

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA PROFESIONAL INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Presentado por:

Bach. EDGAR ARANGUENA SALAZAR

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PROPÓLEO PRODUCIDO POR ABEJAS (*Apis mellifera*) RECOLECTADO POR LOS MÉTODOS DE RASPADO Y REJILLA DE PLÁSTICO EN LAS COMUNIDADES CAMPESINAS DE HUINCHOS PATACCOCHA Y CHIARA - PROVINCIA ANDAHUAYLAS.**

**Asesor:**

Ing. MSc. DAVID JUAN RAMOS HUALLPARTUPA

TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

ANDAHUAYLAS - APURÍMAC - PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA PROFESIONAL INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Presentado por:  
Bach. EDGAR ARANGUENA SALAZAR

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE  
Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PROPÓLEO  
PRODUCIDO POR ABEJAS (*Apis mellifera*)  
RECOLECTADO POR LOS MÉTODOS DE  
RASPADO Y REJILLA DE PLÁSTICO EN LAS  
COMUNIDADES CAMPESINAS DE HUINCHOS  
PATACCOCHA Y CHIARA - PROVINCIA  
ANDAHUAYLAS.**

**Asesor:**  
Ing. MSc. DAVID JUAN RAMOS HUALLPARTUPA

ANDAHUAYLAS - APURÍMAC - PERÚ

2019



## APROBACIÓN DEL ASESOR

Quién suscribe:

El MSc. DAVID JUAN RAMOS HUALLPARTUPA, por la presente:

### CERTIFICA,

Que, el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **EDGAR ARANGUENA SALAZAR**; ha culminado satisfactoriamente el informe final de tesis intitulado **“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PROPÓLEO PRODUCIDO POR ABEJAS (Apis mellífera) RECOLECTADO POR LOS MÉTODOS DE RASPADO Y REJILLA DE PLÁSTICO EN LAS COMUNIDADES DE HUINCHOS PATACCOCHA Y CHIARA – PROVINCIA ANDAHUAYLAS”**, para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 29 de Noviembre del 2019

.....  
Ing. MSc. David Juan Ramos Huallpartupa  
Asesor de Tesis

.....  
Br. Edgar Aranguena Salazar  
Tesista



## FACULTAD DE INGENIERIA

### ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

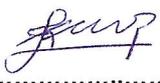
En la Av. 28 de julio N° 1103 del Local Académico SL02 (Santa Rosa) en el Salón de Grados de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas ubicado en el distrito de Talavera de la Reyna de la Provincia de Andahuaylas, siendo las 15:00 horas del día 06 de noviembre del año 2018, se reunieron los docentes: Dr. Florentino Lázaro Mendoza Marín, Ing. Juvenal Rivas Leguía, Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez, en condición de integrantes del Jurado Evaluador del Informe Final de Tesis intitulado: "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PROPÓLEO PRODUCIDO POR ABEJAS (*APIS MELLIFERA*) RECOLECTADO POR LOS MÉTODOS DE RASPADO Y REJILLAS DE PLÁSTICO EN LAS COMUNIDADES CAMPESINAS DE HUINCHOS PATACCOCHA Y CHIARA – PROVINCIA DE ANDAHUAYLAS", cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **EDGAR ARANGUENA SALAZAR**, el asesor MSc. David Juan Ramos Huallpartupa, con el propósito de proceder a la sustentación y defensa de dicha tesis.

Luego de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Evaluador **ACORDÓ:** APROBAR por UNANIMIDAD al Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **EDGAR ARANGUENA SALAZAR**, obteniendo la siguiente calificación y mención:

Nota escala vigesimal		Mención
Números	Letras	
14	CATORCE	BUENO

En señal de conformidad, se procedió a la firma de la presente acta en 03 ejemplares.

  
.....  
Dr. Florentino Lázaro Mendoza Marín  
Presidente del Jurado Evaluador

  
.....  
Ing. Juvenal Rivas Leguía  
Primer Miembro del Jurado Evaluador

  
.....  
Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez  
Segundo Miembro del Jurado Evaluador



## APROBACIÓN DEL JURADO DICTAMINADOR

LA TESIS: “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PROPÓLEO PRODUCIDO POR ABEJAS (*Apis mellífera*) RECOLECTADO POR LOS MÉTODOS DE RASPADO Y REJILLA DE PLÁSTICO EN LAS COMUNIDADES CAMPESINAS DE HUINCHOS PATACCOCHA Y CHIARA – PROVINCIA ANDAHUAYLAS”; para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, ha sido evaluado por el jurado dictaminador conformado por:

**Presidente:** PhD. Florentino Lázaro Mendoza Marín

**Primer Miembro:** Ing. Juvenal Rivas Leguía

**Segundo Miembro:** Ing. Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez

Habiendo sido aprobado por unanimidad, en la ciudad de Talavera el día 22 de noviembre del 2019.

Andahuaylas, 29 de Noviembre del 2019

Atentamente,

PhD. Florentino Lázaro Mendoza Marín  
Presidente del Jurado Dictaminador

Ing. Juvenal Rivas Leguía  
Primer Miembro del Jurado Dictaminador

Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez  
Segundo Miembro del Jurado Dictaminador



## DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

Yo, Edgar Aranguena Salazar, identificado con DNI N°44265238 de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

Declaro bajo juramento que el Proyecto Titulado: "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL PROPÓLEO PRODUCIDO POR ABEJAS (*Apis mellífera*) RECOLECTADO POR LOS MÉTODOS DE RASPADO Y REJILLA DE PLÁSTICO EN LAS COMUNIDADES CAMPESINAS DE HUINCHOS PATACCOCHA Y CHIARA – PROVINCIA ANDAHUAYLAS".

Es auténtico y no vulnera los derechos de autor. Además, su contenido es de entera responsabilidad del autor del proyecto, quedando la UNAJMA exenta de toda responsabilidad en caso de atentar contra la Ley de propiedad intelectual y derechos de autor.

Andahuaylas, 29 de noviembre de 2019

Firma

N° DNI: 44265238

E-mail: edgararanguena@gmail.com

N° Celular: 95095192

## **DEDICATORIA**

*A Dios por guiarme a lo largo de toda mi vida, a mi madre Isidora Salazar Huamani por su ternura y paciencia, a mi padre Teofilo Aranguena Chipana por exigirme siempre más de lo que yo quería ofrecer, y a mis hermanos Godofredo Aranguena Salazar, Yoni Aranguena Salazar y Yeni Aranguena Salazar por estar siempre ahí cuando los necesito y aun cuando no.*

## AGRADECIMIENTO

A mis padres Teófilo Aranguena Chipana, Isidora Salazar Huamani por su exigencia, y por sus tiernas palabras de ánimo y por nunca permitirme rendirme. A mis hermanos Godofredo Aranguina Salazar, Yoni Aranguena Salazar y Yeni Aranguena Salazar por estar siempre apoyándome y dándome ánimos para seguir adelante

A la Universidad Nacional José María Arguedas – Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA), por haberme acogido en sus aulas durante los cinco años de estudio universitario, así mismo por permitirme el acceso al Laboratorio de Química para realizar las pruebas experimentales del presente trabajo de investigación.

A mi asesor de tesis Ing. MSc. David Juan Ramos Huallpartupa, quien con paciencia y comprensión me ha guiado a lo largo de este camino, estando siempre pendiente del avance de la investigación.

A mis Jurados de Tesis PhD. Florentino Lázaro Mendoza Marín, Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez, Ing. Juvenal Rivas Leguía, quienes dignamente colaboraron con sus conocimientos para la mejora de mi proyecto e informe final de investigación, con sus acertadas opiniones y respectivas correcciones.

Así mismo quiero agradecer a los profesionales encargados del Laboratorio de Química Ing. Herson Arone Palomino, por siempre estar prestos a brindarme su apoyo en todo lo requerido.

También quiero agradecer a todos los docentes que han contribuido en mi formación universitaria, gracias por ayudarme a construir el amor, cariño y respeto que siento por la carrera profesional de Ingeniería Agroindustrial.

A los que siempre consideraré amigos a pesar de la distancia, Elibet Moscoso Moscoso, Jimmy Aroni Huamán, Lucio Pichihua Román, Tania Sayori Salas Villano, Oscar Quispe Prado, Amilson Román Gonzales, Haydeé Yntusca Villa, Diego Peralta Guevara, por brindarme su apoyo incondicional.

## ÍNDICE

	PÁGINA
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO .....	ii
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT .....	xiv
CHUMASQA.....	xvi
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1. Problema de la investigación.....	3
1.1.1. Problema General .....	3
1.1.2. Problemas Específicos .....	3
1.2.1. Hipótesis general .....	3
1.2.2. Hipótesis específico .....	4
CAPÍTULO II: ANTECEDENTES.....	5
2.1. Internacional.....	5
2.2. Nacional .....	9
CAPITULO III: MARCO TEÓRICO .....	10
3.1. Propóleos .....	10
3.2. Composición química de propóleos .....	10
3.3. Características generales de los propóleos .....	11
3.4. Propiedades y usos de los propóleos .....	12
3.5. Métodos de recolección de propóleos.....	13
3.5.1. Método de raspado .....	13
3.5.2. Tipo mosquetero .....	13
3.5.3. Las mallas o rejillas plásticas .....	13
3.6. Descripción de la zona de recolección de propóleos.....	14
3.6.1. Comunidad campesina de Huinchos Pataccocha.....	14

3.6.2.	Comunidad campesina de Chiara .....	15
3.7.	Compuestos bioactivos.....	16
3.8.	Compuestos fenólicos.....	17
3.9.	Los flavonoides .....	19
3.9.1.	Estructura química de flavonoides .....	20
3.9.2.	Clasificación de los flavonoides.....	20
3.9.3.	Clasificación de acuerdo a las actividades farmacológicas de los flavonoides .....	21
3.9.4.	Propiedades antioxidantes de los flavonoides .....	21
3.10.	Radicales libres.....	23
3.11.	Capacidad antioxidante .....	24
3.12.	Antioxidantes.....	24
3.13.	Técnicas para la determinación de capacidad antioxidante .....	25
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....		26
4.1.	Lugar de ejecución.....	26
4.2.	Material de estudio.....	26
4.2.1.	Población.....	26
4.2.2.	Muestra .....	26
4.3.	Equipos e instrumentos .....	26
4.3.1.	Equipos .....	26
4.3.2.	Materiales de laboratorio .....	27
4.3.3.	Reactivos e insumos.....	28
4.3.4.	Unidad de análisis.....	29
4.4.	Metodología para la obtención de materia prima.....	29
4.6.	Metodología de análisis .....	32
4.6.1.	Determinación de la capacidad antioxidante .....	32
4.6.2.	Determinación de fenoles totales .....	36
4.6.3.	Metodología para la determinación de los flavonoides.....	39

4.7.	Análisis estadístico .....	40
CAPÍTULO V: RESULTADOS .....		43
5.1.	Resultados de la capacidad antioxidante de los propóleos .....	43
5.2.	Resultados de los compuestos fenólicos de los propóleos .....	45
CONCLUSIONES.....		54
RECOMENDACIONES .....		56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		57
ANEXO.....		65

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición química de los propóleos. ....	11
<b>Tabla 2.</b> Flora en la comunidad campesina de Huinchos Patacocha. ....	14
<b>Tabla 3.</b> Flora en la comunidad campesina de Chiara. ....	16
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de los fenoles. ....	18
<b>Tabla 5.</b> Matriz de diseño experimental. ....	40
<b>Tabla 6.</b> ANOVA para un diseño en bloques completos al azar. ....	42
<b>Tabla 7.</b> Resultados de la capacidad antioxidante de los propóleos. ....	43
<b>Tabla 8.</b> ANOVA para Capacidad Antioxidante de los propóleos ....	44
<b>Tabla 9.</b> Resultados de fenoles totales de los propóleos. ....	45
<b>Tabla 10.</b> ANOVA para compuestos fenoles totales de los propóleos. ....	46
<b>Tabla 11.</b> Resultados de los Flavonoides de los propóleos. ....	46
<b>Tabla 12.</b> ANOVA para compuestos de Flavonoides totales de los propóleos. .	47

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Acción de los compuestos fenólicos frente a los radicales libres.....	18
<b>Figura 2.</b> Estructura básica de los flavonoides (fenilbenzopirano). .....	20
<b>Figura 3.</b> Estructura de la quercetina.....	22
<b>Figura 4.</b> Grupo galato presente en la molécula epigalocatequina galato. ....	23
<b>Figura 5:</b> Procedimiento de obtención de propóleos por el método de rejillas plastificadas.....	29
<b>Figura 6:</b> Procedimiento de obtención de propóleos por el método de raspado .....	30
<b>Figura 7:</b> Procedimiento de obtención de extractos de propóleos.....	31
<b>Figura 8:</b> Procedimiento de obtención de extractos de propóleos.....	33
<b>Figura 9:</b> Procedimiento para la determinación de capacidad antioxidante ....	34
<b>Figura 10:</b> Procedimiento para la preparación de la solución de Folin Ciocalteu al 1N.....	36
<b>Figura 11:</b> Procedimiento para la preparación de la solución de carbonato de sodio (75 g/L) .....	37
<b>Figura 12:</b> Procedimiento para la determinación de compuestos fenólicos .....	37
<b>Figura 13:</b> Procedimiento para la determinación de Flavonoide totales.....	39

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO 1:</b> Resultados analizados para la capacidad antioxidante de propóleos .....	63
<b>ANEXO 2:</b> Curva estándar de calibración para capacidad antioxidante .....	64
<b>ANEXO 3:</b> Pruebas de múltiple rangos para compuestos fenoles totales por métodos de la capacidad antioxidante. ....	64
<b>ANEXO 4:</b> Gráfica de ANOVA para la capacidad antioxidante de los propóleos.....	65
<b>ANEXO 5:</b> Datos del análisis de resultados para fenoles totales de propóleos.....	66
<b>ANEXO 6:</b> Curva estándar de calibración para compuestos fenoles totales ....	66
<b>ANEXO 7:</b> Pruebas de múltiple rangos para compuestos fenoles totales por Métodos.....	67
<b>ANEXO 8:</b> Gráfica de ANOVA para los compuestos fenólicos de los propóleos.....	67
<b>ANEXO 9:</b> Datos de análisis de resultados del contenido de flavonoides totales.....	68
<b>ANEXO 10:</b> Curva estándar de calibración de quercetina .....	68
<b>ANEXO 11:</b> Pruebas de múltiple rangos para contenido de flavonoides totales por métodos.....	69
<b>ANEXO 12:</b> Gráfica de ANOVA para los flavonoides totales de los propóleos ..	69
<b>ANEXO 13:</b> Imágenes de la recolección de las muestras de propóleos .....	70
<b>ANEXO 14:</b> Imágenes del desarrollo experimental de la investigación realizada.....	71
<b>ANEXO 15:</b> Matriz de Consistencia. ....	74

## ABREVIATURAS

<b>ANOVA</b>	: Análisis de varianza
<b>A</b>	: Es el método de raspado
<b>Abs</b>	: Absorbancia de la muestra
<b>GAE</b>	: Ácido gálico equivalente
<b>ABTS</b>	: Radical ácido 2,2'- Azinobis (3- etilbenzotiazolín -6- sulfónico)
<b>B</b>	: Es el método de rejilla plástica
<b>Bx</b>	: Ecuación simplificada de la curva de calibración de Trolox.
<b>b.s.</b>	: Base seca
<b>CA</b>	: Capacidad antioxidante
<b>CE<sub>50</sub></b>	: Concentración efectiva media
<b>D</b>	: Dilución
<b>DBCA</b>	: Diseño de bloques completos al azar
<b>DPPH</b>	: Radical libre 1,1- difenil-2- picrilhidrazilo
<b>DMPD</b>	: Dicloridrato de N,N-Dimetil fenilendiamina
$\epsilon_{ij}$	: Error atribuible a la medición
<b>EEP</b>	: Extracto etanólicos de propóleo
<b>Fa</b>	: Corresponde a la cantidad de flavonoides en 1 mL de solución de muestra a la absorbancia determinada.
<b>F.V.</b>	: Fuente de variabilidad
<b>FRAP</b>	: Ferricion reducing antioxidant Power (Poder antioxidante de reducción férrica).
<b>t</b>	: Tiempo
<b>T</b>	: Temperatura
<b>LSD</b>	: Least Significant Difference (Diferencia mínima significativa)
<b>M<sub>m</sub></b>	: Masa de la bebida que recibió tratamiento
<b>N</b>	: Normalidad
<b>ORAC</b>	: Oxygen Radical Absorbance Capacity (capacidad de

absorción de radicales libres de oxígeno)

- Peso** : Peso de la muestra en base seca
- RL** : Radicales libres
- $\tau_i$  : Medición que corresponde al tratamiento i
- TEAC** : Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Capacidad antioxidante como equivalente trolox)
- V** : Volumen de muestra
- Vol<sub>sol</sub>** : Corresponde al volumen total del extracto obtenido
- Y** : miligramos (mg) de ácido gálico equivalente / mL
- Y1** : Comunidad de Huinchos Pataccocha
- Y2** : Comunidad de Chiara

## SÍMBOLOS Y UNIDADES

**AlCl<sub>3</sub>** : Tricloruro de aluminio

**g** : Gramos

**H<sub>0</sub>** : Hipótesis nula

**H<sub>A</sub>** : Hipótesis alterna

**mL** : Mililitros

**nm** : Nanómetros

**S** : Desviación estándar

**mg** : Miligramo

**UV** : Ultravioleta visible

**$\mu$**  : Media global

**$\mu\text{g}$**  : Micro gramo

**$\bar{X}$**  : Promedio

**$\alpha$**  : Nivel de significancia

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo general, evaluar y comparar los valores de capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y contenido de flavonoides de propóleos producidos por abejas (*Apis mellifera*), extraídos por el método de raspado y rejillas plastificadas de las Comunidades: Huinchos Pataccocha y Chiara de la provincia de Andahuaylas, teniendo como muestra 1 kg de propóleos de buen aspecto físico, color característico y sin ningún daño biológico ni físico.

La capacidad antioxidante fue determinada a través de la prueba de DPPH (radical 2,2, difenil-1-picrilhidrazil), método desarrollado por Brand-Williams et al. (1995). El contenido de compuestos fenólicos, mediante el método de Folin Ciocalteu, metodología descrita por Singleton et al (1999) y el contenido flavonoides totales por Kumazawa et al. (2004).

Los análisis de los resultados fueron obtenidos por triplicado y procesados mediante el Diseño de Bloque Completos al Azar (DBCA) que fueron tabulados y evaluados a través del análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de 0.05, para el análisis se utilizó el paquete estadístico de STATGRAPHICS Centurión XVI.I. Como resultado, el contenido de la capacidad antioxidante más promisorios fueron para los propóleos de la Comunidad de Chiara extraídos por método de rejilla plástica con valor de  $(826.09 \pm 2.13 \mu\text{g Equivalente Trolox/g muestra b.s.})$  seguido por el método de raspado  $(817.30 \pm 4.54 \mu\text{g Equivalente Trolox/g muestra b.s.})$  y los valores menores resultaron ser para los propóleos de la Comunidad de Huinchos Pataccocha extraídos por el método de rejilla plástica con valor de  $(673.30 \pm 6.18 \mu\text{g Equivalente Trolox/g muestra b.s.})$  seguido por el propóleo extraído por método de raspado  $(651.74 \pm 10.92 \mu\text{g Equivalente Trolox/g muestra b.s.})$ , en cuanto a sus compuesto fenólicos los valores mayores representan los propóleos de la Comunidad de Chiara extraídos por el método de raspado con un valor de  $(67.31 \pm 0.22 \text{ mg GAE/g muestra b.s.})$  seguido por método de rejilla plástica  $(66.58 \pm 2.87) \text{ mg GAE/g muestra b.s.})$  y los valores menores resultaron de los propóleos de la Comunidad de Huinchos Pataccocha extraídos por método de raspado con  $(44.27 \pm 0.82 \text{ mg GAE/g muestra b.s.})$  seguido por el método de rejilla plástica  $(40.58 \pm 2.32 \text{ mg GAE/g muestra b.s.})$ , de la misma forma para el contenido de Flavonoides totales, los propóleos de la Comunidad de Chiara extraídos por el método del raspado fueron mayores con  $(47.96 \pm 2.2 \text{ mg quercetina /g muestra b.s.})$ , seguido por el propóleo extraído por

método de rejilla plástica con  $(46.18 \pm 1.4 \text{ mg quercetina /g muestra b.s.})$  mientras que los resultados de los propóleos de la Comunidad de Huinchos Patacocha extraídos por el método de raspado fueron menores con  $(33.48 \pm 0.5 \text{ mg quercetina /g muestra b.s.})$  seguido para el propóleo extraído por método de rejilla plástica con  $(29.32 \pm 1.8 \text{ mg quercetina /g muestra b.s.})$ .

En Conclusión, para todas las muestras analizadas se reportó alto contenido de capacidad antioxidante y presencia de compuestos fenólicos y flavonoides totales, lo que indica, que los propóleos de las comunidades campesinas de Chiara y Huinchos Patacocha son buenos captadores de radicales libres; en cuanto al tratamiento (métodos de extracción de los propóleos por rejilla plástica y raspado) no tiene efecto, sin embargo el factor bloque (comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara), de producción de los propóleos, presento efecto significativo estadísticamente en cuanto a su contenido de capacidad antioxidante y sus compuestos bioactivos.

**Palabras Clave:** *Apis mellifera, bioactivos, propóleos, capacidad antioxidante.*

## ABSTRACT

This research had as general objective to assess and compare the antioxidant capacity values, total phenols content and content of flavonoids of propolis produced by bees (*Apis mellifera*), extracted by scraping method and grids laminated. Samples were from Huinchos Patacocha and Chiara peasant communities obtained in the province of Andahuaylas. Bearing as sample 1 Kg of propolis of good quality and production, with a characteristic color and without any biological or physical damages.

Antioxidant capacity was determined through the DPPH test (radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), a method developed by Brand-Williams et al. (nineteen ninety five). The content of phenolic compounds, by the Folin Ciocalteu method, methodology described by Singleton et al (1999) and the total flavonoid content by Kumazawa et al. (2004).

