

**EVALUACION DEL POTENCIAL DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA PARA
LA DISCRIMINACION Y CARACTERIZACION ESPECTROSCOPICA DE
PROPOLEOS DE DIFERENTES GENEROS**

MARIA CAMILA GAMBOA RODRIGUEZ



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2022**

**EVALUACION DEL POTENCIAL DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA PARA LA
DISCRIMINACION Y CARACTERIZACION ESPECTROSCOPICA DE PROPOLEOS DE
DIFERENTES GENEROS**

MARIA CAMILA GAMBOA RODRIGUEZ

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de Química

Tutores

DIANA ALEXANDRA TORRES SÁNCHEZ

Doctora en Ciencias-Química

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

AMANDA LUCIA CHAPARRO GARCÍA

Doctora en Química

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA**

2022

DEDICATORIA

Dios por ser mi guía, por permitirme haber llegado hasta este momento tan importantes de mi formación profesional. A mis padres Diana Carolina y Miguel Alirio quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir mis sueños quienes inculcaron en mis valores, principios, ejemplos de esfuerzo y valentía de no temer a las adversidades. A mis hermanos, abuelos y demás familiares por su cariño y apoyo incondicional. También de manera especial a mis tutoras por compartir sus conocimientos y guiarme en este proceso.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus más sinceros agradecimientos a:

A Dios por protegerme durante todo mi camino, darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de mi vida. A mis padres por apoyarme emocionalmente y económicamente por brindarme todo su amor. También a mis hermanos que con sus ocurrencias hemos pasado momentos inolvidables.

A la universidad de pamplona, a los docentes del programa de química de manera especial a mis tutoras la Dra Diana Alexandra torres Sánchez, la Dra Amanda Lucia Chaparro García y al profesor Mrs. José Quintana por haberme guiado en este proyecto, en base a su experiencia y sabiduría han sabido direccionar mis conocimientos.

Al laboratorio de Biocalorimetría y Control de Calidad de la Universidad de Pamplona, por facilitar los espacios para el análisis de muestras y al personal que labora en ellos, por prestar sus servicios de manera amable y siempre con la mejor disposición para el desarrollo de la parte experimental del proyecto.

CONTENIDO

DEDICATORIA	3
Agradecimientos	4
Lista de tablas.....	7
Lista de figuras	8
Lista de abreviaturas	9
RESUMEN	10
Abstract.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
1. MARCO REFERENCIAL.....	12
1.1 Abejas sin aguijón.....	12
1.2 Propóleo	13
1.1.1 Historia del propóleo	13
1.1.2 Composición química del propóleo	14
1.3 Técnicas analíticas instrumentales	15
1.3.1 Espectrofotometría UV- visible.....	16
1.3.2 Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)	16
1.4 Quimiometría	17
1.4.1 Análisis de Componentes principales (PCA).....	17
1.4.2 Análisis jerárquico de conglomerados (HCA)	17
2.1 Objetivo general	18
2.2 Objetivos específicos	18
3. Metodología.....	19
3.1 Muestreo	19
3.2 Reactivos	19
3.3 Equipos, instrumentos y métodos	20
3.4 Preparación de la muestra en crudo	20
3.5 Preparación de los extractos	21
3.6 Análisis de extracto de propóleo (ATR-FTIR)	22
3.7 Tratamiento espectral	22
3.8 Análisis de extracto de propóleo UV- visible	22
3.9 Análisis quimiométrico	22

3.9.1	Análisis de componentes principales PCA	22
3.9.2	Análisis jerárquico de conglomerados (HCA)	23
4	RESULTADOS Y ANÁLISIS	24
4.1	MUESTRAS DE PROPÓLEO CRUDO	24
4.1.1	Caracterización de los propóleos crudos	24
4.1.2	Análisis de las muestras de propóleo mediante ATR-FTIR	26
4.1.3	Análisis quimiométrico	33
4.2	Muestras de Extractos Etanólico de Propóleo	37
4.2.1	Caracterización de los Extractos Etanólico propóleos	37
4.2.2	Análisis de las muestras de extractos Etanólico de propóleo mediante ATR-FTIR....	38
4.2.3	Análisis de la muestra por espectrofotometría UV-vis	40
4.2.4	Análisis quimiométrico	41
	Conclusiones	46
	Recomendaciones	47
	Bibliografía	48
	Anexo	54

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características de muestras crudas de *Bochalema*25

Tabla 2. Bandas características de propóleos *Scaptotrigona* sp., *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp, *Apis mellifera* (africanizada) y *Apis melífera cárnica* (Alemania)31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Subfamilia Apinae: Apini, Euglossini, Bombini y Meliponini	12
Figura 2 Propóleo	14
Figura 3. Zona de Muestreo	19
Figura 4. Muestras de propóleo en crudo (a) y muestra de propóleo macerada (b).	20
Figura 5. Muestras pesadas de propóleo crudo (a) y muestras de extractos de propóleo filtradas. 21	
Figura 6. Muestras observadas en el estereoscopio de propóleo, <i>Frieseomelitta paupera</i> (a), <i>Nanotrigona</i> sp(b), <i>Trigona angustula</i> (c), <i>Scaptotrigona</i> sp (d) y <i>Melipona favosa</i> (e)	24
Figura 7. Espectros de ATR-FTIR, de orden cero para muestras de propóleo.	26
Figure 8. (a) Espectros de ATR-FTIR para muestras de propóleo estudiadas (b) Espectro FTIR-ATR de muestras de propóleo crudo. Región espectral de 3000 a 2800 cm^{-1} (c) Espectro FTIR-ATR de muestras de propóleo crudo. Región espectral de 1800 a 600 cm^{-1}	29
Figure 9 . Espectros de primera (a) y segunda derivada(b).	32
Figura 10. Porcentaje de varianza de los dos primeros componentes y gráficas de PCA de 1800- 600 cm^{-1} de las matrices de orden cero (a), primera derivada (b) y segunda derivada (c) de propóleo 34	
Figura 11. Análisis de PCA de extractos de propóleo	35
Figura 12. Dendrograma de muestras de propóleo.....	36
Figura 13. Extractos etanólicos de muestras de propóleo.....	37
Figura 14. Espectro ATR- FTIR de extractos etanólicoss de propóleo.....	39
Figura 15: Espectro de absorción para los extractos de propóleos.	41
Figura 16 porcentaje de varianza de los dos primeros componentes y Gráficass de PCA de 1800- 600 cm^{-1} de las matrices de orden cero (a), primera derivada (b) y segunda derivada (c) de extractos etanólicoss de propóleo.	43
Figura 17 : Análisis de PCA de extractos de propóleo	44
Figura 18: Dendrograma de extractos etanólicos de propóleo clúster III.....	45
Figura 19: Dendrograma de extractos etanólicos de propóleo	45
Figura 20: Dendrograma de extractos etanólicos de propóleo	45
Figura 21 Matriz de datos.....	54
Figura 22 Datos PCA orden cero, primera derivada y segunda derivada de propóleos crudo.....	55
Figura 23 Datos PCA orden cero, primera derivada y segunda derivada de extractos etanólicos de propóleos.	56

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
PCA	Análisis de componentes principales
FTIR	Espectroscopia por transformada de Fourier
ATR	reflectaría total atenuada
HCA	Análisis jerárquico clúster
UV	Ultravioleta

RESUMEN

El propóleo es producido por las abejas a partir de resinas recolectadas de brotes o exudados de plantas; se emplea para sellar grietas y reducir el riesgo de enfermedades dentro de la colmena. La composición química del propóleo está estrechamente relacionada con la vegetación cercana al sitio de recolección y la especie de abeja que lo produce. En Colombia, la comercialización del propóleo ha quedado relegada a la venta de tinturas en tiendas naturistas, como componente de algunos productos cosméticos y como complemento dietético en la industria alimentaria. Sin embargo, el uso de propóleos en productos sanitarios y alimentarios requiere su estandarización. Si bien algunos estudios preliminares indican que el propóleo colombiano tiene una actividad biológica significativa, la poca información ha restringido su uso, haciendo imperativa su caracterización en Colombia, ya que los estudios sobre su composición química, especialmente el propóleo de abejas sin aguijón y particularmente en Norte de Santander, son limitados. Por lo anterior, en este proyecto se llevó a cabo la caracterización espectroscópica de propóleos de abejas sin aguijón por espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) de las especies: *Scaptotrigona* sp., *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp. y *Melipona favosa*, colectados en localidad de Bochamela - Norte de Santander y se comparó con el producido por abejas con aguijón de las especies *Apis mellifera* (africanizada) y *Apis mellifera carnica* (de Alemania) que son los más conocidos .

Palabras Claves: Propóleos, ATR-FTIR, Quimiometría, Abejas

ABSTRACT

Propolis is produced by bees from resins collected from plant shoots or exudates; It is used to seal cracks and reduce the risk of disease within the hive. The chemical composition of propolis is closely related to the vegetation near the collection place and bee species. In Colombia, the marketing of propolis has been relegated to the sale of tinctures in health food stores, as a component of some cosmetic products and as a dietary supplement in the food industry. However, the use of propolis in health and food products requires its standardization. Although some preliminary studies indicate that Colombian propolis has significant biological activity, little information has restricted its use, making its characterization imperative in Colombia, since studies on its chemical composition, especially propolis from stingless bees and particularly in Norte de Santander, are limited. Therefore, the main purpose of this project was to carry out the spectroscopic characterization of propolis from stingless bees by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) of the species: *Scaptotrigona* sp., *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp. and *Melipona favosa*, collected in the town of Bochamela - Norte de Santander and compared with that produced by bees with stingers of the species *Apis mellifera* (Africanized) and *Apis mellifera carnica* (from Germany), which are the best known.

Keywords: Propolis, ATR-FTIR, Chemometrics, Bees.

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad en los ecosistemas depende directamente de la polinización de las abejas, es decir, un factor crucial, la producción mundial de la agricultura es mantenida principalmente por estos insectos, ya que actúan como "proveedores de servicios"(Herrera-López et al., 2019). Las abejas proporcionan variedad de productos a los humanos, Uno de los productos apícolas de uso más extendido es la miel, sin embargo, existen otros productos de las abejas por los que la humanidad ha mostrado gran interés, entre ellos se pueden mencionar la cera, el polen, la jalea real y el propóleo. Siendo este último el más aprovechado desde hace menos de tres mil años por los sacerdotes del antiguo Egipto los cuales lo empleaban como medicina y como un ungüento (Kuropatnicki et al., 2013).

El propóleo es un material producido por las abejas a partir de sus secreciones salivales, cera y sustancias resinosas que recogen de diferentes soportes vegetales como cogollos, ramas jóvenes, o heridas de ciertos árboles (álamos, abedules, sauces, hayas, etc.) y arbustos. En la colmena, el propóleo tiene múltiples usos: es un mortero que sirve para rellenar grietas o huecos, para sellar contra la humedad y el desarrollo de moho y para proteger la colonia estrechando la entrada de la colmena (Monteil et al., 2022).

La composición del propóleo es variada por su origen botánico y geográfico. Básicamente, el propóleo crudo se compone principalmente de resinas vegetales (50-70%), aceite y ceras (30-50%), 10% de polen esencial (5%-10%) y otros compuestos químicos que incluyen aminoácidos, minerales, azúcares, vitamina B, C y E, flavonoides, fenol y compuesto aromáticos. Los flavonoides, fenoles, diterpenos y compuestos alifáticos son los principales compuestos químicos que caracterizan los diferentes tipos de propóleos (álamo, brasileño y mediterráneo), y son responsables de su actividad antimicrobiana (Bouchelaghem , 2022).

Actualmente en Colombia, la meliponicultura es una actividad agrícola que está iniciando, pero cada vez toma más fuerza. Sin embargo, pocos saben de las abejas nativas, y mucho menos del potencial de mercadeo de sus productos. Por lo tanto, el objetivo principal de este proyecto fue llevar cabo la caracterización y discriminación de propóleos de abejas sin aguijón por espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) de las especies: *Scaptotrigona* sp., *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, colectados en localidad de Bochalema - Norte de Santander y compararlo con el producido por abejas con aguijón de las especies *Apis mellifera* (africanizada) y *Apis mellifera carnica* (de Alemania) que son los más estudiados conocidos.

1. MARCO REFERENCIAL

Las abejas son los insectos más antiguos, habitan nuestro planeta desde hace más de 30 millones de años, habitan en todos los continentes de la Tierra excepto en la Antártida. Estos insectos son extremadamente sociables, ya que viven en colonias que se establecen en forma de enjambres y en los que se organizan en una estricta jerarquía de tres rangos sociales: la abeja reina, los zánganos y las abejas obreras. Se conocen más de 20.000 subespecies distintas de abeja divididas en 7 familias reconocidas (Hixon et al., 2010).

Dentro de las siete familias de las abejas encontramos la Apidae en la cual se encuentra la subfamilia Apinae, que se divide en 4 tribus: Apini (abejas de la miel), Euglossini (abejas de las orquídeas), Bombini (abejorros) y Meliponini (abejas sin aguijón) (fig.1).

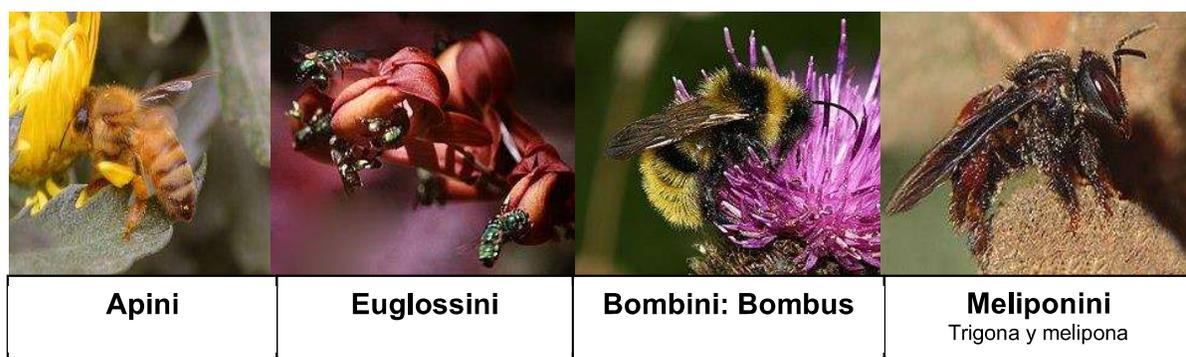


Figura 1 Subfamilia Apinae: Apini, Euglossini, Bombini y Meliponini

Fuente: <https://www.ispotnature.org/communities/uk-and-ireland/species-dictionary/NBNSYS0100001342/animalia>

1.1 Abejas sin aguijón

Las abejas sin aguijón pertenecen a la tribu Meliponini, en la familia Apidae y están estrechamente relacionadas con las abejas melíferas comunes, *Apis mellifera*. Se les llama “sin aguijón” porque tienen un aguijón reducido y no lo usan para la defensa; en cambio, defienden su nido mordiendo (Nates, 2001). La tribu Meliponini consta de más de 600 especies (61 géneros) que se encuentran en regiones tropicales de todo el mundo, con su mayor abundancia y diversidad en el Neotrópico (América del Sur y Central), y también en África tropical, el sudeste asiático y Australia (Hrncir et al., 2016). Son eusociales y viven en colonias con una reina, con entre unas pocas docenas y varios miles de obreras (Roubik et al., 1986).

Las abejas sin aguijón son únicas, pueden defenderse a pesar de no poder picar, al producir una sustancia pegajosa, conocida como propóleo, que ayuda a proteger sus colmenas y a sí mismas de intrusos externos y al nido de cambios bruscos en su temperatura (Ibrahim et al., 2016). El propóleo

es un material resinoso natural que en algunas especies puede estar mezclado con hojas, cortezas de plantas y capullos de flores recolectados de numerosas fuentes vegetales, también está mezclado con cera y enzimas salivales secretadas por las abejas (Jayanthi & Kothai, 2017).

1.2 Propóleo

La etimología del propóleo proviene del griego, pro significa "delante" y polis significa "ciudad". Por lo tanto, propóleos, una palabra compuesta de las dos etimologías, significa proteger a toda la ciudad desde el frente de la ciudad, y también significa que la ciudad (aldea) es segura y se previenen las enfermedades (Burdock, 1998) Está destinado a proteger la vida de las abejas en la colmena. El propóleo es un producto natural de las colmenas de abejas que tiene una consistencia resinosa y es muy variable en términos de apariencia física y color, dependiendo del origen botánico, geográfico y tiempo de su recolección (Noor El -Deen et al., 2013; Zuhendri, Ravalía, et al., 2021) es empleado por las abejas en la colmena para cubrir paredes, bloquear agujeros, reparar peines y embalsamar a cualquier alienígena que ataque a la colmena, para que no puedan escapar. Además, una de sus funciones principales es reducir el flujo de aire en la célula para retener el calor (Soós et al., 2019).

Las abejas extraen el propóleo de las yemas valiéndose de sus mandíbulas y de su primer par de patas, así como la secreción de sus glándulas mandibulares (ácido 10-hidroxidecenoico) lo cual permite su ablandamiento y trituración para ser transportado a la colmena. Al entrar a la misma, las propolizadoras toman pequeñas cantidades de esa sustancia completando el propolizado (Pedraza, 2012).

1.1.1 Historia del propóleo

El propóleo fue mencionado por primera vez en la antigüedad donde se encontraron representaciones de abejas elaborando propóleos, en jarrones originarios del antiguo Egipto. Los egipcios empleaban esta sustancia para embalsamar cadáveres y aliviar diferentes padecimientos, también asociaban a las abejas con los dioses, lo que se confirma por el hecho de que uno de los títulos de los faraones era "Rey abeja". A su vez, los antiguos griegos agregaron propóleos como ingrediente principal del perfume llamado polyanthus (Martinotti & Ranzato, 2015). Las propiedades medicinales del propóleo probablemente fueron identificadas por médicos, científicos griegos y romanos como Aristóteles, Plinio el Viejo, Galeno, Cornelio Celso y Dioscórides (Anjum et al., 2019). Uno de los primeros médicos que empleo esta sustancia fue Hipócrates (considerado el padre de la medicina moderna) quien lo administró para el tratamiento de úlceras de la piel y seguidamente Aristóteles para el tratamiento de abscesos y heridas. El propóleo también era conocido por los antiguos persas, árabes y judíos. La palabra hebrea para propóleos es "tzori" fue descrita en el Antiguo Testamento como un bálsamo terapéutico y un componente del incienso especial. Árabes y persas usaron propóleos como droga contra varias enfermedades y agente limpiador (Kuropatnicki et al., 2013).

En la edad media se utilizaba en ungüentos como antisépticos, cicatrizantes de heridas y en solución para la desinfección bucal, en Europa Durante los siglos XIV y XVIII los franceses los emplearon en el tratamiento de llagas. En el siglo XVII Stradivari los utilizaba para barnizar sus instrumentos musicales, sugiriendo que las propiedades de los propóleos tienen algo que ver con la prodigiosa sonoridad de sus instrumentos (Padrón, Alexander et al., 2012) . Curiosamente, existía la costumbre de colocar un trozo de propóleo en el ombligo del recién nacido. John Gerard en su libro de hierbas "The History of Plants" (1597) se refirió al uso del propóleo para hacer ungüentos que tenían un efecto beneficioso sobre inflamaciones y moretones (Kuropatnicki et al., 2013) . Durante la guerra anglo-bóer y la Segunda Guerra Mundial, los médicos intentaron usar propóleo para la regeneración de tejidos y la cicatrización de heridas, así como para tratar la tuberculosis, la inflamación pulmonar y la desnutrición (Wali et al., 2017). Desde entonces, el uso del propóleo se ha extendido gradualmente y ahora la lista de sus aplicaciones es casi interminable. Incluye no solo la cicatrización de heridas, sino también el tratamiento del psoriasis, prurito, gingivitis, estomatitis, trastornos reumáticos e incluso esguinces. Además, se encuentra en la composición de cosméticos y suplementos dietéticos (Kharsany et al., 2019).

