

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



**Actividad antifúngica in vitro de extractos etanólicos de propóleo
recolectados del distrito de La Joya y de Vitor de la ciudad de Arequipa
frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643**

Tesis presentada por las Bachilleres:

Chahua Panca, Lady Paola

ORCID: 0009-0007-9392-7081

Romero Salluca, Nataly Dayana

ORCID: 0009-0008-3188-1417

para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico

Asesora:

Mg. Marcilla Truyenque, Shaneri

ORCID: 0000-0001-9405-7216

Arequipa – Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FARMACIA Y BIOQUIMICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 25 de Noviembre del 2025

Dictamen: 011091-C-EPFyB-2025

Visto el borrador del expediente 011091, presentado por:

2020893332 - ROMERO SALLUCA NATALY DAYANA

2020890682 - CHAHUA PANCA LADY PAOLA

Titulado:

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PROPÓLEO
RECOLECTADOS DEL DISTRITO DE LA JOYA Y DE VÍTOR DE LA CIUDAD DE AREQUIPA FRENTE
ASPERGILLUS NIGER ATCC 16888 Y ASPERGILLUS FLAVUS ATCC 9643**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

**29230978 - ZARAVIA SANCHEZ CIFRIDO
DICTAMINADOR**



**29228284 - DAVILA DEL CARPIO GONZALO HERMILIO
DICTAMINADOR**



**29440909 - MOLINA RODRIGUEZ FREDY NICOLAS
DICTAMINADOR**



Actividad antifúngica in vitro de extractos etanólicos de propóleo recolectados del distrito de La Joya y de Vítor de la ciudad de Arequipa frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* A

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Católica de Santa
María

Trabajo del estudiante

2%

2

repositorio.upsjb.edu.pe

Fuente de Internet

1%

3

www.scielo.org.mx

Fuente de Internet

1%

4

repositorio.unfv.edu.pe

Fuente de Internet

1%

5

ebin.pub

Fuente de Internet

1%

6

dspace.unitru.edu.pe

Fuente de Internet

1%

7

repositorio.uigv.edu.pe

Fuente de Internet

1%

8

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

9

renati.sunedu.gob.pe

Fuente de Internet

1%

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a Dios, ya que me dio las fuerzas necesarias para realizarme profesionalmente, a mis padres, porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome todo su apoyo y a una persona muy especial que ya no está a mi lado, pero en la otra vida nos volveremos a encontrar.

Lady C.

A Dios, por guiar mi camino, darme fortaleza en los momentos difíciles y permitirme alcanzar esta meta tan importante.

A mis padres, Sonia y Héctor, por siempre confiar en mí, por brindarme su amor incondicional. Gracias por ser mi ejemplo, mi inspiración y el pilar más fuerte en mi vida.

A mi hermana Yhadira, mi compañera de vida, por compartir conmigo momentos inolvidables, por su cariño y por estar siempre a mi lado en cada paso del camino.

A mi novio Johao, por su amor, por siempre saber qué decirme en los momentos más complicados y por ser mi apoyo constante en cada desafío, por su paciencia, comprensión y por creer en mí incluso cuando dudé.

A mis tíos Teresa, Rina y Mario, por nunca dudar de mí, por su constante apoyo, sus consejos, su cariño sincero y por quererme como a una hija más.

A mis primos Gabriel y Mariana, por siempre estar apoyándome, por su compañía y por estar presentes para mí en todo momento.

A todos ustedes, con profundo amor y gratitud, dedico este logro que también les pertenece.

Nataly R.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por guiarnos en cada paso del camino, por darnos la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para culminar con éxito esta etapa tan importante de nuestras vidas.

A nuestros padres, por su amor incondicional, su apoyo constante y sus sacrificios, que nos motivaron a seguir adelante incluso en los momentos más difíciles. Este logro es también de ustedes.

A nuestra asesora, Mg. Shaneri Marcilla Truyenque, por su valiosa orientación, dedicación y paciencia durante el desarrollo de esta investigación. Su guía fue fundamental para alcanzar los objetivos propuestos.

A la Universidad Católica de Santa María, por brindarnos la oportunidad de formarnos profesional y personalmente.

Finalmente, a nuestros familiares, quienes siempre creyeron en nosotros y nos alentaron con palabras de cariño y ánimo en cada etapa del proceso. Su compañía y comprensión fueron un pilar esencial para lograr esta meta.

RESUMEN

El propósito de este estudio fue determinar la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de propóleos recolectados del distrito de la Joya y de Vitor de Arequipa frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643.

La investigación fue de enfoque cuantitativa, experimental de corte transversal y aplicada. Se trabajó con población de 1 kg de propóleo de La Joya y de Vitor, la muestra fue de 206 g y 188g respectivamente, se determinó la Concentración Mínima Fungicida (CMF) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de macrodilución para el efecto del extracto en los hongos *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*.

El análisis organoléptico reveló que el propóleo del distrito de La Joya presentó un aroma intenso, con un color marrón, mientras que el propóleo de Vitor evidenció un aroma más suave y color marrón con manchas amarillas. El extracto seco obtenido fue de 97.87 g proveniente de La Joya y de 87.55 g para Vitor. De acuerdo con el rendimiento del extracto seco, la muestra proveniente de La Joya fue del 47.51% y de Vitor con 46.57%. Respecto con el pH fue 4.8 en La Joya y 5.0 en Vitor. Respecto con la humedad fue 3.78% en La Joya y 4.00% en Vitor. Los metabolitos identificados fueron taninos, flavonoides y alcaloides en ambas muestras, mientras que en la muestra de Vitor se percibió una mayor intensidad de color de terpenos. El propóleo de Vitor mostró una mayor inhibición del crecimiento, con CMI más bajas para *A. niger* (0.0078125%) y *A. flavus* (0.25%) en comparación con La Joya, que presentó CMI de 0.0625% y 1%, respectivamente. Esto sugiere que el extracto de Vitor inhibe más eficazmente el crecimiento de ambos hongos. El propóleo de Vitor mostró una mayor eficacia con una CMF de 0.03125% para *A. niger* y 0.5% para *A. flavus*, mientras que el de La Joya presentó valores más altos, con CMF de 0.25% para *A. niger* y 2% para *A. flavus* el cual es significativo ($p < 0.05$).

En conclusión, los extractos etanólicos de propóleo recolectados del distrito de la Joya y de Vitor de Arequipa, presentaron actividad antifúngica ante *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643.

Palabras clave: *Actividad antifúngica, Aspergillus, Propóleo.*

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the in vitro antifungal activity of ethanolic extract of propolis collected from the district of La Joya and Vitor de Arequipa against *Aspergillus niger* ATCC 16888 and *Aspergillus flavus* ATCC 9643.

The research was quantitative, experimental, cross-sectional and applied. A population of 1 kg of propolis from La Joya and Vitor was used, the sample was 206 g and 188g respectively, the Minimum Fungicide Concentration (CMF) and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) were determined by the macrodilution method for the effect of the extract on the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*.

The organoleptic analysis revealed that the propolis from the district of La Joya presented an intense aroma, with a brown color, while the propolis from Vitor showed a milder aroma and brown color with yellow spots. The dry extract obtained was 97.87 g from La Joya and 87.55 g from Vitor. According to the yield of the dry extract, the sample from La Joya was 47.51% and from Vitor with 46.57%. Regarding the pH it was 4.8 in La Joya and 5.0 in Vitor. Regarding humidity it was 3.78% in La Joya and 4.00% in Vitor. The metabolites identified were tannins, flavonoids and alkaloids in both samples, while in Vitor's sample a higher intensity of terpene color was perceived. Vitor's propolis showed greater growth inhibition, with lower MICs for *A. niger* (0.0078125%) and *A. flavus* (0.25%) compared to La Joya, which presented CMI of 0.0625% and 1%, respectively. This suggests that Vitor extract more effectively inhibits the growth of both mushrooms. Vitor's propolis showed a higher efficacy with a CMF of 0.03125% for *A. niger* and 0.5% for *A. flavus*, while La Joya's propolis showed higher values, with CMF of 0.25% for *A. niger* and 2% for *A. flavus*, which is significant ($p < 0.05$).

In conclusion, ethanolic extracts of propolis collected from the district of La Joya and Vitor de Arequipa, showed antifungal activity against *Aspergillus niger* ATCC 16888 and *Aspergillus flavus* ATCC 9643.