The antioxidant capacity was used to determine the methodology of the radical DPPH decoloration and as standard (Trolox calibration curve); to determine the total phenols was used the Spectrophotometric method with the Folin Ciocalteu reagent and standard of phenols (Gallic acid), the total flavonoids content was calculated as the quercetin equivalent. The analysis of results was in triplicate obtained. They were statistically processed by designing complete blocks at random (DBCA) which were tabulated and evaluated through the analysis of variance ANOVA and with the minimal difference significant LSD Fisher as multiple comparison method with 95% of confidence level and 0.05 of level significance and to evaluate was used the statistical package STATGRAPHICS Centurion XVI. (I). the antioxidant content capacity most promising were from the rural community of Chiara propolis extracted by plastic grid method ( $826.09 \pm 2.13 \mu\text{g}$  equivalent Trolox/g sample b.s.) and followed by the scraping method ( $817.30 \pm 4.54 \mu\text{g}$  equivalent Trolox/g sample b.s.). With lower values turned out to be for the propolis extracted by the plastic grid method from peasant community of Huinchos Patacocha ( $673.30 \pm 6.18 \mu\text{g}$  equivalent Trolox/g sample b.s.) followed by propolis removed by scraping method with a value of ( $651.74 \pm 10.92 \mu\text{g}$  equivalent Trolox/g sample b.s.). In terms of its phenolic compound, the higher values represent propolis extracted by the scraping method from the peasant community of Chiara ( $67.31 \pm 0.22 \text{ mg GAE/g}$  sample b.s.) followed by the plastic grid-method

from the peasant community of Chiara ( $66.58 \pm 2.87$ ) mg GAE/g sample b.s.). In addition, the lower values were the propolis extracted by method of scraping of the peasant community of Huinchos Pataccocha ( $44.27 \pm 0.82$  mg GAE/g sample b.s.) followed by the plastic grid method from the peasant community of Huinchos Pataccocha ( $40.58 \pm 2.32$  mg GAE/g shows b.s.). In the same way for total flavonoids content were higher for the propolis extracted by the scraping method from the rural community of Chiara ( $47.96 \pm 2.2$  mg/g quercetin sample b.s.) followed by propolis extracted by plastic grid method with ( $46.18 \pm 1.4$  mg quercetin /g sample b.s.). While the lower results were for the propolis of the peasant community of Huinchos Pataccocha the scraping method with ( $33.48 \pm 0.5$  mg/g quercetin shows b.s.) followed by propolis extracted by means of plastic grid method with ( $29.32 \pm 1.8$  mg/g quercetin sample b.s.).

In Conclusion, for all the samples analyzed, the high capacity content reported. The antioxidant capacity, the phenolic presence and total flavonoids compounds, which indicates that the propolis from the peasant communities of Chiara and Huinchos Pataccocha are very good free radical scavengers. In respect of the blocking factor used as the "methodology" of extraction of the propolis by plastic grid and scraping methods has no effect. However, the blocking factor of the "places" of the propolis production, these have a significant effect in respect of its antioxidant content and its bioactive compounds.

**Keywords:** *Apis mellifera, Propolis, Antioxidant capacity, bioactive compounds.*

## CHUMASQA

Kay hatun yachay maskarqa huntasqa kaynimpí, mana ismunapaq kaqninta, chaymantapas allin asnaynin, hinallataq llimpin, mitakupa (*Apis mellifera*) propóleo rurasqampi, chaytam tupurqa, hinallataq iskaypa kasqanta qawarichirqa. Kaymi uqarisqa karqa astisqa kuskiywan chay rejillas plasticadas nisqawan llaqtapa kaqninwan: Huinchos, Pataccocha hinallataq Chiara, Andahuaylas llaqta ukupi. Chaypim rakisqa karqa 1 kg. *Propoleo* nisqa, kaymi aklakurqa allin kasqanta qawarispá, chiqap llimpinman rikchakusqanta qawarispá hinallataq mana imapas qanrachasqa utaq chaqrusqa kasqanta qawarispá.

Kay kawsayku mana ismunanpaq kaqkuna taripasqa karqa DPPH (radical 2,2, difenil-1-picrilhidrazil) nisqa katariwan, kay kuskiymi karqa Brand-Williams runapa rurasqan. et al. (1995) watapi, Quntasqa *asnaynin* kaqñataq Folin Ciocalteu, runapa kuskisqanwan, kaymi maskapaspa riqsichisqa karqa Singleton runapa, et al (1999) watapi; llimpin huntasqa kasqanñataq Kumazawa runapa et al. (2004) watapi.

Chay tarisqa rurukunaqa karqa kimsakama maskapasqam, hinallataq kimsakama ruwapasqa, llutan lluksimuynin tarinapaqñataq (DBCA) nisqawan, hinallataq yupasqa, tupusqa, kuyuqnin allin qawarinapañataq (ANOVA) nisqawan. Kaymi ayparqa 0,05 qapaqkama, kay maskapanapaqñataqmi hapipakurqa STATGRAPHICS Centurión XVI.I. yupanaman. Kay kawsay waqaychapaqnin, propoleo nisqapa kaqninmi aswan allin llusqsimurqa Chiara llaqtapi hurqusqa propoleomanta, chaytam uqarirqa rejilla plástica nisqa kuskisqawan, tupuyninmi ayparqa ( $826.09 \pm 2.13 \mu\text{g}$  nisqaman, chiqap Trolox/g muestra b.s.), qatirqa astisqa kuskisqawan ( $817.30 \pm 4.54 \mu\text{g}$  chiqap Trolox/g muestra b.s.) pisillamanñataq ayparqa Huinchos Pataccochapi propóleo uqarisqa, kay rejilla plástica kuskisqawan quñusqa ( $673.30 \pm 6.18 \mu\text{g}$  chiqap Trolox/g rakisqa b.s.), qatirqam astisqa kuskisqawan urqusqa ( $651.74 \pm 10.92 \mu\text{g}$  chiqapypasqa Trolox/g muestra b.s.), allin asnayninñataq astawan karqa Chiara propoleopa, astisqa kuskisqawan urqusqapa, ayparqam ( $67.31 \pm 0.22 \text{ mg GAE/g}$  rakisqa b.s.), qatirqa rejilla plástica nisqawan kuskisqa ( $66.58 \pm 2.87 \text{ mg GAE/g}$  rakisqa b.s.), pisillamanñataqmi ayparqa Huinchos Pataccocha llaqtapi astisqa kuskisqawan urqusqakuna ( $44.27 \pm 0.82 \text{ mg GAE/g}$  rakisqa b.s.) qatirqa rejilla plástica

kuskisqawan urqusqa ( $40.58 \pm 2.32$  mg GAE/g muestra b.s.), chaynallataqmi llimpin, Flavonoides nisqa aswan achka karqa Chiara llaqtapi astisqa kuskiywan urqusqapa ( $47.96 \pm 2.2$  mg quercetina /g rakisqa b.s.), qatirqa rejilla plástica nisqa kuskisqawan urqusqa ( $46.18 \pm 1.4$  mg quercetina /g rakisqa b.s.), Huinchos Patacocha llaqtapi urqusqañataq pisillaman ayparqa kay astisqa kuskisqawan urqusqa ( $33.48 \pm 0.5$  mg quercetina /g rakisqa b.s.), chayman qatirqa rejilla plástica nisqa kuskisqawan urqusqa ( $29.32 \pm 1.8$  mg quercetina /g rakisqa b.s.).

Tukupaynimpi, tarikurqa Chiara, Huinchos hinallataq Patacocha llaqtakunapi urqusqa propoleopam kan ancha mana ismuchi, allin asnaynin, llimpinkuna (antioxidante, fenólicos y flavonoides), chaymi qawarichikun kay propoleokunapa allin kawsanapaq kaqkuna chaskisqanta; imaymana urqusqakunaqa (rejilla plástica nisqawan, astisqa, kuskisqakunawan) manan ayparinchu; ichaqa Huinchos, Patacocha, Chiarapi urqusqa propoleokunapim tarikun aswan mana ismuchi, allin asnaynin, llimpinkuna. Kaymi tarikuqa yupana maskapaywan.

## INTRODUCCIÓN

La crianza de abejas en la Provincia de Andahuaylas- Región Apurímac, viene creciendo gradualmente en los últimos años, los apicultores de la zona vienen obteniendo cantidades considerables de miel (producto principal), sin embargo el polen, propóleos, cera, jalea real y apitoxinas producidas por la colmena no son extraídos, siendo uno de los factores determinantes los escasos conocimientos sobre las metodologías de extracción, propiedades bioactivas y capacidad antioxidante que son atribuibles a estos productos, además de que presentan propiedades funcionales que puedan ser aprovechados en diversos subproductos con valor agregado.

Los propóleos han sido utilizados desde tiempos antiguos por poseer propiedades farmacéuticos que se les han atribuido, en la actualidad se emplea en la medicina natural, apiterapia, biocosméticos y alimentos, ya que la composición química del propóleo es altamente variable, debido a que depende del sitio de recolección y por lo tanto de los diferentes ecosistemas donde las abejas recolectan los exudados y las secreciones de las plantas (Bankova & Marcucci, Standardization of propolis present status and prespective, 2000).

Estos sub productos son principalmente una mezcla de polifenoles cuya concentración relativa depende del origen de la muestra, mientras que la actividad biológica depende de los flavonoides. Teniendo en cuenta la relación Flavonoides-efecto biológico se clasifican como productos bioactivos, capaces de establecer múltiples combinaciones, con efecto sinérgico, asignando especial importancia su poder antioxidante (Rivero, Román, & Ramos, 2014).

Los polifenoles y los flavonoides son considerados los principales compuestos bioactivos del propóleo, ya que se ha demostrado que la ingesta de los mismos reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Álvarez, Rodríguez, Bedascarrasbure, & Maldonado, 2004).

Por ello el presente trabajo de investigación persigue el objetivo general de:

Evaluar y comparar los valores de capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y contenido de flavonoides de propóleos extraídos por el método de raspado y rejillas plastificadas de las Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara, de la provincia de Andahuaylas.

Y los objetivos específicos siguientes:

Determinar la capacidad antioxidante de propóleos recolectadas en las dos Comunidades de Chiara y Huinchos Patacocha extraídos por los métodos de raspado y rejilla plástica.

Determinar los contenidos de fenoles totales, de muestras de propóleos recolectadas de las Comunidades de Chiara y Huinchos Patacocha, extraídos por los métodos de raspado y rejilla plástica.

Determinar el contenido de flavonoides totales de propóleos recolectadas en las Comunidades de Chiara y Huinchos Patacocha, extraídos por los métodos de raspado y rejilla plástica.

## **CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Problema de la investigación**

#### **1.1.1. Problema General**

- ✓ ¿En qué medida varían los valores de capacidad antioxidante, compuestos fenólicos totales y flavonoides totales de propóleos producidos por abejas (*Apis mellifera*), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara?.

#### **1.1.2. Problemas Específicos**

- ✓ ¿En qué medida varían los valores de capacidad antioxidante de los propóleos producidos por abejas (*Apis mellifera*), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara?
- ✓ ¿En qué medida varían los valores los compuestos fenólicos totales de propóleos producidos por abejas (*Apis mellifera*), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara?.
- ✓ ¿En qué medida varían los valores de flavonoides totales de propóleos producidos por abejas (*Apis mellifera*), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara?.

### **1.2. Hipótesis de la investigación**

#### **1.2.1. Hipótesis general**

- ✓ La capacidad antioxidante, los compuestos fenólicos totales y flavonoides totales de propóleos producidos por abejas (*Apis mellifera*), varían significativamente de acuerdo al método de recolección (método de raspado y rejilla plastificada) y a la zona de recolección (Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara).

### **1.2.2. Hipótesis específico**

- ✓ Los valores de capacidad antioxidante varían significativamente de acuerdo al método de recolección (método de raspado y rejilla plastificada) y a la zona de recolección (Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara).
- ✓ Los contenidos de fenoles totales varían significativamente y dependen de la localidad de recolección (Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara) y de los métodos empleados (método de raspado y rejilla plastificada).
- ✓ El contenido de flavonoides totales varía significativamente de acuerdo a la zona de recolección de los propóleos (comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara), así como también a los métodos (método de raspado y rejilla plastificada).

## CAPÍTULO II: ANTECEDENTES

### 2.1. Internacional

Álvarez, Rodríguez, Bedascarrasbure y Maldonado (2004), evaluó el contenido de fenoles y flavonoides de propóleos provenientes de las siguientes regiones que se menciona: El Contenido de fenoles expresados en (mg de GAE/gramo de EEP), de la Región del Parque Chaqueño 13.58, Valles Calchaquíes 18.75, Cuyo 18.43, Estepa Pampeana 21.31 y Patagonia Norte 21.16. Mientras para Flavonoides determinados es expresados en (mg quercetina /g de EPP) del propóleo recolectado del Parque Chaqueño como resultado mostró Valles 3.61, Calchaquíes 12.28, Cuyo 9.44, Estepa Pampeana 7.87 y Patagonia Norte 5.91. Concluyó que el mayor contenido de fenoles fue para Estepa Pampeana y en cuanto a flavonoides correspondió a la Región de Valles Calchaquíes.

Hamasaka, Ahn, Kumazawa y Nakayama (2004), investigó la actividad antioxidante de muestras de propóleos de varias áreas de Japón. Se identificó los componentes principales y se analizó cualitativamente cada componente. Los constituyentes y los valores cuantitativos en el propóleo variaron con el origen geográfico. Esto podría ser porque Japón presenta muchas islas que se extienden desde el norte (Hokkaido) hasta el sur (Okinawa), variando ampliamente en clima y vegetación. Particularmente, los propóleos de Okinawa eran bastante diferente de las de otras áreas. Okinawa se encuentra en la zona subtropical y la vegetación es bastante diferente de las otras áreas. Se ha ilustrado la diversidad del propóleo japonés por primera vez. Según los autores, nuevos estudios sobre los constituyentes y las actividades biológicas de propóleos Japoneses son necesarios. Los valores de fenoles totales, se encontraron en un rango de  $53.3 \pm 0.5$  mg/g de EEP (localidad de Akita – Kazuno) hasta  $431.2 \pm 7.3$  mg/g de EEP (Okinawa), por otro lado, los valores de flavonoides se situaron entre  $18.7 \pm 0.4$  mg/g de EEP (Akita – Kazuno) hasta  $113.1 \pm 1.5$  mg/g de EEP (Akita – Minamiakita).

Lozina, Peichote, Acosta y Granero (2009), determinó los componentes de los propóleos recolectados de diferentes regiones, el resultado de los componentes fenólicos para cada Región es de la siguiente manera: Chaco 10.90, Corrientes 18.67, Santiago del Estero 13.15 y Mendoza 16.92 expresados en (mg de ácido gálico/g de EEP). Para Flavonoides del propóleo recolectado de Chaco 0.24,

Corrientes 2.30, Santiago del Estero 0.85 y Mendoza 2.84 expresados en (mg de quercetina/g de EEP) siendo significativamente superiores en los propóleos originarios de cada lugar donde la vegetación más abundante pertenece a *Populus sp* (árboles de álamo).

Palomino, Garcia, Gil, Rojano y Durango (2009), comparó la calidad del extracto etanólicos de propóleos (EEP) provenientes de diferentes regiones de Antioquia en apiarios de los municipios de Caldas, Betania y fueron extraídos mediante el método de raspado para ser evaluados fenoles totales que resultó para Caldas 34.00 y Betania 75.22 expresados en (mg de ácido gálico /g de muestra ) y en flavonoides para Caldas 6.38 y Betania 4.75 expresados en (mg de quercetina/g de muestra), y la capacidad antioxidante para Caldas 54.6 y para Betania 236.3 expresados en ( $\mu$ g de equivalente trolox/g de EEP), concluyó que la actividad antioxidante de algunos propóleos indica su potencial como productos nutracéuticos.

Ariflazar, Ismail y Begum (2010), menciona que India presenta un gran número de variedades de propóleos diferentes en composición química y valores medicinales. Según los autores, las muestras recolectadas en India, mostraron alto contenido de compuestos polifenólicos, por lo que los propóleos podrían ser usados en la prevención de enfermedades causadas por los radicales libres. Se tuvieron muestras con extractos acuosos y extractos de etanol, donde el contenido total de fenoles fueron  $269.10 \pm 0.17$  y  $159.10 \pm 0.266$  mg GAE/g, respectivamente. De la misma manera, se determinó el contenido de flavonoides totales, obteniendo valores de  $25.50 \pm 0.36$  mg QE/g (para el extracto acuoso) y  $57.25 \pm 0.24$  mg QE/g (para el extracto de etanol). Como se puede observar, los valores del extracto acuoso, fueron mayores a los extractos etanolicos, sin embargo la muestra de propóleos con extracto de etanol, presentaron mayores valores en flavonoides.

Salinas (2012), recolectó las muestras durante la época de primavera del año 2011 en colmenas ubicadas en las localidades de Buin, Caleu, Cajón del Maipo y Curacaví para determinar la concentración de compuestos fenólicos totales y la de flavonoides mediante los ensayos de Folin Ciocalteu y tricloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) respectivamente obteniendo lo siguientes resultados para Fenoles Totales todas expresados en (mg GAE/g de muestra b.s.) para propóleo de Buin 25.30,

Caleu 29.30, Cajón del Maipo 23.00 y Curacaví 27.00. Mientras la cantidad de Flavonoides todas expresados en (mg quercetina/g b.s.) Buin 13.19, Caleu 4.73 Cajón del Maipo 4.58 y Curacaví 4.80 respectivamente, Concluye que la mayor en cuanto al fenoles fue el propóleo de la localidad de Caleu y en flavonoides fue el propóleo de la localidad de Buin.

Rodríguez, et al. (2012), analizó el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los propóleos extraídos en los cuatro municipios es así que para fenoles totales en los municipios de Galapa (81.20), Sabanalarga (63.70), Santo Tomás (86.60) y Juan de Acosta (94.60) todas expresadas en (mg de ácido gálico/g de muestra). Mientras los flavonoides en Galapa (3.40), Sabanalarga (2.30), Santo Tomás (5.20) y Juan de Acosta (1.90) expresados en (mg de quercetina/g de muestra). La capacidad antioxidante por la metodología de captación del radical DPPH fueron: Galapa (190.40), Sabanalarga (65.10), Santo Tomás (134.20) y Juan de Acosta (103.80) expresados en  $\mu\text{g}$  de equivalente trolox/g de propóleos; concluyó que las diferencias de los resultados se atribuyen a las condiciones de recolección y de almacenamiento de los propóleos, que quizás no sean las más adecuadas y repercuten en el detrimento de la calidad de las muestras.

Hernández (2013), determinó el contenido de flavonoides totales de propóleo de la miel propolizada que fue de 36 mg Quercitina /100 g y de la miel pura fue 19 mg Quercitina/100 g, evidenciándose de esta manera la concentración de flavonoides y la relación entre materias primas y producto final. Los contenidos de compuestos fenólicos totales en función del ácido gálico fueron de 29.11 mg/100 g de muestra para el propóleo como el más alto, seguido por la miel propolizada con 14.90 mg/100 g y la miel pura 14.10 mg/100 g y la actividad antioxidante expresados en ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.), por inhibición de la polifenoloxidas a presentó el porcentaje más alto con 497.50 en comparación al estándar de vitamina C que a la misma concentración alcanzó el 997.50, seguido por la miel pura con 403.40 y el propóleo con 397.70 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.).

Vargas, Sánchez, Urrutia y Escalante (2013), reveló que las propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas presentes en los propóleos pueden brindar la posibilidad a la industria alimentaria de una gran variedad de aplicaciones, utilizándolo como un conservador natural que permita retardar la

descomposición de alimentos durante su almacenamiento, con la ventaja de que los compuestos presentes pueden ser beneficiosos para la salud humana. Por ello es necesario realizar estudios que profundicen acerca de los posibles efectos que a largo plazo se deriven de su consumo, y sobre el posible efecto en las propiedades de los alimentos procesados.

Rengifo (2013), señaló que los resultados indican que el extracto etanólico de propóleos contiene en su composición flavonoides al presentar respuestas positivas en todas las pruebas realizadas. El porcentaje de flavonoides totales expresados en quercetina fue 8.71 g/100 g de extracto seco.

Angulo (2014), recolectó el propóleo de cuatro localidades de la provincia de Chimborazo, por el método de raspado y evaluó el contenido de fenoles mediante el método colorimétrico de Folin Ciocalteu, de ello obtuvo resultados para fenoles totales expresado en (mg de ácido gálico/g de EEP), en propóleo de la localidad de Nitiluisa obtuvo (74.05), Socorro (80.29), Chambo (74.25), y Virgen de Fátima (78.62). Concluyó que el mayor compuesto fenólico obtuvo del propóleo de la localidad de Socorro.

Delgado, Andrada y Ramírez (2015), determinó los compuestos bioactivos del propóleo por el método de Folin Ciocalteu y ácido gálico como estándar para fenoles totales; el contenido de flavonoides totales cuantificó por el método del ( $AlCl_3$ ), usando la quercetina como estándar por análisis espectroscópico, obteniendo como resultado de fenoles totales 8.60 (mg GAE/g de muestra b.s.) y Flavonoides 4.30 (mg quercetina/g b.s.), concluye que la extracción etanólico del propóleo para ambos casos influyeron para que evidencie en los resultados.

Nina, et al. (2016), estudio el perfil químico y la capacidad antioxidante de propóleos bolivianos, para ello se emplearon 10 diferentes muestras de propóleos bolivianos, sometidos a análisis espectrofotométricos. Según los estudios, existió una alta variabilidad en la composición de las muestras, lo cual dependía de la zona geográfica. Así mismo la investigación señala que, los propóleos pueden ser utilizados como un recurso medicinal y nutricional por su contenido de fenoles totales. En la investigación se obtuvieron valores de fenoles totales en rangos de  $43.00 \pm 0.30$  g GAE/kg (Santa Cruz) a  $176.00 \pm 4.80$  g GAE/kg (Chuquisaca – Sucre). Así mismo obtuvieron resultados del contenido de flavonoides totales, mostrando valores como  $5.50 \pm 0.60$  g CE/kg (Santa Cruz),

32.90 ± 4.30 g CE/kg (en Tarija), 44.20 ± 2.80 g CE/kg (Cochabamba), 57.10 ± 2.80 g CE/kg (en Chuquisaca – Sucre).

Venegas (2016), analizó los análisis de la actividad antioxidante de propóleos de la región del Biobío, obteniendo como resultado sobre Polifenoles totales arrojó valores entre de 100.56 mg AGE/ g de propóleo a 221.20 mg AGE/ g de propóleo, flavonoides totales 26.26 mg Quercetina /g propóleo a 63.82 mg Quercetina /g propóleo y la capacidad antioxidante se encuentran en un rango de 722.48 a 1869.99 en µg de equivalente trolox/g de propóleos.

Castillo y Chipatecua (2016), realizó un estudio comparativo de tres diferentes métodos de recolección de propóleos crudos de abejas *Apis mellifera* (raspado, malla y colector adaptado) en tres diferentes ubicaciones geográficas en la provincia del Sumapaz Cundinamarca, propóleo por método de recolección arrojó valores entre 44.10 g – 600.90 g en Guavio, 14.60 – 319.00 g en Espinalito y 9.60 - 94.10 g en Pasca las muestras obtenidas presentaron concentraciones de fenoles totales entre 58.18 g en Guavio, 29.50 g Espinalito y 29.00 g Pasca todas expresados (miligramos de ácido gálico GAE/gramo de EEP).

