



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Ingeniería Agroindustrial

TEMA:

**“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA
DEL PROPÓLEO Y SU APLICACIÓN EN LA AGROINDUSTRIA”**

**Proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniero
Agroindustrial otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la
Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente,
Carrera de Ingeniería Agroindustrial.**

AUTORA:

Alicia Fernanda Verdezoto Bósquez

DIRECTOR:

Dr. Favian Bayas Morejón

Guaranda – Ecuador

2022

TEMA:
"ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y
ANTIMICROBIANA DEL PROPÓLEO Y SU APLICACIÓN EN LA
AGROINDUSTRIA"

REVISADO Y APROBADO POR:



Dr. Isidro Favian Bayas Morejón PhD
DIRECTOR



Firmado electrónicamente por:
DEYSI MARGOTH
GUANGA CHUNATA

Ing. Deysi Margoth Guanga Chunata MSc
BIOMETRISTA



Ing. Víctor Danilo Montero Silva Mg.
REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICADO DE AUTORÍA

Yo, Alicia Fernanda Verdezoto Bósquez con C.I. 020218799-3, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional: y, que las referencias bibliográficas que incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



Alicia Fernanda Verdezoto Bósquez

C.I. 020218799-3

AUTORA



Dr. Isidro Favian Bayas Morejón PhD

C.I. 020181191-6

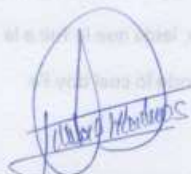
DIRECTOR



**DEYSI MARGOTH
GUANGA CHUNATA**

C.I. 060381683-6

BIOMETRISTA



Ing. Víctor Danilo Montero Silva Mg.

C.I. 020118558-4

REDACCIÓN TÉCNICA



Notaria Tercera del Cantón Guaranda
Msc. Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario

rio... 

N° ESCRITURA 20220201003P02649

DECLARACION JURAMENTADA

OTORGADA POR: Nombre: VERDEZOTO BOSQUEZ ALICIA FERNANDA

INDETERMINADA DI: 2 COPIAS H.R. Factura: 001-006-000002534

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día veintitrés de Noviembre del dos mil veintidós, ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda, comparece la señorita VERDEZOTO BOSQUEZ ALICIA FERNANDA, soltera de ocupación estudiante, domiciliada en la Parroquia de la Magdalena, del Cantón Chimbo Provincia Bolívar y de paso por este lugar, celular 0991433451, correo electrónico es piscifer1996@gmail.com, por sus propios y personales derechos, obligarse a quien de conocerle doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana; bien instruidas por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que procede libre y voluntariamente, advertidas de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presenta su declaración Bajo Juramento declaran lo siguiente manifiesto que el criterio e ideas emitidas en el presente trabajo de investigación titulado "ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL PROPÓLEO Y SU APLICACIÓN EN LA AGROINDUSTRIA": es de mi exclusiva responsabilidad en calidad de autora, previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial de la Universidad Estatal de Bolívar, Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad, la misma que la hago para los fines legales pertinentes. HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA. La misma que elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que le fue a la compareciente por mí el Notario en unidad de acto, aquella se ratifica y firma conmigo de todo lo cual doy Fe.

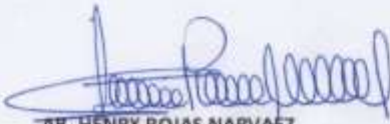




VERDEZOTO BOSQUEZ ALICIA FERNANDA

C.C. 02028799-3





AB. HENRY ROJAS NARVAEZ

NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA

EL NOTA....

Document Information

Analyzed document	Tesis propoleo- Verdezoto rev fav ult.pdf (D149944785)
Submitted	2022-11-17 02:43:00
Submitted by	
Submitter email	fbayas@ueb.edu.ec
Similarity	2 %
Analysis address	fbayas.ueb@analysis.unkund.com

Sources included in the report

Entire Document

Hit and source - focused comparison, Side by Side

Submitted text	As student entered the text in the submitted document.
Matching text	As the text appears in the source.



Dr. Isidro Favian Bayas Morejón PhD
DIRECTOR



Ing. Víctor Danilo Montero Silva Mg.
REDACCIÓN TÉCNICA

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de investigación a Dios por haberme dado la vida y una familia excepcional ya que, gracias al esfuerzo, apoyo y sacrificio de mis padres Domingo y Marlene de mis hermanos Wilson y Luis a mi esposo Eduardo e hijo Santiago quienes en momentos de debilidad han sido pilares fundamentales para no desmayar y culminar mis estudios.

Para ellos este trabajo de investigación fruto de mi esfuerzo.

Alicia Verdezoto

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios todo poderoso creador de la vida por haberme brindado la salud y vida para culminar mis estudios con éxito, a mi familia por su esfuerzo y apoyo constante durante todo el proceso de mi formación, a la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Estatal de Bolívar a su distinguida planta docente que guío mi formación académica, extendiendo mi agradecimiento especial al Dr. Favián Bayas director de este trabajo de investigación, a la Ing. Deysi Guanga biometrista y al Ing. Danilo Montero redactor técnico quienes con su conocimiento, experiencia y paciencia han asistido en la elaboración y culminación de este trabajo de investigación.

Alicia Verdezoto

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	Pág
DEDICATORIA.....	VI
AGRADECIMIENTO.....	VII
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XIV
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XVI
RESUMEN.....	XVII
SUMARY.....	XVIII
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivos.....	2
1.1.1. Objetivo general	2
1.1.2. Objetivos específicos.....	3
1.2. Problema.....	4
1.2.1. Planteamiento del problema	4
1.2.2. Formulación problemática.....	4
CAPÍTULO II.....	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Origen del propóleo	6
2.2. Propóleo.....	6
2.2.1. Origen botánico del propóleo	7
2.2.2. Composición química del propóleo	8
2.2.3. Características físicas del propóleo	9
2.2.4. Características organolépticas del propóleo	10
2.2.5. Propiedades Bioactivas de los propóleos.....	10
2.3. Actividad antioxidante del propóleo.....	11

2.3.1. Beneficios de los antioxidantes	13
2.4. Actividad antimicrobiana de los propóleos	13
2.4.1. Resistencia antimicrobiana	14
2.5. Usos de los propóleos en la agroindustria	14
2.6. Bacterias patógenas	15
2.6.1. Gram negativas	15
2.6.2. Gram positivas	17
2.7. Leche cruda.....	19
2.8. Queso	19
2.8.1. Queso fresco	20
2.8.2. Valor nutricional del queso fresco	20
CAPÍTULO III	22
3. MARCO METODOLÓGICO	22
3.1. Ubicación de la investigación.....	22
3.2. Localización de la investigación.....	22
3.3. Situación geográfica y climática.....	22
3.4. Zona de vida (Zonificación ecológica)	23
3.5. Materiales	23
3.5.1. Material experimental.....	23
3.5.2. Materiales de laboratorio	23
3.5.3. Equipos	24
3.5.4. Reactivos	25
3.5.5. Materiales de oficina	25
3.6. Métodos	26
3.6.1. Factor de estudio.....	26
3.6.4. Caracterización del experimento	29
3.6.5. Diseño experimental.....	30

3.6.6. Análisis de varianza.....	30
3.6.7. Comparaciones de medias	31
3.6.8. Métodos de evaluación y datos a tomarse	31
3.7. Manejo experimento	32
3.7.1. Adquisición del propóleo.....	32
3.8. Determinación de la capacidad antioxidante de los propóleos.....	32
3.9. Determinación de la actividad antimicrobiana del propóleo	33
3.9.1. Reanimación bacteriana.....	33
3.9.2. Preparación del medio de cultivo	34
3.9.3. Análisis de actividad antimicrobiana.....	34
3.10. Propóleo como conservante natural del queso fresco.....	35
3.10.1. Elaboración del queso fresco.....	35
3.10.2. Diagrama de flujo de la elaboración del queso fresco.....	37
3.10.3. Análisis microbiológico del queso	38
3.10.4. Caracterización del microorganismo mediante Tinción de Gram	38
3.11. Análisis económico.....	38
CAPÍTULO IV.....	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1. Resultados de la capacidad antioxidante de los propóleos	39
4.2. Resultados de la actividad antimicrobiana del propóleo	44
4.2.1. Actividad antimicrobiana frentes a <i>E. coli</i>	44
4.2.2. Actividad antimicrobiana frente a <i>Salmonella</i>	51
4.2.3. Actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	57
4.2.4. Actividad antimicrobiana frente a <i>Bacillus</i>	63
4.3. Resultados del propóleo como conservante natural del queso fresco	69
4.3.1. Identificación del microorganismo mediante Tinción de Gram	70
4.4. Resultados de los análisis económicos	72

4.5. Comprobación de hipótesis	73
4.5.1. Verificación de hipótesis	73
4.6. Conclusiones y recomendaciones	74
4.6.1. Conclusiones.....	74
4.6.2. Recomendaciones	75
BIBLIOGRAFÍA	76

ANEXOS

GLOSARIO DE TÉRMINOS

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°	DESCRIPCIÓN	Pág
1.	Composición química de la cera del propóleo.....	8
2.	Características físicas del propóleo	9
3.	Composición química de los propóleos.....	11
4.	Aplicación del propóleo en la industria alimentaria.....	15
5.	Localización de la investigación.....	22
6.	Situación geográfica y climática	23
7.	Factores y niveles de estudio para antioxidantes.....	26
8.	Descripción de los tratamientos de antioxidantes.....	27
9.	Factores y niveles de estudio para antimicrobiana	27
10.	Descripción de los tratamientos de antimicrobiana.....	28
11.	Características del experimento para la actividad antioxidantes.....	29
12.	Características del experimento para la actividad antimicrobiana	29
13.	Análisis de varianza (ADEVA)	30
14.	Resultados de la actividad antioxidante del propóleo	39
15.	Análisis de varianza de la actividad antioxidante.....	40
16.	Pruebas de LSD para el factor A (origen del propóleo)	41
17.	Pruebas de LSD para el factor B (antioxidantes)	42
18.	Resultados de la actividad antimicrobiana frente a <i>Escherichia coli</i>	45
19.	Análisis de varianza de actividad antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i>	47
20.	Pruebas de LSD para el factor A	48
21.	Pruebas de LSD para el factor B	49
22.	Resultados de la actividad antimicrobiana frente a <i>Salmonella</i>	51
23.	Análisis de varianza de actividad antimicrobiana de <i>Salmonella</i>	53

24. Pruebas de LSD para origen del propóleo	54
25. Pruebas de LSD para cepas de <i>Salmonella</i>	55
26. Resultados de la actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	57
27. Análisis de varianza de actividad antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i>	59
28. Pruebas de LSD para origen del propóleo	60
29. Pruebas de LSD para cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	61
30. Resultados de la actividad antimicrobiana frente a <i>Bacillus</i>	63
31. Análisis de varianza de la actividad antimicrobiana de <i>Bacillus</i>	65
32. Pruebas de LSD para el origen del propóleo	66
33. Pruebas de LSD para cepas de <i>Bacillus</i>	67
34. Resultados del conteo de colonias	69
35. Costo beneficio	72

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	DESCRIPCIÓN	Pág
1.	Pasta resinosa de propóleo.....	6
2.	Propóleo líquido	7
3.	Composición química del propóleo	9
4.	Estructura de un átomo estable y un radical libre.....	12
5.	Forma de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
6.	Forma de <i>Salmonella</i>	17
7.	Forma de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
8.	Forma de <i>Bacillus</i>	19
9.	Queso fresco	20
10.	Composición nutricional del queso fresco.....	21
11.	Relación del origen del propóleo con la concentración de los antioxidantes	42
12.	Relación de concentración de antioxidantes con el % de H ₂ O ₂ secuestrado.....	43
13.	Interacción de AB	44
14.	Actividad antimicrobiana del propóleo frente a <i>Escherichia coli</i>	46
15.	Relación del origen del propóleo con los halos de inhibición de <i>E. coli</i>	49
16.	Relación de las cepas bacterianas con los halos de inhibición de <i>E. coli</i>	50
17.	Interacción del origen de propóleo frente a <i>E. coli</i>	50
18.	Actividad antimicrobiana del propóleo frente a <i>Salmonella</i>	52
19.	Relación del origen del propóleo con los halos de inhibición de <i>Salmonella</i>	54
20.	Relación de las cepas bacterianas con los halos de inhibición de <i>Salmonella</i>	56
21.	Interacción del origen de propóleo frente a <i>Salmonella</i>	56
22.	Actividad antimicrobiana del propóleo frente <i>Staphylococcus aureus</i>	58
23.	Relación del origen del propóleo con los halos de inhibición de <i>S. aureus</i>	60

24. Relación de cepas bacterianas con los halos de inhibición de <i>S. aureus</i>	62
25. Interacción de origen de propóleo frente a <i>S. aureus</i>	62
26. Actividad antimicrobiana del propóleo frente a <i>Bacillus</i>	64
27. Relación de origen de propóleo con los halos de inhibición de <i>Bacillus</i>	66
28. Relación de cepas bacterianas con halos de inhibición de <i>Bacillus</i>	68
29. Interacción de origen de propóleo frente a <i>Bacillus</i>	68
30. Bacteria Gram positiva, microscopia de campo 100 X	71

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N°	DESCRIPCIÓN
1.	Mapa de ubicación de la investigación
2.	Resultados mediante espectrofotometría
3.	Resultado de la capacidad antioxidante del propóleo
4.	Fotografías de la fase experimental de la actividad antioxidante
5.	Actividad antimicrobiana
6.	Aplicación del propóleo en los quesos fresco como conservante natural
7.	Identificación de <i>Staphylococcus</i> mediante tinción de Gram

RESUMEN

El propóleo ha sido utilizado desde la antigüedad con fines medicinales, en la actualidad investigaciones han demostrado que el propóleo posee propiedades terapéuticas, antiinflamatorias, analgésicas y antisépticas, en tal sentido el objetivo de la presente investigación fue: Estudiar la actividad antioxidante y antimicrobiana del propóleo y su aplicación en la Agroindustria; Para lo cual, se determinó la actividad antioxidante a los propóleos procedentes de La Magdalena, San Miguel y La Chima, donde se identificó que el propóleo de La Chima posee mayor concentración de antioxidante a diluciones de 20 y 60 mg/mL, de igual manera, se determinó la actividad antimicrobiana frente a dos bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus*) y dos bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella*), donde el propóleo de La Chima resultó ser más efectivo frente a *Escherichia coli* con halos de inhibición de 11,33 mm de diámetro. El propóleo de La Chima por poseer mayor actividad antioxidante y antimicrobiana se aplicó en el queso como conservante natural dejando actuar durante 21 días, tiempo en el cual inició el proceso de degradación apareciendo bacterias como *Staphylococcus aureus* que fue identificado por el método de tinción de Gram, finalmente se realizó el análisis costo beneficio en la que se determinó que el queso con propóleo de 453,6 g de peso tiene un costo de 3,99\$. En conclusión, el propóleo de La Chima por ser el mejor tratamiento puede ser utilizado en la industria alimentaria como conservante natural.

Palabras claves: Propóleo, antioxidantes, antimicrobiano, colmena, bacterias, queso.

SUMMARY

Propolis has been used since ancient times for medicinal purposes, currently research has shown that propolis has therapeutic, anti-inflammatory, analgesic and antiseptic properties, in this sense the objective of this research was; Therefore, the antioxidant and antimicrobial activity of propolis and its application in Agroindustry. For this purpose, the antioxidant activity of propolis from Magdalena, San Miguel and the Chima was determined, where it was identified that the propolis from the Chima has a higher concentration of antioxidant at dilutions of 20 and 60 mg/mL, likewise, The antimicrobial activity against two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus*) and two Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella*) was determined, where the Chima propolis was found to be more effective against *Escherichia coli* with inhibition halos of 11,33 mm in diameter. The propolis from the Chima, because it has greater antioxidant and antimicrobial activity, was applied to the cheese as a natural preservative, leaving it to act for 21 days, during which time the degradation process began and bacteria such as *Staphylococcus aureus* appeared, which was identified by the Gram staining method. Finally, a cost-benefit analysis was performed, which determined that the cheese with propolis weighing 453,6 g cost \$3,99. In conclusion, propolis from the Chima, being the best treatment, can be used in the food industry as a natural preservative.

Key words: Propolis, antioxidants, antimicrobial, beehive, bacteria, cheese.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El propóleo fue conocido desde los antiguos griegos, romanos y egipcios, los cuales conocían sus propiedades curativas y fueron usados ampliamente como medicina, la composición química del propóleo es heterogénea y depende de la naturaleza que prevalece alrededor de la colmena *apis mellifera*, la estación del año, de su origen geográfico (Rodríguez *et al.* 2015). El propóleo es un producto recolectado por las abejas, que se forma como resultado de la secreción resinosa de las yemas, cortezas de árboles y arbustos, estudios previos han demostrado que el propóleo es un producto natural con propiedades antibióticas, cicatrizantes, antiinflamatorias, analgésicas, antialérgicas y anestésicas (Guanche, 2022).

El propóleo es producido por las abejas (*apis mellifera*), el cual es una sustancia compleja formada a partir de la resina de ciertas plantas, que las abejas convierten en glucólisis con enzimas de las glándulas hipofaríngeas. El propóleo es conocido por el hombre desde tiempos remotos, siendo utilizado por los sacerdotes egipcios y más tarde por los griegos, quienes lo denominaron “propóleos”, porque significa delante y polis, que quiere decir ciudad, de acuerdo a un gran número de estudios, este producto apícola se caracteriza por poseer actividad antiviral, antifúngica, antiinflamatoria, cicatrizante, anestésica, anticancerígena, antioxidante y antibacteriana (Arroyave *et al.*, 2021).

En el propóleo se ha identificado más de 300 compuestos químicos en diferentes regiones geográficas en los últimos diez años, entre los compuestos químicos que están presentes son: los fenoles, flavonoides, ácidos fenólicos y ésteres, considerándolos los principales componentes en el propóleo (Guanche, 2022).

Los propóleos poseen actividad antimicrobiana debido a la presencia de diferentes propiedades de flavonoides como son: pinocembrina, quercetina, naringenina, acacetina,

apigenina, crisina, galangina, kaempferol y pinobanksina, siendo atribuido a la compleja composición de la resina, el propóleo son sensibles a las bacterias Gram positivas y resistentes a las bacterias Gram negativas (Rodríguez *et al.*, 2020).

Los antioxidantes inhiben la formación de radicales libres, permiten tratar las enfermedades causadas por el estrés oxidativo, la actividad antioxidante está relacionada con la concentración de los polifenoles que poseen los propóleos, por los ácidos grasos insaturados provenientes de las abejas, los flavonoides como la catequina o quercetina tienen mayor capacidad para contrarrestar los radicales libres (Rebaza *et al.*, 2016).

Los propóleos tienen diversas propiedades biológicas y farmacológicas, como actividad inmunomoduladora, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral, antiinflamatorias, antioxidante, antiparasitaria, entre otras, siendo de gran interés en la industria farmacológica, actualmente el propóleo es un medicamento homeopático ampliamente utilizado para el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio, aunque todavía existen pocos estudios clínicos que utilicen propóleos para evaluar su eficacia contra diversos patógenos humanos (Balboa *et al.*, 2018).

Debido a los múltiples beneficios que posee el propóleo, se vio la necesidad de aplicarlo como conservante alimentario en quesos frescos en sustitución de los aditivos sintéticos para inhibir el desarrollo de hongos y bacterias.

De tal manera, en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Estudiar la actividad antioxidante y antimicrobiana del propóleo y su aplicación en la Agroindustria.

1.1.2. Objetivos específicos

- ❖ Analizar la capacidad antioxidante del propóleo mediante la prueba de captación de Peróxido de Hidrógeno de Ruch.
- ❖ Estudiar la actividad antimicrobiana del propóleo frente a 20 cepas bacterianas de los géneros: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp y *Bacillus*. pertenecientes al banco de microorganismos de la UEB.
- ❖ Probar el propóleo como conservante natural en el queso fresco.
- ❖ Realizar el análisis económico en la relación beneficio costo.

1.2. Problema

1.2.1. Planteamiento del problema

El propóleo es un producto natural e inócuo que ha sido utilizado en la medicina tradicional desde la antigüedad por sus propiedades biológicas, es una sustancia de composición compleja y aspecto resinoso producida por las abejas (Fernández *et al.*, 2022).

En el Ecuador, una gran cantidad de apicultores no aprovechan los beneficios del propóleo como producto antioxidante y antibacteriano; la composición química del propóleo es cualitativa y cuantitativa dependiendo de la diversidad geográfica de las plantas en su región de origen, lo que puede influir en sus propiedades biológicas (Verdugo & Tola, 2017).

Los conservantes usados en la industria alimentaria en el Ecuador la mayor parte son sustancias artificiales, utilizados para proteger de los microorganismos, reducir el deterioro de los alimentos durante su almacenamiento y expendio, esta sustancia artificial en cantidades no adecuadas podría resultar ser cancerígenas, mutagénicas o trastornos metabólicos (Cedeño, 2018).

El propóleo es reconocido por sus propiedades antimicrobianas y es ampliamente estudiado como bioconservantes para la aplicación en la industria alimentaria, en la actualidad existe una gran demanda de alimentos con cantidades mínimas de conservantes artificiales y el propóleo por sus múltiples beneficios como antioxidantes y antimicrobianos se postula como una de las alternativas bioconservantes idóneas para la preservación de los alimentos (Carrera, 2016). Sin embargo, existen escasos estudios sobre el análisis de las propiedades bioactivas de este componente natural.

