

## Investigación básica experimental para la definición de los parámetros críticos en el proceso de obtención de soluciones concentradas de propóleos (SCP)

Luis E. Rodríguez Rodríguez<sup>1</sup>, Antonio R. Miranda Cruz<sup>2</sup>, Ariel Escalona Arias<sup>3</sup>, Walter Góngora Amores<sup>4</sup>, Saide Batista Suárez<sup>5</sup>, Dailín Cobos Valdés<sup>6</sup>

Centro de Inmunología y Biopreparados (CIBHO), Grupo Empresarial, LABIOFAM, Avenida de Los Álamos e/Av. Lenin y Calle Mariana de la Torre, Holguín, Cuba.

<sup>1</sup> Correo electrónico: [luis@cibho.blg.sld.cu](mailto:luis@cibho.blg.sld.cu)

<sup>2</sup> Correo electrónico: [antonio@cibho.blg.sld.cu](mailto:antonio@cibho.blg.sld.cu)

<sup>3</sup> Correo electrónico: [ariel@cibho.blg.sld.cu](mailto:ariel@cibho.blg.sld.cu)

<sup>4</sup> Correo electrónico: [wga@cibho.blg.sld.cu](mailto:wga@cibho.blg.sld.cu)

<sup>5</sup> Correo electrónico: [saide@cibho.blg.sld.cu](mailto:saide@cibho.blg.sld.cu)

<sup>6</sup> Correo electrónico: [dailin@cibho.blg.sld.cu](mailto:dailin@cibho.blg.sld.cu)

Recibido para evaluación: 25 de octubre de 2015

Aceptado para publicación: 7 de abril de 2016

### RESUMEN

*Introducción:* los procesos de obtención de SCP han sido desarrollados por diferentes investigadores tanto a nivel nacional como internacional. *Objetivo:* definir los parámetros críticos del proceso de obtención de SCP, para incrementar el rendimiento y la calidad de este producto y sus derivados. *Métodos:* se utilizó el método de purificación de Pichansky, con algunas modificaciones en las siguientes variables: relación masa/volumen, concentración del etanol y el tiempo de agitación. Los materiales utilizados están avalados por el Sistema de Gestión de Calidad del Centro. *Resultados:* las variantes #2 y #4 del proceso de extracción, utilizadas a escala de laboratorio, son las de mejores resultados, ya que se obtuvo un rango de porcentaje sólidos totales entre un 12,4 y 14,3 %, con un rendimiento entre un 48,5 y 83,0 %; siendo seleccionada la variante #4 para elaborar los lotes experimentales a escala de reactor. *Conclusiones:* las variables estudiadas: tiempo de agitación, concentración de etanol y relación masa/volumen, así como el porcentaje de los sólidos totales, el porcentaje

del rendimiento y las propiedades organolépticas, respondieron positivamente en las variantes #2 y #4, las cuales permitieron cumplir con los objetivos propuestos en esta investigación, y pueden emplearse en la elaboración de los lotes productivos dependiendo de la concentración de las soluciones alcohólicas de propóleos que se quieran producir.

*Palabras claves:* Soluciones concentradas de propóleos, método de obtención, investigación experimental, parámetros de calidad.

## SUMMARY

### Experimental basic research to define critical parameters in the process of obtaining concentrated solutions of propolis (CSP)

*Introduction:* SCP's processes of obtaining Propolis have been developed by different investigators so much nationally like international. *Objective:* To define SCP's critical parameters of the process of obtaining, to increment the performance and the quality of this product and his by-products. *Methods:* Pichansky's method of purification, with some modifications was utilized to the variables following: Relation mass/volume, concentration of ethanol and the time of agitation. The utilized materials are guaranteed for the Quality Management System of the Center. *Results:* The variants #2 and #4 of the process of extraction, utilized to scale of laboratory, gave better results, obtaining percentage's range solid totals between 12.4 and 14.3 %, with a performance between 48.5 and 83.0 %. Variant #4 was selected in order to make the experimental lots at reactor scale. *Conclusions:* the studied variables: Time agitation, concentration of ethanol and the relation mass/volume, as well as the percentage of the solid totals, the percentage of the performance and organoleptic properties, of variants #2 and #4, allowed carrying out the objectives proposed in this investigation. These variables responded positively in the variants and can be used in the elaboration of the productive lots considering the concentration of alcoholic propolis' solutions required.

*Key words:* Solutions concentrated of propolis, method of obtaining, experimental investigation, parameters of quality.

## INTRODUCCIÓN

Los productos de las abejas (*Apis mellifera*) han sido utilizados por el hombre desde la antigüedad hasta nuestros días con fines medicinales y nutritivos. Uno de estos productos es el propóleos cuyo nombre proviene de los griegos (*pro*: delante de, y *polis*: ciudad). Aristóteles lo considera como “remedio para las infecciones de la piel, llagas y supuraciones”. Galeno, en el siglo II, menciona el *propolis* en sus trabajos, y el famoso médico y filósofo persa del siglo XI, Avicena, dice del mismo: “Tiene la cualidad de eliminar las puntas de flechas y las espinas, vivifica, limpia fácilmente y ablanda fuertemente”. Además se utilizó por los sacerdotes egipcios como sustancias medicinales.

Entre los años 1899 y 1902, en la guerra Anglo-Boer en el cono sur africano, esta sustancia se empleó en la cura eficaz de heridas infectadas y como sustancia cicatrizante (en aquel entonces se desconocían los antibióticos). Las abejas lo utilizan como cemento para la colmena existiendo evidencias de que la protegen de hongos, bacterias y otros invasores [1].

El propóleos es una matriz compleja, constituida por una gran variedad de compuestos químicos, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia, se caracteriza por tener un 55% de resinas y bálsamos aromáticos, 30% de ceras, 10% de aceites esenciales y 5% de granos de polen [2-3].

