

## Características organolépticas y físico-químicas de propóleos de la Provincia de Ñuble, VIII Región-Chile

Hernández S. M., Lazo S. C., Junod M. J., Arancibia M. J., Flores S. R., Valencia A. E. y Valenzuela V. E.

Universidad del Bío-Bío, Facultad de Ciencias, Dpto. Ciencias Básicas, Dpto. Ingeniería Alimentos, Chillán-Chile. Universidad de los Lagos, Dpto. Ciencias y Tecnologías de los Alimentos, Osorno-Chile

**RESUMEN.** El propóleos es una sustancia gomo-resinosa, producto del procesamiento por parte de las abejas (*Apis mellifera*), de resinas vegetales de variado tipo. Su composición es muy compleja ya que depende de su origen botánico y de las condiciones geográficas y climáticas donde se encuentren las plantas que producen las resinas. El objetivo del presente trabajo fue determinar las características organolépticas y físico-químicas de propóleos recolectados en los sectores costero, precordillerano y valle central de la provincia de Ñuble, VIII Región, Chile. En las determinaciones físico-químicas se obtuvieron los rangos de valores de: humedad, cenizas, ceras, fenoles totales, flavonoides totales, impurezas mecánicas, tiempo oxidación y solubles en etanol. De acuerdo a estos resultados los extractos de propóleos del sector costero fueron de mejor calidad que los del sector precordillerano, y éstos mejor que los del sector valle central. Los propóleos de los diferentes sectores fitogeográficos se clasifican de acuerdo a la normativa vigente como de alto tenor de flavonoides. Esta homogeneidad se observa también en el contenido de fenoles totales. En general, las propiedades de los propóleos analizados, se sitúan dentro de los parámetros de calidad exigidos por la reglamentación internacional vigente (Reglamento Técnico para la Fijación de Identidad y Calidad de Propóleos del Ministerio de Agricultura de Brasil, 1999).

**Palabras clave:** Chile, propóleos, organoléptico, propiedades físico-químicas, flavonoides.

### INTRODUCCION

La apicultura es una actividad de creciente importancia en el mundo, debido a la gran variedad de productos naturales que ofrece y a la fuerte tendencia del hombre a consumir productos minimamente procesados. Al propóleos se le atribuyen variados usos en la medicina popular, tomando en cuenta que las abejas lo usan para desinfectar su colmena, actuando como antibiótico natural, agente antiviral y antimicótico. Además, cumple el rol de utilizarlo en sellar, rellenar y reforzar la colmena (1).

La composición del propóleos es bastante compleja y variada por cuanto depende de la flora y de las condiciones geográficas y climáticas donde se elabora el producto. Se ha demostrado que *Apis mellifera* es selectiva en la utilización de las especies vegetales (1). El potencial apícola de una determinada zona dependerá de la vegetación circundante y de la

**SUMMARY.** **Characteristics organoleptic and physicochemical propolis in the Province of Ñuble, VIII Region-Chile.** Propolis ("bee-glue") is a gummy resinous substance elaborated by honey bees (*Apis mellifera*) from different types of plant resins. The chemical composition of propolis is very complex and variable as it depends on the botanical source and the environmental conditions prevailing at the location where the resin is collected by bees. The objective of this study was to determine the propolis organoleptic and physicochemical properties of different types in the Province of Ñuble (VIII Región, Chile). Samples were collected at different sites located in the Central Valley, ranging from the coast to the mountain skirts. Analyses included humidity, ashes, wax content, total phenolics content, total flavonoids, mechanical impurities, oxidation time, and solubility in ethanol. Results showed that propolis extracts from coastal sites are better quality than those collected at mountain skirts, and these in turn are better than propolis obtained from the Central Valley. All propolis analyzed in this study can be classified according to the Brazilian norm as high flavonoid content. The same homogeneity is observed in the amounts of total phenolics found in the samples. In general terms, properties of the propolis samples analyzed fulfill the quality requirements of the current international standards.

