

Propóleos de Nariño: Propiedades fisicoquímicas y actividad biológica*

Propolis from Nariño: Physicochemical properties and biological activity of Propolis

SALAMANCA-GROSSO, GUILLERMO¹; OSORIO-TANGARIFE, MÓNICA-PATRICIA²;
CABRERA-MONCAYO, JESUS ANTONIO³

Historial del artículo

Recibido para evaluación: 17 febrero 2021.

Aprobado para publicación: 12 Noviembre 2021.

* Título del proyecto de origen: "Identificación de marcadores moleculares en propóleos colombianos mediante espectrometría de masas con ionización electrospray y valoración de sus propiedades fisicoquímicas". Financiación: Oficina de Investigaciones y Desarrollo Científico a través de la Coordinación General EOCYT- P 410120516, 2018.

- 1 Universidad del Tolima, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Grupo de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Fisicoquímicas de Alimentos (GIMELLIFISTO). Ph.D. Ciencias Químicas. Ibagué, Colombia. <http://orcid.org/0000-0001-8947-7574>.
- 2 Universidad del Tolima, Grupo de investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Fisicoquímicas de Alimentos (GIMELLIFISTO). Msc. Microbiología Tropical. Ibagué, Colombia. <http://orcid.org/0000-0003-4176-7550>.
- 3 Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias, Departamento de Química. Ph.D Ciencias Biomédicas. Pasto, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-5968-226X>

Correspondencia: gsalaman@ut.edu.co

Cómo citar este artículo: SALAMANCA-GROSSO, GUILLERMO ; OSORIO-TANGARIFE, MÓNICA-PATRICIA; CABRERA-MONCAYO JESUS ANTONIO. Propóleos de Nariño: Propiedades fisicoquímicas y actividad biológica. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, v. 20, n. 1, 2022, p. 152-164. Doi: <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n1.2022.1863>

RESUMEN

El propóleo, es un producto natural de consistencia resinosa y cauchosa elaborado por las abejas a partir de exudaciones de plantas. En este trabajo se caracterizaron las propiedades fisicoquímicas, atributos sensoriales y actividad biológica de extractos etanólicos de propóleo de tres diferentes zonas biogeográficas del departamento de Nariño. Muestras de propóleo crudo beneficiados de cada región fueron comparadas, y sus extractos alcohólicos fueron evaluados a través de métodos de separación y técnicas de espectroscopía. La actividad biológica fue evaluada usando cepas bacterianas de Staphylococcus aureus y Escherichia coli. Los análisis cromatográficos revelaron la presencia de metabolitos secundarios con actividad biológica frente a las bacterias estudiadas. Los espectros de infrarrojo y los cromatogramas, exhibieron diferencias entre las muestras, identificados como tipo -O y -B. La fracción fenólica, presentó diferencias significativas para flavonas y flavonoles. Los índices de oxidación fueron inferiores a 5 segundos. En relación a los extractos etanólicos evaluados, éstos mostraron una mayor sensibilidad sobre S. aureus en la técnica de Kirby-Bauer. La investigación realizada aporta al estudio y caracterización de propóleos de esta zona colombiana, ampliando el conocimiento sobre productos de origen natural.

ABSTRACT

Propolis is natural product processed by honey bees from plant exudations with a resinous and rubber-like consistency. This work examines the physicochemical properties, sensory attributes, and biological activity of propolis ethanol extracts from three different biogeographic zones in department of Nariño, Colombia. Samples of raw propolis obtained from each area were compared, and their alcoholic extracts studied through separation methods and spectroscopic techniques. Biological activity was evaluated using Staphylococcus aureus and Escherichia coli strains. Chromatographic analysis revealed the presence of secondary metabolites with potential biological activity. Infrared spectrum and chromatograms displayed differences between group samples, identified as type -O and -B. Phenolic fraction exhibited significant variations on flavones and flavanols. Oxidation rates were lower than 5 seconds. Evaluated ethanolic extracts exposed greater sensitivity to S. aureus under the Kirby-Bauer technique. Present research contributes towards expanding knowledge about natural-origin products like propolis on such Colombian regions.

INTRODUCCIÓN

El propóleo es reconocido en todo el mundo, ha sido registrado en el Chemical Abstracts Service (CAS) 9009-62-5, como un producto natural elaborado por distintos géneros de abejas, a partir de exudaciones mucilaginosas, gomas, materiales lipofílicos, látex y material resinoso de plantas, que traen a sus colmena y mezclan con secreciones glandulares de la hipofaringe y glándulas cereras. Son de consistencia pastosa, con

PALABRAS CLAVE:

Actividad biológica; Fenoles y flavonoides; Propóleos colombianos; Propiedades fisicoquímicas; HPTLC; LC-ESI(-)-MS/MS.

KEYWORDS:

Biological activity; Phenols and flavonoids; Colombian propolis; Physicochemical properties; HPTLC; LC-ESI(-)-MS/MS.

tonalidades castaño, marrón, pardo, rojizo y verde, según el origen botánico y geográfico (Anjum *et al.*, 2019; El-Guendouz *et al.*, 2019). Estos productos han llamado la atención en relación a la salud de las abejas y se ha determinado su papel como protector, antiséptico de la colmena y responsable de la salud e inmunidad frente a los agentes infecciosos (Ciftci-Yilmaz *et al.*, 2017; Anjum *et al.*, 2019). En las regiones tropicales, las abejas encuentran diversas fuentes de elaboración, por tanto, su composición química es diferente y variable debido a la riqueza y diversidad de la flora tropical. Existen en la literatura reportes de un sinnúmero de propiedades biológicas sobre los propóleos que actúan como antitumorales, antiprotozoarios, anticancer (Sforzin, 2016; Omar *et al.*, 2017), antihipertensivos, antimicrobianas, antiinflamatorias, antihepatotóxicos y antivirales, entre otras (Veiga *et al.*, 2017; El-Guendouz *et al.*, 2019; Touzani *et al.*, 2019).

Los componentes químicos de los propóleos varían de acuerdo a las fuentes botánicas y a las áreas biogeográficas donde están instaladas las colmenas. Los métodos instrumentales de análisis, actualmente han permitido identificar en matrices de propóleos alrededor de 350 compuestos fitoquímicos (Guzelmeric *et al.*, 2018; Touzani *et al.*, 2019). Considerando la demanda de este tipo de productos, es indispensable establecer los parámetros para identificar el control de calidad de los propóleos de las regiones. El advenimiento y desarrollo de los métodos cromatográficos de análisis han posibilitado el estudio y cuantificación de principios activos presentes en distintas matrices de propóleos (Ahmed *et al.*, 2017; Drescher *et al.*, 2017).