Algunos autores plantean la existencia de alrededor de 18 componentes [3] y se señala que entre estos, los principales son flavonoides de los tipos: las flavonas, flavones y las flavononas. Se han reportado distintos compuestos: flavonas (38) entre las que se encuentran: ramnocitrina, kaempferol, crisina, galangina (3, 5, 7-trihidroxiflavona), isalpinina, tectocrisina, acacetina, apigenina, pectolarigenina; 5, 7-dioxi-3, 4-dimetoxiflavona; 3, 5-dioxi-7, 4-dimetoxiflavona y 5-oxi-7, 4-dimetoxiflavona, derivados del ácido benzoico (12), por ejemplo: ác. hydroxi-4 benzoico, ác. metoxi-4 benzoico, ác. protocatéquico y ác. gálico, derivados del alcohol cinámico (14) y el ác. cinámico, 12 componentes entre alcoholes, cetonas y fenoles, terpenos (7), como el beta-bisabolol y alfa acetoxibetulenól, y sesquiterpeno-farnesol, esteroides (11), azúcares (7) y aminoácidos (2). Empleando métodos cromatográficos y espectroscópicos se han podido aislar y caracterizar de forma inequívoca benzofenonas preniladas, flavonoides, isoflavonoides, polifenoles, ácidos fenólicos y triterpenos [4-13].

El propóleos es ampliamente utilizado en alimentos y bebidas, ya que mejora la salud humana. Este contiene más de 300 compuestos, tales como los polifenoles, aldehídos fenólicos, sesquiterpenos, quinonas, coumarinas, aminoácidos, esteroides y compuestos inorgánicos [14].

En un estudio realizado por nuestro equipo de trabajo para lograr la optimización de las etapas del proceso de extracción de las soluciones concentradas de propóleos (SCP), se demostró la factibilidad del mismo, utilizando una tercera extracción y un nuevo sistema de filtrado a temperatura refrigerada, lográndose valores de los sólidos totales superiores al 16 %, con una pureza y una mejor recuperación de los principios activos teniendo en cuenta los volúmenes y rendimientos obtenidos [15].

El mismo equipo de trabajo realizó un estudio comparativo de lotes de soluciones concentradas de propóleos (SCP) desde el año 2010 hasta el año 2013, obtenidos con diferentes procesos de extracción, comprobándose que el proceso de extracción utilizado en los años el 2012 y el 2013 fue el más efectivo, lográndose SCP con un porcentaje de sólidos totales superior a las especificaciones del Sistema de Gestión de Calidad del Centro de Inmunología y Biopreparados, con un buen rendimiento de principios activos y un volumen total superior, influyendo positivamente el proceso de innovación tecnológica utilizado en los lotes elaborados en los años antes mencionados, aunque no se descarta la posibilidad de seguir mejorando el proceso de extracción, que permita una mayor recuperación de principios activos teniendo en cuenta las normativas nacionales e internacionales [16].

En el mundo existen diferentes procesos de purificación de propóleos entre los que se encuentran los métodos soviético, inglés, y rumano, entre otros. Adanero [17] y Fabricio Ordoñez [18], en sus trabajos describen métodos muy similares al utilizado en el Centro de Inmunología y Biopreparados de Holguín (CIBHO), para la obtención de tinturas madres o soluciones concentradas de propóleos.

También existen otros métodos empleados para la purificación de propóleos establecidos nacional e internacionalmente como son:

*Método #1.* (Pichansky). Maceración del propóleos en alcohol al 70 % [19].

*Método #2.* (Patente Cubana). Obtención de fases acuosas, alcohólicas y combinación de ambas [20, 21].

En el Centro de Inmunología y Biopreparados de Holguín, la obtención de la SCP se realiza según lo establecido en el PNO 2.049 “Preparación de la solución concentrada de propóleos” [22], donde se establecen las pautas a seguir en la obtención de dicha solución. Hasta el momento se han obtenido soluciones concentrada de propóleos, con muy buena calidad y que responden con los parámetros de calidad establecidos en el PNO 1017 “Análisis físicoquímicos de propóleos” [23] y la ESP 2503 “Solución alcohólica de propóleos” [24], pero este tiene el inconveniente que al ser un proceso de maceración, el tiempo de extracción es muy prolongado, afectándose la producción

del Centro, ya que el extracto es utilizado como materia prima en la producción de derivados, y esto puede implicar atrasos o incumplimientos en el plan de producción.

Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado perseguimos como objetivo general: estipular los parámetros críticos del proceso de obtención de SCP a escala de laboratorio y mini-industria, para incrementar su rendimiento y la calidad de este producto. Y como objetivos específicos los siguientes: 1) Determinar que concentración de etanol más factible para la obtención de la solución concentrada de propóleos, 2) Decretar el tiempo exacto de agitación necesario para la obtención de la Solución concentrada de propóleos a diferentes concentraciones de etanol, 3) Fijar la relación masa/volumen idónea para el proceso de extracción, y 4) Determinar los parámetros de sólidos totales, las propiedades organolépticas, y el rendimiento de las solución concentradas de propóleos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Suministro de la materia prima

La masa de propóleos en bruto utilizada es procedente de la provincia de Holguín, conforme según requisitos establecidos en la especificación ESP0005 [25] del Sistema de Gestión de Calidad implantado, y que fueron recolectados a finales del 2013 y principios del 2014.

El etanol utilizado como vehículo fue suministrado por la Empresa Comercializadora y Distribuidora de Medicamentos (ENCOMED), conforme a los requisitos establecidos en la especificación ESP0010 del Sistema de Gestión de Calidad implantado [26].

### Metodología empleada

En el proceso de extracción se utilizaron variantes de la metodología de purificación de propóleos por el Método Pichansky, aplicada internacionalmente y descrita en el PNO 2049 [22] del SGC del CIBHO, para la obtención de las SCP, teniendo en cuenta también el RC 2014 [27], que no es más que el Registro maestro de preparación de las soluciones alcohólicas concentradas de propóleos. Las variantes a utilizar para las extracciones se pueden apreciar en el anexo 1.

El proceso de obtención utilizado en todas las variantes a escala de laboratorio consistió en verter el propóleos en el vaso de precipitados, donde se realizó la extracción que permitió la agitación del producto con el disolvente, a través de un agitador mecánico, variando el tiempo de agitación en las variantes utilizadas. Posteriormente se añadió el mensturo hidroalcohólico con agitación continua hasta que se desintegró, aplicándose calor a una temperatura a 55 °C, según la variante aplicada. Luego enfriar entre 3 a 5 °C

para eliminar material contaminante y extraer el producto terminado, filtrado con gasa o papel de filtro y determinar el volumen final obtenido.