**Key words:** Chile, propolis, physicochemical properties, organoleptic, flavonoid.

preferencia de ellas por un determinado tipo de flores, según color, aroma, forma y floración (2,3). Desde el punto de vista productivo, se ha venido sugiriendo que no todas las abejas de la especie *Apis mellifera* propolizan con la misma intensidad. Una misma colmena producirá propóleos en diferentes cantidades en distintas épocas y aún pueden haber diferencias en las cantidades producidas en cada año, pues las abejas trabajan según sus necesidades y posibilidades. Por otra parte, en una misma colmena la apariencia externa de los propóleos puede variar de una extracción a otra (1).

El propóleos presenta una consistencia viscosa variable, dependiendo de su origen y de la temperatura. Hasta los 15°C es duro y se torna más maleable a medida que la temperatura aumenta. El punto de fusión varía entre 60°C a 70°C y su color varía de amarillo claro a pardo oscuro; presenta además un aroma penetrante, sabor acre y a veces hasta amargo.

En la composición de propóleos figuran: resinas, bálsamos, ceras, polen, aceites esenciales, además de aminoácidos, vitaminas y minerales. Se han identificado más de 160 compuestos de los cuales un 50% son compuestos fenólicos (4). Muchas de las sustancias que caracterizan la actividad biológica de propóleos, se asocian a la presencia de sustancias fenólicas como los flavonoides (5-8).

El propóleos posee una gran variedad de propiedades medicinales, entre las cuales se pueden mencionar su capacidad cicatrizante, anestésica, antiinflamatoria, antibacteriana antimicótica y antiviral, vasoprotectora y antitumoral. El propóleos también es antioxidante (9-13). Se pueden distinguir innumerables usos para su aplicación en variadas industrias: farmacéutica (tanto en medicina humana como medicina veterinaria), agrícola y en la industria alimentaria (14). En esta última, puede actuar como protector en material de embalaje de alimento. Permite aumentar la vida útil de productos marinos, permitiendo estabilizar estos alimentos en forma congelada, de la grasa de equino y porcino; así como para mejorar la calidad del ron y otras bebidas alcohólicas (15,16); en conservación y tratamientos post-cosecha de frutas (17). La calidad de los propóleos está directamente relacionada con los métodos de recolección, almacenamiento y conservación (18).

La demanda de propóleos es creciente en un mundo cada vez mas globalizado y que tiende a volver a los productos naturales como fuente de materia prima para resolver problemas tanto en el área alimentaria como farmacológica. En Chile, éste es un mercado cautivo y de manejo artesanal por lo que requiere de una amplia difusión de las diferentes propiedades del propóleos, para interesar a los productores y empresarios a incursionar en un rubro no tradicional dentro de la actividad apícola. Se considera necesario poner especial énfasis en el manejo y explotación de la colmena, optimizando la producción, para lograr insertar el propóleos chileno en el mercado nacional e internacional.

En Chile, los estudios son recientes y corresponden a la caracterización de los compuestos aislados de extractos de propóleos de alguno sectores de la zona norte y central de Chile (2,19, 20) y a la evaluación de actividades biológicas y antioxidantes (20,21). La determinación de las propiedades organolépticas y físico-químicas permitirá conocer la calidad de los propóleos recolectados en la provincia de Ñuble, VIII región de Chile, que es la zona que concentra la mayor cantidad de apicultores del país.

## MATERIALES Y METODOS

### Muestras de propóleos

El estudio se realizó en tres sectores de la Provincia de Ñuble (ubicada en la zona norte de la Región del Bío-Bío,

entre 36°-37° latitud sur y entre 71°-73° longitud oeste), con características geográficas y climatológicas diferentes: Sector Costero compuesto por las comunas de Coelemu, Trehuaco, Cobquecura, Ranquil, Portezuelo, Quirihue, Ninhue, San Nicolás y Quillón. Sector Valle Central con las comunas de Chillán, Chillán viejo, San Carlos, Ñiquén, Bulnes, San Ignacio y Coihueco. Sector Precordillera representado por las comunas de San Fabián, Pinto, El Carmen, Pemuco y Yungay.