La actividad antibacteriana es la más estudiada, se conoce el efecto de extractos etanólicos de propóleos frente *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *S. saprophyticus*, *E. faecalis* (Zainullin *et al.*, 2018; Seibert *et al.*, 2019; Przybyłek *et al.*, 2019; Veloz *et al.*, 2019). En Colombia, las investigaciones realizadas sobre actividad biológica *in vitro* de propóleos han sido reportadas desde la región Andina, Boyacá, Caldas, Cundinamarca y Santander (Bastos *et al.*, 2011; Talero *et al.*, 2012; Herrera *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 2012; Velásquez y Montenegro, 2017). Esta actividad frente a patógenos ha sido atribuida a la presencia terpenos, flavonoides y antraquinonas, principalmente.

La producción de propóleos en Colombia ha sido relacionada desde diversas zonas biogeográficas. Algunos trabajos sobre caracterización y cuantificación en muestras de Arauca, Boyacá y San Andrés (Salamanca y Osorio, 2018) y sobre el perfil mineral de muestras de propóleos del Tolima (Salamanca *et al.*, 2004). Adicionalmente, se han reportado trabajos sobre actividad antioxidante de propóleos colectados en Atlántico y Santander (Rodríguez *et al.*, 2012; Herrera *et al.*, 2012). La concepción de propóleos más actualizada entorno a su control de calidad, consiste en la determinación de sus propiedades fisicoquímicas y la estimación de su actividad biológica. En este contexto, el objetivo de este trabajo se ha centrado en el estudio de las propiedades fisicoquímicas, perfilación organoléptica, estimación de componentes minerales, así como la actividad biológica de muestras de propóleos colectados en tres zonas de biogeográficas de Nariño.

MÉTODO

Reactivos

Todos los reactivos usados en este trabajo fueron de grado analítico: etanol, metanol, acetato de etilo, ácido fórmico y tolueno (Sigma Aldrich de Steinheim, Germany), aminoetildifenilborinato (Fluka Steinheim, Germany), polientilenglicol, ácido sulfúrico, hidróxido de potasio (Merck, Hohenbrunn, Germany), patrones de pinocembrina, galangina, pinobanksina, naringenina, ácido cafeico, crisina, quercetina y apigenina (Sigma-Aldrich) y 2,4 dinitrofenilhidrazina (2,4D) (Merck, Alemania).

Muestras

Se colectaron nueve muestras de propóleos de tres zonas biogeográficas diferentes, bosque húmedo montano bajo (*bh-MB*), muy húmedo premontano (*bh-PM*) y muy húmedo premontano (*bmh-PM*), para las localidades de Buesaco (1°23'05"N y 77°09'23"O, 1959 msnm, 18 °C, 1472 mm/año), San Juan de Pasto/Catambuco, Vereda Botana, (Pasto, 1°12'49"N y 77°16'52"O, 2534 msnm, 13 °C, 1273 mm/año) y La Unión (1°36'19"N, 77°07'47"N, 1726 msnm, 19 °C). Las colectas se realizaron siguiendo criterios de aleatoriedad, con tres niveles de tratamiento y tres repeticiones. La toma de muestras fue realizada usando raspado directamente desde el interior de las colmenas tipo Langstroth removiendo el producto adherido en las caras laterales, tapa, entretapa y alzas. El material se dispuso en frascos ámbar tipo *twist off* de 250 mL y almacenado a -10 °C, hasta el momento del análisis.

Parámetros fisicoquímicos

Se registró el peso, aspecto, textura, color, olor, sabor e impurezas visibles de los propóleos colectados, así como los puntos de fusión, contenido de humedad, sólidos fijos, cenizas, masas mecánicas, resinas y ceras. Para el análisis de cenizas, se evaluó el contenido mineral mediante espectrofotometría de absorción atómica de calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, níquel, potasio, sodio y zinc. En el extracto etanólico (EEP) se cuantificó la acidez total, pH, fenoles y flavonoides totales, siguiendo los métodos descritos por Salamanca (2017). La acidez se determinó sobre 50 mL de agua destilada, libre de CO₂ en presencia de fenoltaleína y el volumen total de la solución de hidróxido correspondió a la fracción ácida presente expresada como porcentaje de ácido tartárico. El contenido de fenoles totales, las flavonas, flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles, se determinaron por espectrofotometría UV-Vis. Los fenoles se determinaron siguiendo los protocolos descritos por Baba y Malik (2015) y se expresaron como mg/g de EEP. Las flavonas, flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles, se realizaron usando metodologías descritas por Kasiotis *et al.* (2017) y Betances-Salcedo *et al.* (2017), los resultados fueron expresados como mg/g. Las evaluaciones sensoriales se adelantaron siguiendo criterios de Meilgaard (2007), usando escala hedónica sobre seis atributos que fueron evaluados por cinco jueces entrenados. El perfil densitométrico de los extractos se realizó mediante técnicas cromatográficas de alta eficiencia (HPTLC), conforme a Salamanca y Osorio (2018).

Las determinaciones de minerales se realizaron usando espectrofotometría de absorción atómica, haciendo uso de lámparas de cátodo hueco por elemento: Calcio, Hierro, potasio, magnesio y manganeso. El índice de oxidación se midió en extractos alcohólicos (EEP), siguiendo la metodología descrita por Salamanca (2018). La absorbancia específica de los espectros UV-Vis de los EEP, se obtuvo por el método de Miyataka *et al.* (1997) a la longitud de onda de máxima absorción, usando espectrofotómetro UV-Vis Genesys 10s. Además, los EEP, se evaluaron usando técnicas de espectroscopía FT-IR en la unidad Perkin Elmer Spectrum One spectrometer (Perkin Elmer, USA™), la proyección final de los espectros se realizó haciendo uso del paquete Origin®2019. Los análisis mediante LC-ESI(-)-MS/MS procedieron tras la homogenización mediante ultrasonido, filtración y centrifugado, a través de espectrometro de masas MS/MS, usando un sistema a 7,2T LTQ FT Ultra (Thermo Scientific), dispuesto con chip-based direct infusión, nanoelectrospray ionisation source, la adquisición de datos se realizó en el rango 150-800 m/z, siguiendo la metodología descrita por Sawaya *et al.* (2011).