Una vez culminado este proceso, repetir dos veces más el proceso de extracción, y continuar con la filtración de la masa residual.

Al concluir el proceso de filtración se lleva la muestra al laboratorio de calidad para verificar mediante la determinación del porcentaje de sólidos totales y los aspectos de calidad del extracto concentrado obtenido según la ESP 2503 [24] para la SCP.

En cada proceso de extracción se realizaron tres réplicas para estar seguros de los resultados obtenidos.

Para llevar a cabo el último de los objetivos propuesto en nuestro trabajo se extrapoló la obtención de la SCP a escala piloto teniendo en cuenta la variante de mejor resultado en los lotes experimentales a nivel de laboratorio. Se evaluaron nuevamente los parámetros de calidad bajo las mismas condiciones de extracción para las SCP.

Para cumplir con los objetivos propuestos se tuvieron en cuenta varias variables dentro del proceso de extracción como la relación masa/volumen, la concentración de etanol utilizada, el tiempo de agitación, después del proceso de extracción/filtración a temperatura constante, en el caso de la temperatura se mantuvo a 55 °C para todos los lotes experimentales, así como también se tiene en cuenta los parámetros porcentaje del rendimiento obtenido.

Para determinar los parámetros de calidad se consideró la Especificación 2503 [24] del Sistema de Gestión de Calidad de nuestro centro, entre estos se encuentran el porcentaje de sólidos totales y las propiedades organolépticas que se describen a continuación:

#### **Propiedades organolépticas determinadas**

- *Aspecto*: líquido sin sedimentos, translúcido.
- *Color*: pardo rojizo oscuro, puede presentar tonalidades verde amarillentas.
- *Olor*: resinoso alcohólico, característicos del propóleos.
- *Sabor*: resinoso, amargo, alcohólico.

La determinación del porcentaje de sólidos totales de la SCP obtenida en cada lote fue determinada cumpliéndose con lo establecido en el PNO1.017 “Análisis físicoquímico de propóleos” [23].

Los resultados estadísticos se procesaron a través del software Medcacl versión 4.16, para Windows 95 (Copyright© 1993-1997, Franck Shoonjans).

## RESULTADOS

En la tablas 1 y 2 se pueden apreciar los diferentes lotes experimentales elaborados, utilizando diferentes variantes del proceso de extracción, así como se exponen los resultados obtenidos al aplicar las variables expuestas y determinar los parámetros establecidos para el control de calidad de las SCP obtenidas. Debemos señalar que en el caso de los lotes F 130001 y F 130003 se decidió no realizar más lotes, debido a los resultados obtenidos, en el porcentaje de sólidos totales que resultaron muy por debajo de las especificaciones establecidas y de acuerdo a los intereses técnico-productivos, que se perseguían para la solución final de SCP.

Tabla 1. Resumen de los resultados de la evaluación de las variables determinadas a los lotes experimentales de SCP a nivel de laboratorio.

| Lotes experimentales y sus réplicas | # Variante | Relación masa/volumen | Concentración etanol |      | Tiempo de agitación |
|-------------------------------------|------------|-----------------------|----------------------|------|---------------------|
|                                     |            |                       | 70 %                 | 96 % |                     |
| FI 130001                           | 1          | 250 g/1000 mL (1/4)   | X                    | -    | 4 horas             |
| FI 130002                           | 2          | 250 g/1000 mL (1/4)   | -                    | X    | 4 horas             |
| FI 130003                           | 3          | 250 g/1000 mL (1/4)   | -                    | X    | 2 horas             |
| FI 130004                           | 4          | 250 g/1500 mL (1/6)   | -                    | X    | 4 horas             |
| FI 130005*                          | 2          | 250 g/1000 mL (1/4)   | -                    | X    | 4 horas             |
| FI 130006**                         | 4          | 250 g/1500 mL (1/6)   | -                    | X    | 4 horas             |

\*El lote F 130005 es una réplica de la variante #2.

\*\*El lote F 130006 es una réplica de la variante #4.

Tabla 2. Resumen de los resultados de la evaluación de los parámetros determinados a los lotes experimentales de SCP a nivel de laboratorio.

| Lotes experimentales y sus réplicas | # Variante | Valor medio porcentaje sólidos totales | Volumen |        | Porcentaje rendimiento |
|-------------------------------------|------------|--|---------|--------|------------------------|
|                                     |            |  | Inicial | Final  |                        |
| FI 130001                           | 1          | 5,40                                   | 1000 mL | 390 mL | 39                     |
| FI 130002                           | 2          | 14,10                                  | 1000 mL | 530 mL | 53                     |
| FI 130003                           | 3          | 8,40                                   | 1000 mL | 432 mL | 43,2                   |
| FI 130004                           | 4          | 12,40                                  | 1500 mL | 780 mL | 78,0                   |
| FI 130005*                          | 2          | 14,20                                  | 1000 mL | 485 mL | 48,5                   |
| FI 130006**                         | 4          | 14,30                                  | 1500 mL | 830 mL | 83,0                   |

\*El lote F 130005 es una réplica de la variante #2.

\*\*El lote F 130006 es una réplica de la variante #4.

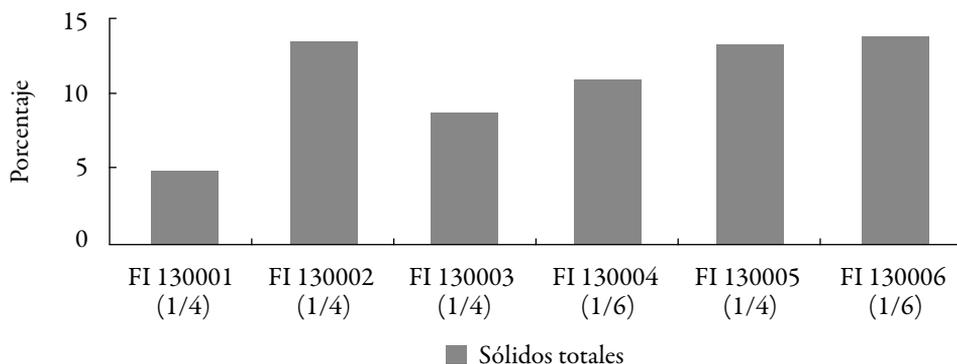
En la tabla 3 se presentan los resultados de las variables estudiadas y los parámetros determinados a los lotes experimentales obtenidos a escala piloto (reactor), después de analizar los resultados obtenidos en los lotes experimentales a escala de laboratorio.

