



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LAS CERAS OBTENIDAS A  
PARTIR DE PROPÓLEOS DE LA ZONA DEL ALTIPLANO MEXICANO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

**VINISSA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ**



**MÉXICO, D.F.**

**2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** M. en C.: José Manuel Méndez Stivalet

**VOCAL:** Dr.: Arturo Navarro Ocaña

**SECRETARIO:** Dr.: José Fausto Rivero Cruz

**1er. SUPLENTE:** Dra.: Martha Lidia Macías Rubalcava

**2do SUPLENTE:** Dra.: Mabel Fragoso Serrano

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

LABORATORIO 111 EDIFICIO E

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

**ASESOR DEL TEMA:**

DR. JOSÉ FAUSTO RIVERO CRUZ

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

**SUSTENTANTE:**

VINISSA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS .....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	iii
LISTA DE CUADROS .....	iv
1. INTRODUCCIÓN. ....	1
2. ANTECEDENTES .....	4
2.1 PROPÓLEO .....	4
2.2 MARCO TEÓRICO DEL PROPÓLEO .....	6
2.2.1 Apicultura en México .....	8
2.3 OBTENCIÓN DEL PROPÓLEO.....	9
2.3.1 Recolección del propóleo por el apicultor .....	10
2.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	12
2.5 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO EN MÉXICO .....	19
2.5.1 Regiones apícolas en México .....	19
2.5.2 Producción de propóleo en la zona rural del D.F. ....	21
2.6 PROPIEDADES TERAPÉUTICAS .....	22
2.7 TÉCNICAS ANALÍTICAS .....	27
2.7.1 Cromatografía.....	27
2.7.2 Espectrometría de masas.....	28
2.7.3 Derivatización .....	30
2.7.3.1 Reactivo para la Derivatización .....	31
2.7.3.2 Sililación .....	32
2.7.3.3 BSTFA .....	33
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	35
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....	37
4.1 OBTENCIÓN DEL PROPÓLEO.....	37
4.2 EXTRACCION DE CERAS DEL PROPOLEO.....	37
4.3 DERIVATIZACION DE CERAS DEL PROPÓLEO .....	38
4.4 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS.....	38
5. RESULTADOS Y DISCUSION .....	40
6. CONCLUSIONES.....	55
7. PERSPECTIVAS .....	56
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
9. ANEXOS .....	67

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Acrónimo</b>	<b>Significado</b>
°C	Grados Celsius
a.C.	Antes de Cristo
BSTFA	Bistrimetilsililfluoroacetamida
CD4+	Linfocitos T con grupo de diferenciación 4
CG	Cromatografía de gases
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EM	Espectrometría de masas
G	Gramos
IE	Impacto electrónico
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
kg	Kilogramos
M	Metros
m.s.n.m	Metros sobre el nivel del mar
m/z	Relación masa carga
min	Minutos
mL	Mililitro
$\mu$ L	Microlitro
mm	Milímetros
NK	Natural Killer
NO	Óxido nítrico
OMS	Organización Mundial de la Salud
S	Segundos
S <sub>N</sub> 2	Sustitución nucleofílico bimolecular
T.R.	Tiempo de retención
TMS	Trimetilsilano
TOF / TV	Tiempo de vuelo
uma	Unidad de masa atómica
v/v	Relación volumen volumen

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Abejas recolectando propóleo de exudados vegetales.....	5
Figura 2. Registros gráficos encontrados del propóleo en diversas civilizaciones (egipcios, asirios, griegos y romanos, e incas), respectivamente.....	7
Figura 3. Representación de una abeja y vasos con miel del Códice TroCortesiano.....	8
Figura 4. Obtención del propóleo de exudados vegetales.....	10
Figura 5. Composición química del propóleo poplar.....	14
Figura 6. Regiones apícolas de México.....	21
Figura 7. Cromatógrafo acoplado a Espectrómetro de Masas.....	29
Figura 8. Reacción general de la derivatización por Sililación.....	32
Figura 9. Reactividad de grupos funcionales para la sililación.....	33
Figura 10. Fórmula desarrollada del Bistrimetilsililtrifluoroacetamida (BSTFA).....	33

**LISTA DE CUADROS**

Cuadro 1. Métodos de recolección del propóleo por el apicultor.....	11
Cuadro 2. Tipos de propóleo y su composición química en el mundo.....	12
Cuadro 3. Composición química promedio del propóleo poplar.....	13
Cuadro 4. Compuestos químicos identificados en muestras de propóleo.....	15
Cuadro 5. Regiones apícolas mexicanas.....	19
Cuadro 6. Actividades terapéuticas más comunes del propóleo.....	23
Cuadro 7. Ubicaciones de los apiarios muestreados.....	37
Cuadro 8. Condiciones optimizadas para el análisis de los propóleos.....	39
Cuadro 9. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo BÚHO 1.....	42
Cuadro 10. Abundancia de los diversos compuestos presentes en BÚHO 1...	42
Cuadro 11. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo BÚHO 2.....	43
Cuadro 12. Abundancia de los diversos compuestos presentes en BÚHO 2...	44
Cuadro 13. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo NICO.....	44
Cuadro 14. Abundancia de los diversos compuestos presentes en NICO.....	45
Cuadro 15. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo VALENTÍN.....	46
Cuadro 16. Abundancia de los diversos compuestos presentes en VALENTÍN.....	46
Cuadro 17. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo TROJES.....	47
Cuadro 18. Abundancia de los diversos compuestos presentes en TROJES..	47
Cuadro 19. Compuestos mayoritarios obtenidos en las cinco muestras analizadas.....	50

### 1. INTRODUCCIÓN.

La medicina tradicional es el conjunto de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, transmitiéndose de generación en generación, y que se utilizan para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar trastornos físicos o mentales (OMS, 2008).

Con el reciente aumento de la resistencia microbiana a medicamentos, los pacientes han recurrido a la medicina alternativa para tratar sus malestares. En México, no hay una ley que regule la producción y venta de medicamentos herbolarios, por lo que se cuestiona su calidad. Para la evaluación de éstos, se necesita conocer y caracterizar la composición de la fuente natural desde la que se extraen los productos herbolarios, ya que dependiendo de ésta se podrá asegurar la eficacia, seguridad y calidad del producto.

Desde la antigüedad, se conocen las propiedades medicinales y curativas que proporciona el propóleo, el cual ha tomado mucho auge en los últimos años debido a recientes investigaciones que muestran su gran diversidad de propiedades terapéuticas. Su caracterización química y actividad biológica han sido realizadas en todo el mundo; en Latinoamérica, el país que más investigación ha desarrollado sobre el propóleo ha sido Brasil.

En México, se han encontrado limitadas publicaciones a lo largo del país, por lo que esta investigación es de las pocas que se están realizando para caracterizar químicamente a los componentes del propóleo en regiones templadas como lo es el Distrito Federal.

Asimismo, los estudios realizados en el país han estado relacionados a la caracterización química y actividad biológica de las resinas o bálsamos del propóleo, en las que se observa una concentración elevada de flavonoides, los cuales, proveen la mayoría de las actividades terapéuticas al propóleo. Sin embargo, éste también contiene ceras, las cuales han sido analizadas de forma muy aislada en los estudios reportados a nivel mundial. En Brasil, se ha encontrado que las ceras aisladas del propóleo contienen derivados de ácidos carboxílicos o alcoholes triterpénicos, a los cuales se les ha conferido actividad terapéutica (Peña, 2008).

Por otro lado, en la zona rural del Distrito Federal existe una pequeña cantidad de productores que se dedican a la comercialización del propóleo, debido, en parte, a que no se cuenta con la información adecuada de su actividad terapéutica. Estos apicultores utilizan en su mayoría los productos obtenidos de la colmena para su uso propio, y el excedente que se obtiene es el que comercializan en mercados locales. Con la investigación adecuada de las características químicas del propóleo, se podría aumentar el ingreso económico a las familias apicultoras al producir un propóleo de mayor calidad y con un elevado rendimiento (Rivera *et al*, 2007).

Varios tipos de técnicas cromatográficas se han implementado para el análisis y el aislamiento de los compuestos del propóleo. Desde hace décadas, el mejor método para su identificación ha sido la Cromatografía de Gases, gracias a su rapidez y confiabilidad de los resultados. La Cromatografía de Gases acoplada con Espectrometría de masas ha sido aplicada de forma exitosa al análisis de los compuestos volátiles del propóleo; sin embargo, para los compuestos polares o no volátiles de los extractos etanólicos se necesita un paso previo, la derivatización. El reactivo más utilizado para llevar a cabo la derivatización es el Bistrimetilsililtrifluoroacetamida (BSTFA), debido a su elevada volatilidad y estabilidad química.

Finalmente, para la adecuada caracterización química de los compuestos naturales se deben estandarizar las técnicas a utilizar para obtener el resultado más confiable y así contar con el efecto terapéutico esperado.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 PROPÓLEO

El propóleo es un producto apícola resinoso de composición compleja y consistencia viscosa, con una variable apariencia física, recolectado y transformado por las abejas obreras melíferas, *Apis mellifera*, desde la vegetación que visitan, p.ej: el sauce, olmo, álamo, abedul, aliso, castaño silvestre, pino, abeto, roble, enebro o algunas plantas herbáceas. Es utilizado por las abejas en la construcción, reparación y protección de la colmena, como para fijar los paneles de miel, pulir las paredes interiores, proteger la entrada contra intrusos, rellenar las grietas y hendiduras dentro de la colmena, aislante térmico, entre otros usos (Burdock, 1988; Farré *et. al.*, 2004; Palomino, 2009).

Dependiendo de su origen botánico y de la temperatura a la que se encuentre, puede ser amarillo claro, ocre, rojo, pardo, marrón claro o verde; algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos. Gracias a su contenido en aceites esenciales, el propóleo suele tener un olor agradable y dulce de forma que, cuando se quema, exhala una fragancia de resina aromática, y se caracteriza por su sabor acre, frecuentemente amargo. Su temperatura de fusión oscila entre los 64-69 °C, es insoluble en agua y soluble en éter y alcohol en caliente, entre otros (González y Bernal, 2002; Farré *et. al.*, 2004; López-Patiño, 2011; Peña, 2008).

El propóleo es el arma química más importante de las abejas en contra de microorganismos patógenos y ha sido utilizado como remedio terapéutico desde la antigüedad con diversas finalidades. En países de Centro y Sudamérica existen abejas nativas que recolectan el material resinoso de plantas y lo mezclan con cera de abeja y tierra para formar geopropóleo (Castaldo y Caspasso, 2002; Bankova, 2005).

Con la finalidad de preparar propóleo, las abejas recolectan material secretado de plantas o exudados de éstas (como material lipofílico en hojas, mucílagos, gomas, resinas, etc.). Una vez recolectado, este material es enriquecido con secreciones enzimáticas salivares, y es utilizado por las abejas en la construcción, reparación y protección de la colmena (Castaldo y Caspasso, 2002).



Figura 1. Abejas recolectando propóleo de exudados vegetales.

Las abejas (*Apis mellifera*) recogen con sus mandíbulas partículas resinosas de las yemas, brotes y pecíolos de las hojas de diferentes vegetales que, durante el vuelo o una vez en la colmena, mezclan con cera y secreciones salivares ( $\beta$ -glucosidasa) para obtener el propóleo (Simone-Finstrome, 2010).

## 2.2 MARCO TEÓRICO DEL PROPÓLEO

Etimológicamente, la palabra *propóleo* significa “defensa de la ciudad”, del griego *pro* “en defensa”, y *polis* “ciudad” (Simone-Finstrome, 2010). La historia de la apicultura tiene sus raíces en los primeros asentamientos humanos. Evidencias arqueológicas señalan que los productos apícolas pudieron utilizarse como alimento desde el periodo Mesolítico (7000 años a.C.) en la región europea. Prueba de ello son las pinturas rupestres que se encuentran en la cueva de la Araña, en Valencia España, donde destaca la escena de la recolección de la miel.

La apicultura ha sido una actividad paralela, ya que no se redujo sólo al papel alimenticio, sino que también formó parte de las actividades religiosas de las diferentes culturas a lo largo del planeta. Por ejemplo, los griegos le tenían respeto a las abejas debido a la leyenda de Aristeo, el cual le enseña a los hombres el arte de la apicultura; en la civilización egipcia, a las abejas se les atribuía un origen divino, ya que éstas nacían de las lágrimas del dios Ra –el sol-. Así mismo, en América, con la civilización Maya, se le crearon templos a las abejas sin aguijón o meliponas en la ciudad de Cobá –nombre que significa ciudad de las abejas- (Ortega y Ochoa, 2004).

Los primeros usos medicinales conocidos del propóleo datan del antiguo Egipto, donde era conocido por los sacerdotes, ya que ellos se beneficiaban de sus propiedades anti-putrefactas para embalsamar a sus muertos, utilizando el propóleo como uno de los ingredientes para la conservación de las vísceras de los faraones. En el primer texto médico con el nombre de *Libro de preparación de medicamentos para todas las partes del cuerpo humano*, hallado en el papiro de Ebers, ya se hace mención al propóleo (cera negra) como medicina (Castaldo y Caspaso, 2002; González y Bernal, 2002).



Figura 2. Registros gráficos encontrados del propóleo en diversas civilizaciones (egipcios, asirios, griegos y romanos, e incas), respectivamente.

También fue utilizado como agente cicatrizante por los médicos griegos y romanos (de donde se toma su nombre). Hipócrates, lo utilizaba para curar heridas externas e internas en el siglo IV. Aristóteles habla del propóleo en su *Historia de animales*, considerándolo un remedio para las infecciones de la piel, llagas y supuraciones. Galeno, en el siglo II, también menciona al propóleo en sus trabajos, así como el filósofo persa Avicena, el cual aprovechó sus propiedades como desinfectante bucal (Castaldo y Caspaso, 2002; González y Bernal, 2002).

Entre los años 1899 y 1902, en la guerra Anglo-Boer en el cono sur africano, se reportó que esta sustancia salvó de la muerte a numerosos soldados, ya que en aquel entonces se desconocían los antibióticos y sin el empleo del propóleo colocado directamente sobre las heridas muchos pacientes habrían muerto de gangrena (Asis, pp. 187-189 1989).

Por otro lado, los Incas lo emplearon como agente antipirético y las Farmacopeas inglesas ya lo mencionan como droga oficial en el siglo XVII ya que se volvió muy popular por su actividad antibacteriana (Castaldo y Caspaso, 2002).

### 2.2.1 Apicultura en México

El uso de las abejas cuenta con una amplia tradición en México, sobre todo en el sureste del país, en donde se practicaba antes del arribo de los españoles a América. Las evidencias del cultivo de las abejas nativas sin aguijón (*Mellipona becheii*) y el uso de sus productos en alimentación, medicina y ritos religiosos se encuentra en los jeroglíficos de antiguos códices, edificios y vasijas mayas, y en los residuos aún vivos de culturas como las de los tarascos, lacandones, popolucas y mayas (Ortega y Ochoa, 2004; Echazarreta *et al.*, 2013).



Figura 3. Representación de una abeja y vasos con miel del Códice TroCortesiano (Tomado de Ramírez, 1996).

La miel en las culturas precolombinas tenía tres funciones principales: ingrediente principal de bebidas alcohólicas rituales, uso medicinal y edulcorante en alimentos. En el antiguo Michoacán, en el sur de México, el charapi era una bebida a base de miel de los tarascos. En la península de Yucatán, el balché y el sac-ha son bebidas rituales de las ceremonias de los mayas y el leyen o pozole fue la bebida tradicional de los lacandones de Chiapas (Echazarreta *et al.*, 2013).

En la época colonial, los españoles introdujeron a varias regiones del país colonias de abejas europeas. Sin embargo, aquellas regiones como la península de Yucatán, que tenían una producción considerable de productos apícolas de abejas nativas mantuvieron esta apicultura hasta principios del siglo XX. Así, durante varios cientos de años se desarrollaron dos tipos de apicultura en México, aquella basada en la abeja europea, y la de la península de Yucatán, Puebla y Michoacán, basada en la abeja melipona. La apicultura moderna en México se desarrolló a partir de las primeras exportaciones de productos apícolas alrededor de 1950 y se originó en dos regiones, las cuales siguen siendo las más importantes: la región de Yucatán y la del Altiplano mexicano (Echazarreta *et al.*, 2013).

Los efectos benéficos del propóleo se han utilizado desde la antigüedad, pero con el posterior desarrollo de la química farmacéutica, y al igual que ocurrió con los tratamientos fitoterapéuticos, el propóleo dejó prácticamente de utilizarse (Farré *et al.*, 2004). Actualmente se investigan las acciones, efectos y posibles usos del propóleo en el campo de la salud, destacando su uso como suplemento dietético y en la industria farmacéutica.

### 2.3 OBTENCIÓN DEL PROPÓLEO

El proceso de recolección de propóleo por las abejas se realiza mediante un interesante proceso bioselector. Las abejas encargadas de la recolección del propóleo son las obreras, las cuales realizan este trabajo durante las horas más cálidas del día ya que aprovechan las altas temperaturas para facilitar la obtención de esta resina que tiende a ser muy dura y friable en ausencia de calor, pero que a temperaturas de más de veinte grados Celsius se torna muy maleable, para fundirse alrededor de los sesenta y cinco grados.

Existen dos teorías sobre la procedencia del propóleo elaborado por las abejas. Una teoría señala que se obtiene de la recolección realizada por la abeja (*A. mellifera*)

por exudaciones o secreciones de origen vegetal, debido a que toman las partículas resinosas que hay sobre las yemas de diferentes plantas. Luego de mezclar esas exudaciones con otros agentes como polen y la secreción de sus glándulas salivales (ácido 10-hidroxi-2-decenóico) se tiene lugar una modificación física y química, y el producto es transportado al interior de la colmena, para ser utilizado finalmente con diferentes funciones. Otra teoría sobre el origen del propóleo manifiesta que se trata de un producto resultante de la digestión del polen en un pequeño órgano ubicado entre el saco polínico y el intestino (Álvarez, 2012; González y Bernal, 2002; Martínez *et al.*, 2010).



Figura 4. Obtención del propóleo de exudados vegetales.

### 2.3.1. Recolección del propóleo por el apicultor

El propóleo se recoge de las colmenas por medio de trampas o raspado, siendo el entrampado el método que ofrece mejor calidad y menor contaminación, la recolección se hace antes de la llegada del invierno en las regiones templadas y, en los climas tropicales, al inicio de la estación lluviosa, cuando la propolización se vuelve más activa. Se ha observado que las colmenas situadas en bosques cercanas a ríos producen una mayor cantidad de propóleo que las situadas en zonas llanas. Tanto en la recolección como en el procesado deben aplicarse rigurosas normas de higiene para evitar la contaminación y la subsiguiente pérdida del valor comercial del producto (Farré *et al.*, 2004; González y Bernal, 2002). Los métodos más utilizados para recolección del propóleo se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Métodos de recolección del propóleo por el apicultor (González y Bernal, 2002; Reyna, pp. 24-25 2013).