## **2.2. Nacional**

Soto (2015), determinó los metabolitos secundarios y cuantificar los fenoles y flavonoides totales de los extractos etanólicos de propóleos por método colorimétrico de tres localidades del Perú (Piura, Ayacucho y Pucallpa), obtuvo como resultado de Fenoles totales para Piura 70.10, Ayacucho 78.60 y Pucallpa 60.5 expresados en (miligramos de ácido gálico GAE/gramo de EEP) Flavonoides para Piura 34.50, Ayacucho 42.50 y Pucallpa 28.50 expresados en (mg quercetina /g de EEP). Concluyó que el EEP proveniente de Ayacucho presentó mayor contenido de fenoles y flavonoides totales.

Ríos (2017), determinó la actividad antioxidante de los cinco muestras de propóleos diferentes localidades de la Región Amazónica, se resume el resultado de la capacidad antioxidante solamente como sigue: del propóleo de la localidad de Sucumbíos es de 508.00 y en Orellana 194; Dayuma 204.67, Loreto 226.33 Y Pastaza 241.33 todas expresados en (µg de equivalente trolox/g de propóleos), concluyó que la diferencia de valores depende del lugar y sobre todo los vegetales que las *Melipona ebúrneas* consuman.

## CAPITULO III: MARCO TEÓRICO

### 3.1. Propóleos

El término propóleos proviene del griego “pro” que significa para o en la defensa, y “polis” que significa la ciudad; dando como resultado la palabra própolis que significa para la defensa de la colmena (Cueto, 2001).

El propóleos es un material resinoso que las abejas elaboran a partir de las exudados y resinas de árboles, plantas y flores, es utilizado por las abejas para la construcción y el mantenimiento de la colmena; tapando grietas o hendiduras evitando así la entrada de viento frío o la pérdida de calor, ayudando a consolidar los componentes de la colmena y aislando las partículas extrañas dentro de la colonia para evitar su composición (Bankova, Popova, & Bogdanov, 2005). El propóleos es una materia pegajosa, gomosa, resinosa, de color variable marrón verdoso, marrón oscuro, verde oscuro, amarillo verdoso, castaño, rojizo e incluso negro dependiendo de su origen. Su aroma puede ser placentero a yemas de especies arbóreas, miel, ceras y vainilla, pero también puede tener sabor amargo. Se obtiene de la recolección de las exudaciones o secreciones de origen vegetal (yemas, cortezas, ramas, frutas jóvenes, etc.) realizada por las abejas (*Apis mellifera*). Luego de mezclar esas exudaciones con otros agentes como polen y enzimas se tiene lugar a una modificación física y química, y el producto es transportado al interior de la colmena, para ser utilizado finalmente con diferentes funciones (López E. , 2015).

Químicamente diremos que el propóleo es “Un polímero balsámico resinoso que las abejas elaboran a partir de diversas resinas de plantas, el que potencializan con las enzimas producidas por sus glándulas salivales, enriqueciéndolos con los residuos de la digestión láctica de los gránulos de polen. Su aspecto externo es amorfo plástico terroso con color que puede variar de castaño claro a pardo oscuro y penetrante olor resinoso también variable en intensidad” (Maldonado, Alvarez, & Rodríguez, 2013).

### 3.2. Composición química de propóleos

La composición de propóleos es bastante compleja y varía de acuerdo a la flora, condiciones geográficas y climáticas donde se elabora el producto. Las abejas recolectan las resinas en un perímetro de 1 a 2 kilómetros alrededor de la colmena y su composición dependerá de la vegetación circundante y de la preferencia de

las abejas por un determinado tipo de flores, según su color, aroma, forma y floración (Bankova, Popova, & Bogdanov, 2005). La composición química básica es una mezcla de ceras, resina, bálsamos, aceites esenciales y polen, destacándose la presencia de compuestos bioactivos totales como ácido cinámico, compuestos fenólicos y flavonoides, terpenos, ácidos aromáticos, derivados del ácido caféico, ácidos grasos y aminoácidos (Ferreira, Guzman, Tello, & De Olivera, 2011).

Los propóleos son una sustancia soluble en solventes orgánicos como: alcohol, benceno, acetona y éter, su composición es muy compleja como se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Composición química de los propóleos.

Componente	Porcentaje (%)	Contenido
Resinas y bálsamos	50-55	Flavonoides, ácidos fenólicos y esterés
Cera de abeja	30-40	Ácidos grasos de cadena larga
Aceites esenciales	5-10	Aceites volátiles
Polen	5	Proteínas
Materiales diversos y compuestos orgánicos	5 – 14	14 trazas de minerales, Fe y Zn (más comunes), cetonas, lactonas, quinonas, esteroides, ácido benzoico, vitaminas y azúcares

*Fuente:* (Krell, 1996)

### 3.3. Características generales de los propóleos

Propóleos es prácticamente insoluble en agua, pero soluble en alcohol, razón por la cual la mayoría de las aplicaciones se realizan a través de extractos etanólicos. El própolis es una sustancia resinosa, balsámica, de color verde pardo, castaño o incluso casi negro, dependiendo de su origen botánico. Tiene sabor acre, frecuentemente amargo, y olor agradable y dulce, de forma que cuando se quema, exhala una fragancia de resinas aromáticas. La consistencia varía según la temperatura; por debajo de los 15 °C es duro y frágil, alrededor de los 30 – 35 °C es suave y moldeable, entre los 35 y 60 °C es pegajosa, se funde a los 60 – 70°C,

es bastante termoestable, manteniendo sus propiedades antibacterianas después de haber sido sometido a temperaturas de 100 °C durante media hora (Prado, Azevedo, & Flechtmann, 1962).

Muchos apicultores creen que *Apis mellifera*, así como otras especies de género *Apis*, recogen solamente las resinas de los árboles que se encuentran en el entorno de la colmena (4 a 5 kilómetros) olvidando la amplitud de su capacidad de vuelo, que les permite efectuar la selección de aquellas resinas que necesitan específicamente. Posiblemente esta selección está relacionada con las características fitogeográficas y con la actividad antimicrobiana de la resina, dado que las abejas utilizan el propóleo como un antiséptico (Salatino, Weinstein, Negri, & Message, Origin and chemical variation of Brazilian propolis, 2005).

### **3.4. Propiedades y usos de los propóleos**

Es en el área de la medicina humana donde más se ha estudiado y aplicado los beneficios del propolis. Se le atribuyen propiedades y usos tales como: (Serra, Bosch, & An, 1994).

- Antibacteriana, antifúngica y antiviral; utilizada en micosis cutáneas y otras afecciones dermatológicas, así como para infecciones vaginales.
- Anestésica y analgésica; alivia el picor e inflamación de las picadas de insectos, y ha sido utilizado como anestésico local en odontología (3,5 veces más potente como anestésico que la cocaína).
- Antiinflamatoria; utilizada en procesos reumáticos y artríticos.
- Cicatrizante, se ha utilizado en cirugía para facilitar la cicatrización de heridas, y tiene efectos positivos en el tratamiento de úlceras y gastritis, así como para quemaduras.
- Antioxidante; potencia la acción de la vitamina C.
- Estimulador del sistema inmunológico.
- Efectos antitumorales.
- Tratamiento en afecciones del sistema respiratorio; laringitis, anginas, y afecciones broncopulmonares.

### **3.5. Métodos de recolección de propóleos**

#### **3.5.1. Método de raspado**

Consiste en raspar con palanca o con espátula todos los lugares de la colmena en los cuales las abejas hayan depositado propóleo. Este método es cada vez menos recomendado porque resulta muy inconveniente por la poca productividad y la alta posibilidad de contaminación y oxidación de los compuestos bioactivos por la presencia de metales en el material utilizado para el raspado (Martínez & Lara, 2010).

Es la técnica más antigua y “rústica” que consiste en “raspar”, con la rasqueta o espátula, los propóleos depositados por las abejas sobre los marcos, pisos y borde del techo de la colmena. El uso de la técnica del raspado va perdiendo trascendencia con los años, pues resulta muy precario y no es muy higiénico, ya que al “raspar” con la rasqueta o espátula, contamina los propóleos con metales pesados que son rechazados por las empresas que lo procesan para uso medicinal (Martínez, 1991).

#### **3.5.2. Tipo mosquetero**

Llamadas así, por su trama y la constitución plástica de su material, no ha sido aprobado para su uso por la industria alimenticia. La misma puede liberar polímeros indeseables (Martínez, 1991).

#### **3.5.3. Las mallas o rejillas plásticas**

Estas son aprobadas por la legislación Argentina; se colocan entre las cabezas de los cuadros y la entre tapa. Las mismas son láminas con orificios o ranuras que las abejas rellenan con propóleos para evitar el enfriamiento del nido de cría. Esta disposición permite su fácil retiro y posterior recolección (Martínez, 1991).

Las rejillas consisten en una lámina de plástico con ranuras que las abejas se apresuran a rellenar con propóleos, lo que permite su fácil retirada y recolección. El propóleo obtenido mediante este procesamiento posee una calidad superior que el colectado mediante el sistema de raspado (Dussart, 2007).

La rejilla plástica es la más utilizada en la actualidad ya que es práctico, cómoda e higiénica. La técnica se basa en el instinto de la abeja para cubrir los espacios libres en la colmena y consiste en colocar en la entre tapa de la colmena la malla

plástica, el espacio de los orificios debe de ser de 4.0 mm (ancho de una obrera). Para que ella los llene de propóleos, pues si superan esa medida, ellas podrán pasar libremente de un lugar a otro y más que taparlo lo verían como un “lugar de tránsito interno” dentro de su colmena (Martínez & Lara, 2010).

### 3.6. Descripción de la zona de recolección de propóleos

#### 3.6.1. Comunidad campesina de Huinchos Pataccocha

La comunidad campesina de Huinchos Pataccocha se encuentra ubicada en el distrito y provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac a 17.5 km de la ciudad de Andahuaylas, está ubicada a 3714 msnm.

#### ❖ Características climatológicas

El clima de esta zona es frío, las temperaturas varían entre los 7 y 10 °C; los terrenos son de pendiente moderada a fuerte, poseen extensas llanuras, lomadas y colinas de suave pendiente. Los suelos son francos y francos limosos, poco profundos y bien drenados; los cultivos principales son la papa, quinua y otros tubérculos menores como el olluco y la oca; los pastos de este piso tienen la capacidad para producir buen forraje para el ganado.

#### ❖ Flora

Entre las principales especies que se encuentran en el ámbito se visualiza en la siguiente tabla 2.

**Tabla 2.** Flora en la comunidad campesina de Huinchos Pataccocha.

Nombre común	Nombre científico	Familia
Arrayan	<i>Nyrcianthes ferreyrae</i>	Myrtaceae
Muña	<i>Mintostachis setosa</i>	Lamiaceae
Eucalipto	<i>Eucaliptus globulus</i>	Myrtaceae
Pino	<i>Pinus radiata</i>	
Cipres	<i>Cupresus macrocarpa</i>	Cupresaceae

Fuente: (Serfor, 2012)

### **3.6.2. Comunidad campesina de Chiara**

La comunidad campesina de Chiara se encuentra en el distrito de Chiara, provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac a 105 km de la ciudad de Andahuaylas y está ubicada a 3230 msnm.

#### **❖ Características climatológicas.**

En el distrito de Chiara al contar con tres tipos de pisos ecológicos como la Yunga, Quechua y Suni, su clima se presenta entre templado a frío, pero también presenta un clima cálido en sus partes bajas, siendo los meses de diciembre a marzo con altas precipitaciones, mientras que los restantes meses se presenta con heladas, granizadas y ventarrones que destruyen muchas veces la producción agropecuaria también así se presentan sequías, donde se observa altas temperaturas por la incidencia de los rayos solares fuertes y candentes que afectan el desarrollo fisiológicos de los cultivos.

La temperatura promedio anual es de 18 °C a 22 °C a mayor altura, las temperaturas mínimas son mayores y las precipitaciones aumentan. Las temperaturas más bajas del año se registran por los meses de mayo, junio, julio y agosto, siendo las temperaturas máximas en noviembre y diciembre, manteniéndose casi constante hacia enero y febrero; los meses de mayor precipitación son enero, febrero y marzo donde las temperaturas son altas y las épocas sin lluvias entre junio, julio, y agosto, meses donde se registran las temperaturas más bajas.

La menor temperatura registrada a mayor altura es porque existe menos capa atmosférica que mantengan las irradiaciones solares en la tierra, mayor precipitación por que los vientos que van de zonas calientes y de mayor presión hacia las zonas altas de menor precipitación impulsan a las nubes en esa dirección.

#### **❖ Flora**

Entre las principales especies que se encuentran en el ámbito se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3.** Flora en la comunidad campesina de Chiara.

Nombre común	Nombre científico	Familia
Cantu	<i>Cantua buxifolia</i>	
Arrayan	<i>Nyrcianthes ferreyrae</i>	Myrtaceae
Retama	<i>Spartium junceun</i>	Solanaceae
Muña	<i>Mintostachis setosa</i>	Lamiaceae
Eucalipto	<i>Eucaliptus globulus</i>	Myrtaceae
Pino	<i>Pinus Radiata</i>	
Ciprés	<i>Cupresus macrocarpa</i>	Cupresaceae
Maguey	<i>Agave americano</i>	Agavaceae
Llaulli	<i>Bernadasia horrida</i>	Asteraceae
Tancar	<i>Colletia spinosa Lam</i>	Buddlejacea
Markju	<i>Franseria artimisioides</i>	Polemoniaceae
Chilca	<i>Baccharis lanceolata</i>	
Tara	<i>Caesalpinia spinosa</i>	Fabaceae
Quishuar	<i>Krameria triandra H. y P.</i>	Buddlejaceae
Capulí	<i>Prunus serótina</i>	Rosaceae
Sauce	<i>Salix humboldtina</i>	Salix humboldtina
Chachacoma	<i>Scallonia recinosa</i>	Grosulariaceae
Queñua	<i>Polylepis incana</i>	Rosaceae
Tasta	<i>Escallonia resinosa</i>	Grossulariaceae
Molle	<i>Schinus molle</i>	
Aliso	<i>Alnus jorullensis</i>	
Nogal	<i>Juglans neotrópica</i>	
Huaranguay	<i>Tecoma sambucifolia</i>	
Unka	<i>Myrciantes oreophylla</i>	

Fuente: (Serfor, 2012)

### 3.7. Compuestos bioactivos

Bioactivo procede del griego *bios*, vida y *activus*, con energía, y hace referencia a la generación de un efecto o la producción de una reacción en un tejido vivo por interacción con una sustancia (Collado, 2014).

El termino componente bioactivo, se define como aquellos compuestos químicos que ejercen un efecto benéfico para alguna función corporal del individuo,

produciendo una mejora en su salud y bienestar o reduciendo un riesgo de enfermedad. Recientes trabajos de investigación científica han permitido clasificar los compuestos bioactivos presentes en los alimentos de origen vegetal, en grupos según las funciones de protección biológica que ejercen y sus características físicas y químicas (Barragán, 2011).

Los alimentos además de aportar nutrientes, contienen una serie de sustancias no nutritivas que intervienen en el metabolismo secundario de los vegetales: sustancias colorantes (pigmentos), aromáticas, reguladores del crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y otros, que no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no son considerados esenciales para la salud humana, pero que pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad, son los fitoquímicos o sustancias bioactivas. Las sustancias bioactivas o fitoquímicos se encuentran abundantemente en frutas y verduras, y en las bacterias "ácido lácticas" presentes en productos lácteos obtenidos por fermentación ácido láctica como el yoghurt, leche cortada, y verduras fermentadas. También es un componente de los alimentos que influyen en la actividad celular como un metabolito secundario (Sustancia que tiene una función biológica) y en los mecanismos fisiológicos, con efectos beneficiosos para la salud (Galván, 2016).

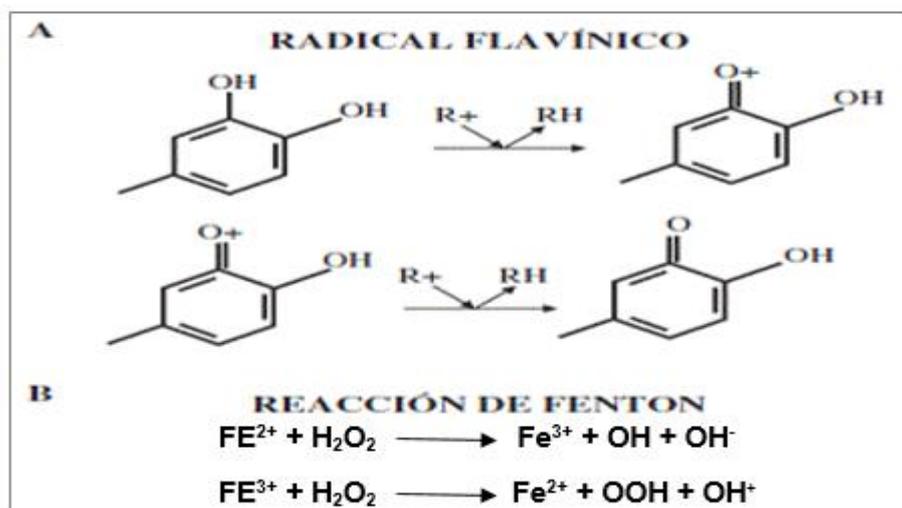
### **3.8. Compuestos fenólicos**

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo (Paladino, 2011). También están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Pedreño, 2012).

La cantidad de compuestos fenólicos presentes en una planta depende de factores como la especie o variedad, técnica y condiciones de cultivo, estado de maduración, así como de las condiciones de procesado (pelado, troceado, fritura, hervido) y almacenamiento, entre otras. Por otro lado, su distribución en los tejidos de las plantas, a nivel celular y subcelular, no es uniforme (Morales, 2011).

Una de las principales funciones de estos compuestos fenólicos es propicia para secuestrar radicales libres, debidos a la facilidad con la que el átomo de hidrógeno

del grupo hidroxilo aromático puede ser donado a la especie radical así como se muestra en la figura 1, y a la estabilidad de la estructura quinona resultante que soporta un electrón desapareado (Pannala, Chan, Brien, & Evans, 2001)



**Figura 1.** Acción de los compuestos fenólicos frente a los radicales libres.

*Fuente:* (Pannala, Chan, Brien, & Evans, 2001).

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo de compuestos químicos que poseen anillos aromáticos con una o más sustituyentes hidroxilos, frecuentemente como glucósidos. Relativamente polares, tienden a ser solubles en agua. Pudiendo ser detectados por el color verde, púrpura o azul o negro que producen cuando se agrega una solución acuosa al 1% de cloruro férrico. Dada la naturaleza aromática de estos compuestos fenólicos, muestra intensa absorción en la Región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su identificación, análisis cuantitativo y las distintas familias de compuestos fenólicos se caracterizan principalmente por el número de átomos de carbono que forman su esqueleto básico molecular como se aprecia en la tabla 4 (Fernández, Fernando, & Gomzales, 2002).

**Tabla 4.** Clasificación de los fenoles.

Nº de átomos de Carbono	Esqueleto	Tipo
6	C <sub>6</sub>	Fenoles simples y Benzoquinonas
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Ácidos fenólicos
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Derivados de tirosina Ácidos fenilacéticos

N° de átomos de Carbono	Esqueleto	Tipo
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Ácidos cinámicos y Fenilpropenos Cumarinas
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naftoquinonas
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> - C <sub>6</sub>	Xantonas
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> - C <sub>6</sub>	Estilbenos antraquinonas
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> - C <sub>6</sub>	Flavonoides y Isoflavonoides
18	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanos y Neolignanos
30	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> - C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Bioflavonoides
N9	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Ligninas
N6	(C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Melaninas y Catecólicas
N15	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> - C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Taninos condensados

*Fuente:* (Fernández, Fernando, & Gomzales, 2002).

### 3.9. Los flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales, protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, contienen en su estructura química un grupo variable de grupos hidroxilo fenólicos. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías (Ara, 2004).

Los flavonoides son productos naturales ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Esta pudiera ser una de las razones que justifica su abundancia en propóleos fundamentalmente de zonas templadas, aunque no son exclusivos de esta localización (Robbers, Speedie, & Tyler, 1996).

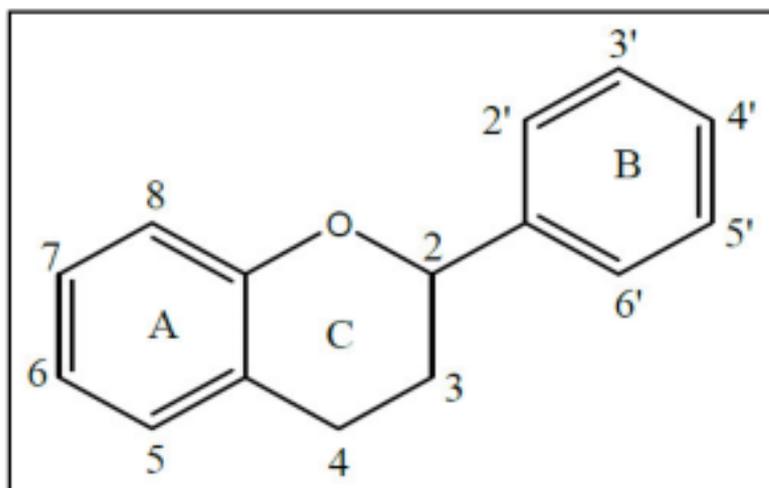
Presentan un esqueleto carbonado C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, donde los grupos C<sub>6</sub> se corresponden con agrupamientos bencénicos y la porción C<sub>3</sub> se presenta formando parte de un heterociclo generalmente (Robbers, Speedie, & Tyler, 1996).

Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Algunos flavonoides son responsables del color amarillo de ciertas flores (Kuklinski, 2000). También es una serie considerable de pigmentos fenólicos de la planta y su contenido en el vegetal,

alcanza normalmente niveles de 0.5 % en polen, 10 % en propóleos y casi 6000 µg /kg en miel (Montenegro, Pizarro, Mejías, & Rodríguez, 2003).

