



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en

## Ciencia y Tecnología de los alimentos

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL PROPOLEOS Y ESTUDIO DE SU  
COMERCIALIZACIÓN COMO COMPLEMENTO ALIMENTICIO

SCIENTIFIC REVIEW OF THE PROPOLIS AND STUDY ON ITS  
COMMERCIAL USE AS FOOD SUPPLEMENT

Autor/es

FERNANDO AZNAR TABUENCA

Director/es

CONSUELO PÉREZ ARQUILLUÉ  
SUSANA BAYARRI FERNÁNDEZ

Facultad de Veterinaria

2016

---

**Datos personales del alumno:**

APELLIDOS, NOMBRE: Aznar Tabuenca, Fernando

DNI: 72978945-Z

DIRECCIÓN: C/ Barrio Curto N° 24

TELÉFONO: 636999290

CORREO ELECTRÓNICO:escalopendradelnorte@hotmail.com

# 1. ÍNDICE

---

1. ÍNDICE
2. RESUMEN/ABSTRACT
3. INTRODUCCIÓN
4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS
5. MATERIALES Y METODOLOGÍA
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
7. CONCLUSIONES
8. VALORACIÓN PERSONAL
9. BIBLIOGRAFIA

# Resumen

---

## Resumen

Esta revisión bibliográfica tiene la finalidad de recoger los mejores resultados de dichos estudios, además de intentar arrojar algo de luz sobre los posibles usos de este producto tan estudiado en estos últimos 20 años por la comunidad científica. Mostrando los resultados más interesantes respecto a un posible uso del propóleos en un futuro próximo, aprovechando las múltiples actividades biológicas del propóleos.

En la primera parte del trabajo se consultaron varios estudios relativos al propóleos en diferentes bases de datos como ScienceDirect, Dialnet, así como de otras fuentes como revistas científicas como “Food Chemistry”, “Microbiological Research”, “Journal of food Protection” entre otras. Primero se hace una descripción y definición del propóleos recogidas en varios estudios. Seguidamente se expone un resumen del uso tradicional del propóleos. Este primer apartado continua con una exposición de varios estudios sobre el uso del propóleos como material en la conservación de alimentos, así como su uso en complementos alimenticos. El siguiente apartado muestra las fuentes y el procesado del propóleos, seguido de la composición química y la problemática en la caracterización del propóleos.

Para terminar la primera parte del trabajo, se muestran los resultados obtenidos en varios estudios sobre contaminación biótica y abiótica del propóleos, así como los resultados de diferentes estudios que abordan las diferentes propiedades bioactivas del propóleos como su capacidad antibacteriana, antimicótica, antiviral, antitumoral, antifúngica y antialérgica. Por último se muestran los parámetros de control de calidad del propóleos y sus métodos de análisis.

La segunda parte de este trabajo de fin de Grado, recoge datos sobre la comercialización del propóleos en Aragón y la provincia de Zaragoza. Luego se hace un pequeño resumen de las principales vías de comercialización del propóleos. Para terminar se hace una exposición de los productos hecho con propóleos y a base de propóleos más frecuentes del mercado nacional, en los diferentes formatos que presentan al consumidor.

## Abstract

This literature review aims to collect the best results from these studies, besides trying to shed some light on the possible uses of this product as studied in the last 20 years by the scientific community. Showing the most interesting results of propolis, which can be used in the future.

In the first part of the work several studies on propolis were consulted in different databases such as ScienceDirect, Dialnet, as well as other sources such as scientific journals such as "Food Chemistry", "Microbiological Research", "Journal of Food Protection" among others . First a description and definition of propolis collected in several studies done. Following is a summary of the traditional use of propolis is exposed. This first section continues paign exposure of several studies on the use of propolis as a material in food preservation and use in alimenticos supplements. The next section shows the sources and processing of propolis, followed by the chemical composition and the problems in the characterization of propolis.

To end the first part of the work, the results of several studies on biotic and abiotic Propolis pollution as well as the results of different studies that address different bioactive properties of propolis as its antibacterial capabilities, antifungal, antiviral, antitumor shown, anti-fungal and anti-allergic. Finally the parameters of quality control of propolis and methods of analysis are shown.

The second part of this TFG, collects data on the marketing of propolis in Aragon and the province of Zaragoza. a small summary of the main routes of commercialization of propolis is then made. To end an exhibition of products made with propolis and propolis more frequent basis the domestic market, in different formats is presented to the consumer.

# 1. Introducción

---

## 1.1 Definición y terminología

El propóleos que una mezcla resinosa recogida de diferentes fuentes vegetales como la savia, polen y que tras masticarla y añadirle enzimas salivares, se dirige parcialmente a usarse como material de construcción. (*Bonvehi y Gutierrez*, 2012). La composición química del propóleos varía constantemente pero suele tener una composición media.

Componentes	Valores
Resinas y sustancias balsámicas	55 %
Ceras	30%
Aceites esenciales 7%	7%
Polen	3%
Otros	5%

## 1.2 Aspectos históricos y usos tradicionales del propóleos

El propóleos ha tenido diferentes usos a lo largo de su historia, la primera referencia data del 300 a.c cuando se consiguió domesticar a las abejas (*Ghisalberti*, 1979). Hoy en día podemos encontrarlo en diferentes tipos de productos como, spray para la garganta, grajeas, jarabes, lociones para piel (*Ayala et al*, 1985). El uso más común del propóleos son los complementos alimenticios. Donde suele estar como principio activo de jarabes, cápsulas, grajeas, pastillas. También puede encontrarse en otro tipo de productos como los cosméticos (*bankova et al*, 1999)

## 1.3 Usos actuales del propóleos y biomateriales en la conservación de alimentos

Tras la realización de diferentes estudios acerca de las propiedades del propóleos, se han ido sucediendo una serie de investigaciones encaminadas a buscar nuevos usos del propóleos tales como antimicrobianos, biomateriales en conservación de alimentos, antioxidantes, antifúngicos, antivirales entre otros.

En algunos de estos estudios se crearon micropartículas de gelatina por un nuevo método de secado por pulverización, para evitar las técnicas tradicionales de extracción con etanol. Consiguiendo resultados tan buenos como la inhibición del crecimiento de *S.aureus* comparado con muestras previamente extraídas por el método tradicional. (*Bruschi*, 2003)

También se han obtenido nuevos productos como plásticos recubiertos con flavonoides y sustancias polifenólicas, para envases activos y con capacidad antimicrobiana. (*Mascheroni*, 2009)

## **1.4 Fuentes y procesado del propóleos**

El propóleos es un producto de composición muy variable, extraído de diferentes fuentes y exudados vegetales. (Marcucci, 1995). Tiene un proceso de extracción que consta de 3 partes: 1 Lavado y secado en placas de acero inoxidable, disolución en alcohol al 95% y filtrado y dilución del propóleos para obtener la tintura de propóleos.

## **1.5 Composición química y problemática de la caracterización del propóleos**

Dentro de los problemas que acompañan a este producto. La composición química y la caracterización del propóleos supone uno de los mayores retos. Ya que sus capacidades bioactivas dependen de la concentración de compuestos fenólicos y dentro de estos los flavonoides (Choi, 2006). Además de la interacción de los compuestos fenólicos que se producen con otras sustancias presentes en el propóleos como por ejemplo las resinas puede influir en otros factores como la capacidad antimicrobiana (Burdock; 1998).

La composición final del propóleos está claramente influenciada por la flora adyacente a las colmenas y además las sustancias fenólicas y polifenólicas de la que son producidas por el metabolismo secundario de las plantas, determinan el tipo de actividad. Por ejemplo se puede encontrar resultados que concluyen que el propóleos es ineficaz contra *S. aureus* (Dobrowolsky *et al*, 1991) o resultados que determinan una alta eficacia contra *S. aureus*, a concentraciones mínimas inhibitorias bastante bajas (Silizi, 2005). Esto podría explicarse porque el propóleos, que es una mezcla resinosa, que las abejas recolectan de diferentes fuentes vegetales (Bonvehi y Gutierrez, 2012) y cuya composición final depende de diversos factores tales como la especie de abeja como se demuestra en el estudio realizado por (Silizi, 2005), donde se demuestra la diferencia y variabilidad de la composición del propóleos en cuanto a compuestos polifenólicos y flavonoides, dentro de los propóleos recolectados por diferentes especies de abejas (*Apis Mellifera*), de una misma zona geográfica.

## **1.6 Fuentes de contaminación**

El propóleos también puede presentar problemas de contaminación, siendo la contaminación abiótica más importante que la biológica, ya que según algunos estudios los productos procedentes de la colmena no representan ningún peligro desde el punto de vista microbiológico, solo el polen podría representar algún peligro (Bogdanov, 2004).

Según varias investigaciones se han encontrado muchos productos procedentes de la colmena, en su mayoría en muestras de miel donde los resultados no suelen ser muy satisfactorios. Donde se reveló que el 36 % de las muestras pueden quedar fuera del límite de detección de métodos de análisis para PCBD. (Tananaki, 2004).

Algunos estudios sobre contaminantes de mieles y productos de la colmena realizados en España y más en concreto procedentes de Aragón. Dicho trabajo reveló que había cantidades muy bajas o incluso ausencia de pesticidas en las diferentes 111 mieles analizadas y confirmó que la miel sigue siendo unos de los alimentos más seguros de

hoy en día. A pesar de la mayoría de los estudios realizados sobre contaminantes orgánicos persistentes procede de muestras de miel, para determinar otros contaminantes persistentes dentro de los productos apícolas, se ha utilizado a las propias abejas como el mejor bioindicador de contaminación de HAPs.. Esto se puede comprobar en el estudio realizado por (*lambert et al, 2011*)

También existen estudios realizados sobre la contaminación en los propóleos, más en concreto sobre la concentración de etion, clorpirifos y cumafós en tintura de propóleos (*Perez parada, 2011*)

## **1.7 Aspectos farmacológicos y tóxicos del propóleo**

### **1.7.1 Actividad antibacteriana**

Dentro del propóleo es la actividad antimicrobiana la más destacable. Según diversos estudios el propóleo es eficaz para inhibir el crecimiento de diversas bacterias como *S.aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, o levaduras del género *Candida* (*Silva et al 2012*). Además la actividad antimicrobiana puede tener sinergismo entre propóleos y otros compuestos procedentes de las resinas (*Burdock, 1998*).

