

Artículo Original

**OPTIMIZACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE ELABORACIÓN DE LA
TINTURA DE PROPÓLEO**

**OPTIMIZATION OF THE TECHNOLOGY FOR THE PRODUCTION OF
PROPOLIS TINCTURE**

Miguel Ángel Alba de Armas¹ <https://orcid.org/0000-0002-4183-789X>

Yanelis Saucedo Hernández^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-5146-5164>

Lietsy Sotolongo Moya¹ <https://orcid.org/0000-0002-4610-9728>

Oswaldo Norman Montenegro² <https://orcid.org/0000-0001-5132-4556>

Melissa Lliliam Gómez Saucedo¹ <https://orcid.org/0000-0001-5155-495X>

María Elisa Jorge Rodríguez¹ <https://orcid.org/0000-0002-1786-9840>

¹Departamento de Farmacia. Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní, km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

²Centro de Bioactivos Químicos (CBO). Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní, km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

Recibido: Marzo 17, 2022; Revisado: Abril 4, 2022; Aceptado: Abril 18, 2022

RESUMEN

Introducción:

La tintura de propóleo elaborada en los Centros de Producción Local (CPL) de Villa Clara presenta alta demanda por su diversidad de usos. El contenido de sólidos totales de este producto está resultando inferior al 10% (límite permisible).

Objetivo:

Optimizar la tecnología de elaboración de la tintura de propóleo con fines farmacéuticos, empleada en los CPL de Villa Clara.

Materiales y métodos:

Se realizó un diseño de experimentos factorial 2³. Los factores independientes y sus niveles fueron: tipo de disolvente (nivel bajo etanol al 70 % y nivel alto etanol al 96 %), tiempo de extracción por maceración (7 días nivel bajo y 14 días nivel alto) y variedad de propóleo (color pardo nivel bajo y castaño rojizo nivel alto). La variable respuesta a considerar fue el contenido de sólidos totales. Otros índices de calidad evaluados fueron: densidad relativa, índice de refracción y pH.



Este es un artículo de acceso abierto bajo una Licencia *Creative Commons* Atribución-No Comercial 4.0 Internacional, lo que permite copiar, distribuir, exhibir y representar la obra y hacer obras derivadas para fines no comerciales.

* Autor para la correspondencia: Yanelis Saucedo, Email: ysaucedo@uclv.edu.cu



Resultados y discusión:

Un elevado contenido de sólidos totales (23,02%) se obtuvo para la condición donde se empleó el propóleo castaño rojizo, etanol al 96 % como disolvente y tiempo de extracción de 7 días. El pH, índice de refracción y densidad relativa de la tintura, dieron resultados similares a los de otras tinturas de origen natural reportadas en la literatura.

Conclusiones:

La concentración del disolvente, variedad de propóleo y tiempo de extracción, influyen significativamente en el contenido de sólidos totales. La tintura obtenida del propóleo castaño-rojizo a los 7 días de maceración y 96% de etanol, duplica el límite mínimo permisible de sólidos totales.

Palabras clave: índices de calidad; propóleo; tecnología de elaboración; tintura.

ABSTRACT

Introduction:

The propolis tincture produced in the Local Production Centers (CPL) of Villa Clara province is in high demand due to its diversity of uses. The total solids content of this product is proving to be less than 10% (permissible limit).

Objective:

To optimize the processing technology of propolis tincture for pharmaceutical purposes, used in the CPLs of Villa Clara.

Materials and Methods:

A design of 2³ factorial experiments was carried out. The independent factors and their levels were: type of solvent (low level of 70% ethanol and high level of 96% ethanol), extraction time by maceration (7 days low level and 14 days high level) and variety of propolis (brown color low level and reddish brown high level). The response variable to considered was the total solids content. Other quality indexes evaluated were: relative density, refractive index and pH.