Keywords: *Antifungal activity, Aspergillus, Propolis.*

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN 1

HIPOTESIS 2

OBJETIVOS..... 2

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES 3

CAPÍTULO I..... 4

MARCO TEORICO..... 4

1. CONCEPTOS BÁSICOS:.....5

1.1. PROPÓLEO (*Propolis*)..... 5

1.2. HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus* 10

1.3. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA 12

1.4. RELEVANCIA DEL ESTUDIO 13

2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....14

2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES 14

2.2. ANTECEDENTES NACIONALES 15

CAPÍTULO II 17

MATERIALES Y MÉTODOS 17

1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN..... 18

2. MATERIALES:..... 19

2.1. MATERIALES DE VERIFICACIÓN19

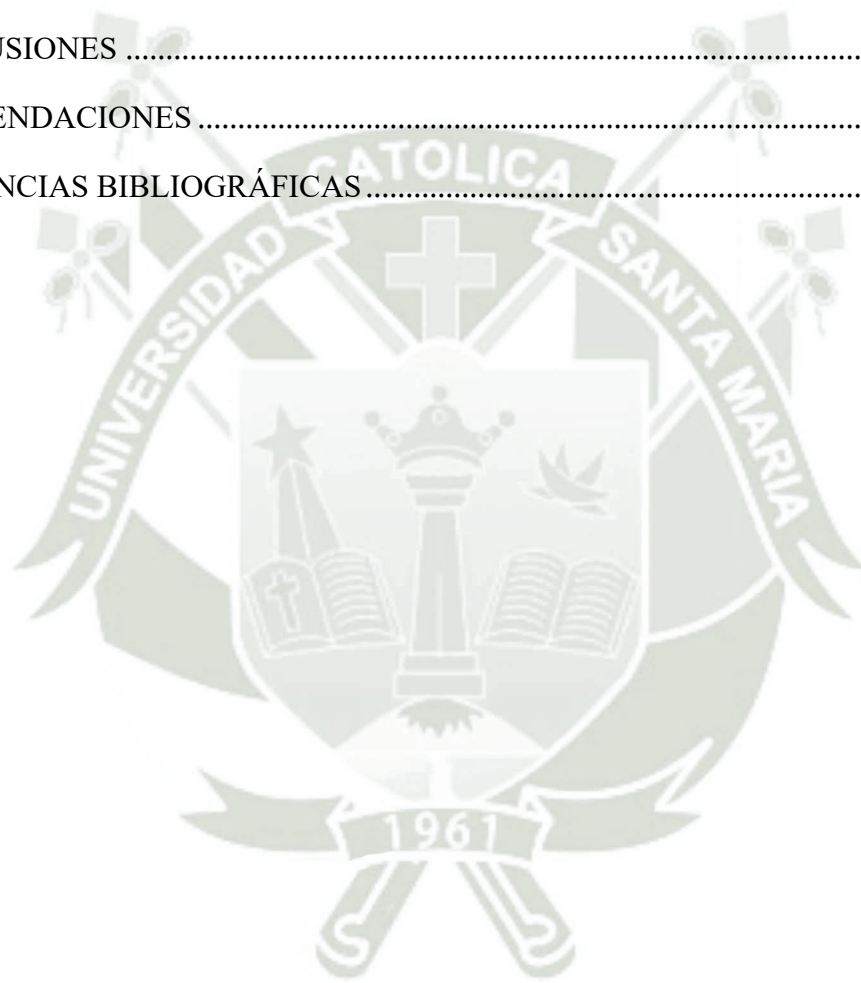
2.2. INSUMOS UTILIZADOS20

2.2.1 MEDIOS DE CULTIVO 20

2.2.2 MATERIAL BIOLÓGICO..... 20

2.3 SOLVENTES Y REACTIVOS	20
2.4. EQUIPOS.....	21
3. MÉTODOS.....	22
3.1. PROCESAMIENTO DEL PROPÓLEO.....	22
3.1.1 RECOLECCIÓN DEL PROPÓLEO DE AMBOS ORÍGENES	22
3.1.2 ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA DEL PROPÓLEO	22
3.1.3 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DEL PROPÓLEO DE AMBOS ORÍGENES.....	22
3.2 ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DEL PROPÓLEO	23
3.3 RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO	23
3.4 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO Y FITOQUÍMICO	23
3.4.1 PH	23
3.4.2 NIVEL DE HUMEDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO	23
3.5 MARCHA FITOQUÍMICA	24
3.5.1 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES	24
3.6. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA	25
3.6.1 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO	25
3.6.2 ACTIVACIÓN DE CEPAS	25
3.6.3 PREPARACIÓN DEL INOCULO.....	25
3.6.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)	26
3.6.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA (CMF)	29
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
CAPÍTULO III	30
RESULTADOS Y DISCUSIONES	30
1. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO	31
2. OBTENCIÓN Y RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO	32

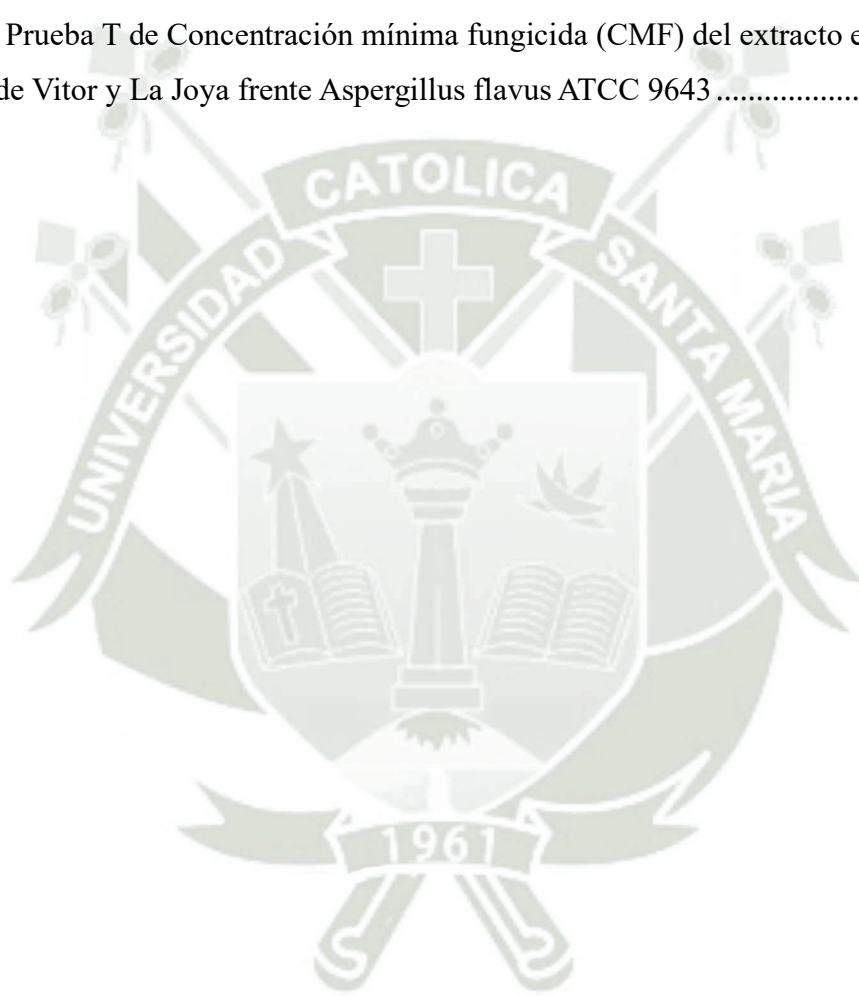
3. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO Y FITOQUÍMICO	33
3.1 NIVEL DE PH.....	33
3.2. HUMEDAD	33
3.3. MARCHA FITOQUÍMICA.....	34
4. MÉTODO DE MACRODILUCIÓN.....	37
DISCUSIONES	45
CONCLUSIONES	50
RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52



ÍNDICE DE TABLAS

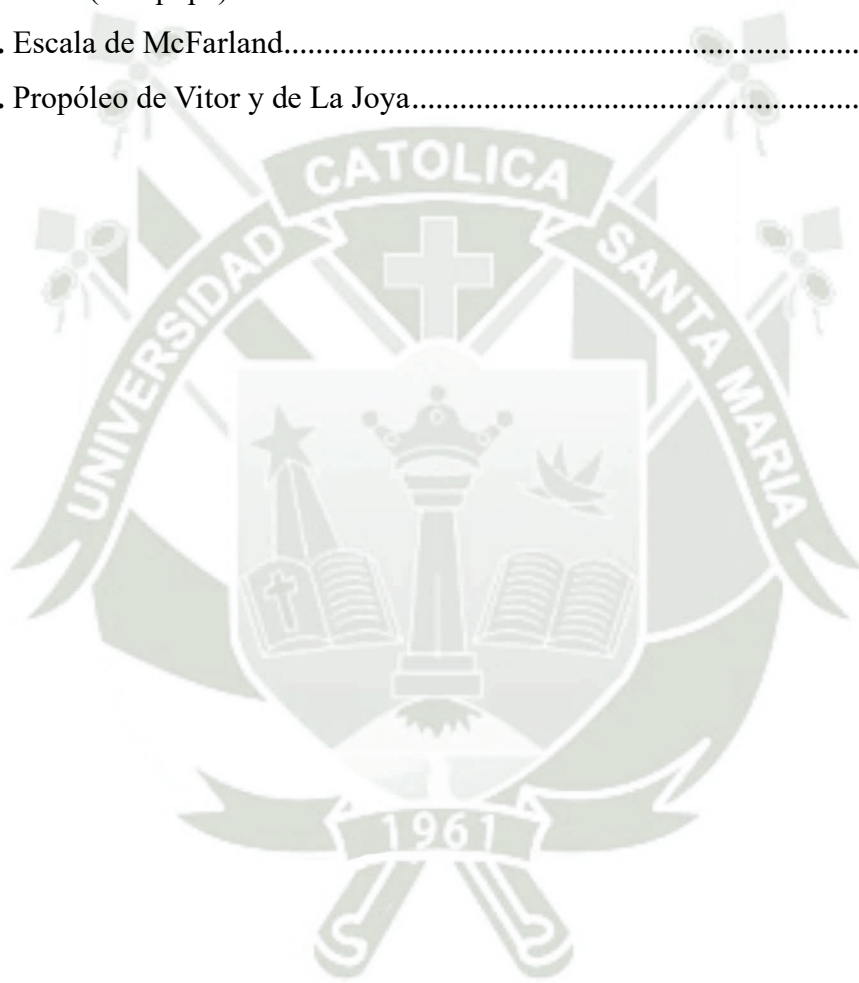
Tabla 1. Variables e indicadores	3
Tabla 2. Metabolitos secundarios	24
Tabla 3. Diseño experimental frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888 y <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643 según el método de Concentración mínima inhibitoria (CMI)	28
Tabla 4. Análisis organoléptico del propóleo de 2 orígenes.....	31
Tabla 5. Rendimiento del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vitor – Arequipa	32
Tabla 6. Nivel de pH del propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vitor – Arequipa.....	33
Tabla 7. Nivel de humedad del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vitor – Arequipa.....	33
Tabla 8. Análisis fitoquímico del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vitor – Arequipa.....	34
Tabla 9. Determinación de contenido de fenoles totales según en el método de Folin-Ciocalteu del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vitor – Arequipa.....	35
Tabla 10. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor - Arequipa frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888 y <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	37
Tabla 11. Prueba T de Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de Vitor frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888 y <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	38
Tabla 12. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de La Joya - Arequipa frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888 y <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	39
Tabla 13. Prueba T de Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de La joya frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888 y <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	40
Tabla 14. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888.....	41
Tabla 15. Prueba T de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888.....	42