1.2.2. Formulación problemática

De acuerdo a lo mencionado, se considera que la investigación debe abordar principalmente el estudio antioxidante y antimicrobiano del propóleo como conservante natural en los quesos frescos, para lo cual se plantea la siguiente pregunta directriz.

¿El estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana del propóleo permitirá determinar su uso en la agroindustria como conservante natural del queso fresco?

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Origen del propóleo

A partir de la década de los 50 en la Unión Soviética el propóleo fue utilizado para el control de enfermedades, pero en la década de los 80 se dio a conocer las cualidades farmacológicas que posee el propóleo en el 30vo Congreso Internacional de Apicultura realizado en Nagoya (Ríos, 2017). El término propóleo se deriva de las palabras griegas “pro” defensa y “polis” ciudad o colmena, el significado delante de la ciudad o colmena se ajusta favorablemente al papel protector que posee la colmena de las abejas (Salamanca, 2017).

Figura N° 1

Pasta resinosa de propóleo



Fuente: MeliSalud, (2018)

2.2. Propóleo

El propóleo es un material viscoso cuyo color varía según el origen, su aroma es agradable a especies arbóreas, miel, cera y vainilla, pero puede tener un sabor amargo derivado de secreciones o de una acumulación de secreciones de plantas como son de las yemas, cortezas, ramas, frutos jóvenes, producidas por abejas (*Apis mellifera*), el propóleo es el exudado resinoso de las plantas que son recolectadas por las abejas (Benavidez, 2017).

Las abejas utilizan esta resina para proteger la colmena de la propagación de microorganismos, incluidos hongos y bacterias, este subproducto se ha utilizado en la medicina popular en innumerables países por sus actividades biológicas, incluidas las actividades antibacteriana, antiinflamatoria y antiséptica (Cauja, 2019).

El propóleo es una sustancia producida por las abejas de composición compleja, que se modifica por glucólisis a partir de las resinas de determinadas plantas, la resina parcialmente es una mezcla de cera y polen, es usado como sellador en la colmena en invierno, donde también mantiene un ambiente aséptico (Aymar^á *et al.*, 2018).

Figura N° 2

Propóleo líquido



Trabajo de campo: ECOCOLMENA, (2022)

2.2.1. Origen botánico del propóleo

El origen botánico del propóleo resulta más complejo precisar ya que la colecta se hace de diferentes partes de plantas, árboles, botones, brotes y cortezas florales de sustancias de origen resinoso balsámico gomoso, exudaciones mucilaginosas, lipofílicos y látex, la

existencia de cada sustancia depende de la especie de abeja, el clima, la temporada y la región geográfica donde se encuentre (Bone, 2018).

2.2.2. Composición química del propóleo

La composición química de los propóleos es variable dependiendo a las características fitogeográficas, provienen principalmente de tres fuentes: resina vegetal recolectada por las abejas, sustancias excretadas metabólicamente y tejido vegetal cortado (Becerra *et al.*, 2022).

Tabla N° 1

Composición química de la cera del propóleo

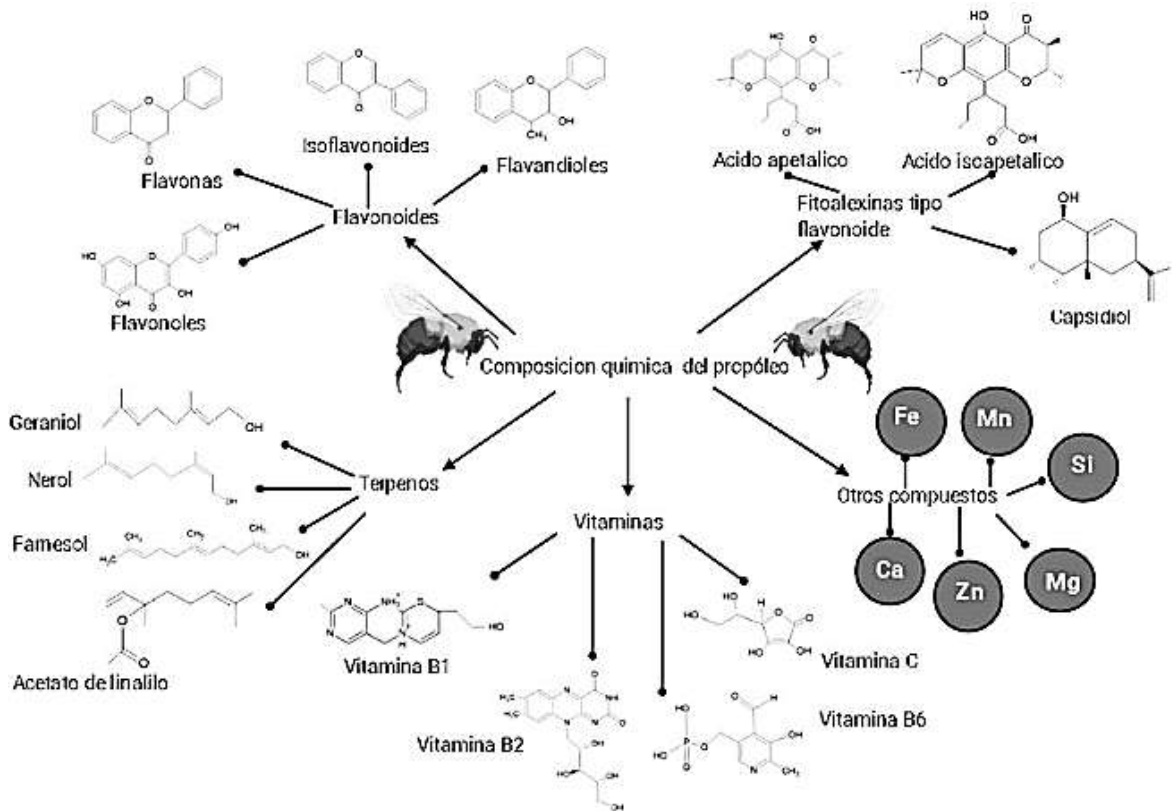
Compuestos	%
Resinas y bálsamos	50 %
Ceras	30 %
Aceites esenciales	10%
Polen y detritos	5%
Otras sustancias (minerales, enzimas)	5%
Impurezas (astillas, restos de abejas)	20%

Fuente: Bone, (2018)

Las ceras son insolubles en agua y alcoholes fríos, pero perfectamente solubles en hexano o éter de petróleo y generalmente se consideran inertes, dependiendo del origen vegetal del propóleo, las resinas son muy solubles en etanol, metanol, cloroformo y prácticamente insolubles en agua (Lastiri *et al.*, 2018).

Figura N° 3

Composición química del propóleo



Fuente: Becerra *et al.*, (2022)

2.2.3. Características físicas del propóleo

Entre las características físicas podemos mencionar:

Tabla N° 2

Características físicas del propóleo

Densidad	Densidad mayor a la cera
Punto de fusión	Entre 60°, 80° hasta 100°C
Solubilidad	Insoluble en agua, soluble en disolventes tales como acetona, sosa cáustica, benceno y etanol, prefiriéndose este último.

Fuente: Espinoza, (2017)

2.2.4. Características organolépticas del propóleo

Se caracteriza por tener una aroma resinoso o balsámico, según el origen botánico, el color del propóleo varía dependiendo al lugar de procedencia, pero generalmente se puede encontrar propóleos amarillos, pardo, verdoso, rojizo, marrón, el sabor es suave, balsámico pasa a fuerte y picante con un aspecto homogéneo o heterogéneo (Lastiri *et al.*, 2018).

El propóleo suele ser un componente aromático debido a su contenido en aceite esencial y varía en su color de amarillo claro a marrón oscuro con un sabor amargo, ligeramente picante o insípido, según la planta de origen de la resina, la época de cosecha y la edad, entre 45 y 250 °C el propóleo es una sustancia blanda, flexible y muy viscosa, mientras que por debajo de los 15°C se vuelve duro y quebradizo, generalmente, el propóleo se vuelve líquido entre 60 y 70 °C (Cauja, 2019).

2.2.5. Propiedades Bioactivas de los propóleos

La parte resinosa del propóleo está formada por fenoles y flavonoides, que son muy importantes a nivel terapéutico y tienen un efecto sinérgico y son esenciales para la actividad biológica beneficiosa en humanos y animales: antibacteriana, antifúngica, antiviral, antioxidante, inmunoreguladora (Rodríguez *et al.*, 2020).

Según Herrera (2021), la composición química del propóleo consiste en sus ésteres, terpenos y taninos, pero la composición y concentración de las sustancias resinosas varía ampliamente y está influenciada por factores como la especie de abeja, las estaciones y los métodos.

Tabla N° 3*Composición química de los propóleos*

Propiedad	Compuestos químicos
Antioxidante	Flavonoides, ácido caféico y fenetil éster
Antimicótico	Pinocembrina, ácido acético y caféico
Antibacterial	Pinocembrina, Kaemferol y ácido caféico
Antiséptico	Ácido Benzoico
Antiviral	Ácido caféico, luteolina y quercetina
Antimutagénica	Ácido ferúlico, cinámico y coumárico
Inhibición de tumores	Ácido caféico, fenetil éster, quercetina y crisina
Anestésico local	Pinocembrina
Antihemorrágico	Flavonoides
Curación de heridas	Ácidos fenólicos y flavonoides
Efecto aglutinante	Ácido ferúlico
Aumenta la biosíntesis de proteínas	Arginina
Curación de úlceras gastroduodenales	Luteolina, apigenina, pinocembrina y galangina
Histaminopéptica	Quercetina
Antiinflamatorio	Flavonoides y ácido caféico
Espasmolítico	Quercetina y Kaempferide
Promueve desarrollo de colágeno	Ácido ferúlico

Fuente: Sánchez, (2018)

2.3. Actividad antioxidante del propóleo

Como actividad antioxidante del propóleo se puede decir que previene o inhibe el daño oxidativo en las moléculas provocado por los radicales libres, las fuentes principales de los antioxidantes naturales son las plantas, las cuales producen una gran cantidad de metabolitos secundarios que son capaces de proteger contra los efectos nocivos, los flavonoides, ácidos fenólicos, alcaloides, lignanos, terpenos, terpenoides, ácidos orgánicos, tocoferoles se encuentran en semillas, raíces, tallos, flores, frutos, cortezas (Gulcin, 2020).

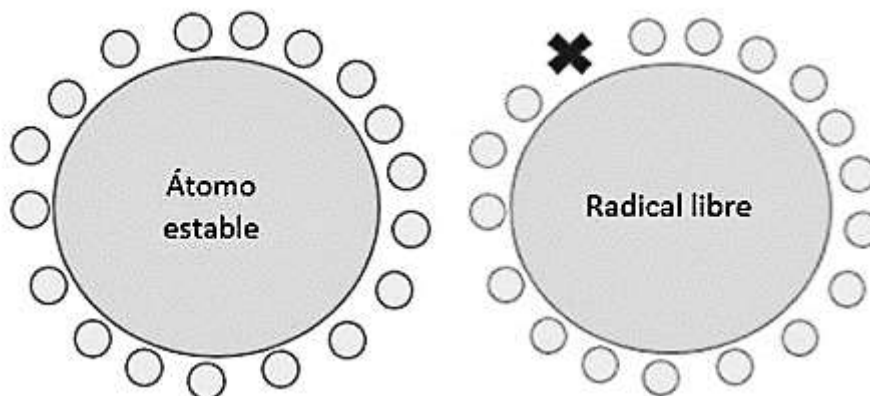
La actividad antioxidante de los propóleos es de gran importancia porque protege a los sistemas de defensa celular provocado por los radicales libres, se ha informado que los propóleos tienen un alto potencial antioxidante y que está compuesto principalmente por polifenoles, flavonoides y ácidos fenólicos (Hernández, 2016).

❖ Radicales libres

Es una sustancia química que puede ser neutra o cargada y tiene uno o más electrones desapareados en su último orbital, lo que lo caracteriza al radical libre es ser muy inestable cinéticamente, a medida que aumenta la concentración de radicales libres, se produce un desequilibrio entre la tasa de producción y la inhibición del sistema antioxidante endógeno, lo que da lugar a un proceso denominado estrés oxidativo, que se asocia a diversas enfermedades (Aguilar *et al.*, 2018).

Figura N° 4

Estructura de un átomo estable y un radical libre



Fuente: Aguilar *et al.*, (2018)

❖ Estrés oxidativo

Es un estrés químico inducido por las cantidades elevadas de radicales libres en el organismo siendo causados por un desequilibrio entre la producción de los oxidantes, se conoce que el estrés oxidativo deteriora a los aminoácidos que componen las proteínas,

dando como resultado diversas modificaciones como: la formación de grupos carbonilo que cambian su estructura, función y grupos de características (Galano, 2017).

2.3.1. Beneficios de los antioxidantes

Estos compuestos reprimen la degradación oxidativa de las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y brindan beneficios para la salud de las personas ya que favorecen el buen funcionamiento del sistema inmunológico, además, ralentizan los procesos de envejecimiento y protegen al organismo frente a enfermedades cardíacas, cáncer y enfermedades neurológicas (Almache, 2022).

Igualmente poseen actividades quimioterapéuticas, antibacterianas y antiinflamatorias, siendo estas últimas útiles en el tratamiento de la diarrea y gastroenteritis por su capacidad para secar y vaciar la mucosa intestinal (Muñoz & Ramos, 2016).

2.4. Actividad antimicrobiana de los propóleos

Los compuestos cinámicos y flavonoides de los propóleos actúan como agente bacteriano, dichos compuestos se encuentran especialmente en la resina, estudios demuestran que los extractos de los propóleos potencian ciertos antibióticos (Espinoza, 2017).

La actividad antibacteriana es una de las principales propiedades del propóleo, y sus efectos bacteriostáticos, bactericidas se basan en la inhibición de los ácidos nucleicos y la ruptura de las membranas plasmáticas, este efecto se atribuye a los flavonoides como coniferina, quercetina, naringenina, acetina, apigenina, crisina, galangina, kaempferol y piceol (Rodríguez *et al.*, 2020).

Los compuestos que se encargan de la actividad antimicrobiana de los propóleos se deben a los flavonoides, aldehídos fenólicos, ácidos fenólicos, cetonas y ésteres, el mecanismo de la actividad antimicrobiana, primero se debe a la acción directa con el microorganismo y segundo se debe a la activación de las defensas naturales del organismo,

los compuestos del propóleo permite inferir su efecto en la permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos, la efectividad de los propóleos depende de los métodos de la extracción de la procedencia y los microorganismos a los que serán aplicados (Aguarto & Cuya, 2021).

2.4.1. Resistencia antimicrobiana

El uso de antibióticos en la medicina humana y veterinaria ha creado problemas como el fenómeno de la resistencia antibiótica, es decir, la exposición prolongada de los microorganismos a la sustancia adquiere mecanismos que le permiten tolerar y adaptarse a ella, evitando los mecanismos de acción de la propia sustancia, existe el riesgo que al pasar el tiempo algunos microorganismos puedan desarrollar resistencia a distintos tipos de fármacos, haciéndolos multirresistentes, provocando confusión en hospitales y centros de salud (Neira, 2018).

2.5. Usos de los propóleos en la agroindustria

Los propóleos a lo largo del tiempo han sido usados en la medicina tradicional por su acción antiinflamatoria, inmunomoduladora y anticancerígenas, lo que lo hace un producto eficiente frente a la acción de mecanismos de vías metabólicas (Salamanca, 2017).

El propóleo puede tener un efecto antiinflamatorio en la piel y las mucosas (a nivel local), agente antifúngico, antibacteriano y cicatrizante; del mismo modo en la industria alimentaria, su aplicación se puede utilizar para controlar el crecimiento de microbios no deseados, para algunos alimentos después de eliminar compuestos alergénicos como el ácido cafeato de isoprenilo (Andanero, 2017).

Tabla N° 4*Aplicación del propóleo en la industria alimentaria*

Bioactividad	Descripción	Aplicación
Antioxidante	Poder reductor; inhibición de (H ₂ O ₂) y radicales.	Productos cárnicos y aceites vegetales
Antimicrobiana	<i>Bacillus subtilis, Escherichea coli, Listeria, Salmonella typhi, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus</i>	Productos lácteos sin pasteurizar, productos cárnicos, jugo de frutas y alimentos enlatados
Antifúngica	<i>Absidia Aspergillus sulphureus, Candida albicans, Candida krusei, Candida tropicalis.</i>	Frutas y jugos de frutas.

Fuente: Cauja, (2019)

2.6. Bacterias patógenas

2.6.1. Gram negativas

❖ *Escherichia coli*

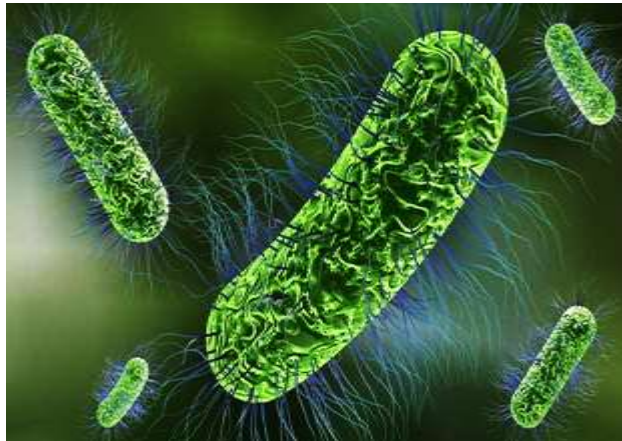
Es una bacteria anaerobia facultativa Gram negativa, tiene flagelos que permiten movilizarse con gran facilidad, las cepas de *E. coli* se clasifican en tres grupos: *E. coli* comensal, *E. coli* patógena intestinal y *E. coli* patógena extraintestinal, estas bacterias se encuentran dentro del intestino animal y son parte del grupo coliformes fecales, también poseen la capacidad de sobrevivir fuera del mismo, consumir alimentos contaminados con este microorganismo causa calambres abdominales, náuseas, vómitos, diarrea y fiebre (Satán, 2021).

Agrupar a cinco especies el género *Escherichia* tales como: *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* y *E. coli*, la última es la más importante en los seres humanos, no sólo porque forma parte de la flora intestinal común, sino también porque combina varias cepas que causan enfermedades extraintestinales y otras cepas destacadas del síndrome diarreico, una de las principales causas de los síntomas, pero en realidad *E. hermannii* y *E.*

vulneris causa principalmente infecciones de heridas y *E. fergusonii* ha comenzado a asociarse con algunas enfermedades intestinales, por lo que solo *E. Blattae* todavía se consideran humanos aberrantes (Cabal, 2016).

Figura N° 5

Forma de Escherichia coli



Fuente: Satán, (2021)

❖ *Salmonella*

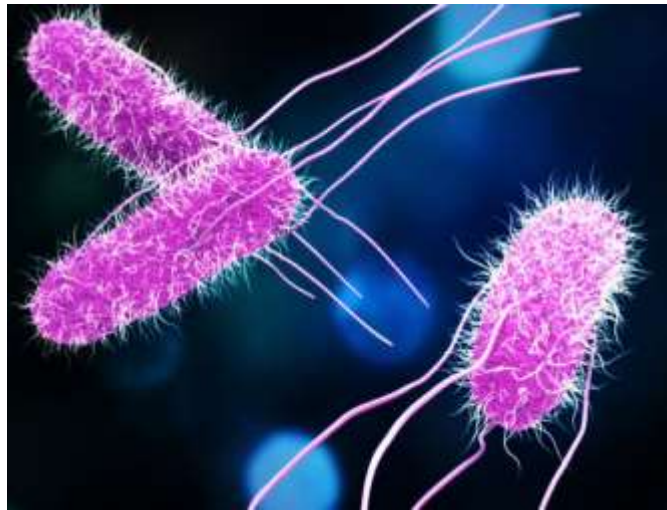
Son bacterias Gram negativas anaerobias facultativas con forma de bastón pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, son quimioorganotróficas capaces de metabolizar nutrientes a través de vías de respiración y fermentación, tienen un metabolismo oxidativo y enzimático y sus colonias crecen en 18 a 24 horas tienen un diámetro de 2 a 3 micrómetros, pero hay otros serotipos que forman colonias más pequeñas que no pueden tolerar altas concentraciones de sal y mueren por pasteurización de leche a alta temperatura, comúnmente el contagio de *Salmonella* es por consumo de alimentos contaminados y se alojan en el tubo digestivo ya que es el medio perfecto para su desarrollo (Villa, 2022).

La clasificación más reciente se derivó de estudios basados en métodos de hidratación del ADN de *Salmonella*, se han identificado 2 especies del género *Salmonella*, *Salmonella entérica*, *Salmonella bongori*, es importante mencionar que, aunque solo existen

dos especies de *Salmonella* en base a su hidratación de ADN, las especies y subespecies mencionadas consisten en más de 2400 variantes serológicas (Arias, 2020).

Figura N° 6

Forma de Salmonella



Fuente: Villa, (2022)

2.6.2. Gram positivas

❖ *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria Gram positiva tiene forma de coco, su tamaño oscila entre 0,8 a 1,5 μm de su diámetro, siendo un patógeno de difícil manejo y es una de las principales causas de infección a nivel comunitario y hospitalario; ha desarrollado fácilmente resistencia a varios agentes antimicrobianos a lo largo de los años, los seres humanos son el principal mecanismo de infección mediante contacto directo de persona a persona, la ubicación más común son las fosas nasales, causando infecciones en la piel y tejidos blandos, neumonía, osteomielitis, bacteriemia (Sánchez *et al.*, 2018).

