

Documentos de trabajo

Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de propóleos obtenidos de abejas *Apis mellifera*

Antimicrobial activity of ethanol extracts of propolis obtained of bees *Apis mellifera*

Atividade antimicrobiana de extractos etanólicos de própolis obtido abelha Apis mellifera.

Boris Daniel Velasquez¹ & Sandra Patricia Montenegro Gómez²

¹Zootecnista de la Universidad Nacional de Colombia. ²Licenciada en Biología y Química. Especialista en manejo y conservación de suelos y aguas. Magister en ciencias agrarias, énfasis suelos. Doctora en Ciencias área de concentración microbiología Agrícola.

^{1,2}Centro de Investigación de Agricultura y Biotecnología-CIAB. Dosquebradas. Risaralda. Colombia.

¹boris.velasquez@unad.edu.co, ²sandra.montenegro@unad.edu.co

Resumen

Propóleos es uno de los productos de la colmena que actualmente viene ganando interés por parte de los investigadores, ya que sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, han sido ampliamente reconocidas por su capacidad terapéutica contra una variedad de patógenos humanos y animales, al igual que por su uso potencial contra varios Fitopatógenos. Los estudios demuestran que propóleos es una sustancia compleja, constituida, en promedio, por 300 compuestos diferentes, esta riqueza de compuestos está correlacionada con el origen botánico del cual se obtienen las resinas. Colombia es rica en diversidad botánica, perfilando al país con un alto potencial para obtener propóleos de excelente calidad, los cuales con estudios serios, se constituirían como alternativas novedosas para el control y el tratamiento de gran variedad de patógenos causantes de enfermedades.

Palabras-clave: fitopatógenos, antibacteriales, aplicaciones agroalimentarias

Abstract

Propolis is one of the products of the hive that is currently gaining interest from researchers, since its physicochemical and biological properties have been widely recognized for its ability to therapeutic against a variety of human pathogens and animals, as well as for its potential use against various phytopathogenic. Studies show that propolis is a complex substance, consisting, on average, of 300 different compounds, this wealth of compounds is correlated with the botanical origin of which resins are obtained. Colombia is rich in botanical diversity, outlining the country with high potential to obtain excellent quality propolis, which with serious studies, it would be as innovative alternatives for the control and the treatment of a great variety of pathogens that cause disease.

Key-words: phytopathogenic, antibacterial, agri-food applications

Resumo

Própolis é um dos produtos da colmeia que atualmente vem ganhando interesse por parte dos pesquisadores, porque suas propriedades físico-químicas e biológicas, têm sido amplamente reconhecidas com fines terapêuticos contra uma variedade de patógenos humanos e animais, assim como por seu uso potencial contra vários organismos fitopatogênicos. Os estudos mostram que a própolis é uma substancia complexa, constituída, por 300 compostos diferentes e essa riqueza de compostos

está correlacionada com a origem botânica de onde são obtidas as resinas. Colômbia é rica em diversidade botânica, perfilando o país com alto potencial para obter própolis de excelente qualidade, o que poderia se constituir como novas alternativas para o controle e tratamento da grande variedade de patógenos causantes de doenças.

Palavras-chave: fitopatógenos, antibactéria, aplicações agroalimentares

Introducción

Dionisio *et al.*, 2013, definen propóleos como una mezcla de consistencia resinosa que es producida por las abejas al combinar resinas de origen vegetal con cera, enzimas salivares propias de las abejas, entre otros, con el fin formar una barrera natural dentro de la colmena, para reducir la incidencia dentro de ella de cualquier infección. Es una sustancia que contiene gran variedad de compuestos químicos, siendo inestable dependiendo de su origen vegetal. La composición de propóleos varía según su origen botánico (Bankova, 2009), de la variedad de la abeja, de la época y de las técnicas de recolección. Existen varias técnicas para recolectar propóleos, destacándose el método de raspado y la utilización de mallas plásticas (Dionisio *et al.*, 2013). Las características geográficas y botánicas de las zonas donde se extrae propóleos, determinan en gran medida su calidad, ya que existe una relación entre los componentes de la planta con algunas propiedades físicas como el color, sabor, textura y punto de fusión.