Aunque el propóleo se hizo muy popular en Europa (principalmente debido a sus propiedades antibacterianas) entre los siglos XVII y XX, la era de la investigación científica intensiva sobre él solo comenzó a finales de los siglos XIX y XX. Resultó que este interesante producto de las abejas tiene un amplio espectro de efectos terapéuticos y contiene más de 300 componentes diferentes (Kuropatnicki et al., 2013).

1.1.2 Composición química del propóleo

La composición de cada propóleo varía dependiendo de la especie y del tipo de resina vegetal disponible y las sustancias que son sintetizadas y secretadas por las abejas (fig.2). Está compuesto principalmente por resinas (50%), cera (30%), aceites esenciales (10%), fenólicos y flavonoides (10%), polen (5%), incluidas vitaminas y minerales (5%) (Özer, 2020). El propóleo es bien conocido por sus antibacterianos, antifúngicos, antitripanosómicos, antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios y antihepatotóxicos actividades. Un estudio realizado en Irán encontró que varios compuestos bioactivos en el propóleo como el 3-metil-2-butenil cafeato y el cafeato de fenil-etilo se pueden usar eficazmente para tratar a pacientes de ortodoncia sin tener los efectos adversos como lesiones, sabor desagradable y reacción alérgica cuando se usa enjuague bucal con clorhexidina (Dehghani et al., 2019). Se cree que los principales compuestos bioactivos en el

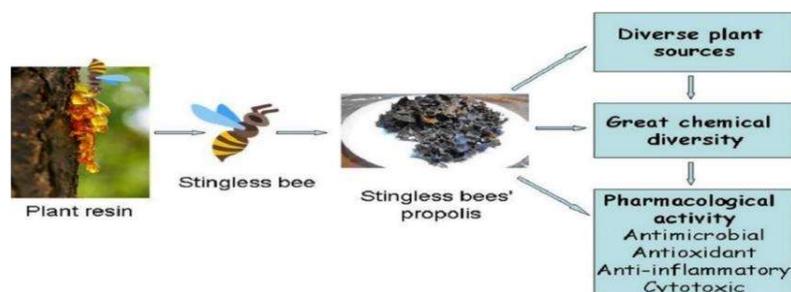


Figura 2 Propóleo

propóleo están relacionados con su contenido de metabolitos secundarios de plantas, como compuestos fenólicos y terpenoides (Zulhendri, Ravalía, et al., 2021).

El propóleo es rico en importantes compuestos bioactivos que determinan sus diversos efectos biológicos. Hay aproximadamente 300 componentes diferentes que se han identificado en el propóleo hasta ahora (Anjum et al., 2019). Hay una cantidad significativa de ácidos carboxílicos (20,4%), terpenoides (15,0%), esteroides (11,5%), hidrocarburos (9,6%), azúcares (6,4%), alcaloides (6,4%), flavonoides (4,3%), fenoles (3,2%), cetonas (2,1%), aminoácidos (2,1%), vitaminas (2,1%) y otros compuestos (15,0%) identificados en propóleos recolectados de 6 regiones indias diferentes (Ramnath et al., 2015). La fracción polar, que incluye ácidos aromáticos, ésteres y flavonoides, se origina en el metabolismo de las abejas o en la contaminación con miel (azúcares). Los componentes no polares del propóleo, principalmente los ácidos grasos y sus ésteres, provienen de la cera de abejas. El propóleo es rico en macro y microelementos como calcio, magnesio, potasio, sodio, hierro, zinc, manganeso, aluminio, bario, estroncio, cromo y cloro (Zulhendri, Chandrasekaran, et al., 2021).

La composición química de los propóleos del continente americano es diversa, debido a la variedad del ecosistema que aportan características muy particulares. Un ejemplo, es el propóleo Canadiense, que contiene compuestos que incluyen ácido benzoico, ácido cinámico, ácido vanilínico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido palmítico, ácido oleico, pinocembrina, pinobanksina, crisina, galangina, isosakuranetina, alpinona, kaempferol, pinostrobinina chalcona y pinocembrina chalcona (Padrón, Alexander et al., 2012). En los propóleos mexicanos se identificaron compuestos como la rutina, la naringenina, la hesperetina, la pinocembrina, el éster fenético del ácido cafeico (CAPE), la crisina, la naringina, el kaempferol, la quercetina, la acetina, la luteolina, la pinostrobinina, la izalpinina, la ramnetina, la galangina, la alpinatina, la dillenina, el ácido cinámico, el ácido cafeico, el ácido ferúlico y el ácido sirigico. En Brasil, se ha descrito la composición de propóleos rojos, verdes y marrones, y se han reportado diferentes compuestos, como ácido cafeico, ácido gálico, ácido transferúlico, ácido p-cumárico, catequina, epicatequina, kaempferol, formononetina, quercetina, hidrato de rutina, luteolina, artemillina C y CAPE (dos Santos Moita et al., 2022). Como se mencionó anteriormente, la ubicación geográfica determina directamente la composición química del propóleo; por lo tanto, en un estudio realizado con diferentes muestras de propóleos del sur de Brasil, se identificaron tres ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido cafeico y ácido cumárico), un derivado prenilado del ácido cinámico (artemillina C) y un flavonoide (pinocembrina) (Wali et al., 2017).

1.3 Técnicas analíticas instrumentales

La mayoría de las técnicas instrumentales en una de las tres áreas principales: espectroscopia, electroquímica y cromatografía. Aunque varias técnicas importantes (incluyendo la espectrometría de masas y el análisis térmico) no se ajustan convenientemente a estas clasificaciones, las tres áreas proporcionan la base de un estudio sistemático de la instrumentación química. Los avances en la

química y en la tecnología están haciendo posibles nuevas técnicas y extendiendo el uso de las ya existentes (Engel, 2014).

1.3.1 Espectrofotometría UV- visible

La espectrofotometría UV-Vis se utiliza habitualmente en el análisis químico cuantitativo de soluciones. Este método detecta la transmitancia/reflectancia óptica, es decir, las relaciones de intensidad de la luz transmitida/reflejada de una muestra a la luz monocromática incidente en los rangos visible y adyacente (UV cercano, medio e infrarrojo cercano), es decir, 190–2500 nm (0.5–6.5 eV). Los espectros generalmente se detectan escaneando el monocromador y proporcionan información sobre los estados de excitación electrónica en sólidos / moléculas (Amekura, 2018). La espectrometría UV es un método de aplicación simple y ampliamente difundido que no destruye muestras, se utiliza en apicultura y diversos productos agroalimentarios (Delgado et al., 2014).

1.3.2 Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es un campo que ha experimentado un desarrollo significativo en la última década, prometiendo diagnósticos más fáciles, más rápidos y más objetivos (Fadlelmoula et al., 2022). La espectroscopia FTIR estudia las interacciones entre la materia y la radiación electromagnética que aparecen en forma de espectro. Cada muestra tiene una composición química única, sus modos vibratorios y espectros asociados son únicos, lo que hace que la técnica sea altamente sensible y precisa (Kovács et al., 2021). Estos diferentes modos vibratorios están representados por numerosas bandas, que expresan una "huella digital" única para un sistema complejo de diferentes muestras. FT-IR se puede utilizar en análisis cualitativos y cuantitativos de materiales orgánicos e inorgánicos (Avci, 2018). El análisis espectral FTIR ha permitido la caracterización de enfermedades de varios órganos, así como la cuantificación de diferentes biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos y lípidos (Fadlelmoula et al., 2022).

Cuando FT-IR está equipado con un dispositivo de reflectancia total atenuada (ATR), se puede analizar una pequeña cantidad de muestras en poco tiempo sin preparación de la muestra (Ibrahim et al., 2018). La espectroscopia ATR-FTIR mide la absorción de luz infrarroja por una muestra a números de onda cuantificables específicos. La energía de la luz absorbida ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) números de onda o longitudes de onda de 2,5 a 25 μm , se transforma en energía vibratoria a través de la inducción del desplazamiento atómico y los cambios en el momento dipolar (Holden et al., 2022). Esta técnica espectroscópica presenta algunas ventajas, como versatilidad, bajo costo, eficiencia y velocidad, con una preparación mínima o nula de la muestra y sin el uso de reactivos costosos, lo que la convierte en una alternativa atractiva para los métodos analíticos tradicionales (Kovács et al., 2021). Los patrones de absorción que la espectroscopia ATR-FTIR proporciona se adquieren como espectros que comprenden datos multivariados complejos que requieren Quimiometría para derivar diferencias sutiles en la composición de la muestra (Holden et al., 2022).

1.4 Quimiometría

La quimiometría es la herramienta para extraer información de datos multivariados utilizando herramientas de estadística y matemáticas. Esta herramienta tiene la capacidad de analizar y modelar una amplia variedad de tipos de datos para un conjunto aún más diverso de aplicaciones. La quimiometría se clasifica básicamente en dos categorías principales: Métodos de reconocimiento de patrones (no supervisados y supervisados) cuando se considera una evaluación cualitativa y calibración multivalente con fines cuantitativos (Nahar et al., 2020).

Los métodos quimiométricos son capaces de comprimir información compleja en unas pocas variables, lo que facilita la comprensión de los fenómenos observados. El análisis de componentes principales (PCA) y el Análisis jerárquico de conglomerados son probablemente los métodos quimiométricos / bioinformáticas más utilizadas en la actualidad (Shin et al., 2020; Tsuchida et al., 2022).

1.4.1 Análisis de Componentes principales (PCA)

El análisis de componentes principales (PCA) es una técnica estadística multivariable que resume la información transmitida por un gran número de variables correlacionadas utilizando un número menor de variables no correlacionadas (Tsuchida et al., 2022). El análisis de componentes principales genera vectores de componentes principales y un conjunto de puntuaciones de componentes principales para cada vector de componentes principales. Cada vector de componente principal corresponde a un eje de varianza, y una puntuación de componente principal es una proyección de los datos de entrada en cada vector de componente principal. Las longitudes onda relacionadas con cada vector de componente principal se pueden reconstruir sumando y restando las puntuaciones de los componentes principales (Shin et al., 2020).

1.4.2 Análisis jerárquico de conglomerados (HCA)

El análisis de clústeres es una técnica de aprendizaje automático no supervisada utilizada para clasificar objetos en grupos discretos, que tienen una alta similitud dentro del grupo de pertenencia y una baja similitud con otros grupos (Shin et al., 2020). Esta técnica no se basa en ninguna clasificación previa basada, por ejemplo, en umbrales de corte. La (des)similitud de diferentes objetos se evalúa utilizando el concepto de mediciones de distancia entre objetos, donde se han propuesto múltiples medidas dependiendo de la naturaleza del problema analizado. El análisis de conglomerados se ha aplicado cada vez más en la investigación en ciencias de la salud en los últimos años para investigar los riesgos de exposición, el diagnóstico y el tratamiento (Sangkaew et al., 2020)

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar el potencial de la espectroscopia infrarroja para la discriminación y caracterización espectroscópica de propóleos de diferentes géneros de abejas.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar el perfil espectroscópico por ATR - FTIR de muestras de propóleos de diferentes especies de abejas (*Scaptotrigona* sp., *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp., *Melipona favosa*, *Apis mellifera* (africanizada) y *Apis melífera cárnica* (Alemania).
- Establecer diferencias y/o similitudes entre los diferentes propóleos mediante PCA.

3. METODOLOGÍA

3.1 Muestreo

Se tomaron las muestras de propóleo de 5 especies de abejas sin aguijón: *Scaptotrigona* sp., *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp. y *Melipona favosa*. Localizadas en la vereda Zarcuta, Bochalema (latitud: 7,58, longitud: -72,64, altitud: 1027 msnm véase imagen 3). Las muestras de la especie *Apis mellifera* (africanizada) se recolectó en la misma zona. Adicionalmente, se utilizó una muestra de propóleo de *Apis mellifera cárnica* (Berlín, Alemania), estas muestras fueron recolectadas en el mes de marzo del año 2022.

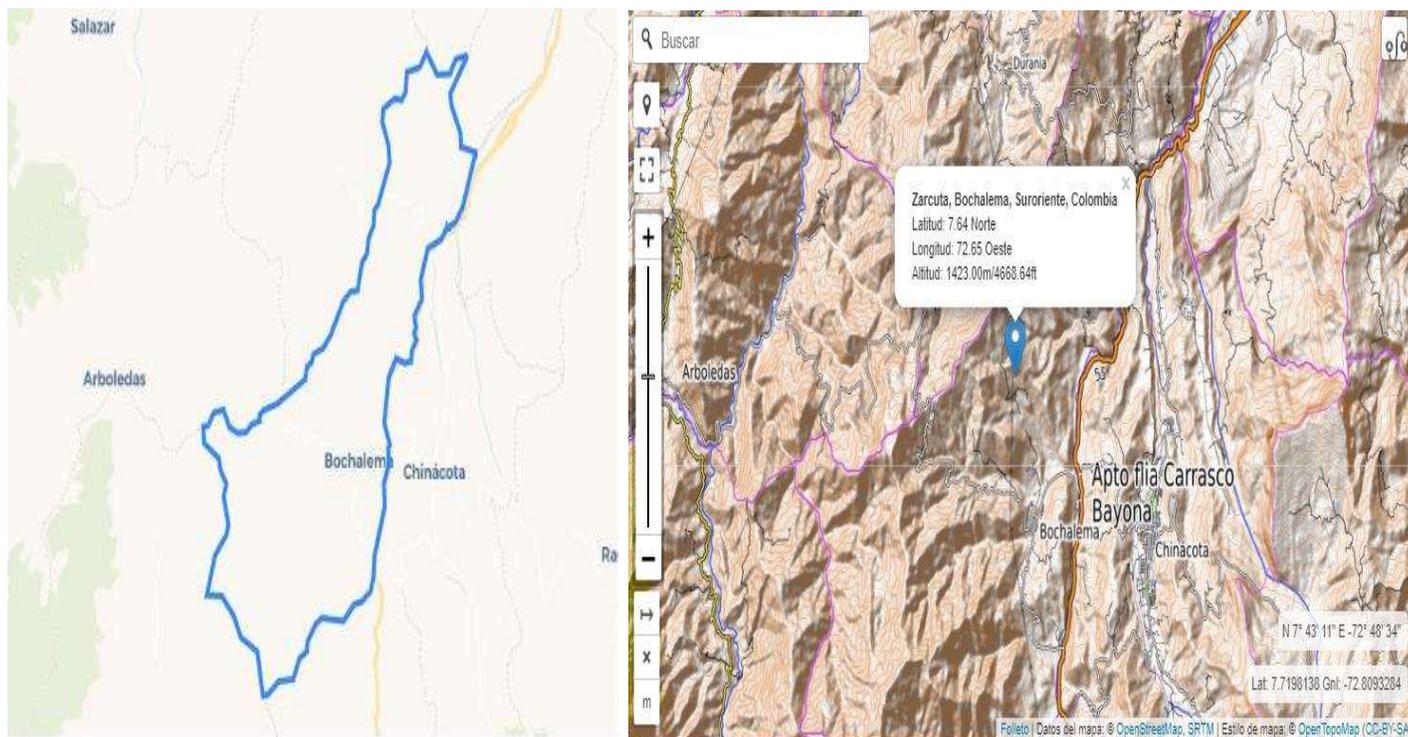


Figura 3. Zona de Muestreo

Fuente: Zarcuta, Bochalema, Suroriente, Colombia en el mapa de elevación. Mapa topográfico de Zarcuta, Bochalema, Suroriente, Colombia. (elevationmap.net)

3.2 Reactivos

Etanol (ETOH) 96% marca Merck y agua destilada.

3.3 Equipos, instrumentos y métodos

Para observar las características físicas del propóleo se empleó un estereoscopio de marca ZEZZ Stemi DV4. En la extracción de la muestra se empleó una centrifuga de marca Hettich universal 320R, Alemania, una incubadora de marca memmer SE 200 sterilisator, para las mediciones espectroscopia ATR-FTIR se realizaron en un espectrofotómetro FTIR marca SHIMADZU modelo IR Prestige-21, provisto de un detector DLATGS (Deuterated L- Alanine Doped Triglycene Sulphate) y equipado con un accesorio ATR modelo MIRacle, marca Pike Technologies, con cristal de diamante. Para el análisis de espectros de UV se empleó equipo de espectrofotometría UV-Visible marca Shimadzu modelo UV-2401 PC con software UV probe 2.1.

3.4 Preparación de la muestra en crudo

El propóleo colectado de las colmenas s se almacenó en bolsas Ziploc (fig. 4), se rotuló y se congeló a -18°C hasta su análisis, antes de ser congelados se observaron sus características físicas en un estereoscopio (marca ZEZZ Stemi DV4) después de congelado se tomaron dos partes diferentes de cada muestra y se procedió a macerar cada una de ellas(fig.4). Seguidamente se tomaron espectros por triplicado De cada parte de las muestras de propóleo en crudo obteniendo seis espectros por cada muestra ((6) *Scaptotrigona* sp., (6) *Trigona angustula*, (6) *Frieseomelitta paupera*, (6) *Apis mellifera* (africanizada) y (6) *Apis mellifera carnica* de Alemania) en un espectrofotómetro FTIR marca SHIMADZU modelo IR Prestige-21, provisto de un detector DLATGS (Deuterated L- Alanine Doped Triglycene Sulphate) y equipado con un accesorio ATR modelo MIRacle, marca Pike Technologies, con cristal de diamante, 48 scan, resolución de 4 cm^{-1} en el rango de $4.000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ utilizando el software del equipo, IR Solution 2002.



Figura 4. Muestras de propóleo en crudo (a) y muestra de propóleo macerada (b).

Fuente: Autor

3.5 Preparación de los extractos

Para la realización de los extractos Se pesaron $\approx 0,25$ g del propóleo ya triturado (fig. 5) y se extrajeron tres veces con etanol al 96 % (5 mL), se mantuvieron durante dos semanas a temperatura ambiente y con ausencia de la luz con el fin de evitar alteraciones en los metabolitos secundarios, se procedió a obtener principios activos en la disolución, mediante agitaciones manuales diarias durante un minuto de los extractos de propóleo crudo con etanol (Bisar et.,2016). Pasadas las dos semanas las disoluciones se llevaron a centrifugar las muestras de extractos a 1000 rpm durante 20 min utilizando una centrífuga (Hettich universal 320R, Alemania). Seguidamente se adicionaron las muestras en vasos de precipitado y los sobrenadantes se le adiciono 10 ml de etanol (96%) para lavarla, seguidamente se llevaron a la centrifugaba a 2000 rpm durante 20 min, después de lavado el sobrante se combinó con la muestra, por último, se filtraron con papel filtro para separar las ceras precipitadas (fig. 5) y se obtuvieron los extractos etanólicos de los propóleos estudiados.

Una vez obtenidos los extractos, se procedió a la liofilización de estos. Se colocaron las muestras de los extractos estudiados en frascos de recolección que posteriormente se llevaron a la incubadora (memmer SE 200 sterilisator) hasta que se eliminó el disolvente.



Figura 5. Muestras pesadas de propóleo crudo (a) y muestras de extractos de propóleo filtradas.

Fuente: Autor

3.6 Análisis de extracto de propóleo (ATR-FTIR)

Las mediciones por espectroscopia ATR-FTIR se realizaron en un espectrofotómetro FTIR marca SHIMADZU modelo IR Prestige-21, provisto de un detector DLATGS (Deuterated L- Alanine Doped Triglycene Sulphate) y equipado con un accesorio ATR modelo MIRacle, marca Pike Technologies, con cristal de diamante. Se calibro el equipo empleando poliestireno como estándar de calibración. Los espectros se obtuvieron en la región del infrarrojo medio, con un barrido de 4000 cm^{-1} hasta 600 cm^{-1} , a una resolución de 4 cm^{-1} y 48 scans. Cada muestra se analizó por triplicado de manera independiente. La adquisición de los datos se realizó utilizando el software del equipo, IR Solution 2002.

3.7 Tratamiento espectral

Una vez adquiridos los espectros, se les aplicó tratamiento de suavizado, corrección de línea base y normalizado utilizando el programa Origin pro 2018; posteriormente, se realizó el cálculo de primera y segunda derivada de cada espectro empleando el mismo programa. Después de que los espectros fueron tratados y se calculó segunda y primera derivada, se utilizaron como datos de entrada para la aplicación del método multivariado PCA.