Actividad biológica

La actividad antibacteriana de los EEP, se determinó conforme a los protocolos de Farmacopea Americana USP 24, (Cupull-Santana *et al.*, 2013), operando métodos difusionales sobre bacterias Gram (+) de *Streptococcus* y bacterias Gram (-) de *Escherichiae*, las cuales fueron cultivadas en agar tripticasa de soya bajo condiciones aeróbicas por 18 h a 37±1 °C. En las determinaciones se usaron los métodos de difusión por pozos y de Kirby-Bauer. El crecimiento de los microorganismos y la difusión del antibiótico se estimaron de acuerdo con el tamaño de las zonas de inhibición a 24, 48 y 72 horas. El mismo procedimiento fue aplicado a un control de etanol al 80 %, la solución de concentración de 10 mg/mL fue preparada a partir de la solución estándar de sulfato de estreptomina (0,1 % p/v) en agua destilada estéril con buffer fosfato pH 8,0.

Estadística

Las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado en cada una de las muestras colectadas. En todos los casos se estimó el promedio, desviación estándar y coeficientes de variación de cada parámetro. Las evaluaciones para el análisis de varianza de una vía se efectuaron haciendo uso del paquete estadístico JMP14™. Las evaluaciones densitométricas de los perfiles de cromatografía de capa fina de alta eficiencia (HPTLC) haciendo uso del software libre ImageJ (Wayne Rasband, NIH, USA).

RESULTADOS

Los propóleos estudiados corresponden a los tipos III, IV y V, que corresponden a las zonas biogeográficas enmarcadas y consistentes con los observados en otras muestras de zonas tropicales (Salamanca, 2017). Los extractos etanólicos de los propóleos de las zonas de estudio presentaron un carácter ácido, las diferencias en este parámetro pueden ser explicadas teniendo como referencia factores climáticos, la oferta floral y el tiempo en el cual las abejas han propolizado las colmenas.

Los promedios para el contenido de cenizas entre muestras presentan diferencias significativas, siendo mayor en los propóleos de Pasto con 1,70 %. Los tenores de cera oscilaron entre 10,1 y 19,0 %. La mayor proporción de masas mecánicas se observaron en las muestras de Pasto, respecto de las otras dos zonas. Las resinas, son indicativas de la calidad del producto en términos de la actividad antioxidante, sus valores oscilaron entre 50,2 y 60,3 % (Cuadro 1).

Cuadro 1. Parámetros fisicoquímicos asociados a muestras de propóleos de tres zonas biogeográficas de Nariño.

Parámetros	Unidades	<i>bh-PM</i>	<i>bh-MB</i>	<i>bmh-PM</i>	Valores guía
		Buesaco	S.J. Pasto	La Unión	
Punto de fusión	°C	63,0 (1,00) ^a	59,0 (1,00) ^b	65,0 (1,00) ^a	60-100 °C
Cenizas	g/100 g	0,81 (0,27) ^a	1,70 (0,30) ^c	0,74 (0,10) ^{a,b}	-
Cera		10,1 (0,70) ^a	11,7 (3,40) ^{a,b}	19,0 (2,00) ^c	< 25 %
Resinas		60,3 (7,40) ^a	50,2 (2,60)	54,8 (7,54)	50-60 %
Masas mecánicas		27,3 (6,60) ^a	38,2 (3,10) ^b	29,0 (6,20) ^a	< 25 %
Acidez (A. tartárico)	mg/ 100 mL	6,60 (2,36) ^a	9,10 (1,26) ^b	16,4 (0,32) ^c	-
pH	-	4,20 (0,13) ^a	4,40 (0,11) ^b	4,10 (0,07) ^a	-

Letras iguales en la misma fila corresponden a valores comparables entre promedios observados en muestras. Desviación estándar (ds).

Las determinaciones de minerales, son menos frecuentes en muestras de propóleos y exponen variabilidad en el perfil de los elementos analizados. Los promedios observados presentaron menor variación para el contenido de hierro en las muestras de Pasto, frente a los de la Unión y Buesaco. Los elementos más representativos en todos los casos correspondieron a sodio y potasio (Cuadro 2).

Cuadro 2. Componentes de la fracción mineral de muestras de propóleos de tres zonas biogeográficas de Nariño.

Mineral	Buesaco	La Unión	S.J. Pasto	Mineral	Buesaco	La Unión	S.J. Pasto
	mg/Kg				mg/Kg		
Calcio	66,3 (21,2)	1298 (909)	2050 (950)	Sodio	436,1 (15,4)	340,5 (25,8)	431,1 (77,7)
Hierro	312 (59,8)	357 (57,9)	101,0 (10,0)	Zinc	72,9 (8,0)	110 (32,5)	35,0 (11,0)
Potasio	1529 (294)	1989 (632)	1832 (345,5)	Sodio/Potasio	0,285	0,171	0,235
Magnesio	47,3 (12,9)	359,6 (43,3)	763,6 (169,2)	Cobre	ND	ND	ND
Manganeso	11,6 (4,40)	91,2 (18,6)	5,64 (0,26)	Niquel	ND	1,61 (1,27)	ND

Desviación estándar (ds). ND: No determinado.

Los contenidos de fenoles presentaron diferencias importantes entre los grupos de muestras, valores están correlacionados con los promedios observados para flavanonas, flavonas y flavonoles, que también concuerdan con los tiempos de oxidación (Cuadro 3). El parámetro $E_{1\text{cm}}^{-1\%}$ de la absorción UV-Vis, es otro de los parámetros fisicoquímicos usados para evaluar la calidad de los extractos de propóleos y se relaciona con la actividad biológica de metabolitos secundarios como ácidos fenólicos y flavonoides. Los valores de $E_{1\text{cm}}^{-1\%}$ de las muestras, presentaron valores entre 77 y 370, siendo menores en los extractos de Buesaco, respecto de los extractos de la Unión y Pasto.

Cuadro 3. Compuestos fenólicos e índices de oxidación de EEP de tres zonas biogeográficas de Nariño.

Componente	Unidades	Buesaco	La Unión	S. J. Pasto
Fenoles	mg/g	55,0 (4,92)	69,1 (4,20)	36,6 (5,00)
Flavonas+Flavonoles		17,8 (2,90)	17,6 (1,42)	7,55 (0,43)
Flavanonas		37,1 (7,30)	51,5 (2,83)	29,1 (5,41)
$E_{1\text{cm}}^{-1\%}$	-	84-105	106-370	77-103
Índice de oxidación*	s	3,90 (0,80)	3,40 (1,10)	3,60 (0,50)

(*) En EEP. Valor guía (22 s). s: segundos. Desviación estándar (ds).