Diferentes estudios reportan una composición cercana a 160 sustancias, siendo la mitad compuestos de origen fenólico, siendo estos últimos responsables de la acción farmacológica. Los flavonoides, ácidos aromáticos y sus ésteres, aldehídos aromáticos, cumarinas y triglicéridos fenólicos son algunos de los principales fenoles que han sido identificados (López *et al.* 2012). Múltiples reportes indican que propóleos es relativamente no tóxico y tiene

diversos efectos sobre bacterias, hongos, parásitos y virus, así como propiedades antitumorales, como cicatrizante y regenerador de tejidos (Bankova *et al.*, 2002). El estudio científico de propóleos ha permitido descifrar su compleja composición y se han entendido nuevos mecanismos de su actividad biológica que permiten su empleo en diversos campos como la medicina, la biología y la industria, ya que exhibe un amplio espectro de acciones terapéuticas, destacando la actividad antibiótica, antiviral y antiinflamatoria

Composición físico-química de propóleos

La composición de propóleos es sumamente compleja, puesto que cada región productora, tiene características agroecológicas muy diferentes que favorecen el establecimiento de una determinada flora, lo cual determina la calidad, composición y propiedades antibacteriales (López *et al.*, 2015). Dentro de las propiedades físico-químicas que se evalúan en los propóleos, es importante establecer los porcentajes de humedad, los cuales en altos valores fijarían las condiciones propicias para el crecimiento de hongos que menoscaban la calidad de esta sustancia. Igualmente es necesario establecer los contenidos de ceniza, principal indicativo de la presencia de materiales extraños dentro de propóleos, relacionado con procesos de adulteración o inadecuadas prácticas de obtención (Funari & Ferro, 2006). El contenido de ceras en porcentajes altos, es una característica indeseable ya que

limita la presencia de aquellas fracciones de interés farmacológico como los compuestos fenólicos. Otro parámetro que establece la calidad de los propóleos es la proporción de las resinas que son solubles en etanol, cuanto mayor sea el valor de esta fracción mejor será, en términos de rendimiento, y la calidad del producto final, ya que allí se encuentran los compuestos que le confieren propiedades antifúngicas, antivirales y antibacteriales (Arrate, 2008).

Es así como propóleos de diferentes provincias de Cuba presentan bajos contenidos de humedad que varían entre 2.13 a 2.75%, contenidos de cenizas inferiores a 5%, altos contenidos de cera que van desde 45.22 a 53.25%, y sustancias extractables en etanol -resinas- alrededor de 12.82 a 15.34%. En propóleos cosechados en el bajo Cauca Antioqueño, presentan porcentajes de humedad bajo con reportes entre 2,58 a 3,14%, los cuales cumplen con las normas internacionales (< 10%), en cuanto al contenido de cenizas se reportaron valores de 0,91 a 2,33% siendo ideal valores por debajo de 5%. Para el contenido de ceras se obtuvieron valores muy variables que van desde 2,0% hasta 33%, superando en este último dato la norma internacional (< 25%) (Viloria *et al.*, 2012). En los propóleos evaluados en estas zonas, se reportaron contenidos de EEP inferiores (16.85%), de acuerdo a lo recomendado por la norma Brasileira (mínimo 35%) (Viloria *et al.*, 2012), siendo un aspecto negativo si se tiene en cuenta que en el EEP se concentran los compuestos correlacionados con la actividad biológica.

Mecanismos de acción de los propóleos

Los flavonoides presentes en los propóleos, poseen una acción directa sobre las membranas de algunas bacterias, reduciendo su capacidad de permeabilidad y haciéndola más frágil. Además los flavonoides se caracterizan por actuar de forma similar al ácido nicotínico, dándole propiedades oxidoreductoras, en sinergia con el ácido ascórbico (López *et al.* 2012). Los flavonoides absorben radiación electromagnética en la zona UV-VIS y de esta forma representa una protección natural para las plantas contra la radiación solar. Esto explica el efecto protector sobre la piel de ciertos preparados a base de propóleos (Asís, 1985).