MÉTODO	CARACTERÍSTICAS
<b>Raspado</b>	<p>El propóleo se recoge en bruto de la colmena, raspando las paredes con una espátula. Las propiedades del producto pueden verse disminuidas.</p> 
<b>Rejillas</b>	<p>Se colocan debajo de la tapa de la colmena. Consisten en láminas de plástico metálicas con ranuras, las cuales son rellenas con propóleo por las abejas. Posteriormente se congelan y se desprende el propóleo mediante presión.</p> 
<b>Placas Plásticas</b>	<p>Se sitúan en la parte alta de la colmena en sustitución de la entretapa. Al percibir la pérdida de calor en la zona, las abejas propolizan los agujeros. Para recolectar el propóleo, las placas se congelan y posteriormente se flexionan para desprender el producto.</p> 
<b>Mallas</b>	<p>Pueden ser de plástico o metal y son del tamaño de la superficie de la colmena. Al igual que las placas, se congelan para recolectar el producto. Es la técnica más económica y duradera ya que las superficies libres son mayores, y el propóleo no se quiebra por cambios de temperatura y manipulación.</p> 

## 2.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

En las zonas templadas la mayor parte del propóleo procede del exudado de brotes de álamos. Tradicionalmente, en la literatura se agrupa al propóleo mexicano del altiplano como propóleo poplar, sin embargo, no existe información detallada de su composición química en el Distrito Federal. Dependiendo de la vegetación y del área de recolección, así como de las condiciones climáticas del lugar y la estación del año, será la composición química del mismo. En el Cuadro 2 se muestra la clasificación del propóleo en cuanto a su origen geográfico.

Cuadro 2. Tipos de propóleo y su composición química en el mundo (Tomado de Bankova, 2005).

TIPO DE PROPÓLEO	ORIGEN GEOGRÁFICO	ORIGEN DE LA PLANTA	SUSTANCIAS BIOLÓGICAMENTE ACTIVAS
Poplar	Europa, Norteamérica, regiones no tropicales de Asia	<i>Populus spp.</i> de la región Aigeiros, la mayoría de <i>P. nigra</i> L.	Flavonas, flavanonas, ácido cinámico y sus ésteres.
Birch	Rusia	<i>Betula verrucosa</i> Ehrh	Flavonas, flavonoles.
Verde (alecrim)	Brasil	<i>Baccharis spp.</i> , la mayoría <i>B. dracunculifolia</i> DC	Ácido <i>p</i> -cumárico, ácidos diterpénicos.
Rojo (clusia)	Cuba, Venezuela	<i>Clusia spp.</i>	Benzofenonas polipreniladas.
Del Pacífico	Región del Pacífico (Okinawa, Taiwán)	Desconocido	C-prenilflavanona
Canario	Islas Canarias	Desconocido	Lignanos furofuranos

La composición química del propóleo es muy compleja, pero los flavonoides, terpenos, ácidos aromáticos y sus ésteres han sido considerados como sus componentes activos primarios. Otros componentes del propóleo incluyen a los aceites volátiles y ácidos aromáticos, ceras, resinas y bálsamos, polen e impurezas. Además, contiene pequeñas cantidades de terpenos, taninos, restos de la secreción de glándulas salivares de las abejas y posibles contaminantes (Castaldo y Caspaso, 2002; Cuesta-Rubio *et al.*, 2007).

Más de 300 compuestos químicos se han descrito en los propóleos de diversos orígenes. Hasta ahora, en el propóleo proveniente del género *Populus spp.* se han identificado más de 180 compuestos, en los cuales los activos biológicamente son los flavonoides, contenidos en el grupo de los polifenoles. Los flavonoides del propóleo incluyen flavonas, flavonoles y flavanonas (Zhou *et al.*, 2008). En el Cuadro 3 se muestra la composición química promedio del propóleo poplar.

Cuadro 3. Composición química promedio del propóleo poplar.

COMPOSICIÓN	PORCENTAJE	CARACTERÍSTICAS
<b>Resinas</b>	45-55%	Flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres.
<b>Ceras</b>	7-35%	Mayoría cera de abeja, también de origen vegetal.
<b>Aceites esenciales</b>	5-10%	Volátiles
<b>Ácidos grasos</b>	5%	La mayoría provienen de la cera y el resto dependen del origen botánico.
<b>Polen</b>	5%	Proteínas del polen y aminoácidos libres. Predominan arginina y prolina.
<b>Otros compuestos orgánicos y minerales</b>	5%	14 Oligoelementos. Fe y Zn son los más abundantes. Otros: Au, Ag, Cs, Hg, K, Sb. Cetonas            Quinonas Lactonas        Esteroides Ácido benzoico y sus ésteres. Vitaminas: B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>6</sub> , C, E. Pequeñas cantidades procedentes del polen. Azúcares.

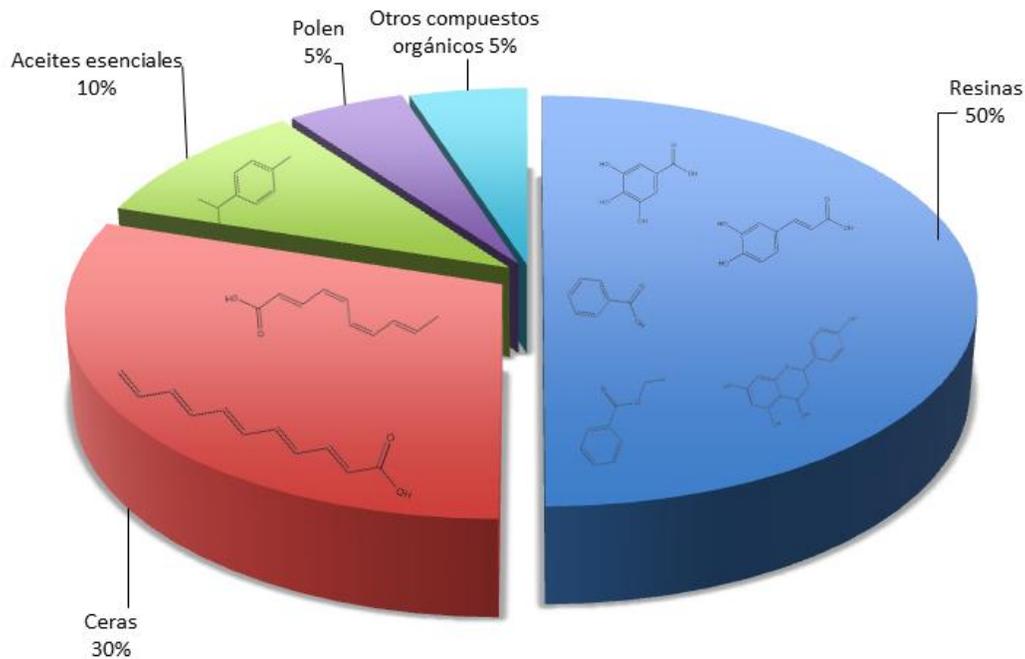
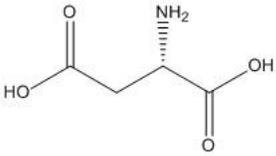
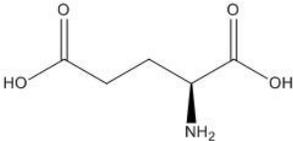
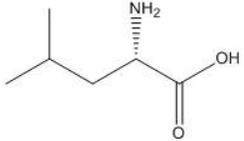
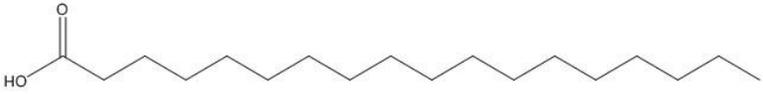
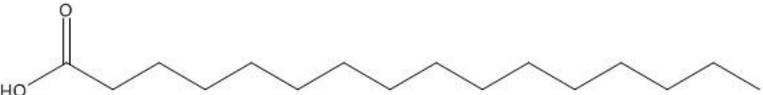
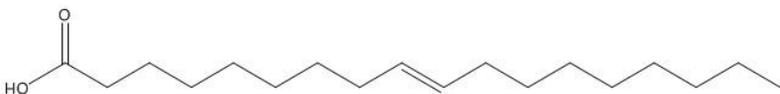
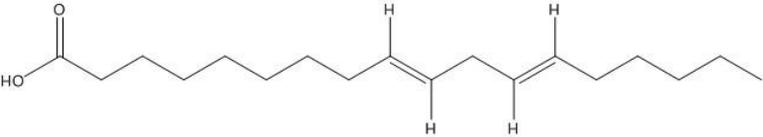
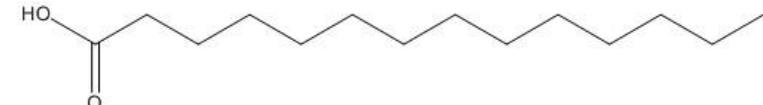
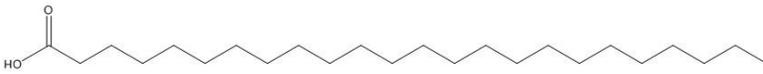


Figura 5. Composición química del propóleo poplar.

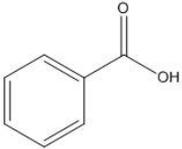
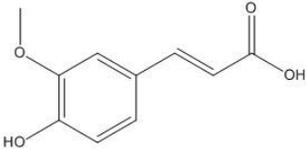
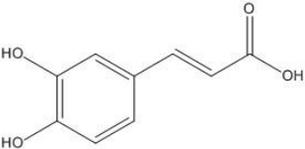
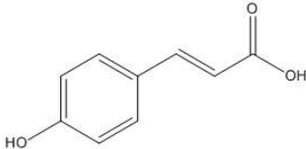
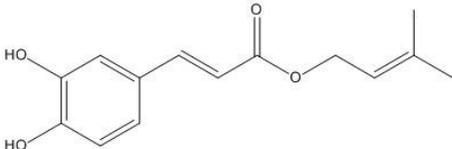
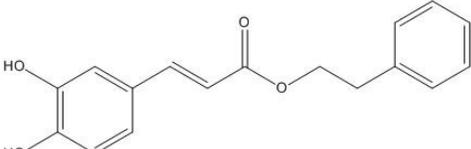
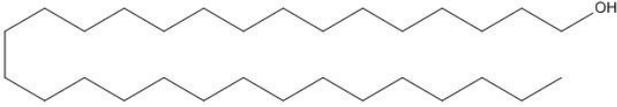
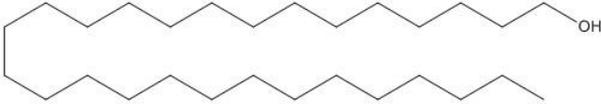
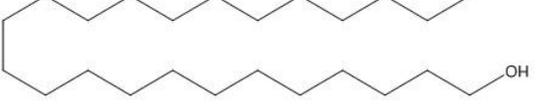
Por otro lado, las zonas tropicales se caracterizan por poseer una alta biodiversidad botánica, particularmente en la parte central de África, América del Sur, México, Cuba, etc. Estas regiones se caracterizan por la ausencia de álamos y abedules, por lo que las abejas tienen que buscar otras fuentes de exudados y resinas para la elaboración del propóleo. Las regiones áridas y semiáridas se caracterizan por tener un clima con temperaturas altas, veranos secos, inviernos fríos y con lluvia. La vegetación predominante en estas áreas generalmente son matorrales, arbustos, árboles o plantas de hoja perenne y hierbas estacionales. Los propóleos de estas regiones se han estudiado de forma muy escasa (Lugo *et al.*, 2009).

Los compuestos identificados en los propóleos se originan de tres fuentes: los recolectados a partir de exudados de plantas, sustancias secretadas por el metabolismo de las abejas y/o materiales introducidos durante el proceso de manufactura del propóleo (Marcucci, 1995). En el Cuadro 4 se resumen algunos compuestos químicos aislados del propóleo.

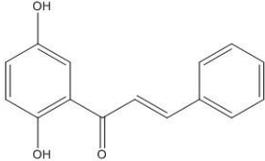
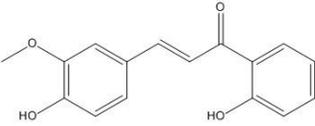
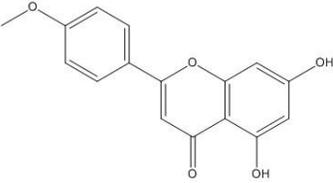
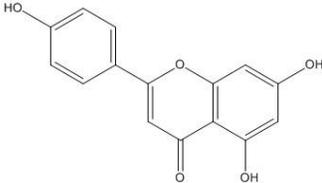
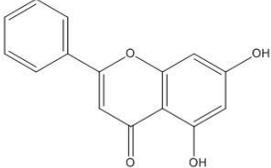
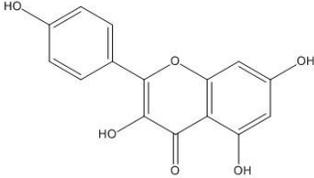
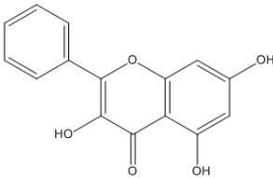
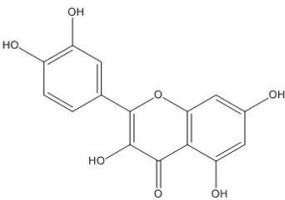
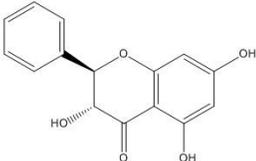
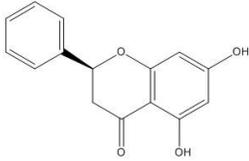
Cuadro 4. Compuestos químicos identificados en muestras de propóleo.

COMPUESTOS QUÍMICOS		REFERENCIAS
<b>Aminoácidos</b>		
<p>Ácido aspártico</p> 	<p>Ácido glutámico</p> 	<p>Los aminoácidos ejercen un rol metabólico en la regeneración de tejidos (Marcucci <i>et al.</i>, 1996).</p>
<p>Leucina</p> 		
<b>Ácidos alifáticos y sus ésteres</b>		
<p>Ácido esteárico</p> 		<p>Los ácidos grasos previenen la hiperlipidemia producida por una dieta elevada en grasas por medio de la regulación en la expresión de genes asociados al metabolismo de los lípidos (Koya-Miyata <i>et al.</i>, 2009).</p>
<p>Ácido palmítico</p> 		
<p>Ácido oleico</p> 		
<p>Ácido linoleico</p> 		
<p>Ácido mirístico</p> 		
<p>Ácido Lignocérico</p> 		

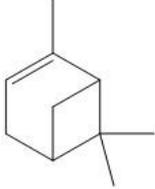
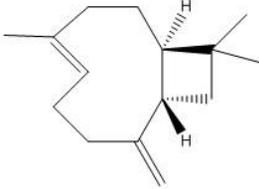
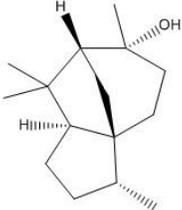
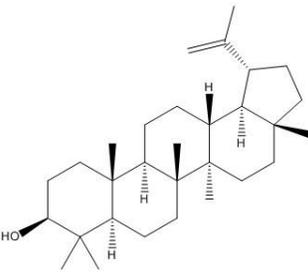
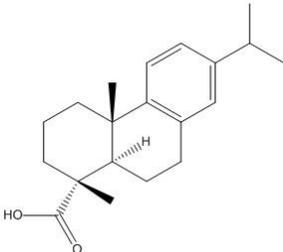
Cuadro 4. Compuestos químicos identificados en muestras de propóleo (continuación).

COMPUESTOS QUÍMICOS	REFERENCIAS
<p style="text-align: center;"><b>Ácidos aromáticos y sus ésteres</b></p> <p><b>Ácido benzoico</b></p>  <p><b>Ácido ferúlico</b></p>  <p><b>Ácido cafeico</b></p>  <p><b>Ácido p-cumárico</b></p>  <p><b>Cafeato de prenilo</b></p>  <p><b>Cafeato de feniltiilo (CAPE)</b></p> 	<p>Los ácidos fenólicos presentan actividad antioxidante debido al anillo aromático que contienen. Además, cuentan con propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, anticarcinogénicas, funciones reparadoras y regeneradoras, entre otras (Kurek-Górecka <i>et al.</i>, 2013)</p>
<p style="text-align: center;"><b>Alcoholes</b></p> <p><b>Triacontanol</b></p>  <p><b>Octacosanol</b></p>  <p><b>Tetracosanol</b></p> 	<p>Los policosanoles intervienen en el metabolismo de los lípidos, además presentan actividad antiinflamatoria y evitan la agregación plaquetaria (Jiménez <i>et al.</i>, 2003; Marques de Oliveira <i>et al.</i>, 2012).</p>

Cuadro 4. Compuestos químicos identificados en muestras de propóleo (continuación).

COMPUESTOS QUÍMICOS		REFERENCIAS
<p><b>Chalconas y Dihidrochalconas</b></p> <p>2,4-dihidroxichalcona</p>  <p>2,4-dihidroxi-3-metoxichalcona</p> 		<p>Solórzano y cols. (2012) encontraron importantes actividades antioxidantes y antibacterianas ya que pertenecen al grupo de los flavonoides.</p>
<b>Flavonoides</b>		
<p><b>Acacetina</b></p> 	<p><b>Apigenina</b></p> 	<p>Destaca su actividad antioxidante, debido a la capacidad de atrapar radicales libres. Además, presentan actividades hepatoprotectoras, anti-inflamatorias, anticancerígenas, antivirales, fungicidas, anestésicas, inmunoestimuladoras, anti ulcerosas, entre otras (Kumar y Pandey, 2014; Bankova <i>et al</i>, 1983).</p>
<p><b>Crisina</b></p> 	<p><b>Campferol</b></p> 	
<p><b>Galangina</b></p> 	<p><b>Quercetina</b></p> 	
<p><b>Pinobanksina</b></p> 	<p><b>Pinocembrina</b></p> 	

Cuadro 4. Compuestos químicos identificados en muestras de propóleo (continuación).

COMPUESTOS QUÍMICOS		REFERENCIAS
<b>Terpenos</b>		
<p><math>\alpha</math>-pineno</p> 	<p><math>\beta</math>-cariofileno</p> 	<p>Representan la parte volátil del propóleo y son los responsables de su olor. Se les atribuyen actividades antioxidantes, antimicrobianas, antimicóticas, anestésicas, entre otras (Huang <i>et al.</i>, 2014)</p>
<p>Cedrol</p> 	<p>Lupeol</p> 	
<p>Ácido dehidroabiético</p> 		

Por la diversidad de su composición, los extractos a partir del propóleo se realizan generalmente con disolventes como etanol, acetona, tolueno, éter, y cloroformo, los cuales permiten la disolución de muchos constituyentes presentes en el propóleo (Papotti *et.al.*, 2012).