### 3.9.1. Estructura química de flavonoides

Todos los flavonoides se originan por ruta biosintética mixta a través de la vía del ácido shikímico y la de los policétidos. Se sintetizan a partir de flavononas derivadas a su vez de chalconas provenientes de la vía fenilpropanoide. Su formación tiene lugar a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y también de unidades de acetato (Drago, 2007). Los flavonoides químicamente, son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos ( $C_6-C_3-C_6$ ), compuesto por dos anillos de fenilo (A y B) ligadas a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se enumeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6' como se muestra en la figura 2. Se considera que su estructura deriva de la  $\gamma$ -cromona (o venzo-  $\gamma$ -pirona) con un fenilo en posición 2. Así pues, son 2-fenil-  $\gamma$ -cromonas. De los tres anillos, el A se biosintetiza a través de la ruta de los policétidos del B y la unidad C, proceden de la ruta del ácido shikímico como en la figura 02 (López, 2002)



**Figura 2.** Estructura básica de los flavonoides (fenilbenzopirano).

*Fuente:* (López, 2002).

### 3.9.2. Clasificación de los flavonoides

Los flavonoides se clasifican a partir de sus variaciones estructurales. Al modificar el esqueleto común de los flavonoides por glicosilación, oxidación, reducción o alquilación, el núcleo fenilpropanoide genera un escaso número de estructura

básica de las cuales se derivan la amplia gama de flavonoides entre los que se incluyen: flavanonas, flavonoles flavonas, flavanoles, antocianinas, flavanonoles, isoflavonas, chalconas y neoflavonas (Briemann, y otros, 2006).

Las diferentes clases de flavonoides difieren en el nivel de oxidación y la sustitución de grupos en el anillo C, mientras los componentes individuales dentro de una clase difieren en la sustitución en los anillos A y B (Pietta, 2000).

### **3.9.3. Clasificación de acuerdo a las actividades farmacológicas de los flavonoides**

- Vasoprotectores y Modificadores de los niveles del colesterol y lípidos
- Antiagregantes y Modificadores enzimáticos, Actividad estrogénica,
- Actividad anticancerígena, Actividad antibacteriana y antifúngica,
- Actividad antiurémica, Actividad espasmolítica y Actividad antialérgica
- Actividad antiinflamatoria y Actividad antivírica.
- Acción antirradicalaria (actuando frente a los radicales libres que se originan en la inflamación).
- Algunos flavonoides (por ejemplo, hipoletin-8-glucosido) combinan las acciones antiinflamatoria y antiulcerosa, lo que supone una buena alternativa a los antiinflamatorios no esteroideos (AINES). Por otro lado, los flavonoides ejercen otras acciones: diurética, antiespasmódica, antiulcerosa gástrica, reduciendo el índice de ulceración y la intensidad del daño mucosal, mediado por distintos mecanismos: gastroprotector y antisecretor (Peris, Stubing, & Vanachola, 1995).

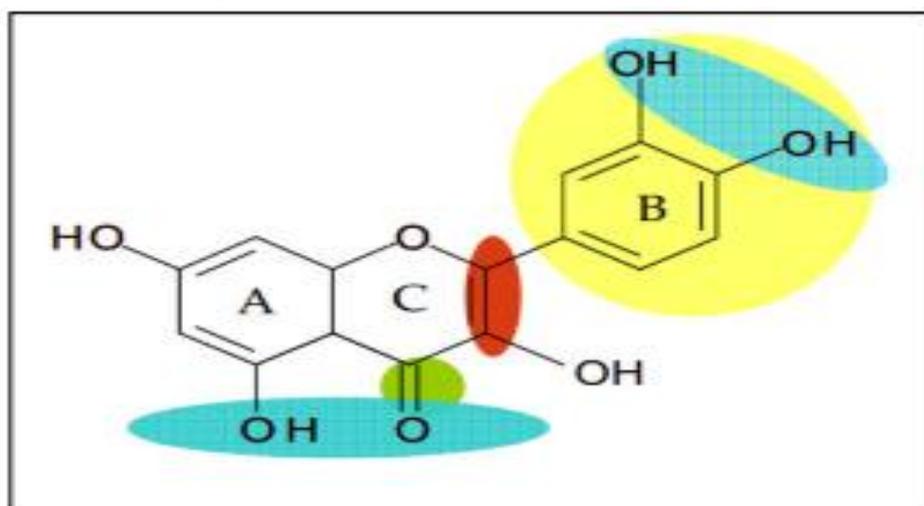
### **3.9.4. Propiedades antioxidantes de los flavonoides**

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus excelentes propiedades quelantes de hierro y sequestradoras de radicales libres, así como la inhibición de oxidasas tales como la lipoxigenasa, la ciclooxigenasa, la mieloperoxidasa.

Otros mecanismos podrían incluir la inhibición de la enzima involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, este es el caso de la fosfolipasa A2 y la estimulación de otras con reconocidas propiedades antioxidantes como la catalasa y el superóxido dismutasa. De esta forma los flavonoides pueden interferir no sólo en las reacciones de propagación de radicales libres sino también con la formación del radical entre sí (Pérez & Martínez, 2001).

Los flavonoides presentan mayor o menor capacidad antioxidante en función del número y posición de sus grupos hidroxilo unidos a las estructuras de anillo (Rice, 2003).

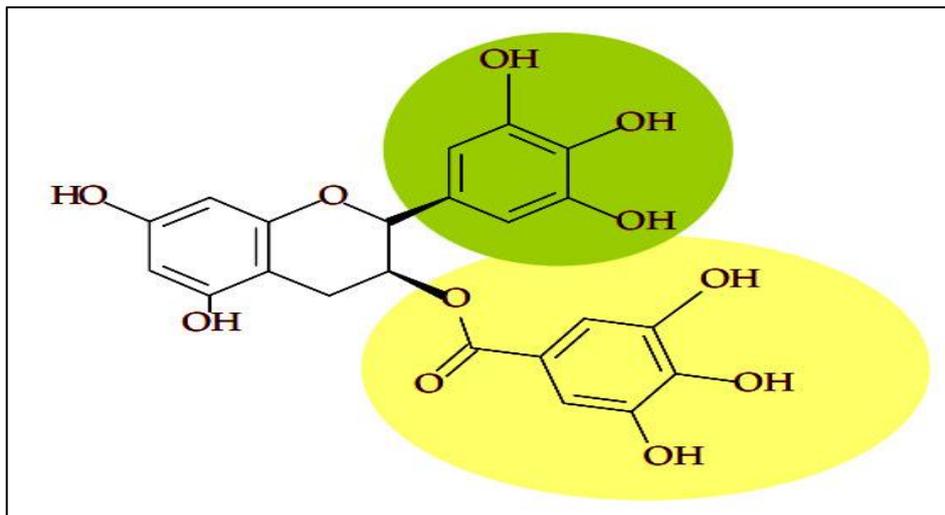
También es importante la presencia de grupos funcionales, capaces de unir iones de metales de transición como el hierro o el cobre. El ejemplo de compuesto flavonoide que reúne las propiedades químicas descritas es el flavonol quercetina como se aprecia en la figura 3 (Williams, 1994).



**Figura 3.** Estructura de la quercetina

*Fuente:* (Williams, 1994).

En la siguiente figura 4 se está resaltando los grupos implicados en su actividad antioxidante. En amarillo, el grupo catecol del anillo B; en rojo, enlace insaturado del anillo C; en verde, función 4-oxo en el anillo C; en azul, puntos con capacidad de quelación de metales. Se relacionan con la presencia de grupos pirogalol y ácido gálico en su estructura que le confiere a la planta mayor capacidad antibacteriana y favorece su actividad antioxidante actuando como secuestrante de radicales libres (Caturla, Samper, Villalaín, Mateo, & Micol, 2003).



**Figura 4.** Grupo galato presente en la molécula epigalocatequina galato. En verde, grupo pirogalol; en amarillo, grupo galato.

*Fuente:* (Caturla, Samper, Villalaín, Mateo, & Micol, 2003).

### 3.10. Radicales libres

Los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo que les da una configuración espacial generadora de gran inestabilidad; son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cerca del sitio en que se forman y son difíciles de dosificar. Desde el punto bioquímico, son pequeñas moléculas ubiquitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos (Rodríguez, Menéndez, & Trujillo, 2001).

Dentro de las fuentes de sustancias oxidantes, tenemos dos grupos:

- Endógenas: cadena de transporte electrónico mitocondrial, peroxisomal y microsomal (citocromo p-450 y citocromo b5), enzimas citoplasmáticas (como la OXD, catecolaminas y riboflavina) y enzimas fagocíticas (como la mieloperoxidasa y la NADPH-oxidasa).
- Exógenas: xenobioticos, (benzopirenos, quinonas, bipirilidos), el humo del cigarro, ciertos componentes de la dieta (sales de hierro y cobre), las radiaciones y la hiperoxia.

No obstante, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica importante en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecer la síntesis de colágeno, y la síntesis de prostaglandinas, activar enzimas de la

membrana celular, disminuir la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modificar la biomembrana y favorecer la quimiotaxis (Rodríguez, Menéndez, & Trujillo, 2001).

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular. Entre las células relacionadas con la producción de radicales libres del oxígeno tenemos los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales. Las especies reactivas del oxígeno inorgánicas más importantes son el oxígeno molecular  $O_2$ , el radical-anión superóxido ( $O_2^-$ ), el radical hidroxilo ( $HO^\cdot$ ), y su precursor inmediato el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y, dentro de los secundarios u orgánicos, el radical peroxilo ( $ROO^\cdot$ ), el hidroperóxido orgánico ( $ROOH$ ) y los lípidos peroxidados (Rodríguez, Menéndez, & Trujillo, 2001).

### **3.11. Capacidad antioxidante**

Un antioxidante es “cualquier sustancia que en presencia de un sustrato oxidable retrasa o inhibe la oxidación del mismo”. Se caracterizan por ser muy heterogéneos, pueden ser hidrosolubles y liposolubles, localizarse intra y extracelularmente, y proceder de diferentes fuentes ya que algunos son nutrientes y otros son productos del metabolismo (Mazza, 2000).

La capacidad antioxidante está dada por mecanismos a través de los cuales la célula disminuye significativamente la reactividad o inhibe la generación de radicales libres. Las funciones que ejercen los antioxidantes se realizan por el aumento de la velocidad de ruptura de los radicales libres, mediante la prevención de la participación de iones metales de transición en la generación de radicales libres o mediante la desactivación o secuestro de radicales libres (Venero, 2002).

### **3.12. Antioxidantes**

Los antioxidantes son compuestos que por su estructura química frenan la formación de Radicales Libres (RL), previenen o permiten tratar las enfermedades causadas por el estrés oxidativo, o a su vez los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares (López, Fernando, Lazarova, Bañuelos, & Sánchez, 2012).

### 3.13. Técnicas para la determinación de capacidad antioxidante

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea in vitro o in vivo. Una de las estrategias más aplicadas en las medidas in vitro de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. Alternativamente, diversos compuestos cromógenos como ABTS (llamado así por el reactivo 2,2-azinobis (3-ethylbenzotiazolina-6-acidosulfónico)), DPPH (llamado así por el reactivo 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl), DMPD (dicloridrato de N,N-Dimetil fenilendiamina) y FRAP (Poder Antioxidante de Reducción Férrica) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (ERO) (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini, & Fett, 2004).

Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH. Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio), enzimática (peroxidase, mioglobulina), o también electroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílicos y lipofílicas, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini, & Fett, 2004).

El método de FRAP ocurre por reducción directa, es un método rápido, simple operacionalmente y reproducible. Consiste en la formación de un complejo férrico, el cual en presencia de antioxidantes forma un complejo azul de máxima absorción a 593 nm (Rojas, Narváez, & Restrepo, 2007).

## **CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### **4.1. Lugar de ejecución**

El trabajo de investigación se desarrolló en la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA) y las pruebas experimentales se realizaron en el Laboratorio de Química de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) ubicada en el local de Santa Rosa del Distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas, Región Apurímac.

### **4.2. Material de estudio**

#### **4.2.1. Población**

Son considerados todas las colmenas de abejas (*Apis mellifera*), sin daños biológicos, físicos y ninguna enfermedad de las Comunidades de Chiara y Huinchos Pataccocha,

#### **4.2.2. Muestra**

La muestra para la investigación es de cinco colmenas de abeja en la Comunidad de Chiara y cinco colmenas de abeja en la Comunidad de Huinchos Pataccocha, teniendo en cuenta su calidad y buena producción de propóleo y que estén libre de agentes contaminantes, realizándose un muestreo selectivo.

### **4.3. Equipos e instrumentos**

#### **4.3.1. Equipos**

- Espectrofotómetro UV-Visible marca GENESIS.
- Baño maría de aluminio con temperatura regulable de 1 °C a 180 °C.
- Balanza digital de precisión, capacidad de 100 g. Sensibilidad 0.001 g.
- Estufa - marca KER LAB.
- Agitador magnético - marca LS-SCIENTIFIQUE.
- Termómetro digital desde -50 °C hasta +200 °C - marca AMARREL.
- Refrigeradora.

#### 4.3.2. Materiales de laboratorio

- Recipientes de plástico.
- Cuchillo, con mango de madera.
- Bureta de 25 mL de color azul.
- Varilla de vidrio.
- Espátula de acero inoxidable mango de madera.
- Mortero con pilón.
- Pissetas.
- Bandejas de aluminio.
- Probetas de 100 mL.
- Vasos precipitados de 100 mL.
- Cubos de hielo en bolsa de 3 g.
- Micro pipeta.
- Pipetas de 5 mL.
- Pro pipetas.
- Matraz de Erlenmeyer de 100 mL.
- Soporte universal metálico.
- Papel filtro 589/2 (Watman -40). Ø 11 cm.
- Rotulador.
- Rallador.
- Frascos gotero completo ámbar.

- Bolsas de polietileno y rejillas de plástico.
- Rejillas plastificadas.
- Espátula.
- Colmenas estándar de dos pisos de abeja.
- Bastidores.
- Cooler.
- Ahumador.
- Cepillo.

#### **4.3.3. Reactivos e insumos**

- Reactivo Trolox (Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico), marca CALBIOCHEM, Concentración de 98%.
- Radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), aproximadamente 90 %; base celular permeable, que se utiliza comúnmente para evaluar la capacidad de los compuestos, para actuar como captadores de radicales libres, marca DPPH, radical libre, concentración mayor 90 %.
- Ácido gálico, marca MACRON, concentración de 98 %.
- Reactivo de Folin-Ciocalteu; mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato, usado para la determinación de polifenólicos, marca HIMEDIA, concentración de 1.9 – 2.1 N.
- Carbonato de Sodio 99,5 % de pureza, PM=105,99; sal blanca y translúcida, marca MERCK.
- Cloruro de aluminio, marca CHD, concentración de 97 %
- Hidróxido de sodio; sólido blanco cristalino sin olor que absorbe humedad del aire; muy corrosivo. Marca J.T.BAKER una concentración de 97 %.

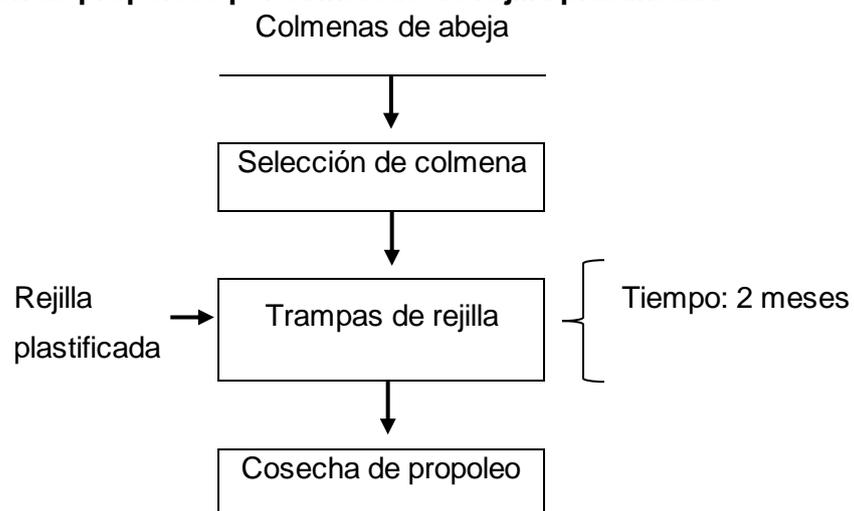
- Fenolftaleína; forma una solución casi incolora en medio neutro o ácido y soluciones púrpuras carmín brillante en medios alcalinos, marca SIGMA ALDRICH.
- Metanol químicamente puro y al 80 %; líquido claro, incoloro, muy polar, miscibles con agua, alcoholes y éter. Marca J.T.BAKER.
- Etanol 95 %; alcohol etílico, se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable. Marca J.T.BAKER.
- Agua destilada aproximadamente pH: 7; mediante el proceso de destilación se le han eliminado las impurezas e iones.

#### 4.3.4. Unidad de análisis

- Propóleo recolectado de la Comunidad campesina de Huinchos Pataccocha (1 kg).
- Propóleo recolectado de la comunidad campesina de Chiara (1 kg).

#### 4.4. Metodología para la obtención de materia prima.

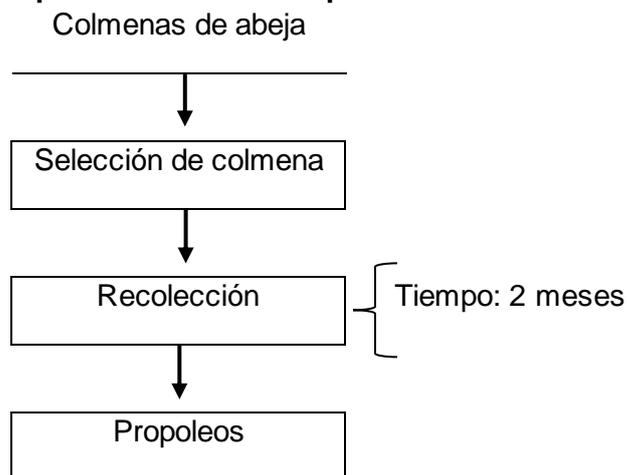
##### ➤ Obtención de propóleos por el método de rejilla plastificada



**Figura 5:** Procedimiento de obtención de propóleos por el método de rejillas plastificadas

- Selección, las colmenas de abejas son seleccionadas de acuerdo a la población y libres de enfermedades.
- Trampas de rejilla, una vez seleccionada las rejillas de plástico (laminas agujeradas de espacios de 1.5 a 3 mm, por donde las abejas no pueden pasar, por lo tanto, se ven en la necesidad de tapar los agujeros para impedir la entrada de frío), son colocadas encima de los panales de la colmena y debajo de las tapas. Estas rendijas son llenadas con el propóleos en un tiempo de 1 a 3 meses.
- Cosecha de propóleos, pasados el tiempo suficiente los propóleos depositados en los espacios de bastidor a bastidor y tapa son raspados con espátula y llevados al laboratorio para su análisis correspondiente.

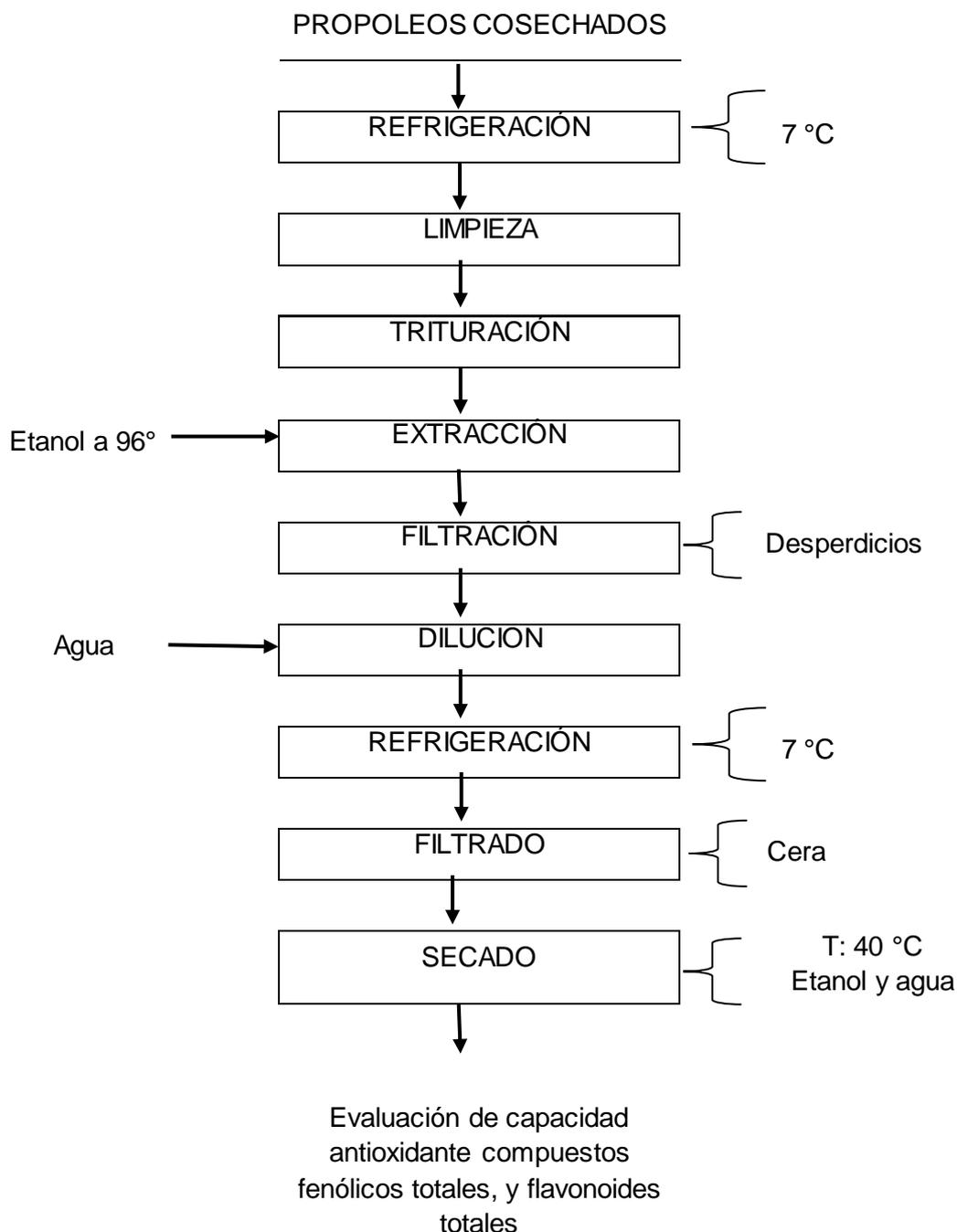
➤ **Obtención de propóleos por el método de raspado**



**Figura 6:** Procedimiento de obtención de propóleos por el método de raspado

- Selección, las colmenas de abejas son seleccionadas de acuerdo a la población y libres de enfermedades.
- Recolección, una vez seleccionada la sobre tapa (se ubica encima de la colmena y debajo de la tapa), es retirada dejando expuesto los espacios de bastidor a otro bastidor; así mismo bastidores y tapa. Estos espacios son llenados con propóleos por un periodo de 2 meses.
- Cosecha de propóleos, pasados el tiempo suficiente el propóleos son raspados con espátula y llevados al laboratorio para su análisis correspondiente.