### **1.7.2 Actividad antimicótica**

Dentro de los estudios realizados los datos más significativos demuestran una eficacia frente a mohos como *Candida albicans*, *Sacharomyces* y *Cryptococcus* con una concentración mínima de 3 hasta 10 mg/ml (*Burdock, 1998*).

### **1.7.3 Actividad antiviral**

El propóleo también se ha mostrado eficaz frente algún tipo de virus como el influenza, mostrando una disminución en la replicación del virus influenza en ratones (*Shevchenko et al,1992*). Otros estudios como el realizado por (*Debiaggi et al*), donde diferentes sustancias aisladas del propóleo como crisina y kaempferol se mostraron altamente eficaces inhibiendo la replicación de los virus adenovirus, rotavirus y herpes virus. En otros estudios se comprobó la actividad

### **1.7.4 Actividad antitumoral**

Pero estas no son las únicas actividades biológicas del propóleo la actividad antitumoral y anti inflamatoria. En estudios como el realizado por (*Kim et al, 2011*). Dentro de los compuestos fenólicos aislados del propóleo, el ácido cafeico y la quercetina pueden usarse para disminuir el número de nódulos tumorales a una concentración de 50mg/kg.

### **1.7.5 Actividad antioxidante**

Pero la actividad más reconocida del propóleos es su actividad antioxidante. En algunos estudios como el realizado por (*Valencia et al, 2012*) se demostró que la capacidad antioxidante se correlaciona con la concentración de compuestos fenólicos en el propóleos. Otros estudios demuestran que el propóleos o sus compuestos fenólicos mejor dicho, evitan daño oxidativo en las lipoproteínas de las membranas celulares (*Gregoris, 2010*).

### **1.7.6 Actividad antiinflamatoria**

La capacidad antiinflamatoria del propóleos o más en concreto de los flavonoides presentes en estos, depende en gran medida del origen geográfico de las muestras, ya que esto determina la composición del propóleos en cuanto a sustancias polifenólicas se refiere- (*Nakamura, R, 2010*).

### **1.7.7 Reacciones de alergia**

En algunos estudios sobre su efecto en humanos como el de (*Hausen et al, 1987*), intentaron asociar sin éxito las reacciones alérgicas a compuestos del propóleos como el acido dimetilcafeico en humanos y en cerdos guineanos, obteniendo unas pseudoreacciones positivas. Encontrando solo como posible alérgeno el flavonoide Tectocrisina como potencial sustancia alergénica en 3 de los 5 humanos estudiados.

### **1.7.8 Parámetros de control de calidad del propóleos**

A continuación se muestran los parámetros de calidad del propóleos r4ecogidos en la norma de calidad del propóleos argentina IRAM-INTA-15935-1:2008. Donde aparecen diferentes parámetros de calidad físico-químicos y sus respectivos procedimientos de análisis.

### **1.7.9 legislación**

Este trabajo también tiene la finalidad de recoger la situación del propóleos dentro del marco jurídico español y en su contexto dentro la UE. Donde se tiene muy poco legislación relativa al propóleos. Por ello se profundiza más en normas trasversales relativas al propóleos como ejemplo reglamentos CE Nº 178/2002, 852/2004, 853/2004.

### **1.7.10 Comercialización del propóleos como complemento alimenticio, principales vías de comercialización del propóleos y productos más comunes a base de propóleos.**

Primero se muestra la comercialización del propóleos en la provincia de Zaragoza, y los establecimientos más habituales donde se suele comercializar el propóleos. Seguidamente se hace un breve resumen de la situación actual del oficio de la apicultura en Aragón. En nuestra comunidad autónoma, según el Plan nacional de ayudas para la apicultura 2014-2016 y según la orden del 17 de enero del consejo de agricultura y alimentación, Se dispone de subvenciones por valor de 400000 € para invertir en

explotaciones apícolas en cantidades inferiores a 600€. En el último apartado se muestra los productos más habituales presentes en internet y más fáciles de conseguir. Estos además suelen ser los productos. Más habituales desarrollados por los diferentes fabricantes de productos a base de propóleos.

## 4. Justificación y objetivos

---

Debido al aumento en estos últimos años de la demanda por parte del consumidor de alimentos más sanos, de origen natural, así como el auge de las ventas de complementos alimenticios; reúne las condiciones idóneas para que productos hechos de propóleos o base de propóleos cobren una importancia significativa dentro de estos nuevos mercados que se abren en nuestro país.

El propóleos reúne varias de las condiciones anteriormente mencionadas, además de poseer varias propiedades bioactivas, que suponen un valor añadido para este tipo de productos, siempre y cuando contenga una concentración adecuada. Además podría suponer una nueva fuente de compuestos bioactivos para productos con diversas funciones como envases activos, compuestos antimicrobianos, aditivos alimentarios entre otros.

La revisión bibliográfica realizada en este Trabajo de Fin Grado tiene como objetivo de reunir toda la información posible, procedente de la literatura científica a cerca del propóleos sus posibles usos, así como de su actividad biológica, ya que esta es la cualidad más importante para poder desarrollar en un futuro próximo nuevos productos y nuevas investigaciones, que utilicen el propóleos como base o en su defecto alguno de sus componentes como por ejemplo los flavonoides y otros compuestos fenólicos. Además de poder aprovechar este tipo de producto procedente de la apicultura, que es un sector cada vez más importante e influyente dentro de nuestra comunidad autónoma y dentro de España y así poder aprovechar su potencial económico.

## 5. Material y métodos

---

Para el desarrollo de este Trabajo de Fin de Grado se han utilizado publicaciones científicas de diferentes bases de datos como ScienceDirect, Dialnet y otras bases de datos no tan relacionadas con publicaciones científicas como BOE, Iberlex. Las revistas científicas más utilizadas han sido “Food Chemistry”, “Food and Chemical Toxicology”, “Microbiológico Research”, “Journal of food Protection”, “Fitoterapia”, “Journal of Ethnopharmacology”.

# 6. Resultados y Discusión

---

## 6.1 Definición y terminología

El propóleos, es una mezcla resinosa que las abejas recogen de las yemas de los árboles, de los flujos de savia y de otras fuentes vegetales, y que tras masticarla, añadirles enzimas salivares y digerirla parcialmente, utilizan en la colmena como material de construcción y como aislante térmico, acústico y microbiológico (Bonvehi y gutierrez, 2012).

Otra buena definición del propóleos sería la propuesta en la *Norma de calidad Argentina (IRAM-INTA-15935-1)* Cuya definición es que el propóleos es *un producto compuesto por sustancias resinosas, gomosas y balsámicas, ceras aceites esenciales y polen, de consistencia viscosa, elaborado por abejas (Apis mellifera) a partir de ciertas especies vegetales, que son transportadas al interior de la colmena y parcialmente transformadas con sus secreciones salivares.*

Otros autores incorporan a las definiciones previamente mencionadas, detalles que hacen alusión a composición química y a la variabilidad de dicha composición del propóleos incluso entre propóleos pertenecientes a una misma fuente. Esta característica es de vital importancia pues, dicha variabilidad en sus componentes, es la razón por la que las propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales no pueden ser mencionadas como declaraciones saludables en etiquetado por ejemplo y a su vez hace al propóleos poco fiable usándolo como posible aditivo por ejemplo. *Vease artículo 13 de Reglamento (CE) 1924/2006 EFSA-informe.*

Por ello autores como (Clément, 2012), concluyen que las proporciones de sus componentes suelen ser muy variables aunque si podemos hablar de composición media.

**Tabla 1. Composición media del propóleos**

Componentes	Valores
Resinas y sustancias balsámicas	55 %
Ceras	30%
Aceites esenciales 7%	7%
Polén	3%
Otros	5%

## 6.2 Aspectos históricos y usos tradicionales del propóleos

El ser humano lleva haciendo uso del propóleos casi tanto tiempo como el que lleva haciendo uso de la miel desde que fue capaz de poder domesticar o hacer uso de las colmenas de abejas. La primera referencia consta del año 300 a. C (*Ghisalberti*, 1979).

Debido a la fama que tiene el propóleos o más en concreto sus propiedades antimicrobianas, antisépticas, bacteriostáticas, antimicóticas; el propóleos ha seguido siendo usado en remedios caseros, de los cuales se puede encontrar una lista bastante extensa. También se puede encontrar varios artículos sobre el uso del propóleos para tratar problemas dermatológicos como pruritos, antiséptico de heridas o como agente anti dermatofitos entre otros.

El propóleos se ha usado también en otras industrias como la de la cosmética en productos como cremas de belleza, lociones, cremas anti-edad; también se puede encontrar en productos como dentífricos como pastas de dientes y en enjuages bucales que previenen la gingivitis. El propóleos se puede encontrar también en productos tan diferentes como tabletas y goma de mascar y en polvo. (*Ayala et al.*, 1985; *Bankova et al.*, 1983; *Bjorkner*, 1994; *Dobrowolski et al.*, 1991; *Esser*, 1986; *Ghisalberti*, 1979; *Hausen et al.*, 1987.; *Marcucci*, 1995, *Burdock* 1998).

También desde el siglo XVII en Italia se usaron propóleos como ingredientes de barnices para instrumentos de cuerda (*Monti et al.*, 1983), y desde entonces se ha usado como material para conservar y reparar instrumentos de cuerda (*Van Ketel y Bruynzeel*, 1992).

Además de los usos tradicionales que normalmente se asigna al propóleos se han elaborado diversos estudios sobre su actividad contra la polilla de cera (*Jhonson et al.*, 1994), aunque con resultados poco satisfactorios. Por otro lado autores como (*Han y Park*, 1995), Han llegado a proponerlo como conservante de productos cárnicos.

## 6.3 Usos actuales del propóleos

### 6.3.1 Complementos alimenticios

El uso del propóleos como tal o como ingrediente de preparados de complementos alimenticio, o incluso como principio activo de jarabes, bálsamos, cápsulas o diversos tipo de productos; es muy habitual en la sociedad actual. Siempre está ligado a marcas o empresas que comercializan o están especializadas en productos de origen natural o como complementos alimenticios.