## 2.5. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO EN MÉXICO

### 2.5.1. Regiones apícolas en México

La gran diversidad de tipos de vegetación y ecosistemas que encontramos en México, permite al apicultor contar con una amplia variedad tanto en floración nectarpolinífera, como en temporadas de producción. Como producto de esta diversidad, el territorio nacional se ha dividido en cinco regiones apícolas bien definidas. En cada una de ellas los recursos naturales determinan las características tanto de los sistemas de producción como de los productos que se obtienen, en cuanto a sus características de humedad, color, aroma y sabor. De acuerdo a Ochoa y Ortega (2010) y Red Mesoamericana de Apicultura, las regiones apícolas son:

Cuadro 5. Regiones apícolas mexicanas.

REGIONES	CARACTERÍSTICAS
<b>Del Norte</b>	Vegetación xerófila con amplias zonas de pastizales, bosque espinoso y de coníferas. Los productos apícolas en esta región son derivados principalmente de mezquite, son de excelente calidad y las recolecciones se realizan de marzo a mayo y de agosto a octubre. Los estados que integran esta región son Baja California, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León y parte del norte de Tamaulipas y altiplano de San Luis Potosí.
<b>De la Costa del Pacífico</b>	Predomina el bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, además de bosques espinosos y de coníferas. La época más importante de floración y producción de miel es de octubre a diciembre. Forman parte de esta región los estados de Sinaloa, Nayarit, poniente de Jalisco y Michoacán, Colima, parte de Guerrero, Oaxaca y Chiapas.

Cuadro 5. Regiones apícolas mexicanas (continuación).

REGIONES	CARACTERÍSTICAS
<b>Del Golfo</b>	Predomina el bosque tropical perennifolio y bosque tropical caducifolio; además, existen zonas con cultivos de cítricos, los cuales proveen la miel de azahar, muy apreciada en el mercado internacional, en especial el japonés. Esta región se compone por el estado de Veracruz y parte de los estados de Tabasco, Tamaulipas y la región huasteca de San Luis Potosí, Hidalgo y Querétaro.
<b>Del Altiplano</b>	Su vegetación es muy variada, desde bosques espinosos, pastizales y bosques de coníferas, hasta zonas con bosques subtropicales y zonas agrícolas. La recolección de productos apícolas se da de abril a mayo y de septiembre a noviembre. El origen floral predominante es el acahual y la acetilla. Esta región se compone de Tlaxcala, Puebla, Estado de México, Morelos, Distrito Federal, Guanajuato, Aguascalientes, la parte oriente de los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas y parte prominente de Hidalgo y Querétaro, así como la región media de San Luis Potosí
<b>Sureste o Península de Yucatán</b>	Su vegetación comprende bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios con periodos de floración que van desde noviembre hasta julio. En esta región se concentra el mayor número de colmenas del país, motivo por el cual su participación en la producción nacional de productos apícolas equivale al 30-35%. El origen floral son la Dzidzilche y Tajonal. Está formada por los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo y parte de los estados de Chiapas (Noreste) y Tabasco (Oriente).



Figura 6. Regiones apícolas de México (tomado de Claridades Agropecuarias, 2010).

### 2.5.2. Producción de propóleo en la zona rural del D.F.

No obstante, la importante tradición que la apicultura tiene en el país, en las zonas urbanas o vecinas a la ciudad de México es una actividad que tiende a desaparecer posiblemente afectada por los efectos que la contaminación atmosférica, insecticidas y disminución de la flora ejercen sobre las abejas. En la zona peri urbana, sin embargo, la presencia de abejas tiende a mejorar porque tales tierras aun preservan el uso agrícola para la producción de maíz y nopal-verdura (Rivera, 2002).

En esta área, los sistemas de producción apícolas se mantienen fuera de la población con el propósito ex profeso de promover la polinización, la cual incluye árboles frutales en los linderos tales como: durazno (*Prunus pérsica*), ciruela (*Prunus domestica*), capulín (*Prunus laurocerasus*), tejocote (*Crataegus pubescens* Steud), membrillo (*Cydonia vulgaris*), higo (*Ficus carica*). Esta forma de localización

física permite que los cajones se mantengan a distancia de los pueblos y se facilite la polinización en cultivos (Rivera *et al*, 2007).

Los apicultores llevan a cabo su recolecta en dos temporadas bien definidas. La primera se localiza en el mes de mayo a finales de la temporada de sequía. Esta época coincide con la elevada productividad del cultivo de nopal-verdura, cuya caída del precio ocasiona que los productores de nopal no corten los cladidos (hojas) y permitan la floración del cultivo utilizado por las abejas para producir miel exclusivamente (Rivera, 2002). En oposición, la segunda cosecha de octubre/noviembre incluye la temporada de lluvias en su totalidad y es considerada por los productores la de mayor producción de miel y ampliada a cera y propóleo. En términos generales el promedio de miel obtenida en la segunda temporada está en el rango de los 30-35 kg mientras que la de cera es de 1-2 kg y de 200 a 300 g de propóleo/apiario (Rivera *et al*, 2007).

Vale la pena mencionar que los apiarios de la zona son pequeños y que la mayor proporción de los productos apícolas producidos son destinados al autoconsumo mientras que sus excedentes, son vendidos en forma local o artesanal en los mercados locales de la zona, además, se sabe que el propóleo es utilizado en su mayoría por el productor.

## **2.6. PROPIEDADES TERAPÉUTICAS**

El propóleo ha sido de gran interés para los científicos durante las últimas 4 décadas debido a sus múltiples propiedades biológicas y farmacológicas. Hasta hace unos años se creía que dependiendo de los compuestos químicos que se encontraran en el propóleo dependería su acción farmacológica, lo que dio paso a diversos estudios en los cuales se concluyó que no existe diferencia significativa entre las actividades biológicas de propóleos de diferentes regiones geográficas.

Dos de sus propiedades se continúan aplicando con gran éxito: cicatrizante, ya que estimula la regeneración epitelial y la microcirculación, y antiséptico, y el segundo como tratamiento de úlceras gastroduodenales. El propóleo es considerado seguro a dosis bajas; sin embargo, en dosis mayores a 15 g/día se presentan efectos adversos, los cuales comúnmente son reacciones alérgicas, así como irritación en la membrana mucosa o en la piel (Farré et. al., 2004; Castaldo y Caspaso, 2002). A continuación, se mencionan las actividades terapéuticas más comunes del propóleo.

Cuadro 6. Actividades terapéuticas más comunes del propóleo.

Actividad terapéutica	Características
<b>Actividad antioxidante</b>	Las propiedades antioxidantes del propóleo protegen a los ácidos grasos y a las lipoproteínas séricas de la oxidación. Sus propiedades se deben a la actividad antiradicalaria (radicales alcoxi y, en menor grado, superóxido) y al efecto inhibitor del ión cuproso, iniciados de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (Farré <i>et al</i> , 2004)
<b>Actividad antimicrobiana</b>	Galangina, pinocembrina y pinobanksina han sido reconocidos como los flavonoides más efectivos contra los patógenos. Además, los ácidos ferúlico y caféico también contribuyen con la actividad antibacteriana del propóleo (Marcucci, 1995).
<b>Actividad gastroprotectora</b>	Se ha reportado que extractos de propóleo presentan un efecto gastroprotector, reduciendo de forma significativa las lesiones gástricas producidas por <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Campylobacter coli</i> , indometacina, etanol y estrés; además, los ácidos caféico, ácido <i>p</i> -cumárico y ácido cinámico, compuestos de carácter fenólico, poseen propiedades antiulcéricas (Boyanova <i>et al</i> . pp. 253-269 2011; Sforcin y Bankova, 2011).

Cuadro 6. Actividades terapéuticas más comunes del propóleo (continuación).

Actividad terapéutica	Características
<b>Actividad antifúngica</b>	Se ha comprobado la capacidad del propóleo para inhibir en crecimiento de <i>Candida sp.</i> y <i>Trichosporon sp.</i> en pacientes con onicomicosis (Oliveira <i>et al.</i> , 2006)
<b>Actividad antiviral</b>	Se han demostrado efectos inhibidores frente a los virus de influenza tipo A y B, Herpes simplex tipo 1 y 2. Esta actividad se atribuye al contenido en compuestos fenólicos, principalmente al ácido caféico y ferúlico y sus ésteres. Además se ha encontrado que el propóleo inhibe la expresión del virus de inmunodeficiencia humana. La actividad antiviral en linfocitos CD4+, se debe aparentemente, a que inhibe la entrada del virus al organismo (Amoros, 1992; Marcucci, 1995; Gekker <i>et al.</i> , 2012).
<b>Actividad inmunomoduladora</b>	Estudios han demostrado que compuestos como el ácido caféico y cinámico en el propóleo pueden activar macrófagos, incrementando su actividad microbiana, así como incrementar la actividad lítica de las células NK contra células tumorales. Además, estimula la producción de anticuerpos, incorporándolo como adyuvante en vacunas (Frankland <i>et al.</i> , 2011).
<b>Actividad antioxidante</b>	Las propiedades antioxidantes del propóleo protegen a los ácidos grasos y a las lipoproteínas séricas de la oxidación. Sus propiedades se deben a la actividad antiradicalaria (radicales alcoxi y, en menor grado, superóxido) y al efecto inhibidor del ión cuproso, iniciados de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (Farré <i>et al.</i> , 2004)

Cuadro 6. Actividades terapéuticas más comunes del propóleo (continuación).

Actividad terapéutica	Características
<b>Actividad antimicrobiana</b>	Galangina, pinocembrina y pinobanksina han sido reconocidos como los flavonoides más efectivos contra los patógenos. Además, los ácidos ferúlico y caféico también contribuyen con la actividad antibacteriana del propóleo (Marcucci, 1995).
<b>Actividad antitumoral</b>	Se ha encontrado que extractos de propóleo son capaces de modular la producción de ácido nítrico, pre-activando macrófagos para producirlo, promoviendo la apoptosis en células blanco tumorales, ya que el NO es el responsable de la inhibición de la síntesis de DNA en muchas células (Carvalho <i>et al.</i> , 2011; Sforcin, 2007).
<b>Actividad antiinflamatoria y analgésica</b>	Algunos de los componentes fenólicos del propóleo, como el ácido cafeico, la quercetina y la naringenina, ejercen efectos antiinflamatorios y actúan sobre la producción de eicosanoides, suprimiendo la generación de prostaglandinas y de leucotrienos en macrófagos peritoneales en la inflamación peritoneal aguda. El propóleo por vía oral suprime de forma significativa la vía de la lipooxigenasa en el metabolismo del ácido araquidónico y, el éster del ácido feniletil cafeico es, de entre los componentes conocidos del propóleo, el modulador más potente de la cascada del ácido araquidónico. Ambos productos disminuyen la actividad de la ciclooxigenasa en macrófagos, medida en función de la producción de prostaglandina E <sub>2</sub> , protegiendo de los daños producidos por la IL-1 $\beta$ (Farré <i>et al.</i> , 2004).

Cuadro 6. Actividades terapéuticas más comunes del propóleo (continuación).

Actividad terapéutica	Características
<b>Actividad antiparasitaria y antiprotozoaria</b>	Extractos de propóleo mostraron actividad inhibitoria contra <i>Trypanosoma cruzi</i> y fueron letales contra <i>Trichomonas vaginalis</i> (Kalogeropoulos <i>et al.</i> , 2009)
<b>Actividad antiangiogénica y antiaterogénica</b>	Polifenoles encontrados en el propóleo rojo, han sido capaces de reducir las lesiones arteroescleróticas mediante mecanismos que incluyen la regulación de factores angiogénicos e inflamatorios (Daleprane <i>et al.</i> , 2012).

Además de las aplicaciones del propóleo en la medicina tradicional, esta resina se ha incorporado en productos domésticos, cosméticos y alimenticios, debido a sus propiedades biológicas. Por su actividad cicatrizante, ha sido aprovechado en la industria dermatológica para la elaboración de cremas, faciales, pomadas, lociones, shampoos, ungüentos, brillos labiales y barnices. Por otro lado, debido a sus propiedades antimicrobianas, ha sido incorporado en hilos y pastas dentales, así como en enjuagues bucales para tratar padecimientos como la gingivitis y la caries dental. Cabe mencionar que desde el siglo XVII, esta resina era utilizada por Stradivari para barnizar sus instrumentos de cuerda, actividad que sigue en pie aún en nuestros días (Burdock, 1998; Walgrave *et al.*, 2005).

## 2.7. TÉCNICAS ANALÍTICAS

El uso reciente de las preparaciones del propóleo en medicina requiere de elevados enfoques para la determinación cuantitativa de los componentes activos. Diversas técnicas analíticas para la obtención de éstos se han realizado con resultados favorables (Popova *et al.*, 2004).

Una de estas técnicas ha sido la Cromatografía de Gases acoplada con la Espectrometría de Masas ya que la composición química del propóleo es muy compleja; sin embargo, la mayoría de los componentes del propóleo son relativamente polares (terpenos, flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres) y es necesario un cambio orgánico como la derivatización para incrementar la volatilidad y mejorar el análisis por CG (Popova *et al.*, 2010). Ésta técnica ha sido aplicada de forma exitosa para la identificación de los compuestos fenólicos presentes en el propóleo y en los exudados de los árboles poplares de donde es recolectado por las abejas. Además, es muy útil para la determinación cualitativa y cuantitativa de propóleos que provengan de la misma o diferente localidad (Campo *et al.*, 2008).

### 2.7.1. Cromatografía

La cromatografía es un conjunto diverso de métodos que permite separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas. En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una *fase móvil*, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una *fase estacionaria* con la que es inmisible, y que se fija a una columna o a una superficie sólida. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario, los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en *bandas* o *zonas* que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente por medio de un cromatograma.

Los métodos cromatográficos se pueden clasificar en la forma en que las fases estacionaria y móvil se ponen en contacto. Uno de ellos es la cromatografía en columna y la otra es cromatografía en plano. La cromatografía de gases como la de fluidos supercríticos están restringidas a los procedimientos en columna, de tal manera que un tubo estrecho contiene la fase estacionaria a través de la cual hace pasar la fase móvil por presión.

En la cromatografía de gases, los componentes de una muestra vaporizada se inyectan en la cabeza de la columna cromatográfica y se separan como consecuencia de su reparto entre una fase móvil gaseosa y otra fase estacionaria líquida, la cual está inmovilizada en las paredes del tubo capilar (Skoog *et al.*, 2001).

La cromatografía de gases a menudo se combina con otras técnicas selectivas de identificación como la espectrometría de masas para la identificación de cientos de componentes que están presentes en sistemas naturales y biológicos (Skoog *et al.*, 2001).

### **2.7.2. Espectrometría de masas**

La espectrometría de masas es una técnica experimental que permite la medición de la relación masa/carga de iones derivados de moléculas. La espectrometría de masas se fundamenta en la separación de partículas moleculares o atómicas de acuerdo a su relación masa/carga.

El proceso de la espectrometría de masa comprende básicamente cuatro etapas:

- *Ionización de la muestra.* En el método de ionización electrónica, la ionización de la muestra se lleva a cabo por bombardeo mediante electrones ( $e^-$ ).
- Aceleración de los iones por un campo eléctrico.
- Separación de los iones según su relación masa/carga.

- Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica (Torres, pp. 27-28 2011).

El analizador de masas de tiempo de vuelo (TOF) separa los iones que tienen la misma energía cinética pero diferente  $m/z$ , porque los iones pesados necesitan más tiempo para recorrer una distancia fija. Si los iones tienen la misma energía cinética, pero diferentes masas, los iones más ligeros circularán a mayor velocidad que los iones más pesados.



Figura 7. Cromatógrafo acoplado a Espectrómetro de Masas.

En su forma más simple, el espectrómetro de masa con analizador másico de tiempo de vuelo, es un tubo largo y recto que trabaja al vacío, con la fuente en un extremo y el detector en otro. Los iones que salen despedidos de la fuente se dirigen al detector en orden creciente de masas, porque los ligeros circulan más rápido (Harris, 2008).

### 2.7.3. Derivatización

Existe una gran cantidad de compuestos orgánicos que no pueden ser analizados directamente por Cromatografía de Gases por lo cual se deben derivatizar. La derivatización se define como un procedimiento para modificar la funcionalidad del analito en orden de mejorar la separación cromatográfica. Al analito modificado, se le conoce como Derivado (Orata, 2012).

La razón principal para emplear la técnica analítica de derivatización en CG es para aumentar o disminuir la volatilidad de los compuestos a analizar. Además, también se puede emplear con compuestos termolábiles, mejorando el análisis. Los derivados pueden ser utilizados para estabilizar los iones formados en el espectrómetro de masas para favorecer la información estructural del modo de fragmentación (Knapp, 1979).

Existen 3 métodos de derivatización dependiendo del compuesto a analizar:

- ❖ Sililación,
- ❖ Acilación,
- ❖ Esterificación.

Se derivatizan compuestos o mezclas de compuestos antes del análisis por los siguientes motivos:

#### a) IDONEIDAD

A menudo, los compuestos no se pueden analizar porque no se encuentran en una forma adecuada para una técnica analítica en particular, por ejemplo, compuestos no volátiles para análisis por CG.

**b) EFICACIA**

El análisis directo puede resultar difícil si los compuestos interaccionan entre sí o con la columna. Estas interacciones pueden causar una resolución pobre y/o picos asimétricos que causan una integración y cuantificación difícil. Esta interferencia puede reducirse con la derivatización de los compuestos.

**c) DETECTABILIDAD**

Una sensibilidad mayor al analito se puede conseguir aumentando la cantidad del compuesto o vía la introducción de átomos o grupos funcionales que interaccionen fuertemente con el detector (Cromlab, 2006; Knapp, 1979).

La volatilidad de la muestra es un requerimiento para el análisis por CG. La derivatización formará compuestos altamente polares para que sean lo suficientemente volátiles para ser eluidos a elevadas temperaturas sin llegar a la descomposición o al rearreglo molecular. Para el análisis por CG los compuestos que tienen Hidrógenos activos como -SH, -OH, -NH, -COOH son los primordiales para derivatizar ya que tienden a formar enlaces de Hidrógeno intermoleculares, los cuales afectan la volatilidad del analito, su tendencia para interactuar con la columna y su estabilidad térmica (Knapp, 1979; Orata, 2012).

**2.7.3.1. Reactivo para la Derivatización**

Es la sustancia que es empleada para modificar químicamente al analito para producir uno nuevo con propiedades que son necesarias para un análisis en Cromatografía de Gases o Cromatografía de Líquidos. Las características que debe tener este reactivo son:

1. Producir más del 95% de los derivados.
2. Evitar la formación de reordenamientos o alteración estructural del compuesto mientras se forma el derivado.
3. No debe contribuir a la pérdida de muestra durante la reacción.

4. Debe producir un derivado que no interaccione con la columna.
5. El derivado producido debe ser estable con el tiempo (Orata, 2012)

Los reactivos para la sililación reaccionarán con alcoholes y ácidos para formar trimetilsilil éteres y trimetilsilil ésteres, respectivamente (Blau y Halket, 1993; Orata, 2012).

### 2.7.3.2. Sililación

La Sililación es la técnica de derivatización más empleada para analizar las muestras no volátiles por Cromatografía de Gases. La sililación es la introducción de un grupo silano en la molécula en sustitución del Hidrógeno activo, para reducir los enlaces de Hidrógeno producidos (disminuyendo su polaridad) y así aumentar la volatilidad de los compuestos (Orata, 2012).