Tabla 16. Prueba T de Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888.....	42
Tabla 17. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643.....	43
Tabla 18. Prueba T de Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	44
Tabla 19. Prueba T de Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	44



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de propolone	5
Figura 2. Fitoconstituyentes en propóleo	6
Figura 3. Características Macroscópicas de <i>A. Niger</i>	11
Figura 4. Características Macroscópicas de <i>A. Flavus</i>	12
Figura 5. La Joya (Arequipa)	18
Figura 6. Vítor (Arequipa)	19
Figura 7. Escala de McFarland.....	26
Figura 8. Propóleo de Vitor y de La Joya.....	31



ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Certificado de análisis de cepa <i>Aspergillus Flavus</i>	60
ANEXO 2. Certificado de análisis de cepa <i>Aspergillus Niger</i>	62
ANEXO 3. Evidencias fotográficas	64



LISTA DE ABREVIATURAS

1. mL: mililitros
2. mg: miligramos
3. μ g: microgramos
4. mm: milímetros
5. min: minutos
6. hr: horas
7. °C: grados Celsius
8. rpm: revoluciones por minuto
9. g: gramos
10. conc: concentración
11. vol: volumen
12. sol: solución
13. %: porcentaje
14. max: máximo
15. min: mínimo
16. CMI: Concentración Mínima Inhibitoria
17. CMF: Concentración Mínima Fungicida

INTRODUCCIÓN

La creciente incidencia de infecciones fúngicas causadas por *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* representa un desafío importante tanto en la salud pública como en la seguridad alimentaria. Estas especies fúngicas están asociadas a infecciones invasivas graves, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, y son reconocidas por su capacidad para producir micotoxinas que contaminan alimentos básicos como cereales, frutos secos y legumbres. Este problema afecta no solo la salud humana, debido al potencial carcinogénico y tóxico de las micotoxinas, sino también la economía, al comprometer la calidad y seguridad de productos agrícolas destinados al consumo y la exportación. Además, la creciente resistencia de estos hongos a los tratamientos antifúngicos convencionales subraya la necesidad de explorar alternativas terapéuticas más efectivas. El propóleo, una sustancia resinosa producida por las abejas a partir de exudados vegetales, ha captado la atención por sus propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes. Diversos estudios han atribuido su actividad biológica a la presencia de compuestos como flavonoides, ácidos fenólicos y terpenos. No obstante, su eficacia específica frente a hongos como *A. niger* y *A. flavus* requiere mayor investigación, especialmente para determinar su potencial como agente antifúngico natural en tratamientos médicos y en la preservación de alimentos.

La investigación del extracto etanólico de propóleo abarcó análisis químicos destinados a identificar los compuestos bioactivos responsables de su actividad antifúngica. Además, se realizó el método de macrodilución para evaluar su efecto frente a *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*, dos especies de relevancia clínica y agrícola. Esta perspectiva busca respaldar la eventual aplicación del propóleo en productos farmacéuticos y estrategias de control fúngico, proyectando su potencial beneficio para la salud humana y sus posibles contribuciones a la industria médica y alimentaria.

Esta investigación se enfocó en “Determinar la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de propóleos recolectados del distrito de la Joya y de Vitor de Arequipa frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643”

HIPOTESIS

Es probable que el extracto etanólico de propóleo recolectados del distrito de la Joya y de Vitor de la ciudad de Arequipa presente actividad antifúngica *in vitro* frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de propóleos recolectados del distrito de la Joya y de Vitor de Arequipa frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Obtener el extracto etanólico del propóleo recolectado del distrito de la Joya y de Vitor por el método de maceración.
- Realizar el análisis organoléptico del propóleo recolectado del distrito de la Joya y de Vitor.
- Determinar el rendimiento del extracto seco del propóleo recolectado del distrito de la Joya y de Vitor.
- Realizar el análisis fisicoquímico y fitoquímico del extracto etanólico del propóleo recolectado del distrito de la Joya y de Vitor.
- Determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de propóleo recolectado del distrito de la Joya y de Vitor según el método de concentración mínima inhibitoria (CMI)
- Determinar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de propóleo recolectado del distrito de la Joya y de Vitor según el método de concentración mínima fungicida (CMF)

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES

Tabla 1. Variables e indicadores

Variables	Dimensiones	Indicadores
Independiente: Extractos etanólicos de propóleo de La Joya y de Vitor	Análisis organoléptico	▪ Color ▪ Olor ▪ Aspecto
	Rendimiento del extracto seco	▪ Porcentaje (%) de masa inicial y de extracto seco
	Análisis fisicoquímico	▪ pH (unidad) ▪ Humedad (% agua)
	Análisis fitoquímico	▪ Alcaloides ▪ Taninos ▪ Flavonoides ▪ Terpenos
	Método de Folin-Ciocalteu (FC)	▪ Contenido de compuestos fenólicos totales
Dependiente: Actividad antifúngica in vitro frente <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888 y <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	Concentración mínima inhibitoria (CMI)	▪ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (o $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). Método: macrodilución en caldo (CLSI M38 para hongos filamentosos) lectura: crecimiento turbidez
	Concentración mínima fungicida (CMF)	▪ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Método: subcultivo de los tubos sin crecimiento en medio sólido.

* Elaboración propia



1. Conceptos básicos:

1.1. Propóleo (*Propolis*)

1.1.1. Definición y origen natural:

El propóleo es una sustancia resinosa y pegajosa producida por las abejas a partir de exudados vegetales, resinas y otras sustancias recolectadas de diversas plantas. Este material es utilizado por las abejas para sellar y proteger la colmena de agentes patógenos, bacterias y hongos. (1) La composición del propóleo varía dependiendo de la fuente vegetal de la que proviene, lo que le confiere diferentes características en términos de actividad biológica y propiedades terapéuticas. Esta sustancia tiene un uso multifuncional dentro de la colmena, donde sirve para sellar fisuras, desinfectar el espacio y proteger a las abejas de infecciones externas. (2)

1.1.2. Composición química:

El propóleo está compuesto por una variedad de compuestos bioactivos, entre los cuales se destacan los flavonoides, los fenoles, los ácidos aromáticos, los terpenos, las ceras, las resinas y los aceites esenciales. Estos componentes son responsables de las propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicas y antiinflamatorias del propóleo, entre otras (3) (4)

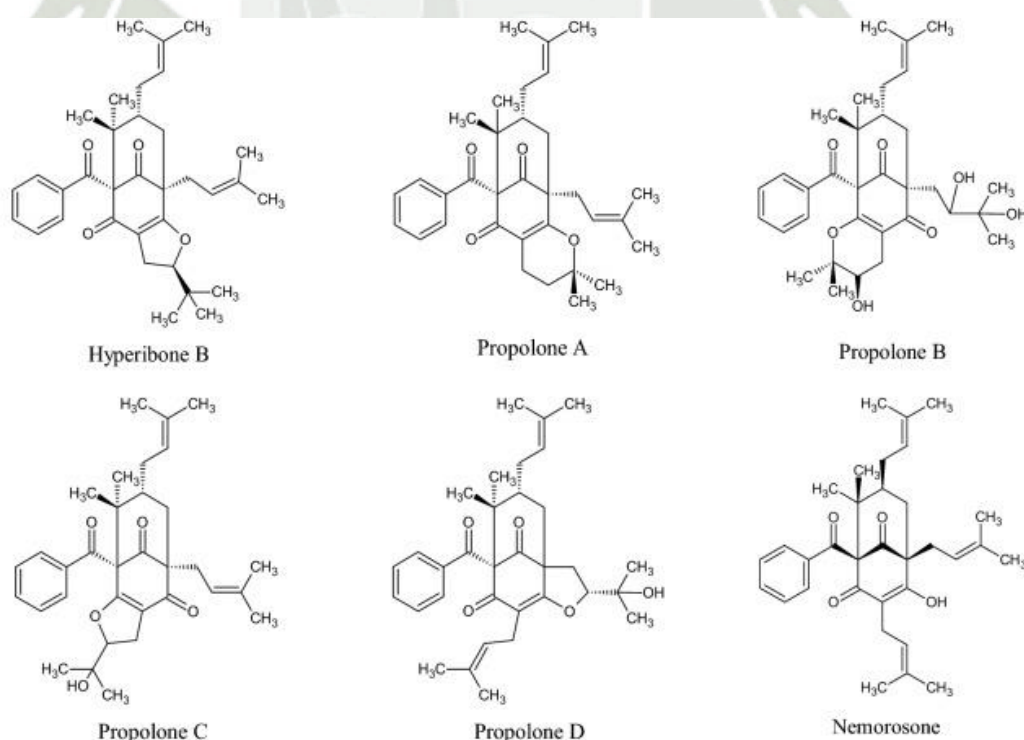


Figura 1. Tipos de propolone

*Hossain et al (4)