En España se puede encontrar una lista bastante extensa de productos con propóleos como refleja la tabla 2, estos son algunos ejemplos de los que más frecuentemente se pueden encontrar tanto en tiendas, como en tiendas de internet en España.

Tabla 2 Géneros de productos que contienen propóleos más habituales.

Producto	Tipo de producto	Fabricante
APIBIOTIC (PROPOLIS, TOMILLO, ECHINACEA, MIRTILO)AMPOLLA	Ampollas	Robis
APICOL EXTRACTO DE PROPOLIS (PROPOLEO) DE TONGI	Frasco 60 ml	Tongil
APICOL PROPOLIS (PROPOLEO Y REISHI) DE TONGIL	Perlas	Tongil
APICOL TOTAL (JALEA, PROPOLEO, POLEN Y MIEL) DE TONGIL.	Viales 6 ml	Tongil
APROLIS ERYSIM FORTE SPRAY BUCAL (PROPOLIS...). INGREDIENTES:	Spray Bucal 20ml	Dieteticos intersa
APROLIS OLIGO-PROPOL (PROPOLIS, JALEA REAL, VITAMINA C,)	20 ampollas	Dieteticos intersa
APROLIS PROPONORM (PROPOLIS)	60 capsulas de extracto P	Dieteticos intersa
DENTIFRICO PROPOL-DENT –CON PROPOLEO-	Dentífrico 100ml	Sakai
CREMA DE PROPOLEO –PROPOLIS- (NUTRITIVA).	Crema 75 gr	Natysal
CAPSULAS 30S PROPOLEO (PROPOLIS Y LEVADURA DE CERVEZA)	60 cápsulas	Soria Natural
EPIID C COMPRIMIDOS EFERVESCENTES (CON PROPOLIS, , ALOE VERA	Sobres efervescentes	Specchiasol
ECHINABE JARABE –CON ECHINACEA, MIEL, PROPOLIS	Jarabe 250ml	Sakai
INFLUNELL UNGÜENTO (CONSUELDA, PROPOLEO ROJO,	Ungüento 40 ml	Sakai
PROPOLIS (PROPOLEO) DE HEALTH AID. INFORMACION GENERAL	60 tabletas (1000mg)	Healthaid
EPIID JUNIOR. JARABE ESPECIAL PARA NIÑOS	Frasco 100ml	Specchiasol

Aunque la gama de productos que se ofrece en el mercado español puede ser mucho más extensa, esta tabla recoge los géneros o tipos de productos que se comercializa los propóleos en nuestro país. También el número de fabricantes son bastante extenso, habiendo encontrado 20 marcas diferentes al menos.

Dentro de la comercialización de complementos alimenticios con propóleos, cabría destacar que las ventas por internet al menos superan al comercio tradicional en ofertas y tipo de productos, a la vez que ofrece una cantidad de precios más variables.

Por otro parte, los fabricantes advierten siempre que el uso de sus productos no son sustitutivos de tratamientos médicos o fármacos. Pero este tipo de declaraciones podrían inducir a error o a una falsa percepción de seguridad por parte de los consumidores.

Dentro de los productos estudiados, sólo un producto hace referencia a la composición en peso o concentración de propóleos en el producto, además menciona la cantidad de flavonoides dentro del propóleo. Siendo la concentración total de quertecina 2mg en 60 comprimidos. Una cantidad muy baja para conseguir su efecto antimicrobiano que si se ha demostrado en estudios a concentraciones superiores a las contenidas por dicho productos unos (25mg/ml), para tener una capacidad bioactiva contra bacterias Gram+ (*Drobrowolski et al, 1991*).

### **6.3.2 Biomateriales en la conservación de alimentos**

En los últimos años se han realizado diversos estudios sobre el uso del propóleo como componente de diversos complementos alimenticos o incluso en medicamentos (*Bruschi, 2003*). En este estudio se crearon micropartículas de gelatina que contienen una preparación de propóleos, mediante un método de secado por pulverización. Dicho estudio tenía la finalidad de poder desarrollar productos con propóleos sin necesitar las tradicionales técnicas de extracción con etanol que pueden producir componentes indeseables y que dan sabores desagradables y malos olores. Este estudio tan interesante también demostró que este nuevo método mantenía la actividad antimicrobiana frente a *S.aureus* que las muestras previamente extraídas con metanol.

También se ha buscado otros posibles usos del propóleo como integrantes de las películas de plástico para envasar alimentos, utilizando para ello flavonoides y ácidos polifenolicos aislados de los propóleos (*Mascheroni, 2009*). En este trabajo dicho autor consiguió modelizar matemáticamente la difusión de estas sustancias con capacidad antimicrobiana a través de envases activos PLA.

Para ello se midió la difusión de 4 compuestos diferentes aislados del propóleo en dos soluciones una acuosa y otra de etanol para contrastar dos posibles alimentos con diferente solubilidad y polaridad. Tras los análisis, el autor concluye que aplicando correctamente el modelo conseguido en un material de envase adecuado, es posible usar estos 4 compuestos como conservantes en envases activos. Donde los ácidos polifenolicos actúan en la zona de contacto con el alimento, y los flavonoides lo hacen en la interfase de la película. Además se encontraron pocas diferencias significativas en cuanto a la diferencia de difusión mostrada por estas sustancias extraídas del propóleo. (*Mascheroni, 2009*)

Hasta ahora casi todos los estudios realizados con el propóleos son o están relacionados con temas alimentarios, productos dietéticos, cosméticos y sus posibles aplicaciones como antimicrobianos. Pero también se ha barajado la posibilidad de usar el propóleos como componente de materiales semiconductores, que forma parte de equipos electrónicos y ópticos.

Esta posibilidad se publicó en un trabajo realizado por (*Andrad et al, 2006*). Donde el autor encontró en base a los resultados que obtuvo que el propóleos puede utilizarse de forma natural formando una delgada película y formando capas de semiconductores, en numerosas aplicaciones óptico-eléctricas.

#### **6.4 .1 Fuentes y procesado del propóleos**

El propóleos normalmente es extraído de compuestos resinosos procedentes de los exudados vegetales (*Marcucci, 1995*). Proceden de 3 tipos de fuentes vegetales: exudados vegetales, sustancias procedentes del metabolismo de las abejas y materiales que se han introducido durante la elaboración propia del propóleos.

Durante años se pensó que los materiales extraídos por las abejas de los álamos era la fuente principal del propóleos, pero abejas de zonas donde no había álamos también producían propóleos. La respuesta a esta pregunta llegó con la introducción de análisis químicos más complejos que han permitido arrojar luz sobre las diversas fuentes que son utilizadas por las abejas.

El propóleos es un subproducto de la colmena, tras ser recogido por los apicultores que raspan la colmena, normalmente durante los meses de otoño y tras recoger la miel, se envía a las plantas de procesado o fábricas siendo una mezcla de propóleos y cera normalmente en barriles y ceras.

## 6.4.2 Procesado

Normalmente el propóleos requiere poco procesado:

El propóleos tras ser evaluado después de su llegada a la planta se somete a un proceso de lavado con agua fría cuando es muy ceroso para poder separar este componente indeseable. Entonces su extiende en unas placas de acero inoxidable para su secado. Si no es muy ceroso el propóleos pasa automáticamente a la segunda etapa.

Esta parte, se realiza una disolución del propóleos en alcohol etílico al 95%, eliminando así trazas de elementos indeseables y restos de cera eliminados del propóleos. También se suele filtrar para eliminar restos de astillas de madera o trozos de abejas que pueden estar presentes.

Esta última fase, se suele aplicar de manera conjunta tras diluir el propóleos en la segunda fase. En este momento al producto se le suele conocer como tintura de propóleos.

En este interesante estudio los autores proponen un método analítico para medir los compuestos fenólicos, flavonoides y las diferentes capacidades antiradicales del propóleos. Además de apoyar la teoría de (Erdogan, 2011), cuyo autor relaciona el contenido en sustancias bilógicamente activas con el origen geográfico del propóleos y por lo tanto con las correspondientes fuentes vegetales. Debido a ello no hay que descartar la posibilidad de que en un futuro no muy lejano los diferentes métodos de extracción del propóleos tengan que incluir algún tipo de sustancia serosa o resinosa mencionando la especie vegetal y el origen geográfico, para incluir una actividad específica añadida al propóleos.

Tanto Erdogan (2011) como Marcucci (2012), creen que el origen geográfico tiene vital importancia en cuanto a la composición química del propóleos ya que las abejas han tenido que recolectar las resinas y otros compuestos de diferentes fuentes vegetales. Esto hace encontrar una gran cantidad de muestras de propóleos diferentes, esto hace que sean las responsables de los resultados contradictorios obtenidos por los diferentes estudios por ejemplo en cuanto a actividad antimicrobiana o como posible medicamento contra agentes causales de enfermedades tales como *Tripanosoma cruzzi*.

## 6.5 Composición química y problemática de la caracterización de propóleos

El propóleos presenta varias dificultades para poder hacer una caracterización de su composición química y por lo tanto poder llegar a normalizar su uso como posible aditivo, antimicrobiano u otros fines. Ya que sus capacidades bioactivas dependen de la concentración de compuestos fenólicos y dentro de estos los flavonoides (Choi, 2006). Pero por otro lado algunos estudios de actividad antimicrobiana, sugieren que también la interacción de los compuestos fenólicos con otras sustancias como por ejemplo las resinas, puede influir en la capacidad antimicrobiana del propóleos (Burdock, 1998).

Esta teoría podría explicar el porqué se han obtenido diferentes resultados al medir la actividad antimicrobiana del propóleos de diferentes orígenes geográficos contra una misma bacteria. Por ejemplo se puede encontrar resultados que concluyen que el propóleos es ineficaz contra *S. aureus* (Dobrowolsky *et al*, 1991) o resultados que determinan una alta eficacia contra *S. aureus*, a concentraciones mínimas inhibitorias bastante bajas (Silizi, 2005), donde el autor encontró una MIC de 0.117 mg/ml para inhibir el crecimiento de un mismo género bacteriano.