Results and Discussion:

A high total solids content (23.02%) was obtained for the condition where reddish brown propolis, 96% ethanol as solvent and extraction time of 7 days were used. The pH, refractive index and relative density of the tincture gave similar results to those of other tinctures of natural origin reported in the literature.

Conclusions:

The solvent concentration, propolis variety and extraction time significantly influence the total solids content. The tincture obtained from reddish-brown propolis after 7 days of maceration and 96% ethanol, doubles the minimum permissible limit of total solids.

Keywords: quality indices; propolis; processing technology; tincture.

1. INTRODUCCIÓN

El propóleo es una mezcla de sustancias de apariencia resinosa que ha sido muy útil desde la antigüedad, principalmente en medicina tradicional, debido a sus diversas propiedades biológicas como antibacteriana, antifúngica, antiviral (Anjum y col., 2019;

Bankova y col., 2019), antiinflamatoria, antitumoral, inmunomoduladora y antioxidante entre otros (Carrasco y Cepeda, 2020).

Las características organolépticas del propóleo (olor, color y sabor) dependen de varios factores como: la composición química, la fuente botánica circundante, zona geográfica, época de recolección, entre otros (Carrasco y Cepeda, 2020).

A partir del propóleo en bruto se obtienen extractos concentrados con los cuales se elaboran diferentes formas de dosificación, tales como cremas, ungüentos y tinturas. Los menstruos empleados en las tinturas oficiales son alcoholes, alcoholes diluidos en varias concentraciones o mezclas de alcohol, agua y glicerina (Norma Ramal de Salud Pública (NRSP 312, 1991); Cruz, (2017).

La tecnología de elaboración oficial para la tintura de propóleo según el método de Pichansky, descrito en la (NRSP 312, 1991) establece el empleo de etanol al 70%, una temperatura entre 50 y 55 °C de 3 a 5 horas y maceración entre 10 y 14 días con agitación periódica.

Dentro de los ensayos de control de calidad reportados para las tinturas derivadas de productos naturales se encuentran la caracterización organoléptica, determinación del índice de refracción, pH, densidad relativa, contenido alcohólico, porcentaje de acidez y la determinación de sólidos totales (NRSP 312, 1991; Mangas y col., 2021). En el caso de la tintura de propóleo, sólo se refiere como índice de calidad el contenido de sólidos totales, el cual debe ser superior a 10%, requisito necesario para la elaboración de posteriores formulaciones (NRSP 312, 1991; Cruz, (2017).

El contenido de sólidos totales de la tintura de propóleo elaborada en los CPL de Villa Clara (Cuba), presenta un comportamiento variable e inferior al 10%. El presente estudio tiene como objetivo optimizar la tecnología de elaboración de la tintura de propóleo con fines farmacéuticos que se obtiene en los CPL de Villa Clara.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El procedimiento experimental fue desarrollado en el área de producción del CPL del municipio de Santa Clara, provincia de Villa Clara, durante el mes de marzo del 2021.

2.1. *Recolección y preparación del propóleo.*

Se emplearon dos variedades de propóleos (uno de tonalidad castaño rojizo y el otro pardo), colectadas por diferentes apiarios de la provincia Villa Clara. Se eliminaron las materias extrañas de forma manual.

2.2. *Obtención de las tinturas.*

Se modificó el método de Pichansky descrito en la (NRSP 312, 1991). Se realizó un diseño de experimentos factorial 2^3 , para ello se tuvo en cuenta la posible incidencia en la calidad tecnológica de la tintura de factores independientes tales como concentración de etanol (70 y 96%), tiempo de maceración (7 y 14 días) y variedad de propóleo (castaño-rojizo y pardo). Como variable respuesta se consideró el porcentaje de sólidos totales. Se obtuvo un total de ocho formulaciones y sus réplicas, para su evaluación fisicoquímica (Tabla 1).