La huella espectral FT-IR de los extractos de propóleos estudiados son característicos (Figura 1), se observaron señales con oscilación y vibración (cm^{-1}) de grupos alifáticos (2930 y 2876), carbonilo (1660-1680), hidroxilo (3200-3650) y anillos aromáticos sustituidos (1500, 1580 y 1600). Las bandas de absorción (3300-3600 cm^{-1}), se relacionaron con grupos -OH de flavonas hidroxiladas, isoflavonoides con una banda significativa a 1680 propia de grupos carbonilo, a 1620 cm^{-1} , otras señales características se presentaron a 1440 cm^{-1} , 1283 y 1231 cm^{-1} que son frecuencias de vibración C=C-H propias de anillos aromáticos.

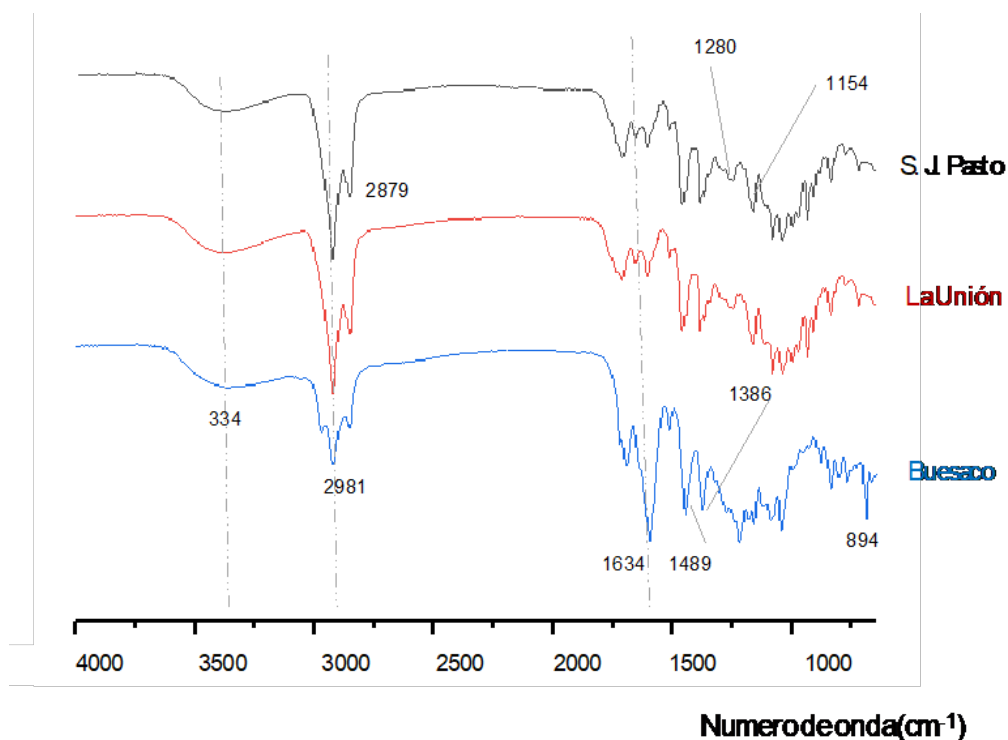


Figura 1. Espectros de infrarrojo (FT-IR) de EEP de tres zonas geográficas de Nariño.

La inspección visual de los cromatogramas mediante HPTLC, en principio no revelaron diferencias mayores para los hR_p , sin embargo, se identificaron bandas representativas de compuestos fenólicos, propios de los propóleos de Nariño. Se presentaron 13 metabolitos secundarios que se asocian en los cromatogramas con diferentes tonos de color, así: verde (apigenina, naringenina y crisina), naranja (quercetina) y azul (ácido cafeico, galangina, feruloil y p-derivados del ácido coumarico) y que concuerdan con otros reportes (Guzelmeric *et al.*, 2018). Los análisis densitométricos, presentaron gran similitud en la composición de los EEP de las muestras de Buesaco y La Unión, que difirieron ligeramente respecto de las de Pasto (Figura 2).

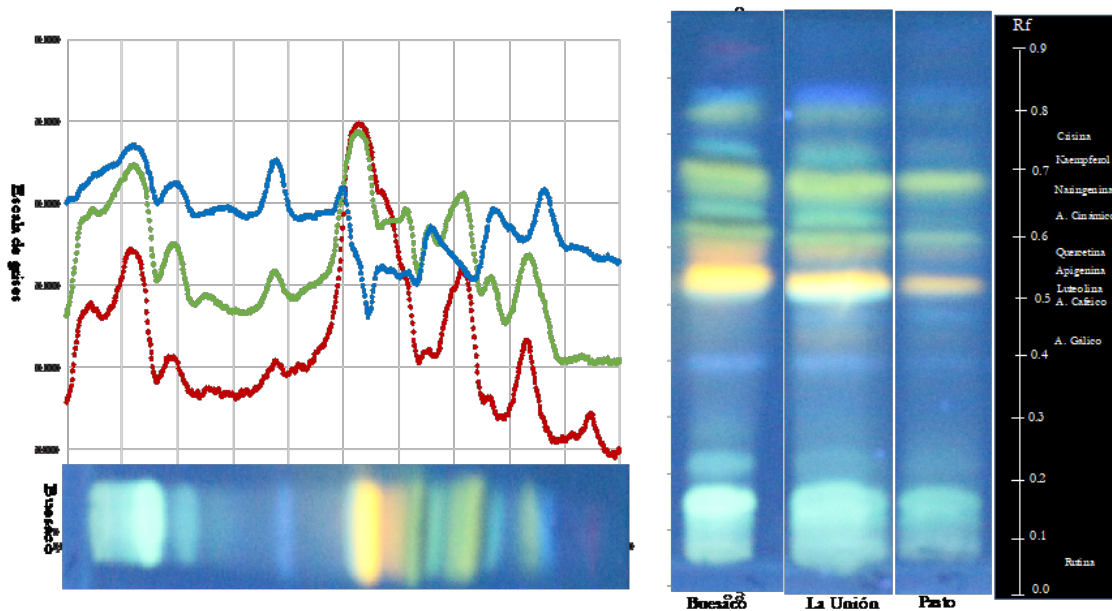


Figura 2. Huella dactilar y perfil densitométrico de cromatogramas de muestras de propóleos de tres zonas geográficas de Nariño.