La composición final del propóleos está claramente influenciada por la flora adyacente a las colmenas y además las sustancias fenólicas y polifenólicas de la que son producidas por el metabolismo secundario de las plantas, pueden estar condicionadas por factores que escapan del control humano como el clima, época del año, otras actividades del ser humano y sobre todo a la propia actividad de las abejas que lo recolectan.

Este conjunto de factores y variables a los que está sujeto el propóleos, junto con la contradicción de algunos estudios científicos y trabajos realizados al respecto, ha motivado que organismos públicos recomiendan las prohibición de hacer declaraciones saludables sobre el uso del propóleos, para un conjunto de propiedades que se le atribuyen, algunas de ellas bien conocidas y demostradas en diversos estudios anteriormente mencionados. Así como de que en los países pertenecientes a la UE no dispongamos de un marco jurídico aplicable al propóleos como por ejemplo normas de calidad presentes en países como Japón y Argentina.

El propóleos, que es una mezcla resinosa, que las abejas recolectan de diferentes fuentes vegetales (Bonvehi y Gutierrez, 2012) y cuya composición final depende de diversos factores tales como la especie de abeja como se demuestra en el estudio realizado por (Silizi, 2005), donde se demuestra la diferencia y variabilidad de la composición del propóleos en cuanto a compuestos polifenólicos y flavonoides, dentro de los propóleos recolectados por diferentes especies de abejas (*Apis mellifera*), de una misma zona geográfica. Donde los propóleos de la especie *Apis mellifera cárnia*, demostró mayor una mayor actividad antibacteriana que los propóleos recolectados por las especies *Apis Mellifera caucásica* o *Apis Mellifera anatolica*. Esto se debía a la diferencia en cuanto a la composición y concentración de diferentes tipos de flavonoides dentro de los

propóleos estudiados. Donde se llegó a aislar hasta 48 tipos diferentes de compuestos fenólicos.

Después de revisar varios trabajos realizados por diferentes autores la mayoría de los estos coinciden en que el propóleos no se puede caracterizar adecuadamente debido a que composición química, siendo las sustancias las más importantes, está sujeta diversas variables que dificultan su control por parte del ser humano .

Es posible que ante la necesidad de crear nuevas normas para la caracterización del propóleos, sería una buena idea fijarse en la legislación que se han realizado en algunos países para normalizar o incluso hacer una reglamentación técnico-sanitaria. Es recomendable usar como referencia las normas de calidad de países tales como Brasil, Japón y Argentina, siendo sus normas de calidad la *Instrução Normativa n. 3, de 19 de janeiro de 2001, Propolis voluntary food standards y la norma IRAM-INTA 15935:1 y 15935:2*, respectivamente.

Algunos autores conscientes del problema que supone la caracterización del propóleos, han realizado estudios para tratar de solventar este problema como es el caso de (*Bankova, 2005*). Dicho estudio concluye que tipificar propóleos según el origen botánico, produce un enfoque que da buenos resultados en la estandarización del propóleos.

Esto podría ayudar a seleccionar propóleos según su actividad biológica y a crear una serie de recomendaciones para los profesionales que operan en el sector, así como ayudar a los ciudadanos a hacer un uso más efectivo del propóleos.

De acuerdo a lo propuesto por (*Bankova, 2005*), otros autores proponen métodos analíticos, que mediante procesos cromatográficos y electroforéticos permiten establecer una correlación química entre la composición química del propóleos de las abejas, intentando que la flora disponible para su elaboración sea lo más homogénea posible y así poder establecer una correlación entre flora y composición química, eliminando sesgos en dicho estudio. (*Adelman, 2012*)

## Composición química del propóleos

Componentes	Valores
Resinas y sustancias balsámicas	55 %
Ceras	30%
Aceites esenciales 7%	7%
Polen	3%
Otros	5%

## 6.6 Fuentes de contaminación

### 6.6.1 contaminación biológica

Según varios estudios los productos procedentes de la colmena no representan un peligro desde el punto de vista microbiológico, solo el polen podría representar algún peligro (*Bogdanov*, 2004).

### 6.6.2 contaminación abiótica

En este aspecto hay multitud de trabajos publicados respecto al problema de la contaminación abiótica del propóleos y de productos de la apicultura. En este caso los estudios sobre la presencia de contaminantes orgánicos persistentes. Pero la mayoría de las muestras analizadas son mieles.

Por ejemplo se ha estudiado la presencia de nitrobenceno (*Castle*, 2004), en dicho estudio se comprobaba la afinidad que se sospechaba del nitrobenceno, por disolverse en la miel. De acuerdo con los resultados obtenidos por dicho autor o bien está poco extendida la fumigación de las colmenas de las que procedían las muestras o el nitrobenceno no persiste en las colmenas y los productos apícolas.

No todos los resultados son tan satisfactorios como el anterior. En un estudio realizado por (*Tananaki*, 2004). Donde propone un método de análisis para analizar EDB, PCDB y naftaleno simultáneamente. Reveló que el 36 % de las muestras de miel griegas presentaban valores de PCDB por encima del límite de detección del método para PCDB.

Otros estudios realizados en España, demostraron que el consumo de mieles procedentes de diferentes zonas geográficas de Aragón, no representan ningún peligro para la salud. Esto se demostró en el estudio realizado por (*Corredera et al*, 2011) Donde los autores propusieron un método rápido y eficaz a la vez que sencillo que permite cuantificar un gran grupo de analitos dentro de los contaminantes persistentes en la miel como: 6 congéneres de PCB, 15 ACO( plaguicidas órgano clorados) y 7 organofosforados. Dicho trabajo reveló que había cantidades muy bajas o incluso ausencia de pesticidas en las diferentes 111 mieles analizadas y confirmó que la miel sigue siendo unos de los alimentos más seguros de hoy en día.

Dentro de las publicaciones científicas hay numerosos estudios sobre análisis de contaminantes orgánicos persistentes. Al igual que los anteriormente comentados, se publicaron varios trabajos para la determinación de manera simultánea de PDCB, 1,2 DBE y naftaleno (*Tsimeli et al*, 2007, *Botits*, 2007).

Para determinar otros contaminantes persistentes dentro de los productos apícolas, se ha utilizado a las propias abejas como el mejor bioindicador de contaminación de HAPs.. Esto se pudo comprobar en el estudio realizado por (*lambert et al*, 2011). Los autores de

este trabajo determinaron que las abejas y su contaminación con HAPs depende de la influencia que tengan del paisaje adyacente a ellas, mostrando una variación muy diferente a la del polen que es estacional.

También existen estudios realizados sobre la contaminación en los propóleos, más en concreto sobre la concentración de etion, clorpirifos y cumafós en tintura de propóleos (*Perez parada, 2011*). en dicho trabajo el autor utiliza un método que tiene como fase dispersante sulfuro de aluminio y luego un posterior lavado para eliminar polifenoles de las muestras que pueden ocasionar interferencias.

El autor también comenta que este método se realiza como análisis rutinario de muestras en diferentes laboratorios para detectar este tipo de residuos procedentes de los plaguicidas y recomienda incluirlos en los límites máximos permitidos dentro de la legislación europea. De las muestras analizadas el estudio comprobó que los cumafós estaban presentes, así como los clorpirifos. Finalmente el autor cree que pronto estarán los límites máximos permitidos para clorpirifos en la legislación.

## **6.7. Aspectos farmacológicos y toxicológicos del propóleos**

### **6.7.1 Actividad antibacteriana**

La actividad antimicrobiana del propóleos ha sido demostrada en diversos estudios, que demuestran diferentes capacidades y algunas limitaciones sobre el efecto del propóleos en diferentes microorganismos.

Dentro del propóleos se han encontrado sustancias bioactivas de gran interés farmacológico sobre todo compuestos fenólicos y dentro de ellos los flavonoides. Los compuestos fenólicos son un grupo heterogéneo de más de 10000 compuestos. La mayoría son solubles en solventes orgánicos, pero algunos son solubles en agua como por ejemplo algunos glucósidos y ácidos carboxílicos. Otros son grandes polímeros y por lo tanto insolubles. (*Taiz, L et al, 2006*).

Según diversos estudios el propóleos es eficaz para inhibir el crecimiento de diversas bacterias como *S.aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, o levaduras del género *Candida* (*Silva et al 2012*). Otros estudios demuestran que el propóleos tienen una gran actividad frente a bacterias gran +, mostrando por otra parte una actividad limitada frente a bacterias gram-(*Grange and Dovey, 1990*). Además la actividad antimicrobiana puede tener sinergismo entre propóleos y otros compuestos procedentes de las resinas (*Burdock, 1998*).

En algunos estudios se demuestra que el propóleos incrementa la permeabilidad de la membrana plasmática bacteriana, disminuyendo así la producción de ATP a través de esta, además de la movilidad bacteriana. El propóleos puede también inhibir la enzima DNA girasa, responsable de la síntesis de ADN y ARN.

Dentro de la gran variedad del propóleos estudiados, los que tienen valores más altos de compuestos fenólicos y dentro de estos los flavonoides, son los que tienen mayor actividad antimicrobiana y antioxidante (Choi, 2006). En este estudio se comparó la eficacia frente a *S.aureus*, *C. albicans*, *S. typhimuriun*, *B.subillis*

### **6.7.2 Actividad antimicótica**

La eficacia frente a mohos no ha sido tan estudiada como la actividad frente a bacterias. Dentro de los estudios realizados los datos más significativos demuestran una eficacia frente a mohos como *Candida albicans*, *Sacharomyces* y *Cryptococcus* con una concentración mínima de 3 hasta 10 mg/ml (Burdock, 1998).

Dentro de los flavonoides estudiados procedentes de diferentes muestras de propóleos el más eficaz frente a mohos es la pinocembrina, con una concentración mínima 10 veces menor que otros compuestos fenólicos estudiados, esta concentración suele ser de 0,1-3 mg/ml.(Burdock,1998) Otros estudios muestran una eficacia bastante más frente a mohos de algunos propóleos, cuya concentración mínima inhibitoria frente a diversos mohos era de 25mg/ml unas 100 veces menor que la griseofulvina (Burdock;1998).

