, M.I.; ISLA, M.I.; CUDMANI, N.G.; VATTUONE, M.A.; SAMPIETRO, A.R. 1999. Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 68(1-3), 97-102. (Disponible: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10624867> verificado: 14 de agosto de 2017).
- NIEVA MORENO, M.I.; ISLA, M.I.; SAMPIETRO, A.R.; VATTUONE, M.A. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 71, 109-114.
- R CORE TEAM. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (Disponible: <https://www.R-project.org/> verificado: 14 de agosto de 2017).
- RAMOS, A.F.L.; MIRANDA, J.L. 2007. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. *J. Venom. Anim. Toxins*, 13(4), 697-710.
- SALAS, A.; ORDOÑEZ, R.; SILVA, C.; MALDONADO, L.; BEDASCARRASBURE, E.; ISLA, M.I.; ZAMPINI, I.C. 2014. Antimicrobial activity of Argentinean propolis against *Staphylococcus* isolated of canine otitis. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. Mangalayatan University, India. vol.2 n.º. pp. 197-207.
- SALAS, A.; ALBERTO, M.R.; ZAMPINI, I.C.; CUELLO, S.; MALDONADO, L.M.; RÍOS, J.L.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. 2016. Biological activities of polyphenols-enriched propolis from Argentina arid regions. *Phytomedicine* 23. 27-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2015.11.007>
- SANTOS, E.L.; CRISTIANO, F.; PONTES, E.C., LIRA, R.C., CAVALCANTI, M.C.A. 2013. Resíduo do processamento do extrato de própolis vermelha em ração comercial para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), 4(2), 179-185.
- SFORCIN, J.M.; FERNANDES LOPES, C.; BANKOVA, V.; FUNARI, S.R. 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 243-9.
- SOLÓRZANO, E.; MALDONADO, L.; BEDASCARRASBURE, E.; VERA, N.; ORDOÑEZ, R.; ISLA, M.I. 2008. Estudio comparativo de indicadores químicos y funcionales de propóleos del Noroeste Argentino. 2.º Congreso Argentino de Apicultura. Mar del Plata. 7 al 9 de agosto.
- SOLÓRZANO, E.; VERA, N.; CUELLO, S.; ORDÓÑEZ, R.; ZAMPINI, C.; MALDONADO, L.; BEDASCARRASBURE, E.; ISLA, M.I. 2012. Chalcones in Bioactive Argentine Propolis Collected in Arid Environments. *Natural Product Communications*. Vol. 7. Issue 7. pp. 879-882.
- VERA, N.; SOLÓRZANO, E.; ORDOÑEZ, R.; MALDONADO, L.; BEDASCARRASBURE, E.; ISLA, M.I. 2011. Chemical Composition of Argentinean Propolis Collected in Extreme Regions and its Relation with Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Natural Product Communications*. Vol. 6. Issue 6. pp. 823-827.