Actividad antimicrobiana de propóleos

De modo general se ha encontrado que la actividad antimicrobiana de propóleos está asociada a la respuesta de la especie microbiana (Martínez & Figueroa, 2003). Las propiedades antimicrobianas de extractos etanólicos de propóleos obtenidos de abejas *Apis mellifera*, se atribuye a flavonoides galangina y pinocembrina y derivados de los ácidos benzoico, ferúlico y cafeico. El ácido cinámico y algunos flavonoides desactivan la energía de la membrana citoplasmática, inhibiendo la motilidad bacteriana, haciéndolas más vulnerables al ataque del sistema inmunológico y potenciando los antibióticos. (Farré *et al.*, 2004). La actividad enzimática de las bacterias para reducir sus efectos sobre los sistemas biológicos es susceptible a propóleos, tanto bacterias Gram-positivas como Gram-negativas (Zeighampour *et al.*, 2013). El propóleo puede retardar el desarrollo de formación de biopelículas en diferentes grupos microbianos incluyendo *Listeria spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Escherichia coli* y especies de *Pseudomonas* (Stan *et al.*, 2013). En Chile Villanueva *et al.* (2015) demostraron la efectividad antibacteriana *in vitro*, sobre 10 cepas de *Helicobacter pylori* a partir de la evaluación de 22 propóleos, de origen botánico diferente. La actividad antimicrobiana de propóleos también ha sido evaluada en control fúngico y se ha comprobado su efectividad. Los propóleos centroeuropeos (Alemania, Francia y Austria) de composiciones cualitativas similares y predominio del ácido trans-p-cumárico, muestran actividad frente a *Candida albicans*, mientras que los mediterráneos -Bulgaria, Turquía, Grecia y Argelia-, que contienen flavonoides, ésteres del ácido cafeico y ácidos ferúlicos, presentan menor actividad antifúngica. Por su parte estudios sobre la incidencia de paracoccidiomycosis (hongo causante: *Paracoccidioides brasiliensis*) en América latina, sugieren que, independientemente de su origen geográfico, los macrófagos estimulados con propóleos aumentan su actividad fungicida (Burdock, 1998). La actividad *in vitro* de agentes antifúngicos y antisépticos fueron evaluados frente a dermatofitos entre los que se encuentra el *Trichophyton rubrum*, señalando que el propóleo tuvo un comportamiento similar

a los otros medicamentos comerciales (Soares & Cury, 2001). También se ha encontrado capacidad antiviral del propóleo. En Francia Amoros *et al.* (1994), confirmaron la acción antiviral frente al herpes tipo 1 y 2, adicionalmente ante poliovirus. Establecieron que reduce la síntesis del ADN viral y que los responsables son flavonoides, que actúan en sinergismo con un éster del ácido cafeico y el ácido ferúlico.

Antecedentes en Colombia

Barragán & Ortiz (1988), recolectaron muestras de propóleos provenientes de Fusagasugá, Tunja y Neiva. Los microorganismos evaluados para establecer la concentración mínima inhibitoria -CMI- provenientes del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Colombia, fueron *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus piogens*, *Corynebacterium sp.* (2 cepas). En general los resultados de la CMI mostraron estar por debajo de 1,0 mg de propóleos por 10 ml de medio de cultivo.

Solano & Coronado (2000), seleccionaron tres tipos de propóleos de diferentes regiones de Colombia -Boyacá, Quindío y Cundinamarca-, con el fin de ser analizados por sus propiedades antimicrobianas. Los microorganismos de ensayo seleccionados fueron *Bacillus subtilis*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella tiphy*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor sp.* Moreno *et al.* (2007), tomaron cuatro muestras de propóleos: argentino, cinco colombianos y uno cubano, buscando establecer el efecto antimicrobiano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, principal microorganismo implicado en el desarrollo de