#### 4.5. Metodología para la obtención del extracto del propóleo



**Figura 7:** Procedimiento de obtención de extractos de propóleos

*Fuente:* (Figuerola, 2012)

Se utilizó el método de extracción desarrollado por (Kumazawa, Hamasaka, & Nakayama, 2004), para la obtención de extracto de propóleos.

- La materia prima fue recolectada por el método de raspado y rejillas de plástico, una vez recolectada, fueron refrigeradas a una temperatura de 7 °C, buscando el endurecimiento del propóleos y así facilitar el retiro de rejilla de plástico.
- Luego se realizó la limpieza, con la finalidad de retirar los trozos de madera, piedras pequeñas y partes del insecto; posterior a la limpieza se efectuó la trituración en un mortero y pilón. El producto triturado fue pesado en una balanza analítica 30 g, la cual se sometió a la extracción con 100 mL de etanol comercial a 96°, en un agitador magnético, a temperatura ambiente y en ausencia de luz, por 48 horas. Pasado este periodo de tiempo, el material se filtró en un embudo con papel celulosa.
- A los filtros obtenidos, se les agrego agua destilada, con la finalidad de eliminar las ceras existentes en los filtrados; una vez agregada agua, se pasó a refrigerar, con el fin de precipitación de las grasas.
- Posteriormente se realizó el filtrado para la eliminación de las ceras existente; luego se pasó al secado en una estufa a temperatura de 40 °C, con la finalidad de eliminar los solventes existentes, como se muestra en figura 7.

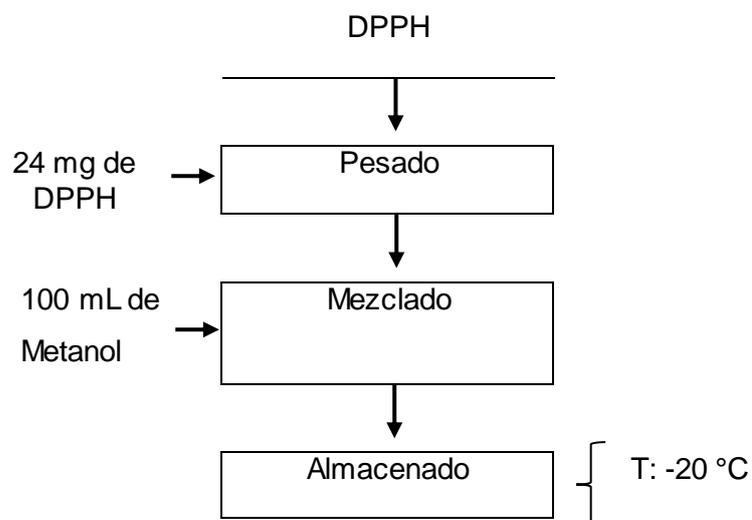
#### **4.6. Metodología de análisis**

##### **4.6.1. Determinación de la capacidad antioxidante**

Se utilizó el método de decoloración del radical DPPH desarrollado por (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995), para la determinación de la capacidad antioxidante.

**Fundamento.-** En este método los compuestos antioxidantes de la muestra a ensayar, reaccionan con el radical estable 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) que se encuentra en una solución de metanol. El radical en forma de DPPH absorbe la luz a 515 nm.

## Preparación de la solución madre de DPPH



**Figura 8:** Procedimiento de obtención de extractos de propóleos

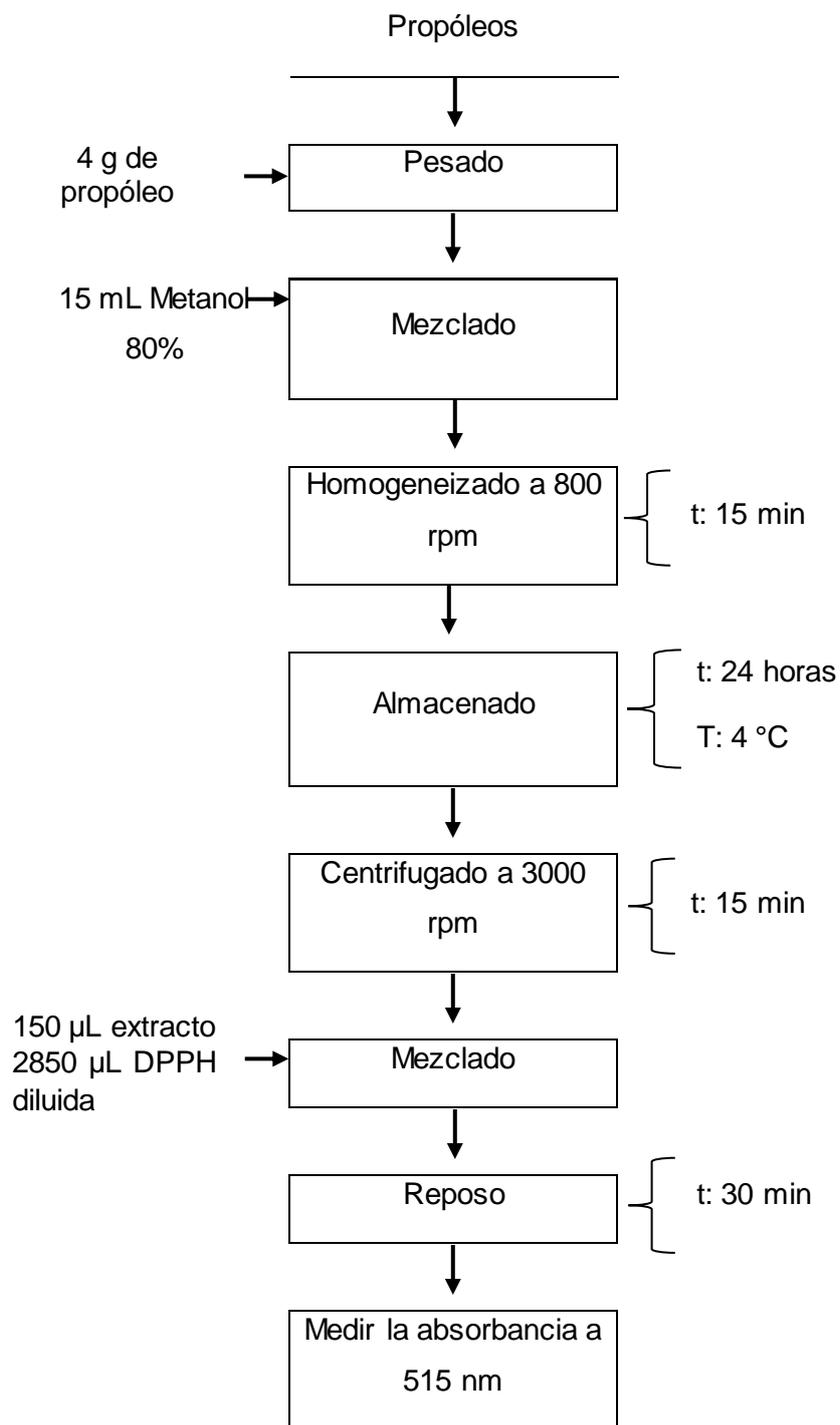
- La solución madre de DPPH se preparó disolviendo 24 mg de DPPH en 100 mL de metanol.
- Esta solución fue almacenada en un frasco ámbar o cubierto con papel aluminio a - 20 °C por un tiempo no mayor a una semana.

## Solución diluida de DPPH

Se dejó temperar la solución madre hasta alcanzar la temperatura ambiente (alrededor de 45-60 minutos). Posteriormente se preparó una solución diluida de DPPH para lo cual se tomó 10 mL de solución madre y se diluyó con 45 mL de metanol al 80%. Esta solución dio una lectura de absorbancia de  $1.1 \pm 0.02$  a una longitud de onda de 515 nm, previamente se usó como blanco el solvente empleado para llevar a cero el espectrofotómetro.

Al no obtener la absorbancia indicada, se corrigió agregando el solvente para diluirlo o solución madre para concentrarlo un poco más, según fue el caso. La solución diluida se conservó en un frasco ámbar o protegida con papel aluminio por un tiempo no mayor a una semana. Se utilizó metanol como blanco.

## Metodología para la determinación de capacidad antioxidante



**Figura 9:** Procedimiento para la determinación de capacidad antioxidante

- En primer lugar, se pesó 4 g de propóleo en una balanza analítica.
- En seguida se añadió 15 mL de metanol 80%, posteriormente fue homogeneizado a 800 rpm por un tiempo de 15 minutos.



- $\Delta$  DPPH: Absorbancia del blanco – Absorbancia de la muestra a 515 nm.
- FD : Factor de dilución.

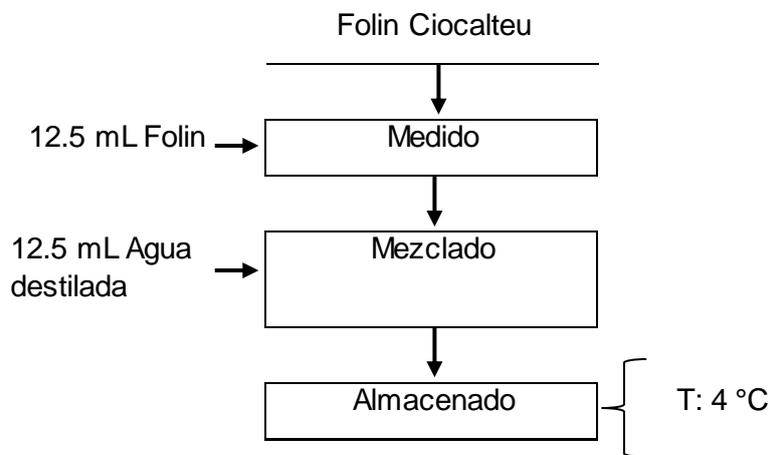
#### 4.6.2. Determinación de fenoles totales

Las determinaciones se realizaron con el reactivo de Folin - Ciocalteu utilizando el método de espectrofotométricamente, señalada por (Singletón, Otthofer, & Lamuela, 1999).

##### Fundamento

Los compuestos fenólicos se oxidan por el reactivo Folin-Ciocalteu 3,4, que se reduce, por acción de fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ). Esta reacción es característica para compuestos que tienen un grupo hidroxilo unido a un anillo de benceno. El reactivo Folin-Ciocalteu tiene una coloración amarilla que en presencia de fenol se torna azul. La intensidad de color azul se mide espectrofotométricamente a 755 nm. Los resultados se expresarán como equivalente de ácido gálico (GAE).

##### Metodología de preparación de la solución de Folin Ciocalteu al 1N

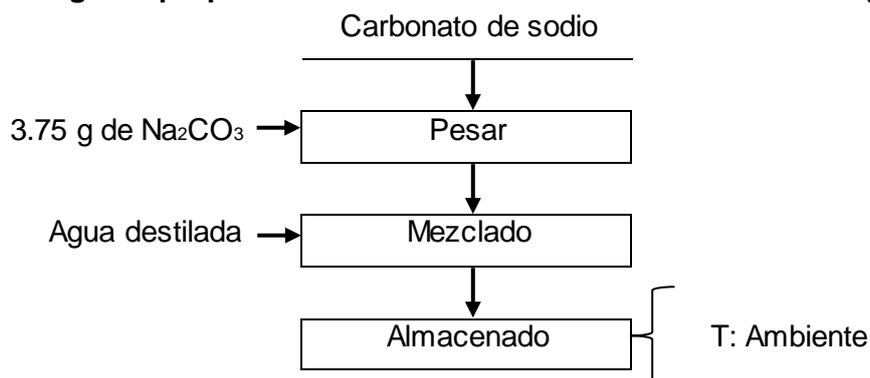


**Figura 10:** Procedimiento para la preparación de la solución de Folin Ciocalteu al 1N

##### Preparación de la solución de Folin Ciocalteu al 1N

- Se tomó 12.5 mL del reactivo concentrado de Folin-Ciocalteu 2.0 N y se agregó en una probeta graduada.
- Luego se transfirió a una fiola de 25 mL y se enrazó con agua destilada hasta la línea de aforo; previamente cubiertas con papel aluminio.
- Finalmente se almacenó a 4 °C por un tiempo no mayor a una semana.

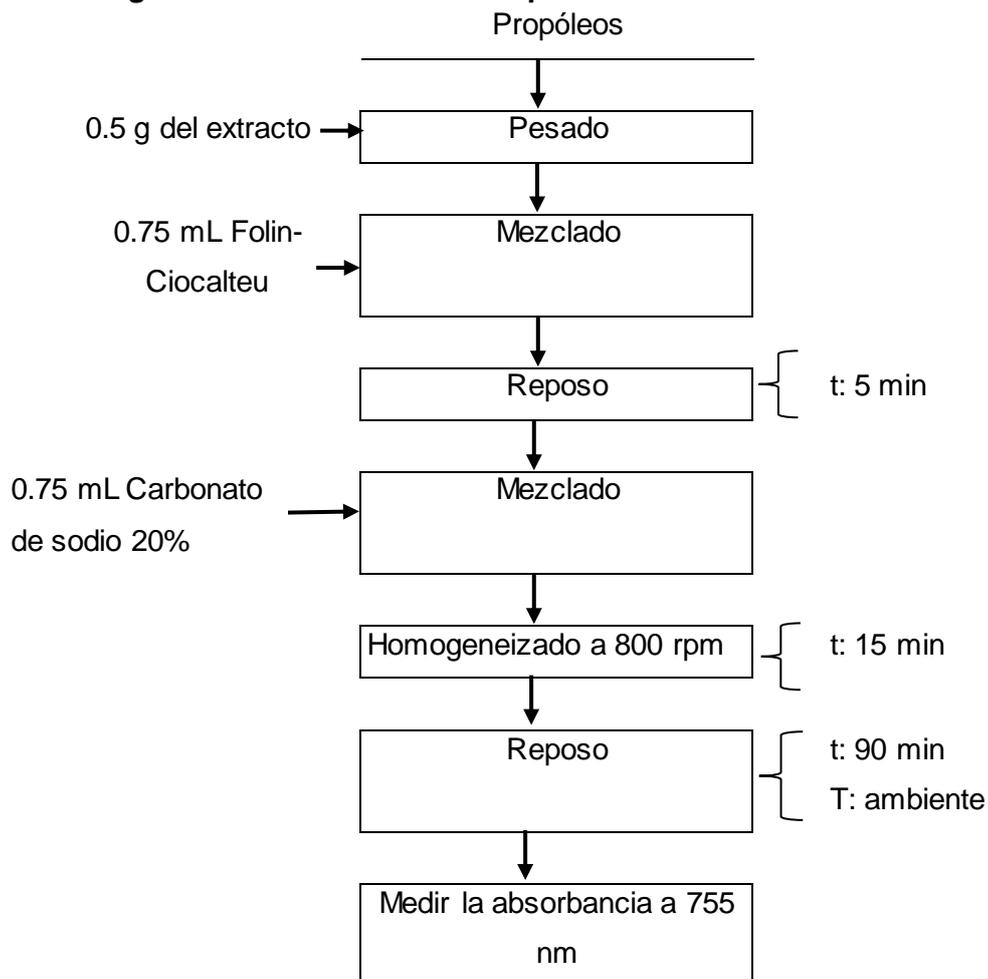
### Metodología de preparación de la solución de carbonato de sodio (75 g/L)



**Figura 11:** Procedimiento para la preparación de la solución de carbonato de sodio (75 g/L)

- Se pesó 3.75 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro (99.5 % pureza, PM=105.99).
- Posteriormente transfirió a una fiola de 50 mL y se enrazó con agua destilada.
- Luego transfirió la solución a un envase de vidrio y se almacenó a temperatura ambiente.

### Metodología de determinación de compuestos fenólicos



**Figura 12:** Procedimiento para la determinación de compuestos fenólicos

### Obtención de compuestos fenólicos

- Primero se tomó 0.5 g del extracto de propóleos y se mezcló con 0.75 mL de reactivo de Folin- Ciocalteu.
- Se dejó en reposo a temperatura ambiente por 5 min.
- Después de lo cual se agregó 0.75 mL de carbonato de sodio al 20%.
- Se agitó fuertemente, posteriormente se dejó reposar durante 90 min a temperatura ambiente.
- Después de este tiempo se midió la absorbancia a 755 nm.
- Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de peso fresco (bs).

### Cálculos de compuestos fenólicos

El contenido de compuestos fenólicos totales se estimó a partir de una curva estándar con una solución acuosa de ácido gálico como patrón. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (AGE) por cada 100 g de muestra en peso fresco.

La ecuación de la curva estándar para la cuantificación de los compuestos fenólicos totales fue la siguiente ecuación 02.

$$Y = aABS + b \dots \dots \dots \text{Ec.02}$$

Dónde:

Y = Miligramos (mg) de ácido gálico equivalente (GAE)/ por mL.

ABS = Absorbancia a 755 nm.

Para expresar los resultados en mg de ácido gálico equivalente (GAE) /100 g b.s., se procedió de la siguiente ecuación 03:

$$\text{Compuestos fenolicos} = Y * D * V * \frac{100}{\text{Peso}} \dots \dots \dots \text{Ec.03}$$

Dónde:

Compuestos fenólicos = Miligramos (mg) de ácido gálico equivalente (GAE) /100 g muestra b.s.

Y = Miligramos (mg) de ácido gálico equivalente (GAE)/ por mL

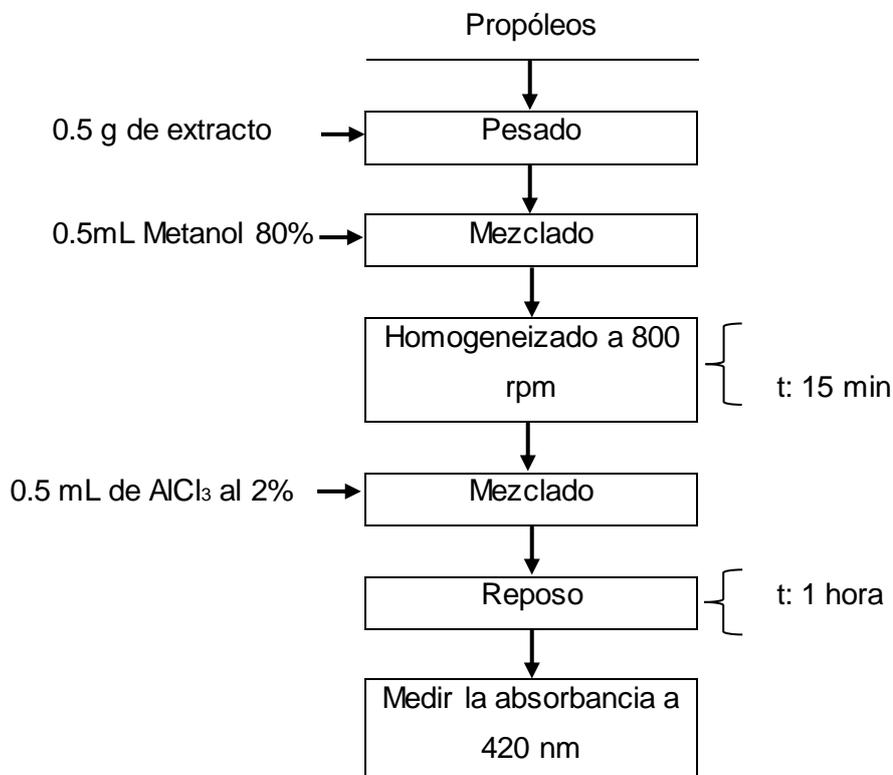
D = Dilución

V = Volumen de muestra.

Peso = Peso de la muestra en base seca.

#### 4.6.3. Metodología para la determinación de los flavonoides

El contenido de flavonoides totales de los extractos etanólicos será determinado por el método colorimétrico de (Kumazawa, Hamasaka, & Nakayama, 2004).



**Figura 13:** Procedimiento para la determinación de Flavonoide totales.

#### Obtención de los flavonoides

- A una alícuota de 0.5 mL de solución de propóleos (1 mg/mL), se le adiciono 0.5 mL de solución etanólica de AlCl<sub>3</sub> al 2 %.
- Después de una hora de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida a 420 nm.
- El contenido de flavonoides totales fue calculado como equivalentes de quercetina (mg de quercetina/mg de propóleos).

#### Cálculos de los flavonoides

El contenido de flavonoides totales se estimará a partir de una curva estándar con una solución acuosa de quercetina como patrón, tal como se muestra en la ecuación 04.

$$\text{Flavonoides} = \frac{A_m * Pr * 5}{A_r} \dots \dots \dots \text{Ec. 04}$$

**Donde:**

Am: Absorbancia de la solución muestra (nm).

Pr: Peso de la sustancia referencia (g).

Ar: Absorbancia de la solución de referencia (nm).

#### 4.7. Análisis estadístico

En la presente investigación los resultados se procesaron estadísticamente mediante el Diseño en Bloques Completos al Azar (DBCA), en donde las corridas experimentales se realizaron en orden aleatorio completo, con 3 repeticiones.

En un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) se consideran tres fuentes de variabilidad: el factor de tratamiento, el factor de bloque y el error aleatorio, es decir, se tiene tres posibles culpables de la variabilidad presente en los datos.

La palabra completo es el nombre del diseño se debe a que en cada bloque se prueban todos los tratamientos, o sea, los bloques están completos. La aleatorización se hace dentro de cada bloque, por lo tanto, no se realiza de manera total como en el diseño completamente al azar, por ello se detalla en la tabla 5 la matriz de diseño experimental (Gutiérrez & De La Vera, 2008).

**Tabla 5.** Matriz de diseño experimental.

TRATAMIENTOS	BLOQUES		Variables de salida
	C.C. Huinchos Pataccocha (Y1)	C.C. Chiara (Y2)	
Método de raspado (A)	Y1A	Y2A	• Determinación de capacidad antioxidante.
Método con rejilla de plástico (B)	Y1B	Y2B	• Fenoles totales. • Flavonoides totales.

**Donde:**

Y1: Es la Comunidad de Huinchos Pataccocha

Y2: Es la Comunidad de Chiara.

A: Es el método de raspado.

B: Es el método de rejillas de plástico.

**a) Planteamiento de Hipótesis a probar:**

La hipótesis de interés es la misma para todos los diseños comparativos, y está dada por:

- **Hipótesis nula ( $H_0$ ), para tratamiento**

La media de los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos (fenoles totales y flavonoides totales) del propóleo recolectado por los métodos de raspados y rejillas de plástico no muestra diferencia significativa.