El género *Staphylococcus aureus* consta de 35 especies y 17 subespecies, de las cuales destacan por su importancia en la patogenia de las infecciones humanas tales como: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleferi*, *S. warneri*, y *S. saprophyticus* (Yépez, 2019).

Figura N° 7

Forma de Staphylococcus aureus



Fuente: Sánchez *et al.*, (2018)

❖ *Bacillus*

El género *Bacillus* es una bacteria Gram positivas formadoras de endosporas se encuentran ampliamente distribuidas en agua dulce, marinos y en suelos, sus especies están muchas veces asociadas a plantas, se caracterizan por ser bacterias en forma de bastoncillos que pueden ser rectas o ligeramente curvas y pueden ser simples, en pares, en cadena o, a veces, filamentosas (Gamarra, 2020).

Existen más de 336 especies en el género, las cuales se pueden dividir en diferentes grupos debido a sus similitudes genéticas, de las cuales las más destacables son: Grupo *B. cereus* asociado con patogenicidad que incluye *B. cereus anthracis-thuringiensis*; *bacillus* ambientales caracterizados por su presencia en diferentes hábitats, como el grupo *Bacillus subtilis* que consiste en *Bacillus subtilis-Bacillus licheniformis* (Villareal *et al.*, 2018).

Figura N° 8

Forma de Bacillus



Fuente: Gamarra, (2020)

2.7. Leche cruda

La leche es una fuente importante de la nutrición humana, pero por su composición constituye un ambiente idóneo para el desarrollo de microorganismos patógenos, además, el contacto con las personas y el ambiente, así como las actividades de ordeño, almacenamiento y transporte también suponen un riesgo de contaminación y propagación de patógenos endógenos. La leche cruda es aquella que no ha sido sometida a ningún tipo cambios de temperatura ni haber tenido ningún tipo de modificación en su composición (NTE INEN 9, 2015).

2.8. Queso

Es un producto blando semiduro, duro y extraduro, madurado y no madurado puede estar recubierto de porciones de proteínas de suero y la caseína pero que no sean superior a la de la leche, la elaboración del queso consiste en la coagulación de la proteína de la leche, dando como producto final las mismas características físicas químicas y organolépticas de la leche (NTE INEN 1528, 2012).

2.8.1. Queso fresco

El queso fresco está elaborado a partir de la leche natural de la vaca, pasteurizada, no acidificada y puede ser total o parcialmente desnatada, contiene un alto porcentaje de agua por lo que es muy perecedero debiendo mantenerse en refrigeración desde el momento de su elaboración (Bonifaz, 2019).

Es aquel queso sin madurar, sin blanquear, moldeado, firme, ligeramente granulosa, elaborado con leche entera, desnatado, coagulado con enzimas y ácidos orgánicos, generalmente libre de cultivos de ácido láctico, también conocido como queso blanco (NTE INEN 1528, 2012).

Figura N° 9

Queso fresco



Nota: Fotografía tomada de la fase experimental

2.8.2. Valor nutricional del queso fresco

Leche y el queso tienen casi el mismo valor nutricional, excepto que el queso contiene más grasas y proteínas, dado que son ricos en proteínas de alta calidad biológica, cabe destacar entre ellas el calcio y el fósforo para la mineralización ósea (Pachar, 2020).

Figura N° 10

Composición nutricional del queso fresco

Componentes	En 100 g
Proteína	15
Hidratos de carbono (Cn:H ₂ n:On)	2,45
Grasa	20
Calcio (Ca)	477 mgs
Fósforo (P)	292 mgs

Fuente: Pachar, (2020)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación de la investigación

La presente investigación se realizó en el Laboratorio General de la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, ubicado en el sector de Laguacoto I.

3.2. Localización de la investigación

La localización donde se desarrolló la presente investigación se describe en la siguiente tabla N° 5.

Tabla N° 5

Localización de la investigación

Ubicación	Localidad
País	Ecuador
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Parroquia	Gabriel Ignacio de Veintimilla
Sector	Laguacoto I
Localidad experimental	Laboratorio General de Laguacoto I

Fuente: Estación Meteorológica Laguacoto II, (2021)

3.3. Situación geográfica y climática

Los parámetros climáticos donde se desarrolló la investigación se detallan a continuación.

Tabla N° 6*Situación geográfica y climática*

Parámetros	Valor
Altitud	2800 m.s.n.m
Longitud	79° 00' 02" Oeste
Latitud	01° 34' 15" Sur
Temperatura media anual	13° C
Temperatura máxima	18° C
Temperatura mínima	8° C
Humedad	75 %

Fuente: Estación Meteorológica Laguacoto II, (2021)

3.4. Zona de vida (Zonificación ecológica)

Según el botánico y climatólogo Leslie Holdridge, el laboratorio general donde se desarrolló la investigación corresponde al Bosque Húmedo Montano Bajo (BHMB), con una temperatura de 12 a 18 °C y precipitación de 2.000 mm.

3.5. Materiales

3.5.1. Material experimental

- ❖ Propóleo
- ❖ Leche bovina
- ❖ 20 cepas bacterianas del género *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp y *Bacillus*

3.5.2. Materiales de laboratorio

- ❖ Cajas Petri
- ❖ Micropipetas
- ❖ Espátula
- ❖ Vaso de precipitación

- ❖ Matraz Erlenmeyer
- ❖ Asa de siembra
- ❖ Mechero
- ❖ Pipeta paster
- ❖ Hisopo
- ❖ Moldes de queso
- ❖ Prensa
- ❖ Coladores
- ❖ Bandejas de aluminio
- ❖ Ollas
- ❖ Paleta
- ❖ Cuchillos

3.5.3. Equipos

- ❖ NanoDrop
- ❖ Caja de flujo laminar
- ❖ Centrífuga
- ❖ Microscopio
- ❖ Incubadora
- ❖ Estufa
- ❖ Balanza
- ❖ Refrigeradora
- ❖ Autoclave
- ❖ Vortex
- ❖ Cuenta colonias

3.5.4. Reactivos

- ❖ Peróxido de hidrogeno H₂O₂
- ❖ Agua mili Q
- ❖ Buffer para test de Rush
- ❖ Muller Hilton
- ❖ Agar XLD
- ❖ Bacto agar
- ❖ Agar nutriente
- ❖ PDA (agar papa dextrosa)
- ❖ Sal
- ❖ Cuajo liquido marschall
- ❖ Cloruro de calcio

3.5.5. Materiales de oficina

- ❖ Computadora
- ❖ Esferos gráficos
- ❖ Lápices
- ❖ Impresora
- ❖ Cámara fotográfica
- ❖ Papel bond
- ❖ Libreta de apuntes
- ❖ Marcador
- ❖ Flash memory

3.6. Métodos

3.6.1. Factor de estudio

En la presente investigación se analizaron los siguientes factores de estudio subdividido en 2 diseños independientes factor A, corresponde al origen del propóleo (Diseño 1) y el factor B, corresponde a los análisis de la actividad antimicrobiana (Diseño 2).

3.6.1.1. Factores de estudio para la actividad Antioxidante

Tabla N° 7

Factores y niveles de estudio para antioxidantes

Factor	Código	Niveles
Origen del propóleo	A	a ₁ : La Magdalena a ₂ : San Miguel a ₃ : La Chima
Antioxidante	B	b ₁ : 20 mg/mL b ₂ : 40 mg/mL b ₃ : 60 mg/mL

3.6.1.2. Combinación de tratamientos para la actividad Antioxidantes

Las combinaciones de los tratamientos para el desarrollo de la investigación con respecto a la actividad antioxidante fueron de la siguiente manera.

Tabla N° 8*Descripción de los tratamientos de antioxidantes*

Tratamientos	Códigos	Niveles	
		A	B
1	a ₁ b ₁	La Magdalena	20 mg/mL
2	a ₁ b ₂	La Magdalena	40 mg/mL
3	a ₁ b ₃	La Magdalena	60 mg/mL
4	a ₂ b ₁	San Miguel	20 mg/mL
5	a ₂ b ₂	San Miguel	40 mg/mL
6	a ₂ b ₃	San Miguel	60 mg/mL
7	a ₃ b ₁	La Chima	20 mg/mL
8	a ₃ b ₂	La Chima	40 mg/mL
9	a ₃ b ₃	La Chima	60 mg/mL

3.6.2.1. Factores de estudio para la actividad Antimicrobiana**Tabla N° 9***Factores y niveles de estudio para antimicrobiana*

Factor	Código	Niveles
Origen del propóleo	A	a ₁ : La Magdalena
		a ₂ : San Miguel
		a ₃ : La Chima
Antimicrobiana	B	b ₁ : <i>Escherichia coli</i>
		b ₂ : <i>Staphylococcus aureus</i>
		b ₃ : <i>Salmonella</i>
		b ₄ : <i>Bacillus</i>

3.6.2.2. Combinación de tratamientos para antimicrobiana

Las combinaciones de los tratamientos para el desarrollo de la investigación con respecto a la actividad antimicrobiana fueron de la siguiente manera.

Tabla N° 10

Descripción de los tratamientos de antimicrobiana

Tratamientos	Códigos	Niveles	
		A	B
1	a ₁ b ₁	La Magdalena	<i>Escherichia coli</i>
2	a ₁ b ₂	La Magdalena	<i>Staphylococcus aureus</i>
3	a ₁ b ₃	La Magdalena	<i>Salmonella spp</i>
4	a ₁ b ₄	La Magdalena	<i>Bacillus</i>
5	a ₂ b ₁	San Miguel	<i>Escherichia coli</i>
6	a ₂ b ₂	San Miguel	<i>Staphylococcus aureus</i>
7	a ₂ b ₃	San Miguel	<i>Salmonella spp</i>
8	a ₂ b ₄	San Miguel	<i>Bacillus</i>
9	a ₃ b ₁	La Chima	<i>Escherichia coli</i>
10	a ₃ b ₂	La Chima	<i>Staphylococcus aureus</i>
11	a ₃ b ₃	La Chima	<i>Salmonella spp</i>
12	a ₃ b ₄	La Chima	<i>Bacillus</i>

3.6.4. Caracterización del experimento

Las características del experimento que se desarrolló se detallan en la siguiente tabla.

Tabla N° 11

Características del experimento para la actividad antioxidantes

Detalle	
Factores de estudio	2
Nivel del factor A	3
Nivel del factor B	3
Tratamientos	9
Repeticiones	2
Unidad experimental	27
Tamaño de unidad experimental	20 mL
Número de variables experimentales	3

Tabla N° 12

Características del experimento para la actividad antimicrobiana

Detalle	
Factores de estudio	2
Nivel del factor A	3
Nivel del factor B	4
Tratamientos	12
Repeticiones	3
Unidad experimental	36
Tamaño de unidad experimental	20 mL
Numero de variables experimentales	3

3.6.5. Diseño experimental

Para llevar a cabo la investigación, se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), con arreglo factorial Ax B (3x2), con tres repeticiones, el modelo matemático de efecto para el diseño es el siguiente.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} \epsilon_{ijk};$$

$$i=1,2, \dots, a; j= 1, 2, \dots, b; k = 1, 2, \dots, n$$

Dónde: μ es la media general, A_i es el efecto debido al i -ésimo nivel del factor A, B_j es el efecto del j -ésimo nivel del factor B, $(AB)_{ij}$ representa al efecto de interacción en la combinación ij y ϵ_{ijk} es el error aleatorio que se supone sigue una distribución normal con media cero y varianza constante.

3.6.6. Análisis de varianza

En la siguiente tabla N° 13, se indica el análisis de varianza que permitió comparar las varianzas entre las medias de los diferentes factores.

Tabla N° 13

Análisis de varianza (ADEVA)

Fuentes Variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F	Valor- ρ
A	$mJ\sum(\bar{y}_{i..} - \bar{y}_{...})^2$	$I-1$	\hat{S}^2_A	$\hat{S}^2_A / \hat{S}^2_R$	P_A
B	$mI\sum(\bar{y}_{.j.} - \bar{y}_{...})^2$	$J-1$	\hat{S}^2_B	$\hat{S}^2_B / \hat{S}^2_R$	P_B
A x B	$m\sum\sum(y_{ij.} - \bar{y}_{i..} - \bar{y}_{.j.} + \bar{y}_{...})^2$	$(I-1)(J-1)$	\hat{S}^2_{AB}	$\hat{S}^2_{AB} / \hat{S}^2_R$	P_{AB}
Residual	$\sum\sum\sum e^2_{ijk}$	$IJ(m-1)$	\hat{S}^2_R		
Total	$\sum\sum\sum(y_{ijk} - \bar{y}_{...})^2$	$n-1$			

3.6.7. Comparaciones de medias

Para determinar las medias del mejor tratamiento, se realizó mediante pruebas de rangos múltiples por el método diferencia mínima significativa (LSD), que se expresa en la siguiente ecuación.

$$T = \frac{\bar{Y}_i - \bar{Y}_j}{\sqrt{\widehat{S}_E^2 \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}} = t_{N-t}$$
$$LSD = t_{N-t} \left(\frac{\alpha}{2} \right) \sqrt{\widehat{S}_E^2 \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$
$$(\bar{Y}_i - \bar{Y}_j) > LSD$$

Dónde: N : número total de observaciones, t : número de niveles del factor, n_i, n_j : tamaño muestral de los niveles i y j , \widehat{S}_E^2 : estimación de la varianza del error o residual, \bar{Y}_i, \bar{Y}_j : medias muestrales de los niveles i y j , $t_{N-t} \left(\frac{\alpha}{2} \right)$: distribución t de Student en $N - t$ grados de libertad y a un nivel de significancia $\frac{\alpha}{2}$.

3.6.8. Métodos de evaluación y datos a tomarse

❖ Actividad antioxidante

Para la actividad antioxidante, se realizaron a concentraciones de 20, 40, 60 mg/mL, donde los datos a tomar fueron las absorbancias de la solución oxidante y no oxidante a una longitud de onda de 230 nm.

❖ Actividad antimicrobiana

Para la actividad antimicrobiana se realizó por el método Kirby Bauer difusión disco-placa, donde con un calibrador pie de rey se midió los halos de inhibición del propóleo frente a las cepas, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp y *Bacillus*.

❖ **Tinción de Gram**

Para la identificación de los microorganismos presentes en el queso con propóleo, se realizó mediante Tinción de Gram, donde las bacterias Gram negativas se tiñen de color violeta y las Gram positivas se tiñen de color rosado.

3.7. Manejo del experimento

3.7.1. Adquisición del propóleo

Los propóleos fueron adquiridos en los sectores de La Magdalena perteneciente al cantón de Chimbo y La Chima, San Miguel perteneciente al cantón del mismo nombre de la provincia Bolívar, los mismos que fueron trasladados al Laboratorio General de la Universidad Estatal de Bolívar para su posterior análisis.

3.8. Determinación de la capacidad antioxidante de los propóleos

Para determinar la capacidad antioxidante de los propóleos se realizó espectrofotométricamente de acuerdo al método descrito por Ruch *et al.*, (1989).

Solución 1: Se agregó 50 mL de agua destilada más 1,04 mL de peróxido de hidrógeno a una concentración de 40 mM.

Solución 2: Se adicionó 20 mL de fosfato puro más 20 mL de peróxido de hidrógeno.

Solución 3: Para una concentración de 20 µg/mL de propóleo, se mezcló 100 mL de agua destilada más 4,8 µL de propóleo.

Solución 4: Para una concentración de 40 µg/mL de propóleo, se mezcló 100 mL de agua destilada más 9,6 µL de propóleo.

Solución 5: Para una concentración de 60 µg/mL de propóleo, se mezcló 100 mL de agua destilada más 14,4 µL de propóleo.

Preparación de la solución de oxidante

- ❖ Para una concentración de 20 µg/mL, se adicionó 5 mL de solución 3 más 5 mL de solución 1.

- ❖ Para una concentración de 40 µg/mL, se adicionó 5 mL de solución 4 más 5 mL de solución 1.
- ❖ Para una concentración de 60 µg/mL, se adicionó 5 mL de solución 5 más 5 mL de solución 1.

Preparación de la solución no oxidante

- ❖ Para una concentración de 20 µg/mL, se adicionó 5 mL de solución 3 más 5 mL de fosfato puro.
- ❖ Para una concentración de 40 µg/mL, se adicionó 5 mL de solución 4 más 5 mL de fosfato puro.
- ❖ Para una concentración de 60 µg/mL, se adicionó 5 mL de solución 5 más 5 mL de fosfato puro.

Para medir la absorbancia de la solución oxidante y no oxidante se dejó reposar durante 15 min y se procedió a determinar en un espectrofotómetro GENESYS 10 (AZY1707308, TermoFisher SCIENTIFIC, USA) a una longitud de onda de 230 nm, finalmente para el barrido de peróxido de hidrógeno al 1% se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Capacidad antioxidante (\% de H}_2\text{O}_2 \text{ secuestrado)} = \left(\frac{A_i - A_t}{A_i}\right) \times 100$$

Ecuación 1. Barrido de peróxido de hidrógeno

Dónde: A_i es la absorbancia del estándar de referencia y A_t es la absorbancia de la muestra

3.9. Determinación de la actividad antimicrobiana del propóleo

3.9.1. Reanimación bacteriana

Las cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp y *Bacillus* fueron previamente caracterizadas y trasladadas al laboratorio general del Banco

Microbiano del Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Investigación y Vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar.

Para la reanimación bacteriana de las 5 cepas de *E. coli* y las 5 cepas de *Bacillus* se reanimaron en el medio Agar nutriente (7145A, Acumedia, USA), las 5 cepas de *Salmonella* en el medio XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato) (7166^a, Acumedia, USA) y las 5 bacterias de *Staphylococcus aureus* se reanimaron en el medio PDA (agar papa dextrosa), para finalizar fueron incubadas a 37 °C durante 24 h a condiciones aeróbicas.

3.9.2. Preparación del medio de cultivo

En un matraz el medio Mueller Hinton (71014, Acumedia, Alemania) fue preparado de acuerdo a las especificaciones del fabricante y llevado a esterilizar en una autoclave a 121 °C por 15 min, luego el medio Mueller Hinton preparado, fue vertido en cajas Petri equitativamente para que se gelifiquen dejando en reposos durante 10 min.

3.9.3. Análisis de actividad antimicrobiana

Para determinar la actividad antimicrobiana del propóleo frente a los microorganismos de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp y *Bacillus* se realizó por el método Kirby Bauer (difusión disco-placa), los microorganismos fueron cultivados en el medio Mueller Hinton y se utilizaron discos antibiogramas de 6 mm de diámetro los cuales fueron sumergidos en propóleo.

- ❖ Para el cultivo bacteriano con una asa de siembra se procedió a retirar una porción de microorganismos reanimados y se colocó en tubos eppendorf para homogeneizar con agua destilada.
- ❖ Con un hisopo esterilizado se sumergió en el tubo eppendorf y se procedió a sembrar los microorganismos en forma de estría simple en el medio Mueller Hinton.

- ❖ Con una pinza esterilizada se procedió a colocar los discos antibiogramas previamente sumergidos en propóleo sobre la superficie del microorganismo cultivado.
- ❖ Las placas fueron incubadas a una temperatura de 37 °C por 24 h a condiciones aeróbicas y finalmente se midieron los diámetros de los halos de inhibición.

3.10. Propóleo como conservante natural del queso fresco

3.10.1. Elaboración del queso fresco

❖ Recepción

La leche se recibió en el complejo agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, el cual se aseguró que sea una leche de buena calidad.

❖ Filtrado

Se filtró la leche para separar las impurezas no deseadas, así como: hierbas, ramas y lanas de los animales.

❖ Pasteurización

Para eliminar los microorganismos se pasteurizó la leche a una temperatura de 65 °C durante 30 min.

❖ Enfriamiento

Se bajó la temperatura de la leche a baño maría y se mantuvo a 40 °C y se procedió a añadir 1 mL de calcio por 10 L de leche, de la misma manera 1 mL de cuajo por 10 L de leche.

❖ Coagulación

Se coaguló la leche a una temperatura de 35 °C por 30 min.

❖ **Cortado de la cuajada**

El corte se realizó mediante el empleo de una lira de 2 cm entre cuerda y cuerda, se realizó en pequeños cuadritos de 2,0 cm.

❖ **Reposos y desuerado**

Se dejó reposar durante 5 min, se realizó un batido lento durante 5 min, adicionalmente se dejó reposar durante 5 min más, se retiró el 35% de suero para finalmente agregar 8 g de sal por 10 L de leche.

❖ **Batido y moldeado**

Se procedió a batir durante 5 min y consecutivamente se colocó en sus respectivos moldes.