Se pesó 250 gramos de propóleo bruto en balanza técnica digital y se disminuyó el

tamaño de partícula de forma manual. Se transfirió a un beaker de 1000 mL y se humectó con un volumen de 500 mL de menstruado hidroalcohólico. Se maceró en el beaker tapado, durante el tiempo indicado según diseño, con agitación periódica manual (cada 2h). Se coló el extracto con gasa y se almacenó en frascos de vidrio ámbar con tapa de bakelita a temperatura ambiente.

Tabla 1. Niveles empleados para cada factor independiente en el diseño factorial 2³

<i>Formulación</i>	<i>Contenido de etanol (%)</i>	<i>Tiempo de maceración (días)</i>	<i>Variedad de propóleo</i>
1	70	7	A
2	70	14	A
3	96	7	A
4	96	14	A
5	70	7	B
6	70	14	B
7	96	7	B
8	96	14	B

Leyenda: A: castaño-rojizo (color más intenso); B: pardo (color menos intenso)

Para el procesamiento estadístico de los resultados se empleó el paquete de programas *Statgraphics Centurion XV* versión 15.2.14 del 2007.

2.3. Caracterización físico-química de las tinturas.

2.3.1. Cuantificación de sólidos totales.

Se cuantificó el porcentaje de sólidos totales para la tintura de propóleo según se establece en la (NRSP 312, 1991; Cruz, (2017).

2.3.2. Determinación de pH, índice de refracción y densidad relativa.

Se determinaron según la (NRSP 312, 1991) a una temperatura de 27,5°C.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Optimización de la tecnología de elaboración de las tinturas.

Se realizó la maceración a temperatura ambiente, de acuerdo a las condiciones materiales de los CPL, donde no es posible el control de la temperatura. Se consideró el empleo como disolvente de una mezcla hidroalcohólica en dos concentraciones (70 y 96%); se utilizó el etanol al 96 % para incrementar la disolución de los compuestos activos del propóleo no solubles en agua. En otros procesos de elaboración de las tinturas descritos en la literatura, se empleó el etanol a concentraciones superiores al 70% (Cuesta y col., 2017; Morales y col., 2019; Carrasco y Cepeda, 2020).

Se establecieron dos tiempos de maceración (7 y 14 días). En los CPL actualmente se desarrolla dicho procedimiento durante 7 días. El tiempo de maceración puede variar entre 7 y 14 días (Cuesta y col., 2017; Carrasco y Cepeda, 2020).

Se evaluaron dos variedades de propóleo de diferente intensidad de color (A: castaño-rojizo y B: pardo), por la posible relación de las características organolépticas y la composición química (Nogueira y col., 2019; Carrasco y Cepeda, 2020).

3.2. Caracterización físico-química de las tinturas.

3.2.1. Determinación de sólidos totales

Los resultados obtenidos en la cuantificación de los sólidos totales de las ocho formulaciones y sus réplicas se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados obtenidos de sólidos totales (%) para cada variante analizada

<i>Formulación</i>	<i>Concentración de etanol (%)</i>	<i>Tiempo de maceración (días)</i>	<i>Variedad de propóleo</i>	<i>% sólidos totales (media±SD)</i>
1	96	14	A	24,10 ± 0,169
2	96	7	A	23,02 ± 0,113
3	70	14	A	12,84 ± 0,142
4	70	7	A	8,51 ± 0,009
5	96	14	B	10,12 ± 0,131
6	96	7	B	8,99 ± 0,586
7	70	14	B	7,78 ± 0,378
8	70	7	B	6,34 ± 0,902

Como se aprecia en la Tabla 2, a mayor concentración de etanol, mayor rendimiento de sólidos totales en ambas variedades, resultado esperado teniendo en cuenta que se puede lograr una mayor solubilización de componentes polares a medianamente polares presentes en el propóleo, lo cual coincide con lo descrito en la bibliografía (Cuesta y col., 2017; Carrasco y Cepeda, 2020).