- **Hipótesis alterna ( $H_A$ ), para tratamiento**

La media de los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos (fenoles totales y flavonoides totales) del propóleo recolectado por los métodos de raspados y rejillas de plástico muestra una diferencia significativa.

- **Hipótesis nula ( $H_0$ ) para bloque**

La media de los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos (fenoles totales y flavonoides totales) del propóleo recolectado en las Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara no muestran diferencia significativa.

- **Hipótesis alterna ( $H_A$ ) para bloque**

La media de los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos (fenoles totales y flavonoides totales) del propóleo recolectado en las Comunidades de Huinchos Patacocha y Chiara muestran una diferencia significativa.

Si se acepta  $H_0$  se confirma que los efectos sobre la respuesta de los  $k$  tratamientos son estadísticamente nulos (iguales a cero), y en caso de rechazar se estaría concluyendo que al menos un efecto es diferente de cero (Gutiérrez & De La Vera, 2008).

**b) Comparación de parejas de medias de tratamiento en el DBCA**

Cuando se rechaza la hipótesis de igualdad de los cuatro tratamientos, es natural preguntarse cuáles de ellos son diferentes entre sí. Para ello se utiliza

“comparaciones o pruebas de rango múltiples” (Gutiérrez & De La Vera, 2008).

**c) Análisis de varianza (ANOVA) en DBCA**

Se aplicó ANOVA de dos factores (métodos de recolección de propóleo y lugares de recolección) con tres repeticiones.

El análisis de varianza (ANOVA), consiste en analizar los cocientes de las varianzas para probar la hipótesis de igualdad o desigualdad entre las medias debidas a los tratamientos y los bloques, separando la variación total en las partes con que contribuye cada fuente de variación. Las fuentes de variación principales son las debidas a los tratamientos, a los bloques y las debidas al error (Gutiérrez & De La Vera, 2008)

**Tabla 6.** ANOVA para un diseño en bloques completos al azar.

Fuente de Variabilidad	Suma de Cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F <sub>0</sub>	Valor - p
Tratamientos	$SC_{TRAT} = \sum_{i=1}^K \frac{Y_i^2}{b} - \frac{Y_{..}^2}{N}$	$k - 1$	$CM_{TRAT}$	$F_0 = \frac{CM_{TRAT}}{CM_{\epsilon}}$	$P(F > F_0)$
Bloques	$SC_B = \sum_{j=1}^b \frac{Y_j^2}{k} - \frac{Y_{..}^2}{N}$	$b - 1$	$CM_B$	$F_0 = \frac{CM_B}{CM_{\epsilon}}$	$P(F > F_0)$
Errores	$SC_E = SC_T - SC_{TRAT} - SC_B$	$(K - 1)(b - 1)$	$CM_E$		
Total	$SC_T = \sum_{j=1}^b \sum_{i=1}^k Y_{ij}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$	$N - 1$			

Fuente: (Gutiérrez & De La Vera, 2008).

## CAPÍTULO V: RESULTADOS

### 5.1. Resultados de la capacidad antioxidante de los propóleos

**Tabla 7.** Resultados de la capacidad antioxidante de los propóleos.

Propóleos	Capacidad antioxidante ( $\mu\text{g}$ Equivalente Trolox/g muestra b.s.)	
	Repeticiones por triplicado	( $\bar{X} \pm S$ )
	663.9733	
Método de raspado - Huinchos Pataccocha (A)	648.2423 642.9987	651.74 $\pm$ 10.92
	666.8475	
Método de rejilla - Huinchos Pataccocha (B)	673.8878 679.1681	673.30 $\pm$ 6.18
	813.5500	
Método de raspado - Chiara (C)	817.1547 822.5619	817.76 $\pm$ 4.54
	824.8624	
Método de rejilla - Chiara (D)	824.8624 828.5500	826.09 $\pm$ 2.13

$\bar{X}$  : Promedio de tres repeticiones      **S**: Desviación estándar

En la Tabla 7, se observa los valores de la capacidad antioxidante de los propóleos analizados en tres repeticiones (Anexo, 1) estos varían de un tratamiento a otro; los resultados de los propóleos de la Comunidad de Chiara y extraídos por el método de rejilla plástica fueron de valores elevados (826.09  $\pm$  2.13  $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.), seguido por el método de raspado (817.30  $\pm$  4.54  $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) y los valores de propóleos de la

Comunidad de Huinchos Pataccocha extraídos por el método de rejilla fueron menores con valor de  $(673.30 \pm 6.18 \mu\text{g Equivalente Trolox} / \text{g muestra b.s.})$  y empleados el método de raspado  $(651.74 \pm 10.92 \mu\text{g Equivalente Trolox/g muestra b.s.})$ . Estos resultados fueron tabulados por ANOVA – análisis de varianza que se muestra en la tabla 8.

**Tabla 8.** ANOVA para Capacidad Antioxidante de los propóleos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	p-value
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Métodos	223.353	1	223.353	5.10	0.2653
B: Lugares	25410.0	1	25410.0	580.69	0.0264
RESIDUOS	43.7582	1	43.7582		
TOTAL (CORREGIDO)	25677.1	3			

Según la Tabla 8, el análisis de varianza (ANOVA) para la capacidad antioxidante de propóleos, en lo que respecta al tratamiento (extracción de propóleos por rejilla y raspado) se obtuvieron un valor de p-value 0.2653 que resultó ser mayor que el nivel de significancia ( $\alpha = 0.05$ ), por lo que se aceptó la Hipótesis nula, es decir que las metodologías aplicadas para la obtención de propóleos no tienen efectos significativos en un nivel de confianza al 95.0%. Mientras para el análisis de bloques (Huinchos Pataccocha y Chiara) se obtuvo el valor de p-value de 0.0264 que es menor al nivel de significancia ( $\alpha = 0.05$ ), aquí se rechazó la hipótesis nula, esto quiere decir que el factor de bloque (lugares) afecta y tiene un efecto estadísticamente significativo con 95.0 % de nivel de confianza.

## 5.2. Resultados de los compuestos fenólicos de los propóleos

**Tabla 9.** Resultados de fenoles totales de los propóleos.

Propóleos	Compuestos fenólicos totales (mg GAE/g de muestra b.s.)	
	Repeticiones por triplicado	( $\bar{X} \pm S$ )
Método de raspado - Huinchos Pataccocha (A)	45.2142	44.27 $\pm$ 0.82
	43.7988	
	43.7988	
Método de rejilla - Huinchos Pataccocha (B)	38.1015	40.58 $\pm$ 2.32
	40.9297	
	42.6974	
Método de raspado - Chiara (C)	67.1212	67.31 $\pm$ 0.22
	67.2657	
	67.5548	
Método de rejilla - Chiara (D)	63.3295	66.58 $\pm$ 2.87
	67.6831	
	68.7364	

$\bar{X}$  : Promedio de tres repeticiones

**S**: Desviación estándar

En la Tabla 9 se observa los valores de compuestos fenólicos totales analizados con tres repeticiones (Anexo, 5) estos varían de un tratamiento a otro; los propóleos extraídos por el método de raspado de la Comunidad de Chiara (67.31  $\pm$  0.22 mg GAE/g muestra b.s.) seguido por método de rejilla de plástico en la Comunidad de Chiara (66.58  $\pm$  2.87) mg GAE/g muestra b.s.), los valores bajos resultaron ser para propóleos extraídos por método de raspado en la Comunidad de Huinchos Pataccocha (44.27  $\pm$  0.82 mg GAE/g muestra b.s.) seguido por el método de rejilla de plástico en la Comunidad de Huinchos Pataccocha (40.58  $\pm$  2.32 mg GAE/g muestra b.s.). El análisis de varianza para estos resultados se observa en la tabla 10.

**Tabla 10.** ANOVA para compuestos fenoles totales de los propóleos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	p-value
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Métodos	4.8841	1	4.8841	2.23	0.3757
B: Lugares	601.23	1	601.23	274.48	0.0384
RESIDUOS	2.1904	1	2.1904		
TOTAL (CORREGIDO)	608.305	3			

La Tabla 10 muestra el Análisis de varianza (ANOVA) para los compuestos fenólicos totales de propóleos aplicadas en Diseño de bloques completos al Azar: para el tratamiento (extracción de propóleos por rejilla y raspado) se obtuvo un valor de p-value 0.3757 que es mayor al nivel de significancia ( $\alpha = 0.05$ ) esto quiere decir que los métodos de recolección son iguales por lo que se acepta la hipótesis nula. Sin embargo cuando se evaluó para el factor de bloque (lugares), se obtuvo un valor de p-value 0.0384 menor al nivel de significancia ( $\alpha = 0.05$ ) lo que indica que el factor de bloque (lugares) afecta, entonces se rechazó la hipótesis nula y tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los compuestos fenólicos totales con un 95.0 % de nivel de confianza.

### 5.3. Resultados de los Flavonoides de los propóleos

**Tabla 11.** Resultados de los Flavonoides de los propóleos.

Propóleos	Contenido de flavonoides totales (mg quercitina/g b.s.)	
	Repeticiones por triplicado	( $\bar{X} \pm S$ )
Método de raspado - Huinchos	33.1867	
Pataccochoa (A)	34.0717	33.48 $\pm$ 0.5
	33.1867	
	27.8508	
	31.3874	29.32 $\pm$ 1.8

Propóleos	Contenido de flavonoides totales (mg quercitina/g b.s.)	
	Repeticiones por triplicado	( $\bar{X} \pm S$ )
Método de rejilla - Huinchos Patacocha (B)	28.7350	
	45.5958	
Método de raspado - Chiara (C)	50.0226	47.96 $\pm$ 2.2
	48.2519	
	46.4753	
Método de rejilla - Chiara (D)	47.3605	46.18 $\pm$ 1.4
	44.7048	

$\bar{X}$  : Promedio de tres repeticiones      **S**: Desviación estándar

En la Tabla 11 se observa los valores del contenido de flavonoides totales analizados con tres repeticiones (Anexo, 9) estos resultados varían de un tratamiento a otro, los propóleos de la Comunidad de Chiara extraídos por el método del raspado (47.96  $\pm$  2.2 mg quercetina /g muestra b.s.) seguido por la Comunidad de Huinchos Patacocha con 33.48  $\pm$  0.5 mg quercetina /g muestra b.s.) mientras que, por el método de rejilla de plástico resultó ser mayor del propóleo de la Comunidad de Chiara con 46.18  $\pm$  1.4 (mg quercetina /g muestra b.s.) seguido por la Comunidad de Huinchos Patacocha con 29.32  $\pm$  1.8 (mg quercetina /g muestra b.s.). Estos resultados fueron evaluados según la tabla de Análisis de varianza (ANOVA) como se observa en la Tabla 12.

**Tabla 12.** ANOVA para compuestos de Flavonoides totales de los propóleos.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	p-value
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Métodos	8.8209	1	8.8209	6.23	0.2426
B:Lugares	245.549	1	245.549	173.40	0.0483

RESIDUOS	1.4161	1	1.4161
TOTAL (CORREGIDO)	255.786	3	

En esta Tabla 12 el análisis de varianza (ANOVA) para flavonoides totales de propóleos, en lo que respecta al tratamiento (método de raspado y métodos con rejilla plástica), se obtuvo un valor de p-value de 0.2426 que fue mayor a ( $\alpha = 0.05$ ) esto indica que los métodos de recolección son iguales para un nivel de significancia de 5 %, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula. Sin embargo para el factor de bloque (comunidades de Chiara y Huinchos Pataccocha), se obtuvo el p-value de 0.0483 que es menor al nivel de significancia ( $\alpha = 0.05$ ), es decir que, el factor de bloque (lugares) sí afecta, tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los contenidos de flavonoides totales con un 95.0 % de nivel de confianza.

## CAPITULO VI: DISCUSIÓN

### 6.1. Discusiones de la capacidad antioxidante de los propóleos

Según la Tabla 7, se demostró los valores de la capacidad antioxidante y la captación de radicales libres (DPPH) teniendo como curva estándar la calibración de Trolox (Anexo, 2). La capacidad antioxidante de los propóleos varían desde 651.74 hasta 826.09 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.), siendo el mayor capacidad antioxidante del propóleo de la Comunidad de Chiara recolectado por método de rejilla con 826.09 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.), seguido por 817.76 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) de la misma Comunidad pero recolectado por método de raspado; a comparación de los resultados de la Comunidad de Huinchos Pataccocha resultaron ser menores 673.30 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) por método de rejilla y 651.74 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) por método de raspado; teniendo en cuenta que los propóleos extraídos por ambos metodologías estadísticamente son iguales, mientras el factor bloque, es decir los lugares (Chiara y Huinchos Pataccocha) varían estadísticamente como se puede observar en la Tabla 8. En general los propóleos extraídos en la comunidad de Chiara obtuvieron mayor capacidad antioxidante que los propóleos extraídos de la comunidad de Huichos Pataccocha, esto se debe a la vegetación variada, clima y altitud. Estos resultados en comparación con el reporte de (Venegas, 2016), en propóleos de la Región del Biobío que tuvo una capacidad antioxidante que varia en un rango de 722.48 a 1869.99 ( $\mu\text{g}$  de equivalente trolox/g) de propóleos fueron menores, mientras que los resultados obtenidos de los propóleos de las Comunidades de Chira y Huinchos Pataccocha varían en un rango de 651.74 a 826.09 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) manteniéndose en un rango similar al reporte de (Venegas, 2016); sin embargo, a comparación del reporte por (Hernández, 2013), de la empresa apicare, Riobamba-Chimborazo para la miel fue 403.4 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) y para el propóleo 397.7 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) estos resultados se mostraron en rangos similares a los resultados para la Comunidad de Huinchos Pataccocha de los propóleos recolectado por método de raspado 651.74 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) y por rejilla 673.30 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.), pero mucho menores a los resultados

obtenidos para la Comunidad de Chiara. Según (Rodríguez, et al. 2012), reportó el valor de la capacidad antioxidante de los propóleos de la Región de Galapa (190.4), para Sabana larga (65.1), Santo Tomás (134.2) y Juan de Acosta (103.8) ( $\mu\text{g}$  de equivalente trolox/g de propóleos) que a comparación de los resultados obtenidos del propóleo de la Comunidad Chiara con valor de 826.09 y 817.76 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) fueron muy bajos siendo cinco veces mayores los propóleos de la Comunidad de Chiara. Según (Palomino, Garcia, Gil, Rojano, & Durango, 2009), la capacidad antioxidante del propóleo para la localidad de Betania reportó 236.3 ( $\mu\text{g}$  de equivalente trolox/g b.s.) resultó ser tres veces menor a comparación de la capacidad antioxidante de los propóleos de la Comunidad de Huinchos Pataccocha que varía de 651.74 a 673.30 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.), Mientras (Ríos, 2017) para el propóleo de *Melipona ebúrnea* de la Región Amazónica reportó para Sucumbíos de 508.00 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.) esto fue similar al propóleo recolectado por método de raspado de la Comunidad de Huinchos Pataccocha 651.74 ( $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox/g muestra b.s.); y a comparación que reporta para la localidad de Dayuma 204.67, Loreto 226.33 y Pastaza 241.33 ( $\mu\text{g}$  de equivalente trolox/g de propóleos) fueron similares entre sí, Los resultados del presente trabajo en comparación con los reportes de diferentes autores, resultaron tener valores mayores de capacidad antioxidante, que según (Rodríguez, et al. 2012), estas diferencias de los resultados se atribuyen a las condiciones de recolección y de almacenamiento de los propóleos, de la geografía (lugar) y sobre todo del vegetal florística que se alimentan las abejas. Entonces esto indica que las metodologías de extracción no afectan en cuanto a sus valores de la capacidad antioxidante de los propóleos.

## **6.2. Discusiones del contenido de fenoles totales de los propóleos**

Según la Tabla 9 se demostró los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales que se estimó a partir de una curva estándar con una solución acuosa de ácido gálico como patrón (Anexo, 6).

Los resultados de los compuestos fenólicos de los propóleos de la Comunidad de Chiara y Huinchos Pataccocha varían desde 40.58 a 67.31 (mg GAE/g de muestra b.s.), siendo el propóleo de la Comunidad de Chiara que obtuvo mayor valor del contenido de fenoles totales con 67.31 (mg GAE/g de muestra b.s.) y 66.58 (mg

GAE/g de muestra b.s.) mientras que las muestras de propóleos de la Comunidad de Huinchos Pataccocha, presento un valor de 44.27 y 40.58 (mg GAE/g de muestra b.s.), cabe señalar que el mayor contenido de compuestos fenólicos obtuvieron los propóleos de la Comunidad de Chiara mientras que los propóleos de la Comunidad de Huinchos Pataccocha obtuvieron menor contenido de fenoles totales. En comparación al reporte de (Soto, 2015), sobre la cuantificación de fenoles totales de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú como Piura tuvo un valor de 70.10 (mg GAE/g de muestra b.s.); Ayacucho 78.60 (mg GAE/g de muestra b.s.) y de Pucallpa 60.5 (mg GAE/g de muestra b.s.) estos reportes fueron similares al resultado del propóleo de la Comunidad de Chiara 67.31 y 66.58 (mg GAE/g de muestra b.s.) y según (Castillo & Chipatecua, 2016), quien reportó el valor de fenoles totales para el propóleo crudo de colmenas de *Apis mellifera* en la provincia del Sumapaz, Cundinamarca valores de fenoles totales para la localidad de Guavio 58.18 (mg GAE/g de muestra b.s.) que fue muy similar al resultado del propóleo de la Comunidad de Chiara recolectado por método de rejilla 66.58 (mg GAE/g de muestra b.s.), mientras que su reporte del propóleo de Espinalito 29, 50 (mg GAE/g de muestra b.s.) y de Pasca 29.00 (mg GAE /g 100 b.s.) fueron menores pero que son comprobables al reporte de (Álvarez, Rodríguez, Bedascarrasbure, & Maldonado, 2004) sobre el Contenido de Fenoles del Propóleos Argentino para la Región del Valles Calchaquíes 18.75 (mg GAE/g de muestra b.s.); de la Región Cuyo 18.43 (mg GAE/g de muestra b.s.); de Estepa Pampeana 21.31 (mg GAE/g de muestra b.s.) y Región Patagonia Norte 21.16 (mg de GAE/100 g b.s.). Además según (Lozina, Peichote, Acosta, & Granero, 2009) para los Propóleos Argentinos de otras regiones obtuvo como resultado de compuestos fenólicos como sigue: Región Chaco (10.90); Corrientes (18.67), Santiago del Estero (13.15) y Mendoza (16.92) mg GAE / 100 g b.s. también fueron similares a los reportes de (Álvarez, Rodríguez, Bedascarrasbure, & Maldonado, 2004). En cambio (Palomino, Garcia, Gil, Rojano, & Durango, 2009) reportó el contenido de fenoles totales para Caldas 34.00 (mg de GAE/100 g b.s.). esto es similar al resultado del propóleo de la Comunidad de Huinchos Pataccocha con 40.58 (mg GAE/g de muestra b.s.) Mientras que el reporte de la Región Betania es 75.22 (mg de ácido gálico / g de muestra) que es similar al resultado de la Comunidad de Chiara con 67.31 (mg GAE/g de muestra b.s.) cabe señalar que entre el reporte de (Palomino, Garcia, Gil, Rojano, & Durango, 2009) y el presente estudio hay una mínima diferencia, esta diferencia se atribuye a que

los propóleos fueron extraídos en diferentes lugares, con variación vegetativa y florística. (Angulo, 2014) reportó el contenido de fenoles totales en los propóleos de diferentes zonas apícolas de la provincia de Chimborazo de la localidad de Nitiluisa con (74.05) de Socorro (80.29) de Chambo (74.25) y de Virgen de Fátima (78.62) mg de ácido gálico/ 100 g b.s.) estos resultados fueron mayores en comparación con los resultados de los fenoles totales en los propóleos de las Comunidades de Chiara 67.31 y Huinchos Patacocha 44.27 (mg GAE/g de muestra b.s.) pero a comparación del reporte por (Salinas, 2012) obtuvieron los compuestos fenólicos así como sigue de la localidad de Buin (25.30) Caleu (29.30), Cajón del Maipo (23.00) y Curacaví (27.00) (mg GAE/g de muestra b.s.) estos fueron mucho menores que los valores reportados para las comunidades de Chiara y Huinchos Patacocha. Asimismo (Hernández, 2013) reportó para la miel propolizada, los compuestos fenólicos totales de 29.11 (mg GAE/g de muestra b.s.) seguido por la miel propolizada con 14.00 (mg GAE/g de muestra b.s.) mientras la miel pura con 14.10 (mg GAE/g de muestra b.s.) los cuales se mostraron mucho más menores que los resultados obtenidos en esta investigación.

Por otro lado se tiene la investigación realizada por (Hamazaka, Ahn, Kumazawa, & Nakayama, 2004) y (Nina, et al. 2016), quienes señalan que los constituyentes y los valores cuantitativos en las muestras de propóleo de compuestos fenólicos, varían con el origen geográfico, se tiene el mismo panorama con los valores de fenoles totales de las muestras recolectadas en las comunidades de Chiara y Huinchos Patacocha, siendo estos diferentes significativamente, debido a las condiciones geográficas. Así mismo según el reporte cuantitativo de (Hamazaka, Ahn, Kumazawa, & Nakayama, 2004) los valores de fenoles totales de muestras de Japón, se encontraron en un rango de  $53.30 \pm 0.50$  mg GAE/g (En la localidad de Akita – Kazuno) hasta  $431.20 \pm 7.30$  mg GAE/g (Okinawa), siendo estos ligeramente inferiores a los obtenidos en la presente investigación, donde el valor más alto fue de  $67.31 \pm 0.22$  mg GAE/g muestra b.s., en la Comunidad de Chiara.