La reacción de sililación es dada por un buen grupo saliente, es decir, una base débil, capaz de estabilizar la carga negativa en el estado de transición y de no formar enlaces entre el grupo silano y el grupo saliente (Knapp, 1979). El mecanismo se realiza por un reemplazo del protón activo más electronegativo con un grupo trimetilsilil. La sililación ocurre con un ataque nucleofílico bimolecular ( $S_N2$ ) dependiente del grupo saliente, en la cual se formará un estado de transición bimolecular en el paso intermedio del mecanismo de reacción. La reacción general de la sililación se muestra en la Figura 8 (Blau y Halket, 1993; Orata, 2012).

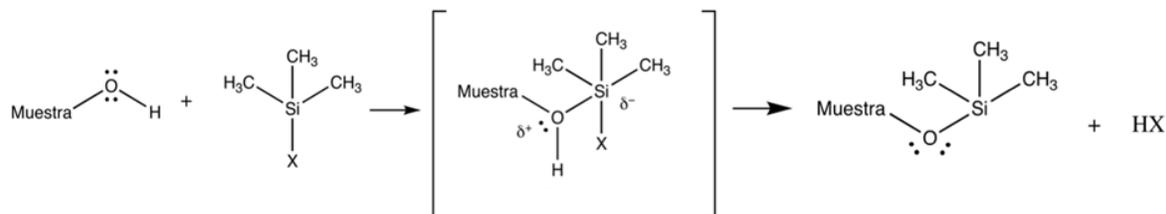


Figura 8. Reacción general de la derivatización por Sililación.

En la Sililación se debe tener cuidado de que la muestra y los disolventes se encuentren totalmente secos, ya que esto eliminará los picos excesivos y evitará un pico grande del disolvente. El disolvente más común en la sililación es la piridina, ya que es un secuestrador de protones y facilita el curso de la reacción (Orata, 2012).

La reactividad de los grupos funcionales para que proceda la sililación va en el siguiente orden:

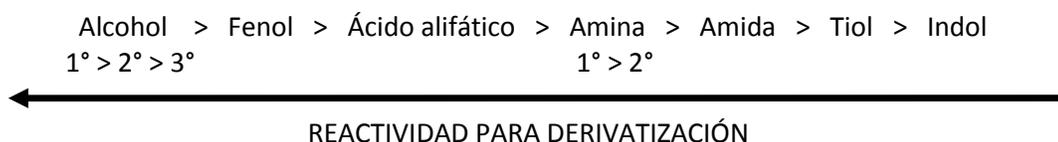


Figura 9. Reactividad de grupos funcionales para la sililación.

### 2.7.3.3. BSTFA

El BSTFA es el agente preferido para la derivatización de alcoholes, alcaloides, aminas, ácidos carboxílicos, fenoles y esteroides debido a su elevada volatilidad, la cual resulta en una separación de los picos eluidos en un menor tiempo, además de que producen residuos estables, reduciendo el ruido en el detector.

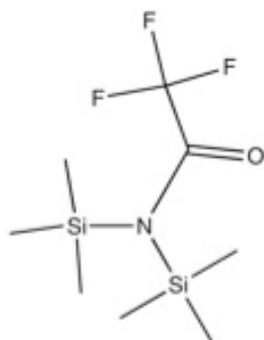


Figura 10. Fórmula desarrollada del Bistrimetilsililtrifluoroacetamida (BSTFA).

El BSTFA es muy versátil, ya que reacciona con todos los sitios próticos presentes; sin embargo, cuando es usado sólo puede no derivatizar aminas y grupos hidroxilos protegidos. Los disolventes orgánicos no polares como el hexano, éter, benceno y tolueno son excelentes ya que no aumentan el curso de reacción; por el contrario, disolventes polares como la piridina, dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), tetrahidrofurano (THF) o acetonitrilo son usados mayoritariamente porque facilitan la reacción. La piridina es utilizada como disolvente debido a su capacidad de actuar como aceptor de protones en las reacciones de derivatización que involucran organoclorosilanos. La adición de TMCS (1% v/v) como catalizador garantizará la derivatización de estos grupos funcionales.

Como el BSTFA es líquido a temperatura ambiente, las derivatizaciones son normalmente llevadas a cabo sin el uso del disolvente. Los mejores resultados son obtenidos cuando los productos de la reacción son solubles en el medio de reacción (Blau y Halket, 1993).

### 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La medicina tradicional se ha utilizado desde tiempos remotos y en México se sigue aplicando como tratamiento alternativo a la medicina alopática. Mucha gente piensa que los productos naturales son seguros y los consumen sin conocer las posibles reacciones adversas que se pueden ocasionar cuando el producto o tratamiento es de mala calidad, se ingiere de forma inadecuada o se consume de forma simultánea con medicamentos alopáticos.

Por otro lado, usadas de forma correcta, las plantas medicinales proveen alternativas para prevenir y tratar numerosas enfermedades de forma efectiva y segura. Más aún, existen plantas medicinales y sustancias derivadas de éstas que pueden ayudar incluso a optimizar y mejorar diversas funciones del organismo. Es por ello que la OMS recomendó a sus países miembros realizar una evaluación detallada de sus productos naturales, con la finalidad de incorporarlas a las farmacopeas nacionales, ajustándose a los parámetros de seguridad, eficacia y calidad recomendados.

El propóleo es un producto apícola que ha resurgido en los últimos años debido al gran interés por parte de los científicos al encontrársele múltiples aplicaciones terapéuticas; sin embargo, en México se tienen pocos estudios que comprueban su capacidad terapéutica. El país cuenta con una gran variedad de ecosistemas que proveen fuentes naturales de distintos tipos, por lo que se debe caracterizar cada zona productora de propóleo por separado, para así obtener información científica sobre este producto dentro del territorio mexicano.

Además de poseer características específicas de acuerdo a su fuente natural, el propóleo está integrado por varios componentes como las resinas y bálsamos, los cuales son ricos en flavonoides (confiriéndole la actividad terapéutica reportada), y las ceras, provenientes en su mayoría de productos metabólicos de las abejas. Las

ceras encontradas en el propóleo han sido estudiadas de forma muy aislada, por lo que si se desea caracterizar a un producto natural se debe contar con toda la información que se pueda obtener. Es por ello, que en la presente tesis se desea identificar y caracterizar químicamente a los componentes no volátiles de las ceras del propóleo del altiplano mexicano, específicamente en la zona rural del Distrito Federal, previa derivatización al análisis por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas en tiempo de vuelo (CG-EM-TV).

El objetivo general del presente proyecto de investigación consiste en caracterizar los compuestos químicos no volátiles de una muestra de las ceras del propóleo producida por abejas pertenecientes a 4 zonas rurales del Distrito Federal. Para el cumplimiento de este objetivo se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- 1) Realizar la revisión bibliográfica exhaustiva de las diferentes publicaciones relacionadas con la caracterización química del propóleo en zonas templadas.
- 2) Recolectar las muestras de propóleo producidas en 4 diferentes apiarios de la zona rural del Distrito Federal.
- 3) Extraer las muestras utilizando un método de maceración con etanol.
- 4) Obtener las ceras del propóleo presentes en el extracto etanólico.
- 5) Derivatizar las mezclas de ceras obtenidas a partir del propóleo para su posterior análisis por CG-EM-TOF.
- 6) Determinar la composición química de cada uno de los extractos etanólicos derivatizados.

## 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 4.1. OBTENCIÓN DEL PROPÓLEO

Las muestras de propóleo fueron recolectadas por personal de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de UNAM, en la temporada de octubre del 2011, utilizando como método de obtención el raspado. Las muestras se conservaron en bolsas de plástico a -4 °C hasta su uso.

Se utilizaron 4 muestras de propóleos de la zona rural del Distrito Federal, la cual se encuentra dentro del Altiplano Mexicano, según la clasificación mostrada en los antecedentes. Las ubicaciones de los apiarios de donde se tomaron las muestras de propóleo se indican en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Ubicaciones de los apiarios muestreados.

MUESTRA	UBICACIÓN	m.s.n.m
“BUHO”	Delegación Milpa Alta, Distrito Federal	2420
“NICO”	Delegación Tlalpan, Distrito Federal	2410
“VALENTÍN”	Delegación Milpa Alta, Distrito Federal	2420
“TROJES”	Delegación Milpa Alta, Distrito Federal	2420

### 4.2. EXTRACCION DE CERAS DEL PROPOLEO

Para la obtención del extracto de las ceras de las muestras de propóleo se siguió el procedimiento descrito por Papotti, *et al.* realizado en el año 2012, con algunas modificaciones. Se pesaron 3 g de cada muestra de propóleo y se sometieron a un proceso de extracción continua (Soxhlet) durante dos horas con 120 mL de etanol

al 70% como disolvente. El extracto se concentró y se resuspendió en 120 mL de etanol. La suspensión se calentó a 60 °C y posteriormente se dejó enfriar por un periodo de una hora para promover la separación de las ceras. La mezcla se filtró con un papel filtro, previamente pesado (Whatman No. 41), y la cera separada se dejó secar durante 24 horas.

#### **4.3. DERIVATIZACION DE CERAS DEL PROPÓLEO**

Con las ceras secas, se procedió a derivatizarlas previo análisis por CG-EM-TV. Se pesó 1 g de las ceras previamente extraídas y se transfirieron a viales de 5 mL color ámbar. Se les añadió una solución de 50 µL de piridina como catalizador y 100 µL de Bistrimetilsililtrifluoroacetamida (BSTFA) como reactivo derivatizante, durante 30 min a una temperatura de 60 °C. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 µL de la muestra ya derivatizada la cual fue introducida para su análisis por CG-EM-TV.

#### **4.4. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS**

Para la realización del análisis se empleó el espectrómetro de masas marca LECO, modelo Pegasus 4D, acoplado a un cromatógrafo de gases Agilent, modelo Agilent 6890N equipado con una columna capilar DB-5 (5% fenil-polimetilsiloxano) con dimensiones de 10 m × 0.18 mm × 0.18 µm. La temperatura del inyector se mantuvo a 300 °C; utilizando como gas acarreador Helio (Praxair, 5.0) a una velocidad lineal de 1 mL/min (medido a 250 °C). La temperatura del horno se programó a 40 °C (durante 1 minuto) y se incrementó la temperatura a 20 °C/min hasta los 300 °C durante 5 minutos. Las inyecciones fueron realizadas mediante el modo de inyección “splitless”.

En el espectrómetro de masas se utilizó ionización electrónica a 70 eV, la temperatura de la cámara de ionización fue de 200 °C y de la línea de transferencia, 250 °C. Se programó una velocidad espectral de 20 espectros/s. El barrido de masas fue de 33-400 uma (unidad de masa atómica).

Cuadro 8. Condiciones optimizadas para el análisis de los propóleos.

<b>Marca y modelo del equipo</b>	LECO Pegasus 4D
<b>Técnica analítica</b>	CG-EM-TV
<b>Temperatura del inyector</b>	300 °C
<b>Cromatógrafo de Gases</b>	Agilent 6890N
<b>Columna capilar (fase)</b>	DB5 10 m × 0.18 mm di × 0.18 µm
<b>Programación de la temperatura del horno</b>	40 °C (1 minuto), 20 °C/min hasta 300 °C (5 minutos)
<b>Tipo de inyección</b>	Splitless
<b>Gas acarreador</b>	Helio Praxair, grado 5.0 (Ultra Alta Pureza)
<b>Flujo del gas acarreador</b>	1 mL/minuto
<b>Temperatura de la línea de transferencia</b>	250 °C
<b>Tipo de Ionización</b>	Ionización electrónica (IE)
<b>Analizador másico</b>	Tiempo de vuelo (TV)
<b>Adquisición espectral</b>	20 espectros/segundo
<b>Retraso / encendido del filamento</b>	0 minutos
<b>Intervalo masas</b>	33 – 400 uma
<b>Temperatura de la cámara de ionización</b>	200 °C
<b>Compuestos de calibración</b>	Perfluoroterbutilamina (PFTBA)

## 5. RESULTADOS Y DISCUSION

El término “ceras” comúnmente se refiere a la mezcla de compuestos no polares de cadena larga encontrados en la superficie de las plantas. La cera de abejas se refiere a la cera presente en las colmenas de las abejas del género *Apis*, mayoritariamente *Apis mellifera* L. Esta cera, generalmente está compuesta por mezclas de hidrocarburos, ésteres complejos y ácidos grasos. La cera que contiene el propóleo es una mezcla de compuestos de color blanco que se obtiene por la extracción con etanol caliente seguido de un enfriamiento para separarla de la resina del mismo (Negri *et al.*, 1998).

De acuerdo a la literatura, se han comparado los compuestos obtenidos de las ceras del propóleo y de las ceras obtenidas de la colmena, en los cuales se ha encontrado similitud. Es por ello, que se ha concluido que las ceras de los propóleos provienen del metabolismo de las abejas y no de los exudados de las plantas como en los bálsamos del propóleo; además de que en raras ocasiones se han encontrado residuos de alquenos y de ácido oleico en los ésteres de las ceras vegetales (Negri.*et al.*, 2000).

Por medio de la derivatización por sililación con Bistrimetilsililtrifluoroacetamida (BSTFA) se pudo identificar a los compuestos no volátiles del propóleo contenidos en las muestras analizadas. Jiménez y cols. (2003) realizaron la identificación de ácidos y alcoholes en ceras de abeja españolas, en los cuales se realizó una hidrólisis con  $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$  para obtener ácidos libres, seguido de una acetilación con anhídrido acético y una extracción para la obtención de alcoholes libres. La ventaja de utilizar un reactivo como el BSTFA es que éste reacciona con todos los sitios próticos presentes y añadiéndole piridina como catalizador, la reacción se lleva a cabo de una forma rápida y sencilla, dando como resultado una gran variedad de compuestos presentes en las muestras, y no sólo analitos específicos.

Los compuestos obtenidos en las muestras analizadas presentan ácidos grasos y sus ésteres, alcoholes, carbohidratos, compuestos aromáticos, y en menor proporción terpenos. Estos resultados concuerdan con lo obtenido con el análisis de ceras de propóleo de Brasil, realizado por Custodio y cols. (2003), los cuales encontraron ceras con gran cantidad de alcanos con  $C_{23}$ ,  $C_{25}$ ,  $C_{27}$  y alcanos monoinsaturados  $C_{33}$  y  $C_{35}$ .

De acuerdo a estudios previos realizados por Seifert y Haslinger (1991) en muestras analizadas provenientes de propóleo europeo contenían además de alcanos, compuestos como alquenos, alcadienos, monoésteres, diésteres, cetonas y ácidos grasos. Además, encontraron que en sus muestras predominan los monoésteres, los cuales están formados por fracciones de ácidos carboxílicos y alcoholes con cadenas lineales, seguidos de los hidrocarburos con carbonos de número impar. Por último, también se encontraron triterpenos, los cuales correspondieron al 20% de la muestra total de ceras del propóleo. Los terpenos son importantes a nivel medicinal e industrial; en el propóleo son los responsables del olor, además de que se les atribuye propiedades antimicóticas y anestésicas (Custodio *et al.*, 2003).

Los compuestos derivados identificados en los propóleos BÚHO 1, BÚHO 2, NICO, VALENTÍN y TROJES se enlistan en los siguientes Cuadros (9, 11, 13, 15 y 17, respectivamente). Para su identificación, se compararon los espectros de masas de los compuestos obtenidos con referencias en bibliotecas como NIST 69.

Cuadro 9. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo BÚHO 1.

NOMBRE	ÁREA (%)	T.R. (s)	FÓRMULA
(3TMS)-éter del glicerol	0.906	167.363	C <sub>12</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>3</sub>
(TMS)-éster del ácido cáprico	0.203	251.063	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> Si
Lactona del ácido (4-TMS)-1,4-alónico	0.946	269.863	C <sub>18</sub> H <sub>42</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>4</sub>
(4TMS)-ácido 2-desoxieritropentónico	1.956	399.863	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(4TMS)-D-Xilosa	0.657	400.913	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(4TMS)-D-Arabinosa	2.493	427.813	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(TMS)-éster del ácido palmítico	1.803	448.763	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si
Dehidroabietato de metilo	0.570	539.113	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
Eicosano	0.235	542.863	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>
(TMS)-éster del ácido behénico	0.886	598.763	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub> Si
11-decil-tetracosano	18.989	614.713	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>
(TMS)-éster del ácido lignocérico	13.493	643.213	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub> Si
7-hexil-eicosano	31.171	696.963	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>
Acetato de Cicloartenol	1.255	727.963	C <sub>32</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>
10-Heneicoseno	14.470	734.313	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>
2,2,4,10,12,12-hexametil-7-(3,5,5-trimetilhexil)-6-trideceno	4.012	738.713	C <sub>28</sub> H <sub>56</sub>
α-Espringeno	1.130	745.113	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>
17-Pentatriaconteno	1.563	788.663	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub>
Propanoato de 4-pentadecanilo	3.261	1293.710	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>

Cuadro 10. Abundancia de los diversos compuestos presentes en BÚHO 1.

Compuestos	Porcentaje (%)
Ácidos grasos	36.9
Alcoholes	5.3
Carbohidratos	10.5
Hidrocarburos insaturados	21.1
Hidrocarburos saturados	15.8
Terpenos	10.5
Total	100

Cuadro 11. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo BÚHO 2.

NOMBRE	ÁREA (%)	T. R. (s)	FÓRMULA
Ciclohexanona	0.719	136.994	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O
(3TMS)-éter del glicerol	1.322	331.694	C <sub>10</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub> Si <sub>2</sub>
(4TMS)-β-D-xilopiranososa	4.118	526.944	C <sub>12</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>3</sub>
(4TMS)-éter de Lixosa	3.081	550.994	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
bis(2-TMS-etil) éster del ácido malónico	0.091	578.294	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(TMS)-éster del ácido palmítico	9.392	599.644	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub> Si <sub>2</sub>
(TMS)-éster del ácido palmitoléico	3.339	604.394	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si
(TMS)-éster del ácido 9- <i>trans</i> -oleico	0.458	645.894	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub> Si
(TMS)-éster del ácido esteárico	1.037	652.844	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub> Si
2,21-dimetil-docosano	0.344	668.044	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub> Si
7-hexil-eicosano	10.543	763.294	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>
<i>p</i> -(trimetilsiloxi)-(TMS)-éster del ácido hidroxicinámico	0.192	782.244	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>2</sub>
(TMS)-éster del ácido lignocérico	3.149	792.094	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub> Si
Heptadecano	1.821	825.444	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>
9-Hexacoseno	4.051	841.844	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub>
11-decil-tetracosano	9.572	845.744	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>
(TMS)-éter del octacosanol	2.427	852.744	C <sub>31</sub> H <sub>66</sub> O <sub>Si</sub>
17-Pentatriaconteno	11.241	882.794	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub>
4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octametil-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahidro-2H-picen-3-ona	3.355	908.594	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O
Etil-ciclodocosano	6.248	938.494	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub>
Octadecil éster del ácido palmítico	23.499	1445.44	C <sub>34</sub> H <sub>68</sub> O <sub>2</sub>

Cuadro 12. Abundancia de los diversos compuestos presentes en BÚHO 2.