3.8 Análisis de extracto de propóleo UV- visible

Para el análisis de los extractos etanólicos de propóleos por UV-visible, se diluyeron una gota de extracto etanólico con 20 mL de agua destilada (1:20) esta dilución fue necesaria para obtener espectros de absorción de buena intensidad sin distorsiones de banda , para la obtención de los espectros de UV-visible utilizó un espectrofotómetro UV-VIS, marca Shimadzu modelo UV-2401 PC con software UV probe 2.1, el barrido fue programado en un rango de longitud de onda de 200 nm a 800 nm, se emplearon celdas de cuarzo de un centímetro de paso óptico. Cada muestra se analizó por triplicado de manera independiente. La adquisición de los datos se realizó utilizando el software del equipo.

3.9 Análisis quimiométrico

3.9.1 Análisis de componentes principales PCA

El método de análisis de componentes principales PCA tuvo como objetivo identificar muestras atípicas, discriminar los siete crudos y extractos de propóleos e identificar las variables (números de onda) responsables de esta discriminación. Para el análisis de componentes principales se realizó

una matriz de datos con los espectros obtenidos empleando la región de huella dactilar (1800 cm^{-1} - 600 cm^{-1}) utilizando el software BioVinci con un nivel de significancia de 0,05 y seguidamente se identificaron las bandas obtenidas, donde se muestran las regiones espectrales en las cuales aparecen las bandas asociadas a proteínas, carbohidratos y lípidos. Posteriormente, se realizó el análisis de componentes principales, para las matrices de datos de orden cero, primera y segunda derivada y se definió cual tratamiento discriminó mejor las muestras.

3.9.2 Análisis jerárquico de conglomerados (HCA)

El método de análisis de conglomerados (HCA) se empleó para identificar y discriminar las muestras de crudos y extractos de propóleo. Para el análisis de conglomerados se realizó una matriz de datos con los espectros obtenidos empleando la región de huella dactilar (1800 cm^{-1} - 600 cm^{-1}) utilizando el software MiniTab 19 con un nivel de significancia de 0,05. Posteriormente, se realizó el análisis jerárquico de conglomerados, para las matrices de datos de orden cero, primera y segunda derivada y se definió cual tratamiento discriminó mejor las muestras.

4 RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 MUESTRAS DE PROPÓLEO CRUDO

4.1.1 Caracterización de los propóleos crudos

La muestra de propóleo de abejas sin aguijón (*Scaptotrigona* sp, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp y *Melipona favosa*) recolectadas en el municipio de Bochalema fueron observadas por medio de un estereoscopio, donde se evidencia las diferencias físicas de acuerdo con color, textura y brillo. En la figura 6 y tabla 1. se muestran las tonalidades de las muestras las cuales varía de marrón oscuro a marrón claro con tintes amarillos.

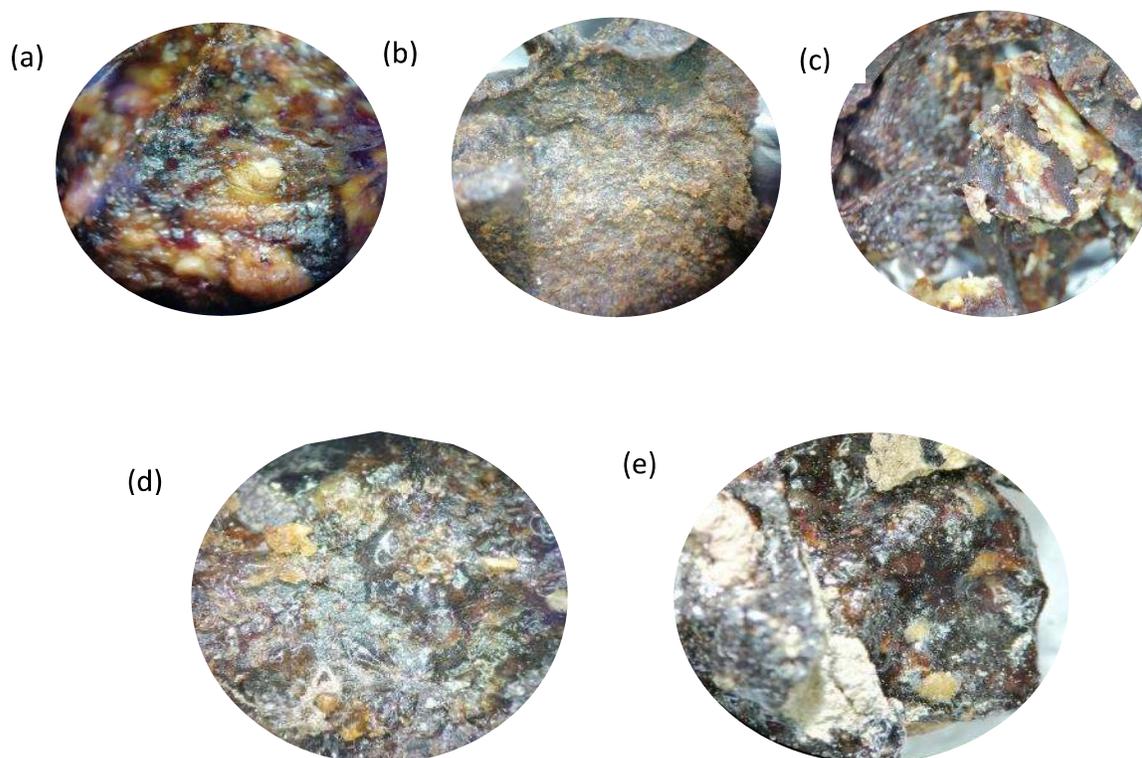


Figura 6. Muestras observadas en el estereoscopio de propóleo, *Frieseomelitta paupera* (a), *Nanotrigona* sp(b), *Trigona angustula* (c), *Scaptotrigona* sp (d) y *Melipona favosa* (e)

Fuente: Autor

Las muestras de propóleo de las especies *Scaptotrigona* sp. (fig. 6d), *Trigona angustula* (fig. 6c), *Frieseomelitta paupera* (fig. 6a) y *Melipona favosa* (fig. 6e) presentan un color marrón oscuro con tintes amarillos, los tintes amarillos se presentan debido a la mayor presencia de ceras en el propóleo (Sosa et al., 2017). *Nanotrigona* sp. (fig. 6b) presenta un color marrón claro, la diferencia de color en las muestras depende de las resinas recolectadas, cuyos orígenes son las exudaciones de plantas con consistencia sólida o semisólida (resinas, oleorresinas, bálsamos y gomas), cuya composición cambia con el clima y fuente botánica (Salamanca, 2017).

Los propóleos presentaron aspectos irregulares siendo *Nanotrigona* sp opaco, *Scaptotrigona* sp, *Melipona favosa*, *Frieseomelitta paupera* brillantes y *Trigona angustula* ligeramente brillante. La ausencia de brillo (opacidad) presentada por las muestras de propóleo de *Nanotrigona* sp estaría relacionado con la fitogeografía y la oxidación externa que sufre la resina (Lozina et al., 2010). Cada muestra de propóleo tenía una textura característica, *Scaptotrigona* sp, *Frieseomelitta paupera* y *Melipona favosa* presentaron una textura rígida cristalina, *Nanotrigona* sp. una textura maleable, mientras que *Trigona angustula* presenta una textura rígida granulada. Su textura se debe a la agregación de suelos y restos de plantas, pues a altas temperaturas de las regiones, ablandaría los propóleos y por lo tanto éste ya no cumpliría la función de hermetizar la colmena (Sosa López et al., 2003).

Propóleos crudos de *Trigona angustula* recogidos en diferentes zonas de Indonesia presentaron diferencias en sus aspectos físicos. Propóleos Argentinos reportados por Lozina et al., 2010 presentaron colores marrón oscuro con tintes rojizos, verdes y amarillos con distintos grados de brillo. En Boyacá las muestras de propóleo presentaron variación en su textura entre maleable a rígida (Puerto, 2018). Las variabilidades en las características físicas de acuerdo al color, brillo y textura reportadas por otros autores también pudieron ser evidenciadas durante la presente investigación en la cual cada muestra de propóleos presentó características físicas diferentes entre sí según la zona de recolección y, por consiguiente, variación respecto a muestras de otros países.

Tabla 1. Características de muestras crudas de Bochalema

Especies de abejas sin agujón	Características físicas		
	Color	Aspecto	Textura
<i>Scaptotrigona</i> sp	marrón oscuro con tintes amarillos	Trozos irregulares con brillo	Rígida cristalina
<i>Trigona angustula</i>	marrón oscuro con tintes amarillos	Trozos irregulares ligeramente brillante	Rígida granulada
<i>Frieseomelitta</i>	marrón oscuro con tintes amarillos	Trozos irregulares con brillo	Rígida cristalina
<i>Nanotrigona</i> sp	marrón oscuro con tintes amarillos	Trozos irregulares opacos	maleable
<i>Melipona favosa</i>	marrón claro	Trozos irregulares con brillo	Rígida cristalina

4.1.2 Análisis de las muestras de propóleo mediante ATR-FTIR

Los espectros típicos de ATR- FTIR Para las muestras de propóleo de *Scaptotrigona sp*, *Trigona angustula*, *Friseomelitta paupera*, *Nanotrigona sp*, *Melipona Favosa*, *Apis mellifera* (Bochalema) y *Apis mellifera carnica* (de Alemania) como se observa en la Fig. 7. El cambio en los espectros ATR-FTIR de las muestras de propóleos crudos está directamente ligado a una modificación en su composición química la cual varía significativamente dependiendo de la fuente vegetal disponible que tienen las abejas para la recolección de las resinas, cada región produce mezclas complejas de compuestos que a su vez producen espectros únicos.

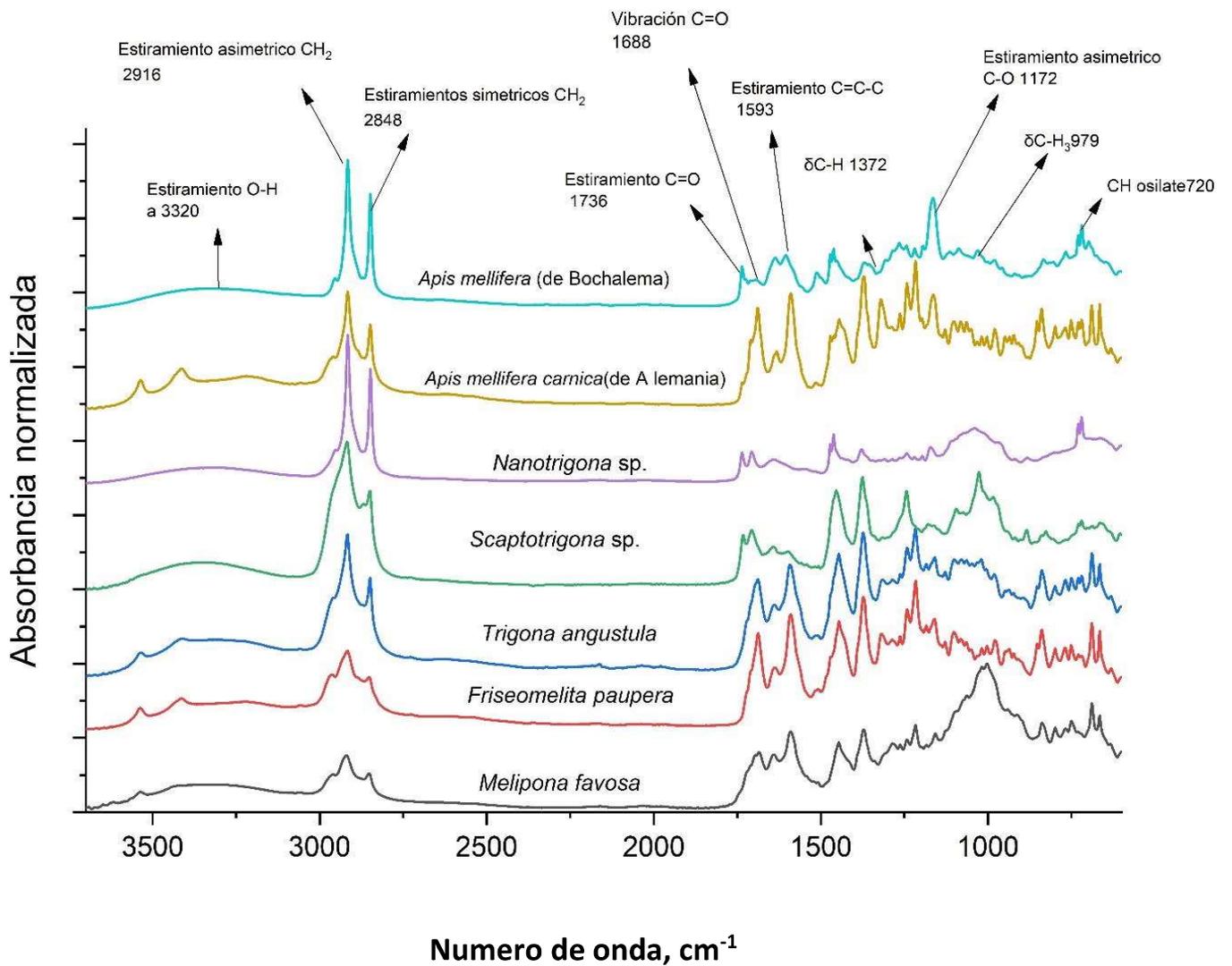


Figura 7. Espectros de ATR-FTIR, de orden cero para muestras de propóleo.

Fuente: Autor

En la región a 3500 a 3200 cm^{-1} una banda ancha que de acuerdo con la literatura correspondientes a los grupos hidroxilo (O-H), se atribuyó a la presencia de compuestos flavonoides y fenólicos (Oliveira et al., 2016). Las características espectrales relacionadas con los fenoles también se caracterizan por la interacción de la deformación O-H y las vibraciones de estiramiento C-O que se pueden observar en la banda obtenida a 1218 cm^{-1} con absorbancia máxima a 1375 cm^{-1} .

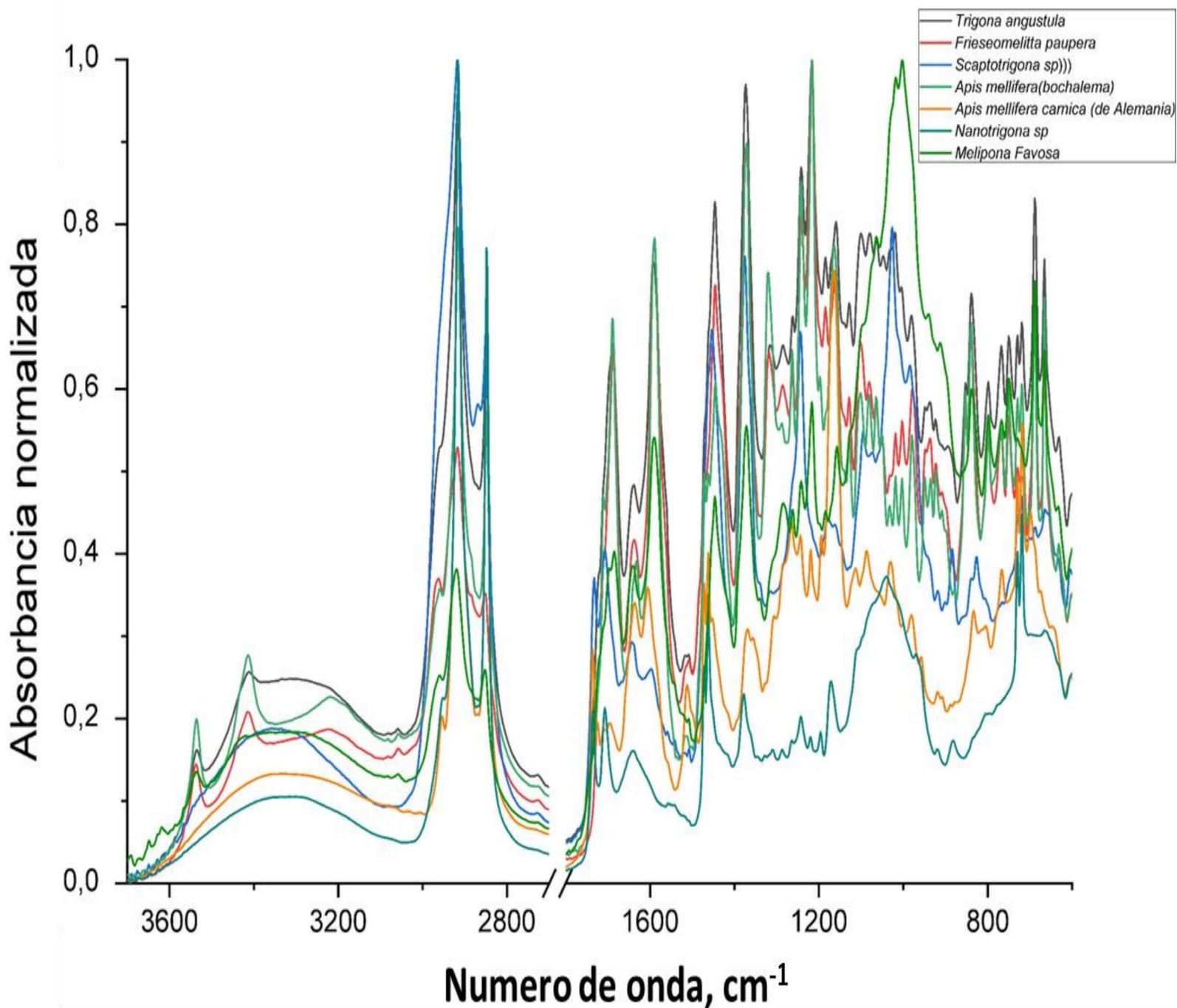
Las dos bandas a 2927 y 2854 cm^{-1} se les asignó la vibración simétricas C-H y asimétricas de CH de los hidrocarburos, respectivamente (Zhang et al., 2018). Se complementaron con la señal en 1447 cm^{-1} de vibraciones de deformación CH (Surek et al., 2022). Por otro lado, una banda a 1640 cm^{-1} asignado al estiramiento del anillo aromático. La banda a 1593 cm^{-1} es atribuida a estiramientos C=C asociada a anillos aromáticos. Por otro lado, se evidencian una banda en 1372 cm^{-1} la cual se atribuyó a vibración de flexión asimétrica ($\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$) y flexión simétrica vibración ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_3$) asociadas con hidrocarburos y flavonoides. (Odalanowska et al., 2021)

Las bandas entre 1688 cm^{-1} se evidencian en propóleos de Malasia, atribuyéndose a vibración de estiramiento grupo C=O presentes en aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres. (Ramli et al., 2021). La vibración de estiramiento C-O ocurrieron en el rango 1243-1234 cm^{-1} (Azemin et al., 2018). Así mismo se observó una banda entre 1172- 1162 cm^{-1} que corresponden a vibraciones de estiramiento asimétrico C-O de ésteres relacionados con ácidos alifáticos de cadena larga, a la vibración de la deformación aromática C-H estas bandas también se evidencia en propóleos del Sahara (Ahmed et al., 2020). Además, según Treatment et al., 2022, bandas presentes de 879 cm^{-1} , 749 cm^{-1} , y 669 cm^{-1} se atribuyen a la absorción medias correspondientes a la vibración de deformación fuera del plano del fenol CH y CH_2 balanceo de hidrocarburos. Una absorción media a 720 cm^{-1} está alcanzando su punto máximo debido a CH_2 balanceo de hidrocarburos (Mazur et al., 2019).