Cuando se empleó un 96% de etanol, en la variedad A se alcanzaron niveles superiores al 20% de sólidos totales y en la variedad B los niveles fueron próximos al 10%. Esto confirma el planteamiento de que los propóleos de color castaño-rojizo poseen según la literatura un mayor contenido de componentes activos (Mangas y col., 2021).

El tiempo de maceración influyó de forma directa en el contenido de sólidos totales, siendo mayoritario el resultado obtenido a los 14 días de maceración para ambas variedades evaluadas. No obstante, cuando se empleó la condición (7 días de maceración y 96% de etanol como disolvente), se obtuvo un porcentaje de sólidos totales superior al 10% para la variedad A y muy próximo al 10% para la B.

Atendiendo a lo anterior, la tecnología de elaboración de la tintura de propóleo a través del método de Pichansky modificado (7 días y 96% de etanol), simplificó el proceso de obtención siendo más productivo y menos laborioso.

Este ahorro de tiempo (7 días), implicó una optimización del proceso productivo de la tintura y por consiguiente de otras formulaciones derivadas de la misma (cremas y ungüentos), (Mangas y col., 2021).

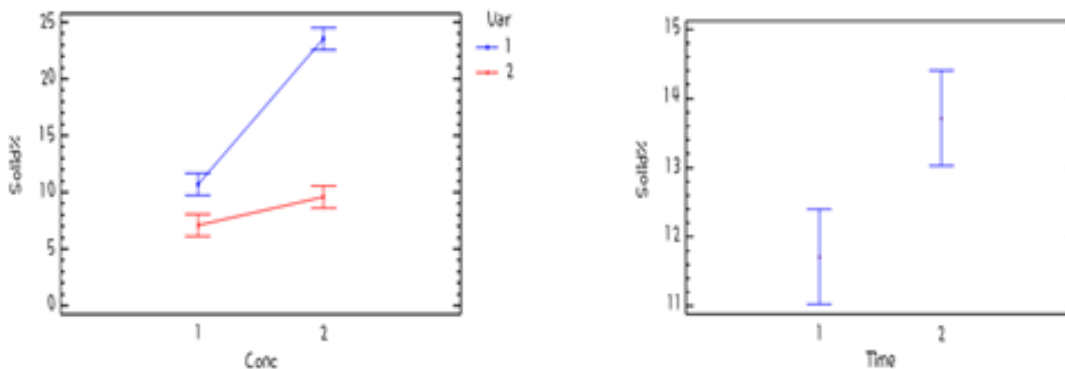
3.2.2. Análisis estadístico de los resultados.

Como resultado del análisis de varianza del porcentaje de sólidos totales se concluyó que todos los factores fueron altamente significativos (concentración de etanol, variedad de propóleo y tiempo de maceración). Además, se apreció que solo la interacción entre el factor concentración de etanol y la variedad de propóleo fue altamente significativa (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de varianza para el porcentaje (%) de sólidos totales

<i>Fuente Efectos principales</i>	<i>Suma de medias</i>	<i>GI</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>Razón F</i>	<i>Valor P</i>
A:Concentración	236,644	1	236,644	159,55	0,0000
B:Tiempo	15,962	1	15,962	10,76	0,0095
C:Variedad	310,508	1	310,508	209,35	0,0000
Interacciones					
AB	3,16573	1	3,16573	2,13	0,1780
AC	107,905	1	107,905	72,75	0,0000
BC	2,01002	1	2,01002	1,36	0,2743
Error	13,3488	9	1,4832	-	-
Total	689,545	15	-	-	-

La influencia de los factores independientes en el contenido de los sólidos totales se muestra en la figura 1.