Compuestos	Porcentaje (%)
Ácidos grasos	38.1
Alcoholes	9.5
Carbohidratos	9.5
Hidrocarburos insaturados	9.5
Hidrocarburos saturados	28.6
Terpenos	4.8
Total	100

Cuadro 13. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo NICO.

NOMBRE	ÁREA (%)	T.R. (s)	FÓRMULA
(3TMS)-éter del glicerol	1.272	167.031	C <sub>12</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>3</sub>
Lactona del ácido (4-TMS)-1,4-alónico	0.820	269.781	C <sub>18</sub> H <sub>42</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>4</sub>
(4TMS)-β-D-xilopiranososa	2.245	376.181	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(4TMS)-éter de Lixosa	0.409	386.831	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(4TMS)-ácido 2-desoxieritropentónico	2.337	400.431	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(5TMS)-D-Glucosa	2.337	401.031	C <sub>21</sub> H <sub>52</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>5</sub>
(5TMS)-Glucopiranososa	0.775	428.031	C <sub>21</sub> H <sub>52</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>5</sub>
(TMS)-éster del ácido palmítico	3.063	448.831	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si
(TMS)-éster del ácido 9- <i>trans</i> -oleico	2.034	495.731	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub> Si
bis(TMS)-éster del ácido <i>p</i> -cumárico	2.546	497.831	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>2</sub>
(TMS)-éster del ácido esteárico	0.405	502.681	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub> Si
2-(1,1,1-TMS)-etil-2-(7-metoxi-2-oxo-2H-cromen-4-il)-acetato	1.259	532.281	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub> Si
bis(TMS)-éter de docosa-8,14-diin- <i>cis</i> -1,22-diol	0.823	536.281	C <sub>28</sub> H <sub>54</sub> O <sub>2</sub> Si <sub>2</sub>
(TMS)-éster del ácido dehidroabiético	2.169	540.331	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> Si
di-TMS-ácido 2-Hidroxiisocaproico	1.709	586.631	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> Si
2,21-dimetil-docosano	1.096	590.881	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>
7-hexil-eicosano	21.421	615.231	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>

Cuadro 13. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo NICO (continuación).

NOMBRE	ÁREA (%)	T.R. (s)	FÓRMULA
<i>p</i> -(trimetilsiloxi)-(TMS)-éster del ácido hidroxicinámico	1.759	632.681	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>2</sub>
(TMS)-éster del ácido lignocérico	1.196	642.431	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub> Si
10-Heneicoseno	6.839	692.431	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>
11-decil-tetracosano	6.436	697.331	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>
(TMS)-éter del octacosanol	3.413	703.231	C <sub>31</sub> H <sub>66</sub> OSi
Pivalato de 3,5-dehidro-6-metoxi-colest-22-en-21-ol	6.463	732.181	C <sub>33</sub> H <sub>54</sub> O <sub>3</sub>
17-Pentatriaconteno	7.282	735.331	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub>
TMS-éter de <i>trans</i> -Farnesol	3.298	740.381	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> OSi
Éster metílico del ácido 3-oxo-urs-12-en-24-oico	3.227	747.531	C <sub>31</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>
Lupeol	1.025	760.631	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O
1-Heptatriacotanol	0.607	764.881	C <sub>37</sub> H <sub>76</sub> O
Octadecil palmitato	11.731	1304.18	C <sub>34</sub> H <sub>68</sub> O <sub>2</sub>

Cuadro 14. Abundancia de los diversos compuestos presentes en NICO.

Compuestos	Porcentaje (%)
Ácidos grasos	37.9
Alcohol	13.8
Carbohidrato	13.8
Hidrocarburos insaturados	6.9
Hidrocarburos saturados	10.3
Terpenos	17.2
Total	100

Cuadro 15. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo VALENTÍN.

NOMBRE	ÁREA (%)	R.T. (s)	FÓRMULA
(5TMS)-Glucopiranososa	4.921	428.45	C <sub>21</sub> H <sub>52</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>5</sub>
(TMS)-éster del ácido palmítico	7.741	449.35	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si
2,6,10,15-Tetrametil-heptadecano	1.258	464.9	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>
bis(TMS)-éter de docosa-8,14-diin- <i>cis</i> -1,22-diol	2.165	469.15	C <sub>28</sub> H <sub>54</sub> O <sub>2</sub> Si <sub>2</sub>
(TMS)-éster del ácido 9- <i>trans</i> -oleico	3.617	496.25	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub> Si
(TMS)-éster del ácido araquidónico	1.563	519	C <sub>23</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si
(TMS)-éster del ácido dehidroabiético	1.520	540.55	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> Si
(4TMS)-ácido 2-desoxieritropentónico	0.156	595.65	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
7-hexil-eicosano	17.073	614.5	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>
10-Heneicoseno	6.4845	692.8	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>
11-decil-tetracosano	24.802	697.25	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>
17-Pentatriaconteno	6.934	734.5	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub>
Etil-ciclodocosano	2.012	790.2	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub>
Ciclohexil palmitato	19.753	1299	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>

Cuadro 16. Abundancia de los diversos compuestos presentes en VALENTÍN.

Compuestos	Porcentaje (%)
Ácidos grasos	35.7
Alcoholes	7.1
Carbohidratos	7.1
Hidrocarburos insaturados	14.3
Hidrocarburos saturados	28.6
Terpenos	7.1
Total	100

Cuadro 17. Compuestos derivados obtenidos en el propóleo TROJES.

NOMBRE	ÁREA (%)	T.R. (s)	FÓRMULA
(4TMS)-β-D-xilopiranososa	2.886	376.562	C <sub>17</sub> H <sub>42</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>
(5TMS)-Glucopiranososa	2.970	401.262	C <sub>21</sub> H <sub>52</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>5</sub>
(TMS)-éster del ácido palmítico	4.670	449.662	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si
Eicosano	5.293	465.212	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>
bis(2-TMS-etil) éster del ácido malónico	0.034	475.012	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub> Si <sub>2</sub>
(TMS)-éster del ácido esteárico	0.333	503.412	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub> Si
(TMS)-éster del ácido dehidroabiético	2.134	540.412	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> Si
7-hexil-eicosano	37.846	616.212	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>
(TMS)-éster del ácido lignocérico	2.295	643.412	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub> Si
9-Hexacoseno	3.237	693.512	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub>
11-decil-tetracosano	10.657	697.912	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>
(TMS)-éter del octacosanol	1.746	704.012	C <sub>31</sub> H <sub>66</sub> O <sub>Si</sub>
1,15-Pentadecanediol	1.125	729.362	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
1-Hentetracontanol	17.901	736.762	C <sub>41</sub> H <sub>84</sub> O
4,4,6a,6b,8a,11,12,14b-Octametil-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahidro-2H-picen-3-ona	2.739	761.162	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O
10-Heneicoseno	4.134	792.162	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>

Cuadro 18. Abundancia de los diversos compuestos presentes en TROJES.

Compuestos	Porcentaje (%)
Ácidos grasos	25.1
Alcoholes	18.8
Carbohidratos	12.5
Hidrocarburos insaturados	12.5
Hidrocarburos saturados	18.8
Terpenos	12.5
Total	100

En las cinco muestras analizadas se observó una cantidad similar de ácidos grasos y sus ésteres, alcoholes, hidrocarburos insaturados y saturados, así como alcanos cíclicos; y en menor cantidad, terpenos.

En la muestra BÚHO 1 se encontraron ácidos grasos e hidrocarburos insaturados como componentes mayoritarios, el triterpeno presente en este apiario es el acetato de cicloartenol, el cual es conocido por su actividad antiviral y antimicrobiana en los propóleos portugueses (Madureira, et al., 2010).

La muestra BÚHO 2 fue colectada en diferente época de año con respecto a BÚHO 1, las dos pertenecen al mismo apiario. En lo que se refiere a BÚHO 2 se obtuvieron ácidos grasos e hidrocarburos saturados como componentes mayoritarios a diferencia de la muestra BÚHO 1; esto indica que la época de recolecta influye de manera significativa en la variedad de compuestos obtenidos. El triterpeno presente en este apiario es el 4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octametil-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahidro-2H-picen-3-ona, el cual es un triterpeno pentacíclico derivado de la  $\beta$ -amirina con amplia distribución en el reino vegetal de forma libre como aglicona o combinado. A este tipo de compuestos se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y con actividad citotóxica (Hernández *et al.*, 2012).

La muestra NICO es la que presenta mayor cantidad de ácidos grasos y terpenoides de las 5 muestras analizadas. Entre los compuestos terpénicos con mayor proporción se encuentran: Lupeol, Farnesol y el Ácido 3-oxo-urs-12-en-24-oico. El Lupeol y el Ácido 3-oxo-urs-12-en-24-oico son compuestos triterpénicos pentacíclicos que como se mencionó anteriormente se les atribuyen diferentes propiedades biológicas. Gallo y Sarachine (2009) realizaron una recopilación sobre las actividades terapéuticas del Lupeol, el cual presenta actividades antiprotozoarias, antiinflamatorias, antimicrobianas y se le han atribuido propiedades nutracéuticas. Asimismo, recientes estudios han demostrado que este

tipo de compuestos inhiben directamente el crecimiento y progreso de células tumorales, así como la inducción de la apoptosis en estudios *in vitro* e *in vivo*; además, de que a los compuestos terpenoides se les atribuye el característico olor resinoso del propóleo (Saleem, 2009). Por otro lado, al Farnesol se le ha atribuido la inhibición del contenido polisacárido en biofilms de *S. mutans* (Salatino *et al.*, 2005).

Para la muestra VALENTÍN se obtuvieron ácidos grasos e hidrocarburos saturados como componentes mayoritarios. Se ha encontrado que los compuestos derivados del ácido palmítico, como el palmitato de ciclohexilo, poseen propiedades antiinflamatorias y analgésicas debido a que actúan sobre la inhibición de la enzima Ácido *N*-palmitoiletanolamin-amidasa, la cual tiene actividad sobre receptores cannabinoides (Vandevoorde *et al.*, 2003).

En la muestra TROJES se encontraron ácidos grasos, alcoholes e hidrocarburos saturados como compuestos mayoritarios. Al igual que en la muestra VALENTÍN se encontraron derivados del ácido palmítico, los cuales como se mencionó anteriormente poseen propiedades analgésicas y antiinflamatorias. Por otra parte, uno de los compuestos obtenidos fue el Ácido dehidroabiético; se ha reportado que derivados del ácido abiético, se han empleado en sistemas de liberación sostenida de fármacos y pueden ser utilizados en calidad de precursores estructurales de isoan. logos bioisotéricos con acción terapéutica específica tipo neuroprotectora y neurorregeneradora en el tratamiento de patologías isquémicas como las cardiopatías (Arteaga-Crespo *et al.*, 2012).

En el Cuadro 19, se hace una comparación entre los diversos compuestos mayoritarios obtenidos en las cinco muestras analizadas. Predominan los ácidos grasos, los carbohidratos y los terpenos.

Cuadro 19. Compuestos mayoritarios obtenidos en las cinco muestras analizadas.

Compuestos	Apiarios					Grupo Funcional
	BUHO1	BUHO2	NICO	VALEN	TROJES	
(4TMS)-ácido-2-desoxieritropentónico	X		X			Ácido alifático
Propanoato de 4-pentadecanilo	X					Ácido alifático
Ácido <i>p</i> -cumárico			X			Ácido aromático
Ácido 2-hidroxiisocaproico			X			Ácido alifático
Ácido hidroxicinámico			X			Ácido aromático
Ácido malónico					X	Ácido alifático
Ácido palmítico	X	X	X	X	X	Ácido graso
Ácido lignocérico	X	X	X		X	Ácido graso
Ácido palmitoleico		X				Ácido graso
Ácido esteárico		X				Ácido graso
Ácido-9- <i>trans</i> -oleico			X	X		Ácido graso
Octadecil palmitato			X			Ácido graso
Ciclohexil palmitato				X		Ácido graso
Ácido araquidónico				X		Ácido graso
Glicerol		X	X			Alcohol
Octacosanol		X	X		X	Alcohol
1-Hentetracontanol					X	Alcohol
D-Arabinosa	X					Carbohidrato
D-Xilopiranososa	X		X		X	Carbohidrato
Lixosa	X					Carbohidrato
Glucosa			X			Carbohidrato
Glucopiranososa				X	X	Carbohidrato
10-Heneicoseno	X		X	X	X	Hidrocarburo insaturado
2,2,4,10,12,12-Hexametil-7-(3,5,5-trimetilhexil)-6-trideceno	X					Hidrocarburo insaturado
17-Pentatriaconteno	X	X	X	X		Hidrocarburo insaturado
9-Hexacoseno		X			X	Hidrocarburo insaturado

Cuadro 19. Compuestos mayoritarios obtenidos en las cinco muestras analizadas (continuación).

Compuestos	Apiarios					Grupo Funcional
	BUHO1	BUHO2	NICO	VALEN	TROJES	
11-Deciltetracosano	X					Hidrocarburo saturado
7-Hexileicosano	X		X			Hidrocarburo saturado
Heptadecano		X				Hidrocarburo saturado
2,21-Dimetildocosano			X			Hidrocarburo saturado
Etilciclodocosano				X		Hidrocarburo saturado
Eicosano					X	Hidrocarburo saturado
Lactona del ácido (4-TMS)-1,4-alónico	X					Lactona
Acetato de Cicloartenol	X					Terpeno
$\alpha$ -Espringeno	X					Terpeno
4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octametil-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahidro-2H-picen-3-ona		X			X	Terpeno
Ácido dehidroabiético			X	X	X	Terpeno
Pivalato de 3,5-dehidro-6-metoxi-colest-22-en-21-ol			X			Terpeno
Farnesol			X			Terpeno
Ácido 3-oxo-urs-12-en-24-oico			X			Terpeno
Lupeol			X			Terpeno

De manera general, los derivados de ácidos grasos fueron los que se encontraron en mayor cantidad en la mayoría de las muestras, debido a que la presencia de hidrocarburos con números impares de átomos de carbono es una característica de las ceras extraídas de plantas y animales. Asimismo, la cantidad significativamente alta de los alquenos se puede deber a una posible contaminación con la cera de abejas al momento de su recolección de los panales. Por último, los hidrocarburos insaturados son muy comunes y predominan en las ceras epicuticulares de los insectos, jugando roles muy importantes en la comunicación química celular (Negri *et al.*, 1998).

Los ácidos grasos mayoritarios encontrados fueron: ácido palmítico, ácido lignocérico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido malónico y ácido oleico. Huang y cols. (2011) realizaron un estudio en bacterias de la mucosa oral con ácidos grasos de cadena corta (ácido malónico), mediana (ácido cáprico) y larga (ácido palmítico) obteniendo resultados antimicrobianos por la inhibición de la producción de biofilms microbianos en la cavidad oral. Asimismo, el ácido graso encontrado en las cinco muestras analizadas fue el ácido palmítico al cual se le atribuyen actividades citotóxicas en células leucémicas humanas, induciendo la apoptosis en la línea celular leucémica humana MOLT-4, además de que puede ser utilizado como un precursor para medicamentos anticancerígenos (Yamashita *et al.*, 2002). Finalmente, los ácidos grasos son indispensables en la dieta diaria por lo que las ceras del propóleo son una buena fuente de obtención.

La biosíntesis de los constituyentes típicos de la cera, como los hidrocarburos y los ésteres, provienen de ácidos grasos como precursores inmediatos, tanto en plantas como en insectos, por el mecanismo de condensación-elongación. Los ácidos grasos son formados por la vía acetato-malonato del metabolismo primario, por lo que casi no se encuentran metabolitos secundarios (compuestos terpenoides) como precursores de los constituyentes típicos de la cera del propóleo, ya que la mayoría de éstos provienen de las plantas. Los metabolitos secundarios tienen mayor presencia en los bálsamos del propóleo (Custodio *et al.*, 2003).

El derivado del alcohol encontrado en mayor proporción es el Octacosanol. Jiménez y cols. (2003) encontraron a este compuesto como uno de sus alcoholes mayoritarios en ceras de propóleo español. Al octacosanol se le han atribuido propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias (Marques de Oliveira *et al.*, 2012), pero su principal actividad biológica es disminuir los niveles de colesterol de baja densidad (LDL) y aumentar los niveles de colesterol de alta densidad (HDL) conocido como “colesterol bueno”; además, repara y regenera los recubrimientos de mielina, mejora la condición en pacientes con Parkinson, estimula la producción de andrógenos y se utiliza como suplemento dietético en productos para deportistas. Cabe destacar, que la mayor producción del octacosanol se obtiene de ceras de abejas (Yoon, 2005).

Por otro lado, los carbohidratos encontrados, probablemente provienen del metabolismo de las abejas, ya que el proceso de obtención comienza en la boca donde las enzimas (amilasas y lisozimas) degradan los almidones, posteriormente pasan al estómago donde el HCl continúa metabolizando los componentes, y por último, pasa al intestino delgado donde actúan enzimas como la amilasa y la maltasa transformando los carbohidratos complejos en simples como glucosa, fructosa y galactosa. Qian y cols. (2008) mencionan que en el propóleo casi no se encuentran compuestos glicosados, ya que éstos provienen de los flavonoides encontrados en las plantas, y en cambio, en el propóleo se han encontrado agliconas debido a que las ceras se obtienen del metabolismo de las abejas.

En las cinco muestras analizadas se encontraron como compuestos mayoritarios a los hidrocarburos: 11-deciltetracosano, 7-hexileicosano, 10-heneicoseno y 17-pentatriaconteno, éstos compuestos se forman por la combustión de combustibles fósiles, o por reacción química de estos residuos con componentes de la atmósfera, lo que indica que la mancha urbana es decisiva para la obtención de propóleo de buena calidad para el consumo humano (Zamarreño *et al.*, 2003).

Las muestras analizadas forman parte de los estudios para caracterizar al propóleo mexicano. En el país, la diversidad de climas permite disponer de una importante variedad de flora, la cual se distingue en cinco regiones apícolas, cada una con un tipo de propóleo característico. En el caso de la zona del Altiplano mexicano existen pocas publicaciones que describen la composición química del propóleo. Las ceras del propóleo son de gran importancia ya que se ha demostrado contienen compuestos que proporcionan valiosas actividades terapéuticas al mismo. Entre los compuestos encontrados se encuentran ácidos grasos y sus ésteres, alcoholes y terpenoides a los cuales se les atribuyen importantes aplicaciones farmacológicas. Con el incremento de la mancha urbana, la flora de la zona metropolitana ha ido disminuyendo, por lo que se ha limitado la producción de propóleo de calidad. Al menos, en la zona metropolitana, el propóleo debe ser orientado como un recurso natural para el control de microorganismos o de plagas, más que una fuente de potentes antimicrobianos (Plan Rector Apícola Nacional, 2006; Salatino *et al*, 2005).

## 6. CONCLUSIONES

El presente trabajo constituye el primero en caracterizar los componentes no volátiles del propóleo de la zona rural del Distrito Federal.