❖ **Prensado**

El prensado se realizó uniformemente en todo el queso dejando hasta el siguiente día

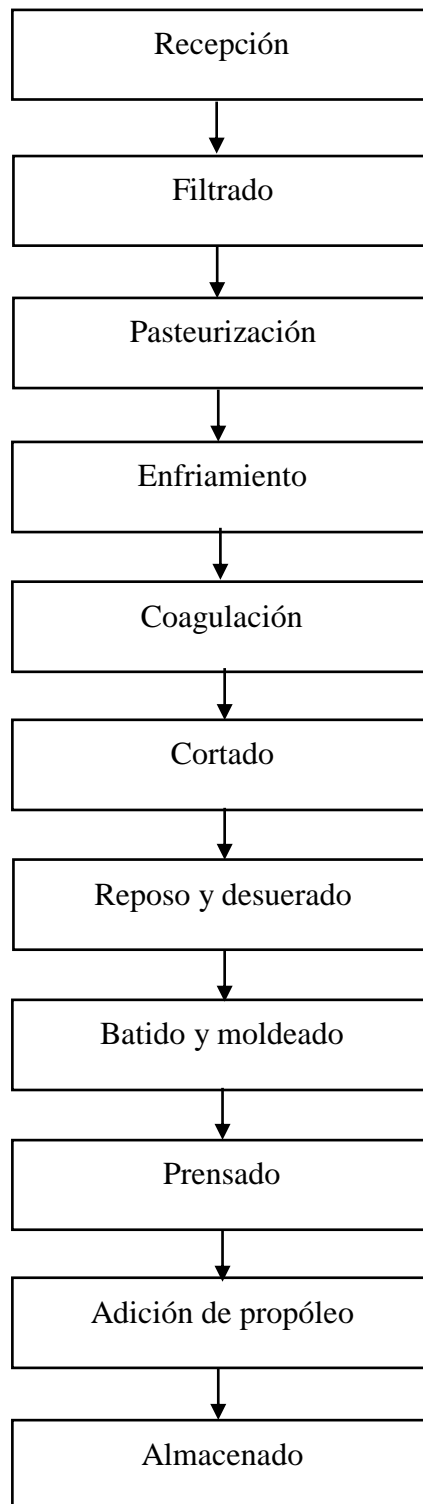
❖ **Adición de propóleo**

El queso de 1814,37 g fue dividido en 4 partes iguales y con una brocha se procedió a esparcir el propóleo de La Magdalena, San Miguel y La Chima respectivamente por todo el queso.

❖ **Almacenado**

El queso con propóleo se almacenó durante 21 días a una temperatura de 4 a 8 °C, para su posterior análisis microbiológico.

3.10.2. Diagrama de flujo de la elaboración del queso fresco



3.10.3. Análisis microbiológico del queso

Para el conteo de mohos y levaduras, el queso con propóleo tanto de La Magdalena, San Miguel y La Chima, fueron trituradas 1 g de muestra respectivamente, seguido a ello se colocaron en los tubos de ensayo y se agregó 10 mL de solución salina las cuales fueron homogeneizadas en un vortex, las muestras homogeneizadas fueron agregadas en el agar PDA (agar papa dextrosa) y agar nutriente, las placas fueron incubadas a una temperatura de 37 °C durante 24 h, finalmente, se realizaron el conteo de colonias tanto de mohos y levaduras.

3.10.4. Caracterización del microorganismo mediante Tinción de Gram

Una vez realizado el análisis microbiológico, se tomaron colonias bacterianas para caracterizar mediante microscopia, las muestras se extendieron en la porta objetos, la cual se dejó actuar durante 60 s con una gota de violeta de genciana, para posteriormente adicionar una gota de lugol que se dejó actuar durante 1 min, se realizó el lavado con alcohol por 30 s, después del lavado se colocó fucsina básico el cual se dejó actual durante 3 min, finalmente se realizó el último lavado con agua destilada y se observó las muestras en el objetivo 100 X.

3.11. Análisis económico

Se realizó el análisis económico en relación del costo beneficio de la elaboración del queso y del mejor propóleo obtenido mediante el análisis antioxidante y antimicrobiano. Se determinó el costo beneficio considerando todos los ingredientes necesarios para la elaboración del queso y el costo de adquisición del propóleo.

$$\text{Costo de venta} = \frac{\text{costo de materiales} + \text{costo mano de obra}}{\% \text{ utilidad}}$$

$$\text{Costo beneficio} = \frac{\text{beneficios netos}}{\text{costos de inversión}}$$

Ecuación 2. Costo beneficio

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados de la capacidad antioxidante de los propóleos

Tras el análisis mediante espectrofotometría de los propóleos adquiridos de los lugares La Magdalena, San Miguel y La Chima, se desprendieron los siguientes resultados.

Tabla N° 14

Resultados de la actividad antioxidante del propóleo

Procedencia	% de H ₂ O ₂ secuestrado		
	Concentraciones		
	20 mg/mL	40 mg/mL	60 mg/mL
La Magdalena	0,47	0,70	0,31
San Miguel	0,51	0,48	0,48
La Chima	1,45	0,65	1,22

Para la actividad antioxidante de los propóleos se trabajó con tres concentraciones de 20, 40 y 60 mg/mL. La concentración más alta de la capacidad antioxidante fue a 20 mg/mL que correspondió al propóleo procedente de La Chima con un valor de 1,45% de H₂O₂ secuestrado, al concentrado de 40 mg/mL corresponde al propóleo procedente de La Magdalena con un resultado de 0,70 % H₂O₂ secuestrado y finalmente a la concentración 60 mg/mL pertenece al propóleo adquirido de La Chima con una concentración de antioxidantes de 1,22% de H₂O₂ secuestrado. En conclusión, se determinó que el propóleo de La Chima a concentraciones de 20 y 60 mg/mL presenta mayor capacidad antioxidante, esto se puede atribuir a la flora circundante del sector, según Vilorio *et al.*, (2012), menciona

que los compuestos activos presentes en el propóleo dependen de la flora del lugar de donde se encuentra la colmena.

Tabla N° 15

Análisis de varianza de la actividad antioxidante

Fuente	Gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-ρ
Efectos principales					
A: Origen del propóleo	2	1,51303	0,756517	661,03	0,0000**
B: Antioxidantes	2	0,125233	0,0626167	54,71	0,0000**
Interacciones					
AB	4	0,712633	0,178158	155,67	0,0000**
Residuos	9	0,0103	0,00114444		
Total (corregido)	17	2,3612			

***: Diferencia altamente significativa*

Tras el análisis de varianza, se observa la variabilidad de la capacidad antioxidante de los propóleos, donde los valores- ρ prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, la tabla indica que el factor A (origen del propóleo), el factor B (antioxidantes) y su interacción de AB tienen un efecto estadístico altamente significativo debido a que su valor son menores que 0,05; por consiguiente, se determinó que estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración del % de H₂O₂ secuestrado de la actividad antioxidante con un 95,0 % de nivel de confianza. Según Rodríguez *et al.*, (2020), da a conocer la diferencia estadística de la actividad antioxidante que presentan los propóleos de distintos sectores por presentar compuestos fenólicos y flavonoides en distintas concentraciones de acuerdo a la procedencia del propóleo.

Debido a la diferencia estadística encontrada en el factor A, se procedió a realizar pruebas de rangos múltiples por el método LSD para determinar el mejor tratamiento para la concentración de antioxidantes.

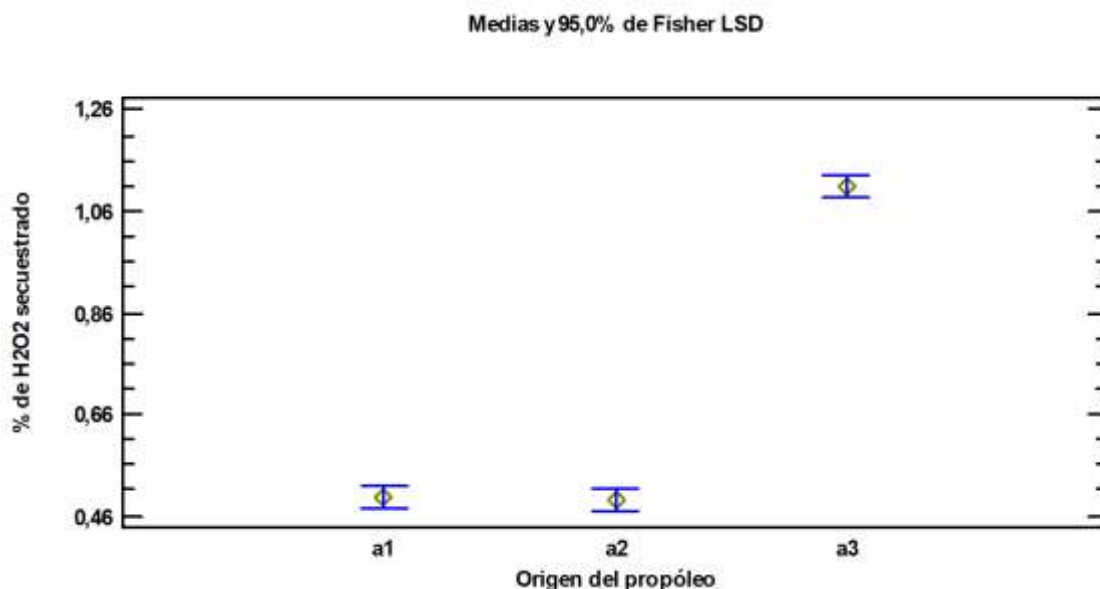
Tabla N° 16*Pruebas de LSD para el factor A (origen del propóleo)*

Origen del propóleo	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
a ₃	6	1,10667	A
a ₁	6	0,495	B
a ₂	6	0,488333	B

En la tabla N° 16, se evidencia la presencia de dos grupos homogéneos y la media más alta corresponde al nivel a₃ con un valor de 1,10667% de H₂O₂ secuestrado, por lo tanto, el propóleo procedente de La Chima posee mayor concentración de antioxidante, esto debido a que el sector presenta vegetación abundante, lo que favorece a la formación de compuestos bioactivos, esto podemos corroborar con la investigación realizada por Arias (2017), donde informó que los propóleos procedentes de bosques ricos en vegetación presentaron mayor actividad antioxidante, del mismo modo, Sánchez (2018), menciona que los propóleos procedentes de rica en vegetación poseen muchos más compuestos fenólicos y la concentración de actividad antioxidante es más elevada.

Figura N° 11

Relación del origen del propóleo con la concentración de los antioxidantes



Gráficamente se observa la variabilidad de la concentración de antioxidantes del nivel a₃ (La Chima) con respecto a los niveles a₁ (La Magdalena) y a₂ (San Miguel).

Debido a la diferencia estadística presentada en el factor B (antioxidantes), se realizaron pruebas de rangos múltiples por el método LSD.

Tabla N° 17

Pruebas de LSD para el factor B (antioxidantes)

Antioxidantes	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
b ₁	6	0,81	A
b ₃	6	0,668333	B
b ₂	6	0,611667	B

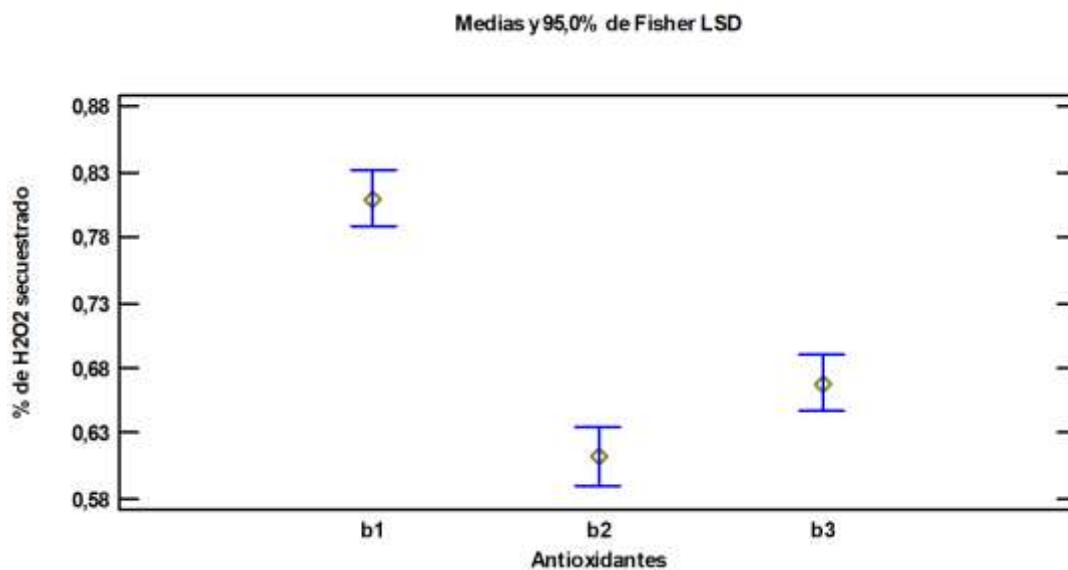
En la tabla N° 17, se evidencia la presencia de tres grupos heterogéneos y la media más alta pertenece al nivel b₁, por tal razón, el propóleo a una dilución de 20 mg/mL,

presenta mayor concentración de antioxidantes con un resultado de 0,81% de H₂O₂ secuestrado, mientras que los niveles b₃ y b₂, la concentración de antioxidantes es relativamente baja. Por otro lado, Delgadillo (2016), evaluó la concentración de antioxidantes del propóleo a diluciones de 25 mg/mL; 50 mg/mL; 100 mg/mL y 200 mg/mL, donde la mayor concentración de antioxidantes se dio a una dilución de 200 mg/mL, del mismo modo, Carballo *et al.*, (2019), analizó la actividad antioxidante en concentraciones de 12,5 y 100 µg/mg, donde la concentración de 100 µg/mg, resultó poseer mayor actividad antioxidante.

En conclusión, los propóleos utilizados en la presente investigación presentaron mayor actividad antioxidante a una dilución de 20 mg/mL, esto debido a que en dicha dilución los compuestos químicos del propóleo no se ven afectados por el solvente, mientras que en las diluciones de 40 y 60 mg/mL no varían significativamente la concentración de antioxidantes, esto pudiendo atribuirse a que el disolvente afecta las propiedades presentes en el propóleo.

Figura N° 12

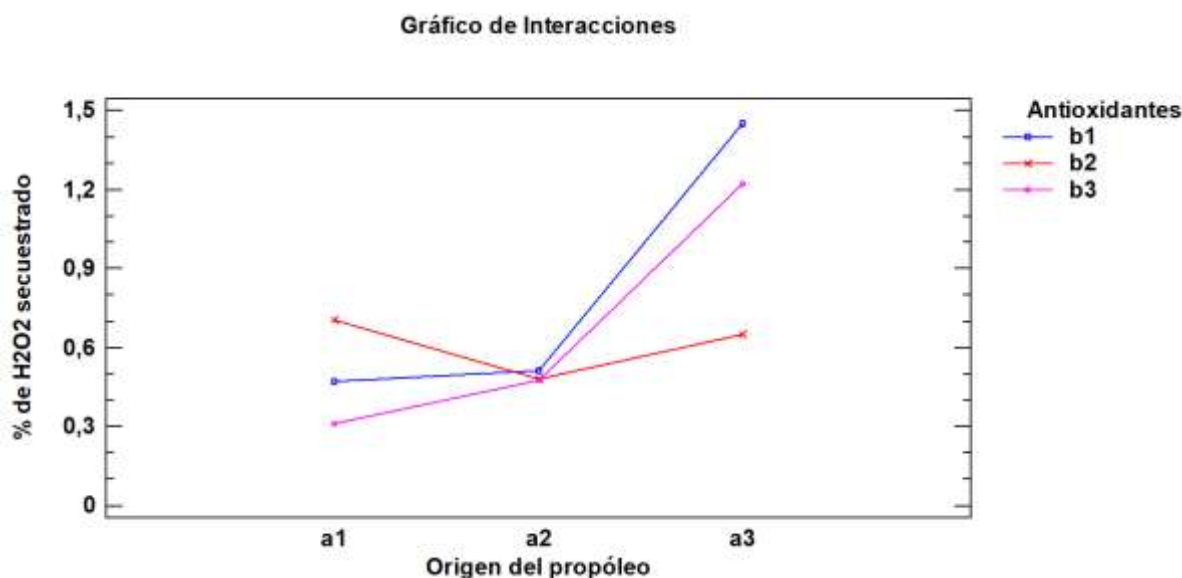
Relación de la concentración de antioxidantes con el % de H₂O₂ secuestrado



De igual forma, se evidencia en la figura N° 12 que el nivel b₁ (20 mg/mL) se destaca de los niveles b₂ (40 mg/mL) y b₃ (60 mg/mL).

Figura N° 13

Interacción de AB



En la figura N° 13, se evidencia que las líneas de tendencia se interactúan, dando como mejor resultado a los niveles a₃b₁, por lo tanto, el propóleo procedente de La Chima a una dilución de 20 mg/mL presenta mayor concentración de antioxidantes. Vilorio *et al.*, (2012), informaron que el propóleo al utilizar distintos métodos de extracción pierde su efectividad ya que los solventes disminuyen la concentración de los antioxidantes.

4.2. Resultados de la actividad antimicrobiana del propóleo

4.2.1. Actividad antimicrobiana frentes a *E. coli*

Los resultados adquiridos de la actividad antimicrobiana de los propóleos procedentes de La Magdalena, San Miguel y La Chima, se presentan de manera general los promedios, las mismas que se realizaron con 5 cepas de *Escherichia coli*.

Tabla N° 18*Resultados de la actividad antimicrobiana frente a Escherichia coli*

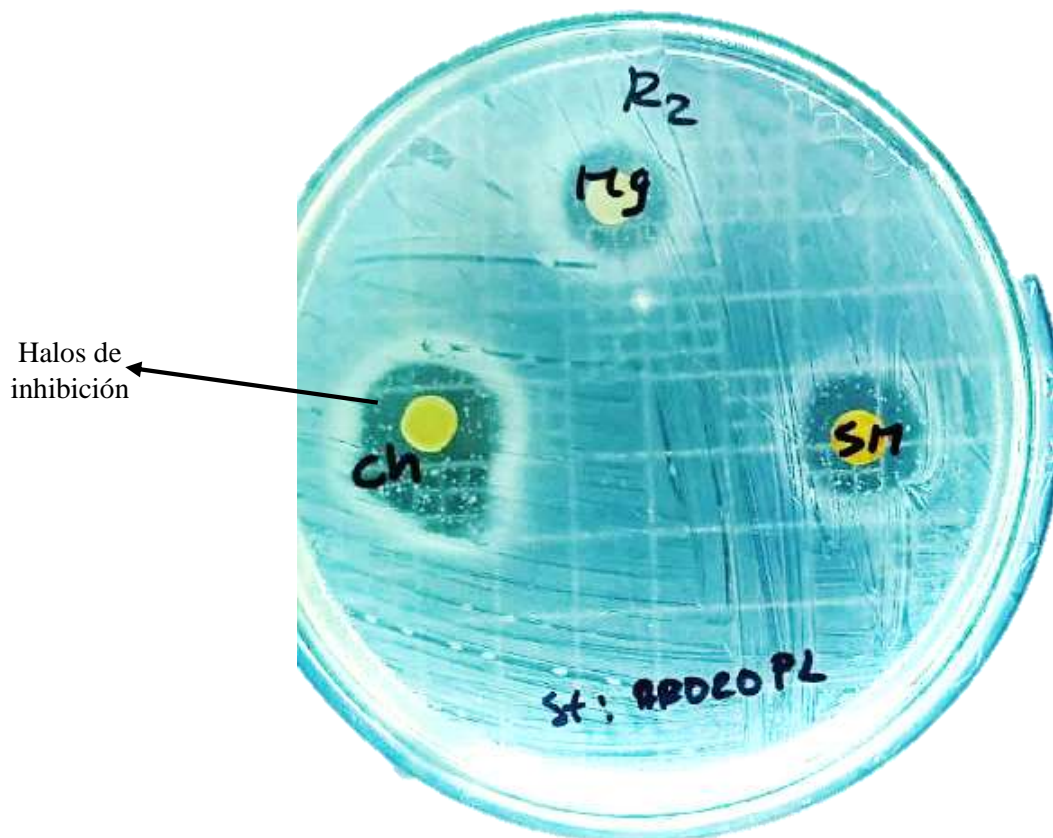
Cepas de <i>E. coli</i>	Procedencias		
	La Magdalena	San Miguel	La Chima
	Halos de inhibición en mm de diámetro		
M50	0	4	7,67
RM43	6	3,33	6
AR002PD	0	0	0
RM21	3	2,33	11,33
C14	2	2,33	3

Los resultados de la actividad antimicrobiana de los propóleos frente a las 5 cepas de *Escherichia coli* se evidencian los halos de inhibición en mm, donde se observa que el propóleo de La Magdalena tiene 6 mm de diámetro de halo en la cepa RM43 el cual representa tener moderada actividad antimicrobiana, por otro lado, el propóleo de San Miguel en la cepa M50 presenta un diámetro de inhibición de 4 mm, mientras que el propóleo de La Chima con 11,33 mm de halo de inhibición en la cepa RM21 presentó mayor acción antimicrobiana, no obstante, la cepa AR002PD no presentó actividad antimicrobiana frente a los propóleos procedentes de La Magdalena, San Miguel y La Chima, en definitiva el propóleo procedente de La Chima tiene mayor actividad antimicrobiana con respecto a los propóleos de La Magdalena, San Miguel, esto debiendo atribuirse a la zona de recolección y a los métodos de obtención del propóleo.

Investigaciones realizadas muestran que los propóleos procedentes de distintos sectores varían en su efecto antimicrobiano. Vera & Vera (2019), determinó la actividad antimicrobiana en propóleo procedente de Tumbaco en Pichincha, donde mostraron moderada actividad antimicrobiana con halos de inhibición de 10 mm de diámetro, Rodríguez *et al.*, (2020), realizó la actividad antimicrobiana en los propóleos de distintos sectores, donde el mejor efecto antimicrobiano tiene un diámetro de halo de 15 mm de diámetro CLSI (2019), determina que es resistente a *Escherichia coli* con un valor ≤ 14 mm de diámetros de halo, con respecto a nuestra investigación el propóleo procedente de La Chima presentó mayor actividad antimicrobiana con un halo de inhibición de 11,33 mm de diámetro, esto debido que La Chima se encuentra en una zona rural rica en vegetación lo que es un factor determinante para la composición química de los propóleos.