Tabla 3. Resumen con los resultados de la evaluación de los lotes experimentales a nivel de reactor de la SCP. Etanol a 96° en proporción (1/6).

| Lotes     | Propiedades organolépticas | Porcentaje de S. totales | Masa inicial | Tiempo agitación (h) | Volumen inicial (L) | Volumen final (mL) | Rendimiento (%) |
|-----------|----------------------------|--------------------------|--------------|----------------------|---------------------|--------------------|-----------------|
| FI 140001 | Responde                   | 10,70                    | 30 kg        | 4                    | 180 (1/6)           | 119                | 66,11           |
| FI 140002 | Responde                   | 9,6                      | 30 kg        | 4                    | 180 (1/6)           | 110                | 61,11           |
| FI 140003 | Responde                   | 8,3                      | 30 kg        | 4                    | 180 (1/6)           | 115                | 63,80           |

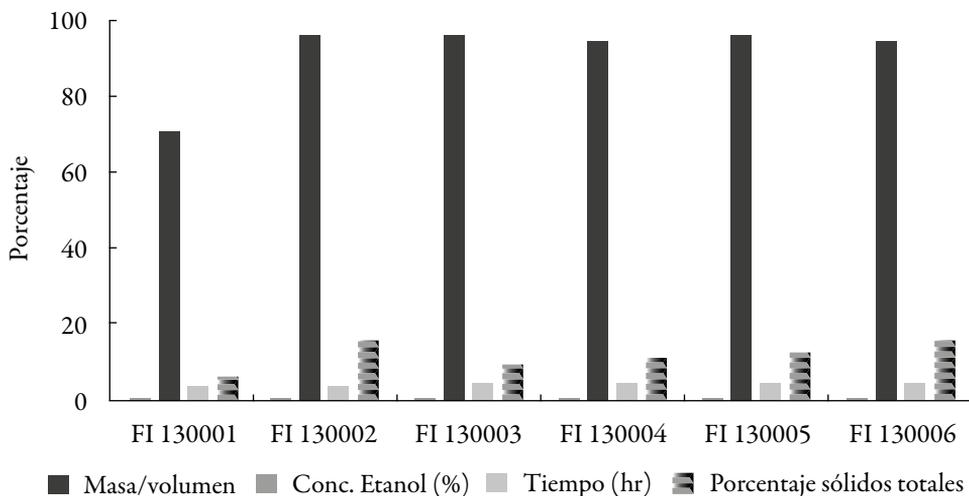
En la figura 1 se muestra la comparación del porcentaje de los sólidos totales, obtenidos en los lotes experimentales de SCP a escala de laboratorio.

Figura 1. Comparación del porcentaje de sólidos totales, como parámetro fundamental en el proceso de obtención de los lotes experimentales de SCP a escala de laboratorio.



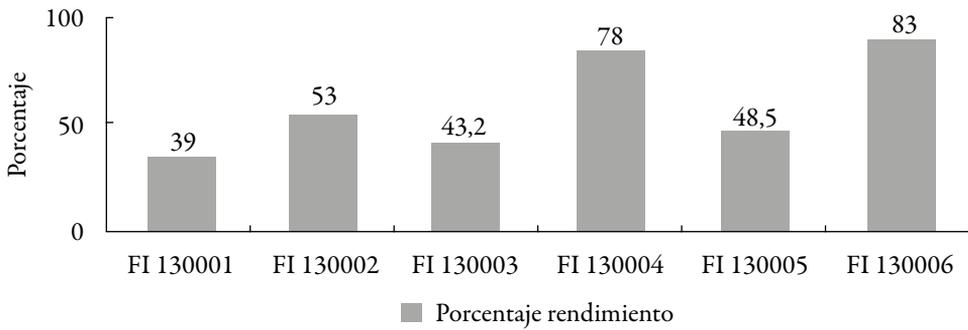
En la figura 2 se refleja la relación que existe entre masa/volumen, concentración de etanol, el tiempo con el porcentaje de sólidos totales.

Figura 2. Relación existente entre masa/volumen, concentración de etanol, el tiempo y el porcentaje de sólidos totales obtenidos en los lotes experimentales de SCP a escala de laboratorio



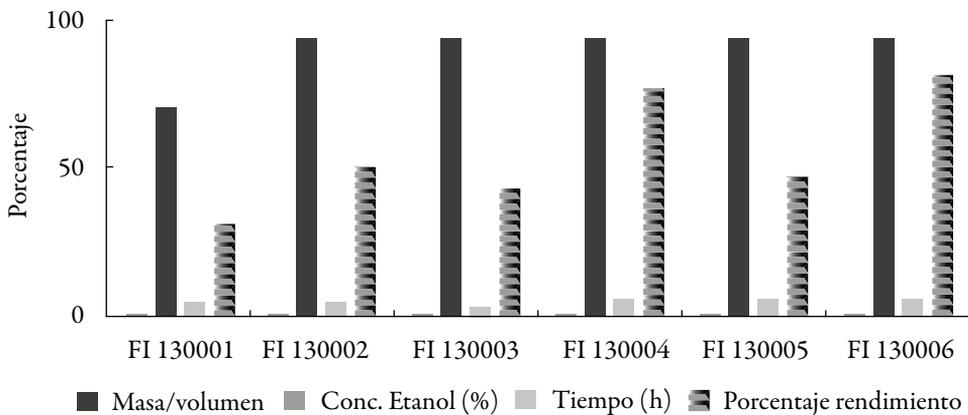
En la figura 3 se muestra la comparación del rendimiento obtenido en los lotes experimentales de SCP a escala de laboratorio.

Figura 3. Comparación del rendimiento final obtenido en los lotes experimentales de SCP a escala de laboratorio.