Sin embargo el propóleos podría tener algunas aplicaciones en el futuro dentro del campo de los conservantes alimenticios como demuestran algunas investigaciones que mostraron una capacidad inhibitoria de la síntesis de acratoxina de *Aspergillus sulphureus* con una concentración de 2mg/ml (Burdock,1998). El propóleos ha demostrado ser bastante eficaz concretamente contra el hongo *Candida albicans* con una concentración de 0,5 mg/ml en un antibiograma, donde produjo un halo de inhibición de 10 mm. Estos propóleos procedían de una muestra de Bulgaria que sufrió una extracción con etanol. (Prytzyk, 2003)

A pesar de la eficacia de los compuestos del propóleos contra *Candida albicans* y de la eficacia de algunos flavonoides ampliamente conocida como la pinocembrina, el uso del propóleos como antifúngico no parece muy adecuado. Por otra parte no se dispone de estudios suficientes como ocurre en el caso de la eficacia frente a las bacterias, para determinar su capacidad antifúngica, así como su posible uso como aditivo o conservante.

### **6.7.3 Actividad antiviral**

Dentro de los pocos estudios que hay cabe destacar alguno como el realizado por (Debiaggi *et al*), donde diferentes sustancias aisladas del propóleos como crisina y kaempferol se mostraron altamente eficaces inhibiendo la replicación de los virus adenovirus, rotavirus y herpes virus. En otros estudios se comprobó la actividad antiviral del propóleos administrado en forma de solución alcohólica al 5% por vía nasal. Mostrando una disminución en la replicación del virus influenza en ratones (Shevchenko *et al*, 1992).

El propóleos también se ha mostrado eficaz en otros estudios frente al virus influenza como es el caso del estudio realizado por (Serkedjieva *et al*, 1992) donde un tipo de

flavonoide más en concreto el isopentil ferulato inhibió la capacidad infectiva del virus influenza A de Hong Kong (H3 N2).

Debido a los resultados obtenidos en diversos estudios el uso de propóleos en productos alimenticos, o fármacos para prevenir el contagio de virus podría ser una opción que se comprobó su eficacia frente algunos virus de trasmisión alimentaria como los norovirus, adenovirus y rotavirus que junto con el virus de Norwalk son los virus más implicados en infecciones gastrointestinales. También el uso del propóleos se mostró eficaz frente a ADN virus como es el caso del Herpes virus y el influenza.

Al igual que en el caso de los mohos la investigación acerca de la actividad antiviral del propóleos supone una prometedora línea de investigación para su uso como posible aditivo o excipiente de productos farmacéuticos.

#### **6.7.4 Actividad antitumoral**

En algunos estudios como el realizado por (*Bassani-Silva et al, 2007*) se desmostró la actividad antitumoral del propóleos aislado de algunas muestras *procedentes de Brasil frente a células tumorales in vitro*. Otros autores como (*Sforzín, 2009*) relaciona este tipo de actividad del propóleos inhibiendo el crecimiento de las células e induciendo a estas a la apoptosis celular.

Dentro de los compuestos fenólicos aislados del propóleos, el ácido cafeico y la quercetina pueden usarse para disminuir el número de nódulos tumorales a una concentración de 50mg/kg . Debido a una toda una serie de estudios sobre la actividad anti tumoral, muchos autores concluyen que el uso del propóleos como sustancia antitumoral debe de ser una nueva línea de investigación dentro del campo de la medicina. (*Kim et al, 2011* )

Estos mismos autores desarrollaron un tipo de compuestos aislado del propóleos, al cual lo llaman nanocomida. Consiste en un tipo de polímero encapsulado con agregados de micelas, químicamente son N-isopropilacrilamida, y 2-vinil-pirrolidona, que convierten dicho extracto en una sustancia soluble en una fase acuosa. Este extracto modificado se mostró bastante eficaz contra diferentes líneas celulares de canceres de páncreas humano *in vitro*.

#### **6.7.5 Actividad antioxidante**

Dentro de las diferentes propiedades del propóleos la capacidad antioxidante, es una de las mejores estudiadas y más reconocidas. Como la mayoría de los alimentos que contienen compuestos fenólicos como por ejemplo el vino, estos compuestos juegan un papel muy importante evitando la oxidación.

En algunos estudios como el realizado por (*Valencia et al, 2012*) se demostró que la capacidad antioxidante se correlaciona con la concentración de compuestos fenólicos en el propóleos. Otros estudios demuestran que el propóleos o sus compuestos fenólicos mejor dicho, evitan daño oxidativo en las lipoproteínas de las membranas celulares (*Gregoris, 2010*). Respecto al mecanismo de acción este mismo autor, correlaciona la capacidad antioxidante con la estructura molecular de varios compuestos fenólicos, siendo más eficaces aquellos que poseen grupos hidroxilo en el carbono número 3 (C3), asociado con un doble enlace al carbono 2 del anillo.

El propóleos también inhibe la oxidación de los lípidos por parte de los peróxidos, como se demuestra en el trabajo de (*Kunazawa et al, 2004*). Aquí los autores relacionan la capacidad antioxidante el propóleos con varios de sus componentes como es el ácido caféico y los derivados de este (dimetil ácido ceféico DMCA en sus siglas en inglés).

La correlación existente entre la concentración de compuestos fenólicos y una elevada capacidad antioxidante también se encontró en estudios sobre capacidad antioxidante en diferentes muestras de propóleos portugueses (*Moreira, 2008*).

Como la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos procedentes del propóleos, ha sido sobradamente demostrada, el uso de estos compuestos supone la posibilidad de abrir una nueva línea de investigación con muchos posibles usos en el mundo de los conservantes alimenticios.

#### **6.7.6 Actividad antiinflamatoria**

La capacidad antiinflamatoria del propóleos o más en concreto de los flavonoides presentes en estos, depende en gran medida del origen geográfico de las muestras, ya que esto determina la composición del propóleos en cuanto a sustancias polifenólicas se refiere- (*Nakamura, R, 2010*).En este estudio el autor demostró la potencial actividad antiinflamatoria de muestras aisladas de propóleos de china y de Brasil, ambos se extrajeron mediante solventes orgánicos como etanol. De ellos se aislaron por cromatografía compuestos como: Chrysin, galadin, 3-O-metil-kaempferol.Los propóleos brasileños fueron los que mostraron mayor capacidad antiinflamatoria al inhibir el antígeno de degranulación de los mastocitos, así como los efectos nocivos más bajos en la línea de células cebadoras RBL-2H3.

En el trabajo de (*Talmadge, 2010*), el autor cree que la capacidad antiinflamatoria y antialérgica del propóleos se debe en lugar de a la acción aislada de moléculas individuales como por ejemplo podrían ser algunos compuestos fenólicos como los flavonoides, podría depender a las interacciones entre diferentes compuestos fenólicos naturales como los ácidos fenólicos, el ácido cafeico y los flavonoides derivados a partir de la fenilalanina y el ácido sikímico.

Ya que su parentesco con algunas sustancias mediadoras de la alergia produce un efecto competidor o por otra parte tiene un efecto sinérgico. En función de la dosis, origen y

concentración de dichas sustancias en el propóleos, así como el tipo de células al que es expuesta y a las moléculas activas también

Otros estudios muestran la eficacia de los flavonoides en enfermedades como la ateroesclerosis, ya que los flavonoides pueden emplear dos líneas defensivas frente al daño celular provocado por la oxidación de las LDL: la inhibición de la oxidación de las lipoproteínas y el bloqueo directo a nivel celular de la toxicidad de LDL oxidadas. (Alvarez. E and Orallo. F, 2015)

Debido a la gran cantidad de compuestos que representan las sustancias polifenólicas presentes en los propóleos y otros extractos vegetales y dentro estos los flavonoides, hace muy difícil encontrar respuestas claras ya que suelen englobar del orden de 4000 compuestos o más y más difícil aún determinar cuáles son sus funciones biológicas o sus células sobre las que causan su efecto.

A pesar de que la actividad antiinflamatoria del propóleos es bien conocida, esta línea de investigación debe concentrar sus esfuerzos en determinar qué tipo de sustancias son las responsables de estos efectos y el mecanismo de acción responsable del mismo para poder comprender mejor y poder usar estas herramientas tan prometedoras dentro del campo de la farmacología.

#### **6.7.7 Reacciones de alergia**

Como muestran algunos estudios (Burdock, 1998), en el cual se recogen datos de varios casos clínicos donde supuestamente el origen de la alergia se debe al uso del propóleos como base para diferentes productos como: bálsamos con aceites esenciales, cremas hidratantes para cara, barnices para violín o simplemente personas que ingirieron propóleos que habían sido extraídos en solución alcohólica.

En algunos estudios sobre su efecto en humanos como el de (Hausen *et al*, 1987), intentaron asociar sin éxito las reacciones alérgicas a compuestos del propóleos como el ácido dimetilcafeico en humanos y en cerdos guineanos, obteniendo unas pseudoreacciones positivas. Encontrando solo como posible alérgeno el flavonoide Tectocrisina como potencial sustancia alergénica en 3 de los 5 humanos estudiados.

Otros autores que siguieron la misma línea de investigación (Acciaci *et al*) Tras aislar varios esteres del ácido cafeico y otros compuestos aislados de muestras de propóleos por extracción alcohólica, encontraron que el éster del ácido cafeico Dimetilalil tiene actividad hapténica y dichos autores mencionan la teoría que esto se puede deber a la presencia de 3 grupos hidroxilo en el anillo.

Algunos autores como (DeGroot *et al*, 1994), sugieren que muchos compuestos del propóleos como el ácido cafeico y derivados, benzoatos y derivados producen una pseudoreacción cruzada en dichas pruebas.

En cuanto a la posibilidad de que el propóleos o más bien sus compuestos fenólicos produzcan alergia, algunos autores recomiendan poder hacer uso de él a una

concentración segura de 70mg/día/Kg. Para esto se usó un factor de seguridad de 1000 partiendo de el nivel sin efecto observable (NOEL) en ratones 1400mg/Kg/día. (Burdock, 1998). Hoy en día, no existen estudios para valorar la toxicidad a largo plazo tras una exposición continuada a compuestos presentes en el propóleos.

## 6.8. Parámetros de control de calidad del propóleos

Los parámetros que se describen en este trabajo están basados en la norma argentina IRAM-INTA-15935-1:2008. Esta norma es aplicable a todos los productos con propóleos producidos por abejas (*Apis mellifera*), para productos en bruto como fraccionados.