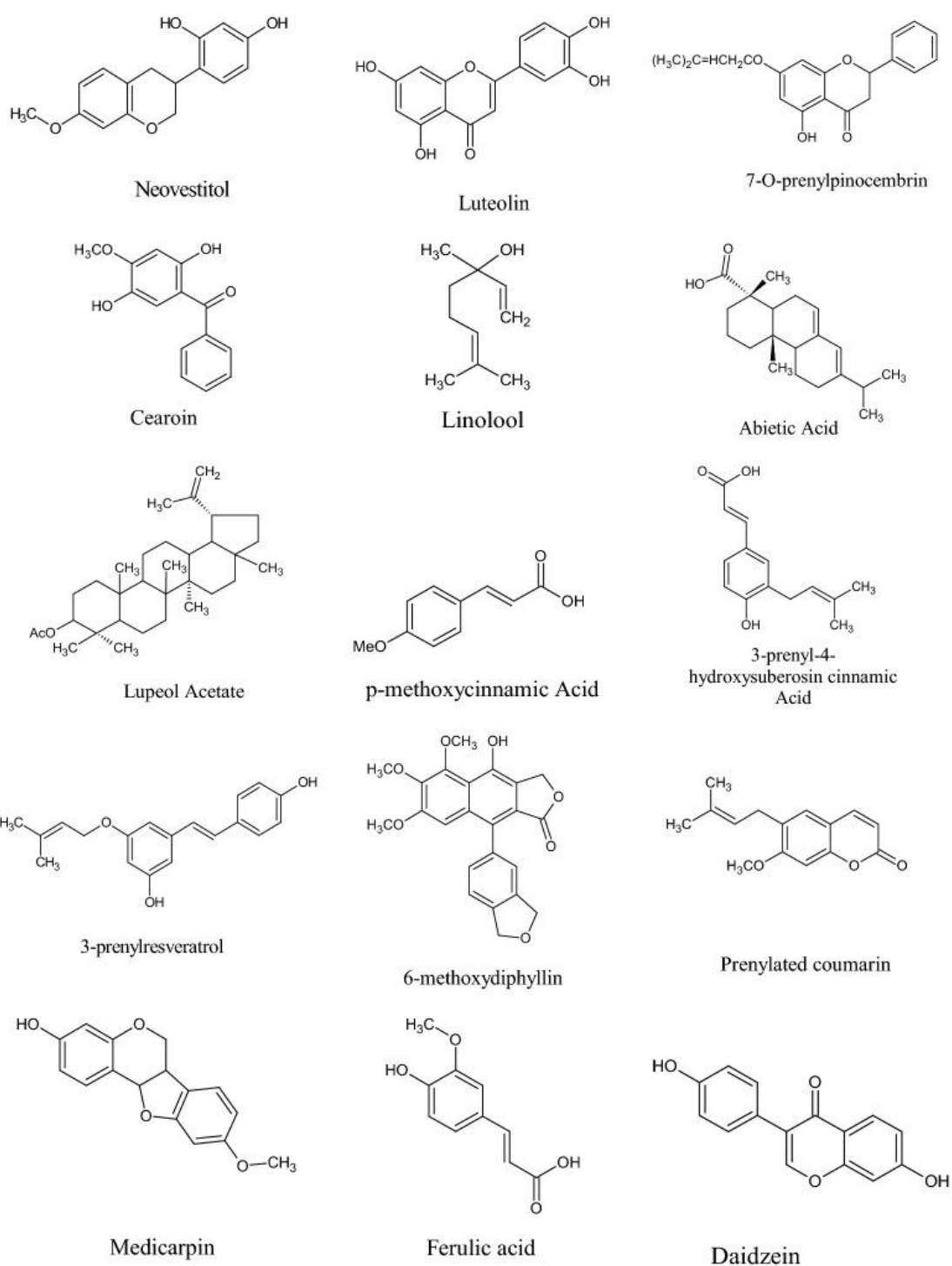


Figura 2. Fitoconstituyentes en propóleo

* Hossain et al (4)

1.1.3. Factores que influyen en su composición:

La composición química del propóleo puede variar dependiendo de varios factores como el tipo de planta de la cual se recolectan los exudados vegetales, las condiciones climáticas del área de recolección, la altitud, la época del año en que se realiza la recolección, así como el método de extracción utilizado. (5)

1.1.4. Tipos de extractos:

Existen diferentes tipos de extractos de propóleo, los cuales incluyen (6):

- **Extracto etanólico:** elaborado mediante la disolución del propóleo en etanol.
- **Extracto metanólico:** obtenido mediante la disolución del propóleo en metanol.
- **Extracto acuoso:** preparado utilizando agua como disolvente.
- **Extracto hidroalcohólico:** una mezcla de agua y alcohol, utilizado para aprovechar las propiedades solubles en ambos disolventes.

1.1.5. Propiedades biológicas y farmacológicas:

El propóleo posee una variedad de propiedades biológicas y farmacológicas que lo hacen valioso en la medicina tradicional y moderna. Estas propiedades incluyen:

- **Actividad antimicrobiana:** eficaz contra bacterias, hongos y virus.
- **Actividad antioxidante:** protege las células del daño oxidativo.
- **Actividad antiinflamatoria:** ayuda a reducir la inflamación en diferentes tejidos.
- **Actividad inmunomoduladora:** fortalece el sistema inmunológico.
- **Propiedades cicatrizantes y analgésicas:** favorece la regeneración de tejidos y alivia el dolor.

1.1.6. Estudios previos sobre actividad antifúngica del propóleo:

Existen estudios que han demostrado que el propóleo posee actividad antifúngica significativa contra diversas especies de hongos patógenos, como *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* (7). Se ha identificado que los flavonoides y ácidos fenólicos presentes en el propóleo son responsables de su capacidad para inhibir el crecimiento fúngico (8), afectando la estructura celular y los procesos metabólicos de estos hongos. (9)

1.1.7. Mecanismos de acción antifúngica del propóleo:

El propóleo exhibe diversas formas de acción para combatir los hongos, entre ellas:

- **Alteración de la membrana citoplasmática (ergosterol):** El propóleo puede alterar la estructura y función de la membrana celular de los hongos al interferir con el ergosterol, un componente clave de la membrana fúngica (10).
- **Inhibición de la síntesis de pared celular:** El propóleo puede inhibir la formación de la pared celular fúngica, lo que debilita la estructura de la célula y la hace más susceptible a la destrucción (11).
- **Daño oxidativo (por radicales libres):** El propóleo puede generar radicales libres que dañan los componentes celulares del hongo, provocando la oxidación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (12).
- **Inhibición de enzimas esenciales (ATPasa, glucosidasas):** El propóleo inhibe la actividad de diversas enzimas esenciales para el metabolismo de los hongos, como la ATPasa (que regula el transporte iónico y energético) y las glucosidasas (implicadas en la digestión de azúcares) (12).

1.1.8. Factores que influyen en la actividad antifúngica:

Varios factores pueden influir en la eficacia del propóleo y otros antifúngicos en la inhibición del crecimiento fúngico:

- **Concentración del extracto:** A mayor concentración del extracto de propóleo, generalmente, mayor es la actividad antifúngica. Sin embargo, es importante optimizar esta concentración, ya que concentraciones muy altas pueden ser tóxicas tanto para los hongos como para las células humanas (13).
- **Tipo de solvente y método de extracción:** El tipo de solvente utilizado para extraer los compuestos activos del propóleo (etanol, metanol, agua, etc.) y el método de extracción empleado (maceración, extracción en frío, etc.) afectan la composición final del extracto, lo que puede influir en su efectividad antifúngica (13).
- **Tiempo de incubación y tipo de cepa:** El tiempo durante el cual se expone el hongo al extracto de propóleo y el tipo específico de cepa utilizada también afectan los resultados.
- **Condiciones de cultivo in vitro:** Las condiciones en las que se cultivan los hongos, como la temperatura, el pH y la concentración de nutrientes, pueden modificar la actividad antifúngica del propóleo (14).

1.1.9. Principios activos del propóleo responsables de la actividad antifúngica:

El propóleo contiene varios compuestos bioactivos que contribuyen a su capacidad antifúngica.

Entre los más destacados se incluyen (15):

- **Flavonoides:**

Los flavonoides son compuestos fenólicos que tienen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias. Algunos flavonoides presentes en el propóleo que tienen actividad antifúngica incluyen:

- **Pinocembrina:** un flavonoide que actúa sobre la membrana celular de los hongos, alterando su estructura (16).
- **Galangina:** conocido por su capacidad para inhibir el crecimiento fúngico y bacteriano (17).
- **Quercetina:** un flavonoide con propiedades antioxidantes que también contribuye a la inhibición de hongos (17).

- **Ácidos fenólicos:**

Los ácidos fenólicos tienen una alta capacidad de acción antioxidante y antimicrobiana. Algunos de los más relevantes en el propóleo incluyen:

- **Ácido cafeico:** uno de los ácidos fenólicos más estudiados, con propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias (18).
- **Ácido ferúlico:** conocido por sus efectos antioxidantes y su capacidad para interferir con las membranas celulares de los hongos (19).
- **Ácido cinámico:** también tiene propiedades antimicrobianas y contribuye al efecto antifúngico del propóleo (20).

- **Ésteres fenólicos:**

Los ésteres fenólicos, como el CAPE (éster fenético del ácido cafeico), son compuestos que tienen efectos potentes en la inhibición de microorganismos (20).