Figura N° 14

Actividad antimicrobiana del propóleo frente a Escherichia coli



En la figura N° 14, se observa los discos antibiogramas con propóleo de La Magdalena (Mg), San Miguel (SM) y La Chima (Ch), donde se evidencia el mayor efecto antimicrobiano del propóleo procedente de La Chima. Velasquez & Montenegro (2017), menciona que la actividad antimicrobiana de propóleos está asociada a la respuesta microbiana de todas las especies, las propiedades antimicrobianas de los propóleos de abejas se le atribuye compuesto tales como: flavonoides galangina, pinocembrina y el ácido cinámico, estos compuestos desactivan la energía citoplasmática, inhabilitando la movilidad bacteriana, lo que le hace más vulnerables al ataque del sistema inmunológico y potenciando los antibióticos.

Tabla N° 19

Análisis de varianza de actividad antimicrobiana de Escherichia coli

Fuente	Gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Efectos principales					
A: Origen propóleo	2	108,484	54,242	28,38	0,0000**
B: Cepas bacterianas	4	176,819	44,2048	23,13	0,0000**
Interacción					
AB	8	144,092	18,0114	9,42	0,0000**
Residuos	30	57,3333	1,91111		
Total (Corregido)	44	486,728			

***: Diferencia altamente significativo*

Mediante el análisis de varianza, los valores-p prueban la significancia estadística entre los factores A, B y su interacción AB, de tal manera se puede evidenciar que dichos valores son menores que 0,05; en tal sentido el origen del propóleo, las cepas bacterianas y la interacción de AB tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la actividad

antimicrobiana del propóleo frente a las cepas bacterianas de *Escherichia coli* con un 95,0% de nivel de confianza. Existe diferencia significativa entre las cepas bacterianas de *E. coli* esto debido a que las cepas fueron aisladas de distintos sustratos, según Velasquez & Montenegro (2017), el propóleo desactiva la energía citoplasmática en mayor o menor medida de acuerdo a la resistencia que presenta los aislados bacterianos.

Debido al efecto estadístico que tienen estos factores, se aplicó pruebas de rangos múltiples LSD para determinar el mejor tratamiento.

Tabla N° 20

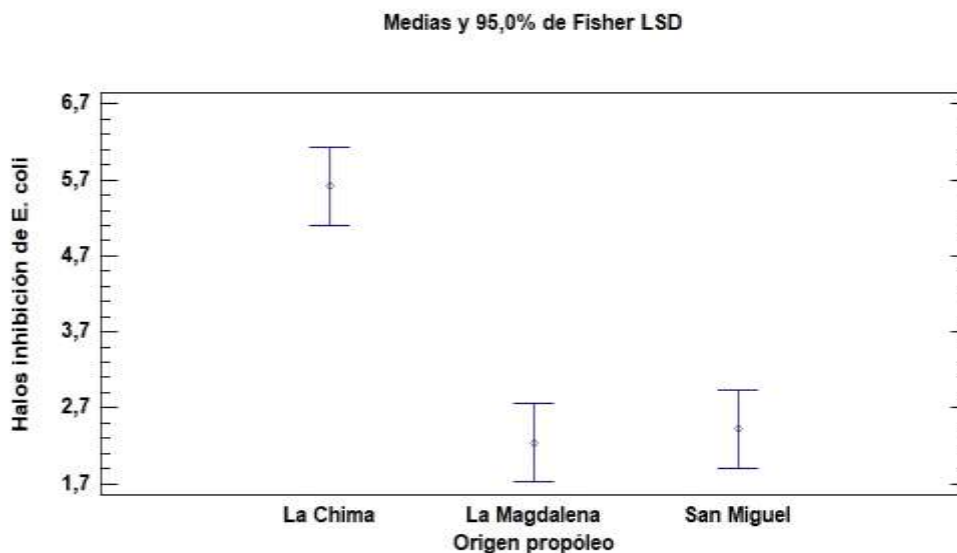
Pruebas de LSD para el factor A

Origen propóleo	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
La Chima	15	5,62	A
San Miguel	15	2,42	B
La Magdalena	15	2,24	B

Como se aprecia en la tabla N° 20, el propóleo procedente de La Chima posee mayor actividad antimicrobiana debido a que su media de halos de inhibición es de 5,62 mm de diámetro, mientras que los propóleos de La Magdalena y La Chima los diámetros son similares. Por ende, el propóleo de La Chima es susceptible frente a las bacterias de *E. coli*, esto debido a que dicho propóleo proviene de una zona rica en flora.

Figura N° 15

Relación del origen del propóleo con los halos de inhibición de E. coli



Se comprueba gráficamente que el propóleo de La Chima, se encuentra en un nivel superior con respecto a los propóleos procedentes de La Magdalena y San Miguel, por esta razón la actividad antimicrobiana del propóleo de La Chima posee alto efecto inhibitorio.

De la misma manera, el factor B (cepas bacterias de *E. coli*), posee alto nivel de significativo, en tal razón se aplicó pruebas de rangos múltiples LSD.

Tabla N° 21

Pruebas de LSD para el factor B

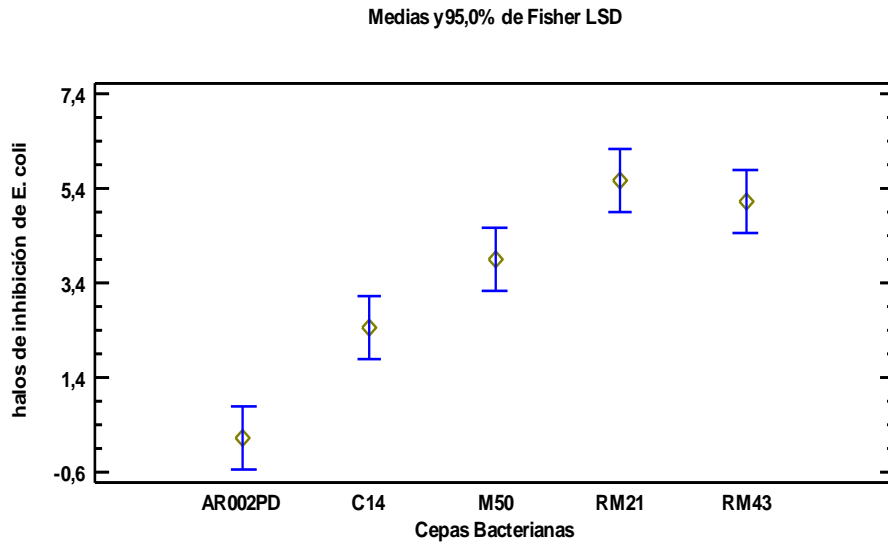
Cepas bacterianas	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
RM21	9	5,55556	A
RM43	9	5,11111	B
M50	9	3,92222	C
C14	9	2,44444	D
AR002PD	9	0,1	E

Mediante la comparación de rangos múltiples, se aprecia que los 5 grupos heterogéneos son diferentes, por ende, la cepa RM21 posee una media más alta con un diámetro de 5,56 mm de diámetro de halos de inhibición, es decir que dicha cepa de *E. coli*

posee alta acción antimicrobiana frente al propóleo de La Chima, ya que los compuestos flavonoles el ácido cinámico, desactivan la energía citoplasmática, inhabilitando la movilidad bacteriana.

Figura N° 16

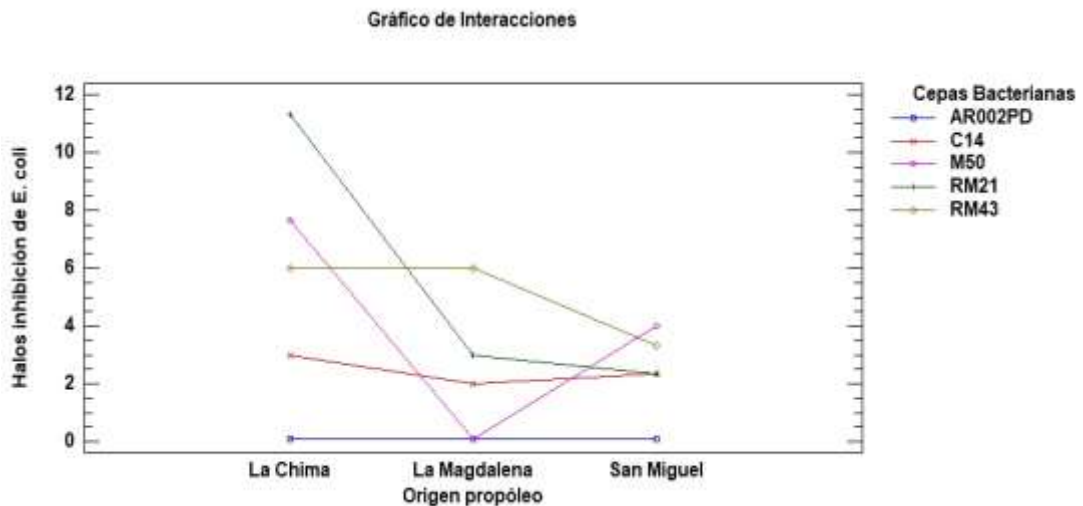
Relación de las cepas bacterianas con los halos de inhibición de E. coli



Podemos afirmar que mediante la figura N° 16, las cepas RM21 y RM43 poseen similares halos de inhibición con respecto a las demás cepas.

Figura N° 17

Interacción del origen de propóleo frente a E. coli



Se observan que las líneas de tendencia del factor A (cepas bacterianas), presentan interacciones en la actividad antimicrobiana con respecto a los propóleos procedentes de San Miguel, La Magdalena y La Chima, en tal sentido se aprecia que el propóleo de La Chima frente a la cepa de *E. coli* RM21, posee mayor actividad antimicrobiana.

4.2.2. Actividad antimicrobiana frente a *Salmonella*

La actividad antimicrobiana de los propóleos frente a las cepas *Salmonella*, se presentan mediante los halos de inhibición en la siguiente tabla N° 22.

Tabla N° 22

Resultados de la actividad antimicrobiana frente a Salmonella

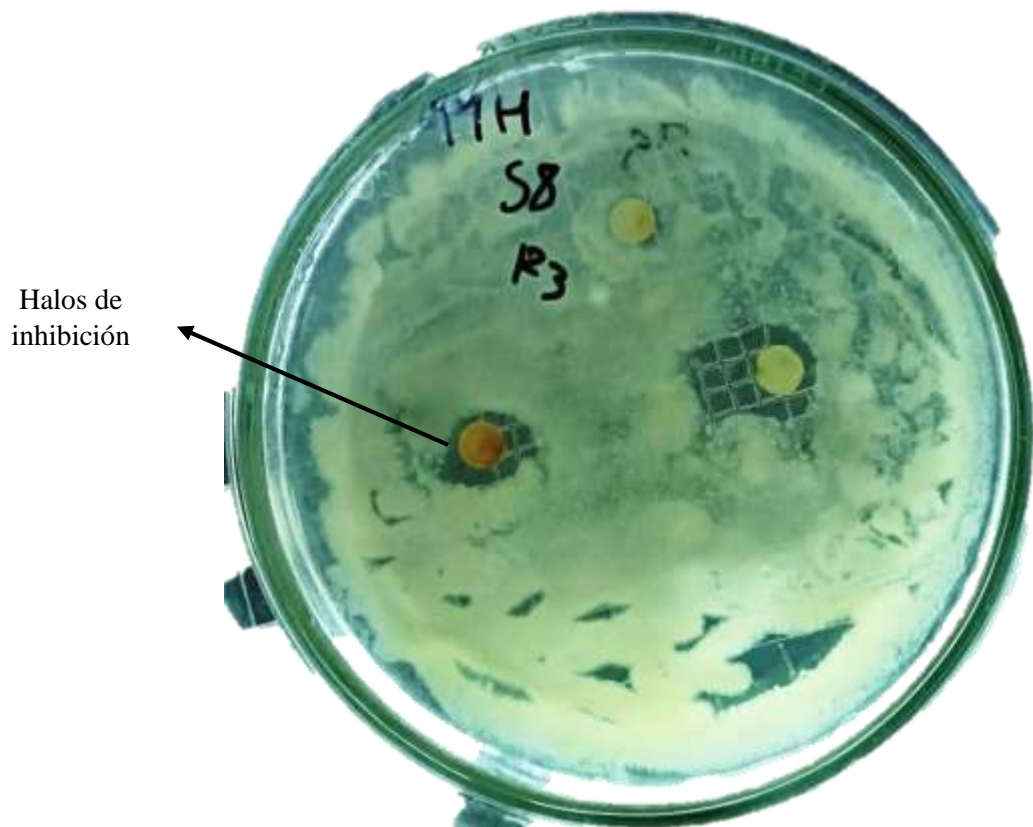
Cepas de <i>Salmonella</i>	Procedencias		
	La Magdalena	San Miguel	La Chima
	Halos de inhibición en mm		
SM3	0	0	6
SM3II	3	2	2
ARD18PI	0	3,67	4
D004AI	3,67	3,67	4
S8	0	5	5

Los promedios de los halos de inhibición de las 5 cepas de *Salmonella* frente a los propóleos procedentes de La Magdalena, San Miguel y La Chima, se presenta en la tabla N° 22, donde se evidencia que el propóleo de La Chima frente a la cepa SM3 presenta mayor actividad antimicrobiana con un halo de inhibición de 6 mm, asimismo, los propóleos de San Miguel y La Chima presentan un halo de inhibición de 5 mm de diámetro frente a la cepa S8, por otro lado, la cepa SM3 no presentaron actividad antimicrobiana frente a los propóleos procedentes de La Magdalena y San Miguel.

En la investigación realizada por Pulido *et al.*, (2021), determinó los halos de inhibición según la escala Duraffourd, para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm se lo define como sensible, López (2017), realizó la actividad antimicrobiana frente a distintas cepas bacterianas entre ellas la *Salmonella* spp, donde presentó un halo de inhibición de 6 mm de diámetro. Además, Pulido *et al.*, (2019), determinó un halo de 7,33 mm de diámetro en el propóleo *in vitro*, estos resultados son similares al propóleo procedente de La Chima, pero según los criterios de Pulido *et al.*, (2021), mencionan que las cepas de *Salmonella* spp son resistente al propóleo ya que sus halos de inhibición son menores a 14 mm.

Figura N° 18

Actividad antimicrobiana del propóleo frente a *Salmonella*



En la figura N° 18, se presenta los halos de inhibición de los propóleos de La Magdalena, San Miguel y La Chima, donde se evidencia que existe baja acción antimicrobiana frente a *Salmonella*, de manera contrapuesta Nuñez & Umanzor (2020),

identificaron zonas inhibitorias de 11 a 18 mm de diámetro en propóleos hidroalcohólicos, esta diferencia de resultados se debe especialmente al método de extracción de propóleos.

Tabla N° 23

Análisis de varianza de actividad antimicrobiana de Salmonella

Fuente	Gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor- p
Efectos principales					
A: Origen propóleo	2	2,12844	1,06422	5,32	0,0105**
B: Cepas bacterianas	4	16,8502	4,21256	21,06	0,0000**
Interacciones					
AB	8	146,22	18,2776	91,39	0,0000**
Residuos	30	6,0	0,2		
Total (Corregido)	44	171,199			

** : *Diferencia altamente significativo*

Tras realizar el análisis de varianza de la actividad antimicrobiana de los propóleos frente a las cepas bacterianas de *Salmonella*, se observa que los valores- p de los factores A, B y su interacción AB son menores a 0,05; por esta razón, el Origen del propóleo, las Cepas bacterianas y la interacción de AB tienen un efecto estadístico altamente significativo sobre la actividad antimicrobiana de los propóleos frente a las cepas de *Salmonella* con un 95,0% de nivel de confianza, existe diferencia significativa entre la procedencia del propóleo y las cepas bacterianas de *Salmonella*, debido a que los propóleos procedentes de abundante vegetación poseen compuestos con mayor concentración de polifenoles y flavonoides, el cual actúa como antimicrobiana inhabilitando la movilidad de la misma, lo que le hace susceptible al ataque inmunológico (Velasquez & Montenegro, 2017).

Se aplicó comparación de rangos múltiples por el método LSD, debido a que el factor A presenta diferencia estadística significativa.

Tabla N° 24

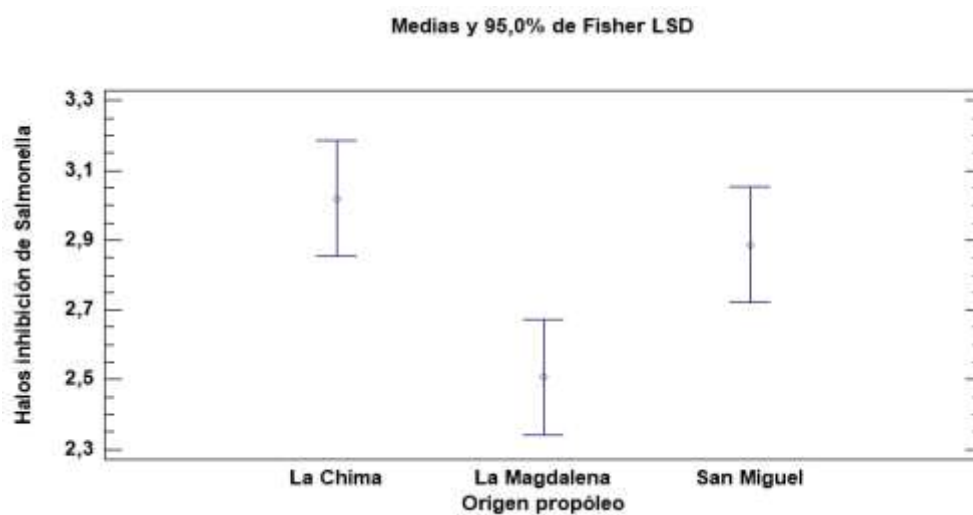
Pruebas de LSD para origen del propóleo

Origen propóleo	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
La Chima	15	3,02	A
San Miguel	15	2,88667	A
La Magdalena	15	2,50667	B

Mediante la comparación de rangos múltiples, se observa que la media más alta corresponde al propóleo de La Chima con un resultado de 3,02 mm de diámetro de halo de inhibición, demostrando que es el mejor tratamiento, por otro lado, los propóleos de San Miguel y La Magdalena frente a las cepas de *Salmonella* sus halos de inhibición presentan baja acción antimicrobiana, esto pudiendo atribuirse al método de extracción y a la época de recolección.

Figura N° 19

Relación del origen del propóleo con los halos de inhibición de Salmonella



Gráficamente, se observa que los niveles del factor A (origen del propóleo) no varían significativamente con respecto a la actividad antimicrobiana, de modo que se puede observar que los propóleos en estudio presentan baja acción antimicrobiana.

Se realizó comparación de rangos múltiples por LSD debido a la diferencia estadística presentada en el factor B.

Tabla N° 25

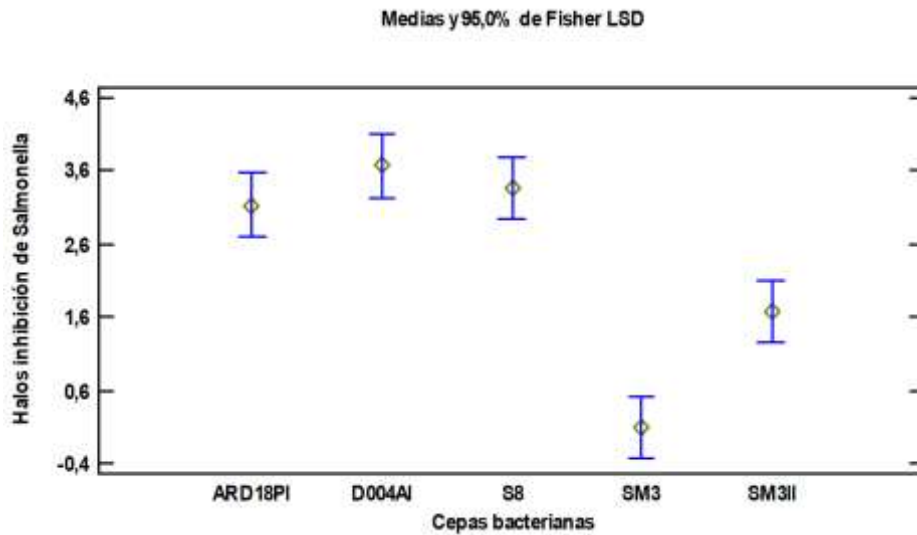
Pruebas de LSD para cepas de Salmonella

Cepas bacterianas	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
D004AI	9	3,66667	A
S8	9	3,36667	A
ARD18PI	9	2,58889	B
SM3II	9	2,33333	C
SM3	9	2,06667	C

Mediante la comparación de rangos múltiples, se observa que los 3 grupos son heterogéneos dados que las medias más altas presentan las cepas D004AI y S8 con halos de inhibición de 3,66667 y 3,36667 de diámetro respectivamente, es decir que dichas cepas bacterianas presentan mayor acción antimicrobiano en comparación con las demás cepas en estudio, pero los halos inhibitorios presentados en la presente investigación son resistentes a los propóleos de La Magdalena, San Miguel y La Chima, esto debido al método de extracción, a la época de recolección del propóleo.