### 8.1 Requisitos sensoriales:

- Olor: característico de este producto balsámico o resinoso, según su origen geográfico
- Color: amarillo, pardo, verdoso, rojizo, negro; dependiendo de su origen geográfico
- Sabor: variable de suave balsámico a fuerte picante, dependiendo de origen geográfico
- Consistencia a temperatura ambiente: maleable o rígido según su origen geográfico.
- Aspecto: Homogéneo o heterogéneo, dependiendo de origen geográfico.

### Requisitos físico-químicos

**Tabla 2.** Requisitos físico-químicos del propóleos en la norma argentina IRAM-INTA-15935-1:2008

Requisito	Unidad	Mínimo	Máximo
Perdida por calentamiento	g/ 100g	-	10.0
Cenizas		-	5.0
Sustancias extraibles en n-Hexano		-	35.5
Resinas solubles en etanol		35.0	
impurezas mecánicas		-	25.0
Compuestos fenólicos totales		5.0	
Flavonoides		1.0	
Índice de oxidación	S	-	22
espectro de absorción al UV	-	Debe presentar un pico de absorción entre 270 315 nm	

**Tabla 3.** Requisitos de contaminantes de la norma argentina IRAM-INTA-15935-1:2008.

Requisito	unidad	máximo	Método de ensayo
Plomo expresado como Pb	mg/Kg	2	6.11
Arsénico expresado como As		1	6.12

## 8.2 Procedimientos de análisis

**8.2.1 Pérdida por calentamiento:** Consiste en calentar 4 g de una muestra de propóleos estandarizada. Se calienta en la estufa a 100 °C y cuando la muestra se atempera se vuelve a pesar para medir la pérdida. El resultado se mide con la siguiente fórmula:

$$H = 100 \cdot \left( 1 - \frac{(m_s - m_{100})}{(m - m_{100})} \right)$$

Siendo H la pérdida por 100 gr expresado como decimal.

**Determinación de cenizas:** Las muestras se incineran a 550°C y se mide la diferencia de perdidas de sustancias con carbono, se considera adecuada cuando no hay una diferencia de más de 5mg entre las dos muestras. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$C = \frac{(m_c - m_{550})}{(m - m_{550})} \cdot 100$$

**Determinación de sustancias extraíbles en n-hexano:** Utilizando un extractor soxhlet, se coloca una muestra de 2 gr en papel de filtro y se añade n-hexano. Tras ponerlo a ebullición a 80°C se mide las masas de los productos extraídos. Finalmente se calcula con la siguiente fórmula:

$$S_E = \frac{(B_{e1} - B_{e0})}{m} \cdot 100$$

**Determinación de compuestos fenólicos:** Utilizando el método Folin-Ciocalteu, Se determina la concentración por espectrofotometría, a una absorbancia de 765 nm, tras elaborar una recta de calibrado. Finalmente se calcula la concentración expresada en mg/l con la formula  $ABS = B \cdot F$  siendo B la pendiente de la recta.

**Determinación de flavonoides totales:** Al igual que los compuestos fenólicos, se determina la concentración de flavonoides mediante una técnica de espectrofotometría, midiendo a 425 nm, tras realizar una curva de calibración. El resultado se obtiene tras despejar la ecuación  $ABS = B \cdot F$  siendo B la pendiente de la recta.

**Índice de oxidación:** Se disuelve la muestra en etanol, se filtra y se somete la muestra a una dilución de ácido sulfúrico, luego se le añade unas gotas de permanganato de potasio y se mide el tiempo que tarda en decolorarse la solución. El resultado se expresa en segundos.

**Espectro de absorción UV-visible:** Se realiza un barrido entre las longitudes de onda 240 y 420 nm, tras diluir y acondicionar la muestra. Si presenta un máximo de absorción entre los valores 270 nm y 315 nm la presencia de compuestos fenólicos será positiva.

**Contaminantes:** Determinación de plomo y arsénico por los métodos oficiales, no debe de superar los valores de 2 y 1 mg/kg respectivamente, además no deberán superar los valores establecidos en el reglamento UE 1881/2008.

**Determinación de resinas:** Con un procedimiento parecido al de las sustancias extraíble en hexano (normalmente se hacen paralelamente), se determina midiendo la masa de las muestras y se determina los resultados con la siguiente fórmula: Expresando los resultados en gr de resina / 100 gr de muestra.

$$R = \frac{(B_{R1} - B_{R0})}{m} \cdot 100 \cdot \frac{V_R}{V_{R1}}$$

## 6.9. Legislación

Dentro del marco jurídico español, y a diferencia de otros países (norma argentina de calidad del propóleo IRAM-INTA), no hay normas específicas relativas al propóleo, ni tampoco se hace referencia a este producto en normas relativas a la miel (Real Decreto 1049/2003).

El propóleo aparece indicado como producto apícola en el Reglamento CE 1308/2013 que establece disposiciones específicas en los sectores de productos agrícolas..

En las circunstancias actuales, la ausencia de legislación sobre el propóleo, que regulen su producción, comercialización y otros aspectos. Esto es un problema debido a la aparición de numerosos productos en el mercado elaborados con propóleo, que en algunos casos, incluso se ha denegado alguna declaración saludable que se ha pretendido hacer, como por ejemplo la de la EFSA. En la conclusión del informe de dicho organismo en el que da una opinión científica sobre el pliego de condiciones con arreglo al artículo 13 de Reglamento (CE) 1924/2006 la EFSA declara:

*“Sobre la base de los datos presentados, el grupo llega a la conclusión de que no puede establecerse una relación de causa y efecto entre el consumo de propóleo o de flavonoides en propóleo y los efectos antibacterianos, antivíricos, antitumoral y antifúngicos reclamados considerados en esta opinión.”*

A pesar de la ausencia de legislación específica de propóleos cualquier operador del sector deberá cumplir los reglamentos transversales como el Reglamento (CE) nº 178/2000, en los que entre otros, se establece la responsabilidad del empresario en la seguridad del producto, así como la obligación de establecer un sistema de trazabilidad, y los reglamentos generales de higiene CE 852/2004 y 853/2004, al tratarse de un producto de origen animal. Es decir cualquier productor de propóleos deberá cumplir lo dispuesto en el reglamento CE Nº 178/2002 disponiendo de un plan de trazabilidad adecuado a su producto.

Conforme a lo dispuesto en el reglamento 852/2004, deberán cumplir con unos planes generales de higiene que garanticen los prerrequisitos para implementar un plan de autocontrol o APPCC dentro de la producción del propóleos.

Otra de las ausencias destacables de legislación sobre el propóleos es la falta de criterios microbiológicos recogidos en los reglamentos CE 2073/2005 y el reglamento CE 1441/2007 que modifica su anexo 1. Además, este producto debe cumplir con los requisitos de información ofrecida al consumidor establecidos en el Reglamento (UE) 1169/2011 y que cualquier declaración saludable que el productor desee incorporar, debe cumplir los requisitos del Reglamento (CE) nº 1924/2006.

Finalmente, y debido a los distintos productos que se comercializan en el mercado, debemos tener en cuenta el Real Decreto 1487/2009 que regula el uso de los complementos alimenticios, siendo éstos los “productos alimenticios cuyo fin sea complementar la dieta normal y consistentes en fuentes concentradas de nutrientes o de otras sustancias que tengan un efecto nutricional o fisiológico, en forma simple o combinada, comercializados en forma dosificada, es decir cápsulas, pastillas, tabletas, píldoras y otras formas similares, bolsitas de polvos, ampollas de líquido, botellas con cuentagotas y otras formas similares de líquidos y polvos que deben tomarse en pequeñas cantidades unitarias”.

### **6.10.1. Comercialización del propóleos como complemento alimenticio**

#### **Comercialización en Zaragoza y Aragón**

La comercialización del propóleos está más extendida de lo que en un primer momento se puede sospechar, a pesar de carecer de datos exactos y que como frecuentemente viene ocurriendo en casi todas las agroindustrias, no se puede obtener con certeza la cantidad total de la producción de propóleos, tan solo se puede disponer estimaciones aproximadas de la producción de esta sustancia en un sector que no ha hecho más que crecer en los últimos años sobre todo en la comunidad Autónoma de Aragón.

En nuestra comunidad autónoma, según el Plan nacional de ayudas para la apicultura 2014-2016 y según la orden del 17 de enero del consejo de agricultura y alimentación, Se dispone de subvenciones por valor de 400000 € para invertir en explotaciones apícolas en cantidades inferiores a 600€. En este oficio, donde las inversiones iniciales son relativamente bajas (120 € por colmena) y ofrece una posibilidad alta de crear empleo o en su defecto de complemento de rentas. Estas posibilidades han hecho incrementar el número de apicultores en nuestra comunidad de 86.655 a 106.350 apicultores en septiembre de 2015, llegando a provocar la sobre población de abejas en algunas zonas según fuentes del sindicato de unión de agricultores y ganaderos de Aragón (UAGA). Sin embargo otras fuentes oficiales como el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente reduce esa cifra hasta 23473 apicultores (Plan nacional de ayudas para la apicultura 2014-2016). También debería tenerse en cuenta aumento de las pérdidas por infecciones con ácaro varroa o los daños producidos por depredadores naturales de las abejas como el abejaruco que además es un ave protegida. Pero a pesar de las adversidades la apicultura aragonesa sigue creciendo

Durante los años 2014 y 2015 ha habido en Zaragoza un incremento de la demanda de complementos alimenticios, según fuentes no oficiales y prensa escrita. Aunque han tenido más importancia otro tipo de complementos, el propóleos también es un producto que se suele comercializar en este tipo de comercios de venta al detalle. Los posibles comercios que suelen comercializar con productos como extracto de propóleos, tintura de propóleos, productos elaborados con propóleos; tienen diferentes nombres o suelen pertenecer a diferentes categorías de establecimientos como: parafarmacias, herboristerías, tiendas de suplementos alimenticios, tiendas de productos naturales y ecológicos, consultas nutricionistas.