Los compuestos identificados presentan similitud a los reportados en literatura consultada, principalmente propóleos brasileños y europeos, por lo que se reafirma que las ceras del propóleo provienen del metabolismo de las abejas y no de los exudados de las plantas.

Por medio de la derivatización por sililación y su posterior análisis por CG-EM-TV se identificaron 53 compuestos diferentes en cinco muestras de ceras de propóleos del altiplano mexicano, en los cuales predominaron los ácidos grasos y sus ésteres con 20 compuestos identificados; 6 alcoholes y 6 carbohidratos; 13 hidrocarburos; y, 8 compuestos terpenoides, los cuales se conocen por presentar importantes actividades terapéuticas.

La identificación de los componentes no volátiles en las ceras de los propóleos presentan diferencias entre cada apiario, debidas a la ubicación de los mismos y a la temporada de recolección de las muestras.

La muestra BÚHO 2 es la que presentó mayor cantidad de ácidos grasos; por el contrario, en la muestra NICO se identificaron una mayor cantidad de terpenos. Se espera que estas dos muestras sean las que presenten una mayor actividad biológica.

## 7. PERSPECTIVAS

Determinar la actividad biológica de cada muestra analizada para conocer la cantidad de ácidos grasos, alcoholes y terpenos, y determinar si cumplen con los criterios de calidad de las normas existentes en el mundo.

Recolectar un mayor número de muestras en la zona rural del Distrito Federal para determinar la homogeneidad en su composición.

Determinar la cantidad de ácidos grasos presentes en muestras de propóleos recolectados en diferentes épocas del año.

**8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Álvarez, S. (2012). Caracterización organoléptica y físico-química de propóleos del departamento de La Libertad, Perú. *The Biologist (Lima)*, 10(1), 34-40.

Amoros, M., Simões, C., Sauvager, F. & Cormier, M. (1992). Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products*, 55(12), 1732-1740.

Arteaga-Crespo, Y., Carballo-Abreu, L., Tacoronte-Morales, J. & Nuñez-Figueroa, Y. (2012). Neuroprotective and neuroregenerative action of salts of isolated resin acids of conifers rosin from western Cuba. *Revista Chapingo Series Forestales y del Ambiente*, 18(1), 135-142.

Asis, M. (1989). *Propóleo, el oro púrpura de las abejas*. La Habana, Cuba: Centro de Información y Documentación Agropecuaria (CIDA).

Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 214-217.

Bankova, V., De Castro, S. & Marcucci, M. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidology*, 31, 3-15.

Bankova, V., Popov, S. & Marekov, N. (1983). A study on flavonoids of propolis. *Journal of Natural Products*, 46(4), 471-474.

Boyanova, L., Mitov, I. & Vladimirov, B. (2011). *Helicobacter pylori*. Norfolk, UK: Caister Academic Press.

Burdock, G. (1998). Review of the biological properties and toxicity of Bee Propolis (Propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36, 347-363.

Campo, F., Cuesta-Rubio, O. & Rosado, A. (2008). GC-MS determination of isoflavonoids in seven red Cuban propolis samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 9927-9932.

Carvalho, A., Finger, D., Schinieder, C., Morgado, E., Marçal da Costa, P., Negreiros, A., Fontenele, T., Goretti, M., Pércio, S., Roberto da Rosa, M., Trevas dos Santos, J., Pessoa, C., Odorico de Moraes, M., Veras, L., Frankland, A., Nogueira, M. & Reyes, Y. (2011). In vivo antitumoral activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. *Food Chemistry*, 126, 1239-1245.

Castaldo, S. & Caspasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used on modern medicine. *Fitoterapia*, 73, 51-56.

CromLab S.L. (2006). Reactivos de derivatización PIERCE [en línea]. Recuperado el 16 de noviembre de 2014, de [http://www.cromlab.es/REAC\\_DER\\_Principal.htm](http://www.cromlab.es/REAC_DER_Principal.htm)

Cuesta-Rubio, O., Piccinelli, A., Campo, M. & Márquez, I. (2007). Chemical characterization of Cuban propolis by HPLC-PDA, HPLC-MS and NMR: The Brown, Red and Yellow Cuban varieties of propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7502-7509.

Custodio, A., Ferreira, M., Negri, G. & Salatino, A. (2003). Clustering of Comb and Propolis Waxes Based on the Distribution of Aliphatic Constituents. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14(3), 354-357.

Daleprane, J., Freitas, S., Pacheco, A., Rudnicki, M., Faine, L., Dörr, F., Ikegaki, M., Salazar, I., Ong, T. & Abdalla, D. (2012). Anti-atherogenic and anti-angiogenic activities of polyphenols from propolis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(6), 557-566.

Echazarreta, C., Arellano, J. & Pech, C. (2013). Apicultura en Mesoamérica. *Red Mesoamericana de Apicultura. Programa Nacional de la Abeja Africana, SAGAR* [en línea]. Universidad Autónoma de Yucatán. Recuperado el 2 de septiembre de 2014, de <http://www.uady.mx/sitios/abejas/sitio/publicaciones/mexico00.html>

Farré, R., Frasset, I. & Sánchez, A. (2004) El propolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*, 45, 21-43.

Frankland, A., Barbosa da Silva, I. & Marcucci, M. (2011). Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. *Chemistry Central Journal*, 5, 27.

Gallo, M. & Sarachine, M. (2009). Biological activities of Lupeol. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 46-66.

Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. & Peterson, P. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4 + lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 158–163.

González, A. & Bernal, R. (2002). *Propóleos: un camino hacia la salud*. Jalisco, México: (3° ed.) Editorial Cuarto Día.

Harris, D. (2003). *Análisis químico cuantitativo*. México: (3° ed.) Editorial Reverté.

Hernández, L., Palazo, J. & Navarro-Ocaña, A. (2012). The Pentacyclic Triterpenes  $\alpha$ ,  $\beta$ -amyryns: A Review of Sources and Biological Activities. *Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*, ISBN: 978-953-51-0296-0: 487-502.

Huang C., Alimova Y., Myers T. & Ebersole J. (2011). Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Archives of Oral Biology*, 56, 650-654.

Huang, S., Zhang, C., Wang, K., Li, G. & Hu, F. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19, 19610-19632.

Jiménez, J., Bernal, J., Aumente, S., Toribio, I. & Bernal, Jr. (2003). Quality assurance of commercial beeswax II. Gas chromatography - electron impact ionization mass spectrometry of alcohols and acids. *Journal of Chromatography A*, 1007, 101-116.

Kalogeropoulos, N., Konteles, S., Troullidou, E., Mourtzinis, I. & Karathanos, V. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*, 116(2), 452-461.

Knapp, D. (1979). *Handbook of Analytical Derivatization Reactions*. New York, USA: John Wiley & Sons.

Koya-Miyata, S., Arai, N., Mizote, A., Taniguchi, Y., Ushio, S., Iwaki, K. & Fukuda, S. (2009). Propolis prevents diet-induced hiperlipidemia and mitigates weight gain in diet-induced obesity in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(12), 2022-2028.

Kumar, S. & Pandey, A. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 162750.

Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M. & Świerczek-Zięba, G. (2013). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from Propolis. *Molecules*, 19, 78-101.

Linstrom, P y Mallard, W. NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, [versión electrónica], de <http://webbook.nist.gov>

López-Patiño, C. (2011). Globalización y producción de propóleos (Propolis de *Apis mellifera*) en Colombia y América Latina. *Revista Biológica Agropecuaria*, 9(1), 119-125.

Lugo, R., Martínez, K., Morales, G., De la Rosa, R. & Noriega, J. (2009). Determinación del origen botánico de los propóleos sonorenses (CABORCA) mediante HPLC. *INVURNUS*, 4(2), 24-30.

Madureira, A., Ascenso, J., Valdeira, L., Duarte, A., Frade, J., Freitas, G. & Ferreira, M. (2010). Evaluation of the Antiviral and Antimicrobial Activities of Triterpenes Isolated from *Euphorbia segetalis*. *Faculdade de Farmácia de Lisboa*, 17(5), 375-380.

Marcucci, M. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2), 83-99.

Marcucci, M., De Camargo, F. & Lopes, C. (1996). Identification of amino acids in Brazilian propolis. *Zeitschrift für Naturforschung*, 51(c), 11-14.

Marques de Oliveira, A., Conserva, L., Ferro, J., Brito, F., Lemos, R. & Barreto, E. (2012). Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of Octacosanol from the Leaves of *Sabicea grisea* var. *grisea* in Mice. *International Journal of Molecular Science*, 13, 1598-1611.

Martínez, L., Delgado, M., Rojas, N. & Casillas, R. (Sep-Oct, 2010). El propóleo y las técnicas para su colecta [versión electrónica]. *NOTIABEJA*. Vol 5.

----- (Nov-Dic, 2010). El propóleo y las técnicas para su colecta [versión electrónica]. *NOTIABEJA*. Vol 6.

----- (Ene-Feb, 2011). El propóleo y las técnicas para su colecta [versión electrónica]. *NOTIABEJA*. Vol 1.

NEGRI, G., MARCUCCI, M., SALATINO, A. & SALATINO, M. (1998). Hydrocarbons and Monoesters of Propolis Waxes from Brazil. *Apidologie*, 29, 305-314.

----- (2000). Comb and Propolis Waxes from Brazil (States of Sao Paulo and Paraná). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 11(5), 453-457.

Oliveira, A., Suemi, C., Longhini, R., Lucy, S. & Estivalet, T. (2006). Antifungal activity of propolis extract against yeast isolated from onychomycosis lesions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101(5), 493-497.

Organización Mundial de la Salud, 2015 [en línea]. [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/es/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/) Recuperado en Abril, 2014.

Orata, F. (2012). *Derivatization reactions and reagents for Gas Chromatography Analysis in Advanced Gas Chromatography Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications*. Europe: In Tech.

Ochoa, R. & Ortega C. (Mar, 2010). Situación actual y perspectiva de la Apicultura en México [versión electrónica]. *Claridades Agropecuarias*. Vol. 199, 3-34.

Ortega, C y Ochoa, R. (Abr, 2004). La producción de miel en México. Modernidad y Tradición [versión electrónica]. *Claridades Agropecuarias*. Vol. 128, 3-13.

Palomino, L. (2009). *Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia*. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Facultad de Ciencias - Escuela de Química.

Papotti, G., Bertelli, D., Bortolotti, L. & Plessi, M. (2012). Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(11), 2852-2862.

Peña, R. (2008). Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(1), 17-26.

Presentación del Plan Rector Apícola Nacional. Organización Nacional de Apicultores. SAGARPA [en línea]. 2006.

[http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Sistemas%20Productos%20Pecuarios/Attachments/24/plan\\_final.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Sistemas%20Productos%20Pecuarios/Attachments/24/plan_final.pdf) Consultado: Febrero 2015.

Popova, M., Bankova, V. & Butovska, D. (2004). Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar type propolis. *Phytochemical Analysis*, 15, 235-240.

Popova, M., Graikou, K., Chinou, L. & Bankova, V. (2010). GC-MS profiling of diterpene compounds in Mediterranean propolis from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 3167-3176.

Qian, W., Khan, Z., Watson, D. & Fearnley, J. (2008). Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 78-83

Ramírez, J. (1996). Las abejas, prodigio de la naturaleza. CONABIO. *Biodiversitas*, 6,1-8

Reyna, W. (2013). *Efecto de la zona y época de colecta sobre la producción de marcadores químicos en propóleos de la región del altiplano mexicano*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, 2013.

Rivera, J. (2002). *The sustainable potential of two contrasting agricultural systems in the terrace areas of Mexico City*. PhD Thesis. Faculty of Life Sciences in Imperial College at Wye, University of London.

Rivera, J., Losada, H., Lopez, M., Cortes, J., Vieyra, J. & Grande, D. (2007). Sistema de producción de miel en las áreas peri-urbanas de Milpa Alta, sureste de Ciudad de México. *Livestock Research for Rural Development*, 19(2).

Salatino, A., Teixeira, É., Negri, G. & Message, D. (2005). Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 33-38.

Saleem, M. (2009). Lupeol, A Novel Anti-inflammatory and Anti-cancer Dietary Triterpene. *Cancer Lett*, 285(2), 109-115.

Seifert M. & Haslinger, U. (1991). Über die Inhaltsstoffe der Propolis II. *Liebigs Ann Chem*, 93-97.

Simone-Finstrome, M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidology*, 41, 295-311

Skoog, D., Holler, J. & Nieman, T. (2001). *Principios de análisis instrumental*. Madrid, España: (5° ed.) Mc-Graw Hill.

Sforcin, J. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), 1-14.

Sforcin, J. y Bankova, V. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, 133, 253-260.

Solórzano, E., Vera, N., Cuello, S., Ordoñez, R., Zampini, C., Maldonado, L., Bedascarrasbure, E. & Isla, M. (2012). Chalcones in bioactive Argentine propolis collected in arid environments. *Natural Product Communications*, 7(7), 879-882.

Torres, A. (2011). *Determinación de los compuestos volátiles de los frutos y las semillas de Prunus serotina (capulín) mediante la técnica de HS-SPME-GC-MSTOF*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química.

Vandevoorde, S., Tsuboi, K., Ueda, N., Jonsson, K., Fowler, C. & Lambert, D. (2003). Esters, Retroesters, and a Retroamide of Palmitic Acid: Pool for the First Selective Inhibitors of N-Palmitoylethanolamine- Selective Acid Amidase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(21), 4373-4376.

Walgrave, S., Warshaw, E. & Glesne, L. (2005). Allergic contact dermatitis from propolis. *Dermatitis*, 16(4), 209-215.

Yamashita H, Kurihara H, Fukushi E, Kawabata J, Kamei Y. (2002). Antitumor activity of palmitic acid found as a selective cytotoxic substance in a marine red alga. *Anticancer Research*, 22(5), 2587-2590.

Yoon, S. (2006). Cap 22 Potential market for functional lipids. En *Handbook of Functional Lipids. Functional Foods and Nutraceutical Series* (pp.485-486). USA: Taylor and Francis Group.

Zamarreño, R., Fernández, I., Mejías, J. & Díaz, C. (2003). Análisis del material particulado 2,5 y sus componentes orgánicos presentes en la ciudad de la Serena-Chile. *Información Tecnológica*, 14(5), 21-24.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Zhou, J.; Li, Y.; Zhao, J. & Fue, X. (2008). Geographical traceability of propolis by high-performance liquid-chromatography fingerprints. *Analytical Methods. Food Chemistry*, 108, 749-759.

## 9. ANEXOS

Se muestran los cromatogramas obtenidos en las cinco muestras analizadas.

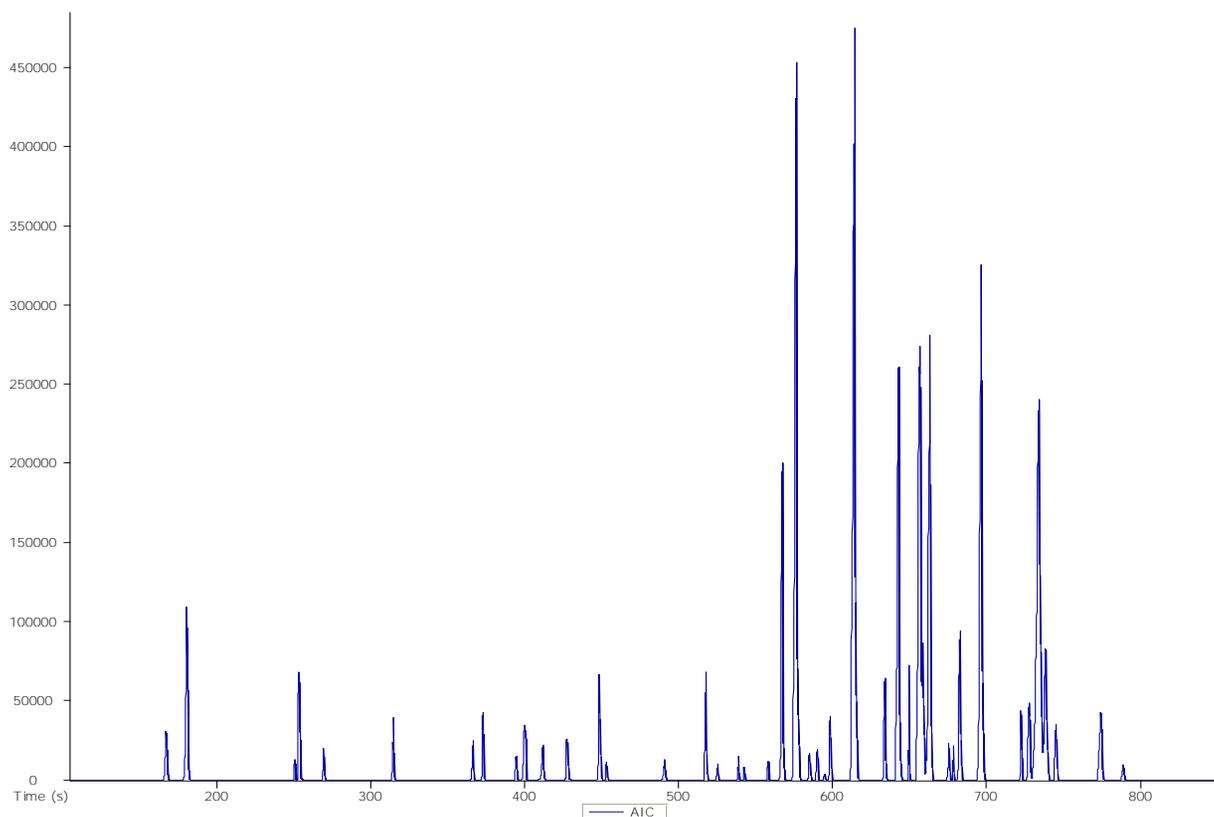


Figura 11. Cromatograma obtenido para BÚHO 1.