### **6.3. Discusiones del contenido de Flavonoides totales de los propóleos**

Según la Tabla 11 se mostraron los resultados del contenido de flavonoides totales que se estimó a partir de una curva estándar con una solución acuosa de quercetina como patrón (Anexo, 10). Los resultados se expresaron como (mg quercetina por cada g de muestra seca). Los valores de los flavonoides totales de

los propóleos resultaron ser mayores para la Comunidad de Chiara con valores de 47.96 (mg quercetina/ g b.s.) y 46.18 (mg quercetina/ g b.s.). Mientras que los resultados de los propóleos de la Comunidad de Huinchos Patacocha resultaron ser menores con los valores de 33.48 (mg quercetina/ g b.s.) y 29.32 (mg quercetina/ g b.s.). Estos resultados en comparación al reporte de (Venegas, 2016) los propóleos de la Región del Biobío el contenido de Flavonoides totales fue 40.00 (mg quercetina /g b.s.) similar al de la Comunidad de Chiara que resultaron tener 47.96 (mg quercetina/ g b.s.) y 46.18 (mg quercetina/g b.s.). Según (Soto, 2015) los propóleos de tres localidades del Perú, del propóleo de Ayacucho 42.50 (mg quercetina/g b.s.) y Piura fue 34.50 (mg quercetina/g b.s.) fueron muy similares y próximos a los resultados del contenido de flavonoides de la Comunidad de Chiara 47.96 (mg quercetina / g b.s.) y 46.18 (mg quercetina/g b.s.), mientras que su reporte de Pucallpa es 28.5 (mg de quercetina/g b.s.) similar al resultado del propóleo de la Comunidad de Huinchos Patacocha 33.48 (mg quercetina/g b.s.) y 29.32 (mg quercetina/ g b.s.), estos resultados fueron cercanos al reporte de (Hernández, 2013) para la miel propolizada elaborada por la empresa apicare en Riobamba-Chimborazo que es de 31.92 ( mg quercetina/100 g b.s.), Sin embargo los reportes según (Álvarez, Rodríguez, Bedascarrasbure, & Maldonado, 2004) los Flavonoides de los Propóleos Argentinos extraídos del Valle Calchaquíes 12.28 , de Cuyo 9.44 (mg quercetina /g b.s.) y según (Salinas, 2012) en Buin 13.19 (mg quercetina/ g b.s.) fueron dos veces menores a comparación del contenido de Flavonoides totales de la Comunidad Huinchos Patacocha 33.48 (mg quercetina/ g b.s.) y 29.32 (mg quercetina/ g b.s.); Estos resultados a comparación de los reportes por otros autores como (Rodríguez, et al. 2012), para los propóleos extraídos en el departamento del atlántico Colombia como Santo Tomás (5.20), Galapa (3.40), Sabanalarga (2.30) Juan de Acosta (1.90) expresados en (mg de quercetina /g b.s.) y según (Rengifo, 2013) en el extracto etanólicos de propóleos fue 8.71 mg de quercetina / g b.s.) similar al reporte de (Delgado, Andrada, & Ramírez, 2015) los propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco Flavonoides totales fue 4.30 (mg quercetina/g b.s.) estos fueron mucho menores que los resultados de los propóleos de las Comunidades de Chiara y Huinchos Patacocha.

## CONCLUSIONES

- Los valores de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y flavonoides totales, de las muestras de propóleos recolectadas en la Comunidad de Chiara fueron superiores a las muestras de propóleos recolectados en la comunidad de Huinchos Patacocha, sin embargo los métodos empleados para la extracción (método de raspado y rejilla plastificada) no mostraron ninguna diferencia significativa en sus valores para la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos totales y flavonoides totales, mientras que el factor de lugares (bloques) sí presenta un efecto significativo, esto indica que los propóleos de las Comunidades de Chiara y Huinchos Patacocha son completamente diferentes en cuanto a su contenido de capacidad antioxidante y sus compuestos bioactivos como fenoles totales y flavonoides totales. Así mismo, se pretendió emplear un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) para el análisis estadístico, considerando dos tratamientos (métodos) y dos bloques (lugares), no encontrándose diferencia significativa entre los tratamientos.
- Las muestras de propóleos de la Comunidad de Chiara, extraídos por ambas metodologías de rejilla plástica y por raspado, obtuvieron valores significativos de capacidad antioxidante expresados en  $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox / g muestra, sin embargo los métodos empleados para la extracción (método de raspado y rejilla plastificada) no mostraron ninguna diferencia significativa en sus valores para la capacidad antioxidante, mientras que el factor de lugares (bloques) sí presenta un efecto significativo.
- Los fenoles totales de los propóleos de la Comunidad de Chiara extraídos por ambas metodologías de recolección como el raspado y rejilla plástica, fueron mayores a los propóleos extraídos de la Comunidad de Huinchos Patacocha, teniendo una relación directamente proporcional con los valores de capacidad antioxidante, sin embargo los métodos empleados para la extracción (método de raspado y rejilla plastificada) no mostraron ninguna diferencia significativa en sus valores para los compuestos fenólicos totales, mientras que el factor de lugares (bloques) sí presenta un efecto significativo estadísticamente.

- Los flavonoides totales de los propóleos de la Comunidad de Chiara extraídos por ambas metodologías (raspado y rejilla plástica) fueron mayores que los propóleos de la comunidad de Huinchos Patacocha, manteniéndose de esta manera una relación directamente proporcional con los valores de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, sin embargo los métodos empleados para la extracción (método de raspado y rejilla plastificada) no mostraron ninguna diferencia significativa en sus valores para los flavonoides totales, mientras que el factor de lugares (bloques) sí presenta un efecto significativo estadísticamente.

## RECOMENDACIONES

- Evaluar las características organolépticas y la composición Química de los Propóleos de ambos Lugares como Chiara y Huinchos Pataccocha.
- Determinar la actividad antimicrobiana de los propóleos en base al presente trabajo de investigación.
- Realizar comparaciones con otros métodos de análisis de sus compuestos bioactivos de los propóleos.
- Realizar un estudio sobre el propóleo como materia prima para la elaboración de diferentes derivados como: cosméticos, alimentos, suplementos y otros.
- Realizar un estudio sobre la situación actual de apicultura y sus derivados en la Región Apurímac.
- Evaluar condiciones de almacenamiento de los propóleos, como la estabilidad (sin alcohol).
- Determinar los parámetros de toxicidad como NOAEL (nivel sin efecto adverso) y LOAEL (Nivel más bajo en la cual se observan efectos adverso).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, A., Rodríguez, E., Bedascarrasbure, E., & Maldonado, L. (2004). Contenido de fenoles y flavonoides del propóleo Argentino. *Acta Farm Bonaerense*.
- Angulo, B. (2014). Caracterización y actividad antioxidante de propóleos de diferentes zonas apícolas de la provincia de Chimborazo utilizados en la empresa APICARE Riobamba - Ecuador. *Tesis de grado escuela superior Politecnica de Chimborazo - Ecuador*.
- Ara, R. (2004). *Cien Plantas Medicinales Escogidas* (Cuarta ed.). Madrid, España: EDAF S.A.
- Ariflazar, R., Ismail, S., & Begum, N. (2010). Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents. *Food Chemistry*, 233-237.
- Bankova, V., & Marcucci, C. (2000). Standardization of propolis present status and prespective. *Bee world*, 182-188.
- Bankova, V., Popova, S., & Bogdanov, M. (2005). Chemical composition of European propolis. *Expected and unexpected results*, 530-533.
- Barragán, V. (2011). Potencial saludable de sustancias bioactivas de algunas verduras. *Tesis de Nutricionista dietista de la Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias*.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food science and technology*, 25-30.
- Briemann, H., Cseke, J., Kirakosyan, A., Kaufman, B., Warber, S., & Duke, A. (2006). *The Chemical Components of Plants* (Segunda ed.). New York, Estados Unidos: Taylor & Francis.
- Castillo, D., & Chipatecua, F. (2016). Efecto de la localización geográfica y el método de recolección en la producción de propóleos crudo de colmenas de *Apis mellifera* sobre indicadores de calidad fisicoquímico y microbiológicos, en la Provincia de Sumpaz Condinamarca. *Tesis de grado universisda de Condinamarca - Colombia*.
- Caturla, N., Samper, E., Villalaín, J., Mateo, C., & Micol, V. (2003). The relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes. *Free Radic*, 648-662.
- Collado, M. (2014). Diseño y síntesis de compuestos orgánicos bioactivos. OCW. *Universidad de Málaga*.
- Cueto, D. (2001). *Los propóleos, su aplicación en la medicina humana*. Cuba: Puebla y Educacion.
- Delgado, M., Andrada, J., & Ramírez, C. (2015). Caracterización ficicoquímica de propóleos colectados en el bosque la Primavera Zapopan, Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* , 74-84.

- Drago, S. (2007). Flavonoides Recombinantes de Relevancia Farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 45-47.
- Dussart, E. G. (2007). Elaboración de subproductos de la miel y las colmenas. *Taller desarrollado por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*.
- Fernández, G., Fernando, M., & Gomzales, A. (2002). *Composición químicos y clasificación de los polifenoles* (Primera ed.). Argentina: B.A- Argentina.
- Ferreira, E., Guzman, D., Tello, J., & De Olivera, S. (2011). Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de *Apis mellifera* L. (hymenoptera: apidae) de la Región andina Colombiana. UN- Universidad Nacional de Colombia. *Acta Biológica Colombia*, 175-184.
- Figuroa, B. (2012). Análisis de la calida y actividad antiinflamatoria tópica en vivo de propóleos de la Región Metropolitana Santiago de Chile . *Tesis para Obtener el Título de Químico Farmacéutico de la Universidad de Chile - Santiago de Chile*.
- Galván, M. (2016). Compuestos Bioactivos saludables presentes en los alimentos mexicanos. *Instituto Nacional de Salud Pública*.
- Gutiérrez, H., & De La Vera, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos* . México: McGraw - Hill Interamericana Editores S.A.
- Hamasaka, T., Ahn, M., Kumazawa, S., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Japan. . *Laboratory of Functional Food Science and COE Program in the 21st Century, Department of Food and Nutritional* .
- Hernández, L. (2013). Determinación del potencial nutraceuticos y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la empresa APICARE, Riobamba - Chimborazo. *Tesis para obtener el título Bioquímico Farmacéutico en la Escuela Superior Politecnica de Chimborazo - Ecuador*.
- Krell, R. (1996). Value-added products from bee keeping. *FAO Agricultural Services Bulletin*, 124.
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia: Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de origen Natural*. Barcelona-España: Omega.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food chemistry*, 86-92.
- Kuskoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini, F. A., & Fett, R. (2004). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Departamento de Química Analítica y Departamento de Bioquímica, Bromatología*.
- López. (2002). Flavonoides. *Fitoterapia*, 108-114.

- López, A., Fernando, C., Lazarova, A., Bañuelos, R., & Sánchez, S. (2012). Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 295-311.
- López, E. (2015). Estudio de la actividad antimicrobiana y antioxidante de propóleos de distintos orígenes. *Universitat Politècnica de València. Departamento de Biotecnología*.
- Lozina, L., Peichote, E., Acosta, O., & Granero, E. (2009). Estandarización y caracterización organoléptica y físico-química de 15 propóleos Argentinos. *Latin American Journal of Pharmacy*.
- Maldonado, L., Alvarez, E., & Rodríguez, E. (2013). Propóleos, pasado y presente. *Acta farmacéutica bonaerense*, 369-372.
- Martínez, J. (1991). Empleo de las mallas plásticas para la producción y cosecha del propóleo. *Espacio apícola*.
- Martínez, L., & Lara, E. (2010). El propóleo y las técnicas para su colecta. *Notiabeja, secretaria de agricultura, desarrollo rural, pesca y alimentación, Gobierno de México*.
- Mazza, G. (2000). *Aspectos bioquímicos y de procesado*. España: Acribia, Zaragoza.
- Montenegro, G., Pizarro, R., Mejías, E., & Rodríguez, S. (2003). Evaluación biológica de polen apícola de plantas nativas de Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*.
- Morales, P. (2011). Vegetales silvestres de uso alimentario: determinación de compuestos bioactivos y valoración de la capacidad antioxidante. *Tesis de doctor no publicada de la Universidad Complutense de Madrid*.
- Nina, N., Quispe, C., Jimenez, F., Theoduloz, C., Gimenez, A., & Schmeda, G. (2016). Chemical profiling and antioxidant activity of Bolivian propolis. *Journal of the Science of food and Agriculture*.
- Paladino, S. (2011). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). *Tesis de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*.
- Palomino, L., Garcia, C., Gil, J., Rojano, B., & Durango, D. (2009). Caracterización físico-química y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia - Colombia. *Revista de la facultad de Química farmacéutica*, 388-395.
- Pannala, A., Chan, T., Brien, P., & Evans, C. (2001). Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity. *Biochem. Biophys. Biochem Biophys Res Commun*, 1161-1169.
- Pedreño, Y. (2012). Los antioxidantes polifenólicos, un complemento alimenticio saludable. *Revista Eubacteria*.
- Pérez, T., & Martínez, S. (2001). Los flavonoides como antioxidantes naturales. *Acta farm. Bonaerense*, 297-306.

- Peris, J., Stubing, G., & Vanachola, B. (1995). Fitoterapia aplicada. *Anales del jardín botánico de Madrid*, 289-290.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 1035-1042.
- Prado, L., Azevedo, J., & Flechtmann, C. (1962). Antimicrobianos em própolis de *Apis mellifera*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1242-1244.
- Rengifo, A. (2013). Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos. *Revista científica de la facultad de farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo*.
- Rice, C. (2003). *Flavonoids in health and disease*. New York, Estados Unidos: Marcel Dekker Inc.
- Ríos, R. (2017). Caracterización fisicoquímica, antibacteriana y antioxidante de propóleo de *Melipona ebúrnea* de la Región Amazónica. *Tesis de grado Universitaria Técnica de Ambato Ecuador*.
- Rivero, C., Román, E., & Ramos, B. (2014). Contribución de compuestos bioactivos (flavonoides) de extractos de propóleos para uso alimenticio en la elaboración de alimentos funcionales. *V congreso internacional de ciencia y tecnología de alimentos, Argentina*.
- Robbers, J., Speedie, M., & Tyler, V. (1996). *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology* (Primera ed.). Australia: Baltimore.
- Rodríguez, J., Menéndez, L., & Trujillo, Y. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Cub Med Milit*.
- Rodríguez, Y., Sanchez, F., Rojano, B., Durango, D., Gil, j., & Loaiza, J. (2012). Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos extraídos en el departamento del Atlántico, Colombia. *U.D.C.A Actualidad y Divulgación científica*.
- Rojas, D., Narváez, E., & Restrepo, S. (2007). Evaluación del contenido de vitamina c, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. *Departamento de Química, Facultad de ciencias, UNC*.
- Salatino, A., Weinstein, E., Negri, G., & Message, D. (2005). Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evidence – based complementary and alternative medicine*, 33-38.
- Salatino, A., Weinstein, E., Negri, G., & Messenger, D. (2005). Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Based complementary and alternative medicine*, 33-38.
- Salinas, R. (2012). Estudio comparativo de la actividad antioxidante y de la composición en compuestos fenólicos de propóleos de la Región metropolitana de Santiago de Chile. *Tesis de grado de la Universidad de Chile*.
- Serfor. (2012). *Lista oficial de especies forestales*. Andahuylas - Apurímac.

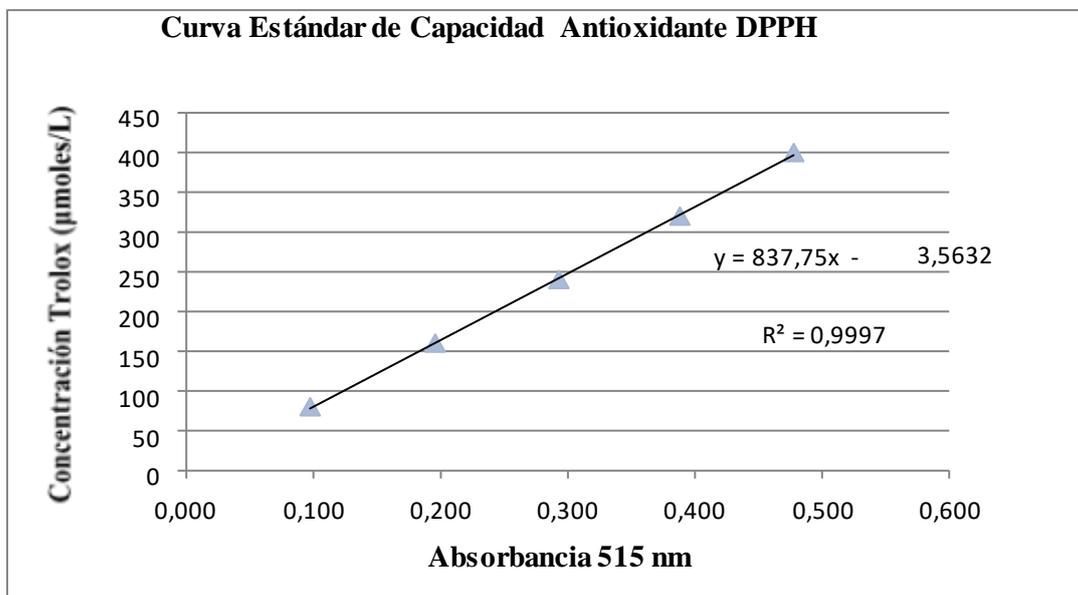
- Serra, J., Bosch, C., & An, Q. (1994). The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. *JAOCS*, 71.
- Singleton, V., Otthofer, R., & Lamuela, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 152-178.
- Soto, M. (2015). Metabolitos secundarios, cuantificación de los fenoles y flavonoides totales de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú - Universidad Nacional de Trujillo. *In Crescendo institucional*, 22-32.
- Vargas, R., Sánchez, G., Urrutia, T., & Escalante, A. (2013). El propóleos: Conservador potencial para la industria alimentaria. *Interciencia*, 705-711.
- Venegas, Y. (2016). Análisis de la actividad antioxidante de propóleos de la Region del Biobío. *Tesis doctoral de Ciencias y Tecnología analítica Chile*.
- Venero, G. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista cubana de Medicina Militar*.
- Williams, C. (1994). Flavone and flavonol glycosides. *The Flavonoids*, 337-385.

# ANEXOS

**ANEXO 1: Resultados analizados para la Capacidad Antioxidante de Propóleos**

Propóleos	Abs del extracto	Abs de la solución DDPH	Abs del blanco	Abs de la muestra	$\Delta$ DPPH (Abs blanco - Abs muestra)	bX (curva de calibración)	mL del extracto	g de muestra	% H	wt de la muestra en bs	Trolox Eq ( $\mu$ g Equivalente Trolox / g muestra)
Método Raspado - Huinchos Pataccocha	0.159	1.101	0.962	0.198	0.764	636.4778	4	1.0180	5.836	0.9586	663.9733
	0.178	1.101	0.962	0.216	0.746	621.3983	4	1.0180	5.836	0.9586	648.2423
	0.161	1.101	0.962	0.222	0.740	616.3718	4	1.0180	5.836	0.9586	642.9987
Método Rejilla - Huinchos Pataccocha	0.134	1.101	0.962	0.200	0.762	634.8023	4	1.0100	5.748	0.9519	666.8475
	0.134	1.101	0.962	0.192	0.770	641.5043	4	1.0100	5.748	0.9519	673.8878
	0.134	1.101	0.962	0.186	0.776	646.5308	4	1.0100	5.748	0.9519	679.1681
Método Raspado - Chiara	0.478	1.101	0.941	0.034	0.907	756.2761	15	3.4860	5.876	3.2812	813.5500
	0.477	1.101	0.941	0.030	0.911	759.6271	15	3.4860	5.876	3.2812	817.1547
	0.478	1.101	0.941	0.024	0.917	764.6536	15	3.4860	5.876	3.2812	822.5619
Metodo Rejilla - Chiara	0.113	1.101	0.941	0.042	0.899	749.5741	15	3.6200	5.864	3.4077	824.8624
	0.113	1.101	0.941	0.042	0.899	749.5741	15	3.6200	5.864	3.4077	824.8624
	0.113	1.101	0.941	0.038	0.903	752.9251	15	3.6200	5.864	3.4077	828.5500

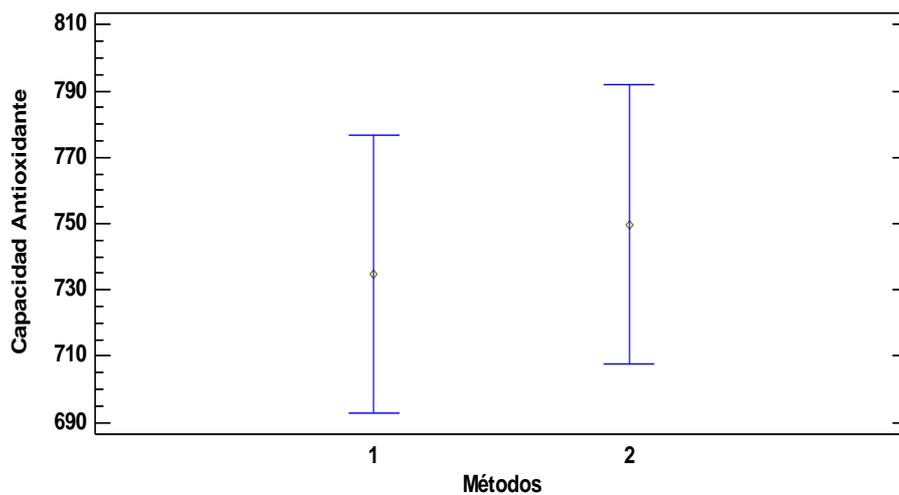
**ANEXO 2:** Curva Estándar de Calibración para Capacidad Antioxidante