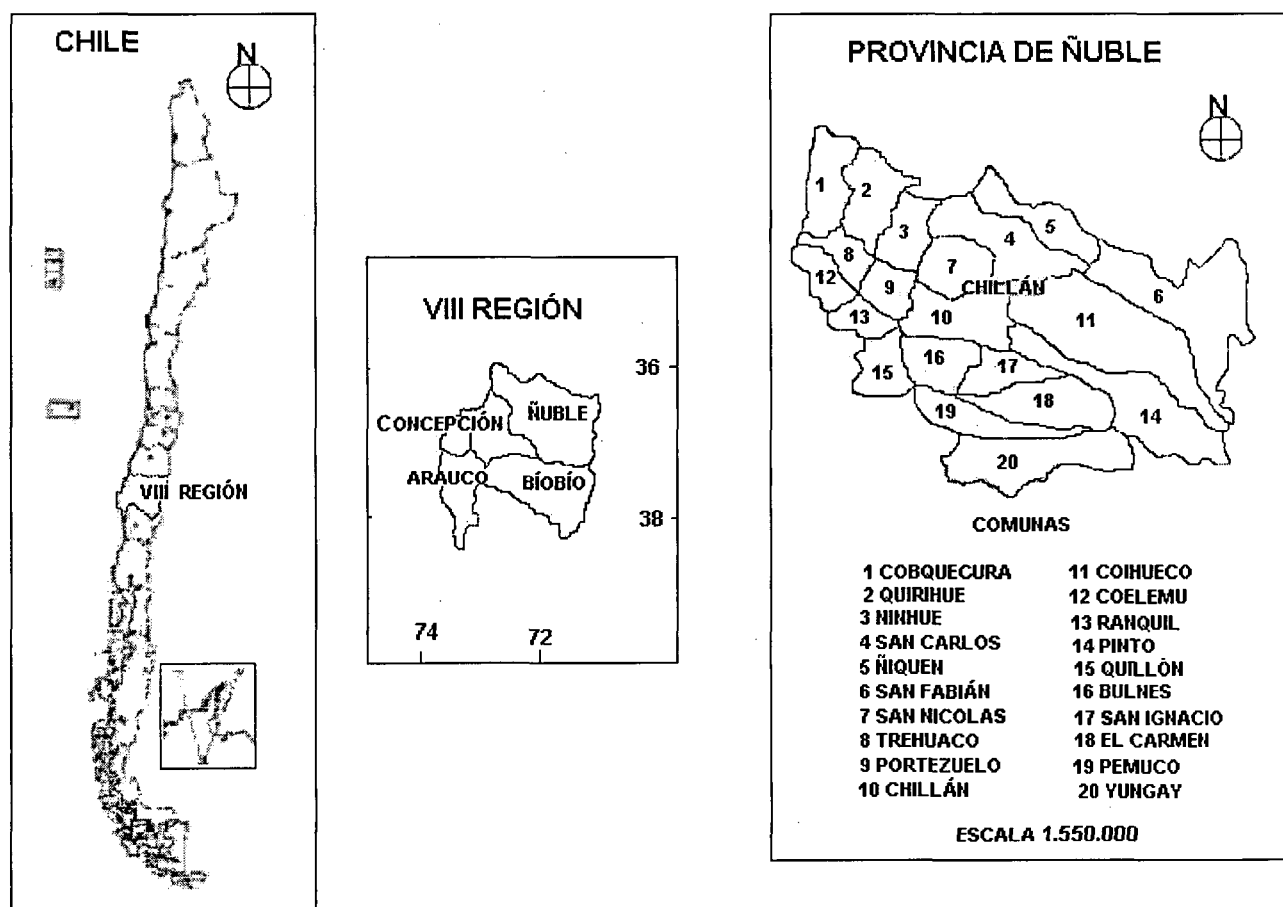
La recolección de las muestras se realizó entre marzo y abril del año 2001 (estación de otoño), por el método artesanal de raspado, utilizando espátulas de acero inoxidable para remover el producto adherido en las caras laterales, tapa, entretapa y alzas de cada cajón. El muestreo se efectuó en forma aleatoria de las diferentes colmenas de cada predio para formar una muestra compuesta representativa de cada sector de la Provincia de Ñuble, que corresponden, según volumen de producción a: Sector Valle Central con 11 predios, Sector Costero y Sector Precordillera con 7 predios cada uno. Se colocaron las muestras en envases oscuros de polietileno con cierre hermético y se trasladaron al laboratorio, donde se almacenaron a -10°C, hasta efectuar los análisis. A cada muestra se le consignaron los siguientes datos, tabulados en una ficha entregada previamente: Identificación del apicultor, métodos de recolección, época de cosecha, ubicación, tamaño del predio y del apiario, cantidad de colmenas, flora predominante en el predio, fitosanitarios utilizados, distancia desde los centros urbanos más cercanos, y otros.