Una aproximación cercana a la realidad de este tipo de establecimientos, tan solo en la ciudad de Zaragoza, se acerca al número de 120 establecimientos. Estos centros de venta al detalle pueden pertenecer a franquicias o ser establecimientos de negocios personales, que son los predominantes en la ciudad de Zaragoza. Para la determinación aproximada del número de total de establecimientos que son potenciales vendedores de propóleos se usó como fuente diferentes empresas de publicidad como: google y google-maps, página samarillas y otras fuentes oficiales como el ayuntamiento de Zaragoza.

### **6.10.2 Principal vía de comercialización del propóleos**

A pesar de la gran oferta de propóleos en comercios de venta al detalle o de forma tradicional en la ciudad de Zaragoza, es internet sin duda alguna la forma más eficaz o al menos la vía más adecuada para acceder a la multitud de productos hechos a base de propóleos que se comercializan en el mercado español y a su vez en el mercado globalizado en el que está integrado dentro del contexto actual. Este hecho refuerza la creencia actual de que las ventas a través de internet van adquiriendo cada vez más importancia, al conseguir poco a poco más cuota de mercado tanto en complementos alimenticos como cualquier tipo de productos.

Usando los buscadores de internet más comunes (google.es) se pueden obtener más de 120000 sitios web que ofrecen productos relacionados con el propóleos. Además también cabría destacar que varios establecimientos anteriormente mencionados disponen de tiendas “on line” y quizás sea su principal fuente de ingresos.

El tipo de productos que se ofrecen es bastante variado, desde extractos de propóleos, tintura de propóleos, o productos de todo tipo como: grajeas, jabones, spray para la garganta, ampollas, caramelos y productos donde el propóleos solo forma parte de la formulación como ingrediente sir ser el principio activo del producto como jarabes, ungüentos e infusiones. Este tipo de productos varia bastante en cuanto a origen formulación, concentración del propóleos e incluso datos facilitados por los fabricantes. Quizás es aspecto más común de este tipo de productos suele ser el precio del producto. El precio medio de los productos consultados ronda los 12,25€ como media. Otro aspecto muy común de estos sitios web suele ser las exageradas propiedades atribuidas a los productos que aunque hechas en base a estudios publicados, no siempre reúnen las características de dichos estudios para que se produzca el efecto deseado.

### 6.10.2 Productos más comunes en internet a base de propóleos

A continuación se hace una breve descripción de los productos más comunes que se pueden obtener por vía telemática a través de internet, seleccionados de forma aleatoria como ejemplo de los diferentes géneros de productos hechos a base de propóleos.

#### Extracto de propóleos



Extracto de puro de propóleos hidroalcohólico, concentración de 1545 mg, se debe tomar dosificado, contiene 60 dosis. Fabricante:  
**PROPOLIMED**  
*Multi Estrazione Dinamica*  
Precio 13,90 €



Extracto puro de propóleos, 50 ml, posología 3 gotas al día, extracto en glicerina vegetal. Página web <http://www.natursanix.com/extracto-de-propoleo-s-al-50ml.html?gclid=CJbAmZPUl8kCFSjlwgodATEAiQ>  
Fabricante: **laboratorios PINISAN**  
Precio 10,74€



Extracto de propóleos frasco de 50ml, posología 3 gotas al dia, composición y concentración no aportada, página web: <http://www.carethy.es/dietetica-nutricion/soria-natural/p-13057#description>  
Fabricante: **Soria Natural** Precio 9,75€



Tintura de propóleos 25% - 30 ml. Soluble en agua. Alcohol etílico (37,5 % vol.), propóleos purificado, emulgente y agua desionizada. Valor energético (100g): 461,2 Kcal pagina web: <http://www.nutricioncosmetica.com/index.php/nutricion/propoltint-tintura-de-propoleo-marnys-botella-30-ml.html>



Fabricante:

Precio: 10,45€



Extracto de propóleos frasco de 50ml, posología 3 gotas al día, composición y concentración no aportada, página web : <http://www.carethy.es/dietetica-nutricion/soria-natural/p-13057#description>



Fabricante:

Precio 9,75€

## Tintura de propóleos



Tintura de propóleos al 25%, frasco de 30 ml, sin información adicional. Pagina web: <http://ecotienda.elherbolario.com/tinturas-eco-plantas-medicinales/187-tintura-de-propoleo.html>



Fabricante :

Precio: 11,25€

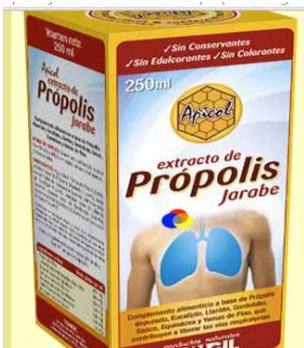


Tintura de propoleos al 15%, alcohol 65%, frasco 15 ml, posología 3 gotas al día, pagina web:  
[http://www.mieldorfajarra.uncatalogo.com/catalogo/propoleo\\_natural/tintura\\_de\\_propolis](http://www.mieldorfajarra.uncatalogo.com/catalogo/propoleo_natural/tintura_de_propolis)



Fabricante: PROPOL-MEL Precio: 6,12€

## Productos derivados del propóleos



Jarabe de extracto de propóleos, frasco 250 ml, composición : 1,2 % de extracto de propóleos ( 360 mg/ dosis de 30 ml),



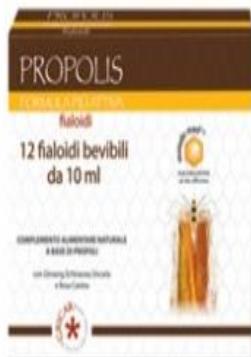
Fabricante: TONGIL Precio 11,61€



Pastillas 48 gr de propóleos miel y limón, envase de 24 unidades, sin información sobre composición.



Fabricante: Juanola Precio: 4,89€



Ampollas de 10 ml, a base de extracto de propóleos, posología una ampolla al día diluida, 12 viales por envase.



Fabricante

Precio: 13,95€



Jabón de propóleos, pastilla de 150 gr, sin más información añadida, pagina web:

<http://www.tuherbolarioonline.es/jabones/300-jabon-de-propoleo.html>



Fabricante: [www.MielOnline.com](http://www.MielOnline.com) Precio: 3,50€



Envase 200ml, champú con 3% de propóleos, sin más información. Pagina

web:[http://www.casapia.com/midietetica/champu-al-](http://www.casapia.com/midietetica/champu-al-propoleo)



Fabricante: Precio: 10,41€



Gominolas de propóleos, bolsas de 50 gr, contiene propóleos como ingrediente, sin más información sobre composición.



Fabricante :

Precio: desconocido



Botella con pulverizador de 30 ml concentración de propóleos desconocida página web:

<http://www.merkaon.com/es/p/140/spray-de-propoleo#.VIM0f9IvfMw>



Fabricante:

Precio: 10€

## 8. Conclusiones

---

### Español

Los resultados de los diferentes estudios observados en esta bibliografía, muestran resultados bastante prometedores sobre la actividad biológica del propóleos y sobre todo de algunos compuestos fenólicos presentes en los mismos, más enconcreto de los pertenecientes a la familia de los flavonoides. Sin embargo la presencia de estos compuestos con elevada actividad biológica, es aleatoria y dependientes de muchos factores como la procedencia de las resinas que toman las abejas, climatología, disponibilidad de plantas en el entorno de las abejas entre otros. Esto conlleva a la necesidad de caracterización y normalización del propóleos antes de poder usarlo tanto como producto o como fuente de sustancias que pueden ser usadas como principios activos de otros productos.

Respecto a los productos presentes en el mercado hechos a base de propóleos, muy pocos reúnen las concentraciones adecuadas de extracto alcohólico de propóleos, necesarias para alcanzar los efectos reflejados en los estudios que se muestran en esta revisión bibliográfica. Además estos productos homeopáticos tienden a presentar en sus etiquetados y en sus respectivos sitios web una publicidad habitualmente exagerada y grandilocuente de sus efectos beneficiosos para la salud.

A la vista de muchos resultados obtenidos por estos estudios científicos el propóleos constituye una fuente muy importante de compuestos fenólicos con una gran actividad biológica, suponiendo así una nueva línea de investigación bastante prometedora para el desarrollo de nuevos productos tales como aditivos alimentarios, antisépticos, antioxidantes e incluso antibióticos. Estas posibilidades deberían ser complementadas con estudios acerca de farmacocinética y farmacodinamica del propóleos y sus compuesto, así como otros estudios sobre su biodisponibilidad.

De acuerdo a lo anteriormente mencionado y teniendo en cuenta nuestro contexto actual en Aragón, cuyo número de apicultores se ha incrementado notoriamente en estos últimos años, el desarrollo de nuevos productos y usos del propóleos podría suponer una revalorización de este y por lo tanto un incremento de la renta de los apicultores, así como de la economía de nuestra comunidad autónoma.

### English

The results of different studies observed in the literature, show very promising results on the biological activity of propolis and especially of some phenolic compounds present therein, more particularly those belonging to the family of flavonoids. However, the presence of these compounds with high biological activity, is random and dependent on many factors such as the origin of the resins that make the bees, weather, availability

of plants in the environment of bees among others. This leads to the need for characterization and standardization of propolis before use as a product or as a source of substances that can be used as active ingredients of other products.

With regard to products on the market made from propolis, very few meet the appropriate alcoholic extract of propolis, necessary to achieve those reflected in the studies shown in this literature review effects concentrations. Besides these homeopathic products tend to have in their labels and in their respective web sites usually exaggerated and bombastic one of its beneficial effects on health advertising.

In view of many results obtained by these scientific studies propolis it is a very important source of phenolic compounds with high biological activity, thus representing a very promising new line of research for development of new products such as food additives, antiseptics, antioxidants and even antibiotics. These possibilities should be complemented by studies of pharmacokinetics and pharmacodynamics of propolis and its compound, as well as other studies on bioavailability.

According to the above and considering our current situation in Aragón, the number of beekeepers has increased markedly in recent years, the development of new products and uses of propolis could be a revaluation of this and therefore increase income of beekeepers, as well as the economy of our region.