La huella digital de los cromatogramas mediante técnicas LC-ESI(-)-MS/MS de los extractos de Buesaco y La Unión, presentaron patrones de fragmentación similares (Figura 3). La relación (m/z), reveló la presencia de acetina (283), ácido cafeico (179), apigenina (269), fenetil éster de ácido cafeico (179), crisina (253), crisin-5-metilester (267), kaempferol (285), naringenina (271), pinocembrina (255), pinobanksina (271), quercetina (253), luteolin-8-O-glucósido (439) y pinocembrin 8-O-glucósido (439). En los análisis LC-ESI(-)-MS/MS de los EEP, se muestran patrones similares con otros tipos de propóleos reportados en la literatura (Hochheim *et al.*, 2019). Las muestras analizadas presentaron un marcador (m/z : 501), que también ha sido identificado en muestras de Cuba y nordeste de Brasil (Cuesta-Rubio *et al.*, 2007; López *et al.*, 2014; Anjum *et al.*, 2019).

El perfil sensorial de las muestras de Buesaco y La Unión, presentó diferencias en el aspecto, con similitud en los descriptores olfativos y gustativos, que los diferencian de las muestras de Pasto (Figura 4). Las características organolépticas exhibieron aspectos plásticos, maleables, pegajosos y opacos, de tonos marrón con algunas tonalidades verdosas, aromas resinosos y elevada astringencia en muestras de Buesaco y la Unión, que difieren de las de Pasto, que presentaron tonos marrón, de aspecto terroso, resinoso, pegajoso y opaco, sus puntos de fusión mostraron valores similares entre 59 a 65 °C.

En cuanto a la actividad biológica, se observó un importante efecto inhibitorio de los extractos frente a *S. aureus* y *E. coli*. Los halos de inhibición para *E. coli* y *S. aureus* observados mediante Kirby-Bauer, revelaron un ligero efecto de sensibilidad de los extractos respecto del método de difusión (Figura 5). El uso de estreptomycin como referencia a 10 µg/mL mostró mayores halos de inhibición en relación a los extractos de las muestras estudiadas. Los extractos de propóleos exhibieron mayor actividad frente a microorganismos Gram (+) que Gram (-), resultados que son similares a los reportados para *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* y *S. thermophilus*, (AL-Ani *et al.*, 2018), en tanto que los hallazgos y observaciones con los EEP de Nariño son comparables con los datos reportados por Selvaraj *et al.* (2018).

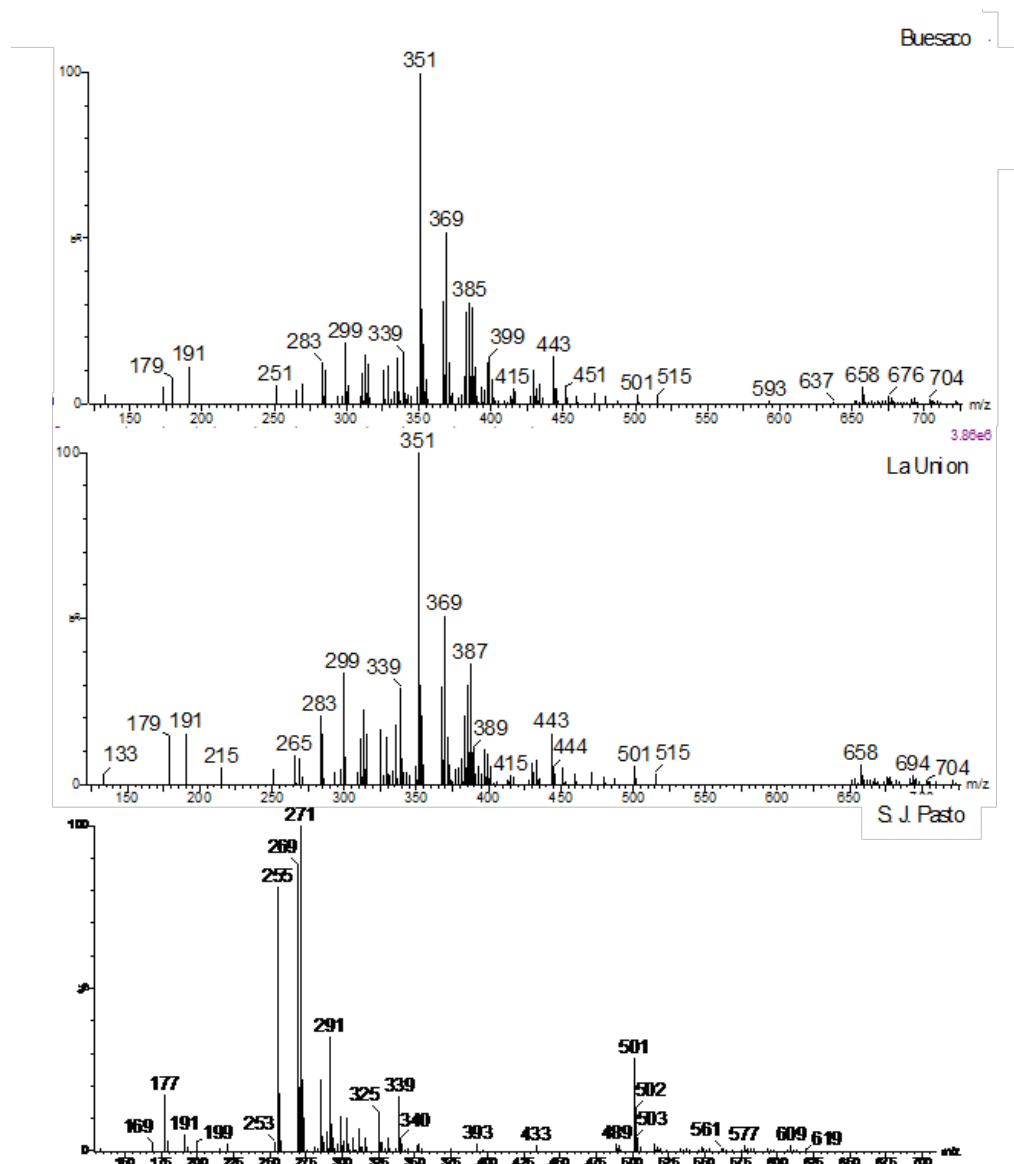


Figura 3. Patrón de fragmentación LC-ESI(-)-MS de muestras de propóleos de Buesaco, La Unión y S.J. de Pasto, Nariño.