### Determinaciones organolépticas

La determinación organoléptica de las muestras de propóleos se llevó a cabo analizando cualitativamente los siguientes parámetros sensoriales con un panel semientrenado y de acuerdo al Reglamento Técnico para la Fijación de Identidad y Calidad de Propóleos del Ministerio de Agricultura (RTFICP-MA) de Brasil, del año 1999 (22).

<b>Aspecto:</b>	Granos, trozos, briquetas.
<b>Consistencia</b>	Blanda, semidura, dura (a temperaturas entre 0 a 20°C).
<b>Olor</b>	Característicos de resinas y bálsamos, aromáticos.
<b>Color</b>	Verde oscuro, pardo o gris, amarillo, castaño o rojo.
<b>Sabor</b>	Insípido, picante, amargo, dulce.
<b>Impurezas visible</b>	Restos de madera, pintura y hongos.

FIGURA 1  
Mapa de zonas de recolección de propóleos de la provincia de Ñuble



#### Determinaciones físico-químicas

Las determinaciones se desarrollaron por triplicado para los diferentes análisis. La determinación de humedad y cenizas por métodos descritos por la AOAC (23); impurezas mecánicas, ceras, solubilidad en etanol, índice de oxidación y flavonoides totales se realizaron por metodologías descritas en el Reglamento Técnico para la Fijación de Identidad y Calidad de Propóleos del Ministerio de Agricultura (RTFICP-MA) de Brasil, del año 1999 (22) y fenoles totales mediante la metodología de Folin-Ciocalteu (25). Los resultados se expresaron en porcentajes, a excepción del índice de oxidación y los fenoles totales.

#### Humedad

La humedad se determinó mediante método termogravimétrico (23).

#### Cenizas

La determinación de cenizas se realizó por calcinación y por diferencia de pesada (23).

#### Impurezas mecánicas

La determinación de impurezas mecánicas se realizó tomando 2,5 g de propóleos. Se extrajeron a reflujo con etanol al 96% durante 6 horas en equipo Soxhlet. Las impurezas mecánicas se secaron en estufa a 105°C durante 2 horas. El residuo se dejó enfriar en desecadora y se pesó (22).

#### Ceras

El extracto etanólico de propóleos obtenido de la extracción anterior, se enfrió y se filtró en papel filtro Whatman N°3 previamente pesado. El residuo sólido ceroso se dejó secar a temperatura ambiente en campana de extracción. Posteriormente se llevó a calentamiento en estufa a 50°C durante 10 minutos hasta peso constante.