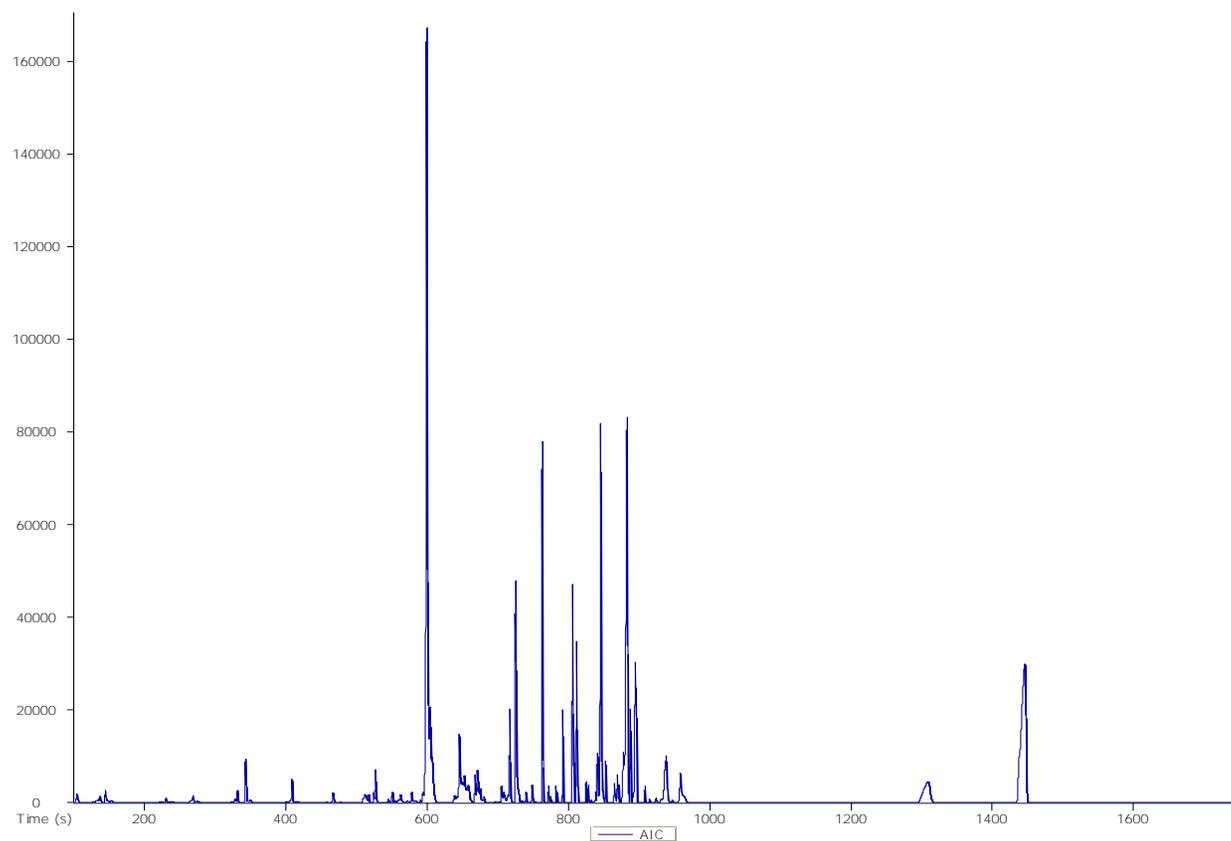


Figura 12. Cromatograma obtenido para BÚHO 2.

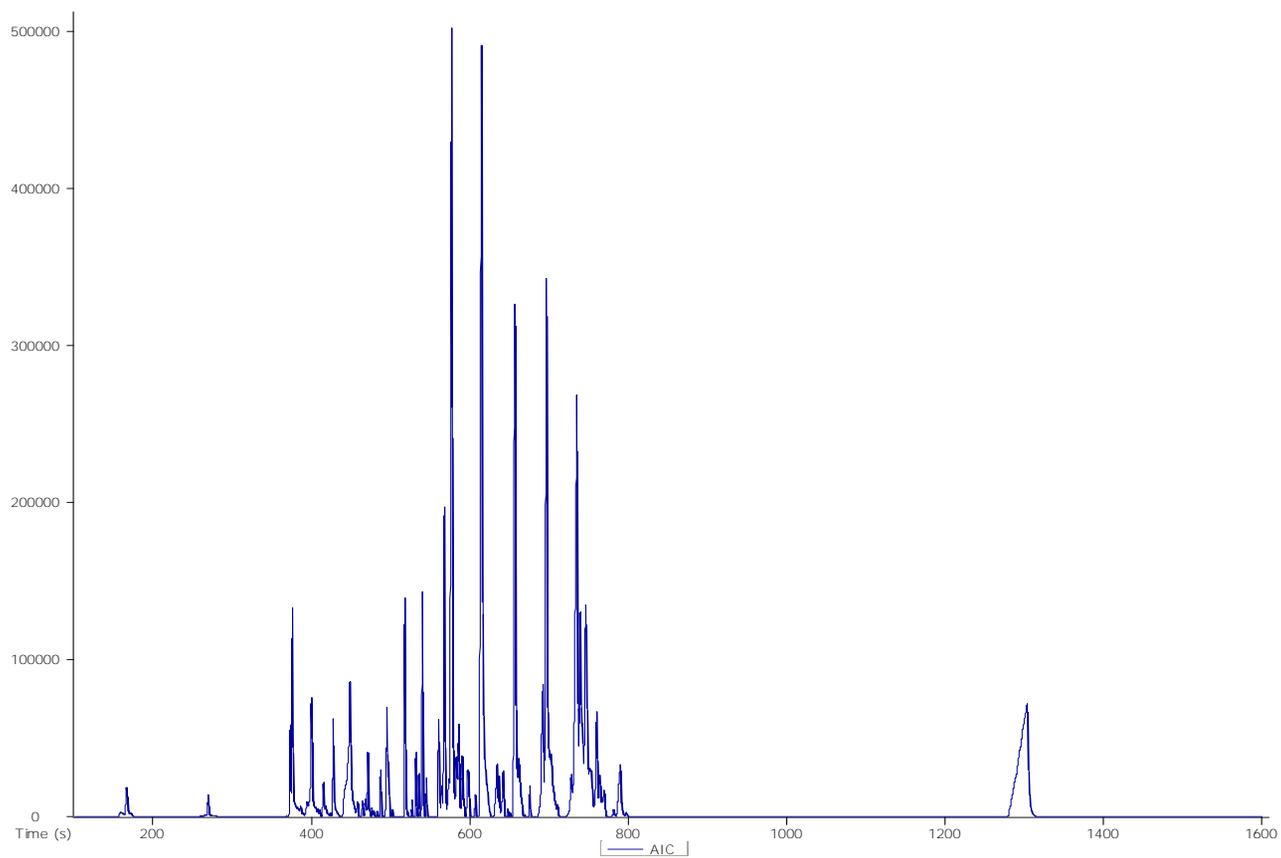


Figura 13. Cromatograma obtenido para NICO.

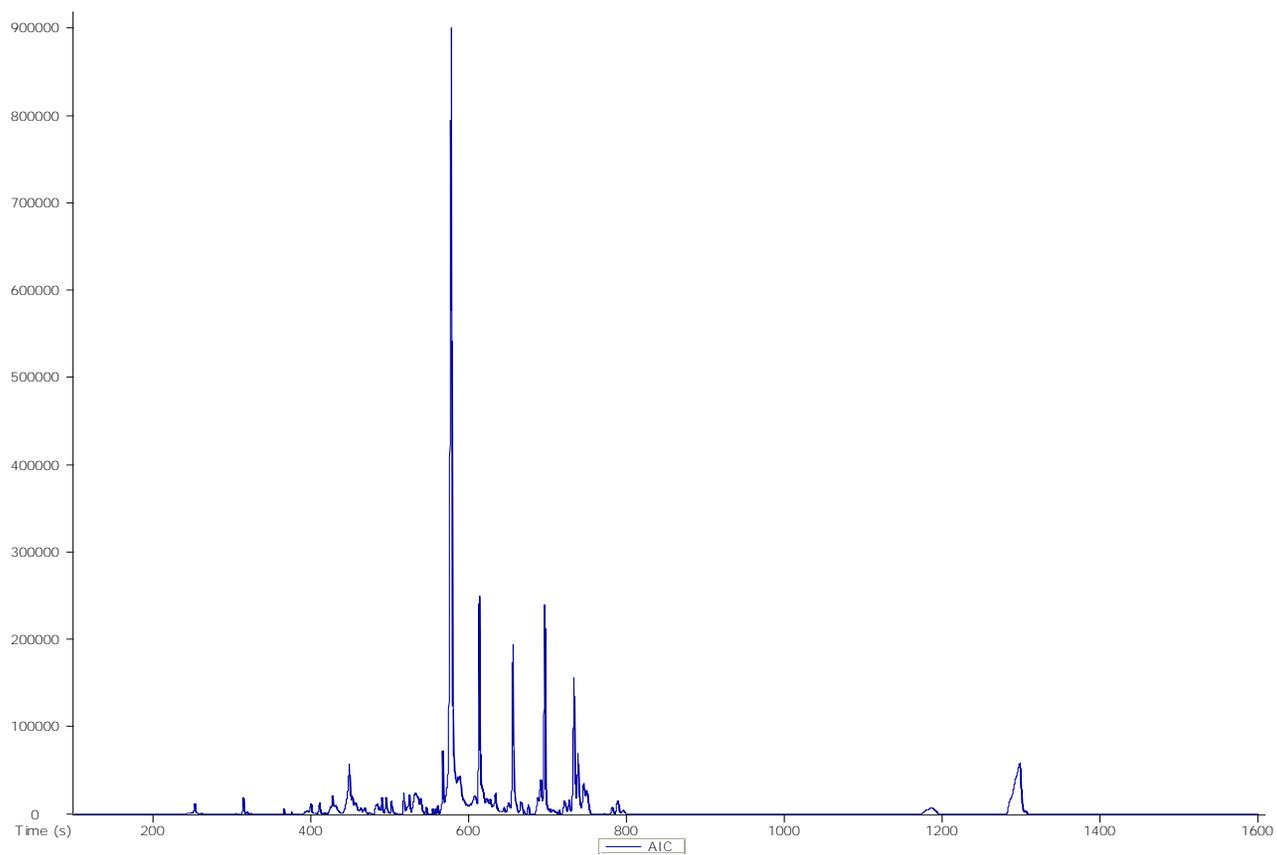


Figura 14. Cromatograma obtenido para VALENTÍN.

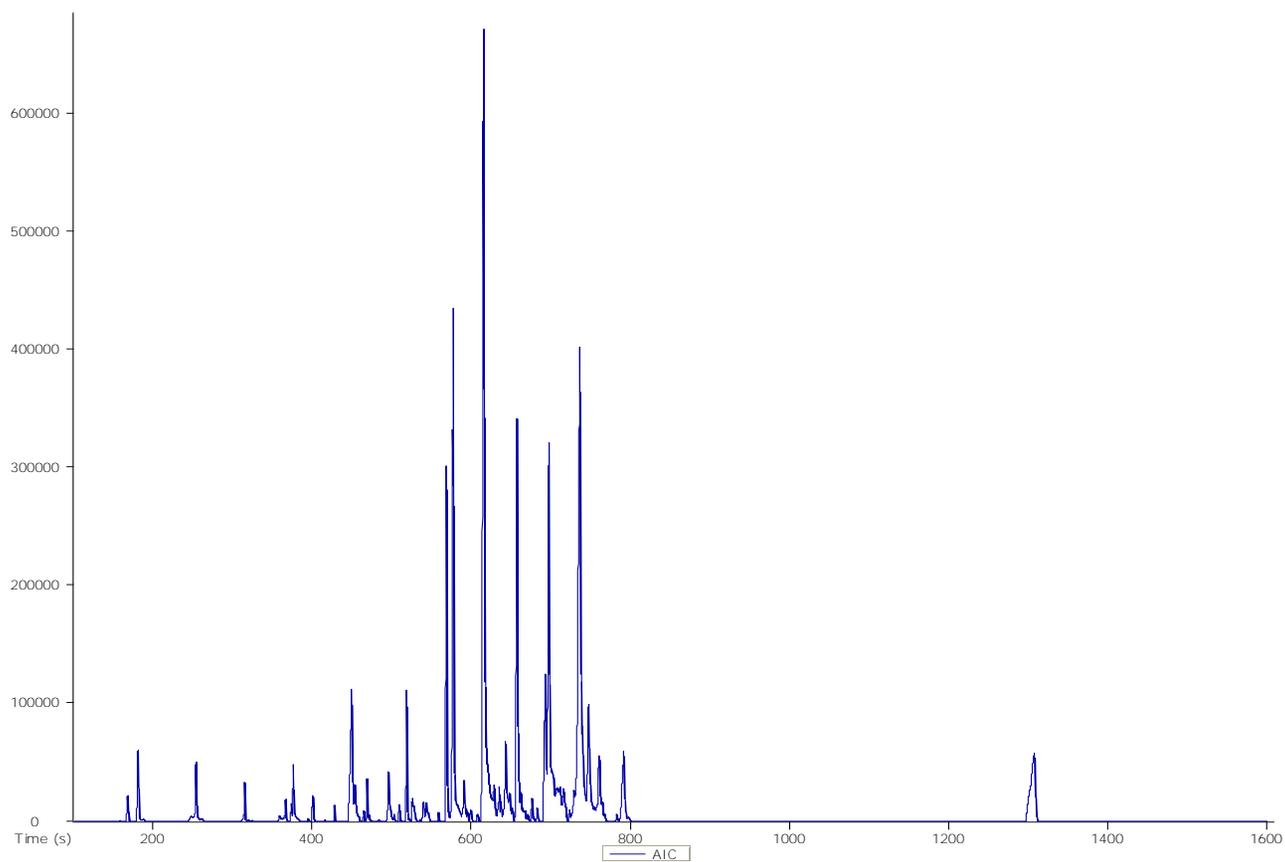


Figura 15. Cromatograma obtenido para TROJES.

En las siguientes Figuras se muestran los espectros de masas de algunos compuestos obtenidos en las muestras analizadas.

En el apiario BUHO1 se encontraron varios ácidos grasos como el Ácido Lignocérico, su espectro de masa se muestra en la Figura 16. La primera fragmentación que presenta es en  $m/z$  425 por la pérdida del  $\text{CH}_3$  terminal,  $m/z$  117 por la pérdida de la cadena hidrocarbonada alifática, y en  $m/z$  73 la pérdida del  $\text{COO}^-$ , siendo esta señal el pico base del espectro y el pico característico del TMS.

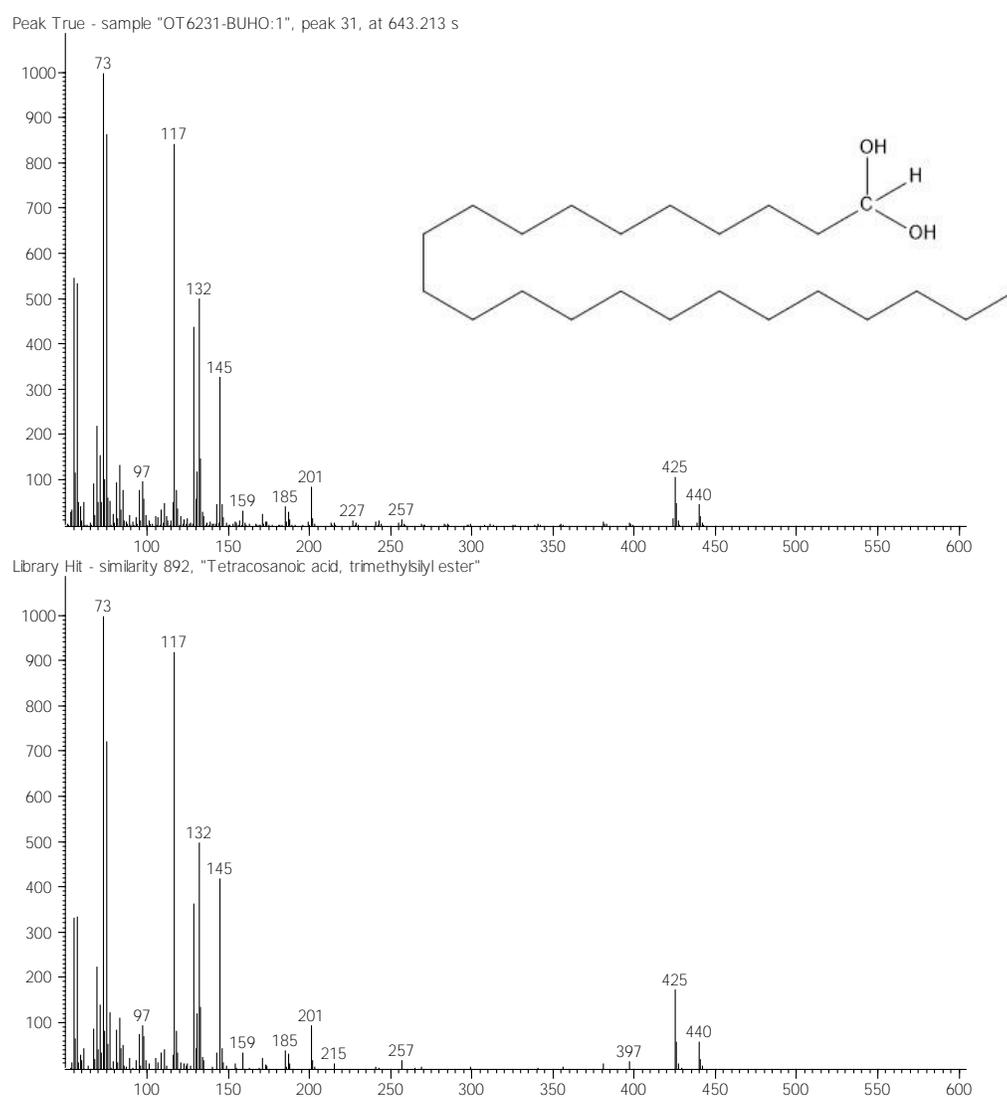


Figura 16. Espectro de masas del Ácido Lignocérico.

Otro ácido graso encontrado en BÚHO 2 es el Ácido Palmitoléico, su espectro de masas se muestra en la Figura 18. Se observa la primera fragmentación en  $m/z$  311 con la pérdida del  $\text{CH}_3$  terminal, la siguiente fragmentación importante en  $m/z$  117 con la pérdida del hidrocarburo lineal, y la última fragmentación en  $m/z$  73 con la pérdida del acetato, siendo el pico base y el pico característico del TMS.