la caries dental. Empleando la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria -CMI- en concentraciones 15 a 3.75 mg/ml, la totalidad de las muestras analizadas manifestaron actividad contra *S. mutans*. Las muestras colombianas presentaron mayor efecto bactericida (CMB) luego de 48 horas de exposición a propóleos y el mejor efecto inhibitorio lo presentó una muestra colombiana a un periodo de exposición de 24 horas. Herrera *et al.* (2012) realizaron en Santander un estudio experimental *in vitro* en el que se evaluó la capacidad de un extracto de propóleos santandereano obtenido en el laboratorio para inhibir el crecimiento de una cepa de *Enterococcus faecalis*. Los resultados de este trabajo de investigación, proponen al propóleo santandereano como una alternativa de uso específicamente en el área de endodoncia, dado el potente efecto frente a *E. faecalis* que es uno de los patógenos más resistentes a los desinfectantes y medicaciones intraconducto utilizados en la terapia endodóntica. Talero (2014) comparando propóleos de las regiones, Boyacá, Santander y Cundinamarca, evaluó actividad antifúngica sobre *Trichophyton rubrum*. Los resultados no presentaron diferencias estadísticas entre concentraciones de etanol al 70% y 96%), pero sí fueron altamente significativas entre departamentos, indicando mayor eficiencia en la zona de Boyacá (Figura 1). Barrera *et al.*, (2015) en el municipio de Zaragoza, Antioquia, evaluaron *in vitro* el efecto antifúngico de propóleos sobre *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiana) bajo condiciones de poscosecha. Los resultados mostraron extensión de dos días en la aparición de daños. Adicionalmente, el tratamiento no afectó significativamente las propiedades fisicoquímicas de la papaya, en comparación con el control.

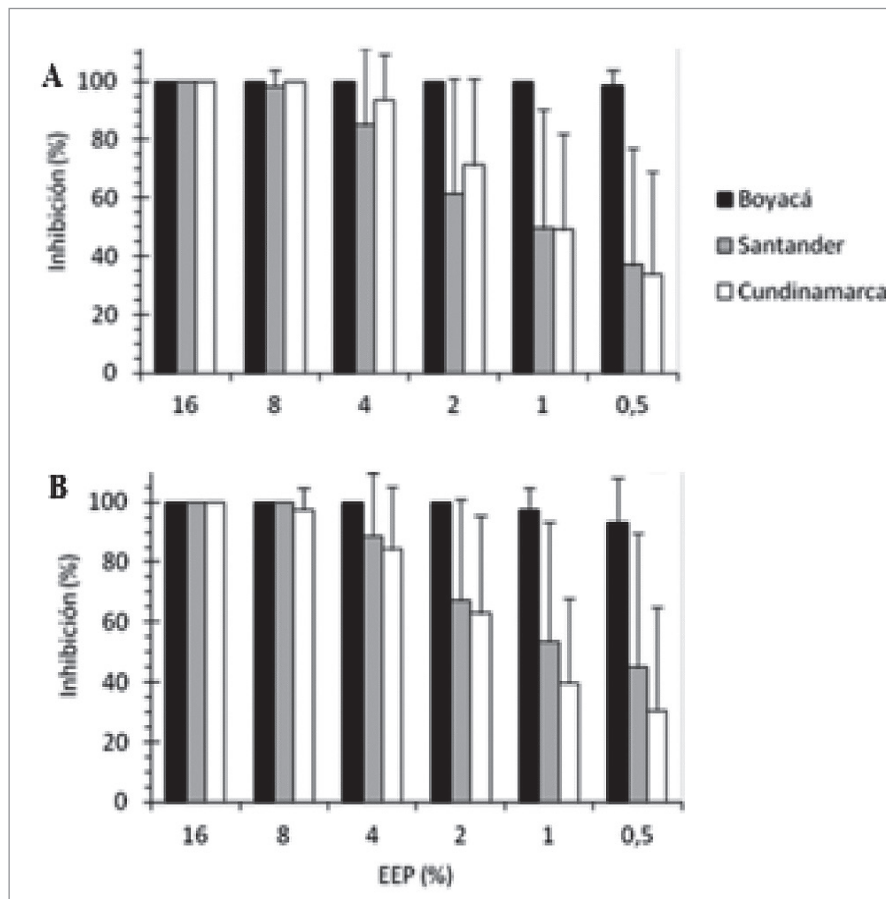


Figura 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento de *Trichophyton rubrum* en los departamentos de Boyacá, Santander y Cundinamarca, en alcohol al 70% (A) 96% (B) en seis niveles de concentración de EEP (Extracto etanólico de Propóleo).

Fuente: Talero (2014).

Perspectivas del uso antimicrobiano de propóleos con aplicaciones agroalimentarias y en el campo de la salud.