#### Solubilidad en etanol

La determinación de la solubilidad de propóleos en etanol se determinó sobre vidrio reloj seco y tarado, se pesaron 3,0 g de extracto etanólico de propóleos. Se secaron en estufa a 105°C hasta peso constante (22).

**Indice de oxidación**

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se disolvieron 0,20 g de propóleos en 5,0 mL de alcohol etílico y 100 mL de agua destilada. La solución se agitó y filtró. Una alícuota de 10 mL de filtrado se aforó a 100 mL con agua destilada. A 2,0 mL de esta solución, se adicionó 1,0 mL de ácido sulfúrico al 20% y 1 gota de solución de permanganato de potasio 0,10 N. Se midió el tiempo que demoró en desaparecer el color rosado de la solución a temperaturas entre 18 a 22°C (22).

**Fenoles totales**

En matraces volumétricos de 50 mL se colocaron 2,5 mL de extracto etanólico de propóleos y se aforaron con agua destilada. Alícuotas de 2,0 mL de esta solución se colocaron en matraces volumétricos de 50 mL. Se añadió 20 mL de agua destilada y 2,0 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Se agitó y dejó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 5 minutos. Al cabo de ese tiempo se añadió 8,0 mL de carbonato de sodio al 15% y se aforó a un volumen de 50 mL con agua destilada. Se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 765 nm. El contenido de fenoles totales se determinó usando una curva de calibración con soluciones de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 y 0,5 mg/mL de ácido gálico. Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico en mg/g de material seco (25).

**Flavonoides totales**

El patrón quercetina se preparó en metanol (0,2 mg de quercetina/mL); una alícuota de 1,0 mL de esta solución se

colocó en un matraz de 25 mL. Luego se agregó 15 mL de metanol, 0,5 mL de una solución metanólica de AlCl<sub>3</sub> al 5% p/v, y se aforó con metanol para espectroscopía UV. En matraces de 25 mL se colocaron 0,4 mL de extracto etanólico de propóleos y 15 mL de metanol para espectroscopía UV. Se homogeneizó y se dejó en la oscuridad durante 30 minutos. Al cabo de ese tiempo, se midió la absorbancia de la muestra, del patrón y del metanol, a una longitud de onda de 425 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de flavonoides totales (22).

**Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los datos se aplicó un procedimiento de comparación múltiple; estos se evaluaron mediante un análisis de varianza utilizando el software Statgraphics Plus 3.1 LSD, aplicando un nivel de significación de un 5%.

**RESULTADOS**

Los resultados de la determinación organoléptica cualitativa (Tabla 1) permiten señalar que los propóleos de la provincia de Ñuble presentan un aspecto de trozos pequeños e irregulares, con un color castaño claro y un olor característico de resinas. Además, el sabor varió entre levemente dulce, insípido y picante, con una consistencia blanda a temperatura ambiente y dura a temperaturas más bajas.

**TABLA 1**  
Evaluación sensorial de propóleos por sector.

Característica organoléptica	Sector		
	Secano costero	Precordillera	Valle central
Aspecto	Trozos pequeños, compactos e irregulares	Trozos pequeños compactos e irregulares	Trozos pequeños, compactos e irregulares
Color	Castaño claro con matices amarillos	Castaño y Café	castaño oscuro y claro con matices amarillos y verdes
Olor	Característico de resinoso	Característico de resinoso	Característico de resinoso
Sabor	Insípido, dulce y en algunos casos picante	Insípido y dulce	Dulce, amargo y en algunos casos picante
Consistencia	Blanda a 20°C y dura a 0°C	Blanda a 20°C y dura a 0°C	Blanda a 20°C y dura a 0°C
Impurezas visibles	Restos de madera y abejas	Restos de madera.	Restos de madera, hojas y abejas.