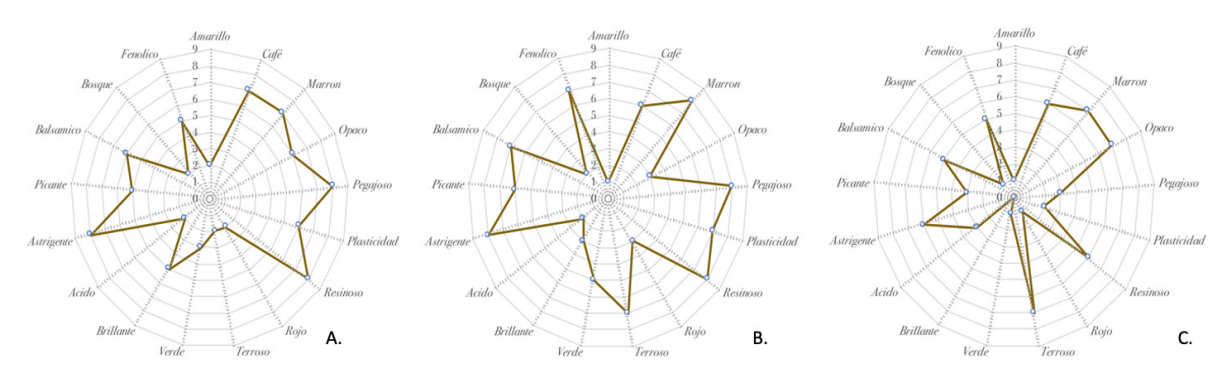


Figura 4. Perfil sensorial de los atributos asociados a muestras crudas de propóleos de las zonas de A. Buesaco, B. La Unión y C. S.J. Pasto, Nariño, Colombia.

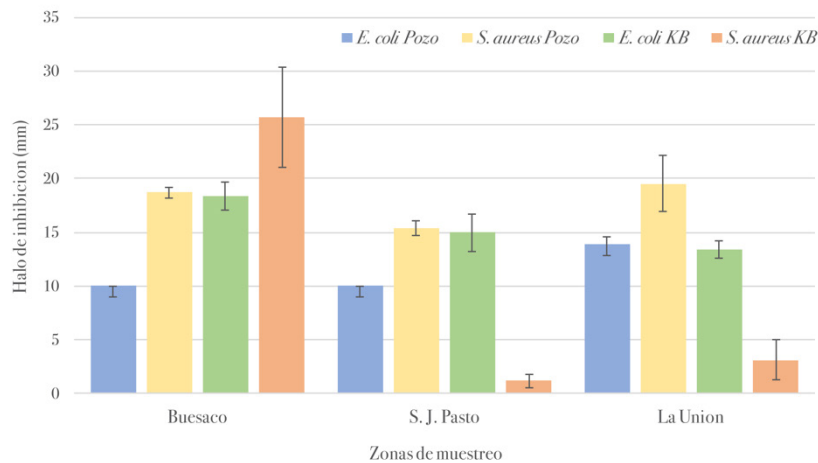


Figura 5. Actividad antibacteriana de extractos alcohólicos de propóleos de Nariño frente a *E. coli* (ATCC 9.341) y *S. aureus* (ATCC 25.923) métodos de Kirby-Bauer y difusión en pozos

El contenido de resinas observado en las muestras de Nariño fue superior a los valores encontrados en las de Atlántico (Rodríguez *et al.*, 2012), Bajo Cauca (Viloria *et al.*, 2012) y La Unión, Antioquia (Palomino *et al.*, 2010). En cuanto a los minerales, los valores observados fueron menores respecto a otros propóleos reportados en la literatura (Salamanca *et al.*, 2004). Los rendimientos de resinas del estudio, son concomitantes con los perfil de fenoles y flavonoides totales (mg/g), y con los reportados por otros investigadores (Delgado *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

El trabajo permitió identificar y caracterizar tipos de propóleos de tres zonas biogeográficas del departamento de Nariño sobre atributos fisicoquímicos, sensoriales y actividad biológica. La huella digital de los espectros de infrarrojo y los cromatogramas HPTLC y ESI(-)-MS/MS, permitieron clasificar las muestras como tipo-O y tipo-B y categorías III a V, como propios de zonas altoandinas propias de región cafetera. El uso de técnicas espectrofotométricas complementarias y de cromatografía revelaron la presencia de metabolitos secundarios con potencial actividad biológica. El trabajo ha hecho posible demostrar la sensibilidad de los propóleos de Buesano, La Unión y S.J. Pasto, frente a *S. aureus* y *E. coli*, en la técnica de difusión en pozo y uso de sensibilizadores. Los hallazgos contribuyen al estudio de matrices complejas asociadas al sistema apícola productivo desde matrices de propóleos colombianos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan gratitud Instituto de Biología de la Universidad de Campinas (Brasil), por el acompañamiento y disposición para la evaluación cromatográfica (HPLC-ESI-MS). A la Facultad Ingeniería y Zootecnia de la Universidad de São Paulo (Pirassununga-Brasil), a los Departamentos de Química de las Universidades de Nariño y Tolima. A los evaluadores y colaboradores permanentes de la Revista Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial por las observaciones y recomendaciones durante el proceso de arbitraje.

REFERENCIAS

- AHMED, R.; TANVIR, E.M.; HOSSEN, M.; AFROZ, R.; AHMMED, I.; RUMPA, N.E.; PAUL, S.; HUA-GAN, S.; SULAIMAN, S.; KHALIL, M. Antioxidant properties and cardioprotective mechanism of Malaysian propolis in rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, n. 5370545, 2017, p. 1-11.
<https://doi.org/10.1155/2017/5370545>
- AL-ANI, I.; ZIMMERMANN, S.; REICHLING, J.; WINK, M. Antimicrobial Activities of European Propolis Collected from Various Geographic Origins Alone and in Combination with Antibiotics. Medicines, v. 5, n. 1, 2018, p. 2-17.
<https://doi.org/10.3390/medicines5010002>
- ANJUM, SI.; ULLAH, A.; KHAN, KA.; ATTAULLAH, M.; KHAN, H.; ALI, H.; BASHIR, M.; TAHIR, M.; ANSARI, M.; GHARAMH, H.; ADGABA, N.; DASH, C. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi Journal of Biological Science, v. 26, n. 7, 2019, p. 1695-03.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- BABA, S.A.; MALIK, S.A. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. Journal of Taibah University for Science, v. 9, n. 4, 2015, p. 449-54.
<https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.11.001>
- BARRERA, E.; GIL, J.; RESTREPO, A.; MOSQUERA, K.; DURANGO, D. A coating of chitosan and propolis extract for the postharvest treatment of papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiiiana). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, v. 68, n. 2, 2015, p. 7667-78.
<https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n2.50982>
- BASTOS, E.M.; GUZMÁN, D.; FIGUEROA, J.; TELLO, J.; SCOARIS, D.O. Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) de la región andina colombiana. Acta Biológica Colombiana, v. 16, n. 1, 2011, p. 175-184. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2011000100013
- BETANCES-SALCEDO, E.; REVILLA, I.; VIVAR-QUINTANA, A.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M. Flavonoid and Antioxidant Capacity of Propolis Prediction Using Near Infrared Spectroscopy. Sensors, v. 17, n. 7, 2017, p. 1647.
<https://doi.org/10.3390/s17071647>
- CIFTCI-YILMAZ, S.; AZMAN, Z.N.; KOSEM, K.; GUNDUZ, E.; GRENMAN, RG. Evaluating Antioxidant Capacity of Different Propolis Samples from Konya, Turkey and Their Inhibitory Effect on Head and Neck Cancer Cells. BioRxiv. n., 2017, 183913.
<https://doi.org/10.1101/183913>
- CUESTA-RUBIO, O.; PICCINELLI, A.L.; CAMPO-FERNÁNDEZ, M.; MÁRQUEZ-HERNÁNDEZ, I.; ROSADO, A.; RASTRELLI, L. Chemical characterization of Cuban propolis by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR: the brown, red, and yellow Cuban varieties of propolis. Journal Agricultural and Food Chemical, v. 55, 2007, p. 7502-09.
<https://doi.org/10.1021/jf071296w>
- CUPULL-SANTANA, R.D.; CORTÉS-RODRÍGUEZ, R.; OLAZÁBAL-MANSO, E.E.; HERNÁNDEZ-MEDINA, C.A. Actividad antifúngica de propóleos obtenidos en tres provincias de Cuba sobre hongos contaminantes en cultivos de tejidos vegetales. Acta Universitaria, v. 23, n. 6, 2013, p. 3-9.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41629561001>