Las muestras *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* Bochalema presentaron, bandas detectada a 1735 cm^{-1} confirmar la presencia de un enlace éster del grupo carbonilo (C = O). Esta vibración podría estar relacionada con monoésteres de la fracción de cera de abeja presente en el propóleo crudo (A. B. S. de Lima et al., 2022). Se evidencio también una banda atribuida a la vibración de la deformación Aromática C-H a 1110 cm^{-1} (Abdullah et al., 2020). La banda centrada en 1513 cm^{-1} corresponde a tramos de compuestos aromáticos. En la regiones 1688 y 1640 cm^{-1} , las bandas corresponden a tramos de los grupos C=O, C=C y flexiones asimétricas de NH debidas a la presencia de flavonoides y aminoácidos; esta banda también se evidencia en propóleos de Rumania (Moț et al., 2011). Además, 1043, 1088, cm^{-1} las bandas corresponden a las vibraciones de estiramiento del grupo C=C y a la flexión del grupo C-OH y están relacionadas con la presencia de flavonoides y los alcoholes primario, secundario y terciario respectivamente (Chang-Bravo et al., 2014).

Scaptotrigona sp. y *Nanotrigona* sp. evidenciaron una banda similar a 1702 cm^{-1} esta banda se relacionadas con estiramientos C=O atribuidos a flavonoides (Do Nascimento et al., 2022). Las muestras de *Scaptotrigona* sp. y *Apis carnica* alemana mostraron una banda similar a 1018 cm^{-1} *Apis mellifera* Alemana evidencia una banda de 1269 cm^{-1} atribuida a la flexión asimétrica de O-H y C-CO de hidrocarburos (Cardoso et al., 2017). También se observa una banda a 1322 que podría estar relacionada con las vibraciones de reflexión de CH_3 o CH_2 de grupos en ácidos carboxílicos (Seven et al., 2020).

En la Figura 8a. se muestran los patrones espectrales únicos de propóleos de *Bochalema* reflejan diferencias de composición (diferentes posiciones e intensidades de banda) entre las muestras e indican diferencias composicionales significativas. Se asume que los cambios espectrales de un propóleos analizado están directamente ligados a una modificación en su composición química. Debido a la variedad de especies de árboles de las que las abejas recolectan las resinas, cada región



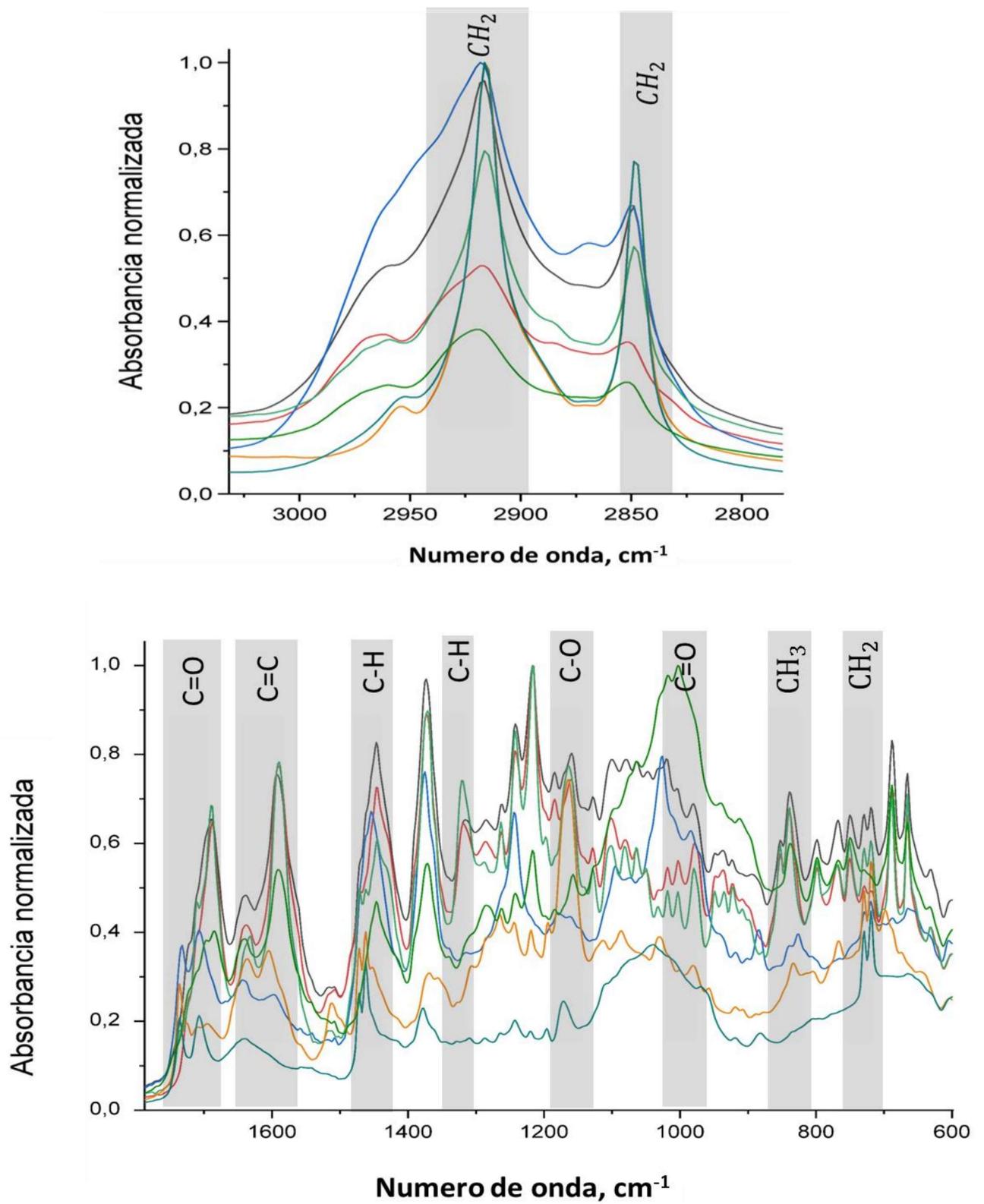


Figure 8. (a) Espectros de ATR-FTIR para muestras de propóleo estudiadas (b) Espectro FTIR-ATR de muestras de propóleo crudo. Región espectral de 3000 a 2800 cm^{-1} (c) Espectro FTIR-ATR de muestras de propóleo crudo. Región espectral de 1800 a 600 cm^{-1}

Fuente: Autor

En la figura 8b se evidencia la variación detectada entre 2916 y 2848 cm^{-1} está relacionado con la presencia de vibración de estiramiento C-H en los grupos metilo (Mazur et al., 2019) en las muestras estudiadas. Este pico (2916 y 2848 cm^{-1}) se detectó en todas las muestras examinadas, pero con diferentes intensidades; los propóleos de *Scaptotrigona* sp, *Trigona angustula*, *Nanotrigona* sp. y *Apis mellifera carnica* (de Alemania) tienen los picos más intensos, mientras que los propóleos de *Frieseomelitta paupera* y *Melipona favosa* picos menos intensos.

Las diferencias entre los propóleos estudiados se evidenciaron en las bandas obtenidas en la región de 1800–600 cm^{-1} están relacionadas principalmente con el contenido de fenoles, flavonoides, hidrocarburos y ácidos carboxílicos. También estas diferencias se evidencian en la forma e intensidad de algunas señales como las que se presentan alrededor de 1600 cm^{-1} a 1640 cm^{-1} , atribuidas al estiramiento de grupos C=C, debido a deformaciones de anillos aromáticos, debido a flavonoides y aminoácidos. Estas señales fueron más intensas en propóleos *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* Bochalema.

Como se presenta en la figura 8b, la región de huellas dactilares muestra una serie de múltiples bandas de absorción que ocurren debido a los grupos mencionados de compuestos orgánicos. La mayor diferencia entre las muestras se evidencia entre la región de 1200 a 600 cm^{-1} , estas bandas asignada a estiramiento, flexión, estiramiento y vibraciones fuera del plano de O-H, C-H, C=C, C=O, CH₂, CH₃. Se puede observar que el propóleo de *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* Bochalema exhibe un patrón espectral similar en esta región, mientras que el propóleo *Scaptotrigona* sp. y *Nanotrigona* sp, así como *Melipona favosa* y *Apis carnica* alemana refleja características espectrales únicas. Estas características únicas están ligadas directamente a una modificación en su composición química. Debido a la variedad de especies de árboles de las que las abejas recolectan las resinas, cada especie produce mezclas complejas de compuestos que a su vez producen espectros únicos.

Los resultados del análisis espectral revelaron las principales señales características para propóleos de Bochalema que se corresponden entre sí, tan solo con ligeros desplazamiento. Se encontró que tres muestras de propóleos (*Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* Bochalema) eran similares, mientras que el propóleo de *Scaptotrigona* sp. y *Nanotrigona* sp, así como *Melipona favosa* y *Apis carnica* alemana mostraron especificidades debido a las bandas fenólicas y de hidrocarburos características (lo que indica que el propóleo se recolectó de diferentes fuentes de resina). Los propóleos de *Trigona angustula* y *Frieseomelitta paupera* presentaron los picos más intensos asociadas con el contenido de hidrocarburos (a 2916, 2848, 1461, 730 y 720 cm^{-1}) procedentes de la cera de abeja presente en el propóleo.

En la tabla 2. Se observan un resumen de las bandas principales obtenidas de las muestras de propóleo estudiadas. Como se aprecia, la principal señal se corresponde entre sí, tan solo con diferentes desplazamientos, lo cual es probable que se relacionen con la presencia de diferentes tipos de fenoles y flavonoides en los propóleos crudos.

Tabla 2. Bandas características de propóleos *Scaptotrigona* sp., *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp., *Apis mellifera* (africanizada) y *Apis mellifera carnica* (Alemania)

<i>Trigona angustula</i>	<i>Apis carnica</i> Alemana	<i>Apis mellifera</i> Bochalema	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<i>Frieseomelitta paupera</i>	<i>Melipona favosa</i>	<i>Nanotrigona</i> sp.	Modo de vibración de grupo funcional
3348	3306	3252	3216	3224	3304	3314	Enlace de hidrógeno intermolecular (vibraciones de estiramiento O-H).
2915	2909	2915	2920	2914	2922	2920	Estiramiento asimétrico (VasCH ₂) del grupo metileno.
2846	2849	2846	2853	2848	2855	2851	Estiramiento simétrico de (VsCH ₂) del grupo metileno.
1721	-----	1720	1736	-----	-----	1735	C=O vibración de estiramiento de aldehídos alifáticos.
-----	-----	-----	1705	-----	-----	1702	Vibración normal de estiramiento C=O de cetona alifática saturada.
1688	1688	1688	-----	1688	1684	-----	C=O vibración de estiramiento de un ácido carboxílico insaturado y conjugado con arilo.
1642	1639	1642	1645	1643	1642	1641	C=C vibración de estiramiento.
1590	1592	1590	1592	1590	1592	-----	C=C - C estiramiento de anillos aromáticos.
1508	1509	1515	-----	1514	-----	-----	C=C-C vibración aromática de estiramiento.
1448	1444	1448	1446	1448	1446	1460	Vibración de flexión asimétrica C-H CH ₃
1372	1375	1372	1373	1372	1372	1379	C-H vibración de flexión simétrica CH ₃
-----	1322	-----	-----	-----	-----	-----	Estiramiento C-O o vibraciones de flexión de CH ₃ CH ₂
1285	-----	1285	-----	1285	1282	-----	Vibración de reflexión -OH
-----	1261	-----	-----	-----	-----	-----	flexión asimétrica de O-H y C-CO de hidrocarburos
1241	1242	-----	1242	1246	1241	1242	flexión simétrica vibraciones de C-OH, C-C y (=C-O-C
1218	1218	1218	1213	1218	1217	-----	Deformación de O-H y vibraciones de estiramiento C-O
1160	1162	1164	-----	1160	1159	1172	vibración de estiramiento asimétrico C-O de ésteres
1101	1102	1101	-----	1101	-----	-----	Vibración de deformación de aromáticos CH
1077	-----	1077	-----	1077	-----	-----	δ (=C-O-C), ν(C-C), δ(C-OH) flavonoides y grupos alcohólicos secundarios
1046	-----	1046	-----	1046	-----	1047	Alcohol terciario de estiramiento C-O
-----	1018	-----	1025	-----	-----	-----	δ (=C-O-C), ν(C-C), δ(C-OH) flavonoides y grupos alcohólicos primarios
979	978	977	977	977	998	-----	Vibración de CH ₃ de Ester.
940	937	940	-----	940	-----	-----	γ(OH), γ(CH)
872	-----	-----	882	-----	-----	882	1,3- disustitución (meta) de la vibración aromática de flexión fuera de plano C-H
838	841	836	---	839	837	-----	Vibración de flexión aromática C-H fuera del plano
768	770	768	-----	768	747	732	1,2- disustitución (orto) de la vibración aromática de flexión C-H fuera del plano
717	-----	718	-----	720	-----	720	Alcohol, O-H fuera de plano curva de flexión aromática C-H fuera de plano
687	690	687	686	687	686	-----	Alcohol, vibración de flexión fuera del plano O-H
665	664	665	664	665	663	-----	Vibración de aromática C-H fuera de plano

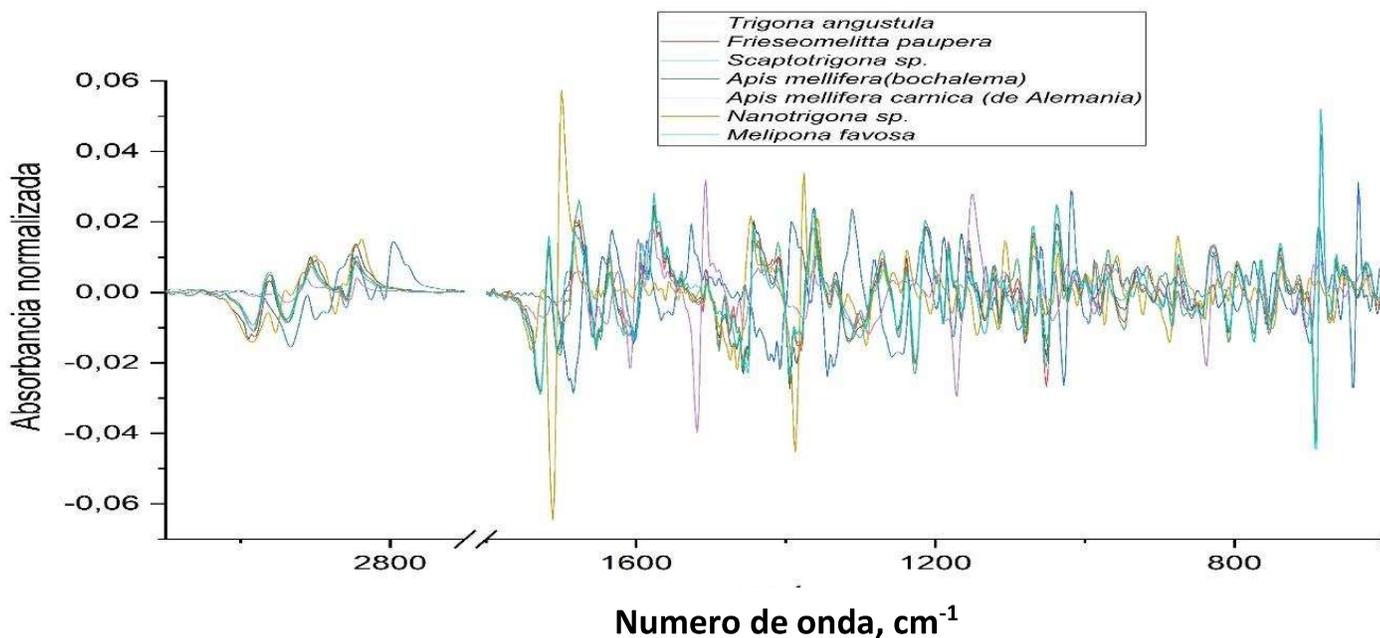
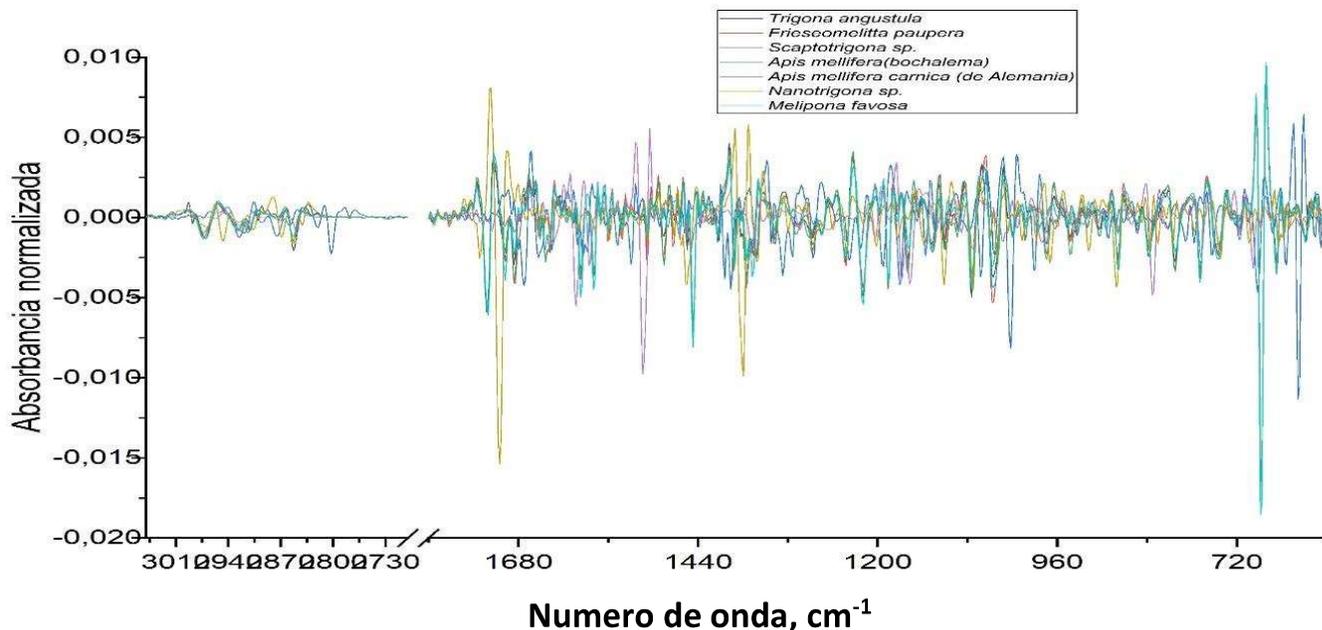


Figure 9 . Espectros de primera (a) y segunda derivada(b).