Figura N° 20

Relación de las cepas bacterianas con los halos de inhibición de Salmonella

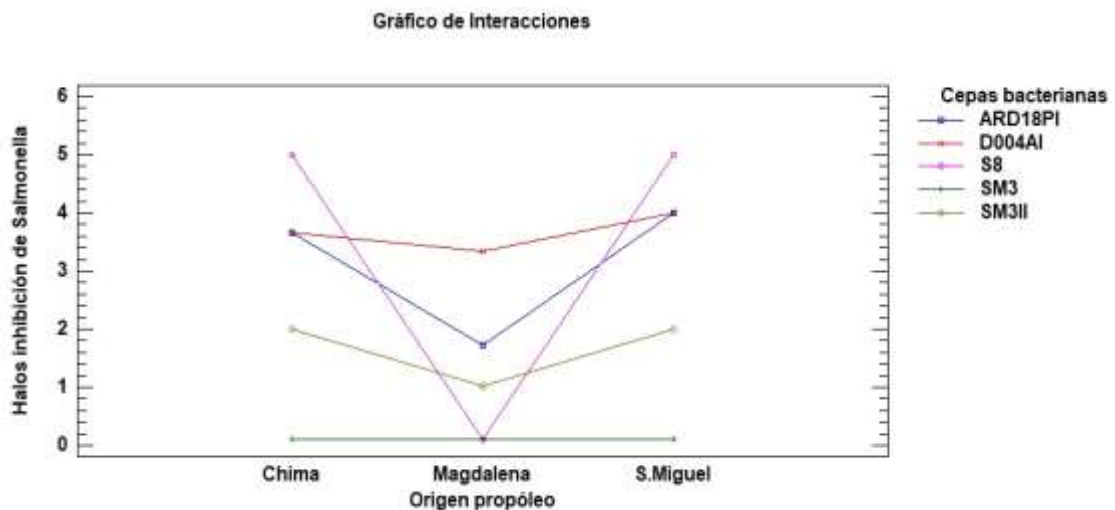


Mediante la figura N° 20, se presenta que la cepa bacteriana D004AI de *Salmonella* tiene mayor actividad antimicrobiana frente a los propóleos.

Gráficamente, se observa que las líneas de tendencia de los factores A (origen del propóleo) y factor B (cepas bacterianas) presentan interacciones, esto debido a la diferencia estadística altamente significativa que presentan estos dos factores.

Figura N° 21

Interacción del origen de propóleo frente a Salmonella



En la figura N° 21, se evidencia la intersección de las líneas de tendencia de los factores A, cepas bacterianas y factor B, origen del propóleo, cabe mencionar que el propóleo de San Miguel y La Chima poseen mayor actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Salmonella* S8 y D004AI

4.2.3. Actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*

En la tabla N° 26, se presentan los halos inhibitorios de los propóleos procedentes de La Magdalena, San Miguel y La Chima, frente a las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*.

Tabla N° 26

Resultados de la actividad antimicrobiana frente a Staphylococcus aureus

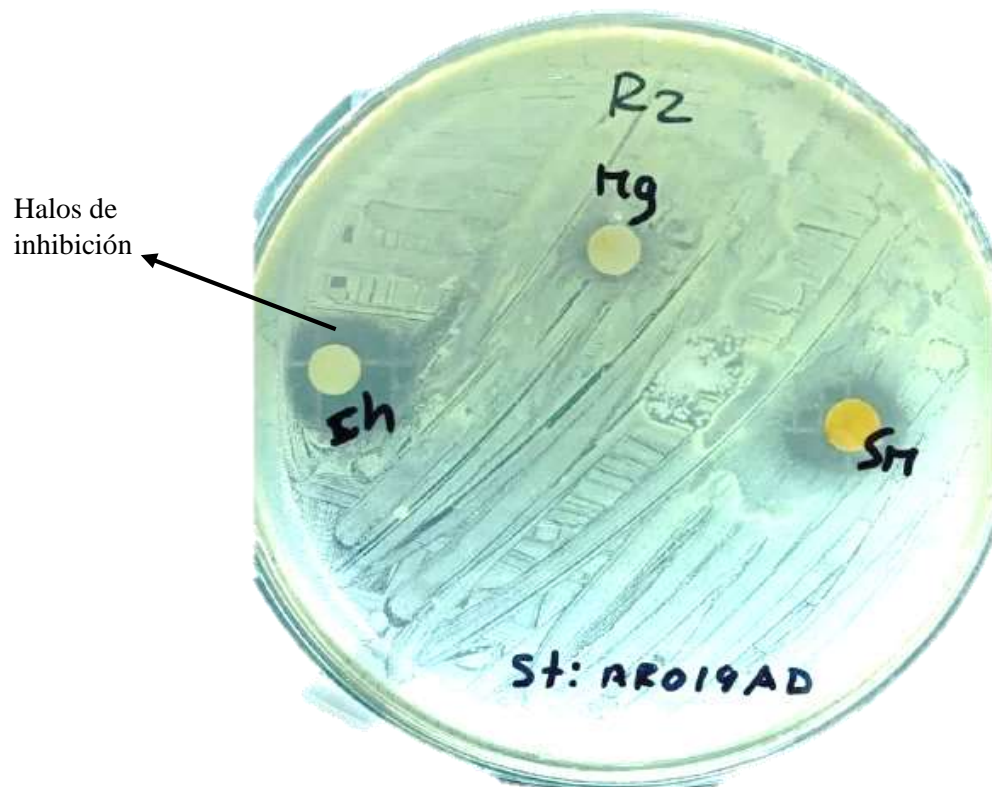
Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	Procedencias		
	La Magdalena	San Miguel	La Chima
ST: C-AQ022PD	4,67	4	7,67
STAR019AD	2,67	7,67	4,67
STAR020L	4,67	4	8
STAR023PI	4	4	6
STAR017PJ	5	8	8

Se realizó análisis de actividad antimicrobiana a los propóleos procedentes de los tres sectores en estudio, donde se demuestra que el propóleo de La Magdalena posee baja acción antimicrobiana a excepción de la cepa STAR017PJ que posee un valor más alto de tamaño de halo con 5 mm de diámetro, del mismo modo, los propóleos de San Miguel y de La Chima frente a la misma cepa de STAR017PJ, presenta un halo de inhibición de 8 mm de diámetro, el cual representa alta actividad antimicrobiana frente a las demás cepas.

La investigación realizada por Guaraca & Palomino (2018), determinó la actividad antimicrobiana de los propóleos frente al microorganismo *Staphylococcus aureus*, donde su halo de inhibición fue de 7,5 mm de diámetro. Fonseca (2016), demostró un halo de inhibición de propóleo frente a *Staphylococcus aureus* de 9 mm de diámetro, además Pulido *et al.*, (2019), demostraron la actividad antimicrobiana in vitro del propóleo un halo inhibitorio de 8 mm de diámetro, realizando un análisis comparativo, los resultados adquiridos por los autores son similares a los resultados del propóleo de La Chima y San Miguel, donde determinaron que la bacteria evaluada es sensible al propóleo, por lo tanto, los propóleos de estos dos sectores pueden ser utilizados en la fabricación de antibióticos para el control de *Staphylococcus aureus*.

Figura N° 22

Actividad antimicrobiana del propóleo frente Staphylococcus aureus



En la figura N° 22, se muestra la actividad antimicrobiana del propóleo de La Chima (Ch) con mayor acción antimicrobiana con respecto al propóleo de La Magdalena (Mg) y

San Miguel (SM). Fernandez *et al.*, (2022), menciona que la actividad antimicrobiana de los propóleos se le atribuye los compuestos de ácido fenólico, cumarinas, alcaloides, flavonoides, esteres y aldehídos fenólicos.

Tabla N° 27

Análisis de varianza de actividad antimicrobiana de Staphylococcus aureus

Fuente	Gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Efectos principales					
A: Origen propóleo	2	53,3333	26,6667	33,33	0,0000**
B: Cepas bacterianas	4	28,7556	7,18889	8,99	0,0001**
Interacciones					
AB	8	61,1111	7,63889	9,55	0,0000**
Residuos	30	24,0	0,8		
Total (corregido)	44	167,2			

** : Diferencia altamente significativa

Mediante el análisis de varianza para la actividad antimicrobiana de los propóleos frente a la bacteria *S. aureus*, se comprueba que existe diferencia altamente significativa con un nivel de confianza del 95% entre el factor A (origen del propóleo), factor B (cepas bacterianas de *S. aureus*) y la interacción AB, debido a que sus valores- p son menores a 0,05; la diferencia estadística existente entre los factores A, B y AB, se debe a que las distintas cepas bacterianas en estudio son resistentes a los propóleos procedentes de lugares de escasa vegetación y susceptibles a los propóleos procedentes de lugares ricos en vegetación, el cual posee flavonoide, ácidos fenólicos, alcaloides, ésteres en mayor concentración quienes actúan como inhibidores bacterianos (Fernandez *et al.*, 2022).

Debido a la diferencia estadística existente en el factor A, para determinar la incidencia del origen del propóleo se realizó comparación de rangos múltiples LSD.

Tabla N° 28

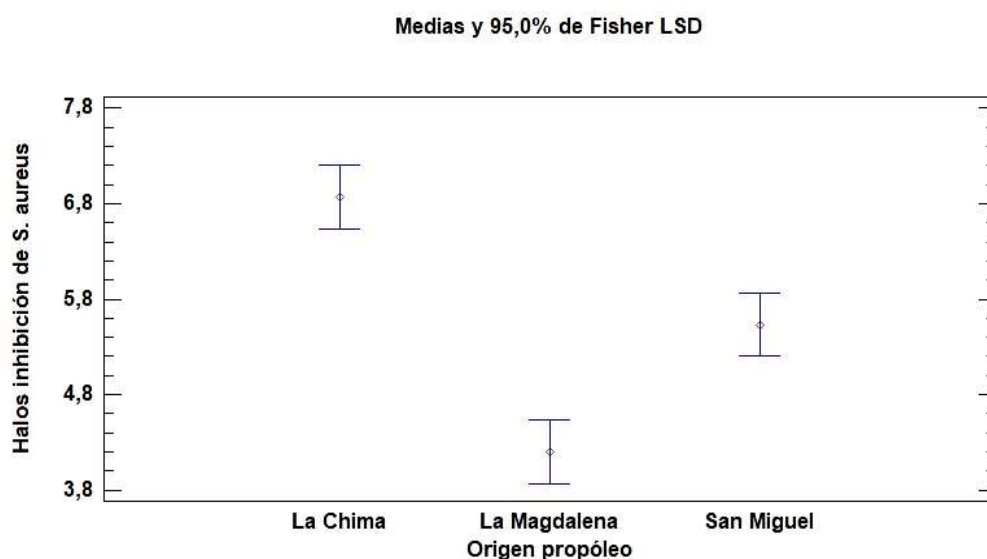
Pruebas de LSD para origen del propóleo

Origen propóleo	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
La Chima	15	6,86667	A
San Miguel	15	5,53333	B
La Magdalena	15	4,2	C

En la tabla N° 28, se evidencia la presencia de tres grupos heterogéneos, el propóleo procedente de La Chima posee un halo de inhibición de 6,86667 mm de diámetro, en consecuencia, dicho propóleo tiene mayor acción antimicrobiana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, esto debido a que la zona de donde se adquirió el propóleo es rica en vegetación, lo que se atribuye al propóleo muchos compuestos fenólicos que proveen de acción antimicrobiana.

Figura N° 23

Relación del origen del propóleo con los halos de inhibición de S. aureus



De la misma forma, en la figura N° 23 se evidencia que el propóleo adquirido de La Chima es diferente en actividad antimicrobiana con respecto a los propóleos procedentes de La Magdalena y San Miguel, dado que, los propóleos de dichos sectores son provenientes de escasa vegetación a diferencia del propóleo de La Chima.

De igual manera, debido a la diferencia estadística significativa existente en el factor B se aplicó pruebas de rangos múltiples por LSD.

Tabla N° 29

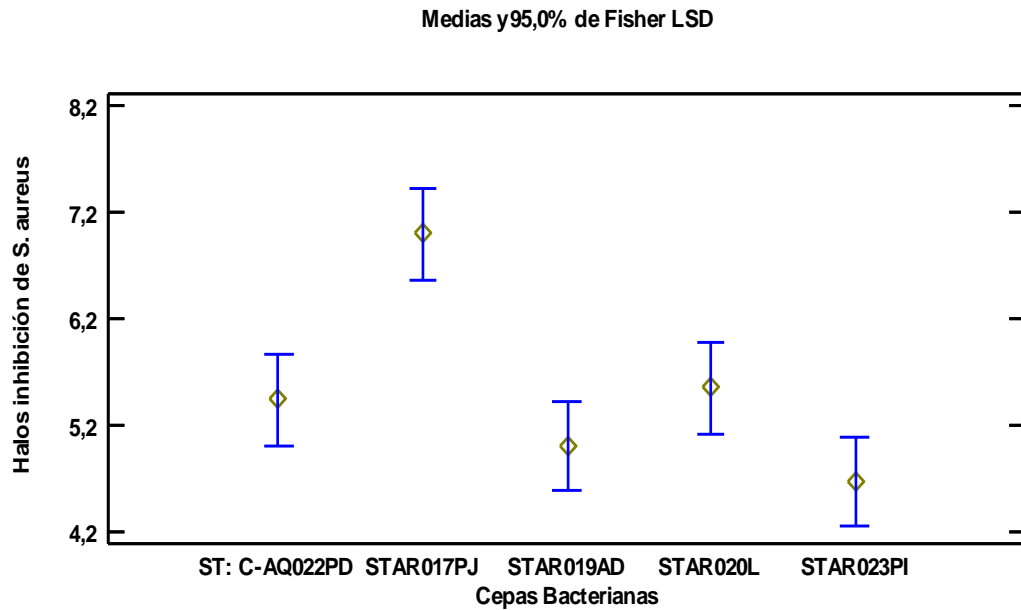
Pruebas LSD para cepas de Staphylococcus aureus

Cepas bacterianas	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
STAR017PJ	9	7,0	A
STAR020L	9	5,55556	B
ST: C-AQ022PD	9	5,44444	C
STAR019AD	9	4,33333	D
STAR023PI	9	4,66667	D

Mediante pruebas de rangos múltiples, se evidencia la presencia de cuatro grupos heterogéneos y la cepa STAR017PJ tiene una media más alta con un valor de 7,0 mm de diámetro de halo de inhibición, en tal sentido, se determinó que dicha cepa es susceptible al propóleo procedente de La Chima. Fernandez *et al.*, (2022), mencionan que la actividad antimicrobiana de los propóleos se debe al ácido fenólico, cumarinas, alcaloides, flavonoides, esteres y aldehídos fenólicos.

Figura N° 24

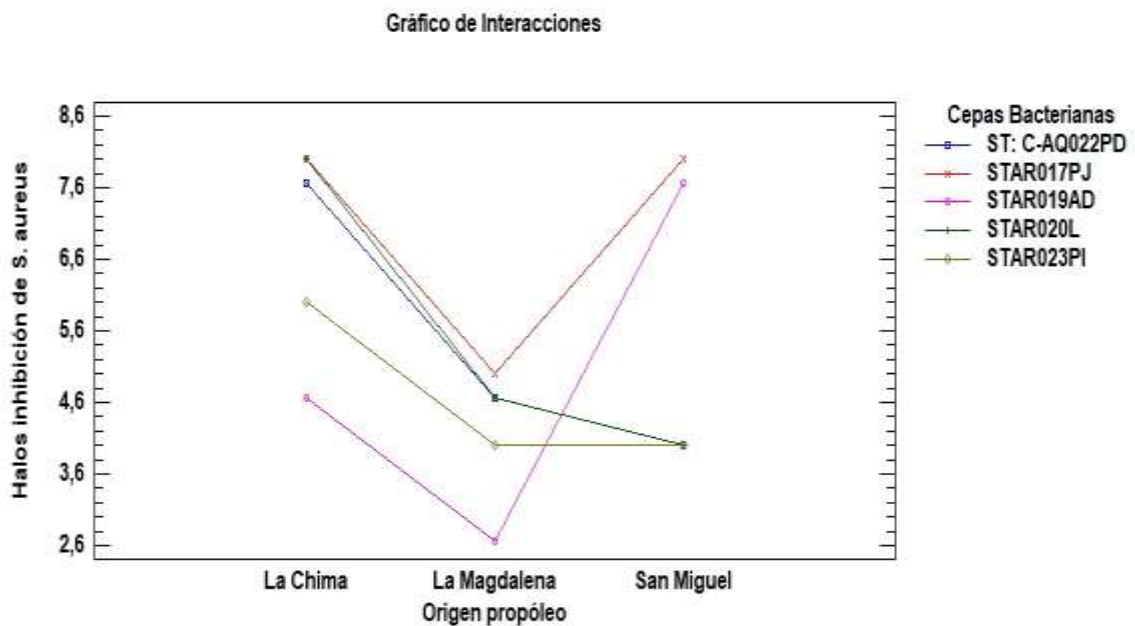
Relación de cepas bacterianas con los halos de inhibición de S. aureus



Gráficamente, se evidencia que la cepa STAR017PJ tiene alta acción antimicrobiana en relación a las demás cepas.

Figura N° 25

Interacción de origen de propóleo frente a S. aureus



Mediante las líneas de tendencia se observan que presentan interacciones entre el factor A y factor B, evidenciando que el propóleo procedente de La Chima posee mayor

actividad antimicrobiana frente a la cepa de *S. aureus* STAR017PJ, esto debido a que el propóleo de dicho sector presenta resistencia frente a la acción de *S. aureus*.

4.2.4. Actividad antimicrobiana frente a *Bacillus*

La actividad antimicrobiana de los propóleos en estudio frente a las cepas bacterianas de *Bacillus*, se presentan los resultados mediante la medición de las zonas de inhibición, como se presenta a continuación en la siguiente tabla.

Tabla N° 30

Resultados de la actividad antimicrobiana frente a Bacillus

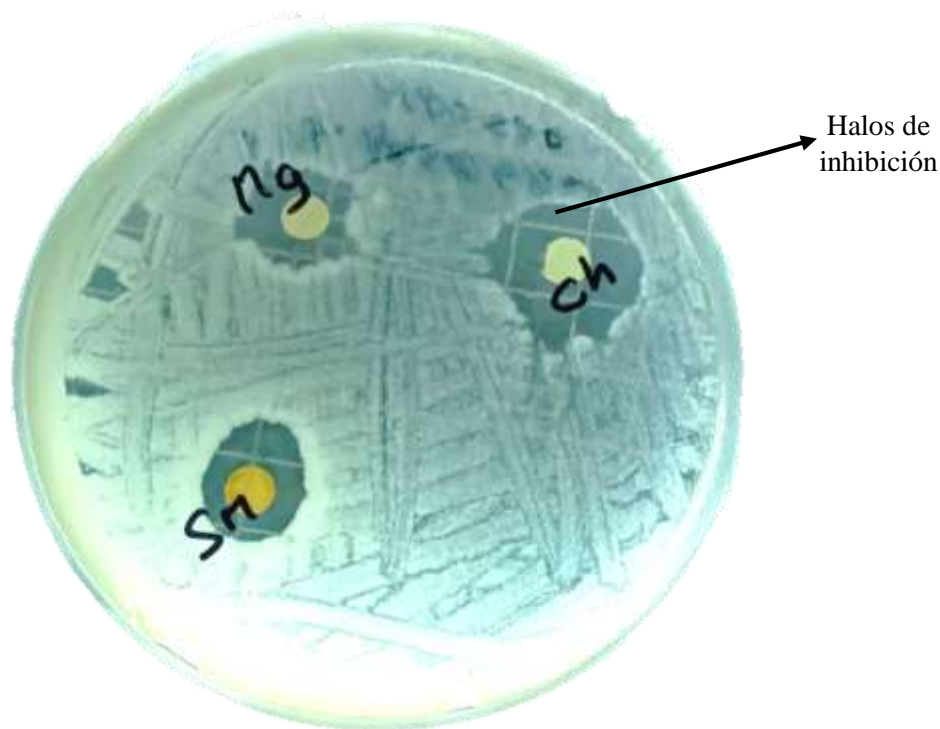
<i>Bacillus</i>	Procedencias		
	La Magdalena	San Miguel	La Chima
BAR023AJ	6,33	6	6
BAR005AI	4	6	4,67
BAR026PI	5	5	4
BAR006AD	8	6	10
BAR026PD	3	7,33	8

Los promedios de los halos de inhibición se presentan en la tabla N° 30, donde se demuestra que el propóleo procedente de La Magdalena presenta alta actividad antimicrobiana frente a la cepa BAR006AD con un halo inhibitorio de 8 mm de diámetro, por otra parte, el propóleo de San Miguel frente a la cepa BAR026PD presentó un halo de inhibición de 7,33 mm de diámetro valor que representa mayor actividad antimicrobiana frente a las demás cepas, por último, el propóleo de La Chima con mayor actividad antimicrobiana presenta la cepa BAR006AD con un halo de inhibición de 10 mm de diámetro, por esta razón el propóleo de La Chima tiene mayor actividad antimicrobiana, esto debido a que la zona donde se adquirió el propóleo de vegetación abundante.

López (2017), indago la actividad antimicrobiana en los propóleos frente al microorganismo *Bacillus*, donde encontraron zonas inhibitorias de 6,5 mm de diámetro, por otro lado, Sosa *et al.*, (2016), en los ensayos realizados de la actividad antimicrobiana del propóleo de semillas de plantas frente a *Bacillu*, demostraron no ser efectivas en dichos propóleos, mientras que en nuestra investigación el propóleo de La Chima presentó mayor acción antimicrobiana frente a la cepa de *Bacillus* BAR006AD con 10 mm de diámetro, esta diferencia de resultados se debe al lugar de procedencia y al método de extracción de estos propóleos.