- DELGADO, A.M.L.; ANDRADE, O.J.; RAMÍREZ, B.C.A. Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, v. 6, n. 28, 2015, p. 74-87.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000200006
- DRESCHER, N.; KLEIN, A.M.; NEUMANN, P.; YAÑEZ, O.; LEONHARDT, S. Inside honeybee hives: Impact of natural propolis on the ectoparasitic mite *Varroa destructor* and viruses. *Insects*, v. 8, n. 15, 2017, p. 1-18.
<https://doi:10.3390/insects8010015>
- EL-GUENDOZ, S.; LYOUSSE, B.; MIGUEL, M. Insight on Propolis from Mediterranean Countries: Chemical Composition, Biological Activities and Application Fields. *Chemistry & Biodiversity*, v. 16, 2019, p. 1-35.
<https://doi:10.1002/cbdv.201900094>
- GUZELMERIC, E.; RISTIVOJEVIĆ, P.; TRIFKOVIĆ, J.; DASTAN, T.; YILMAZ, O.; CENGİZ, O.; YESILADA, E. Authentication of Turkish propolis through HPTLC fingerprints combined with multivariate analysis and palynological data and their comparative antioxidant activity. *LWT–Food Science and Technology*, v. 87, 2018, p. 23-32.
<https://doi:10.1016/j.lwt.2017.08.060>
- HERRERA, L.V.; PISCIOTTI, O.M.; RAMOS, M.O.; NEIRA, F.L.; SOTO, S.J. Actividad antimicrobiana *in vitro* de un propóleo de Santander sobre *Enterococcus faecalis*. *Revista Ustasalud*, v. 11, 2012, p. 73-78.
<https://doi:10.15332/us.v11i2.1119>
- HOCHHEIM, S.; GUEDES, A.; FACCIN-GALHARDI, L.; RECHENCHOSKI, D.Z.; NOZAWA, C.; LINHARES, R.E.; DA SILVA FILHO, H.; RAU, M.; SIEBERT, D.; MICKE, G.; MENDES DE CORDOVA, C. Determination of phenolic profile by HPLC–ESI-MS/MS, antioxidant activity, *in vitro* cytotoxicity and anti-herpetic activity of propolis from the Brazilian native bee *Melipona quadrifasciata*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 29, n. 3, 2019, p. 339-50.
<https://doi:10.1016/j.bjp.2018.12.010>
- KASIOTIS, K.M.; ANASTASIADOU, P.; PAPADOPOULOS, A.; MACHERA, K. Revisiting Greek propolis: chromatographic analysis and antioxidant activity study. *PloS One*, v. 12, n. 1, 2017, p. 1-27.
<https://doi:10.1371/journal.pone.0170077>
- LÓPEZ, B.G.C.; SCHMIDT, E.M.; EBERLIN, M.N.; SAWAYA, A.C.H.F. Phytochemical markers of different types of red propolis. *Food Chemistry*, v. 146, 2014, p. 174–180.
<https://doi:10.1016/j.foodchem.2013.09.063>
- MARTÍNEZ, J.; GARCÍA, C.; DURANGO, D.; GIL, J. Caracterización de propóleos provenientes del municipio de Caldas obtenido por dos métodos de recolección. *Revista MVZ Córdoba*, v. 17, n. 1, 2012, p. 2861-69.
<https://doi:10.21897/rmvz.254>
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. *Sensory Evaluation Techniques*. 4th ed. Boca Raton (USA): CRC Press; 2015.
https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=IGjdCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Sensory+Evaluation+Techniques.+4th+ed.&ots=FSCgXBCDU9&sig=XVlpG4_vVbG0c0ma8MAOeZ9QVeY#v=onepage&q=Sensory%20Evaluation%20Techniques.%204th%20ed.&f=false
- MIYATAKA, H.; NISHIKI, M.; MATSUMOTO, H.; FUJIMOTO, T.; MATSUKA, M.; SATOH, T. Evaluation of Propolis. I. Evaluation of Brazilian and Chinese Propolis by Enzymatic and Physico-Chemical Methods. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 20, n. 5, 1997, p. 496-501.
<https://doi:10.1248/bpb.20.496>
- OLIVEIRA, R.N.; MANCINI, M.C.; DE OLIVEIRA, F.C.S.; PASSOS, T.M.; QUILTY, B.; DA THIRÉ, R.M.; Mc GUINNESS. FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. *Matéria (Rio J)*, v. 21, n. 3, 2016, p. 767-79.
<https://doi:10.1590/S1517-707620160003.0072>
- OMAR, R.; IGOLI, J.O.; ZHANG, T.; GRAY, A.I.; EBILOMA, G.U.; CLEMENTS, C.J.; FEARNLEY, J.; EBEL, R.; PAGET, T.; DE KONING, H.; WATSON, D. The chemical characterization of Nigerian propolis samples and their activity against *Trypanosoma brucei*. *Scientific Report*, v. 7, n. 923, 2017, p. 1-10.
<https://doi:10.1038/s41598-017-01038-2>