La demostración de las características antimicrobianas de propóleos encamina trabajos de

bioprospección de diversas aplicaciones anti patógenas, se citaran algunos ejemplos relevantes asociados con interés agroalimentario y salud humana (Tabla 1)

Tabla 1. Efecto inhibitorio de propóleos en diversos microorganismos de interés en el campo de la salud y sector agroalimentario

Microorganismo Inhibitorio	Efecto	Referencia antimicrobiana
Bacterias		
<i>Bacillus subtilis</i>	Alimentos: Contaminación del pan	Shahbaz <i>et al.</i> (2015)
<i>Enterococcus faecalis</i>		
<i>Escherichia coli</i>	Humanos: Infecciones gastrointestinales, sistemas urinario, sanguíneo, nervioso	Shahbaz <i>et al.</i> (2015)
<i>Helicobacter pylori</i>	Humanos: Gastritis y úlceras estomacales	Villanueva <i>et al.</i> (2015)
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Humanos: infecta pulmones y vías respiratorias, vías urinarias, tejidos, (heridas) Plantas: Putrefacción en raíces	Solano & Coronado (2000)
<i>Salmonella tiphy</i>		Solano & Coronado (2000)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Humanos: Infecciones cutáneas y de las mucosas. Animales: Mastitis en vacas	Manrique & Santana (2008) Shahbaz <i>et al.</i> (2015), Kai <i>et al.</i> (2016)
<i>Streptococcus piogens</i>	Humanos: Farinigitis bacteriana	Barragán & Ortiz (1988)
<i>Streptococcus iniae</i>	Animales: Peces, infecciones como meningoencefalitis, lesiones de la piel, y septicemia .	Tukmechi, & Mohebbat, A. (2010)
Hongos		
<i>Candida albicans</i>	Humanos: Candidiasis afectando vagina, cabidad oral, intesitino o piel	Solano & Coronado (2000)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Diversas plantas: Coloniza y bloquea los vasos conductores, causando muerte en las plantas	Solano & Coronado (2000)
<i>Ralstonia solanaceraum</i>	Diversas plantas: Coloniza el xilema, causando marchitez bacteriana	Basim <i>et al.</i> , (2006)
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Humanos: paracoccidiomicosis	Burdock, G.A., (1998)
<i>Trichophyton rubrum</i>	Humanos: Enfermedades de la piel como pie de atleta, purito de jockey y tiña	Talero, (2014).
Virus		
<i>Poliovirus</i>	Humanos: Herpes tipo 1 y 2	Amoros <i>et al.</i> (1994)

Los recubrimientos comestibles se definen como productos comestibles que forman una fina capa sobre el alimento (Navarros, 2007), constituyen una barrera semipermeable a los gases y al vapor de agua que retrasa el deterioro del alimento, mejoran las propiedades mecánicas, ayudan a mantener la integridad estructural de producto que envuelven, a retener compuestos volátiles y pueden actuar como vehículo de aditivos alimentarios, tales como antimicrobianos, antioxidantes, aromatizantes y colorantes (Tanada & Grosso, 2005). La elaboración de películas comestibles es muy variable, no es universal para todos los productos, por lo que constituye un reto para el desarrollo de recubrimientos y películas específicas para cada alimento. En el caso particular de las frutas y hortalizas para consumo en fresco, los recubrimientos comestibles proporcionan una cubierta protectora adicional cuyo impacto tecnológico es equivalente al de una atmósfera modificada, representando así una alternativa a este tipo de almacenamiento (Bosquez, 2008).

Los principales componentes de los recubrimientos comestibles son polisacáridos, proteínas lípidos y resinas. Las formulaciones pueden incluir, además, plastificantes y emulsificantes de distinta naturaleza química con el fin de mejorar las propiedades de los recubrimientos. Los polisacáridos y las proteínas son polímeros que forman redes moleculares cohesionadas por una alta interacción entre sus moléculas, estos les confiere buenas propiedades mecánicas y de barrera a gases (Nisperos, 1994). Los lípidos por su naturaleza hidrofóbica, ejercen una buena barrera al vapor de agua, sin embargo, su falta de cohesividad e integridad estructural hace que presenten malas propiedades mecánicas formando recubrimientos quebradizos, la incorporación de plastificantes tiene como objetivo mejorar la flexibilidad de los recubrimientos, haciéndolos menos frágiles y la de los emulsificantes favorecer la dispersión del lípido en la matriz hidrocoloide y mejorar la capacidad del recubrimiento para impregnar al alimento y formar una capa continua en la superficie del mismo (Aguilar, 2005, Navarros, 2007).