Figura N° 26

Actividad antimicrobiana del propóleo frente a Bacillus



En la figura N° 26, se detalla la acción antibacteriana frente a los propóleos en estudio, donde se evidencia una ligera superioridad del propóleo de La Chima (Ch) en los halos de inhibición. Rebaza *et al.*, (2016), afirman que la composición del propóleo es distinta en cada región debido a que las abejas extraen resinas de distintas plantas las cuales tienen distintas propiedades, del mismo modo, menciona que los propóleos no presentan la

misma actividad antimicrobiana frente a diversos microorganismos debido a la composición de sus resinas.

Tabla N° 31

Análisis de varianza de la actividad antimicrobiana de Bacillus

Fuente	Gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Efectos principales					
A: Origen propóleo	2	12,3111	6,15556	7,69	0,0020**
B: Cepas bacterianas	4	63,2444	15,8111	19,76	0,0000**
Interacciones					
AB	8	64,3556	8,04444	10,06	0,0000**
Residuos	30	24,0	0,8		
Total (corregido)	44	163,911			

***: Diferencia altamente significativa*

Mediante el análisis de varianza de la actividad antimicrobiana de los propóleos frente a *Bacillus*, se observa que tanto el factor A (origen del propóleo), el factor B (cepas bacterianas) y la interacción AB tienen un efecto estadístico significativo, ya que sus valores-p son menor que 0,05; por lo tanto, estos factores son altamente significativos con un 95% de nivel de confianza, pudiendo atribuirse que la composición química del propóleo es diferentes a cada región de procedencia ya que las abejas extraen resinas de acuerdo a la flora existente en el área, según menciona Rebaza *et al.*, (2016).

Debido a la diferencia estadística presentada en el factor A, se procedió a realizar pruebas de rangos múltiples por LSD, para determinar el mejor tratamiento.

Tabla N° 32

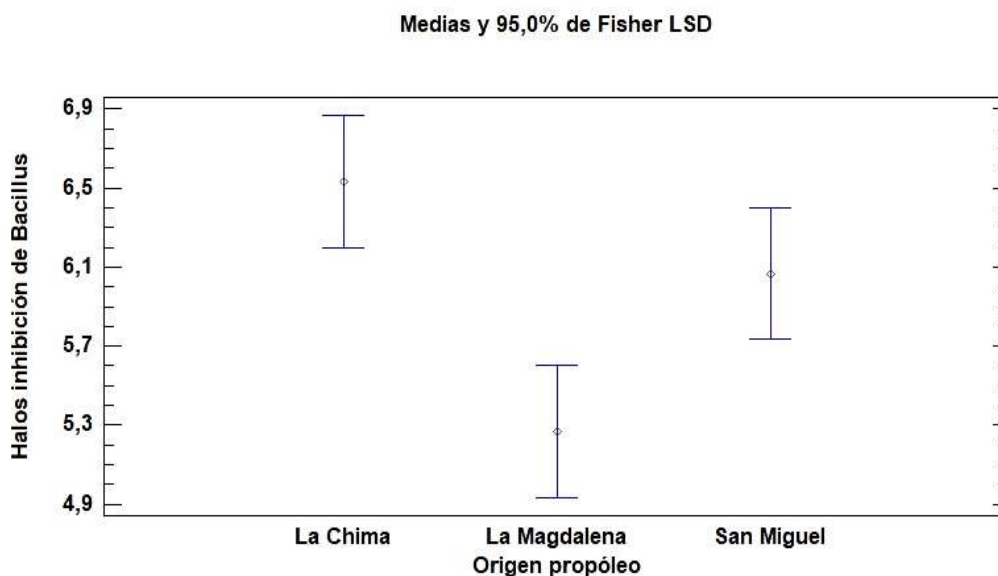
Pruebas de LSD para el origen del propóleo

Origen propóleo	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
La Chima	15	6,53333	A
San Miguel	15	6,06667	B
La Magdalena	15	5,26667	C

Como se puede apreciar en la tabla N° 32, los 3 grupos heterogéneos son diferentes dado que el propóleo procedente de La Chima adquirió un halo de inhibición de 6,53333 mm de diámetro, en tal sentido, dicho propóleo tiene mayor acción antimicrobiana, pudiendo atribuir que el sector de La Chima por su vegetación abundante las resinas de las abejas poseen abundantes propiedades fenólicas.

Figura N° 27

Relación de origen de propóleo con los halos de inhibición de Bacillus



Gráficamente, se logra apreciar que el propóleo de La Chima, posee mayor actividad antimicrobiana frente a *Bacillus*.

Para determinar el mejor tratamiento, se realizó pruebas de rangos múltiples por el método LSD, debido a la significancia estadística presentada para el factor B.

Tabla N° 33

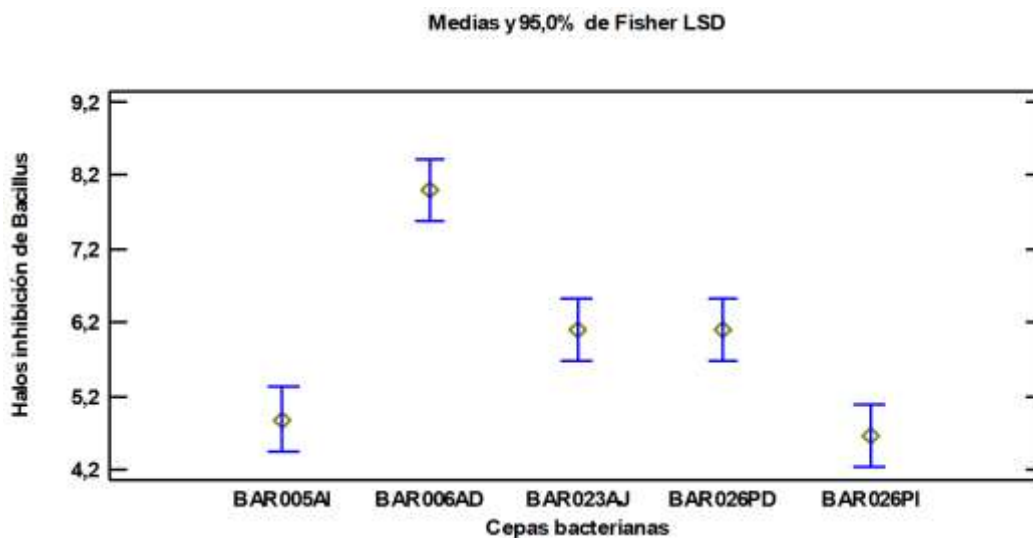
Pruebas de LSD para cepas de Bacillus

Cepas bacterianas	Casos	Media LS	Grupos Heterogéneos
BAR006AD	9	8,0	A
BAR023AJ	9	6,11111	B
BAR026PD	9	6,11111	B
BAR005AI	9	4,88889	C
BAR026PI	9	4,66667	D

De la misma manera se evidencia la presencia de cuatro grupos heterogéneos en el cual la cepa BAR006AD presenta un halo de inhibición de 8 mm de diámetro, por tal motivo, dicha cepa tiene mayor actividad antimicrobiana, esto se le atribuye a que los compuestos tales como: flavonoides galangina, pinocembrina y el ácido cinámico que posee el propóleo desactivan la energía citoplasmática, haciéndolo vulnerable al ataque del sistema inmunológico y potenciando los antibióticos.

Figura N° 28

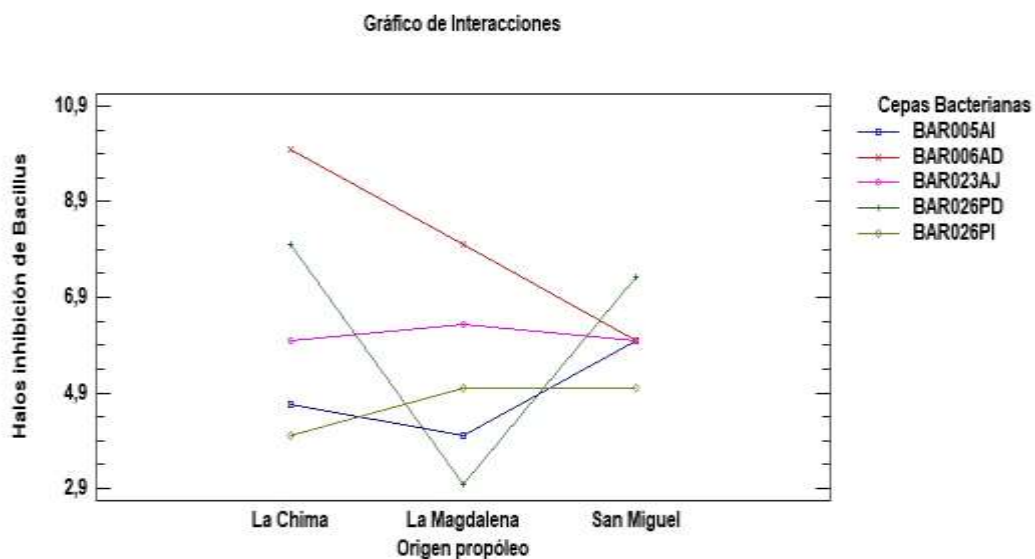
Relación de cepas bacterianas con halos de inhibición de Bacillus



Gráficamente se observa que la cepa bacteriana BAR006AD de *Bacillus* tiene alta acción antimicrobiana.

Figura N° 29

Interacción de origen de propóleo frente a Bacillus



Mediante la figura N° 29, se evidencia que el propóleo de La Chima frente a la cepa de *Bacillus* BAR006AD presenta mayor actividad antimicrobiana.

4.3. Resultados del propóleo como conservante natural del queso fresco

Se presentan los resultados microbiológicos realizados a los quesos que fueron adicionados con propóleo de los tres sectores en estudio.

Tabla N° 34

Resultados del conteo de colonias

Quesos con propóleo	Agar nutriente			PDA (Agar papa dextrosa)		
	Característica	Colonias	Colonias por cada 10 g de muestra	Característica	Colonias	Colonias por cada 10 g de muestra
La Magdalena	Color blanco mate	Sospechoso	-	Color crema mate, formas irregulares, si Relieves	Con colonias	36 UFC
San Miguel	Color crema mate, forma irregular, sin relieve	Incontables	-	Color crema mate, formas irregulares	Con colonias	7 UFC
La Chima	Color crema mate, forma irregular, sin Relieve	Incontables	-	Color crema mate, formas irregulares, si Relieves	Con colonias	19 UFC
Queso fresco	Color crema mate, formas irregulares, sin relieve	Incontables	-	Color crema mate, formas irregulares, si Relieves	Con colonias	128 UFC

Los análisis microbiológicos realizados a los quesos con propóleos procedentes de La Magdalena, San Miguel y La Chima en dos medios de cultivo como agar nutriente y PDA. Se evidencia que los quesos con propóleo en medio agar nutriente presentaron colonias sospechosas debido a que no se pudieron contabilizar las colonias existentes en dicho medio de cultivo, para identificar a los microorganismos se realizó análisis de microscopía por Tinción de Gram. Por otro lado, en el medio PDA (agar papa dextrosa) se pudo identificar unidades formadoras de colonias, siendo la más alta el queso añadido con propóleo de San Miguel con 36 UFC, mientras que en el queso fresco se evidenció 128 UFC.

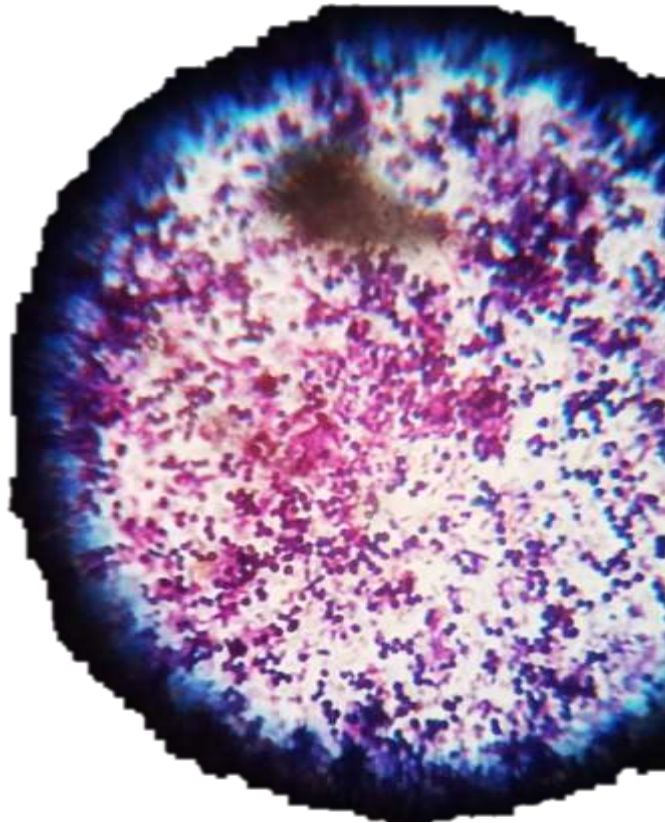
Mendoza & Moscoso (2019), evaluaron el recubrimiento de propóleo en queso semiduro a los 30 y 60 días, donde observaron ≤ 10 UFC, por otro lado, Cedeño & Palma (2022), evaluaron la presencia de mohos y levaduras a los 30 días en quesos frescos utilizando como conservante el propóleo, donde observaron $<1,0 \times 10^1$ UFC, demostrando así la eficiencia de los propóleos como conservantes, mientras que el resultado en nuestra investigación el mejor propóleo fue procedente de San Miguel, donde se contaron 7 UFC a los 21 días.

4.3.1. Identificación del microorganismo mediante Tinción de Gram

Para la identificación del microorganismo presente en el queso fresco con propóleo que fue identificado como sospechoso en el agar nutriente, se realizó análisis mediante microscopía por Tinción de Gram.

Figura N° 30

Bacteria Gram positiva, microscopia de campo 100 X



Mediante Tinción de Gram se pudo diferenciar entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas, donde se observaron que dicha muestra de queso con propóleo se encontraban presentes bacterias Gram positivas, debido a que se tiñeron de coloración rosada como se muestra en la figura N° 30, características típicas de las bacterias Gram positivas, de tal manera, se pudo determinar que existe presencia de *Staphylococcus aureus* a los 21 días de conservación. Galeano (2017), identificó al microorganismo mediante Tinción de Gram, donde mostraron cocos agrupados en racimos y cuyas células individuales mostraron variaciones de tamaño, debido a que los microorganismos se desarrollan de diferente manera, por otro lado, Jiménez & Velez (2012), determina que dichos microorganismos producen una gran cantidad de infecciones entre las cuales son la neumonía y la endocarditis.

4.4. Resultados de los análisis económicos

Para el análisis económico del producto, primero se realizó el análisis de costo de la elaboración del queso con adicción de propóleo, así como todos los ingredientes e insumos utilizados durante en el proceso como se detalla a continuación.

Tabla N° 35

Costo beneficio

Costo de la elaboración del queso con propóleo					
Insumos	Cantidad	Precio/ unitario \$	Unidades utilizadas	Precio \$	20% de utilidad
Propóleo de La Chima	20 mL	4,50	3 mL	0,68	
Leche	10 L	5,00	2,5 L	2,50	PVP= Costo de venta/1- % utilidad
Cuajo	1 L	9,50	1 mL	0,01	
Calcio	1 L	4,00	1 mL	0,004	
Costo total de producción				3,19	

$$\text{Costo beneficio} = \frac{3,99}{3,16}$$

$$\text{Costo beneficio} = 1,26\$$$

El costo de costo de producción de un queso de 453,6 g con adicción de propóleo es de 3,99 \$, el precio de venta al público con una utilidad del 20 % será de 3,99 \$, un valor suficiente asequible para la comercialización del producto ya que el propóleo además de actuar como conservante actúa también como antimicrobianos y antioxidante, compuestos que poseen propiedades benéficas para la salud. Al aplicar la fórmula de la relación costo beneficio obtuvimos un resultado de 1,26 \$, es decir, por cada dólar que se invierta para la producción del queso con la acción del propóleo se obtendrá un beneficio de 0,26 ctv.

4.5. Comprobación de hipótesis

4.5.1. Verificación de hipótesis

Para la determinación de la actividad antioxidante, mediante el análisis de varianza se identificó que existe diferencia entre sus tratamientos como se evidencia en la tabla 15, de la misma forma para la determinación de la actividad antimicrobiana tras el análisis de varianza se observaron la diferencia estadística entre sus tratamientos, en tal sentido los propóleos de La Magdalena, San Miguel y La Chima presentan actividad antioxidante y antimicrobiana, por ende, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

4.6. Conclusiones y recomendaciones

4.6.1. Conclusiones

- ❖ La capacidad antioxidante se realizó de acuerdo al método descrito por Ruch, en la que se identificó que el propóleo procedente de La Chima posee mayor acción antioxidante, a una dilución de 20 mg/mL con una concentración de antioxidantes de 1,45% H₂O₂ secuestrado y a una dilución de 60 mg/mL tiene una concentración de antioxidantes de 1,22% de H₂O₂.
- ❖ La actividad antimicrobiana se evaluó con dos bacterias Gram positivas (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp) y dos bacterias Gram negativas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus*), donde se evidenciaron que los propóleos procedentes de La Chima tienen mayor actividad antimicrobiana con halos de inhibición que llegan a 11,33 mm de diámetro.
- ❖ El propóleo de La Chima por ser el mejor tratamiento se adicionó al queso fresco como conservante natural dejando actuar durante 21 días, tiempo en el cual el queso inició el proceso de descomposición y la aparición de *Staphylococcus aureus* que fue identificado mediante tinción de Gram.
- ❖ El análisis económico se realizó de la elaboración del queso y del propóleo de La Chima ya que presentó mayor acción antioxidante y antimicrobiana, donde existe una rentabilidad de 0,26 USD por cada dólar invertido.

4.6.2. Recomendaciones

- ❖ Realizar la determinación de la actividad antioxidante de los propóleos de sectores aledaños de los cantones de San Miguel, Chimbo y su comparación con nuestra investigación.
- ❖ Determinar la actividad antimicrobiana de los propóleos frente a cepas de *Listeria*, *Arcobacter* y *Streptococcus*.
- ❖ Utilizar el propóleo en productos cárnicos como conservante natural e inhibidores de bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguarto, J. & Cuya, E. (2021). Actividad antimicrobiana del extracto etanólico liofilizado de propóleo procedente de Ayacucho y Huaral frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Tesis de pregrado*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12672/16527>
- Aguilar, O. Castillo, C. Díaz, R., Nieto, A. & Méndez, D. (2018). Antioxidants and inhibition of free radicals: lipoperoxidation and carbonylation. *Mexican Journal of Biotechnology*, 3(1), 60-72. Obtenido de https://docs.wixstatic.com/ugd/38ce56_2e8b89ab6f9b45e9866a174fbda533c4.pdf
- Almache, L. (2022). Recopilación de información sobre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos presentes en la materia prima de una premezcla como suplemento alimenticio, y el efecto de su consumo sobre la salud. *Tesis pregrado*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34951/1/CAL%20001.PDF>
- Andanero, J. (2017). Caracterización de propóleos de castilla y León. *Tesis doctoral*. Universidad de León, León. Obtenido de <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/7096/Tesis%20F%C3%A9lix%20Adanero.pdf?sequence=1>
- Arias, F. (2017). Evaluación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de los propóleos provenientes. *Tesis posgrado*. Universidad Nacional, Heredia. Obtenido de <https://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/18252>
- Arroyave, D. Molina, M., Ramírez, J., Vallejo, L., & Vélez, V. (2021). Comparación de la efectividad antimicrobiana in vitro de un extracto hidroalcohólico de propóleo y un enjuague basado en cloruro de Cetilpiridinio: Un tamizaje piloto. *Universidad Cooperativa de Colombia*. Obtenido de http://scienti.colciencias.gov.co:8081/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000141070
- Aymar, J. Lezcano, M. Mandri, M. Gili, M. & Zamudio, M. (2018). Acción anticariogénica del propóleo. *RIUNNE*, 49-53. Obtenido de <http://repositorio.unne.edu.ar/handle/123456789/1606>

- Balboa, N. Núñez, D. Alvear, M. Cerón, A. & Paredes, M. (2018). Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de un propóleo chileno sobre muestras clínicas de exudados bucofaríngeos y cepas ATCC. *Blacpma*, 17(6), 541-554. Obtenido de <https://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/144>
- Becerra, S. Maldonado, E. & Castro, S. (2022). Efecto bioconservante del propóleo y su aplicación en la conservación de matrices cárnicas. *Perspectivas en nutrición humana*, 24(1), 125-135. doi:<https://doi.org/10.17533/udea.penh.v24n1a08>
- Benavidez, L. (2017). Actividad antioxidante del extracto de propóleos y su incorporación en una formulación cosmética. *Ciencia e investigación*, 20(2), 3-8. doi:<https://doi.org/10.15381/ci.v20i2.14803>
- Bone, K. (2018). Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo con extracto acuoso de *rosmarinus officinalis* frente a enterococcus faecalis. *Tesis pregrado*. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16694>
- Bonifaz, J. (2019). Efecto de la inclusión de microencapsulados de tomillo en la elaboración de queso fresco. *Tesis posgrado*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/29721>
- Carballo, L. Aparecida, J. Díaz, M. Sande, D. Duran, N. & Blandon, A. (2019). Actividad antioxidante de extractos etanólicos, aceites esenciales de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. y propóleos de *Melipona beecheii* Bennett. *Plantas medicinales*, 24(4), 1-15. Obtenido de <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/725/418>
- Carrera, H. (2016). Evaluación del extracto etanólico de propóleo como conservante en queso cabaña. *Tesis pregrado*. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras, Honduras. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/913c8004-5f67-498c-85e4-164318d5feaf/content>
- Cauja, J. (2019). Evaluación de las propiedades del propóleo como conservante natural en una bebida elaborada a base de piña (*ananas comosus*). *Tesis pregrado*. Universidad Nacional del Chimborazo, Riobamba. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/6593/1/tesis%20jonathan%20cauja.pdf>