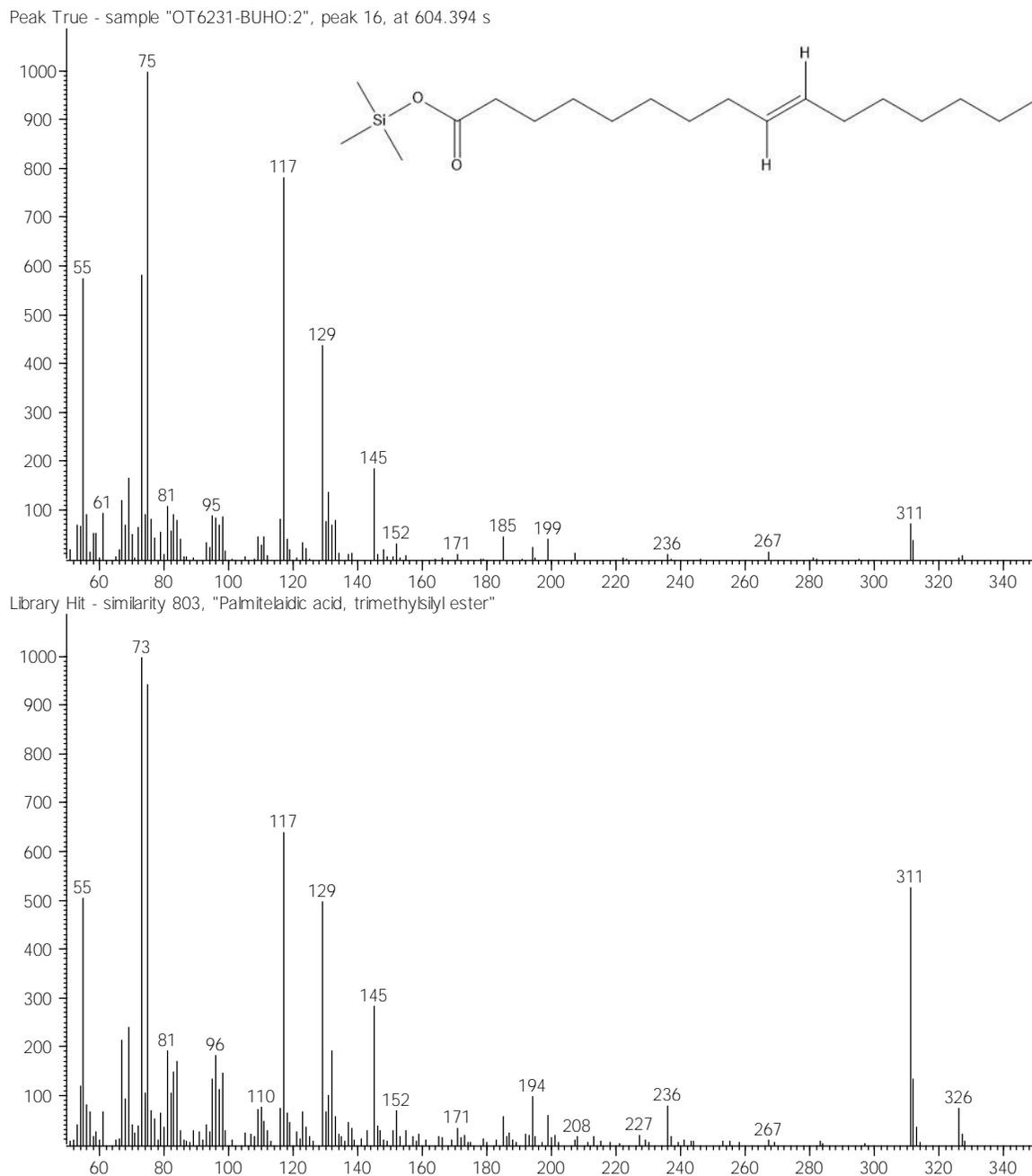


Figura 18. Espectro de masas del Ácido Palmitoléico.

En el caso del apiario BUHO 2 se encontraron en mayor cantidad hidrocarburos y ácidos grasos. En la Figura 17 se muestra el espectro de masas del Ácido Palmítico, presentando la primera fragmentación en  $m/z$  313 correspondiente al metil terminal de la cadena alifática, siguiendo con las fragmentaciones en  $m/z$  117 correspondiente a la pérdida de la cadena hidrocarbonada alifática, y en  $m/z$  73 mostrando la pérdida del ión  $\text{COO}^-$ , y siendo el pico base y el pico característico de los silanos.

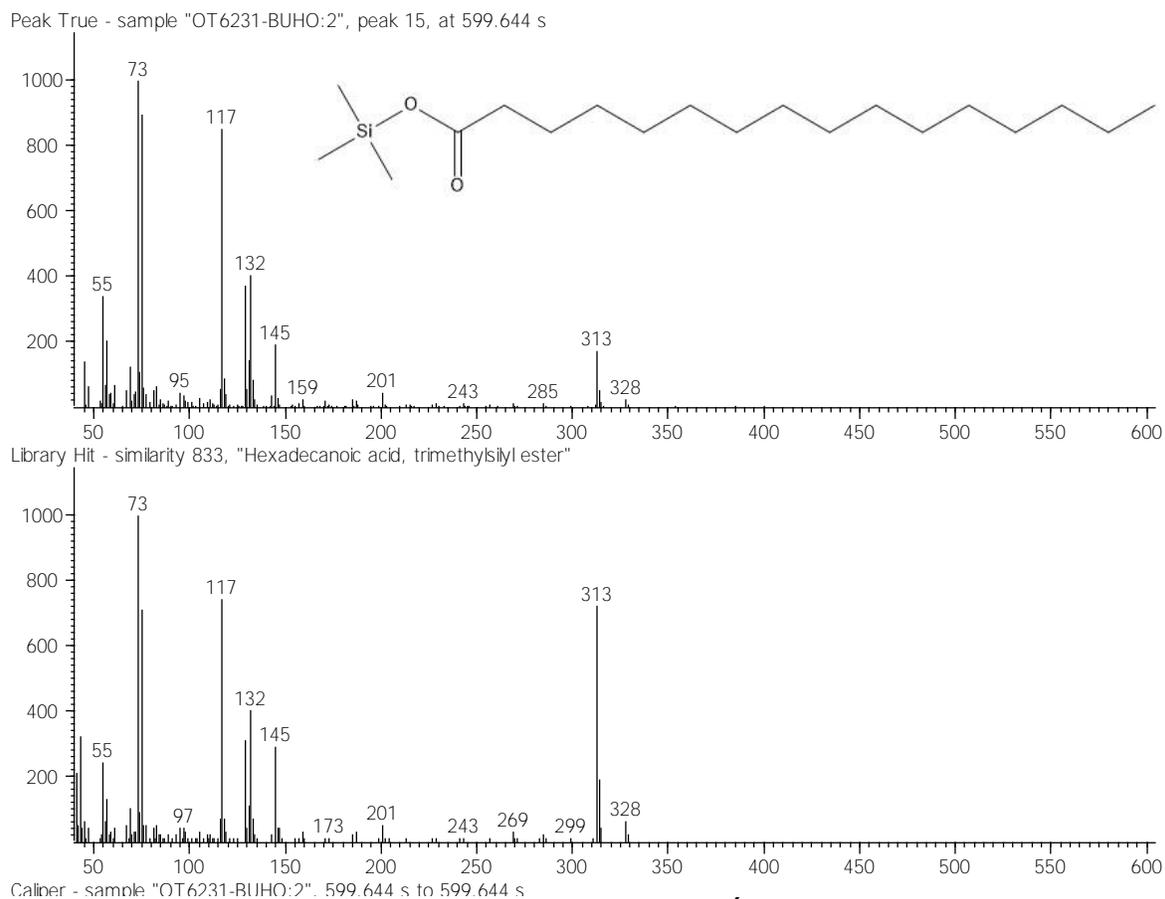


Figura 17. Espectro de masas del Ácido Palmítico.

Un ácido graso encontrado en este mismo apiario es el Ácido esteárico, ocupado en la elaboración de jabones, velas y cosméticos. Su espectro de masas se muestra en la Figura 19. Su primera fragmentación la presenta en  $m/z$  341 con la pérdida del  $\text{CH}_3$  terminal, la segunda fragmentación importante se da en  $m/z$  117 con la pérdida del hidrocarburo alifático, y la última fragmentación se da en  $m/z$  73 con la pérdida del acetato, siendo esta señal el pico base y la característica a la pérdida del TMS.

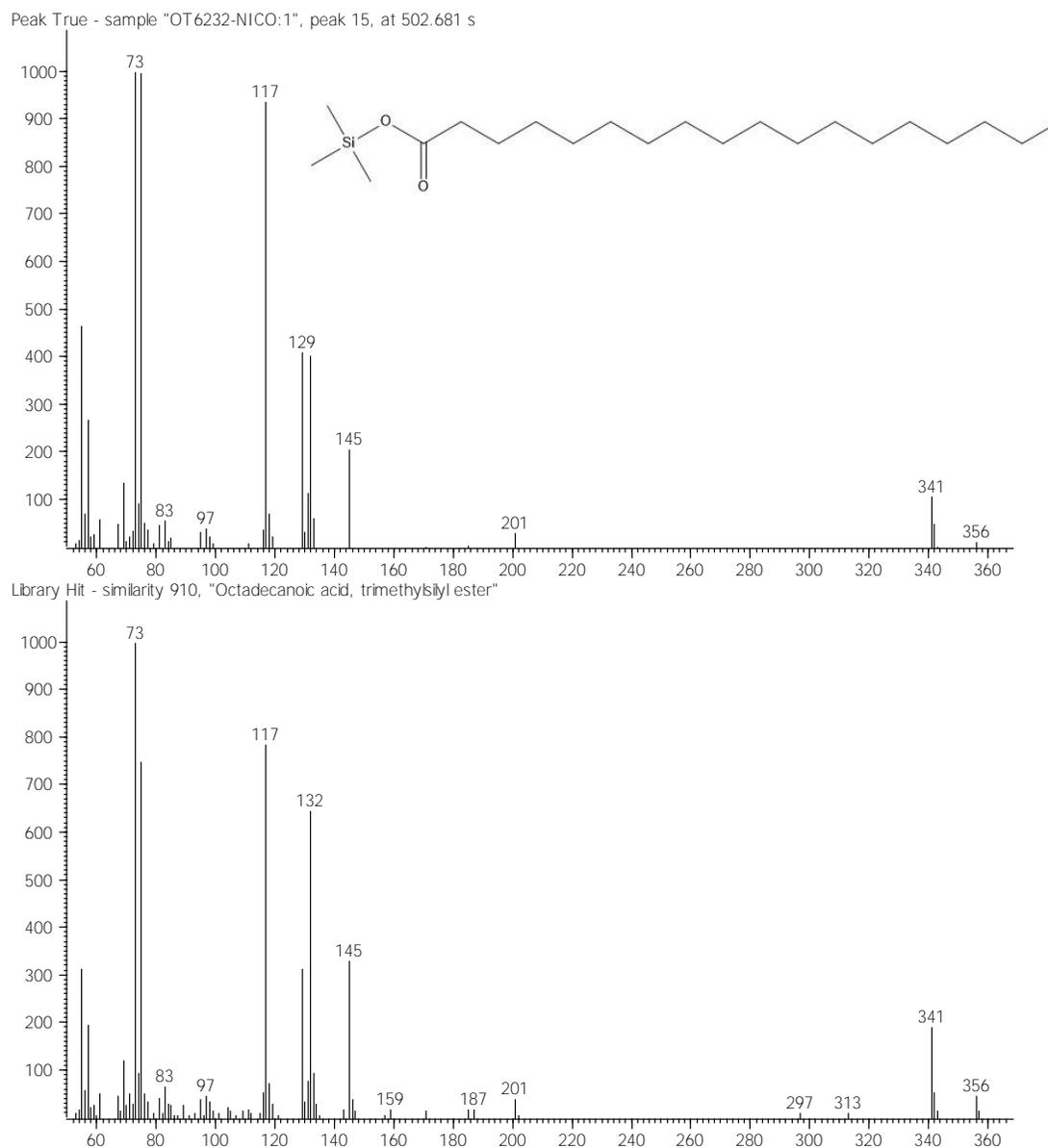


Figura 19. Espectro de masas del Ácido esteárico.

En el apiario VALENTÍN se obtuvo al Ácido-9-*trans*-oleico como uno de los compuestos mayoritarios. Su espectro de masas se muestra en la Figura 20. La primer fragmentación se da en  $m/z$  339 con la pérdida del  $\text{CH}_3$  terminal, la segunda fragmentación característica es en  $m/z$  117 con la pérdida del hidrocarburo monoinsaturado, y la última fragmentación en  $m/z$  73 con la pérdida del ión acetato, siendo esta señal la del pico base y característica del TMS.

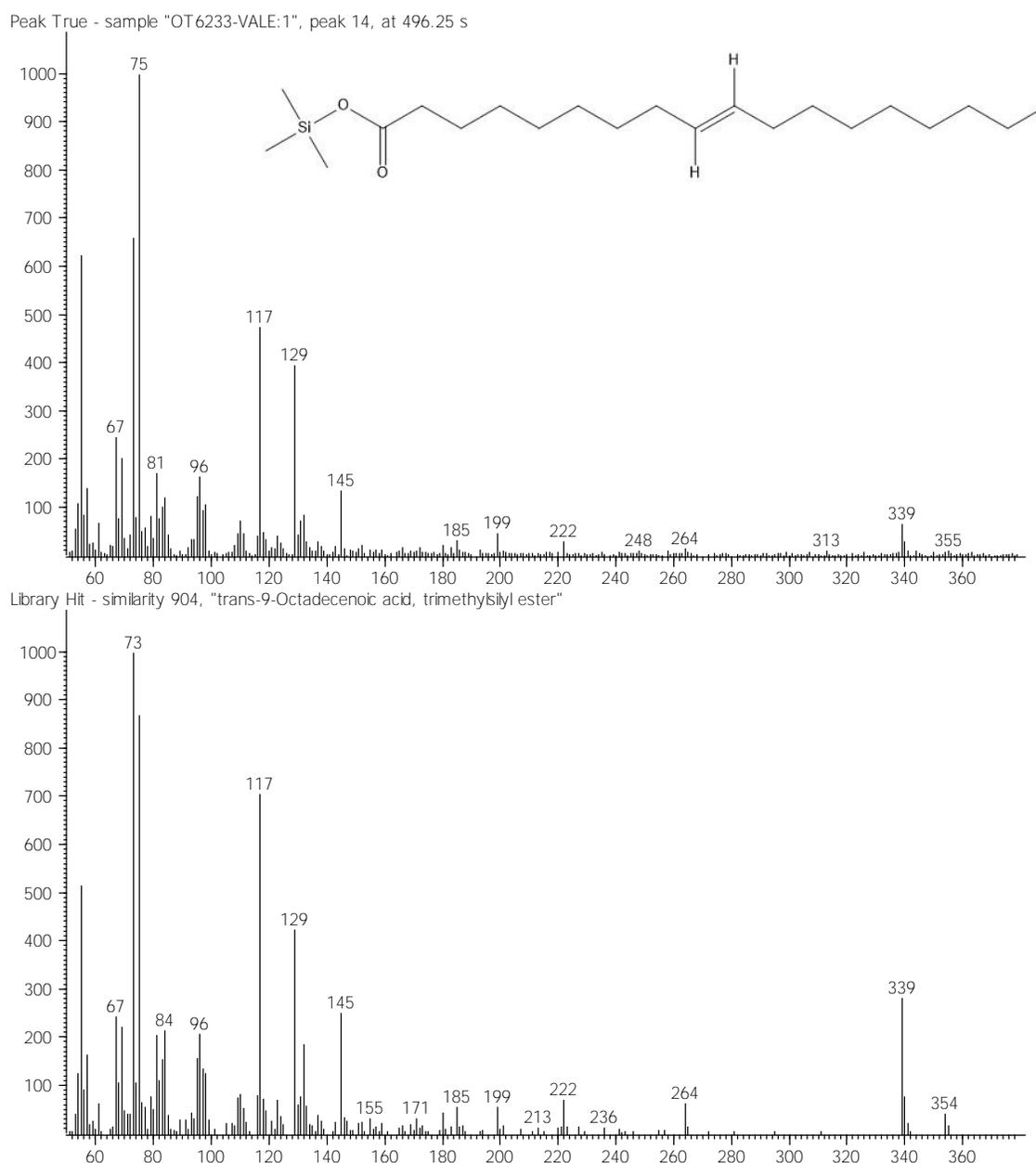


Figura 20. Espectro de masas del Ácido 9-*trans*-oleico.

Por último, en el apiario Trojes se tiene al triterpeno pentacíclico derivado de la  $\beta$ -amirina, su espectro de masas se muestra en la Figura 21. Se observan los 3 picos característicos de los esqueletos de tipo amirina con insaturación en el C-12. El primero se encuentra en  $m/z$  218 con la fragmentación de los anillos C, D y E; el segundo en  $m/z$  203 y, por último, en  $m/z$  189, siendo éste el reordenamiento Retro-Diels-Alder en el anillo que posee el doble enlace.

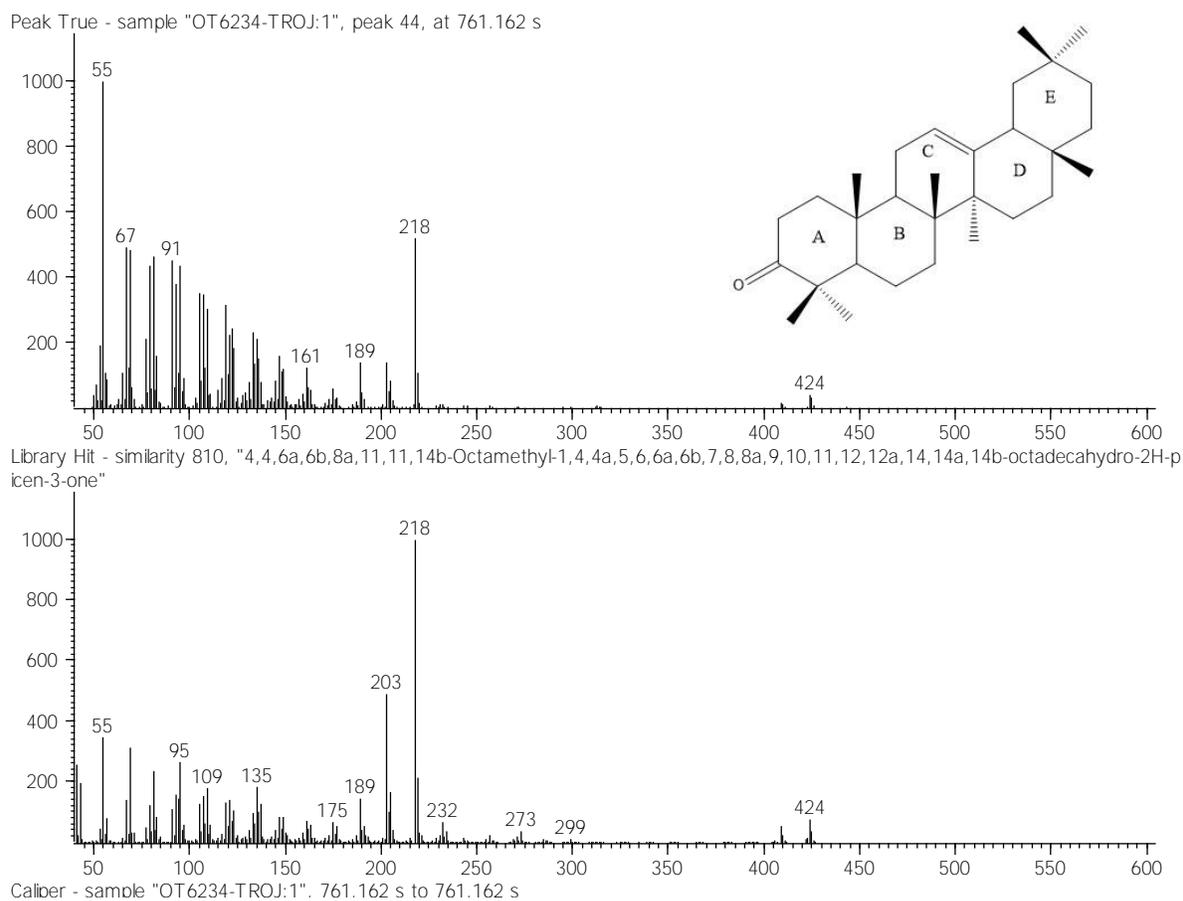


Figura 21. Espectro de masas del triterpeno pentacíclico derivado de la  $\beta$ -amirina.