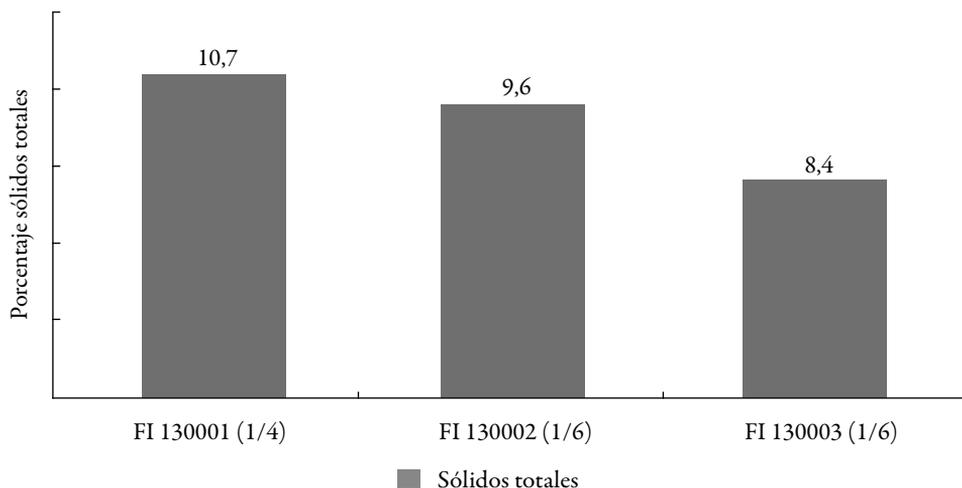
En la figura 4 se refleja la relación que existe entre masa/volumen, concentración de etanol, el tiempo con el porcentaje de rendimiento.

Figura 4. Relación existente entre masa/volumen, concentración de etanol, el tiempo y el porcentaje de rendimiento obtenido en los lotes experimentales de SCP a escala de laboratorio.



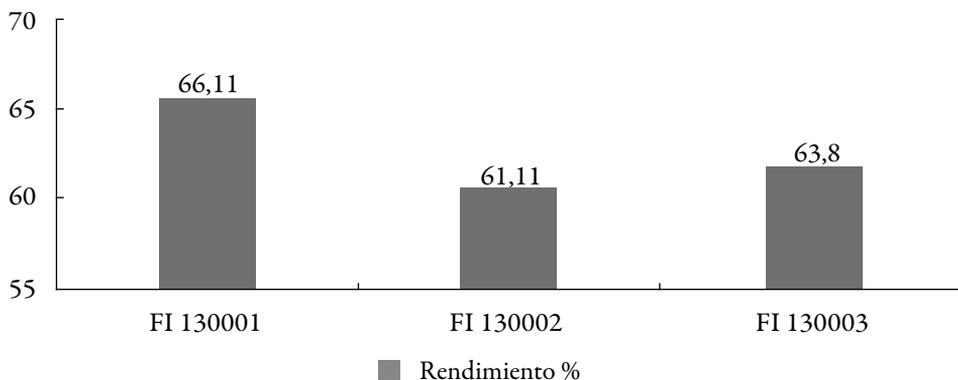
La figura 5 corresponde a la comparación del porcentaje de sólidos totales correspondiente a los lotes experimentales de SCP a nivel de reactor.

Figura 5. Comportamiento de sólidos totales de los lotes experimentales de SCP a nivel de reactor



La figura 6 refiere al comportamiento del rendimiento obtenido en los lotes experimentales de SCP a escala de reactor (lotes FI 140001, FI 140002 y FI 140003).

Figura 6. Comparación del rendimiento obtenido en los lotes experimentales de SCP a escala piloto en el reactor de 124 L. Lotes FI 140001, FI 140002 y FI 140003.



Para verificar la confiabilidad de los resultados obtenidos se realizó un análisis estadístico donde se comparan todas las medias aritméticas determinadas a las variables procesadas en nuestro estudio de los diferentes lotes experimentales elaborados tanto a nivel de laboratorio como a escala piloto. Todos estos resultados aparecen reflejados en los anexos 2 y 3.

## DISCUSIÓN

Cuando se realiza un análisis de los resultados obtenidos del proceso de extracción de cada uno de los lotes experimentales, elaborados a nivel de laboratorio (ver tablas 1 a 3) y sus réplicas se observa que para el lote FI 130001 utilizando la variante #1 (anexo 1), se obtuvo una concentración de sólidos totales de 5,84 %, este aspecto no se contradice con lo planteado en la literatura sobre el método de Pichansky, al presentarse un agotamiento casi total de la masa de propóleos en el método de extracción, objetivo que no buscamos en nuestro trabajo, más bien pretendemos obtener SCP y que los resultados de los sólidos totales se acerque lo más posible a los parámetros establecido en la especificación ESP 2503 de SGC, de nuestro centro, donde se obtienen soluciones concentradas  $\geq 16,0$  %. Otro asunto a tener en cuenta es el rendimiento obtenido con esta variante #1 (39 %), factor este que no favorece el proceso extractivo, ya que nuestro interés es lograr un proceso de extracción que nos permita utilizar grandes volúmenes de SCP como materias primas para ser estandarizadas a SCP al 5 %, 6 % y 15 %, por lo que decidimos aplicar la variante #2 (anexo 1).

Al aplicar la variante #2, correspondiente a los lotes FI 130002 y FI 130005\*. Se obtuvieron resultados satisfactorios, ya que el porcentaje de sólidos totales fue de 14,1 % y 14,2 %, respectivamente, con un rendimiento de 53 % y 48,5 %, para ambos lotes, proceso este que favoreció el proceso extractivo teniendo en cuenta los objetivos que perseguimos en nuestro trabajo, si analizamos los resultados del porcentaje de sólidos totales, se acercan bastante a lo establecido por las especificaciones de nuestro SGC; en este caso podemos plantear que el rendimiento presenta un comportamiento aceptable de un 50 %, como promedio.

Pese a los resultados satisfactorios obtenidos en la variante #2 se decidió experimentar con la variante #3 (anexo 1). Si se observa los resultados obtenidos en la tabla 1, se puede apreciar que los sólidos totales obtenidos fue de un 8,40 %, con un rendimiento de 43,20 %, ambos inferiores al obtenido en la variante #2 y su réplica, lo que corrobora que el tiempo de agitación, utilizado en la variante #2, hasta el momento es el ideal para la obtención de las SCP con el porcentaje de sólidos totales superiores, resultado lógico por lo que se decidió descartar la variante #3, ya que como se puede apreciar el porcentaje de sólidos totales obtenidos en esta variante es inferior a los obtenidos con las variante #2, con un tiempo de agitación de 4 horas, lo que nos va indicando que el este tiempo de agitación hasta el momento es el más aceptado.