- Cedeño, K. & Palma, D. (2022). Efectos de los conservantes naturales ϵ -polilisina y propóleo en la vida útil del queso fresco pasteurizado. *Tesis pregrado*. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta. Obtenido de https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1853/1/TIC_AI07D.pdf
- Cedeño, X. (2018). Evaluación de propóleo como conservante natural en la leche chocolatada. *Tesis posgrado*. Escuela Superior de Turismo E Tecnologia do Mar. Obtenido de <https://iconline.ipleiria.pt/handle/10400.8/3476>
- CLSI. (2019). M100 Performance Standards for Antimicrobial Suceptibility Testing (29 ed., Vol. 39). USA.
- Delgadillo, D. (2016). Evaluación de la actividad antioxidante y antibacteriana de extractos etanólicos de propóleos de abejas sin aguijón (*Apidae Meliponini*) del Estado de Veracruz, México. *Tesis pregrado*. Universidad de Sonora, Hermosillo. Obtenido de <http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/handle/20.500.12984/1304>
- Espinoza, P. (2017). Efecto Antifúngico in Vitro del extracto de propóleo Ecuatoriano comparado con la Nistatina sobre la *Cándida Albicans*. *Tesis pregrado*. Universidad Central del Ecuador, Quito. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15182>
- Fernandez, K. Rodriguez, J. Reyes, L. Duquesne, A. & Solenzal, Y. (2022). Comparación de actividad in vitro anti-*Staphylococcus aureus* de ocho antibióticos y cuatro diluciones de propóleos. *Selva Andina*, 13(1), 35-48. Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/3613/361370160006/html/>
- Fonseca, E. (2016). Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de sunfo (*clinopodium nubigenum (kunth) kuntze*) frente a patógenos de enfermedades respiratorias (*staphylococcus aureus atcc: 25923*, *streptococcus pyogenes atcc: 19615*, *streptococcus p.* *Tesis pregrado*. Universidad Politécnica Salesiana, Quito. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13227>
- Galano, A. (2017). Estrés oxidativo, radicales libres, antioxidantes y ¿Química Computacional? *Química y desarrollo*, 21-26. Obtenido de http://bsqm.org.mx/pdf-boletines/V11/V11N3/BSMQ_11_3_kEstresOxidativo.pdf

- Galeano, D. (2017). Aislamiento e identificación de *staphylococcus aureus* en muestras de leche cruda procedente de diferentes predios del departamento de Risaralda. *Tesis pregrado*. Universidad Libre Seccional Pereira, Pereira. Obtenido de <https://hdl.handle.net/10901/16150>
- Gamarra, M. (2020). Determinación de temperatura y pH para la optimización de la actividad proteolítica alcalina de *Bacillus* sp. aislados de tierras de cultivo de *Zea mays*. *Tesis pregrado*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Obtenido de https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/15239/Gamarra_cm.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Guanche, D. (2022). Evaluación de diferentes extractos de propóleos. *Ciencias biológicas*, 53(3), 243-251. Obtenido de <https://revista.cnic.cu/index.php/RevBiol/article/view/2022>
- Guaraca, A. & Palomino, D. (2018). Estudio de la composición química y actividad antibacteriana de muestras de propóleos de diferente localización geográfica. *Tesis pregrado*. Universidad Politécnica Salesiana, Quito. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15371>
- Gulcin, I. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Hernández, J. (2016). Efecto de la actividad antioxidante de propóleos sonorenses sobre el estado redox de células cancerígenas y su actividad antiproliferativa. *Tesis pregrado*. Universidad de Sonora, Caborca. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12984/2174>
- Herrera, R. (2021). Extracción y caracterización parcial de un extracto bioactivo oleoso de propóleos de *melipona beecheii*. *Tesis pregrado*. Instituto Tecnológico Mérida Yucatán, Mérida. Obtenido de <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/3903/1/Rocio%20Natalie%20Herrera%20Ortiz%20922823.pdf>

- Jiménez, G. & Vélez, A. (2012). Tinción de Gram de tejido: alcances y limitaciones. *Medicina y Laboratorio*, 18(11), 567-573. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2012/myl11211-12d.pdf>
- Laborclin. (2019). *Manual de Antibiograma*. Obtenido de Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda: https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/Manual_antibiograma_2019.pdf
- Lastiri, F., Tabera, A., & Basualdo, M. (2018). Actividad biológica de propóleos incorporados a una miel. *Tesis pregrado*. UNSPBA, Tandil. Obtenido de [https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1929/LASTIR I%20FLORENCIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1929/LASTIR%20I%20FLORENCIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Mendoza, F. & Moscoso, Z. (2019). Efecto del recubrimiento de cera natural de abeja sobre el queso semiduro de *Andahuaylas*. *Repositorio Institucional UNLP*, 317-327. Obtenido de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/97904>
- Muñoz, A. & Ramos, E. (2016). Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Horizonte médico*, 7(1), 23-38. Obtenido de <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/208/223>
- Neira, J. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de las plantas medicinales utilizadas por los pobladores de Tuctumpaya, Quequeña y Chiguata, frente a bacterias gram positivas: *Staphylococcus aureus* – *Streptococcus pneumoniae* causante. *Tesis pregrado*. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Arequipa. Obtenido de <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6899>
- NTE INEN 1528. (2012). Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos . Quito.
- NTE INEN 9. (2015). Leche cruda. Requisitos.
- NTE INEN 1528:2012. (2012). Norma general para quesos frescos no madurados: Requisitos. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1528.pdf>
- Núñez, J. & Umanzor, A. (2020). Estudio del efecto antibiotico de un extracto de propoleos y ciprofloxacina contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella*

- enterica serovar typhimurium*. Tesis pregrado. Universidad de El Salvador, San Salvador. Obtenido de <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/23076/1/16103793.pdf>
- Pachar, L. (2020). Evaluación de las características fisicoquímicas del queso fresco para determinar su grado de inocuidad y aceptación. Tesis posgrado. Universidad Técnica de Machala, Machala. Obtenido de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16346/1/E-10591_PACHAR%20SOLANO%20LUIS%20STALIN.pdf
- Pulido, L. Martínez, A. & Jeréz, O. (2019). Evaluación preliminar in vitro de la actividad antimicrobiana del propóleo frente a patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. *Nova revista*, 5, 60-66. doi:<https://doi.org/10.23850/issn.2500-4476>
- Pulido, L. Mendoza, Y. & Martínez, A. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana y sensorial del propóleo utilizado como desinfectante en áreas pecuarias. *Del grupo de investigación GIPAMA*, 3, 89-96. Obtenido de <https://revistas.sena.edu.co/index.php/gipama/article/view/4780>
- Rebaza, R. Amaya, L. Gutiérrez, A. Haro, R. & Tumbajulca, M. (2016). Aplicación del propóleo en envasado activo. *Agroindustrial Science*, 6(2), 239-252. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/267887994.pdf>
- Ríos, R. (2017). Caracterización físico química, antibacteriana y antioxidante del propóleo de *Melipona ebúrnea* de la región Amazónica. Tesis pregrado. Universidad Técnica de Ambato, Ambato. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/26403>
- Rodríguez, B. Canales, M. Penieres, J. & Cruz, T. (2020). Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. *Acta Universitaria*, 1-29. doi:<https://doi.org/10.15174/au.2020.2435>
- Rodríguez, L. Góngora, W. Escalona, A. Miranda, M. Batista, S. & Bermúdez, Y. (2015). Optimización de la extracción alcohólica para la obtención de soluciones concentradas de propóleos. *Colombiana de ciencias químico-farmacéuticas*, 44(1), 47-57. doi:<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v44n1.54237>

- Ruch, R. Cheng, S. & Klaunig, J. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10(6), 1003-1008. doi:<https://doi.org/10.1093/carcin/10.6.1003>
- Salamanca, G. (2017). Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo. Ibagué. Obtenido de <http://repository.ut.edu.co/handle/001/3130>
- Sánchez, A. (2018). Características antioxidantes de propóleos de diferentes orígenes geográficos. *Tesis pregrado*. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/handle/10251/109879>
- Sánchez, F. (2018). Perfil químico y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en la región del bajo cauca antioqueño. *Tesis posgrado*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Obtenido de <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/68744>
- Sánchez, Y. Urbana, E. Gonzáles, F. & Ferrebuz, A. (2018). Caracterización fenotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de β -lactamasas y resistente a la meticilina. *Investigación en la Salud Universidad de Boyacá*, 5(1), 125-143. Obtenido de <https://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/302/427>
- Satán, S. (2021). Diagnóstico de *Escherichia coli* como indicador de calidad sanitaria del agua y alimentos. *Tesis pregrado*. Universidad Nacional del Chimborazo, Riobamba. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/8891>
- Sosa, A. Cabrera, M. & Álvarez, M. (2016). Vegetación de origen como parámetro de caracterización microbiana de los propóleos. *Selva Andina*, 4(1), 3-23. Obtenido de http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v4n1/v4n1_a02.pdf
- Velasquez, D. & Montenegro, S. (2017). Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de propóleos obtenidos de abejas *Apis mellifera*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(1), 182-193. Obtenido de <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/download/1848/2229>
- Vera, D. & Vera, F. (2019). Actividad antimicrobiana del propóleo de abejas mestizas de *Apis mellifera* cárnica y *Apis mellifera* ibérica de tumbaco en Pichincha (Ecuador).

Tesis pregrado. Universidad de Guayaquil, Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/43843>

Verdugo, M. & Tola, B. (2017). Capacidad antioxidante y composición química de varios extractos de propóleos de la zona del sur del Ecuador. *Tesis posgrado*. Universidad Politécnica Salesiana, Quito. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14947/1/UPS-CT007371.pdf>

Villa, J. (2022). Presencia de *Salmonella spp.* en embutidos comercializados artesanalmente en tres mercados de la ciudad de Guayaquil. *Tesis pregrado*. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil. Obtenido de <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/VILLA%20JARA%20JOSUE%20FABRICIO.pdf>

Viloria, J. Gil, J. Durango, D. & García, C. (2012). Caracterización fisicoquímica del propóleo de la región del bajo cauca antioqueño (Antioquia, Colombia). *Bioteología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), 77-86. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v10n1/v10n1a10.pdf>

ANEXOS

Anexo N° 1

Mapa de ubicación de la investigación



Fuente: Google maps, (2021)

Anexo N° 2

Resultados mediante espectrofotometría

ANÁLISIS					
Día 1 de análisis sector La Chima					
# de muestra	Concentración trabajada	A600	Corrección	λ	A(λ)
1	20	-229,67	230,00	500	-226,43
2	40	-229,44	230,00	500	-228,05
3	60	-228,81	230,00	500	-226,02
Día 2 de análisis sector La Chima					
# de muestra	Concentración trabajada	A600	Corrección	Λ	A(λ)
1	20	-226,38	230,00	500	-225,97
2	40	-224,16	230,00	500	-222,61
3	60	-222,68	230,00	500	-220,03
Día 1 de análisis sector La Magdalena					
# de muestra	Concentración trabajada	A600	Corrección	λ	A(λ)
1	20	-226,38	230,00	500	-225,30
2	40	-224,16	230,00	500	-222,61
3	60	-222,68	230,00	500	-222,03
Día 2 de análisis sector La Magdalena					
# de muestra	Concentración trabajada	A600	Corrección	λ	A(λ)
1	20	-232,39	230,00	500	-231,33
2	40	-230,25	230,00	500	-228,60
3	60	-229,99	230,00	500	-229,23
Día 2 de análisis sector San Miguel					
# de muestra	Concentración trabajada	A600	Corrección	λ	A(λ)
1	20	-227,87	230,00	500	-226,69
2	40	-225,66	230,00	500	-224,57
3	60	-224,90	230,00	500	-223,79
Día 2 de análisis sector San Miguel					
# de muestra	Concentración trabajada	A600	Corrección	λ	A(λ)
1	20	-226,23	230,00	500	-225,10
2	40	-228,09	230,00	500	-227,08
3	60	-229,15	230,00	500	-228,10

Anexo N° 3*Resultado de la capacidad antioxidante del propóleo*

Tratamientos	R1	R2	% de H₂O₂ secuestrado
T1	0,48	0,46	0,47
T2	0,69	0,72	0,705
T3	0,29	0,33	0,31
T4	0,52	0,5	0,51
T5	0,48	0,48	0,48
T6	0,49	0,46	0,475
T7	1,41	1,49	1,45
T8	0,61	0,69	0,65
T9	1,25	1,19	1,22

Anexo N° 4

Fotografías de la fase experimental de la actividad antioxidante



Propóleos



Concentraciones



Lectura en el NanoDrop



Absorbancias

Anexo N° 5

Actividad antimicrobiana



Pesado de los reactivos



Preparación del medio



Gelificación del medio



Siembra



Adición de antibiogramas con propóleo



Incubación



Medición de halos



Halos inhibitorios

Anexo N° 6

Aplicación del propóleo en los quesos fresco como conservante natural



Elaboración del queso



Adición del propóleo



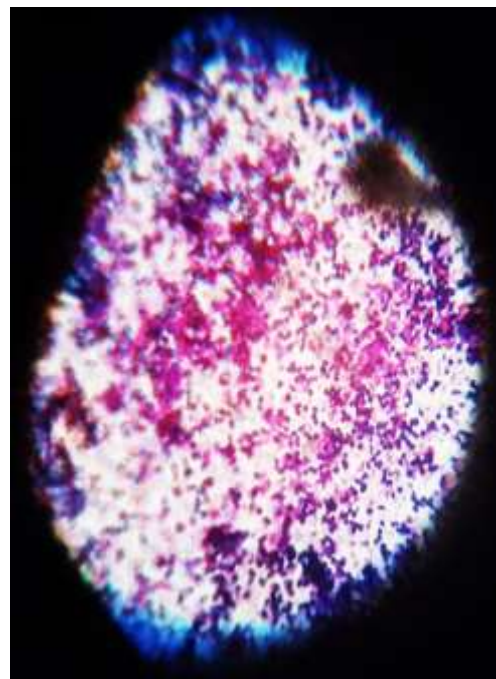
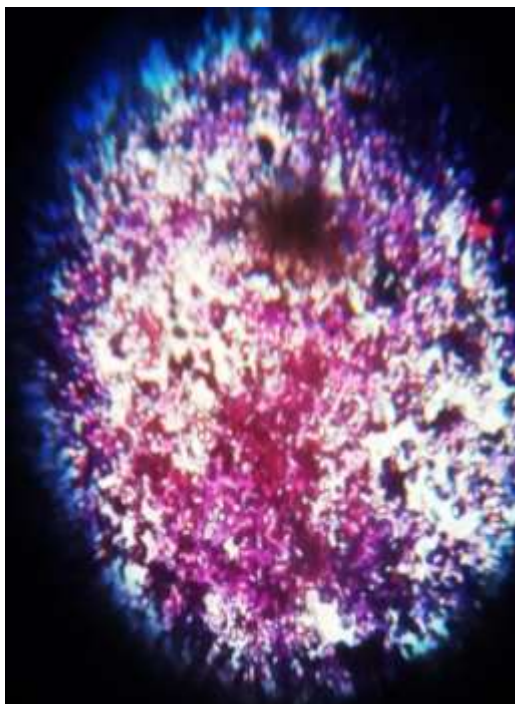
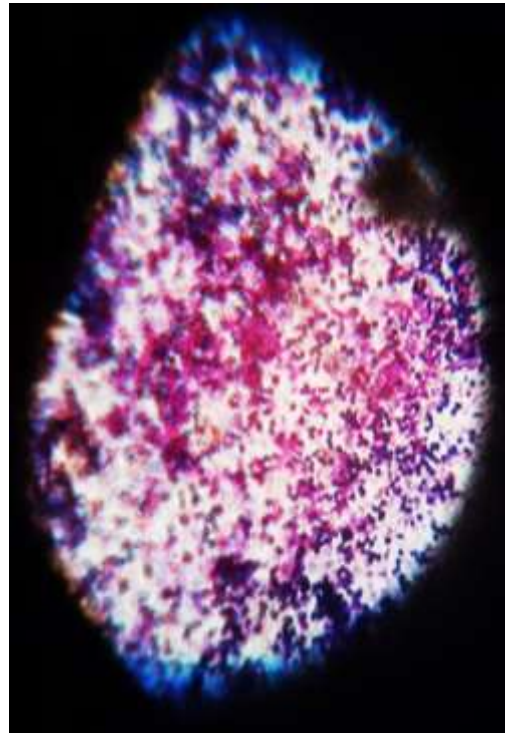
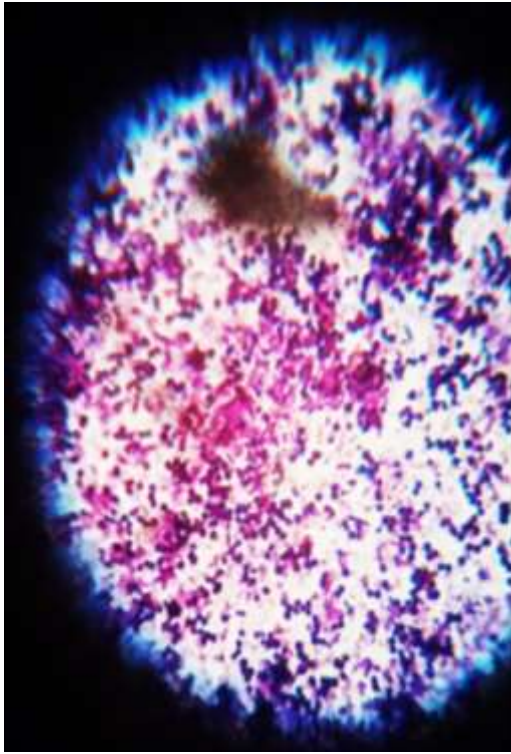
Adición del propóleo



Tiempo de conservación

Anexo N° 7

Identificación de Staphylococcus mediante tinción de Gram



GLOSARIO DE TÉRMINOS

❖ Abeja

Son insectos altamente sociales, viven en colonias constituidas están organizadas de acuerdo a una estricta jerarquía de tres clases sociales: reinas, abejas zánganos y abejas obreras se alimentan de néctar.

❖ Antioxidantes

Son moléculas que pueden retrasar o prevenir la oxidación de otras moléculas, en la oxidación siendo una reacción química en la que se transfieren electrones de una sustancia a un oxidante, las reacciones de oxidación pueden crear radicales libres que provocan reacciones en cadena que pueden dañar las células.

❖ Antimicrobiana

Se utiliza para describir una sustancia que tiene la capacidad de reducir la presencia de microorganismos como bacterias y hongos.

❖ Ceras

Es aquel material utilizado por las abejas para construir sus nidos, siendo secretado en forma líquida por las abejas jóvenes a través de las glándulas de cera, cuando se expone al aire, la cera se endurece de forma pequeña sobre las escamas de cera en la parte inferior de las abejas.

❖ Cepas bacterianas

Es el grupo de microorganismos, como bacterias o virus, que pertenecen a la misma especie y tienen ciertas características que otros miembros de la especie no tienen.

❖ Enzimas

Estas son moléculas orgánicas que actúan como catalizadores de las reacciones químicas, es decir, aceleran las reacciones que suelen ser de naturaleza proteica, pero también son de ARN.

❖ **Fitonutrientes**

Son compuestos producidos por las plantas que a menudo juegan un papel en el desarrollo de la vegetación y en la defensa contra competidores y patógeno o depredadores.

❖ **Flavonoides**

Son una serie de fitonutrientes fitoquímicos que se encuentran en muchas frutas, verduras y especias, los flavonoides son poderosos antioxidantes con propiedades antiinflamatorias que apoyan el sistema inmunológico.

❖ **Inhibición**

Brevemente, es la zona alrededor del disco de antibiótico en el espectro antimicrobiano en el que las bacterias no crecen en placas de agar inoculadas con bacterias como indicadores de la eficacia de los antibióticos contra las bacterias.

❖ **Inmunoestimuladores**

El inmunoestimulante es una sustancia que estimula el sistema inmune para activar y desarrollar la actividad de cualquier componente.

❖ **Gram negativa**

En la microbiología son bacterias aquellas que no se tiñen de azul oscuro o de violeta por la acción de la tinción de Gram y lo hacen de un color rosado tenue.

❖ **Gram positiva**

Son bacterias que poseen una tinción de Gram azul oscuro o púrpura, con características químicas estrechamente relacionadas con la estructura de la envoltura celular y, por lo tanto, representan el tipo natural de tejido bacteriano.

❖ **Resinas**

Es una secreción orgánica producida por la vegetación, especialmente las coníferas, actuando como una capa protectora natural contra insectos o patógenos.

❖ **Polen**

Es el principal producto natural en el proceso de reproducción de las plantas con flores, en el que las abejas juegan un papel clave, así como los polinizadores, siendo un polvo fino de color amarillo o naranja que se forma en las flores y es transportado por las abejas, otros polinizadores como los insectos.

❖ **Propóleos**

Es una mezcla de resina que las abejas obtienen de las yemas de los árboles, plantas, secreciones de las fuentes vegetativas, que luego se procesa en la colmena como sellador de pequeños agujeros, se mezcla con cera de abejas y cualquier otra cosa que haya en la colmena.