1.1.10. Condiciones ecológicas del propóleo:

- Flora predominante: La flora de estos distritos está compuesta por una gran variedad de plantas, muchas de las cuales tienen exudados resinógenos que las abejas utilizan para producir propóleo (21).
- Clima: El clima en La Joya y Vitor es semiárido, con temperaturas elevadas durante el día y bajas durante la noche. Las precipitaciones son escasas, lo que puede influir en el tipo de

flora disponible y la composición química de los exudados vegetales que las abejas recogen (22).

- Altitud: La altitud en estas áreas varía, pero generalmente se encuentra entre los 1200 y 1620 metros sobre el nivel del mar, lo que puede influir en las características del propóleo. A mayor altitud, las plantas tienen características bioquímicas distintas debido a la adaptación al entorno más extremo (22).

1.1.11. Importancia de la procedencia del propóleo:

La procedencia del propóleo tiene una influencia significativa sobre su composición química y, por ende, sobre su potencia antifúngica. Los factores ecológicos, como la flora predominante, el clima y la altitud, afectan la variedad y concentración de los compuestos bioactivos presentes en el propóleo.

- Un propóleo recolectado en zonas de mayor altitud puede contener una mayor concentración de ciertos flavonoides y ácidos fenólicos debido a la adaptación de las plantas a las condiciones climáticas extremas, lo que podría incrementar su actividad antifúngica.
- Las plantas que crecen en climas secos o semiáridos suelen tener una mayor producción de resinas como mecanismo de defensa contra el estrés ambiental, lo que también podría influir en las propiedades del propóleo obtenido en estas regiones.
- La calidad y potencia del propóleo están, por lo tanto, fuertemente determinadas por las condiciones ecológicas de la región donde se recolecta, siendo crucial considerar estos aspectos al evaluar su actividad antifúngica.

1.2. Hongos del género *Aspergillus*

1.2.1. Generalidades del género:

Los hongos del género *Aspergillus* son hongos filamentosos que crecen de manera rápida con forma ubicua, se encuentran en casi todos los ambientes, tanto naturales como artificiales. Este género incluye especies que pueden crecer en una amplia variedad de sustratos, desde alimentos hasta materiales orgánicos en descomposición, y tienen una gran capacidad para producir esporas que les permiten dispersarse eficientemente (23).

1.2.2. Características morfológicas:

Los hongos *Aspergillus* presentan una estructura característica, incluyendo:

- **Conidióforos:** estructuras especializadas que soportan las esporas (conidios).
- **Vesículas:** estructuras en la parte superior de los conidióforos donde se producen las esporas.
- **Conidios:** esporas asexuales, que son liberadas desde las vesículas y se dispersan para generar nuevos cultivos.
- **Hifas septadas:** filamentos multicelulares con divisiones (septos) que componen el cuerpo vegetativo del hongo, denominado micelio.

1.2.3. Importancia clínica y ambiental:

- ***Aspergillus niger*:** Este hongo es conocido por causar diversas infecciones en humanos, como otitis externa (infección en el oído), aspergilosis pulmonar (infección en los pulmones) y contaminación de alimentos, debido a su capacidad para proliferar en ambientes con alto contenido de humedad. (24)



Figura 3. Características Macroscópicas de *A. Niger*

* Behera (24)

- ***Aspergillus flavus*:** Esta especie es reconocida como un productor de aflatoxinas, unas micotoxinas altamente peligrosas, especialmente en alimentos y granos almacenados. (25)
Las aflatoxinas son conocidas por sus efectos hepatotóxicos y hepatocarcinógenos, lo que las convierte en un riesgo significativo para la salud humana y animal. (26)



Figura 4. Características Macroscópicas de *A. Flavus*.

* Salehi (25)

1.2.4. Resistencia antifúngica:

Los hongos del género *Aspergillus* presentan varios mecanismos de defensa que les permiten resistir los tratamientos antifúngicos. (27) Estos incluyen:

- **Formación de esporas:** las esporas (conidios) son altamente resistentes a condiciones adversas, lo que permite a los hongos sobrevivir en ambientes extremos y resistir tratamientos.
- **Formación de biofilms:** los biofilms son comunidades de microorganismos adheridos a superficies, que se agrupan y protegen bajo una matriz extracelular. Esta formación aumenta la resistencia del hongo a los antifúngicos y dificulta su erradicación.

1.2.5. Cepa de referencia ATCC:

Una cepa de referencia ATCC (American Type Culture Collection) es una cepa estándar utilizada en estudios microbiológicos. Estas cepas se almacenan y distribuyen para garantizar la uniformidad y reproducibilidad en los estudios científicos. (28) Las cepas ATCC son fundamentales en investigaciones y ensayos de actividad antifúngica, ya que permiten la comparación y evaluación de los efectos de diversos tratamientos y compuestos sobre cepas bien caracterizadas (29).

1.3. Actividad antifúngica

1.3.1. Concepto general:

La actividad antifúngica se refiere a la capacidad de una sustancia o compuesto para inhibir el crecimiento o destruir hongos patógenos. Esta propiedad es fundamental en el desarrollo de

tratamientos para infecciones fúngicas, tanto en humanos como en animales, y se explora en diversos productos naturales (30)

1.3.2. Método de microdilución o macrodilución (para determinar CMI y CMB):

Los métodos de microdilución y macrodilución se utilizan para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF) de un compuesto. (31)

- En microdilución, pequeñas cantidades de antimicrobiano se diluyen en un formato de placa de 96 pocillos, y cada pocillo contiene una cantidad conocida de hongo.
- En macrodilución, el procedimiento es similar, pero se realiza en tubos de ensayo más grandes, lo que facilita la manipulación de grandes volúmenes de solución. (32)

1.3.3. Pruebas fitoquímicas cualitativas:

Las pruebas fitoquímicas cualitativas se utilizan para detectar la presencia de diversos compuestos bioactivos en el propóleo. Estas pruebas incluyen:

- **Detección de flavonoides:** generalmente, se realizan con reactivos que producen un cambio de color cuando entran en contacto con flavonoides (33).
- **Detección de taninos:** los taninos se pueden detectar mediante reacciones que producen un color característico (34).
- **Detección de alcaloides:** los alcaloides se identifican por su capacidad para formar complejos con reactivos específicos, lo que produce cambios visibles (35).

1.4. Relevancia del estudio

1.4.1. Importancia del desarrollo de alternativas naturales frente a antifúngicos sintéticos:

Es debido a la creciente preocupación por la resistencia antifúngica, un problema global que afecta tanto a humanos como a animales. A medida que los microorganismos desarrollan resistencia a los tratamientos convencionales, los antifúngicos sintéticos se vuelven menos efectivos, lo que incrementa el riesgo de infecciones crónicas y complicaciones en los pacientes. Además, el uso de estos recursos naturales fomenta prácticas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente, ofreciendo una alternativa prometedora en el ámbito terapéutico (36).

1.4.2. Resistencia microbiana creciente y búsqueda de productos naturales eficaces: En las últimas décadas, la resistencia microbiana ha aumentado significativamente, lo que ha reducido la eficacia de muchos antibióticos y antifúngicos sintéticos. Ante este panorama, los productos naturales, como el propóleo, han atraído la atención debido a sus propiedades bioactivas, que

incluyen la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos patógenos sin los efectos secundarios y la resistencia asociados con los productos sintéticos (37).

1.4.3. Aportes al conocimiento sobre el propóleo de Arequipa y su potencial terapéutico:

El propóleo, ha mostrado un gran potencial terapéutico, particularmente por sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas. A través de estudios científicos y fitoquímicos, se ha identificado que el propóleo de esta región contiene una composición química única que incluye flavonoides, ácidos fenólicos y otros compuestos bioactivos. Además, investigaciones sobre la variabilidad regional del propóleo en Arequipa han demostrado que las condiciones climáticas, la flora local y los métodos de recolección influyen directamente en su composición y, por ende, en su efectividad terapéutica (38).

2. Antecedentes investigativos

2.1. Antecedentes Internacionales

En la investigación titulada “The effect of Propolis on inhibition of *Aspergillus parasiticus* growth, aflatoxin production and expression of aflatoxin biosynthesis pathway genes” publicado en el año 2020 por Hosseini H. Pour S y colaboradores, encontraron que las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del propóleo fueron de 100 µg/mL. Los niveles totales de aflatoxina disminuyeron de 386.1 ppm a 3.01 ppm con 50 µg/mL de propóleo, concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica. (39)

En la investigación titulada “In vitro activity of Propolis alcoholic extract on opportunistic pathogenic fungi” publicado en el año 2018 por Diba K. Mahmoodi M y colaboradores, encontraron que la concentración de 0.0312 g/dl fue parcialmente activa contra *Aspergillus fumigatus* y la dilución de 0.125 g/dl fue activa sobre *Aspergillus niger*. En el método de dilución en agar, se observaron cambios en las características morfológicas y efectos cuantitativos en las colonias, dependiendo de la dilución del extracto, concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica ante *C albicans* y *Aspergillus*. (40)

En la investigación titulada “Effect of the Solvent on Propolis Phenolic Profile and its Antifungal, Antioxidant, and In Vitro Cytoprotective Activity in Human Erythrocytes Under Oxidative Stress” publicado en el año 2020 por Wozniak M. Mrówczy L. y colaboradores, encontraron que los extractos presentaron potencial antioxidante y

protegieron significativamente los glóbulos rojos humanos contra el daño oxidativo. En cuanto a la actividad antifúngica, esta dependió del disolvente utilizado y de las cepas fúngicas evaluadas, concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica ante *Aspergillus*. (41)

En la investigación titulada “The activity of propolis against pathogenic fungi isolated from human infections” publicado en el año 2023 por Wolska K y Antosik K., encontraron que el propóleo exhibe una potente actividad antifúngica, eficaz contra una variedad de hongos patógenos, incluidos aquellos resistentes a tratamientos convencionales. Sus flavonoides y ácidos fenólicos demostraron ser responsables de esta actividad, concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica ante *Aspergillus*. (42)