Al apreciar los resultados obtenidos en la variante #2 (anexo 1) se decidió incrementar la relación masa/volumen utilizada en esta variante, realizándose la variante #4 (anexo 1), se utilizó una proporción masa/volumen (1/6), buscando un mayor rendimiento

en el proceso extractivo, teniendo en cuenta que esta SCP es utilizada como materia prima, como mencionamos en párrafos anteriores, en la elaboración de soluciones alcohólicas de propóleos a diferentes porcentajes que se producen en nuestro centro.

Esta variante #4, que corresponde con los lotes experimentales FI 130004 y FI 130006, se pudo comprobar que los resultados también fueron positivos y favorables, en cuanto al proceso de extracción, ya que se logró sólidos totales en un rango de 12,0 y 14,3 % respectivamente, parecidos a los obtenidos en la variante #2, pero con rendimientos superiores entre 78 y 83 % y volúmenes superiores a 780 mL, resultado lógico teniendo en cuenta el volumen inicial utilizado, consideramos que este aspecto es importante debido a que se persigue obtener volúmenes superiores que permitan incrementar las diferentes producciones que se realizan en el centro.

De manera general, las propiedades organolépticas determinadas a todos los lotes experimentales para todas las variantes de extracción quedaron conformes, según lo establecido en la ESP2503 “Análisis físico-químicos para soluciones concentradas de propóleos”, donde se aprecia un líquido sin sedimentos de color pardo rojizo oscuro que puede presentar tonalidades verdes amarillentas, con un olor resinoso, alcohólico característico del propóleos, y sabor amargo.

Podemos señalar que esta variante fue seleccionada para la elaboración de los lotes experimentales a escala piloto, teniendo en cuenta no sólo la concentración de sólidos totales, sino también el volumen final y el porcentaje de rendimiento obtenido, sin descartar la variante #2, como otra de las variantes a utilizar en la obtención de las SCP.

Por todo lo planteado anteriormente, se pueden decir que los resultados obtenidos para cada variante y variables analizadas en los lotes experimentales se demostró que: el tiempo de agitación adecuado fue de 4 horas, la concentración de etanol al 96 %, fue la ideal para el proceso de extracción, y la relación masa/volumen más acertadas fueron la (1/4) y (1/6), con el porcentaje de sólidos totales, más cercano a lo planteado por la especificación EPS 2503 de nuestro SGC ( $\geq 16$  %), correspondiente a los lotes experimentales, FI 130002, FI 130005\*, FI 130004 y FI 130006\*\*, que responden a las variantes #2 y #4 del proceso extractivo. Es importante señalar nuevamente que el parámetro rendimiento es fundamental en este proceso extractivo ya que esta SCP es utilizada como materia prima en otros procesos productivos, por lo cual un incremento de uso del etanol en el proceso de extracción del SCP favorece notablemente la producción posterior de las soluciones alcohólicas de propóleos referidas anteriormente.

En la tabla 2 se exponen los resultados obtenidos al extrapolar la variante #4, a escala piloto a un reactor de 124 L, obteniéndose los lotes FI 140001, FI 140001 y F 140002, cuyos resultados de sólidos totales oscilaron entre 8,3 y 10,7 %, resultados estos inferiores

a los obtenidos a escala de laboratorio por debajo de los establecido en la ESP2503 del SGC del centro, pero si corresponde con las normas brasileñas y cubanas que oscilan entre un 10 y un 11 %. A pesar de no obtenerse a nivel de reactor rendimientos similares a los obtenidos en los lotes experimentales a nivel de laboratorio para esta misma variante consideramos que rendimientos de 66,11, 61,11 y 63,11 %, obtenidos para estos lotes son aceptables, superiores a los obtenidos en la variante #2, en este caso hay que tener en cuenta que en estos resultados ha influido el volumen inicial utilizado del solvente, la poca evaporación del mismo producto que se encuentra en un sistema cerrado, o que permitió una extracción eficaz de los principios activos, agotándose más la masa de póleos, de ahí los resultados inferiores de los sólidos totales.

Teniendo en cuenta los objetivos perseguidos en nuestro trabajo, consideramos que es conveniente utilizar cualquiera de las variantes #2 y #4, dependiendo de las concentraciones de soluciones alcohólicas a utilizar para el proceso productivo.

Podemos concluir que los lotes experimentales presentan una calidad final satisfactoria ya que a todos los lotes se les realizaron procesos de filtración a temperatura controlada, lográndose SCP, mucho más traslúcida, con características menos resinosas, favoreciéndose la separación de la cera contaminante disuelta en el sobrenadante durante los procesos de extracción alcohólica.

En las figuras 1 y 2 se observa el comportamiento de las variables estudiadas en los diferentes lotes experimentales obtenidos por las distintas variantes del proceso extractivos de la SCP a escala de laboratorio, relacionándose las mismas con los resultados obtenidos en el porcentaje de sólidos totales, corroborando los resultados planteados anteriormente.

En las figuras 3 y 4 se refleja el comportamiento del porcentaje de rendimiento correspondiente a los lotes experimentales elaborados a escala de laboratorio y su relación con las variables analizadas, ratificando los resultados planteados anteriormente.

En la figura 5 se presenta el resultado del porcentaje de sólidos totales obtenido para los lotes experimentales de SCP a nivel de reactor, reafirmando los resultados planteados anteriormente.

En la figura 6 se presenta el resultado del porcentaje del rendimiento obtenido para los lotes experimentales de SCP a nivel de reactor, corroborando los resultados planteados anteriormente.