En la Tabla 2 se puede apreciar que las características físico-químicas reflejan una tendencia a la homogeneidad entre las muestras de los diferentes sectores. De igual forma, el análisis estadístico determinó que no existen diferencias significativas entre sectores, para los parámetros humedad y fenoles totales. Con respecto a los parámetros mencionados estos cum-

plen con la normativa vigente del Ministerio de Agricultura del Brasil, ya que la humedad no supera el 8% y los fenoles totales superan el 5%, como valor mínimo exigido (22). El contenido de cenizas no presenta diferencias significativas entre los sectores Precordillera y Valle Central, pero es mayor en el sector Secano costero. Sin embargo, todos los valores

son inferiores al 5%, que es el máximo permitido de acuerdo a la norma establecida (22). El análisis del contenido de ceras reflejó que no existen diferencias significativas entre el sector Secano Costero y Precordillera, pero si es mayor en el sector Valle Central. No obstante, todos estos valores cumplen con los requisitos de la normativa brasileña que permite un máximo de 25%. El contenido de flavonoides totales de las zonas de Precordillera y del Valle Central no muestra diferencias significativas, pero si con los del sector Secano Costero, cuyo valor es mayor. Estos porcentajes se ubican dentro de los valores establecidos por la normativa brasileña la que señala un

mínimo de 0,5% p/p (22). En cuanto al contenido de impurezas mecánicas, las muestras del Valle Central no presentan diferencias significativas con las del sector Precordillera, de igual forma, las muestras de este último sector no difieren con las muestras del sector Secano Costero. En relación con los parámetros descritos anteriormente todas las diferencias mencionadas concuerdan con lo señalado por Maidana (24), respecto a la variabilidad que presentan las muestras extraídas de diferentes sectores geográficos como de distintos sectores del predio agrícola, e incluso de diferentes partes de la colmena.

TABLA 2  
Determinaciones físico-químicas de propóleos por sector

	Sector		
	Secano costero media ± DS	Precordillera media ± DS	Valle central media ± DS
Humedad (g de agua/100 g propóleos)	4,95 ± 1,57a	5,28 ± 2,14a	5,22 ± 3,81a
Cenizas (g de cenizas/100 g propóleos)	1,91 ± 1,21b	1,50 ± 0,54a	1,51 ± 0,98a
Ceras (g de cera/100 g de propóleos)	11,50 ± 4,45a	12,83 ± 4,03a	18,47 ± 11,99b
Fenoles totales (eq de ác. gálico/g de propóleos seco)	10,76 ± 3,23a	11,42 ± 2,60a	11,44 ± 1,24a
Flavonoides totales (g flavonoides/100 g propóleos)	14,47 ± 2,73b	12,50 ± 1,72a	11,60 ± 2,66a
Impurezas mecánicas (g impurezas mec/100 g propóleos)	12,03 ± 6,01b	9,83 ± 3,64ab	8,68 ± 2,66a
Tiempo oxidación (s)	10,30 ± 3,12a	9,52 ± 1,18a	9,44 ± 2,66a
Solubles en etanol (g propóleos/100 g extracto etanólico)	78,83 ± 7,72b	80,41 ± 6,96b	68,12 ± 13,81a

DS : Desviación estándar

Nivel de significación  $\alpha < 0,05$  (intervalos LSD)

a, b: grupos homogéneos

Al comparar el tiempo de oxidación de los distintos sectores analizados, se puede inferir que las muestras no presentan diferencias significativas y están de acuerdo a la reglamentación del Ministerio de Agricultura del Brasil, que establece que el tiempo de oxidación de las muestras no debe exceder los 22 segundos. La solubilidad de los extractos de propóleos en etanol, no presenta diferencias significativas en las muestras de los sectores Secano Costero y Precordillera, pero si difieren de las muestras del sector Valle Central. A pesar de esta diferencia los tres sectores cumplen con la normativa vigente debido a que todos los valores superan bastante el mínimo establecido (33% p/p). De acuerdo a lo señalado por Salamanca la solubilidad de los propóleos depende de la forma en que se encuentren los flavonoides como del número y clase de sustituyentes presentes en ellos (26).