Fuente: Autor

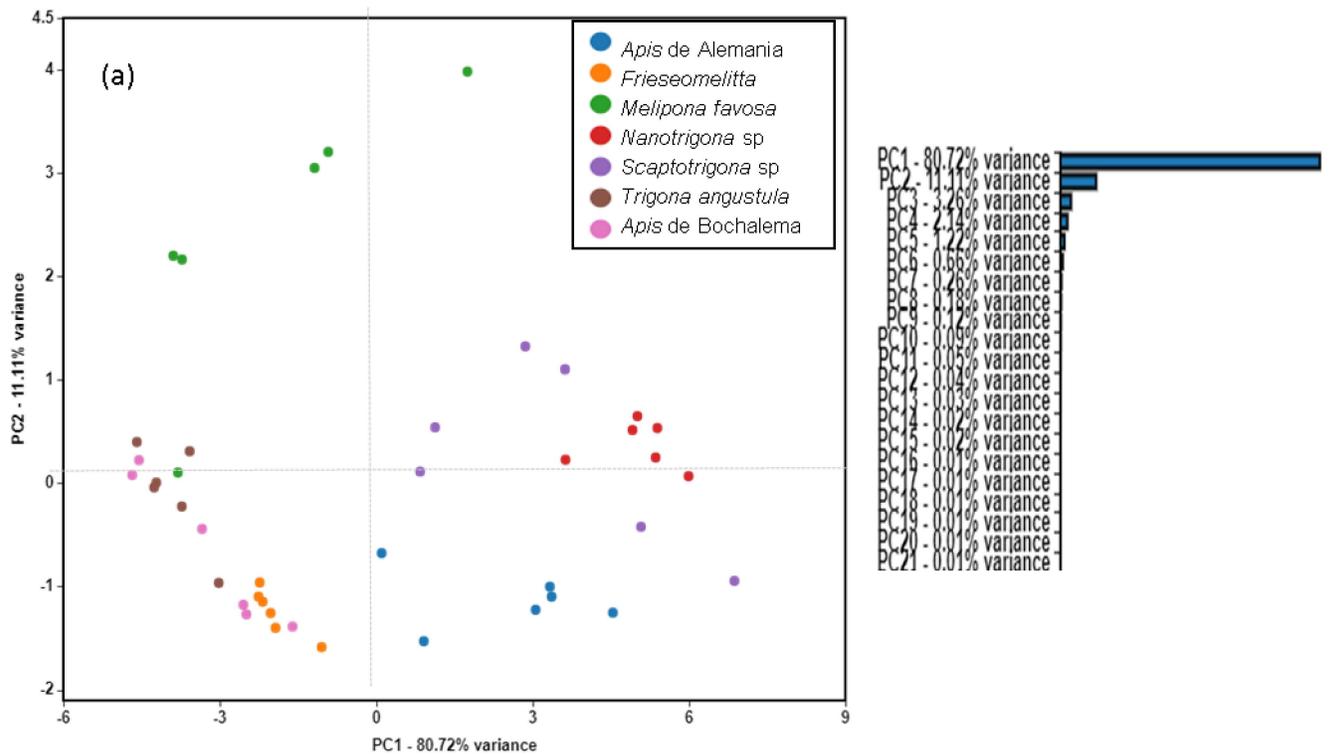
La primera y segunda derivada podrían mejorar la resolución espectral al amplificar las diferencias sutiles en los espectros. En la Figura 9, basado en los resultados, las gráficas derivadas fueron muy similar los espectros de primera y segunda derivada de también muestran bandas de absorción similares. La diferencia de bandas alrededor de 2920 cm^{-1} y 2850 cm^{-1} observada en los espectros FT-IR originales se hizo más evidente en sus correspondientes espectros FT-IR de segunda y primera

derivada. Las diferencias más claras se dieron en la región entre 1100 - 850cm⁻¹ en la primera y segunda Gráficos derivados de la muestra. Esta técnica no es comúnmente utilizada para muestras de propóleos. Sin embargo, el estudio por Wu et al., 2008 utilizó el segundo derivado.

4.1.3 Análisis quimiométrico

4.1.3.1 Análisis de componentes principales PCA de propóleo.

El análisis de componentes principales PCA es una de las técnicas de análisis multivalente más utilizadas, se empleó para transformar los datos espectrales en un nuevo conjunto reducido de variables. El análisis de componentes principales se realizó empleando los datos espectrales de ATR-FTIR de 42 espectros de propóleo para las matrices de datos de orden cero, primera y segunda derivada (fig.10). La mayor parte de la varianza espectral se explicó a través de veintidós primeros componentes principales PC y los dos primeros explicaron la mayor varianza. La gráfica de PCA orden cero (10b) reveló una varianza total de 91,83% donde el componente principal uno contribuyó con el 80,72% de la varianza total y el componente principal dos el 11,11% de la varianza total, pese a esto la agrupación de las muestras no fue evidente. En la gráfica 10a se observa la gráfica de puntuación para la matriz de primera derivada de los dos primeros componentes principales que explican el 65,38% y 13,06% de la varianza total. La gráfica de PCA de la matriz de segunda derivada (fig.10c) explicó el 66,62% para el primer componente principal y el 61,76% de la varianza total para el segundo componente principal. El modelo de PCA de la matriz de datos de primera derivada fue el tratamiento que mejor discriminó.



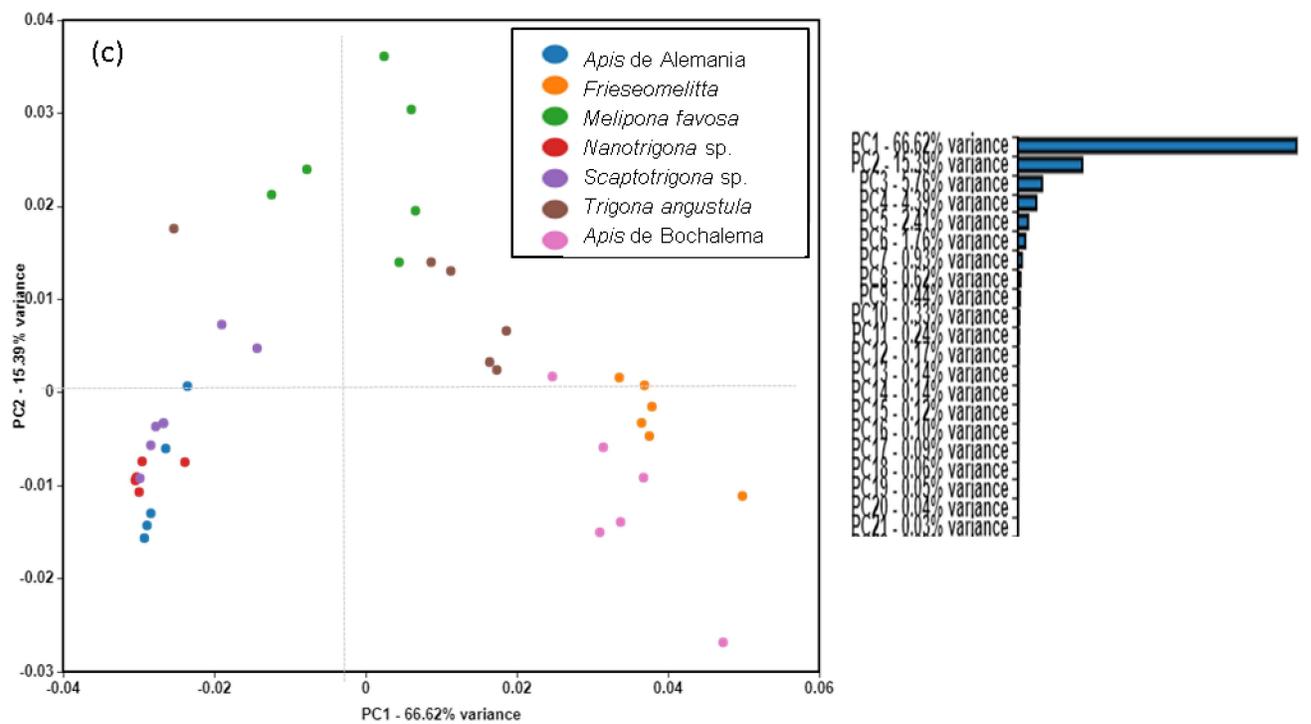
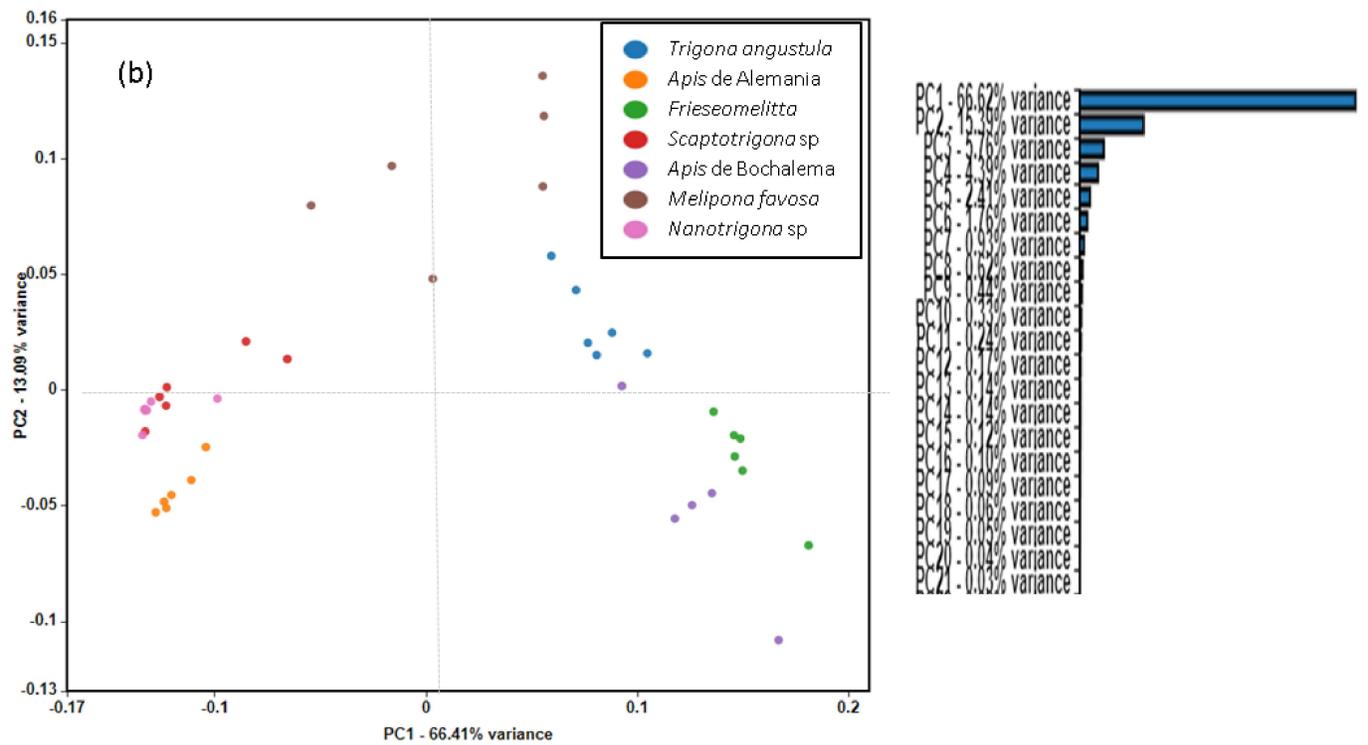


Figura 10. Porcentaje de varianza de los dos primeros componentes y gráficas de PCA de 1800- 600 cm^{-1} de las matrices de orden cero (a), primera derivada (b) y segunda derivada (c) de propóleo

Fuente: Autor.

El PCA se realizó para establecer las similitudes y diferencias entre las muestras de *Scaptotrigona* sp, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona* sp, *Melipona Favosa*, *Apis mellifera* (Bochalema) y *Apis mellifera carnica* (de Alemania) donde las bandas espectrales responsables de la discriminación se evidencian en la región de 1800 a 600 cm^{-1} en la llamada huella dactilar, fueron típicas de presencia de flavonoides, aldehídos alifáticos, anillos aromáticos, ácido carboxílicos, aminoácidos, ésteres e hidrocarburos. La agrupación de las muestras se visualiza en la gráfica de puntuación bidimensional, como se muestra en la figura 11 la variación total para la matriz de datos de primera derivada fue del 79,5%.

las muestras de *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* (Bochalema) se agruparon estrechamente entre ellas y separadas de las otras muestras, las similitudes de estos propóleos se evidencian en las bandas obtenidas en la región 1800-1100 cm^{-1} estas bandas se atribuyen a anillos aromáticos, ésteres, flavonoides, aminoácidos y otros compuestos respectivamente, estas similitudes en estas bandas se pueden atribuir al tipo de resina vegetal disponible. Por otro lado, las muestras *Melipona favosa* de agrupadas en la parte superior de la gráfica parecen ser más diferentes en su composición química, observándose más dispersas a través de los cuadrantes esto debido a la ausencia de bandas en la región de huella dactilar (1800-600 cm^{-1}) esto se puede atribuir a la preferencia de resinas dada por esta especie. Las muestras restantes se agruparon entre *Apis mellifera* alemana, *Nanotrigona* sp y *Scaptotrigona* sp. su similitud se atribuye a una banda observada a 1702 cm^{-1} esta banda se atribuye a presencia de flavonoides para *Nanotrigona* sp y *Scaptotrigona* sp. y las muestras de *Scaptotrigona* sp. y *Apis carnica* alemana mostraron una banda similar a 1018 cm^{-1} . Teniendo en cuenta lo anterior, se infiere que las muestras de propóleo estudiadas reflejan similitudes y diferencias relacionadas con su composición química.

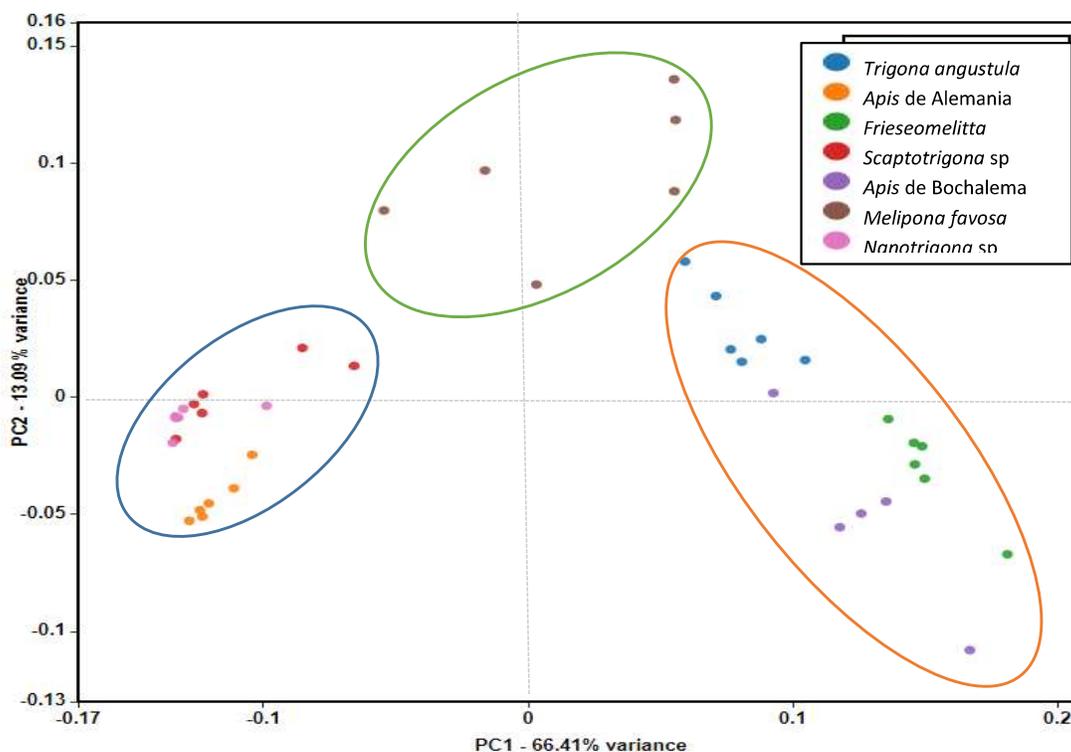


Figura 11. Análisis de PCA de extractos de propóleo

Fuente: Autor.

4.1.3.2 Análisis jerárquico de conglomerados (HCA)

Los datos espectrales también se sometieron a análisis jerárquico de conglomerados (HCA) para la clasificación de muestras de propóleos. En la figura 12 se puede apreciar el dendrograma producto del análisis de conglomerados la información generada a través del análisis de conglomerados (HCA) se relacionó con los datos obtenidos en el análisis de componentes principales (PCA). El dendrograma permitió identificar dos grupos (clúster I y clúster II). El primer grupo (clúster I), lo conformaron la muestra de *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Melipona Favosa* y *Apis mellifera* (Bochalema) este agrupamiento se asocia con las similitudes que tienen estas muestras con respecto a su composición química. El segundo grupo (clúster II) incluyó las muestras de *Scaptotrigona sp*, *Nanotrigona sp* y *Apis mellifera carnica* (de Alemania). A pesar de que la muestra de propóleo de *Apis mellifera carnica* (de Alemania) fue recolectada de otra localidad evidencia similitudes con la muestra de *Scaptotrigona sp* y *Nanotrigona sp* que si fueron recolectadas de la misma zona.

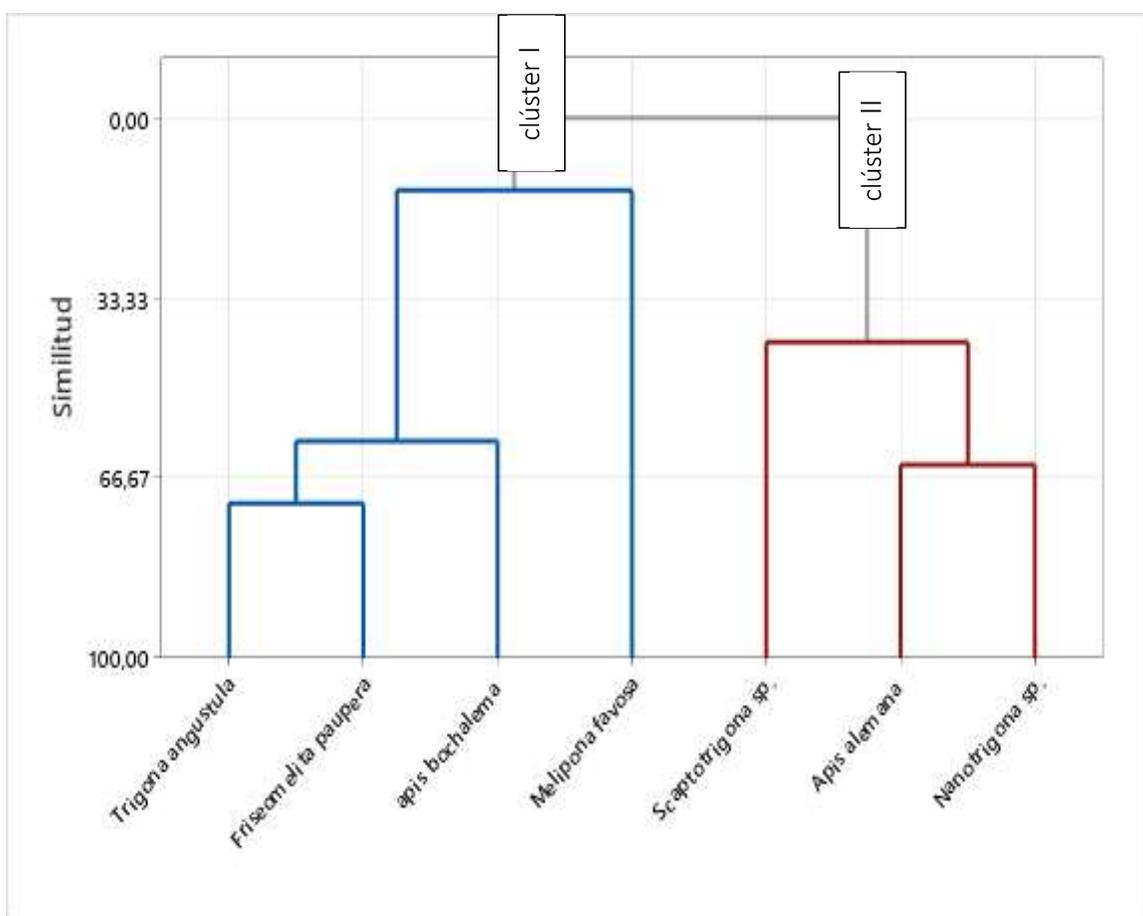


Figura 12. Dendrograma de muestras de propóleo

Fuente: Autor.

4.2 Muestras de extractos etanólico de propóleo

4.2.1 Caracterización de los extractos etanólico propóleos

Los extractos etanólicos de muestras de *Scaptotrigona sp*, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona sp*, *Melipona favosa*, *Apis mellifera* (Bochalema) y *Apis mellifera carnica* (de Alemania), mostraron intensidades variables de color marrón a amarillo. Los extractos de *Scaptotrigona sp* y *Frieseomelitta paupera* exhibieron el color marrón más oscuro mientras que *Trigona angustula*, *Apis mellifera* (Bochalema) y *Melipona Favosa* fueron de color marrón más claro, las muestras de *Apis mellifera carnica* (de Alemania) presento un color amarillo intenso y *Nanotrigona sp* presento un color amarillo más claro (fig. 13). la diferencia observada en el color de los extractos están relacionadas con el tipo de resinas recolectadas, la fuente vegetal, el método de recolección y el clima de la región donde es recolectado (Rodríguez Pérez et al., 2020).