El interés de introducir sustancias naturales como aditivos en los alimentos junto con el uso de

diversos métodos combinados para la preservación de los alimentos está creciendo rápidamente, estudios muestran una potente actividad antimicrobiana en polifenoles de diversas fuentes naturales como por ejemplo la piel de la manzana, vino tinto y propóleos (Tosi *et al.*, 2007). Investigaciones realizadas por científicos de la universidad de Arizona y del Departamento de Agricultura de EUA, encontraron buenos resultados de la actividad antimicrobiana de algunos compuestos frente a ciertas bacterias dañinas como son la *Escherichia Coli* y *Listeria monocytogenes* aplicados en películas comestibles para productos alimenticios. En otros estudios se encontró que el propóleos presentaba buenas propiedades como conservante en productos cárnicos y como germicida e insecticida en el envasado de alimentos (Han, 1995).

Conclusiones

El efecto antimicrobiano de propóleos es una gran alternativa de control sobre patologías vegetales, animales y/o humanas y sin duda contribuye a reemplazar procedimientos lesivos, hacia un control biológico que ha demostrado ser mejor asimilado, sin embargo es necesario hacer uso dosificado ya que los microorganismos en determinadas proporciones hacen parte de las comunidades comúnmente hospederas en los seres vivos y cumplen funciones benéficas, es así como al no ejercer control moderado sobre microorganismos específicos, podría ocurrir que el uso de propóleos vulnere la comunidad microbiana benéfica asociada a los seres vivos.

Literatura citada

1. Aguilar M. M. (2005). Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. Instituto Politécnico Nacional. México DF.
2. Amoros M, Lurton E, Boustic J, Sauvager F. & Cormier M. (1994) Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-enyl caffeate. *J Nat Prod* 57: 644-647.
3. Arrate, L. (2008). Propóleos, el antibiótico natural de la colmena. *Sustrai: Revista Agropesquera* 13(85), 56-61.