A. Influencia de la concentración de etanol y variedad de propóleo en el contenido de sólidos totales

Concentración 1 (70%); Concentración 2 (96%).
Variedad 1 (A); Variedad 2 (B)

B. Influencia del tiempo de maceración en el contenido de sólidos totales
Tiempo 1 (7 días); Tiempo 2 (14 días)

Figura 1. Influencia de los factores independientes en el contenido de los sólidos totales

En la figura 1A se describe la interacción entre los factores, concentración de etanol y variedad de propóleo. Se observa que en ambos niveles de concentración de etanol, existen diferencias significativas entre los porcentajes de sólidos totales entre las variedades A y B, donde la A muestra en todos los casos, mayores rendimientos que la B.

En el caso del tiempo de maceración se observó que a medida que aumentaba este factor, aumentaron significativamente los rendimientos de sólidos totales (Fig. 1B).

No obstante, es de destacar que a los 7 días de maceración y 96% de etanol el rendimiento de los sólidos totales para la variedad A, fue muy superior al 10%.

A pesar de que en la (NRSP 312, 1991) solo se refieren los sólidos totales como parámetro de control de calidad de las tinturas de propóleo, en el presente estudio se proponen otros criterios de calidad (pH, índice de refracción y densidad relativa), los

cuales aparecen descritos para otras tinturas de origen natural en la literatura especializada (Anjum y col., 2019; Mangas y col., 2021).

Teniendo en cuenta que a los 7 días de maceración y 96% de etanol como disolvente, se obtuvo un contenido de sólidos totales superior al 10% (duplica este valor) para la variedad A y muy cercano al 10% para la B, se decidió determinar los restantes parámetros de calidad (pH, índice de refracción y densidad relativa) a las tinturas obtenidas de cada variedad bajo esta condición.

3.3. Determinación de parámetros de calidad (pH, índice de refracción y densidad relativa).

Los resultados obtenidos en la determinación de los índices de calidad de las formulaciones para cada variedad y sus réplicas se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Índices de calidad de las tinturas
(7 días de maceración y 96% de etanol como disolvente)

<i>Parámetros de calidad</i>	<i>Variedad de propóleo (A) (castaño-rojizo)</i>			<i>Variedad de propóleo (B) (pardo)</i>		
	<i>Réplica 1</i>	<i>Réplica 2</i>	<i>(Media ±SD)</i>	<i>Réplica 1</i>	<i>Réplica 2</i>	<i>(Media ±SD)</i>
Índice refracción	1,404	1,402	1,403±0,001	1,381	1,387	1,384±0,004
Densidad relativa	0,912	0,859	0,885±0,037	0,864	0,868	0,866±0,003
pH	4,632	4,642	4,637±0,007	4,470	4,780	4,625±0,219

Los resultados obtenidos para el índice de refracción y densidad de las tinturas obtenidas de ambas variedades bajo la condición analizada, se encuentran acordes al intervalo de aceptación de otras tinturas de origen natural reportadas en la literatura (1,35-1,4) y (0,83-0,95) respectivamente, Cruz, (2017).

Los valores de pH determinados a las tinturas de ambas variedades (4,6-4,8), denotan un carácter de ácido débil, justificado por la presencia de compuestos resultantes de la extracción etanólica, tales como flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, Soto, (2015).

4. CONCLUSIONES

1. La concentración del disolvente, variedad de propóleo, el tiempo de extracción y la interacción concentración de etanol y variedad de propóleo, influyen de manera significativa en el contenido de sólidos totales.
2. La tintura obtenida a partir de la variedad de propóleo A (castaño-rojizo) a los 7 días de maceración y 96% de etanol presentó un elevado contenido de sólidos totales (duplica el límite mínimo permisible).
3. Los resultados obtenidos para los parámetros de calidad (índice de refracción, densidad relativa y pH) de las tinturas obtenidas bajo la condición (7 días y 96%

de etanol), se consideran aceptables, debido a su similitud con otras tinturas descritas en el Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos vigente.