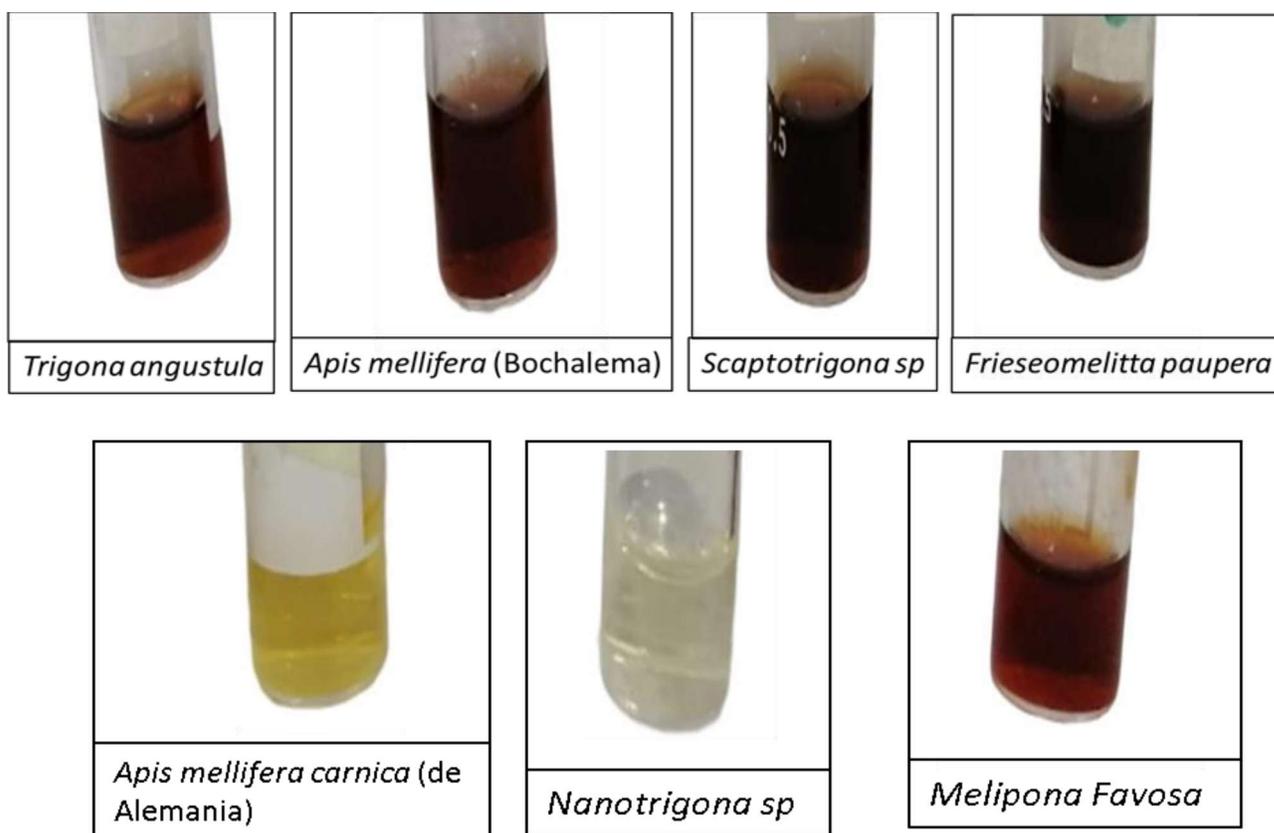


Figura 13. Extractos etanólicos de muestras de propóleo

Fuente: Autor

4.2.2 Análisis de las muestras de extractos etanólico de propóleo mediante ATR-FTIR

En los espectros de ATR-FTIR de extractos de propóleo (fig. 14) evidenciaron la absorción a 3314 - 3283 cm^{-1} atribuida a la presencia de compuestos flavonoides y fenólicos (Cai et al., 2020). Asimismo, las bandas a 2970 - 2927 cm^{-1} y 2864 cm^{-1} correspondieron con los tramos simétricos de CH_3 y tramos asimétricos de CH_2 de hidrocarburos insaturados y aromáticos. Estas bandas se detectaron en todas las muestras de extractos etanólico examinadas, pero con diferentes intensidades; de hecho, el propóleo *Scaptotrigona* sp, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, y *Nanotrigona* sp. tienen los picos más intensos, mientras que el extracto etanólico de propóleo *Apis mellifera carnica* (de Alemania) tiene picos menos intensos

Las absorbancias a 1701 cm^{-1} (C=O), 1633 cm^{-1} (C=C), 1445 cm^{-1} (aromático C-H) y a 1376 cm^{-1} (C-O aromáticos), se asociaron con la presencia de flavonoides, también se observaron amplias bandas vibratorias a 1026 cm^{-1} debido al estiramiento C-O de los grupos éster (Zhang et al., 2018). Según Pant et al., 2022, las bandas que componen las longitudes de onda entre 1724 y 1689 cm^{-1} están relacionadas con las vibraciones del grupo C=O presentes en aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres. La presencia de carbonilos y carboxilos puede estar asociada con la presencia de los constituyentes fenólicos.

Los anillos aromáticos son responsables de fuertes vibraciones en la región de 900 a 600 cm^{-1} , estas bandas varían según la cantidad y conformación de las sustituciones de benceno (do Nascimento et al., 2022; Zhang et al., 2018). Las bandas obtenidas a esta longitud de onda pueden asociarse principalmente con enlaces presentes en compuestos antioxidantes, como la instauración y la presencia de anillos aromáticos como ácidos fenólicos y flavonoides (Cömert & Gökmen, 2018) El perfil del espectro infrarrojo obtenido para el extracto de propóleos estudiado, fue similar a los datos previos publicados para propóleos de otros orígenes (Odalanowska et al., 2021).

El análisis de los espectros de ATR-FTIR de las muestras de propóleo (fig. 6) y los extractos de etanol (fig. 7) presentan diferencias en la intensidad de las absorbancias. En los espectros de los extractos se evidencia una disminución en las absorbancias de las bandas referidas a los números de onda de 2916, 2849 cm^{-1} (estiramiento de vibraciones en grupo CH). Según Mazur et al., 2019 estas bandas de absorción se correlacionaron con residuos de ceras en el extracto. Las bandas aún presentes en la región de huella dactilar (1800-600 cm^{-1}) en el extracto seco en esa región indican la presencia de alcanos de otros compuestos, además del residuo de cera restante en las muestras (Cai et al., 2020).

Los datos obtenidos en el espectro de extractos etanólicos de propóleo (fig. 8) reflejan la eliminación de la cera y concentración de constituyentes con grupos fenólicos. La reducción de la intensidad en las bandas asociadas con la cera y un aumento de la intensidad en las bandas relativas a los compuestos aromáticos e hidroxilo confirman esta afirmación.

Las bandas reflejadas a 900 a 600 cm^{-1} varían según la cantidad y conformación de las sustituciones de benceno (do Nascimento et al., 2022; Zhang et al., 2018). Estas bandas de absorbancia pueden asociarse con compuestos antioxidantes, como la instauración y la presencia de anillos aromáticos

como ácidos fenólicos y flavonoides. En este sentido, se puede afirmar que mayores absorbancias en las muestras de propóleo para la región mencionada indican mayores concentraciones de grupos fenólicos en comparación con las absorbancias de las muestras de extractos etanólicos de propóleo. Los compuestos fenólicos que se encuentran en el propóleo según lo informado por diferentes autores incluyen, tocoferol, quercetina, vinílico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido cumárico, ácido benzoico, ácido cinámico, pinobanksina 5-metil éter, ácido cinamilideacético, crisina, pinocembrina, kaempferol galangina, pinobanksina 3-acetato y tectocrisina (Bonamigo et al., 2017; Coneac et al., 2008). Dado que el proceso de extracción del propóleo no implicó calentamiento a alta temperatura, los propóleos crudos no se llevaron a ningún tratamiento. Por lo tanto, se puede considerar que esos compuestos aromáticos están contenidos en las partículas de propóleos.

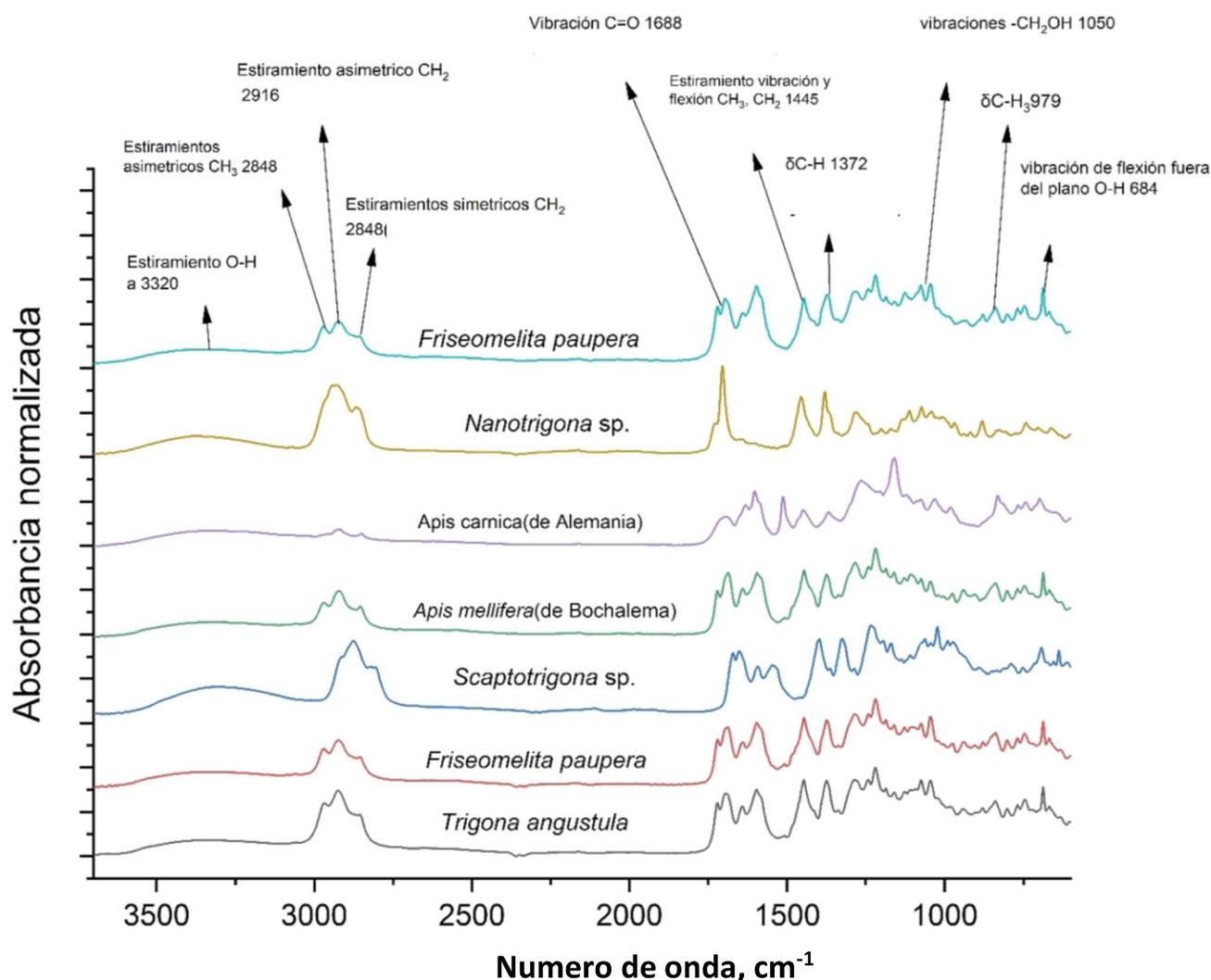


Figura 14. Espectro ATR- FTIR de extractos etanólicos de propóleo.

Fuente: Autor

4.2.3 Análisis de la muestra por espectrofotometría UV-vis

La variación en la composición química de los extractos de propóleo puede reflejarse y revelarse en los espectros de cada muestra. El espectro de absorción UV se tomaron en la región de 199 a 500nm, ya que la mayoría de los compuestos fenólicos exhiben generalmente una banda de absorción de luz ultravioleta en el rango de 250 a 350nm (G. G. De Lima et al., 2016) y Los flavonoides generalmente muestran un primer máximo entre 240 y 285 nm y otra banda por encima de 300 nm (Fabris et al., 2013). En la figura 15 se muestran los perfiles de absorbancia de los extractos de propóleos, lo que evidencia la variabilidad de la composición química de la muestra.

Las muestras de *Apis mellifera cárnica* (Alemania) exhibe un perfil de absorción con una banda amplia a longitud de onda de 277 nm y 319 nm, un máximo de absorbancia cercano a los 200 nm. En las muestras de *Scaptotrigona sp.*, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* (africanizada) presentan una banda levemente insinuada entre los 288nm -310 nm, un máximo de absorbancia cercano a los 217 nm. Las muestras de *Scaptotrigona sp*, *Melipona favosa* y *Nanotrigona sp* presentan una sola banda de absorción máxima en 200nm. La absorción a 200nm se debe a la transferencia electrónica de tipo n- π^* al grupo fenol asociado al anillo aromático y absorción de 281 nm debido a la transición de electrónica de tipo n- π^* del enlace carbonilo con el anillo aromático(Maldonado et al., 2020).

Otros autores obtuvieron espectros similares para muestras de propóleos de Rusia, Italia, Argentina y Rumania (Fabris et al., 2013; Fangio et al., 2019) que se consideró que explicaban principalmente la presencia de compuestos flavonoides. Con base a lo anterior y teniendo en cuenta las bandas reportaron en la región espectral entre 1100 y 1800 cm^{-1} en el espectro ATR- FTIR (fig. 14) la cual nos indica particularmente al grupo C=O atribuido a flavonoides, se puede inferir que los distintos perfiles corresponden a diversas composiciones de flavonoides y fenoles como consecuencia del origen de la vegetación del sitio(Ramli et al., 2021). Por otro lado, Liviu, Dezmiorean y Bobiş (2013) (Mărghitaş et al., 2013)distinguió tres tipos de extractos de propóleos sobre la base de sus espectros de absorción UV-visibles: (i) aquellos con $\lambda.\text{max} = 320$ nm, (ii) aquellos con absorbancia entre 320 y 395 nm, y (iii) aquellos con $\lambda.\text{max} = 295$ nm, siendo las muestras de propóleo analizados en nuestro estudio clasificados en este último tipo, con excepción de la muestra de propóleo de *Apis* alemana que se ubica en el segundo grupo .

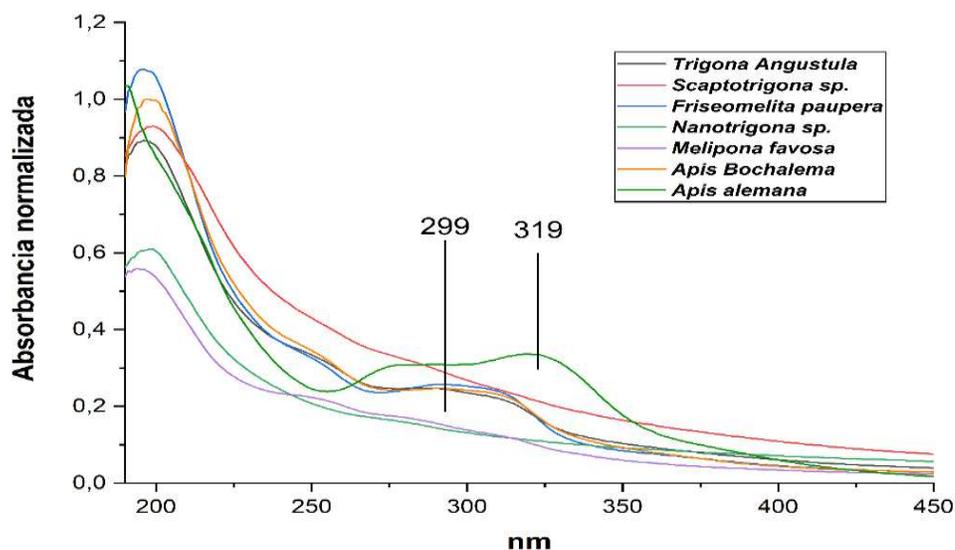


Figura 15: Espectro de absorción para los extractos de propóleos.

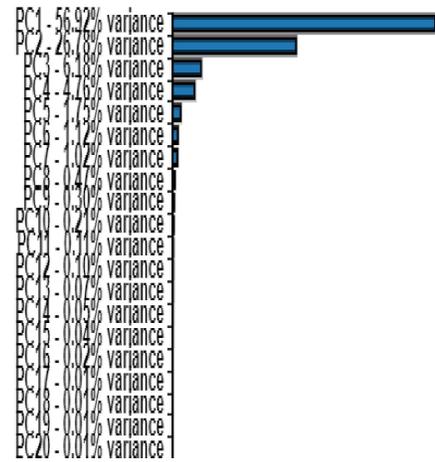
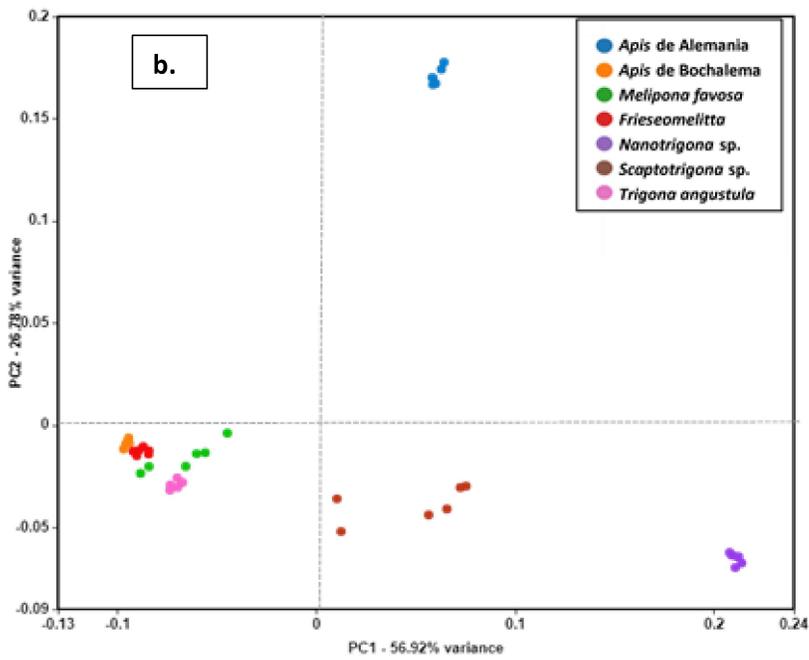
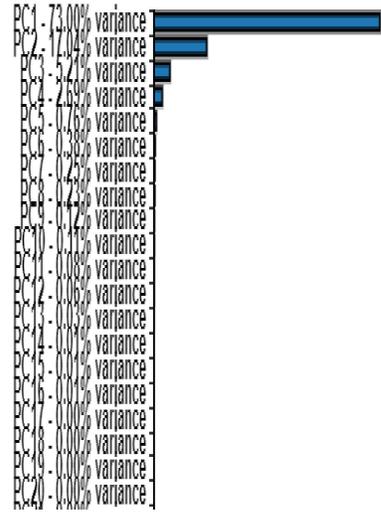
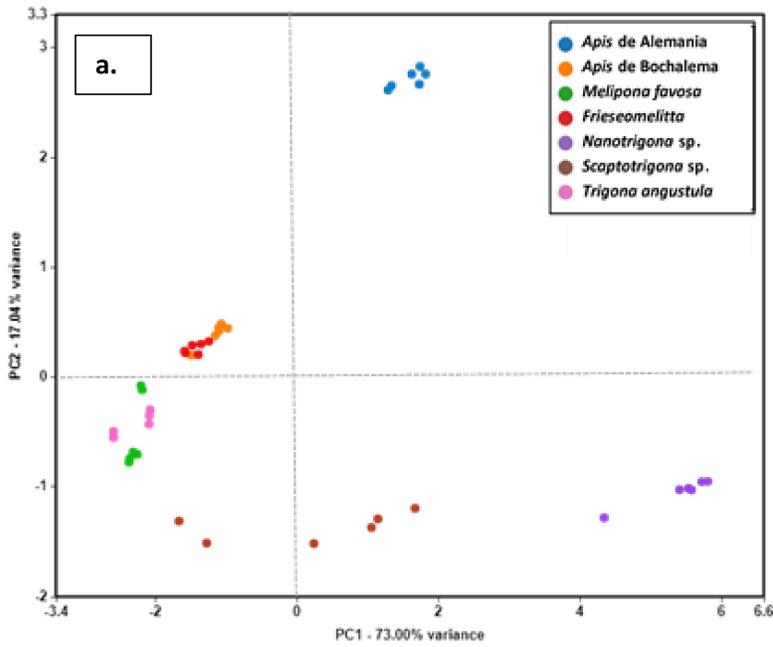
Fuente: Autor