## DISCUSION

De acuerdo al análisis anterior, las propiedades organolépticas y físico-químicas de los propóleos recolectados en la provincia de Ñuble presentan variaciones en las características evaluadas dependiendo basicamente de factores geográficos y climáticos de la zona. Esta zona se caracteriza por tener especies vegetales de interés apícolas; son plantas

arbóreas, arbustivas y plantas rastreras, muchas de ellas endémicas, cuya composición es muy variada encontrándose desde árboles nativos en el sector precordillerano hasta frutales menores en el valle central. Desde la alta cordillera andina hasta el nivel del mar las plantas se distribuyen de distinta manera lo que permite caracterizar formaciones vegetales con ciertos tipos florísticos. Parte de este territorio se utiliza para la agricultura y para la plantación de bosques artificiales, *Pinus* y *Eucalyptus*.

De acuerdo al Reglamento Técnico para la Fijación de Identidad y Calidad de Propóleos del Ministerio de Agricultura de Brasil (1999) destinado al comercio nacional e internacional, que establece e identifica los requisitos mínimos exigidos, los resultados de las propiedades organolépticas y físico-químicas de todos los extractos de propóleos analizados, de las diferentes comunas de la provincia de Ñuble, se sitúan dentro de los parámetros de calidad exigidos por la reglamentación mencionada. Muchos de ellos superan los valores establecidos en cuanto a la calidad (22). Los valores de impurezas mecánicas se alejan positivamente de lo señalado en el reglamentos (máximo 40%), que a pesar de su naturaleza artesanal, estos valores podrían mejorar aún más si se emplearan otras técnica de manejo tales como el uso de mallas.

Los valores de los compuestos fenólicos son bastante ho-

mogéneos y corresponden a más del doble de los exigidos (mínimo de 5% m/m). Asociado a estos, el contenido de flavonoides es bastante mayor que lo establecido (mínimo de 0,5% m/m). Los resultados demostraron que los propóleos del sector Costero tienen mayor cantidad de flavonoides que los propóleos del sector Precordillera y éstos, mayor que los del sector Valle Central. A la luz del reglamento mencionado, que clasifica los propóleos en cuanto al contenido de flavonoides, los propóleos de las diferentes comunas de la provincia de Ñuble se clasifican como de "alto tenor de flavonoides" ya que todos ellos superan el valor exigido (mayor que 2,0% m/m), esto establece una diferenciación relevante, dado que el contenido de fenoles y flavonoides están asociados a una serie de actividades biológicas que potencian su valor comercial. Situación que nos da una clara ventaja frente a otros países productores que presentan heterogeneidad en relación con éstos parámetros, por ejemplo Argentina (27). Sin embargo, es necesario continuar estudios similares para establecer la línea base y posterior legislación asociada al monitoreo de la calidad.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Universidad del Bío-Bío (DIUBB 012507 2). E. Valencia y E. Valenzuela agradecen a la Universidad de Los Lagos (Osorno, Chile) el tiempo otorgado para colaborar en este estudio. También se agradece al Dr. Mario Villarroel Tudesca, por su colaboración en la revisión del formato y análisis sensorial.