REFERENCIAS

- Anjum, S., Ullah, A., Khan, K., Attaullah, M., Khan, H., & Ali, H., Composition and functional properties of propolis., *Journal of Biological Sciences*, Vol. 26, No. 7, 2019, pp. 1695-1703. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X1830189X>
- Bankova, V., Bertelli, D., Borba, R., Conti, B.J., Da Silva, I.B., & Danert, C., Standard methods for *Apis mellifera* propolis research., *Journal of Apicultural Research*, Vol. 58, No. 2, 2019, pp. 1-49. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2016.1222661>
- Carrasco, L., y Cepeda, N., Caracterización química y actividad antioxidante de tres muestras de propoleos ecuatorianos., Tesis presentada en opción al título de Licenciado en Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, Universidad Técnica de Machala, Ecuador, 2020. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/16269>
- Cuesta, O., Campo, M., Márquez, I., Jaramillo, C., González, V., & Montes, R., Chemical profile and antileishmanial activity of three ecuadorian propolis samples from Quito, Guayaquil and Cotacachi Regions., *Fitoterapia*, Vol. 120, No. 1, 2017, pp. 177-83. <https://www.researchgate.net/publication/317693667>
- Cruz, D., Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos., Vol. 2, Editorial Ciencias médicas, Centro Nacional de información de Ciencias médicas, La Habana, 2017. <https://instituciones.sld.cu/cimeq/2018/01/09/formulario-nacional-de-fitofarmacos-y-apifarmacos-segunda-edicion-ano-2017/>
- Mangas, R., Gutierrez, I., Gonzalez, A., Scull, R., Delgado, R., y Monzote, L., Estudio químico y potencialidades biológicas de especies vegetales que crecen en Cuba., *Anales de la academia de Ciencias de Cuba*, Vol. 11, No. 1, 2021, pp. 1-10. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S23041062021000100011
- Morales, J., Landa, M., García, S., y Lavoignet, M., Técnicas de recolección inteligente de productos apícolas aplicadas en colmenas de la región de Misantla., *Revista Ingeniantes*, Vol. 3, No. 2, 2019, pp. 5-6. <https://citt.itsm.edu.mx/ingeniantes/pdfversion/ingeniantes6no2vol3.pdf>
- Nogueira, K., Rodriguez, E., & De Franca, M., Propolis and Its cosmetic applications: a technological propection., *Journal of Young Pharmacists*, Vol. 11, No. 4, 2019, pp. 350-2. <https://www.jyoungpharm.org/article/1358>
- NRSP 312., Norma Ramal de Salud Pública., Medicamentos de origen vegetal. Extractos fluidos y tinturas, Métodos de ensayo., Editorial Ciencias médicas, 1991, pp. 15-19.
- Soto, M., Metabolitos secundarios, cuantificación de fenoles y flavonoides totales de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú., *Crescendo. Ciencias de la Salud*, Vol. 6, No. 2, 2015, pp. 37-47. <https://doi.org/10.21895/incres.2015.v6n2.03>

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

- M.Sc. Miguel Ángel Alba de Armas. Concibió la investigación y metodología desarrollada en el trabajo científico. Desarrolló la supervisión y redacción del informe escrito.
- Dra.C. Yanelis Saucedo Hernández. Participó en la concepción de la investigación y desarrollo de la metodología de trabajo. Realizó la supervisión y redacción del informe escrito.
- Lic. Lietsy Sotolongo Moya. Participó en el trabajo experimental reflejado en el informe. Colaboró en la redacción del informe escrito.
- M.Sc. Osvaldo Norman Montenegro. Realizó la corrida de los datos experimentales, según el paquete de programas *Statgraphics Centurion XV* versión 15.2.14 del 2007.
- Est. Melissa Lliliam Gómez Saucedo. Participó en el trabajo experimental contemplado en la investigación con perfil analítico y tecnológico.
- Dra.C. María Elisa Jorge Rodríguez. Participó en la conceptualización del trabajo de investigación.