4.2.4 Análisis quimiométrico

4.2.4.1 Análisis de componentes principales PCA para extractos etanólicos de propóleo.

Los espectros ATR-FTIR de orden cero, primera derivada y segunda derivada de 42 muestras de extractos etanólicos de propóleo fueron analizados mediante el análisis de componentes principales PCA (fig. 16) , los modelos de PCA se conformaron dos componentes principales PC1 y PC2 los cuales obtuvieron el mayor porcentaje de varianza, con el objetivo de identificar cual matriz de datos discriminaba mejor las muestras de propóleo. En la matriz de orden cero (fig. 16a) el componente principal 1(PC1) explicó el 73,00 % de la varianza total, mientras que el componente principal 2 (PC2) explicó el 17,04% de la varianza total (fig.13a), pese a su alto porcentaje en la varianza total no se evidencia un agrupamiento específico para las muestras,

En comparación con las gráficas obtenidas para primera y segunda derivada donde se observa que en los dos PCA las muestras se agruparon en grupos discretos. La grafica de PCA para la primera derivada (fig. 16b) explicó el 56,92% de la varianza total en su componente 1 (PCA 1), mientras que el componente principal 2 (PCA 2) explicó el 26,78% de la varianza total (fig.16b) y de segunda derivada (fig. 13c) donde el aporte del componente principal 1(PC1) explicó el 61,76% de la varianza total, mientras que el componente principal (PC2) explicó el 21,22% de la varianza total (fig.16c). El modelo de PCA (que mejor describe la discriminación de los datos fue la matriz de la primera derivada debido a que sus componentes principales representaron el 83,68 % de la varianza total un porcentaje relativamente mayor comparado con el de la segunda derivada que he fue de 82,98%



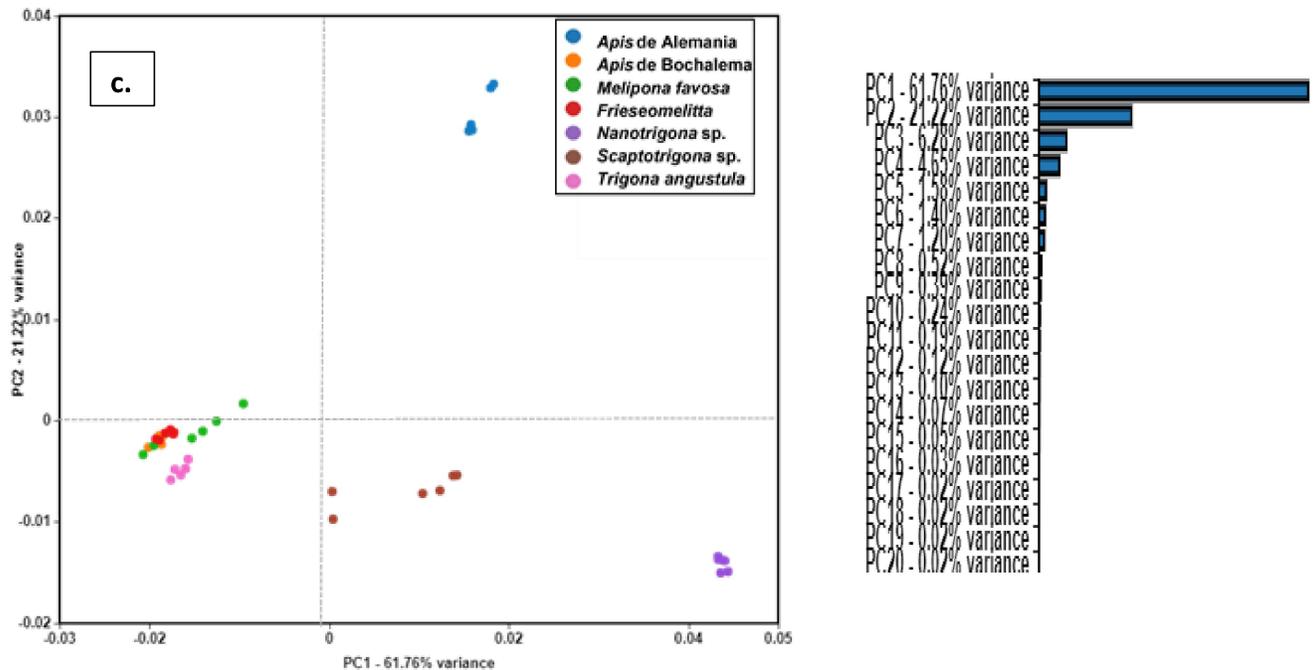


Figura 16 porcentaje de varianza de los dos primeros componentes y gráficas de PCA de 1800- 600 cm^{-1} de las matrices de orden cero (a), primera derivada (b) y segunda derivada (c) de extractos etanólicos de propóleo.

Fuente: Autor.

El análisis de componentes principales con ATR-FTIR a explica los principales patrones de las variaciones en los datos, generando información no solo de la discriminación de su origen geográfico sino también sobre la composición química (Pavlovic et al., 2020). Con el fin de obtener una visión general de las diferencias en la composición química de las muestras de propóleo de *Scaptotrigona sp.*, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona sp.*, *Melipona Favosa*, *Apis mellifera* (Bochalema) y *Apis mellifera carnica* (de Alemania) se utilizó PCA.

La Fig. 17 ilustra el gráfico de puntajes (muestras) de PC1 versus PC2, donde se puede verificar una buena separación de los extractos. Las muestras de propóleo se clasificaron en tres grupos. las bandas en la región espectral a $1800\text{--}12000 \text{ cm}^{-1}$ y $900\text{--}700 \text{ cm}^{-1}$ PC1 y PC2 son responsables de la discriminación de los extractos la región resolviendo aproximadamente el 83,68 %. El modelo PCA fue capaz de identificar las muestras atípicas, obtener una buena separación de muestras e identificar las variables responsables de esta separación. La muestra de *Scaptotrigona sp.*, *Trigona angustula*, *Melipona favosa*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* (Bochalema) se agruparon en la parte inferior izquierda de la gráfica lo que indica que tienen composiciones químicas similares que atribuyen a su agrupamiento, mientras que *Nanotrigona* se ubicó en la parte inferior derecha a pesar que esta muestra fue recolectada de la misma zona que demás muestras y se esperaba un agrupamiento con ellas. Dicho hallazgo se puede explicar en cualquier extensión en función de la composición de la flora de la región geográfica estudiada, *Apis mellifera cárnica* (Alemania) se ubica en la parte superior alejada de los otros grupos. es debido a que esta propóleo fue recolectado de

una fuente vegetal diferente, esto se puede evidenciar en estudios relacionados con la composición química de propóleos (Anjum et al., 2019; Maraschin et al., 2012), las muestras.

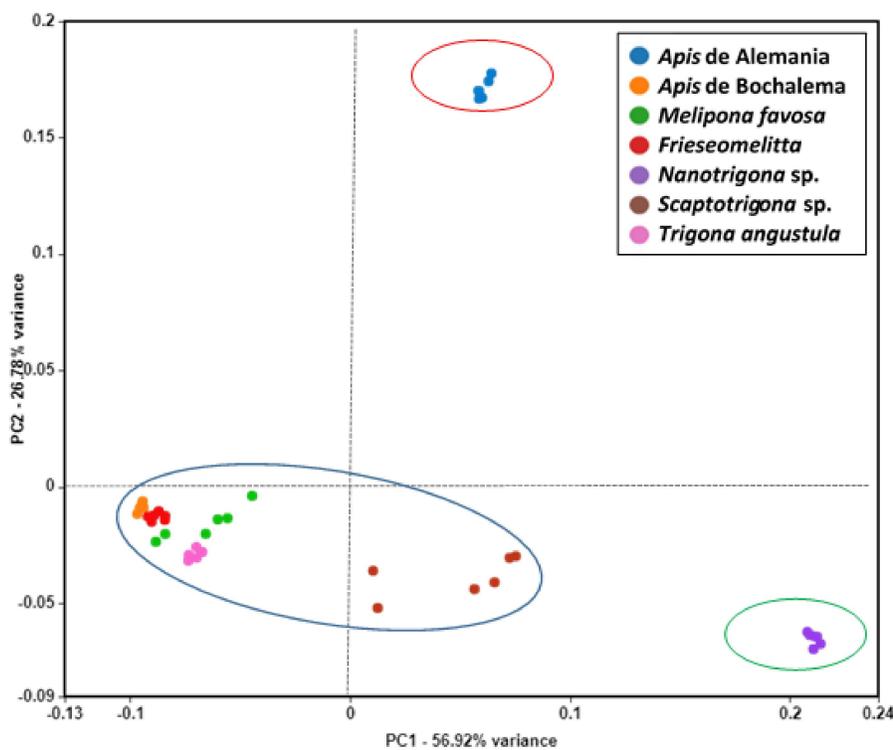


Figura 17 : Análisis de PCA de extractos de propóleo

Fuente: Autor.

4.2.4.2 Análisis jerárquico de conglomerados (HCA)

Los datos también se sometieron a análisis de conglomerados jerárquicos (HCA) para la clasificación de muestras de propóleos. Se alcanzaron los tres grupos (Fig. 18) y se evaluaron las similitudes de la muestra mediante el uso de distancias euclidianas (enlace único). El dendrograma obtenido como resultado de HCA muestra tres grupos correspondientes a la composición química de propóleos. Las muestras de extractos de propóleo se clasificaron tres grupos, grupo 1 se distribuyeron en el clúster I, mientras que el grupo 2 y 3 se clasificaron en el clúster II y III. Las muestras de extractos de propóleo de las especies *Scaptotrigona sp.*, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Melipona favosa*, se ubicaron en el clúster I, en este grupo se evidencian las similitudes entre estas muestras, mientras tanto, las muestras que clasificaron en diferentes conglomerados fueron diferentes entre sí. Las muestras de *Scaptotrigona sp.*, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Melipona favosa* y *Nanotrigona* a pesar que son originarias de el mismo lugar, se observa que la composición química del propóleo de la especie de *Nanotrigona* evidencia diferencias en comparación a las demás especies, esto se puede deber a la atracción de esta especie por un tipo de plata diferente a la que

las otras especies extraen las resinas, teniendo en cuenta que la composición química del propóleo depende de la vegetación del sitio como podemos evidenciar en la figura 7 la diferencia de la composición química del propóleo la especie de *Apis mellifera carnica* de Alemania. .

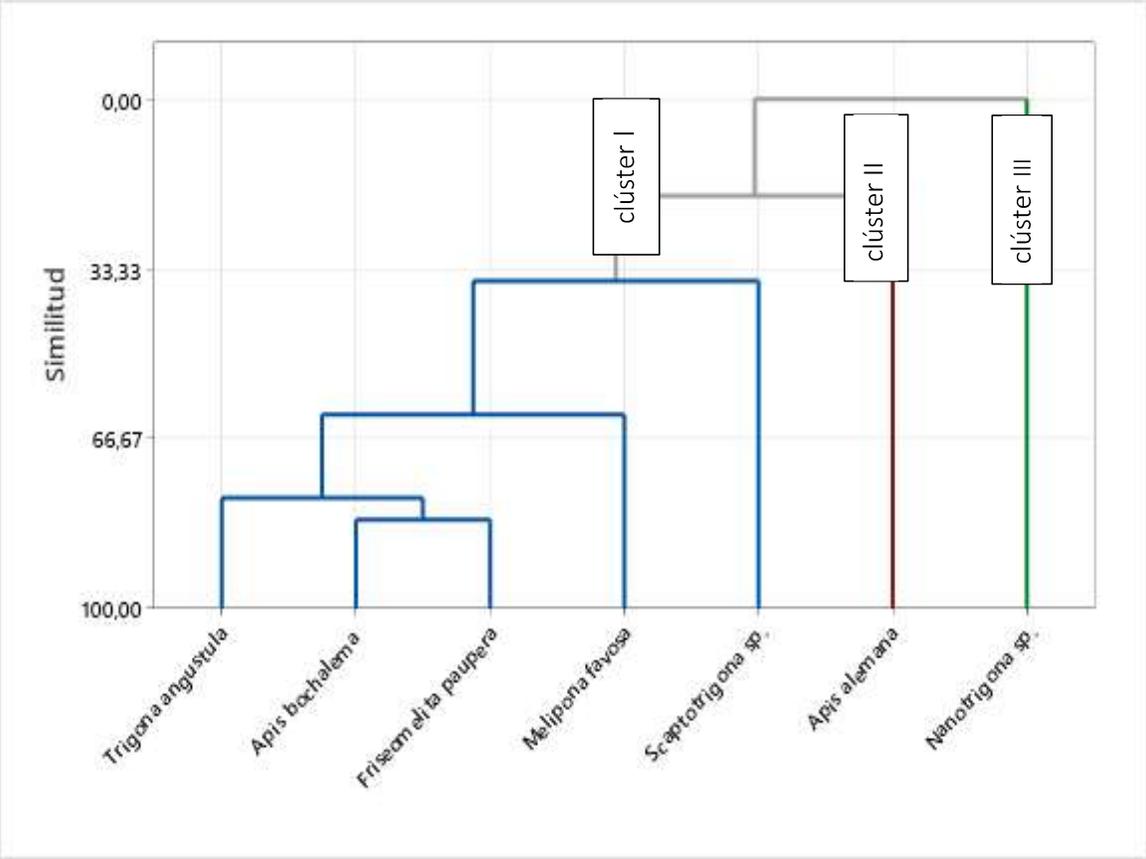


Figura 19: Dendrograma de extractos etanólicos de propóleo

Fuente: Autor.

CONCLUSIONES

Los espectros (FTIR-ATR) obtenidos contienen información sobre los diferentes grupos funcionales presentes en el propóleo y extractos etanólicos.

La espectroscopia infrarroja acoplada con el análisis quimiométrico (PCA y conglomerados) permitió establecer diferencias y similitudes entre la composición de las muestras de propóleo de *Scaptotrigona sp*, *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera*, *Nanotrigona sp*, *Melipona favosa*, *Apis mellifera* (Bochalema) y *Apis mellifera carnica* (de Alemania) donde se evidenció gran variabilidad de la composición de los propóleos analizados debido a la variación de hidrocarburos, flavonoides, compuestos aromáticos, ésteres y aminoácidos presentes en las resinas obtenidas de una misma fuente de vegetación y a la elección de las resinas por cada especie.

Los espectros de muestras de propóleo de Bochalema evidencian picos similares. Sin embargo, a pesar del patrón de similitud de los picos, hubo algunos picos cuya presencia y/o ausencia, así como la intensidad, variaron mucho dentro de las especies, cuyos picos más significativos se pueden ver en todos los espectros. Se encontró que las muestras presentaron diferencias en la región espectral correspondiente a la huella dactilar. A pesar del diferente patrón espectral de FTIR, en general, las bandas espectrales de los propóleos de Bochalema se pueden asignar al estiramiento, flexión, estiramiento y vibraciones fuera del plano de O-H, C-H, C=C, C=O, CH₂, CH₃ de alcoholes, fenoles, ácidos carboxílicos, alquenos y anillos aromáticos, lo que sugiere que todos los propóleos crudos contienen compuestos alquilo y aromáticos que tienen amina, éster, carbonilo, alquilado, y grupos funcionales hidroxilo. Esto puede indicar además la presencia de ácidos aromáticos, terpenos, flavonoides, hidrocarburo y ácidos fenólicos en el propóleo crudo.

Los propóleos de *Trigona angustula*, *Frieseomelitta paupera* y *Apis mellifera* Bochalema son similares en su composición, mientras que el propóleo de *Scaptotrigona sp*. y *Nanotrigona sp*, así como *Melipona favosa* y *Apis mellifera carnica* (alemana) refleja características únicas en su composición.

La espectroscopia infrarroja atenuada es un método efectivo en la caracterización de propóleos, especialmente en la detección de compuestos presentes de forma única en una muestra dado que esta técnica nos permite idéntica los grupos funcionales en la muestra en la región llamada huella dactilar.

RECOMENDACIONES:

- Se recomienda realizar este estudio en diferentes épocas del año, para diferentes propóleos de especies de abejas provenientes de otras regiones del departamento y del país.
- Evaluar los extractos de propóleo de diferentes especies nativas de abejas sin aguijón (Colombia), utilizando otros solventes como metanol, propanol a diferentes concentraciones.
- Se recomienda realizar análisis con otras técnicas complementarias como cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría en tándem (LC-MS/MS).

BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah, N. A., Zulkiflee, N., Zaini, S. N. Z., Taha, H., Hashim, F., & Usman, A. (2020). Phytochemicals, mineral contents, antioxidants, and antimicrobial activities of propolis produced by Brunei stingless bees *Geniotrigona thoracica*, *Heterotrigona itama*, and *Tetrigona binghami*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 2902–2911. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.014>
- Ahmed, M., Amirat, M., Aissat, S., Aissa, M. A., & Khiati, B. (2020). FTIR characterization of Sahara honey and propolis and evaluation of its anticandidal potentials. *Acta Scientifica Naturalis*, 7(3), 46–57. <https://doi.org/10.2478/asn-2020-0032>
- Amekura, H. (2018). *Ultraviolet and Visible Spectrophotometry*. <https://doi.org/10.1201/9780203908556.ch12>
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M. A., Tahir, M., Ansari, M. J., Ghramh, H. A., Adgaba, N., & Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695–1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- Avci, B. (2018). Comparative theology and scriptural reasoning: A muslim's approach to interreligious learning. In *Religions* (Vol. 9, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/rel9100297>
- Azemin, A., Md-Zin, N. B., Mohd-Rodi, M. M., Kim-Chee, A. S., Zakaria, A. J., & Mohd, K. S. (2018). Application of metabolite profiling and antioxidant activity in assessing the quality of processed and unprocessed stingless bee's propolis. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(2S), 637. <https://doi.org/10.4314/jfas.v9i2s.40>
- Bouchelaghem, S. (2022). Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 1936–1946. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.063>
- Burdock, G. A. (1998). Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347–363. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)00145-2](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)00145-2)
- Cai, W., Xu, J., Li, G., Liu, T., Guo, X., Wang, H., & Luo, L. (2020). Ethanol extract of propolis prevents high-fat diet-induced insulin resistance and obesity in association with modulation of gut microbiota in mice. *Food Research International*, 130(June 2019), 108939. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108939>
- Cardoso, E. de O., Conti, B. J., Santiago, K. B., Conte, F. L., Oliveira, L. P. G., Hernandez, R. T., Golim, M. de A., & Sforcin, J. M. (2017). Phenolic compounds alone or in combination may be involved in propolis effects on human monocytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(1), 99–108. <https://doi.org/10.1111/jphp.12660>
- Chang-Bravo, L., López-Córdoba, A., & Martino, M. (2014). Biopolymeric matrices made of carrageenan and corn starch for the antioxidant extracts delivery of Cuban red propolis and yerba mate. *Reactive and Functional Polymers*, 85, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.025>

- Cömert, E. D., & Gökmen, V. (2018). Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. *Food Research International*, 105(November 2017), 76–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056>
- De Lima, G. G., De Souza, R. O., Bozzi, A. D., Poplawska, M. A., Devine, D. M., & Nugent, M. J. D. (2016). Extraction Method Plays Critical Role in Antibacterial Activity of Propolis-Loaded Hydrogels. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(3), 1248–1257. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2015.12.027>
- Dehghani, M., Abtahi, M., Hasanzadeh, N., Farahzad, Z., Noori, M., & Noori, M. (2019). Effect of Propolis mouthwash on plaque and gingival indices over fixed orthodontic patients. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 11(3), e244–e249. <https://doi.org/10.4317/jced.55026>
- Delgado, M. L., Rodríguez, A. C., & Ochoa, P. P. (2014). Estudios espectroscópicos (UV-VIS, fluorescencia y FTIR) de propóleo colectado en el municipio de Zapopan, Jalisco. *Revista Coloquio de Investigación Multidisciplinaria*, 2(1), 666–673. https://www.researchgate.net/publication/308632447_Estudios_espectroscopicos_UV-VIS_fluorescencia_y_FTIR_de_propoleo_colectado_en_el_municipio_de_Zapopan_Jalisco
- Demir Özer, E. (2020). Propolis and Potential Use in Food Products. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(5), 1139–1144. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i5.1139-1144.3324>
- do Nascimento, T. G., de Almeida, C. P., da Conceição, M. M., dos Santos Silva, A., de Almeida, L. M., de Freitas, J. M. D., Grillo, L. A. M., Dornelas, C. B., Ribeiro, A. S., da Silva, J. F., da Silva, C. J., Basílio-Júnior, I. D., & de Freitas, J. D. (2022). Caseinates loaded with Brazilian red propolis extract: preparation, protein-flavonoids interaction, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 147(2), 1329–1343. <https://doi.org/10.1007/s10973-020-10448-w>
- dos Santos Moita, E. C., Frota, V. M., da Silva Mendonça, L., dos Santos Gomes, L. C., dos Santos Fontenelle, R. O., Costa, M. F., Fernandes, J. A. B., da Cunha, M. E. T., Gomes, G. A., do Vale, J. P. C., Bandeira, P. N., dos Santos, H. S., Zocolo, G. J., & Rodrigues, T. H. S. (2022). Chemical Composition and Antifungal Properties of Apolar Fraction of Green Propolis from Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 32(1), 139–143. <https://doi.org/10.1007/s43450-021-00228-4>
- Engel. (2014). MANUAL DE ANALISIS QUIMICO E INSTRUMENTAL. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*.
- Fabris, S., Bertelle, M., Astafyeva, O., Gregoris, E., Zangrando, R., Gambaro, A., Lima, G. P. P., & Stevanato, R. (2013). Antioxidant Properties and Chemical Composition Relationship of Europeans and Brazilians Propolis. *Pharmacology & Pharmacy*, 04(01), 46–51. <https://doi.org/10.4236/pp.2013.41006>
- Fadlelmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V. H., Catarino, S. O., & Minas, G. (2022). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: A Review towards Lab-on-a-Chip Devices. *Micromachines*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/mi13020187>
- Fangio, M. F., Orallo, D. E., Gende, L. B., & Churio, M. S. (2019). Chemical characterization and antimicrobial activity against *Paenibacillus* larvae of propolis from Buenos Aires province, Argentina. *Journal of Apicultural Research*, 58(4), 626–638.

<https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1601318>

- Herrera-López, M. G., María Calvo-Irabién, L., Luis, Y., & Peña-Rodríguez, M. (2019). El propóleo y su potencial económico como producto de la industria apícola. *Desde El Herbario CICY*, 11, 190–194. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- Holden, C. A., Bailey, J. P., Taylor, J. E., Martin, F., Beckett, P., & McAinsh, M. (2022). Know your enemy: Application of ATR-FTIR spectroscopy to invasive species control. *PLoS ONE*, 17(1 January), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261742>
- Hrncir, M., Jarau, S., & Barth, F. G. (2016). Stingless bees (Meliponini): senses and behavior. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 202(9–10), 597–601. <https://doi.org/10.1007/s00359-016-1117-9>
- Ibrahim, N., Mohd Niza, N. F. S., Mohd Rodi, M. M., Zakaria, A. J., Ismail, Z., & Mohd, K. S. (2016). Chemical and Biological Analyses of Malaysian Stingless Bee Propolis Extracts. *Malaysian Journal of Analytical Science*, 20(2), 413–422. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2002-26>
- Ibrahim, N., Zakaria, A. J., Ismail, Z., Ahmad, Y., & Mohd, K. S. (2018). Application of GCMS and FTIR Fingerprinting in Discriminating Two Species of Malaysian Stingless Bees Propolis. *International Journal of Engineering & Technology*, January, 106–112. www.sciencepubco.com/index.php/IJET
- Jayanthi, B., & Kothai, S. (2017). Chemical Characterization of Ethanolic Extract of Propolis of Stingless Bees Collected from Four different Districts of Tamilnadu in India. *Journal of Chemistry and Chemical Sciences*, 7(12), 1170–1178. <https://doi.org/10.29055/jccs/525>
- Kovács, R. L., Csontos, M., Gyöngyösi, S., Elek, J., Parditka, B., Deák, G., Kuki, Á., Kéki, S., & Erdélyi, Z. (2021). Surface characterization of plasma-modified low density polyethylene by attenuated total reflectance fourier-transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy combined with chemometrics. *Polymer Testing*, 96. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2021.107080>
- Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., & Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/964149>
- Lima, A. B. S. de, Batista, A. S., Santos, M. R. C., Rocha, R. de S. da, Silva, M. V. da, Ferrão, S. P. B., Almeida, V. V. S. de, & Santos, L. S. (2022). Spectroscopy NIR and MIR toward predicting simultaneous phenolic contents and antioxidant in red propolis by multivariate analysis. *Food Chemistry*, 367(June 2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130744>
- Lozina, L. A., Peichoto, M. E., Acosta, O. C., & Granero, G. E. (2010). *Estandarización y Caracterización Organoléptica y Físico-Química de 15 Propóleos Argentinos*. 29(1), 102–110.
- Maldonado, L., Marcinkevicius, K., Borelli, R., Gennari, G., Salomón, V., Isla, M. I., Vera, N., & Borelli, V. (2020). Differentiation of argentine propolis from different species of bees and geographical origins by UV spectroscopy and chemometric analysis. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19(3), 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.09.003>
- Maraschin, M., Kuhnen, S., Lemos, P. M. M., de Oliveira, S. K., da Silva, D. A., Zeggio, M. A. R. S., Veleirinho, M. B. R., Delgadillo, I., & Vieira, F. A. (2012). Metabolomics and Chemometrics as Tools for Chemo (bio) diversity Analysis. *Metabolomics and Chemometrics as Tools for Chemo(Bio)Diversity Analysis - Maize Landraces and Propolis, Chemometrics in Practical*

Applications, 326. <http://www.intechopen.com/books/chemometrics-in-practical-applications/metabolomics-and-chemometrics-as-tools-for-chemo-bio-diversity-analysis-maize-landraces-and-propolis>

- Mărghitaş, L. Al, Dezmirean, D. S., & Bobiş, O. (2013). Important developments in romanian propolis research. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/159392>
- Martinotti, S., & Ranzato, E. (2015). Propolis: A new frontier for wound healing? *Burns and Trauma*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s41038-015-0010-z>
- Mazur, K. L., Feuser, P. E., Valério, A., Poester Cordeiro, A., de Oliveira, C. I., Assolini, J. P., Pavanelli, W. R., Sayer, C., & Araújo, P. H. H. (2019). Diethyldithiocarbamate loaded in beeswax-copaiba oil nanoparticles obtained by solventless double emulsion technique promote promastigote death in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 176(September 2018), 507–512. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.12.048>
- Monteil, J., Hadj-sassi, A., Guzman-barrera, N., Poque, E., & Leal-calderon, F. (2022). *Method to prepare aqueous propolis dispersions based on phase separation*. 389(April). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133072>
- Mot, A. C., Silaghi-Dumitrescu, R., & Sârbu, C. (2011). Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-vis spectroscopic data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(4–5), 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.11.006>
- Nahar, L., Onder, A., & Sarker, S. D. (2020). A review on the recent advances in HPLC, UHPLC and UPLC analyses of naturally occurring cannabinoids (2010–2019). *Phytochemical Analysis*, 31(4), 413–457. <https://doi.org/10.1002/pca.2906>
- Nates, P. (2001). Las Abejas sin Aguijón (Hymenoptera : Apidae : *Biota Colombiana*, 2(3), 233–248.
- Noor El -Deen, A. I., Mona, S. Z., Shalaby, S. I., & Nasr, S. (2013). Propolis, with reference of Chemical composition, antiparasitic, antimycotic, antibacterial and antiviral activities: A review. *Life Science Journal*, 10(2), 1778–1782.
- Odalanowska, M., Woźniak, M., Ratajczak, I., Zielińska, D., Cofta, G., & Borysiak, S. (2021). Propolis and organosilanes as innovative hybrid modifiers in wood-based polymer composites. *Materials*, 14(2), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ma14020464>
- Oliveira, R. N., Mancini, M. C., de Oliveira, F. C. S., Passos, T. M., Quilty, B., Thiré, R. M. da S. M., & McGuinness, G. B. (2016). Análise por FTIR e quantificação de fenóis e flavonóides de cinco produtos naturais disponíveis comercialmente utilizados no tratamento de feridas. *Revista Materia*, 21(3), 767–779. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620160003.0072>
- Padrón, Alexander, A., Naranjo, A., Díaz, J., & Llera, R. E. (2012). El propóleo una alternativa de todos los tiempos TT - Propolis: an alternative for all times. *Univ Méd Pinar*, 8(1). <http://publicaciones.pri.sld.cu/rev-estud/rev-estud8-1/rev-estud82-2.html>
- Pant, K., Thakur, M., Chopra, H. K., & Nanda, V. (2022). Encapsulated bee propolis powder: Drying process optimization and physicochemical characterization. *Lwt*, 155, 112956. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112956>

- Pavlovic, R., Borgonovo, G., Leoni, V., Giupponi, L., Ceciliani, G., Sala, S., Bassoli, A., & Giorgi, A. (2020). Effectiveness of different analytical methods for the characterization of propolis: A case of study in northern Italy. *Molecules*, 25(3). <https://doi.org/10.3390/molecules25030504>
- Pedraza, R. (2012). Propóleos : Un Valioso Producto de la Colmena. *Horizonte Agroalimentario*, 4–7. <http://www.mieldemalaga.com/data/propoleos.ar.pdf>
- Puerto, N. (2018). ANÁLISIS PROXIMAL Y FÍSICOQUÍMICO DE PROPÓLEOS (PROPOLIS). *March*. <https://doi.org/10.24054/01204211.v2.n2.2016.2189>
- Ramli, N. A., Ali, N., Hamzah, S., & Yatim, N. I. (2021). Physicochemical characteristics of liposome encapsulation of stingless bees' propolis. *Heliyon*, 7(4), e06649. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06649>
- Ramnath, S., Venkataramgowda, S., & Chandrama Singh. (2015). Chemical Composition of Bee Propolis Collected from Different Regions in India by GCMS Analysis. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 30(1), 1319–1328.
- Rodríguez Pérez, B., Canales Martínez, M. M., Penieres Carrillo, J. G., & Cruz Sánchez, T. A. (2020). Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. *Acta Universitaria*, 30, 1–30. <https://doi.org/10.15174/au.2020.2435>
- Roubik, D. W., Moreno, J. E., Vergara, C., & Wittmann, D. (1986). Sporadic food competition with the African honey bee: Projected impact on neotropical social bees. *Journal of Tropical Ecology*, 2(2), 97–111. <https://doi.org/10.1017/S0266467400000699>
- Salamanca, G. (2017). Orígen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapeutico del propóleo / Guillermo Salamanca Grosso. In *Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo* (Issue August).
- Sangkaew, S., Tan, L. K., Ng, L. C., Ferguson, N. M., & Dorigatti, I. (2020). Using cluster analysis to reconstruct dengue exposure patterns from cross-sectional serological studies in Singapore. *Parasites and Vectors*, 13(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3898-5>
- Seven, P. T., Seven, I., Karakus, S., Mutlu, S. I., Arkali, G., Sahin, Y. M., & Kilislioglu, A. (2020). Turkish propolis and its nano form can ameliorate the side effects of cisplatin, which is a widely used drug in the treatment of cancer. *Plants*, 9(9), 1–22. <https://doi.org/10.3390/plants9091075>
- Shin, J., Lee, K. S., & Kim, J. H. (2020). Predicting old-age mortality using principal component analysis: Results from a national panel survey in Korea. *Medicina (Lithuania)*, 56(7), 1–10. <https://doi.org/10.3390/medicina56070360>
- Soós, Á., Bódi, É., Várallyay, S., Molnár, S., & Kovács, B. (2019). Mineral content of propolis tinctures in relation to the extraction time and the ethanol content of the extraction solvent. *Lwt*, 111(April), 719–726. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.090>
- Sosa, Á. A., Cabrera, M. G., & Álvarez, M. Y. (2017). Physical parameters and organoleptic characteristics of propolis from the province of Misiones, Argentina. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 5(1), 779–789.
- Sosa López, A., Subovsky, M., Maidana, J. F., & Castillo, A. (2003). Short communication : organoleptic and physical characteristics of propolis from Northeastern Argentina. *Spanish*

- Surek, M., Cobre, A. de F., Fachi, M. M., Santos, T. G., Pontarolo, R., Crisma, A. R., Felipe, K. B., & Souza, W. M. de. (2022). Propolis authentication of stingless bees by mid-infrared spectroscopy and chemometric analysis. *Lwt*, 161(March), 113370. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113370>
- Treatment, C., Activity, S., & Humelnicu, A. (2022). *Chitosan-Based Therapeutic Systems for Superficial*.
- Tsuchida, W., Kobayashi, Y., Inoue, K., Horie, M., Yoshihara, K., & Ooie, T. (2022). Kinematic characteristics during gait in frail older women identified by principal component analysis. *Scientific Reports*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-04801-2>
- Wali, A. F., Mushtaq, A., Rehman, M. U., Akbar, S., & Masoodi, M. H. (2017). *Bee Propolis (Bee 'S Glue): a Phytochemistry Review*. 4(4), 5–9. <https://doi.org/10.22159/jcr.2017v4i4.20135>
- Wu, Y. W., Sun, S. Q., Zhao, J., Li, Y., & Zhou, Q. (2008). Rapid discrimination of extracts of Chinese propolis and poplar buds by FT-IR and 2D IR correlation spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 883–884(1–3), 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2007.12.009>
- Zhang, H., Fu, Y., Niu, F., Li, Z., Ba, C., Jin, B., Chen, G., & Li, X. (2018). Enhanced antioxidant activity and in vitro release of propolis by acid-induced aggregation using heat-denatured zein and carboxymethyl chitosan. *Food Hydrocolloids*, 81, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.019>
- Zulhendri, F., Chandrasekaran, K., Kowacz, M., Ravalía, M., Kripal, K., Fearnley, J., & Perera, C. O. (2021). Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: A review. *Foods*, 10(6), 1–30. <https://doi.org/10.3390/foods10061360>
- Zulhendri, F., Ravalía, M., Kripal, K., Chandrasekaran, K., Fearnley, J., & Perera, C. O. (2021). Propolis in metabolic syndrome and its associated chronic diseases: A narrative review. *Antioxidants*, 10(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/antiox10030348>

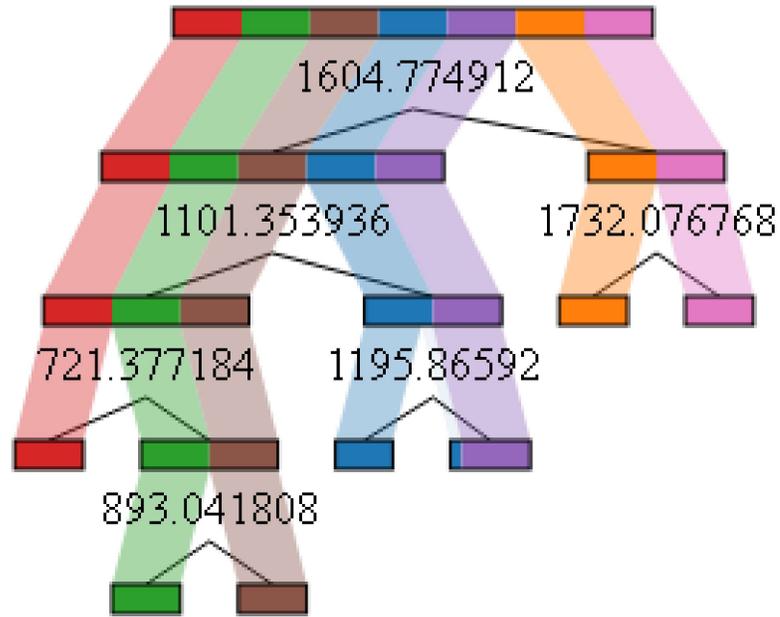
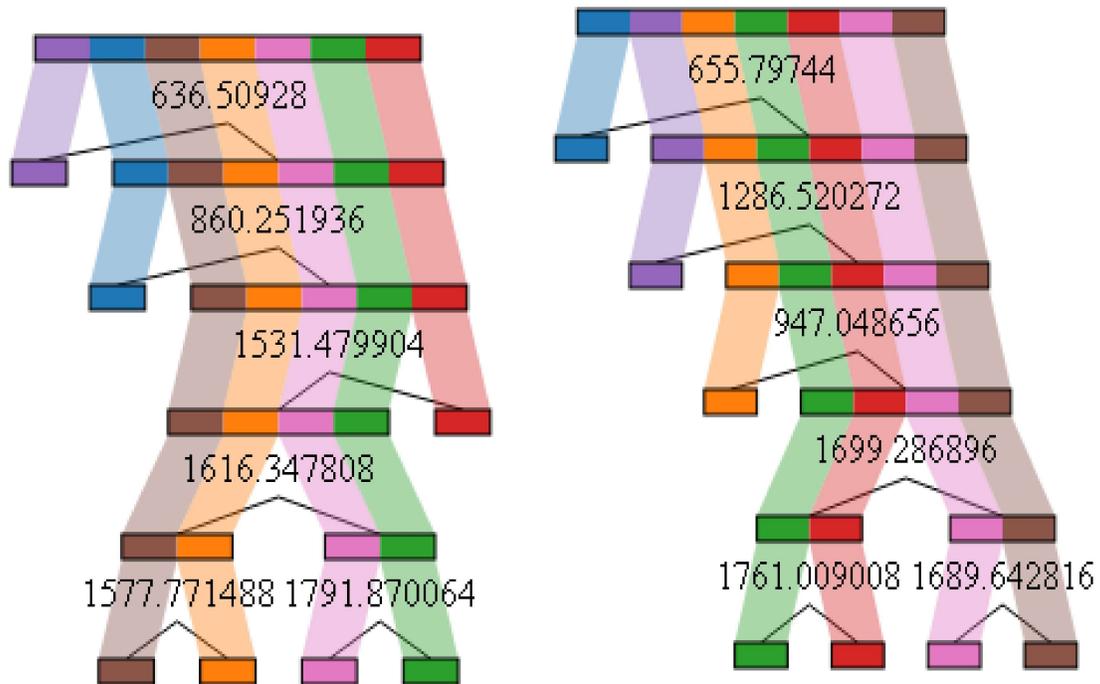


Figure 22 Datos PCA orden cero, primera derivada y segunda derivada de propóleos crudo.



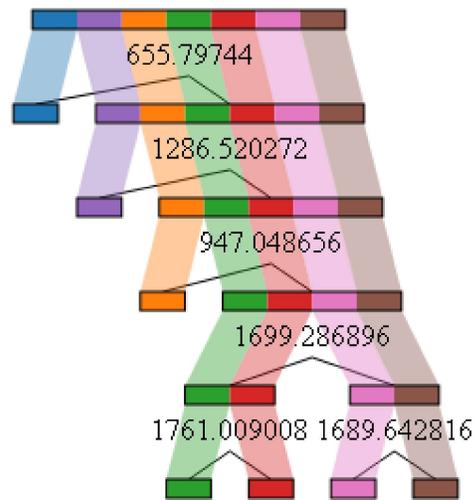


Figure 23 Datos PCA orden cero, primera derivada y segunda derivada de extractos etanólicos de propóleos.