En los anexos 2 y 3 se exponen los resultados obtenidos al comparar las diferentes medias aritméticas obtenidas para todos los lotes experimentales a nivel de laboratorio, donde se puede apreciar diferencias significativas con un 95 % de confianza, para cada variable analizada, entre los lotes experimentales FI 130001 y FI 130003, respecto al resto de los lotes experimentales, sobre todo si se tiene en cuenta que los volúmenes iniciales y finales de estos son diferentes, por tanto la variación en el rendimiento es evidente, lo mismo sucede con el porcentaje de los sólidos totales, aunque los resultados obtenidos al comparar los lotes obtenidos en las variantes #2 y #4, la diferencia es menor, corroborándose los resultados obtenidos y las conclusiones expuestas respecto a la variantes utilizada a escala piloto para la obtención de las SCP.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos permitieron determinar las variables descritas para el proceso de extracción de las SCP a escala de laboratorio, como son el tiempo de agitación (4 horas), la concentración del solvente final (Etanol al 96 %), y la relación de masa/volumen en una proporción (1/4 y 1/6), obteniendo un porcentaje de sólidos totales entre un rango de 8,4 y 14,3 %, lográndose optimizar el proceso de extracción SCP, utilizándose cualquiera de las variantes #2 y #4, teniendo en cuenta las soluciones alcohólicas a utilizar en el proceso productivo, obteniendo propiedades organolépticas que responden a las especificaciones establecidas por nuestro Sistema de Gestión de Calidad, siendo estos resultados corroborados a través del estudio estadístico realizado.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

1. Prodigios de las abejas: El propóleos y la jalea real. URL: [http://www.sld.cu/saludvida/buscar.php?id=13094&iduser=4&id\\_topic=17](http://www.sld.cu/saludvida/buscar.php?id=13094&iduser=4&id_topic=17).
2. J.M. Grange, R.W. Davey, Antibacterial properties of Propolis, *J. Royal Soc. Med.*, **83**(3), 2-6 (1990).
3. M. Asís, “Los productos de la colmena: Composición y uso de la miel, la cera, el polen, la jalea real, el propóleo y el veneno de abejas”, Centro de información y documentación agropecuario”, Vedado, La Habana, Cuba, 1989. Cap.4, pp.45-52.

4. P. Walker, E. Crane, Constituents of propolis, *Apidologie*, **18**(4), 327-334 (1987).
5. L. Tolosa, E. Cañizares, Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche, *Ars Pharmaceutica*, **43**(1-2), 187-204 (2002).
6. G.M. Sulaiman, K.W. Al Sammarrae, A.H. Ad'hiah, M. Zucchetti, R. Frapolli, E. Bello *et al.*, Chemical characterization of iraqi propolis samples and assessing their antioxidant potentials, *Food Chem. Toxicol.*, **49**(9), 2415-2421 (2011).
7. S.A. Shaheen, M.H. Zarga, I.K. Nazer, R.M. Darwish, H.I. Al-Jaber, Chemical constituents of Jordanian Propolis, *Nat. Prod. Res.*, **25**(14), 1312-1318 (2011).
8. F.M. Campos, "Estudio químico de propóleos cubanos", tesis doctoral, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Cuba, 2008.
9. I. Márquez, "Análisis cromatográficos y espectroscópicos de propóleos cubanos", tesis doctoral, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Cuba, 2007.
10. O. Cuesta, "Estudio químico de propóleos cubanos", tesis doctoral, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Cuba, 2001.
11. O. Cuesta, B.A. Frontena, T. Ramírez, J. Cárdenas, Polyisoprenylated benzophenones in Cuba Propolis: Biological activity of nemororosona, *Z. Naturforsch.*, **57C**(3/4), 327-378 (2002).
12. A.L. Piccinelli, M. Campo, O. Cuesta, I. Márquez, F. de Simone, L. Rastrelli, Isoflavonoids isolated from cuban propolis, *J. Agric. Food Chem.*, **53**(23), 9010-9016 (2005).
13. F.M. Campo, O. Cuesta, A. Rosado, P.R. Montes de Oca, H.I. Márquez, A.L. Piccinelli, L. Rastrelli, GC-MS determination of isoflavonoids in seven red cuban propolis samples, *J. Agric. Food Chem.*, **56**(21), 9927-9932 (2008).
14. T. Farooqui, A.A. Farooqui, Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases, *Frontiers in Bioscience*, **E4**, 779-793 (2012).
15. L.E. Rodríguez-Rodríguez, W. Góngora-Amores, A.I. Escalona-Arias, M.B. Miranda-Bazán, S. Batista-Suárez, Y. Bermúdez-Cisnero, Optimización de las etapas de extracción alcohólica para la obtención de Soluciones Concentradas de Propóleos, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **44**(1), 47-57 (2015).

16. L.E. Rodríguez-Rodríguez, W. Góngora-Amores, A. Escalona-Arias, D. Cobos-Valdés, S. Batista-Suarez, C. Loustanau-Cárdenas, A.F. González-González, Resultados del proceso productivo de la solución concentrada de propóleos 2010-2013. Impacto de la innovación tecnológica, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 44(2), 139-147 (2015).
17. F. Adanero, “Curso para diplomado en sanidad animal”, Editorial Soria, 2000.
18. F.S. Ordoñez-Checa, “Métodos de purificación del propóleos para su posterior aplicación en sanidad animal”, tesis de ingeniero zootecnista, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador, 2012.
19. Método Pichansky: maceración de propóleos en alcohol al 70%, “Formulario Nacional Fitofármacos y Apifármacos”, Ministerio de Salud Pública y la Dirección Nacional de Farmacias, Editorial de Ciencias Médicas, La Habana, 2010.
20. Patente Cubana 21875: “Método de obtención del propóleos”, (Índice de clasificación internacional A 61K35/64). Formulario Nacional Fitofármacos y Apifármacos, Ministerio de Salud Pública y la Dirección Nacional de Farmacias, Editorial de Ciencias Médicas, La Habana, 2010.
21. “Formulario Nacional, Fitofármacos y Apifármacos”, Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Farmacias, Editorial Ciencias Médicas, La Habana, 2010.
22. PNO 2.049, “Preparación de la solución concentrada de propóleos”, 2a edición, Departamento de Aseguramiento de Calidad, Centro de Inmunología y Biopreparados, Holguín, Cuba, 2012.
23. PNO 1.017 “Análisis fisicoquímico de propóleos”, Departamento de Aseguramiento de Calidad, Centro de Inmunología y Biopreparados, Holguín, Cuba, 2012.
24. EPS-2503, “Solución alcohólica de propóleos”, 2a edición, Departamento de Aseguramiento de Calidad, Centro de Inmunología y Biopreparados, Holguín, Cuba, 2011.
25. ESP-0005, “Propóleos”, 2a edición, Departamento de Aseguramiento de Calidad, Centro de Inmunología y Biopreparados, Holguín, Cuba, 2001.
26. ESP-0010, “Etanol”, Departamento de Aseguramiento de Calidad, Centro de Inmunología y Biopreparados, Holguín, 2002.
27. RC 2.014, “Registro Maestro de preparación de la solución de propóleos”, Departamento de Aseguramiento de Calidad, Centro de Inmunología y Biopreparados, Holguín, Cuba, 2014.