En la investigación titulada “Activity of propolis from Mexico on the proliferation and virulence factors of *Candida albicans*” publicado en el año 2023 por Rodriguez M. Medina Y. y colaboradores, encontraron que el propóleo inhibió en un 50% la formación de tubos germinales a la concentración de CMI del 25%. Además, afectó la integridad de la membrana celular y redujo significativamente la expresión del gen INT1, que codifica para una adhesina. concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica ante *C. albicans*. (43)

2.2. Antecedentes Nacionales

En la investigación titulada “Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a *Candida albicans* de pacientes con candidiasis vulvovaginal” publicado en el año 2022 por Rodríguez G., encontraron que el extracto de propóleo inhibió la totalidad de las cepas de *C. albicans*, al igual que el fluconazol. Sin embargo, el efecto del fluconazol fue significativamente mayor que el del extracto de propóleo, concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica. (44)

En la investigación titulado “Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de propóleo del Cusco sobre *Candida albicans* ATCC 10231” publicado en el año 2021 por Medina A., obteniendo que los halos de inhibición fueron: 9.49 mm 5 mg/mL, 11.31 mm para 15 mg/mL, 15.02 mm. El control positivo presentó un halo de 17 mm.

concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica ante *C. albicans*. (45)

En la investigación titulado “Efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25 %, 55 % y 85 % sobre cepas de *Candida albicans* Arequipa” publicado en el año 2021 por Marín D. y Encalada L., encontraron que *C. albicans*. presentó sensibilidad ante al extracto etanólico de propóleos a las concentraciones de 25%, 55% y 85%, con una diferencia significativa ($p=0.000$), concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antifúngica ante *C. albicans*. (46)

En la investigación titulado “Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del propóleo frente a *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*” publicado en el año 2023 por Chumbiray M. y Ochoa C., encontraron catequinas, alcaloides, fenoles, glicósidos cardiotónicos, resinas, antocianidinas, taninos, entre otros. La CMI del propóleo crudo fue de 0.902 mg/mL ante a *K. pneumoniae* y 0.451 mg/mL frente a *S. aureus*, concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antimicrobiana ante *S. aureus* y *K. pneumoniae*. (47)

En la investigación titulada “Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de *Streptococcus mutans*” publicado en el año 2023 por Heredia N., encontraron que al 5%, 10% y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre *S. mutans*, logró inhibir el crecimiento, concluyendo que el extracto de propóleo presenta acción antimicrobiana ante *S. mutans*. (48)

CAPÍTULO II
MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de investigación:

La presente investigación se realizó en los Laboratorios de la Universidad Católica de Santa María en donde se preparó el extracto etanólico del propóleo, asimismo se realizó los análisis organoléptico, fisicoquímicos, marcha fitoquímica, concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF).

La recolección de propóleo se llevó a cabo en el pueblo de Ramal de latitud: -16.47729° o $16^{\circ} 28' 38''$ sur, longitud: -71.81901° o $71^{\circ} 49' 8''$ oeste, altitud: 1,571 m.s.n.m., en el distrito de La Joya, Provincia de Arequipa, Departamento de Arequipa. La Joya es una zona agrícola que se beneficia del riego proveniente del río Chili, lo que permite el cultivo de diversas especies vegetales. Sin embargo, debido a su clima predominantemente seco, la flora de la zona está compuesta principalmente por plantas resistentes a la sequía y vegetación adaptada a condiciones de estrés hídrico. (49)



Figura 5. La Joya (Arequipa)

* Arenas (49)

Por otro lado, la segunda muestra de propóleo se llevó a cabo en el pueblo de La Caleta de latitud: -16.4566° o $16^{\circ} 27' 24''$ sur, longitud: -71.91332° o $71^{\circ} 54' 48''$ oeste, altitud: 1,206 m.s.n.m., en el distrito de Vitor, Provincia de Arequipa, Departamento de Arequipa. Esta área también pertenece a la región de clima semiárido, y su actividad agrícola se basa en cultivos como el maíz, alfalfa y hortalizas, que se realizan bajo sistemas de riego. La flora de Vitor está caracterizada por plantas xerofíticas, adaptadas a la escasez de agua, y cuenta con un ecosistema de vegetación que es fuente importante de resinas y savia para la producción de propóleo (50).

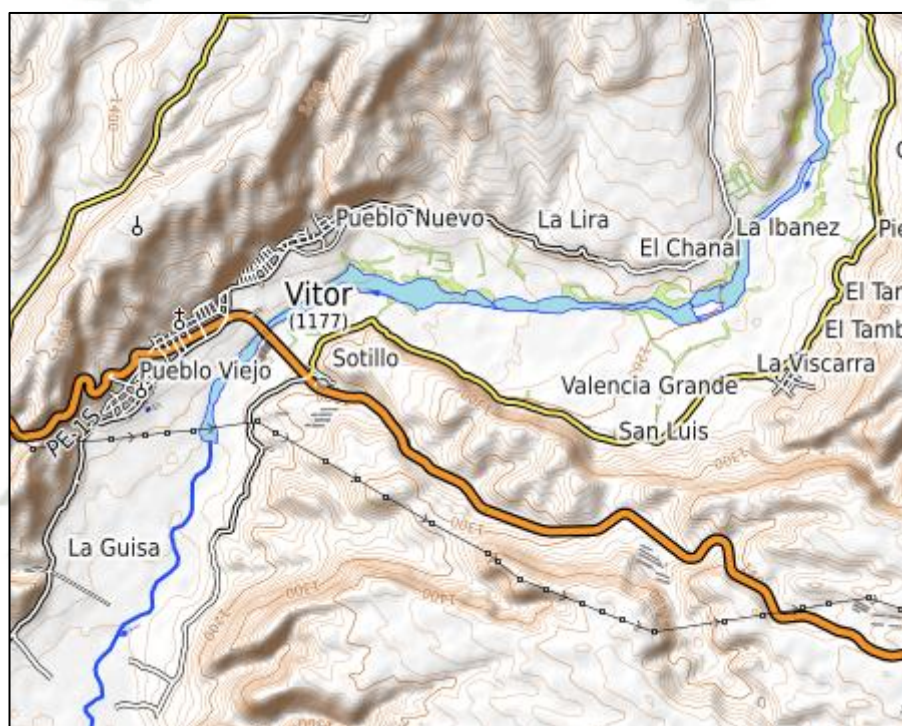


Figura 6. Vitor (Arequipa)

* Topographicmap (50).

2. Materiales:

2.1. Materiales de verificación:

- Tubos estériles con tapa rosca
- Puntas para micropipeta
- Micropipetas 10-100 μL y 100 - 1000 μL
- Frascos de vidrio con una capacidad de 1000 mL con tapa rosca
- Vasos de precipitado
- Embudos

- Papel filtro
- Placas Petri
- Matraz
- Probeta
- Bagueta
- Espátula

2.2. Insumos utilizados

2.2.1 Medios de cultivo

- Agar Dextrosa Sabouraud
- Caldo Dextrosa Sabouraud
- Suero fisiológico NaCl 0.9%

2.2.2 Material biológico

- *Aspergillus niger* ATCC 16888: Se obtuvo de Microbiologics
- *Aspergillus flavus* ATCC 9643: Se obtuvo de Microbiologics
- Propóleo: Fue recolectado en los distritos de La Joya y Vitor.

2.3 Solventes y reactivos

- Etanol al 70°
- Agua destilada
- Dragendorff
- Mayer
- Liebermann-Burchard
- Shinoda
- Cloruro férrico
- Reactivo de Folin-Ciocalteu

2.4. Equipos

Equipo	Marca	Modelo	Serie	Características
Autoclave	EASTERN MEDICAL	EA-652	6528108-167	Potencia: 1000 w Temperatura/ Presión de esterilización: 121°C
Incubadora	MEMMERT	INB200	E213.0301	Tensión: 230 v, 50-60 hz Potencia: 440 w Rango de temperatura: 0°C a +70°C
Potenciómetro	HANNA	HI2221	501566	Rango: -2.0 a 16.0 pH Resolución: 0.01 pH Precisión: ±0.01 pH
Rotavapor	BUCHI	RII	-	Voltaje: 100-240 v, 50/60 hz; Potencia: 60 w
Espectrofotómetro UV-VIS	KYNTEL	KV1100	K39202110099	Rango de longitud de onda: 195 – 1020 nm Ancho de la banda espectral: 5nm Precisión de longitud de onda: 1nm Precisión fotométrica: ±0.5% T
Balanza electrónica	OHAUS	SCOUT PRO SP 202	B224010618	Capacidad: 200 g Sensibilidad: 0.01 g Tiempo de estabilización: 3 seg. Rango de temperatura: 10° a 40°C

3. Métodos

3.1. Procesamiento del propóleo

3.1.1 Recolección del propóleo de ambos orígenes

- Se recolectó el propóleo en el mes de abril ya que en esta época es mayor la propolización.
- Esta recolección se realizó utilizando el método de rejilla.
- Se colocó en una caja de tecnopor la cual estaba debidamente rotulada con la hora, lugar y fecha de recolección y luego fue llevada a los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María.

3.1.2 Acondicionamiento de la muestra del propóleo

- Se eliminó las impurezas que estaban adheridas al propóleo, este proceso se realizó usando pinzas para poderlo realizar cuidadosamente.
- Se utilizó agua destilada a temperatura ambiente y con ayuda de las pinzas se terminó de sacar los restos de abejas encontrados, realizando el proceso dos veces.
- Se seco el propóleo a temperatura ambiente, en un lugar oscuro y ventilado.