#### REFERENCIAS

- Montenegro G, Timmermann B, Valcic S, Avila G, Sotolongo L, Mujica AM. Origen botánico y composición química de propóleos de la Zona Central de Chile. XL Reunión Anual Soc Biol Chil, Pucón, Chile, 1997;25-34
- Valcic S, Montenegro G. and Timmermann B. Lignans from Chilean Propolis. J Nat Prod. 1998;61, 771-775.
- Ortega JL. Flora de interés apícola y polinización de cultivos. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 1987.
- Asís M. Propóleos: El Oro Púrpura de las Abejas. Centro de Información y documentación agropecuaria. Editorial CIDA, La Habana Cuba. 1996.
- Bankova V, Nikolova N, Marcucci M. A new lignan from brazilian propolis. Z. Naturforsch 1996; 51(C): 9-10.
- Boudourova V, Krasteva G, Bonkova V, Sforcin JM, Nikolova N and Popov S, Phenolics from Brazilean propolis. Z. Naturforsch. 1997; 52 (C): 9-10, 676-679.
- Hegazi AG. Propolis an Overview. Congreso Internacional de propóleos, 12 de Septiembre del 2000, Buenos Aires-Argentina. 2000; pp. 35-53(a). Hegazi A. G., Nagia Moharm M. S. Infuence of different geographic zones on antimicrobial activity of Egyptian propolis. International Symposium on Apitherapy, Cairo 8-9<sup>th</sup>, March , 1997; pp. 46. b)
- Marcucci MC, Rodríguez J, Ferreres F, Bankova V, Groto R, Popov S. Chemical composition of Brazilian propolis from Sao Paulo State. Z. Naturforsch. 1998;53(C): 1-2; 117-119.
- Mirzoeva O, Grishain R, Calder P. Antimicrobial actions of propolis and some of its components: the effects on growth, membrana potential and motility of bacteria. Microbiol. Res. 1997; 152(3): 45-49.
- Marcucci MC. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie.1995; 26: 83-99.
- Özcan M. Uso de extracto de propóleos como antioxidante natural para aceites vegetales. Revista del Instituto de la Grasa. 2000; 51(4): 251-253.
- Vynograd N, Vynograd I, Sosnowski Z. A comparative mult-centre study of the efficacy of propolis acycloir and placebo in the treatment of genital herpes. Phytomedicine. 2000; 7(1): 1-6.
- Banshota AH. Recent progress in pharmacological research of propolis. Phytother. Res.2001;15:561-571.
- Matsuka M. Criteria of propolis in Japan. Japan Propolis Conference and Japan Health Food & Nutrition Food Association. 2000; pp.4.
- Donadieu Y. La propolis. Ed. Maloine, Paris, Francia. 1979.
- Mizuno M. Food packaging materials containing propolis as a preservative. Japanese Patent No. JP OI 243 974 [89 243 974]. pp.5. 1989.
- Sangalli A. La propoli. L'Ape Nostra Amica. 1990; 12(4):16-25
- Malaspina O, Palma M. Propolis brasileira: Controle de qualidade e legislação. Congreso Internacional de Propóleos, Buenos Aires-Argentina, 2000.
- Muñoz O, Pena RC, Ureta E, Montenegro G, Caldwell C, Timmermann BN. Phenolic compounds of propolis from central Chilean matorral. Z. Naturforsch, 2001; 56(3-4): 273-274
- Astudillo L, Avila F, Morrison R, Gutiérrez M, Bastida J, Codina C, Schmeda-Hirschmann G. Biologically active compounds from chilean propolis. Boletín de la Sociedad Chilena de Química, 2000; 45, 577.
- Russo A, Cardile V, Sánchez F, Troncoso N, Vanella A, Garbarino J. Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. Life Sciences, 2004; 76, 545-558.
- Reglamentación del Ministerio de Agricultura de Brasil. Reglamento Técnico para fijar la Identidad y Calidad de propóleos. 1999
- Association of Official Analytical Chemists A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> Edition, Washington D.C. 1990
- Maidana J. Efecto de la cosecha y almacenaje sobre la calidad del propóleos. Congreso Internacional de Propóleos, Buenos Aires-Argentina, 2000.
- Singleton SL and Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 1965; 16(1): 144-158.
- Salamanca G. El sistema de control y puntos críticos en la extracción y beneficio del propóleos. Congreso Internacional de Propóleos, Buenos Aires-Argentina, 2000.
- Bedascarrasbure E. Caracterización fisicoquímica de propóleos argentinos y sus extractos. Congreso Internacional de Propóleos, Buenos Aires-Argentina, 2000.

Recibido: 27-01-2005

Aceptado: 15-11-2005