**ANEXO 3:** Pruebas de Múltiple Rangos para compuestos fenoles totales por Métodos de la Capacidad Antioxidante.

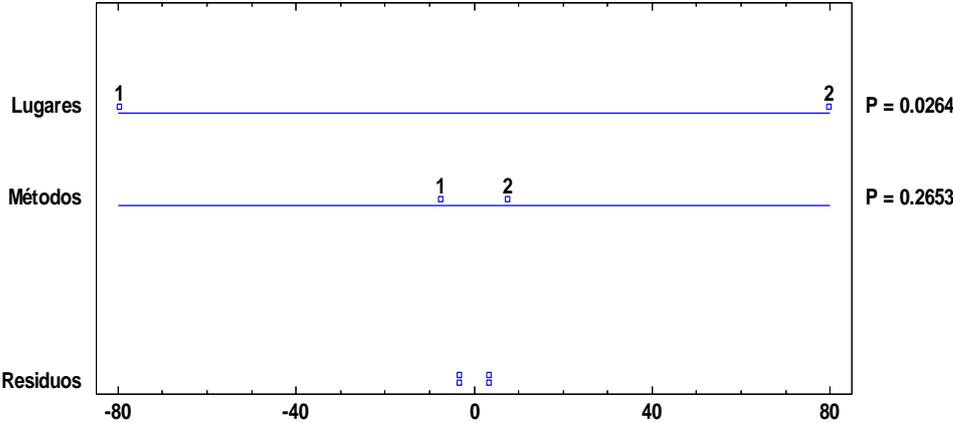
Método: 95.0 porcentaje LSD

Medias y 95.0% de Fisher LSD



**ANEXO 4:** Gráfica de ANOVA para la Capacidad Antioxidante de los propóleos.

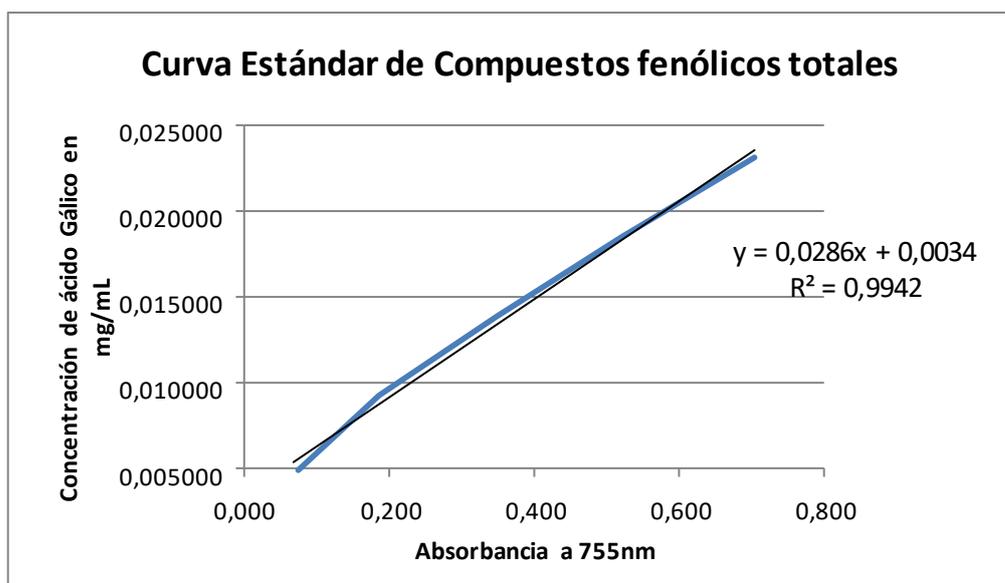
ANOVA Gráfico para Capacidad Antioxidante



**ANEXO 5:** Datos del análisis de resultados para Fenoles Totales de propóleos

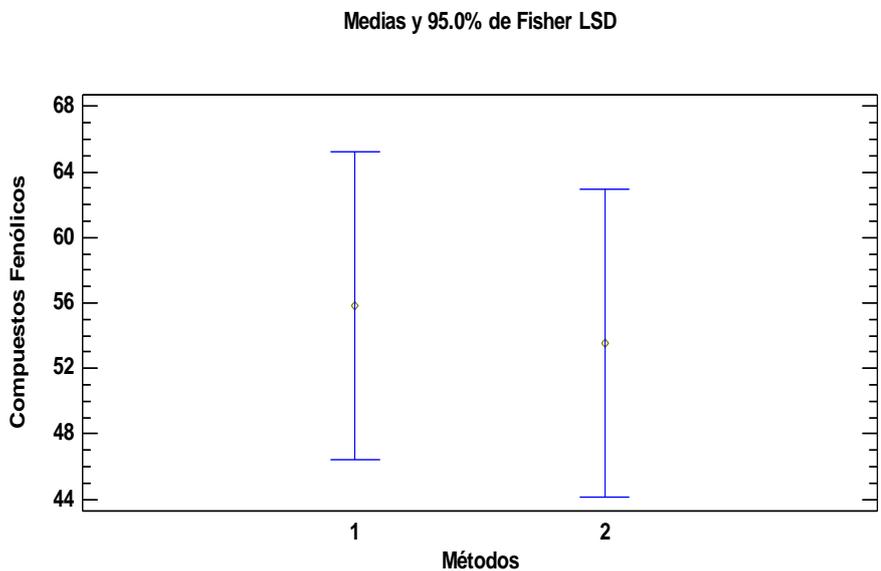
Propóleos	g. de muestra	% H	wt de la muestra en bs	Volumen a diluir (mL)	Abs a 755 nm	mg/Acido Galico/g de muestra original
Metodo Raspado - Huinchos Pataccocha	0.5150	5.836	0.4849	30	0.520	45.2142
	0.5150	5.836	0.4849	30	0.500	43.7988
	0.5150	5.836	0.4849	30	0.500	43.7988
Metodo Rejilla - Huinchos Pataccocha	0.5150	5.748	0.4854	30	0.420	38.1015
	0.5150	5.748	0.4854	30	0.460	40.9297
	0.5150	5.748	0.4854	30	0.485	42.6974
Metodo Raspado - Chiara	0.5046	5.876	0.4749	30	0.810	67.1212
	0.5046	5.876	0.4749	30	0.812	67.2657
	0.5046	5.876	0.4749	30	0.816	67.5548
Metodo Rejilla - Chiara	0.5192	5.864	0.4888	30	0.783	63.3295
	0.5192	5.864	0.4888	30	0.845	67.6831
	0.5192	5.864	0.4888	30	0.860	68.7364

**ANEXO 6:** Curva estándar de calibración para compuestos fenoles totales

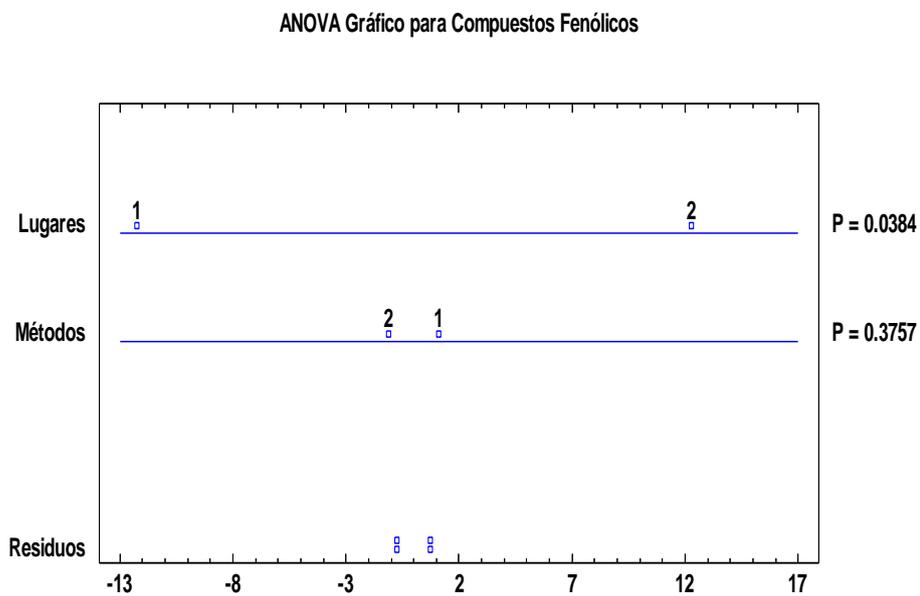


**ANEXO 7:** Pruebas de Múltiple Rangos para compuestos fenoles totales por Métodos

Método: 95.0 porcentaje LSD



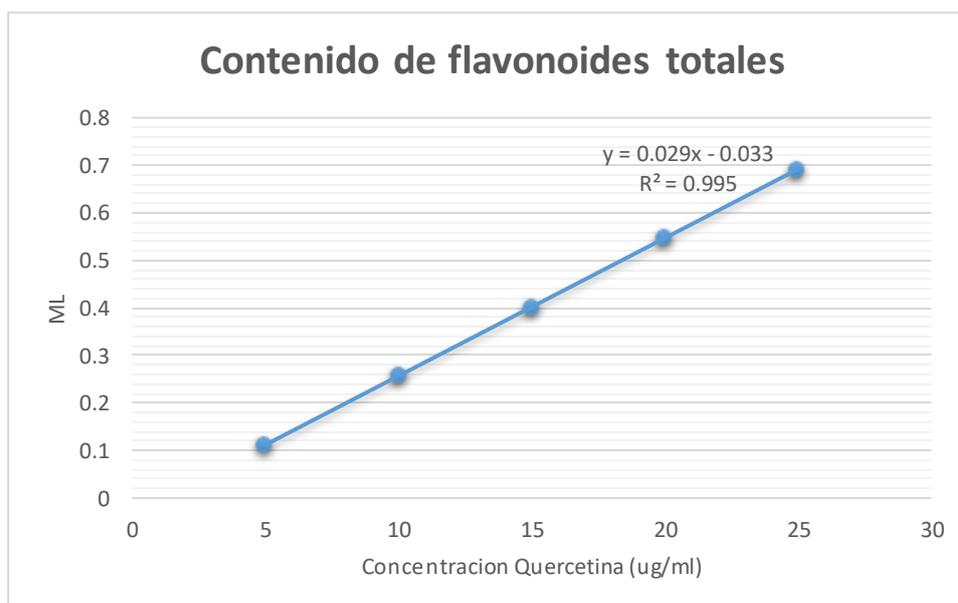
**ANEXO 8:** Gráfica de ANOVA para los compuestos fenólicos de los propóleos



**ANEXO 9:** Datos de análisis de resultados del contenido de flavonoides totales

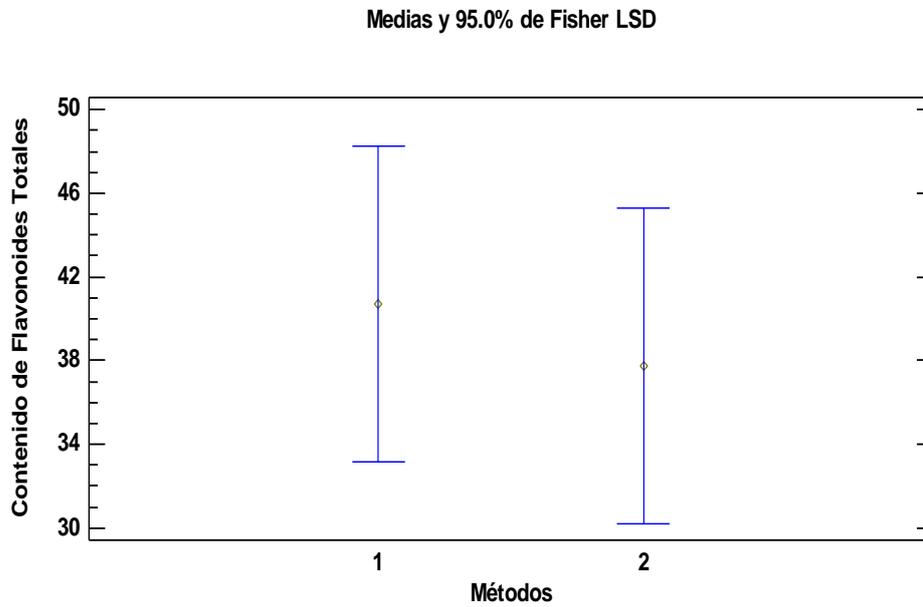
Propóleos	Abs de la muestra	g de muestra	% H	wt de la muestra en bs	mL del extracto	Contenido de flavonoides totales (mg quercetina /mg muestra)
Método Raspado - Huinchos Pataccocha	0.042	1.2000	5.836	1.129968	10	33.1867
	0.044	1.2000	5.836	1.129968	10	34.0717
	0.042	1.2000	5.836	1.129968	10	33.1867
Método Rejilla - Huinchos Pataccocha	0.030	1.2000	5.748	1.131024	10	27.8508
	0.038	1.2000	5.748	1.131024	10	31.3874
	0.032	1.2000	5.748	1.131024	10	28.7350
Método Raspado - Chiara	0.070	1.2000	5.876	1.129488	10	45.5958
	0.080	1.2000	5.876	1.129488	10	50.0226
	0.076	1.2000	5.876	1.129488	10	48.2519
Método Rejilla - Chiara	0.072	1.2000	5.864	1.129632	10	46.4753
	0.074	1.2000	5.864	1.129632	10	47.3605
	0.068	1.2000	5.864	1.129632	10	44.7048

**ANEXO 10:** Curva estándar de calibración de quercetina

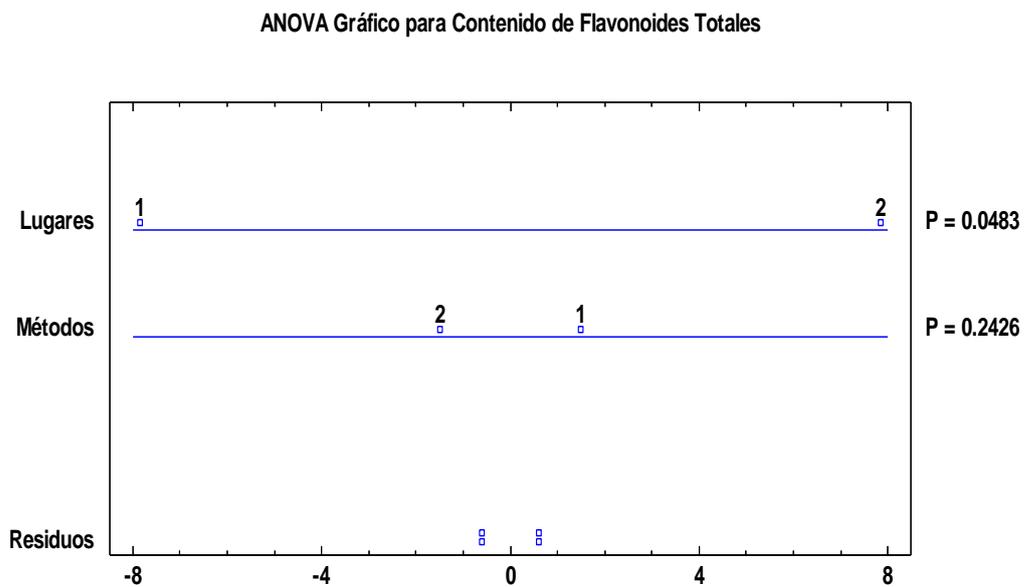


**ANEXO 11:** Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de Flavonoides Totales por Métodos

Método: 95.0 porcentaje LSD



**ANEXO 12:** Gráfica de ANOVA para los Flavonoides totales de los propóleos



**ANEXO 13:** Imágenes de la recolección de las muestras de propóleos



Imagen 01: Acondicionamiento de los cajones de abejas, con el fin de colocar las rejillas, en la Comunidad de Chiara.



Imagen 02: Inspección de las abejas.



Imagen 03: Inspección de la producción de propóleo, en la comunidad de Chiara.

**ANEXO 14:** Imágenes del desarrollo experimental de la investigación realizada

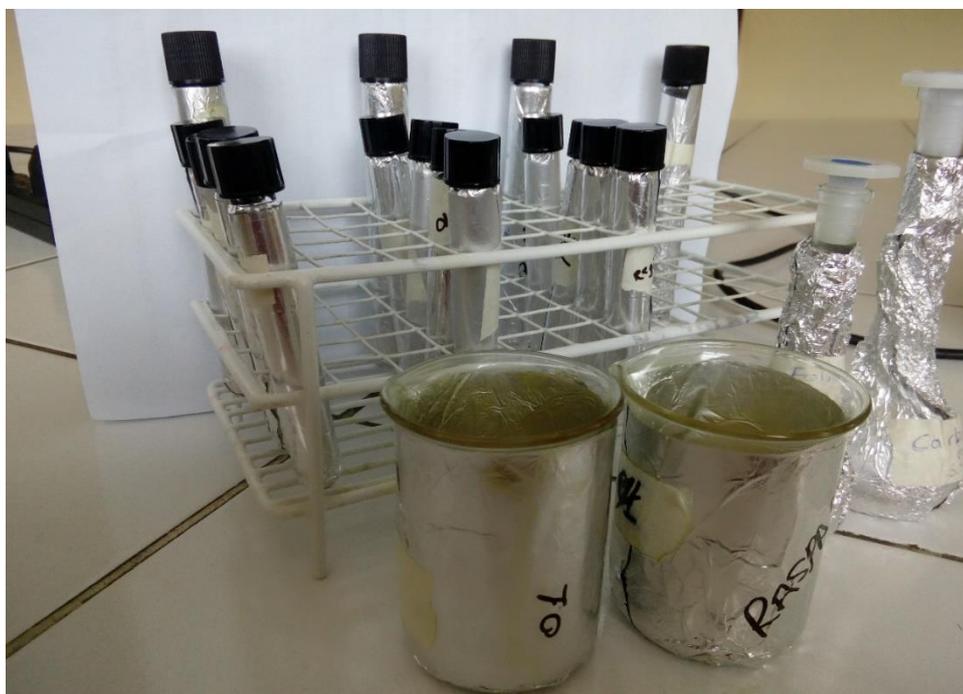


Imagen 04: Preparación de las muestras de propóleos, para a determinación de capacidad antioxidante.



Imagen 05: Homogeneizado de los extractos.

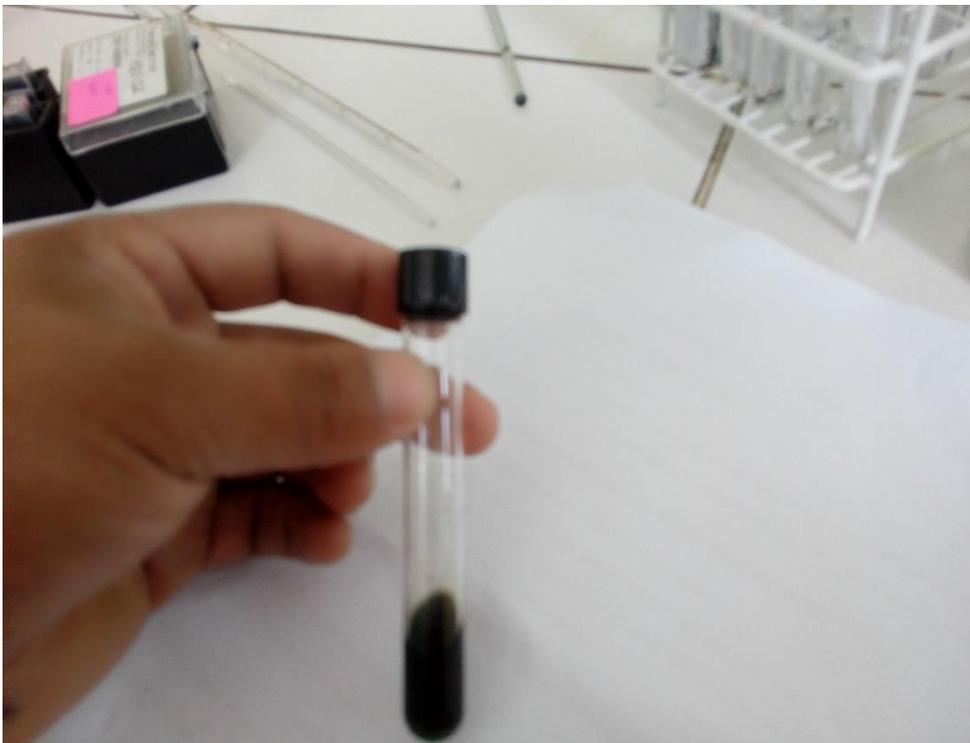


Imagen 06: Preparación de los reactivos



Imagen 07: Lectura de las muestras.

**ANEXO 15: Matriz de Consistencia.**

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	DEFINICIÓN DE OPERACIONES			RECOLECCION DE DATOS	
			VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	MÉTODO	TÉCNICA	INSTRUMENTO
<b>GENERAL</b> ¿En qué medida varían los valores de capacidad antioxidante, compuestos fenólicos totales y flavonoides totales de propóleos producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara?.	<b>GENERAL</b> Evaluar y comparar los valores de capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y contenido de flavonoides de propóleos producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), extraídos por el método de raspado y rejillas plastificadas de las Comunidades: Huinchos Pataccocha y Chiara de la provincia de Andahuaylas.	<b>GENERAL</b> La capacidad antioxidante, los compuestos fenólicos totales y flavonoides totales de propóleos producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), varían significativamente de acuerdo al método de recolección (método de raspado y rejilla plastificada) y a la zona de recolección (Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara).	<b>ENTRADA</b> Propóleos recolectadas por el método de raspado en la comunidad campesina de Chiara.	El propóleos es un material resinoso que las abejas elaboran a partir de las exudados y resinas de árboles, plantas y flores.	Gravimétrica	Pesado	Balanza analítica
			Propóleos recolectadas por el método de raspado en la comunidad campesina Huinchos Pataccocha.				
			Propóleos recolectadas por el método de rejilla plastificada en la comunidad campesina de Chiara.				
			Propóleos recolectadas por el método de rejilla plastificada en la comunidad campesina Huinchos Pataccocha				
<b>ESPECÍFICO</b> ¿En qué medida varían los valores de capacidad antioxidante de los propóleos producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de	<b>ESPECÍFICO</b> Determinar la capacidad antioxidante de propóleos recolectadas en las comunidades campesinas de Chiara y Huinchos Pataccocha empleando el	<b>ESPECÍFICO</b> Los valores de capacidad antioxidante varían significativamente de acuerdo al método de recolección (método de raspado y rejilla plastificada) y a la zona de recolección (comunidades campesinas de Huinchos	<b>SALIDA</b> Capacidad antioxidante del propóleos producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara	Antioxidante es cualquier sustancia que en presencia de un sustrato oxidable retrasa o inhibe la oxidación del mismo	Instrumental	Lectura	Espectrofotómetro

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	DEFINICIÓN DE OPERACIONES			RECOLECCION DE DATOS	
			VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	MÉTODO	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Huinchos Pataccocha y Chiara?	método de raspado y rejillas plastificadas.	Pataccocha y Chiara).					
¿En qué medida varían los valores compuestos fenólicos totales de propóleos producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara?	Determinar los contenidos de fenoles totales, de muestras de propóleos recolectadas de las comunidades de Chiara y Huinchos Pataccocha, empleando los métodos de recolección raspado y rejillas plastificadas.	Los contenidos de fenoles totales varían significativamente y dependen de la localidad de recolección (comunidades campesinas de Huinchos Pataccocha y Chiara) y de los métodos empleados (método de raspado y rejilla plastificada)	Contenido de fenoles totales producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara	Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo	Instrumental	Lectura	Espectrofotómetro
¿En qué medida varían los valores de flavonoides totales de propóleos producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara?	Determinar el contenido de flavonoides totales de propóleos recolectadas en las comunidades campesinas de Chiara y Huinchos Pataccocha, empleando los métodos de recolección raspado y rejillas plastificadas.	El contenido de flavonoides totales varía significativamente de acuerdo a la zona de recolección de los propóleos (comunidades campesinas de Huinchos Pataccocha y Chiara), así como también a los métodos (método de raspado y rejilla plastificada).	Contenidos de flavonoides totales producidos por abejas ( <i>Apis mellifera</i> ), obtenidos mediante el método de raspado y rejilla plastificada, extraídos en las Comunidades de Huinchos Pataccocha y Chiara	Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales, protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, contienen en su estructura química un grupo variable de grupos hidroxilo fenólicos.	Instrumental	Lectura	Espectrofotómetro