4. Asís, M. (1985): "Los productos de las colmena". Ed. CIDA, La Habana, Cuba.
5. Barragán L. & Ortiz J. (1988), Estudio de la actividad biológica del propóleo. (tesis de pregrado). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia.
6. Barrera, E.; Gil, J.; Restrepo, A.; Mosquera, K.; Durango, D. (2015). A coating of chitosan and propolis extract for the postharvest treatment of papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiiiana). *Rev.Fac.Nal.Agr.* 68(2):7667-7678.
7. Bankova, V. (2005). chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology* 100 , 114 - 117.
8. Basim, E.; Basim H.; Ozcan, M. (2006) Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, Vol.77 No.4. 992-996, doi : 10.1016/j.jfoodeng.2005.08.027
9. Bosquez, E. (2010). Desarrollo de recubrimiento comestible formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para la conservación de frutas. Recuperado de: http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MA025_RECUBRIMIENTOS.
10. Burdock, G. (1998) A Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis) *Food and Chemical Toxicology* 36. 347-363.
11. Dionisio, R., Santana, C., Cortés, R. & Hernández, C. (2013). Actividad antifúngica de propóleos obtenidos en tres provincias de Cuba sobre hongos contaminantes en cultivos de tejidos vegetales. *Acta universitaria.* 23 (6), 6-9.
12. Farré R. *et al.* (2004.) Propolis and human health. *Ars Pharmaceutica*, 45:1; 21-43.
13. Funari, C. & Ferro, V. (2006). Análisis de própolis. *Ciência Tecnología o Alimentos*, 26, 171-178.
14. Han, S. K. (1995). A study on the preservation of meat products by natural propolis:effect of EEP on protein change of meat products. *Journal of Animal Science*, 37, 551 - 557.
15. Herrera LV, Piscioti MH, Ramos O, Neira LF, Pinzón JR, Herrera AV. & Soto JA. (2012). Actividad antimicrobiana in vitro de un propóleo de santander sobre *Enterococcus faecalis*. *Ustasalud.* v 11: 73 - 78
16. Kai ,W., Xiao-Lu, J., Xiao-Ge S. *et al.* (2015) "Effects of Chinese Propolis in Protecting Bovine Mammary Epithelial Cells against Mastitis Pathogens-Induced Cell Damage," *Mediators of Inflammation*, vol. 2016, Article ID 8028291, 12 pages, doi:10.1155/2016/8028291
17. López A, Cabrera A, Álvarez M, & Verdun, E. (2012). Búsqueda de usos alternativos de propóleos en el control biológico de hongos fitopatógenos. Facultad de ciencias agrarias UNNE. Argentina
18. Manrique, Antonio J, & Santana, Weyder C. (2008). Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 26(2), 157-166. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-&tlng=es.
19. Marcucci, M. C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie.* 16, 83 – 89
20. Martínez & Figueroa J. (2003) Espectro antimicrobiano del propóleo proveniente de apiarios de la zona norte del valle del Cauca y sur del Quindío. (tesis de pregrado). FMVZ. Universidad Nacional de Colombia.
21. Moreno Z., Martínez P. & Figueroa J. (2007) Efecto antimicrobiano In vitro de propóleos argentinos, colombianos y cubano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *NOVA - vol.5* no. 7 enero - junio: 1-100.
22. Navarros, T. M. (2007). Efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipilimelcelulosa y cera de abeja en la calidad de ciruelas, mandarinas y milojas. Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de tecnología de alimentos.
23. Nisperos, C. A. (1994). Edible coatings and films based on polysaccharides. Protein based lms and coatings. Eds.J.M Krochta; E.A.Baldwin, M.O. Technomic Publishing Co., Inc Lancaster, U.S.A. , 305 – 335
24. Shahbaz, M. & Zahoor T.; Atif Randhawa, M.; and Nawaz, H. (2015). *In vitro* antibacterial Activity of Hydroalcoholic Extract of Propolis against Pathogenic Bacteria. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences* 13(3): 132-136
25. Soares M. & Cury A. E. (2001.) *In vitro* activity of antifungal and antiseptic agents against dermatophyte isolates from patients with tinea pedis. *Brazilian Journal of Microbiology* 32:130-134.
26. Solano & Coronado (2000) Actividad antibacteriana y antifúngica de propóleo nacional. (Tesis de pregrado). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia.
27. Stan T, L Marutescu, CM Chifiriuc, C Mateescu and V Lazar, (2013) Study of the antimicrobial and antibiofilm activity of romanian propolis. *Biointerface Research and Applied Chemistry*, 3: 541-550.
28. Tanada, S. P. & Grosso, C. (2005). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria anassa* quality). *Postharvest Biology and Technology*, 36, 199 - 208.
29. Talero U. C. A. (2014). Actividad anti-gérmenes in vitro de extractos etanólicos de propóleos obtenido de abejas (*Apis mellifera*) en tres áreas geográficas de Colombia. (Tesis Maestría). Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia.
30. Tosi, A. E., Ortega, E. & Cazzoli, F. A. (2007). Food Preservative base on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food Chemistry* 104, 1025 - 1029.
31. Tukmechi, A., Ownagh, A. & Mohebbat, A. (2010). *In vitro* antibacterial activities of ethanol extract of iranian propolis (EEIP) against fish pathogenic bacteria (*Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri* & *Streptococcus iniae*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 1086–1092. <http://doi.org/10.1590/S1517-838220100004000030>.

32. Zeighampour F, M Mohammadi-Sichani, E Shams and NS Naghavi, (2013) Antibacterial activity of propolis ethanolic extract against antibiotic resistance bacteria isolated from burn wound infections. *Zehedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16: 25-30.
33. Villanueva, M., González, M., Fernández, H., Wilson, M., Manquián, N., Oth, C- & Oth, L. (2015). Actividad antibacteriana in vitro de propóleos chilenos sobre *Helicobacter pylori*. *Revista chilena de infectología*, 32(5), 530-535. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000600007>
34. Viloría, J. Gil, H. Durango, L. & García, C. (2012). Caracterización fisicoquímica del propóleo de la región del Bajo Cauca Antioqueño. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. Vol 10, 77-86.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

Recibido: octubre 08 de 2016

Aceptado: noviembre 17 de 2016