## ANEXO 1

### VARIANTES UTILIZADAS EN LOS PROCESOS DE OBTENCIÓN DE LA SOLUCIÓN CONCENTRADA DE PROPÓLEOS

**Variante #1:** en este caso se utilizó una relación masa/volumen (1/4), con una concentración de Etanol al 70% y un tiempo de agitación de 4 horas.

**Primera extracción:**

|   |         |
|---|---------|
| Propóleos en bruto                                  | 250 g   |
| Alcohol al 70% + filtrado baja concentración c.s.p. | 1000 mL |

**Siguientes extracciones:**

Propóleos residual

Alcohol 70% (de acuerdo a los cálculos de las concentraciones).

**Siguientes extracciones:**

Propóleos residual

Alcohol 70 % (de acuerdo a los cálculos de las concentraciones).

**Variante #2:** en este caso se utilizó una relación masa/volumen (1/4), con una concentración de Etanol al 96 % y un tiempo de agitación de 4 horas.

**Primera extracción:**

|   |         |
|---|---------|
| Propóleos en bruto                                  | 250 g   |
| Alcohol al 96% + filtrado baja concentración c.s.p. | 1000 mL |

**Siguientes extracciones:**

Propóleos residual

Alcohol 96% (de acuerdo a los cálculos de las concentraciones)

**Variante #3:** en este caso se utilizó una relación masa/volumen (1/4), con una concentración de Etanol al 96 % y un tiempo de agitación de 2 horas.

**Primera extracción:**

|   |         |
|---|---------|
| Propóleos en bruto                                  | 250 g   |
| Alcohol al 96% + filtrado baja concentración c.s.p. | 1000 mL |

**Siguientes extracciones:**

Propóleos residual

Alcohol 96% (de acuerdo a los cálculos de las concentraciones)

**Variante #4:** en este caso se utilizó una relación masa/volumen (1/6), con una concentración de Etanol al 96 % y un tiempo de agitación de 4 horas.

**Primera extracción:**

|   |         |
|---|---------|
| Propóleos en bruto                                  | 250 g   |
| Alcohol al 96% + filtrado baja concentración c.s.p. | 1500 mL |

**Siguientes extracciones:**

Propóleos residual

Alcohol 96% (de acuerdo a los cálculos de las concentraciones).

## ANEXO 2

### Resumen de la comparación de las medias aritméticas del porcentaje de sólidos totales entre los diferentes lotes experimentales de SCP obtenidos por las diferentes variantes a nivel de laboratorio.

Tabla A2.1. Comparación de medias aritméticas del porcentaje sólidos totales obtenidos entre los lotes experimentales de SCP. Variante #1 (Lote FI 130001), variante #2 (Lotes FI 130002 y 5) y variante #3 (Lote FI 130003).

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Diferencia (Df) | 7,25   |
| % Confianza     | 95     |
| <i>t</i>        | 4,831  |
| <i>P</i>        | 0,0403 |

Tabla A2.2. Comparación de medias aritméticas del porcentaje sólidos totales obtenidos entre los lotes experimentales de SCP. Variante #1 (Lote FI 130001), variante #3 (Lote FI 130003) y variante #4 (Lote FI 130004 y 6).

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Diferencia (Df) | 6,25   |
| % Confianza     | 95     |
| <i>t</i>        | 3,307  |
| <i>P</i>        | 0,0806 |

Tabla A2.3. Comparación de medias aritméticas del porcentaje sólidos totales obtenidos entre los lotes experimentales de SCP. Variante #2 (Lotes FI 130002 y 5) y variante # 4 (Lote FI 130004 y 6).

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Diferencia (Df) | 1      |
| % Confianza     | 95     |
| <i>t</i>        | 0,869  |
| <i>P</i>        | 0,4766 |

### ANEXO 3

**Resumen de la comparación de las medias aritméticas del porcentaje rendimiento entre los diferentes lotes experimentales de SCP obtenidos por las diferentes variantes a nivel de laboratorio.**

Tabla A3.1. Comparación de medias aritméticas del porcentaje rendimiento obtenidos entre los lotes experimentales de SCP. Variante #1 (Lote FI 130001), variante #2 (Lotes FI 130002 y 5) y variante #3 (Lote FI 130003)

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Diferencia (Df) | 9,65   |
| % Confianza     | 95     |
| <i>t</i>        | 2,821  |
| <i>P</i>        | 0,1060 |

Tabla A3.2. Comparación de medias aritméticas del porcentaje rendimiento obtenidos entre los lotes experimentales de SCP. Variante #1 (Lote FI 130001), variante #3 (Lote FI 130003) y variante #4 (Lote FI 130004 y 6).

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Diferencia (Df) | 12,55  |
| % Confianza     | 95     |
| <i>t</i>        | 4,684  |
| <i>P</i>        | 0,0427 |

Tabla A3.3. Comparación de medias aritméticas del porcentaje rendimiento obtenidos entre los lotes experimentales de SCP. Variante #2 (Lotes FI 130002 y 5) y variante # 4 (Lote FI 130004 y 6).

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Diferencia (Df) | 2,00   |
| % Confianza     | 95     |
| <i>t</i>        | 1,036  |
| <i>P</i>        | 0,4090 |

## CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

L.E. Rodríguez-Rodríguez, A.R. Miranda-Cruz, A. Escalona-Arias, W. Góngora-Amores, S. Batista-Suárez, D. Cobos-Valdés, Investigación básica experimental para la definición de los parámetros críticos en el proceso de obtención de soluciones concentradas de propóleos (SCP), *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(2), 179-200 (2016).