3.1.3 Preparación del extracto del propóleo de ambos orígenes

- Se tomó 1 kilo de propóleo de los distritos de La Joya y Vitor, se cortó en trozos y se trituroó con ayuda de un mortero hasta conseguir partículas más pequeñas.
- Se pesó 206 gr de propóleo de La Joya y 188 g de Vitor y se colocó en dos frascos de vidrio estéril de 1000 mL, se añadió 600 mL de alcohol de 70° cubriendo todo el propóleo, y se recubrió completamente todo el frasco con papel aluminio para aislarlo de la luz; dejándolo macerar por 15 días a temperatura ambiente, y se agitó tres veces al día por un lapso de 10 minutos (43).
- Completado el tiempo de maceración, se retiró la envoltura de papel aluminio y se procedió a realizar la filtración de la solución varias veces utilizando un embudo, un matraz Erlenmeyer y doble papel filtro Whatman N°42 para obtener el extracto etanólico de propóleo.

- Se utilizó el rotavapor a una temperatura de 60°C para eliminar el etanol y obtener extracto seco de propóleo.

3.2 Análisis organoléptico del propóleo

- **Preparación de la muestra:** Extraer una pequeña cantidad de propóleo y colocarlo en un recipiente limpio y seco.
- **Evaluación del olor:** Percibir el olor directamente, registrando si es aromático, resinoso o característico del propóleo.
- **Evaluación del color:** Observar el color bajo luz natural y compararlo con las descripciones estándar (amarillo oscuro, marrón o rojizo).

3.3 Rendimiento del extracto etanólico

2.1.1. Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico del propóleo

- Se pesó 206 g de La Joya y 188 g de Vitor de materia prima (m_1).
- Se evaporó el solvente (etanol 70°) usando un rotavapor a 60° de temperatura.
- Se pesó el extracto seco obtenido (m_2),
- **Cálculo del rendimiento:** $\text{Rendimiento (\%)} = (m_2 / m_1) \times 100$
- **Registro:** Anotar el porcentaje obtenido.

3.4 Análisis fisicoquímico y fitoquímico

3.4.1 pH

- **Preparación de la muestra:** Se diluyó 1 g del extracto en 10 mL de agua destilada.
- **Calibración del equipo:** Se calibró el potenciómetro con soluciones buffer estándar (pH 4.0, 7.0, 10.0).
- **Medición:** Se introdujo el electrodo del pH-metro en la solución preparada.

3.4.2 Nivel de humedad del extracto etanólico del propóleo

- Se pesó 5 g del extracto en una cápsula previamente tarada.
- Se Colocó la cápsula con la muestra en una estufa a 105 °C durante 3 horas.
- Se procedió a transferir la cápsula a un desecador hasta que enfríe, luego pesarla.
- **Cálculo del porcentaje de humedad:**

$$\text{Humedad (\%)} = (\text{Peso inicial} - \text{Peso final} / \text{Peso inicial}) \times 100$$

3.5 Marcha fitoquímica

Se utilizó el extracto etanólico del propóleo en cada tubo, utilizando 8 tubos (4 para el extracto etanólico de la Joya y 4 para el extracto etanólico de Vitor).

Tabla 2. Metabolitos secundarios

METABOLITO	ENSAYO	PROCEDIMIENTO	COLORACIÓN
Alcaloides	Dragendorff	2mL de extracto + 1mL de reactivo	Rojo- anaranjado
Taninos	Cloruro férrico	1mL del extracto + 2mL H ₂ O destilada + 2mL de cloruro férrico	Azul
Flavonoides	Shinoda	1mL del extracto + 1 mL de HCl concentrado + virutas de magnesio + 1 mL de alcohol amílico	Amarillo claro o pardo
Terpenos	Liebermann - Burchard	1mL del extracto + 1mL de cloroformo + 1 mL de anhídrido acético + 2 gotas de ácido sulfúrico.	Verde oscuro – negro

* Investigación fitoquímica (51)

- **Observación de resultados:** Registrar la presencia (coloración específica o precipitado) o ausencia del metabolito secundario.

3.5.1 Determinación de fenoles totales

- Se mezcló 0.5 mL de la muestra con 2.5 mL de Folin-Ciocalteu, después de 5 minutos, se añadió 2 mL de carbonato de sodio. Se incubó la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- Se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a 760 nm.

- Se cuantificó los compuestos fenólicos totales usando una curva de calibración con ácido gálico (mg EAG g^{-1}).

3.6. Actividad antifúngica

3.6.1 Preparación del medio de cultivo

Se preparó agar Sabouraud dextrosa a partir del medio deshidratado con agua destilada de acuerdo a las instrucciones del fabricante (65 gramos para 1 litro de agua destilada). Obteniendo un pH de 7.3, luego se calentó en la cocina y enseguida se llevó autoclavar, después de retirar del autoclave con el mechero bunsen prendido se procedió a plaqu coastar 4 placas de vidrio.

3.6.2 Activación de cepas

Las cepas liofilizadas de *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* se encontraban refrigeradas entre 4- 8°C, se sembraron en 4 placas de vidrio con agar Sabouraud dextrosa. Luego de 10 días de incubación a 25°C – 28°C están listos para ser utilizados.

3.6.3 Preparación del inóculo

- A partir de la concentración de 1 de la escala de McFarland que se encuentra al 3×10^8 UFC se realizaran diluciones.
- Se tomó colonias puras del microorganismo *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%) de tal manera que la solución resultante tuvo una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la escala de McFarland (escala turbidimétrica que consiste en una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración aproximada de una solución bacteriana) de concentración 3×10^8 UFC/mL.

ESCALA MCFARLAND

Nº	BaCl ₂ 0,048M ml	H ₂ SO ₄ 0,36M ml	Vf ml	Nº Células
0,5	0,05	9,95	10	1,5 · 10 ⁸
1	0,1	9,9	10	3 · 10 ⁸
2	0,2	9,8	10	6 · 10 ⁸
3	0,3	9,7	10	9 · 10 ⁸
4	0,4	9,6	10	12 · 10 ⁸
5	0,5	9,5	10	15 · 10 ⁸
6	0,6	9,4	10	18 · 10 ⁸
7	0,7	9,3	10	21 · 10 ⁸
8	0,8	9,2	10	24 · 10 ⁸
9	0,9	9,1	10	27 · 10 ⁸
10	1	9	10	30 · 10 ⁸

Figura 7. Escala de McFarland

* Instituto Nacional de Salud (52)

- A partir de esta última solución se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomó 3 mL y se diluyó a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca, todos los materiales usados estaban estériles y también el área de trabajo. La solución resultante tuvo una concentración de 1×10^8 UFC/mL. De esta solución se tomó 100 uL y se diluyó con 9.9 mL de suero fisiológico. La concentración de los *Aspergillus* final fue de 1×10^6 UFC/mL.

3.6.4 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se utilizó el método de macrodilución, este método se basa en la presencia o ausencia del crecimiento de un microorganismo en un caldo en presencia de una concentración de un antifúngico, se comprueba visualmente si los tubos presentan turbidez. En el cual el procedimiento es el siguiente:

- Se preparó 7.56 g caldo Sabouraud dextrosa a partir del medio deshidratado con 252 mL agua destilada de acuerdo con las instrucciones del fabricante (30 gramos para 1 litro de agua destilada).
- El caldo preparado tubo un pH 7,3. y se lleva autoclavar.
- En un ambiente estéril se llenó los tubos con caldo Sabouraud dextrosa de la siguiente manera: al primer tubo se le agregó 8mL y a los tubos del 2 al 10 se le añadió 5mL.

- Se hicieron dos tubos controles, a ambos se le añadió 5 mL de caldo Sabouraud dextrosa.
- El extracto etanólico de propóleo de Vitor y de la Joya se trabajaron a 10 concentraciones respectivamente las cuales fueron: 2%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125%, 0.0625%, 0.03125%, 0.015625%, 0.0078125% y 0.00390%.
- Se diluyó 2 gramos del propóleo en polvo con 2 mL de dimetilsulfóxido (DMSO).
- Al primer tubo se le añade 2 mL del propóleo de Vitor por lo que los tubos N°1 deben tener 8 mL de caldo Sabouraud dextrosa.
- Luego de mezclar bien se retiró 5 mL del tubo N°1 y se colocó en el tubo 2 de esta manera la concentración se redujo a la mitad.
- Se repitió este procedimiento para ir reduciendo la concentración del propóleo a la mitad desde el tubo 2 al 10.
- Al tubo 10 también se le retiró 5 mL y se desechó para que todos los tubos tengan 5mL.
- Posteriormente se quitó a todos los tubos 100 uL para añadir el inóculo.
- Todo este procedimiento se realizó tanto con el extracto etanólico de propóleo de la Joya como con el extracto etanólico de propóleo de Vitor.
- En total fueron 48 tubos, 20 tubos para el extracto etanólico de propóleo de Vitor y 20 tubos para el extracto etanólico de propóleo de la Joya. Los 8 tubos restantes son para el control positivo y negativo. A 10 tubos se le añadió 100 uL de la dilución 1×10^6 UFC/mL de *Aspergillus niger* y los otros 10 tubos con *Aspergillus flavus* para cada extracto
- Para realizar el control positivo a un tubo con caldo Sabouraud dextrosa se le agregó 100 uL de la dilución de la cepa. Esto sirvió para comprobar el crecimiento de la cepa en el medio y de esa forma evitar falsos negativos.
- El control negativo fue caldo Sabouraud dextrosa sin extracto ni cepa, esto sirvió para tener una referencia del color del caldo para determinar el crecimiento de los hongos. Además sirvió para descartar una posible contaminación del caldo.
- Los 48 tubos de las muestras y los dos tubos controles fueron almacenados a temperatura ambiente durante 72 horas.