- OSORIO, T.M.; SALAMANCA, G.G. Actividad biológica del propóleo. En Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo. 1 ed. Ibagué (Colombia): Sello editorial de la Universidad del Tolima, 2017. p. 287-323.
https://www.researchgate.net/publication/328346989_Origen_naturaleza_propiedades_fisicoquimicas_y_valor_terapeutico_del_propoleo
- PALOMINO, L.; MARTÍNEZ, J.; GARCÍA, C.; GIL, J.; DURANGO, D. Caracterización Físicoquímica y Actividad Antimicrobiana del Propóleo en el Municipio de La Unión (Antioquia, Colombia). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, v. 63, 2010, p. 5373-83.
<http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n1/a13v63n01.pdf>
- PRZYBYŁEK, I.; KARPINSKI, T.M. Antibacterial Properties of Propolis. Molecules, v. 24, n. 2047, 2019, p. 1-17.
<https://doi:10.3390/molecules24112047>
- RODRÍGUEZ, Y.; SÁNCHEZ-CATALÁN, F.; ROJANO, B.; DURANGO, D.; GIL, J.; MARÍN-LOAIZA, J. Caracterización físicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento del Atlántico, Colombia. Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica, v. 15, n. 2, 2012, p. 303-311.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262012000200007&script=sci_abstract&tlng=es
- SALAMANCA, G.G.; OSORIO, T.M. New insular red propolis from Colombia: botanical origin, biological and chemical markers. En: 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products and the 10th International Congress On Biodiversity. Atenas (Grecia): 2018.
<https://cdn.technologynetworks.com/ep/pdfs/new-insular-red-propolis-from-colombia-botanical-origin-biological-and-chemical-markers.pdf>
- SALAMANCA, G.G.; RAMÍREZ, C.; RUBIANO, L. Contenido mineral de los propóleos colectados en algunas zonas biogeográficas colombianas. Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó, v. 20, n. 1, 2004, p. 79-85.
- SALAMANCA, G.G. Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo. 1 ed. Ibagué (Colombia): Sello editorial Universidad del Tolima, 2017.
- SAWAYA, A.C.H.F.; BARBOSA-DA SILVA-CUNHA, I.; MARCUCCI, M.C. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. Chemistry Central Journal, v. 5, n. 27, 2011, p. 1-10.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3123264/pdf/1752-153X-5-27.pdf>
- SEIBERT, J.B.; BAUTISTA-SILVA, J.P.; AMPARO, T.R.; PETIT, A.; PERVIER, P.; DOS SANTOS ALMEIDA, J.C.; AZEVEDO, M.; SILVEIRA, B.; BRANDÃO, G.; DE SOUZA, G.; TEIXEIRA, L.; DOS SANTOS, O. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. Food Chemistry, v. 287, 2019, p. 61-67.
<https://doi:10.1016/j.foodchem.2019.02.078>
- SELVARAJ, R.; SIVAKUMARI, K.; FLORA-PRIYADARSHINI, J.; ASHOK, K.; JAYAPRAKASH, P.; RAJESH, S. Phytochemical profiling and antibacterial activity of propolis. International Journal of Scientific Research, v. 7, n. 6, 2018, p. 373-376.
https://www.researchgate.net/publication/330170066_PHYTOCHEMICAL_PROFILING_AND_ANTIBACTERIAL_ACTIVITY_OF_PROPOLIS
- SFORCIN, J.M. Biological properties and therapeutic applications of propolis. Phytotherapy Research, v. 30, 2016, p. 894-905.
<https://doi:10.1002/ptr.5605>
- SHAWKY, E.; IBRAHIM, R.S. Bioprofiling for the quality control of Egyptian propolis using an integrated NIR-HPTLC-image analysis strategy. Journal of Chromatography B: Biomedical and Applications, v. 1095, 2018, p. 75-86.
<https://doi:10.1016/j.jchromb.2018.07.029>
- TALERO, C.; HERNÁNDEZ, D.; FIGUEROA, J. Calidad microbiológica de propóleo crudo y sólidos solubles de extractos de propóleo de *Apis mellifera* en Colombia. Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia, v. 59, n. 2, 2012, p. 109-118.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-29522012000200005&script=sci_abstract&tlng=es

- TOUZANI, S.; EMBASLAT, W.; IMTARA, H.; KMAIL, A.; KADAN, S.; ZAID, H.; ELARABI, I.; BADIYA, L.; SAAD, B. In vitro evaluation of the potential use of propolis as a multitarget therapeutic product: Physicochemical properties, chemical composition, and immunomodulatory, antibacterial, and anticancer properties. *BioMed Research International*, v. 2019, 2019, p. 1-11.
<https://doi.org/10.1155/2019/4836378>
- VEIGA, R.S.; DE MENDONÇA, S.; MENDES, P.B.; PAULINO, N.; MIMICA, M.J.; LAGAREIRO NETTO, A.A.; LIRA, I.S.; LOPEZ, B.G.; NEGRÃO, V.; MARCUCCI, M.C. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. *Journal of Applied Microbiology*, v. 122, n. 4, 2017, p. 911-20.
<https://doi.org/10.1111/jam.13400>
- VELASQUEZ, B.D.; MONTENEGRO, S.P. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de propóleos obtenidos de *Apis mellifera*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, v. 8, n. 1, 2017, p. 185-93.
<https://doi.org/10.22490/21456453.1848>
- VELOZ, J.J.; ALVEAR, M.; SALAZAR, L.A. Antimicrobial and antibiofilm activity against *Streptococcus mutans* of individual and mixtures of the main polyphenolic compounds found in Chilean propolis. *BioMed Research International*, v. 7602343, 2019, p. 1-7.
<https://doi.org/10.1155/2019/7602343>
- VILORIA, J.; GIL, J.; DURANGO, D.; GARCÍA, C. Caracterización fisicoquímica del propóleo de la Región del Bajo Cauca Antioqueño (Antioquia, Colombia). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, v. 10, 2012, p. 76-85.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612012000100010&script=sci_abstract&tlng=es
- ZAINULLIN, R.A.; KUNAKOVA, R.V.; GAREEV, V.F.; GALYAUTDINOV, I.V.; SADRETDINOVA, Z.R.; MUSLIMOV, Z.S.; ODINOKIV, N. Flavanones and flavones from ashkir propolis. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 54, n. 5, 2018, p. 975-77.
<https://doi.org/10.1007/s10600-018-2526-5>