## 9. Valoración personal

---

La realización de este Trabajo de Fin Grado me ha servido para concienciarde de la importancia de realizar nuevos desarrollos de productos, a partir de nuevas fuentes naturales como el propóleos. Ya que estas líneas de investigación podrían suponer no sólo un avance en diferentes materias como la conservación de alimentos, desarrollo de nuevos antimicrobianos o el desarrollo de nuevas estrategias en cuanto a la lucha contra patógenos. También ha servido para desarrollar una gran admiración por los compañeros de la comunidad científica, debido a la gran cantidad de trabajo y arduas tareas que he visto que han realizado en el apartados de materiales métodos de cada una de las 73 publicaciones estudiadas.

A nivel personal ha enriquecedor en cuanto al aprendizaje de inglés científico y su correcto uso por si en un futuro fuera necesario. Además de ser una grata experiencia personal el terminar esta carrera rodeado de tan buenas tutoras y compañeros.

# 10. Bibliografía

- Acciai M. C., Ginanneschi M., Bracci S. and Sertoli A. (1990) Studies of the sensitizing properties of propolis. Contact Dermatitis.
- Ayala F., Lembo G., Nappa P. and Balato N. (1985) Contact dermatitis from propolis. Contact Dermatitis
- Juliana Adelmann, Mauricio Passos a, Daniel Henrique Breyer a, Maria Helena Rocha dos Santos a,Cesar Lenz b, Natal'cio Ferreira Leite b, Fernando MauroLancas c, Jos'e Domingos Fontanaa. (2007)Exotic flora dependence of an unusual Brazilian propolis: The pinocembrin biomarker by capillary techniques.
- Angela L. Andrade \*, Diana Manzi, Rosana Z. Domingues. (2006). Tetracycline and propolis incorporation and release by bioactive glassycompounds.
- Bankova V., Christov R., Kujumgiev A., Marcucci M. C. and Popov S. (1995) Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis.
- Bankova, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. Journal of Ethnopharmacology. Volumen 100, 2005
- JS Bonvehí, AL Gutiérrez. (2012).The antimicrobial effects of propolis collected in different regions in the Basque Country (Northern Spain)
- Bjorkner B. E. (1994) Industrial airborne dermatoses. Dermatology Clinics 12, 501±509.
- M.L. Bruschi , M.L.C. Cardoso , M.B. Lucchesi , M.P.D. Gremião B. (2003) Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization.
- Bogdanov. S (2005). Contaminants of bee products.
- Burdock G.A (1998). Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis).
- Laurence Castle, Mark R. Philo, Matthew Sharman. (2003).The analysis of honey samples for residues of nitrobenzene and petroleum from the possible use of Frow mixture in hives.
- Y.M. Choi, D.O. Nob, S.Y. Cho, H.J. Suh, K.M. Kimd, J.M. Kim. (2005). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea.
- Clément, Henri et al. Tratado de apicultura. El conocimiento y cuidado de la abeja, las técnicas de apicultura y los productos de la colmena. Omega. Barcelona. D.L. 2012.
- Lourdes Corredera, Susana Bayarri, Consuelo Pérez-Arquillué, Regina Lázaro, Francisco Molino and Antonio Herrera. (2011). Multiresidue Determination of Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Honey by Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography.
- Debiaggi M., Tateo F., Pagani L., Luini M. and Romero E. (1990) Effects of propolis -avonoids on virus infectivity and replication. Microbiologica (Italy)
- Dobrowolski J. W., Vohora S. B., Sharma K., Shah S. A., Naqvi S. A. H. and Dandiya P. C. (1991) Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. Journal of Ethnopharmacology (18) (22)
- DeGroot A. C., Weyland J. W. and Nater J. P. (1994) Unwanted Effects of Cosmetics and Drugs Used in Dermatology.
- Selim Erdogan , Burhan Ates , Gokhan Durmaz , Ismet Yilmaz , Turgay Seckin . (2011)Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Anatolia propolis and their radical scavenging capacities
- Esser B. (1986) Allergy due to propolis. Aktuelle Dermatologie
- Folin-ciclosteu, adaptado por Kumazawa et al (2002). Extracto metanólico de propoleos, desecación y redisolución en distintos solventes.
- Ghisalberti E. L. (1979) Propolis: a review. Bee World 60, 59±84.
- Elena Gregoris, Roberto Stevanato. (2010). Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis.
- Han S. K. and Park H. K. (1995) A study on the preservation of meat products by natural propolis: effect of EEP on protein change of meat products. Korean Journal of Animal Science 37
- Hausen B. M., Wollenweber E., Senf H. and Post B. (1987a) Propolis allergy I. Origin properties usage and literature review. Contact Dermatitis 17
- Hausen B. M., Wollenweber E., Senf H. and Post B. (1987b) Propolis allergy II. The sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffic acid ester. Contact Dermatitis 17, 163±170.
- A. Herrera AE C. Pérez-Arquillué AE P. Conchello S. Bayarri AE R. La'zaro AE C. Yagüe AE A. Ariño. (2005). Determination of pesticides and PCBs in honey by solid-phase extraction cleanup followed by gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorusdetection
- IRAM-INTA-15935-1 Norma de calidad Argentina del propóleos.
- Johnson K. S., Eischen F. A. and Giannasi D. E. (1994) Chemical composition of North American bee propolis and biological activity towards larvae of greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Chemical Ecology 20

- Kim, Y.H., Chung, H.J., 2011. The effects of Korean Propolis against foodborne pathogens and transmission electron microscopic examination. New Biotechnology 28, 713–718.
- Shigenori Kumazawa, Tomoko Hamasaki, Tsutomu Nakayama. (2004).Antioxidant activity of propolis of various geographic origins.
- Olivier Lambert , Bruno Veyrand , Sophie Durand , Philippe Marchand , Bruno Le Bizec , Mélanie Piroux , Sophie Puyo , Chantal Thorin , Frédéric Delbac <sup>d</sup>,Hervé Pouliquen. ( 2011).Polycyclic aromatic hydrocarbons: Bees, honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants.
- Marcucci M. C. (1995) Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie 26, 83±99.
- Erika Mascheroni , Valerie Guillard , Federico Nalin , Luigi Mora , Luciano Piergiovanni. (2010).Diffusivity of propolis compounds in Polylactic acid polymer for the development of anti-microbial packaging films.
- Leandro Moreira, Luís G. Dias, José Alberto Pereira, Letícia Estevinho. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal.
- Nakamura R, Nakamura R, Watanabe K, Oka K, Ohta S, Mishima S, et al. Effects of propolis from different areas on mast cell degranulation and identification of the effective components in propolis. Int Immunopharmacol 2010;10(9):1107–12.
- Andrés Pérez-Parada, Marcos Colazzo, Natalia Besil, Lucía Geis-Asteggiante, Federico Rey, Horacio Heinzen. (2011).Determination of coumaphos, chlorpyrifos and ethion residues in propolis tinctures by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography coupled to flame photometric and mass spectrometric detection.
- Eliane Prytzyk , Andreia P. Dantas , Kelly Salomão , Alberto S. Pereira , Vassya S. Bankova , Solange L. De Castro, Francisco R. Aquino Neto. (2003).Flavonoids and trypanocidal activity of Bulgarian propolis.
- Schevchenko, L.F., Chasovodtseva, O.A. and Peschanskii, A.N. (1972) Inhibiting activity of propolis on the influenza virus. Conference title: Khimipro@lakika I Khimioterapiya Grippa, Materialy Vsesoyuznogo Simpoziuma po Khimipro@laktike I Khimioterapil Grippa, 1st 1971.
- Serkedjieva J., Manolova N. and Bankova V. (1992) Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). Journal of Natural Products Lloydia 55, 294±297.
- João Carlos Silva , Sandra Rodrigues , Xesús Feás , Letícia M. Esteveinio . (2012).Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis.
- Sibel Silici , Semiramis Kutluca. (2005).Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region.
- Jose Mauricio Sforcin, Vassya Bankova. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs.
- Taiz. L, et al. Fisiología vegetal. Universitat Jaume I. 2006.
- Talmadge. (2011). Propolis as anti-inflammatory and anti-allergic compounds: Which role for flavonoids?International Immunopharmacology 11 (2011) 1386–1387
- K. Tsimelia,, T.M. Triantis , D. Dimotikali<sup>b</sup>, A. Hiskiaa. (2008). Development of a rapid and sensitive method for the simultaneous determination of 1,2dibromoethane, 1,4dichlorobenzene and naphthalene residues in honey using HSSPME coupled with GC–MS
- Chrisoula Tananaki,Anastasia Zotou, Andreas Thrasyvoulou . (2005) Determination of 1,2-dibromoethane, 1,4-dichlorobenzene and naphthalene residues in honey by gas chromatography–mass spectrometry using purge and trap thermal desorption extraction-
- Dora Valencia , Efrain Alday , Ramon Robles-Zepeda , Adriana Garibay-Escobar , Juan C. Galvez-Ruiz , Magali Salas-Reyes , Manuel Jiménez-Estrada , Enrique Velazquez-Conteras , Javier Hernandez , Carlos Velazquez.. (2012).Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis

# Agradecimientos

---

- A Consuelo Pérez y Susana Bayarri cuya labor en la dirección de este trabajo de final de grado, es una oda a la paciencia y perseverancia del ser humano.
- A todos los profesores del Grado de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la facultad de veterinaria de Zaragoza, que gracias a su personalidad y buen hacer han conseguido devolverme la fe en la docencia.
- A TODAS las personas de las promociones 2014 y 2015 con las que me he relacionado, vuestra compañía ha sido y vuestro recuerdo será lo mejor de haber cursado esta carrera.
- A mis amigos de Ainzón, sin vuestro apoyo jamás lo habría logrado. Vuestro coraje y humor negro son los mejores regalos que ha podido hacerme mi casa.
- A los grupos de whatsapp CTA y La granja Thuglife, sin vuestra ayuda y humor no hubiera sido lo mismo
- Mención especial para Aitor López, Pasqual Almela, Eduardo Atienza y Oscar Valenzuela, por haber estado codo con codo estos años conmigo, al pie del cañon y al pie del bar también. Nadie castiga transaminasas como vosotros.
- A manolo el del bar, eres el mejor y lo sabes
- Por último, a todas las adversidades y dificultades encontradas en el camino, pues sin ellas esta victoria no sería tan grande