- Después de las 72 horas de incubación, cada tubo fue examinado. Como referencia de resultado positivo o negativo se usaron sus controles.
- Los tubos que presentaron turbidez se consideraron como positivos (+) para crecimiento fúngico y los que no presentaron como negativos (-).
- Observar el crecimiento en cada tubo. Verificar la turbidez o presencia de crecimiento fúngico en cada tubo. Determinar la CMI como la concentración más baja en la que no se observe crecimiento visible.

Tabla 3. Diseño experimental frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643 según el método de Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Grupo Experimental	Tratamiento Aplicado	Concentración del Extracto	Observación
Control Negativo	Solo caldo Sabouraud dextrosa	Sin extracto	Inhibición esperada
Control Positivo	Caldo Sabouraud dextrosa con cepa + DMSO	Sin extracto	Crecimiento esperado
Tratamiento 1	Extracto del propóleo + hongo	2 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 2	Extracto del propóleo + hongo	1 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 3	Extracto del propóleo + hongo	0.5 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 4	Extracto del propóleo + hongo	0.25 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 5	Extracto del propóleo + hongo	0.125 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 6	Extracto del propóleo + hongo	0.0625 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 7	Extracto del propóleo + hongo	0.03125 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 8	Extracto del propóleo + hongo	0.015625 %	Inhibición o crecimiento

Tratamiento 9	Extracto del propóleo + hongo	0.0078125 %	Inhibición o crecimiento
Tratamiento 10	Extracto del propóleo + hongo	0.00390625%	Inhibición o crecimiento

* Elaboración propia

3.6.5 Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF)

La concentración mínima fungicida se determinó a partir de la a concentración mínima inhibitoria.

- Se prepararon placas de agar Sabouraud dextrosa.
- En el tubo N°1 se introdujo un hisopo y este se sembró en una placa agar Sabouraud dextrosa, de la misma forma se hizo a un tubo el cual presentó turbidez y los tubos anteriores a este, por último se hizo el mismo procedimiento al tubo N° 11.
- Se incubaron las placas a temperatura ambiente por 72 horas.
- Posteriormente se observó el crecimiento de las cepas.

3.7 Análisis estadístico

- Se utilizó SPSS para cargar la hoja de cálculo con los datos obtenidos durante los ensayos.
- Se eligió la opción de "T de student " en SPSS.
- Se realizó la Prueba T para evaluar si existían diferencias significativas entre los dos lugares de recolección.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIONES

Esta investigación evaluó la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de propóleo frente a las cepas *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643, recolectadas en los distritos de La Joya y Vitor de Arequipa. Se recolectaron 3 k de propóleo en total, siendo 1.5 k de cada origen, durante el mes de abril del 2025, en dos días diferentes aproximadamente a las 11 am. Las muestras se almacenaron en envases estériles y herméticamente cerrados para su conservación a temperatura ambiente, protegiéndolas adicionalmente de la luz solar. El objetivo fue determinar el potencial del propóleo como agente antifúngico, ofreciendo una alternativa natural para el control de infecciones fúngicas.

1. Análisis organoléptico

Tabla 4. Análisis organoléptico del propóleo de 2 orígenes

Distrito de procedencia	m.s.n.m.	Temperatura (°C)	Olor	Color
La Joya	1571	29°C	Aromático intenso, característico del propóleo	Marrón
Vitor	1206	31°C	Aromático suave, característico del propóleo	Marrón con manchas amarillas

* Elaboración propia



Figura 8. Propóleo de Vitor y de La Joya

* Elaboración propia

El análisis organoléptico mostró ligeras variaciones entre ambos propóleos. El de La Joya presentó un aroma más intenso a diferencia que del propóleo de Vitor, y como se ve en la imagen el propóleo de Vitor presenta dos coloraciones mientras que el de La Joya es color marrón, diferencias que podrían atribuirse a la flora local y a las condiciones ambientales de cada distrito.

2. Obtención y Rendimiento del extracto etanólico

Se realizó la obtención del extracto etanólico por el método de maceración, después de haber obtenido el extracto, este fue llevado al rotavapor y de esa forma se evaporó el solvente para calcular el rendimiento.

Tabla 5. Rendimiento del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vitor – Arequipa

Distrito de procedencia	Masa inicial (m_1)	Masa del extracto seco (m_2)	Rendimiento (%)
La Joya	206 g	97.87 g	47.51 %
Vitor	188 g	87.55 g	46.57 %

* Elaboración propia

Terminando el proceso del rotavapor se obtuvo el extracto seco el cual tenía un color uniforme. El rendimiento del extracto de propóleo fue ligeramente mayor el procedente de La Joya (47.51 %) en comparación con la de Vitor (46.57%). Esta diferencia puede atribuirse a variaciones en la composición química del propóleo crudo y en el contenido de resinas y ceras, influenciadas por la flora y condiciones ambientales de cada distrito.

3. Análisis fisicoquímico y fitoquímico

3.1 Nivel de pH

Tabla 6. Nivel de pH del propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vítor – Arequipa

Distrito de procedencia	pH	Condición del medio
La Joya	4.8	Ligeramente ácido
Vítor	5.0	Ligeramente ácido

* Elaboración propia

El pH del propóleo presentó valores ligeramente ácidos en ambas muestras, siendo 4.8 en La Joya y 5.0 en Vítor, lo cual concuerda con el rango esperado para propóleos naturales, favoreciendo su estabilidad. Esta ligera diferencia se podría deber a la variabilidad de su composición química e influencia de factores como el origen botánico.

3.2. Humedad

Tabla 7. Nivel de humedad del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vítor – Arequipa

Distrito de procedencia	Nivel de humedad (%)
La Joya	3.78
Vítor	4.00

* Elaboración propia

El extracto etanólico de propóleo presentó un nivel de humedad de 3.78% en La Joya y 4.00% en Vítor, valores adecuados que indican un secado eficiente del producto. Estos resultados garantizan la estabilidad del extracto, evitando el crecimiento microbiano y la degradación de los compuestos bioactivos. Esta diferencia se podría deber a factores de origen botánico, época del año y condiciones ambientales en que las abejas recolectan.

3.3. Marcha fitoquímica

Tabla 8. Análisis fitoquímico del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vítor – Arequipa

Metabolito secundario	Prueba empleada	Resultado (La Joya)	Resultado (Vítor)
Alcaloides	Dragendorff	Positivo 	Positivo 
Taninos	Cloruro férrico	Positivo 	Positivo 
Flavonoides	Shinoda	Positivo 	Positivo 
Terpenos	Liebermann–Burchard	Positivo 	Positivo 

* Elaboración propia

El análisis fitoquímico reveló la presencia de metabolitos secundarios importantes en ambos extractos de propóleo, con variaciones leves en su intensidad. El propóleo de La Joya presentó mayor intensidad de color en taninos, flavonoides y alcaloides, mientras que el de Vítor mostró una respuesta más intensa en terpenos, lo que podría reflejar diferencias en la flora melífera de cada zona. La presencia de estos compuestos bioactivos respalda el potencial terapéutico del propóleo arequipeño.

Tabla 9. Determinación de contenido de fenoles totales según en el método de Folin-Ciocalteu del extracto etanólico de propóleo recolectado de los distritos de La Joya y Vítor – Arequipa

Muestra	Absorbancia (760 nm) bruta	Absorbancia del blanco (760 nm)	Absorbancia neta (760 nm)	Concentración equivalente de ácido gálico (mg GAE/mL)	Fenoles totales (mg GAE/g EEP)	Absorbancia (420 nm) bruta	Absorbancia neta (420 nm)	Flavonoides totales (mg QE/g EEP)
EEP – Vítor	0.545	0.03	0.515	80.0	199.0 ± 4.3	0.472	0.442	91.9 ± 2.8
EEP – La Joya	0.498	0.03	0.468	72.7	180.8 ± 3.9	0.398	0.368	76.6 ± 3.1

* Elaboración propia

Los resultados presentados en la tabla 9 evidencian que el extracto etanólico de propóleo (EEP) recolectado en el distrito de Vítor presenta un contenido significativamente mayor de fenoles totales (199.0 ± 4.3 mg GAE/g EEP) y flavonoides totales (91.9 ± 2.8 mg QE/g EEP) en comparación con el propóleo proveniente del distrito de La Joya (180.8 ± 3.9 mg GAE/g EEP y 76.6 ± 3.1 mg QE/g EEP, respectivamente). Este resultado indica que el propóleo de Vítor posee una mayor riqueza en compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales son metabolitos secundarios con reconocida actividad antioxidante, antimicrobiana, antifúngica y antiinflamatoria. Las diferencias observadas pueden atribuirse principalmente al origen botánico del propóleo, ya que las abejas recolectan resinas de diferentes especies vegetales según la flora disponible en cada zona; en Vítor podrían predominar especies ricas en compuestos fenólicos como *Baccharis* spp., *Eucalyptus* spp. o *Schinus molle*. Asimismo, factores ambientales y climáticos, como la mayor radiación solar, menor humedad relativa y características del suelo propias de Vítor, pueden inducir un aumento en la síntesis de fenoles y flavonoides en las plantas, lo que se refleja en una composición química más concentrada en los propóleos de esa zona. Además, las diferencias en el contenido de cera, polen y resina del propóleo pueden influir en la eficiencia extractiva del etanol solvente utilizado en la maceración, afectando la cantidad final de compuestos bioactivos extraídos

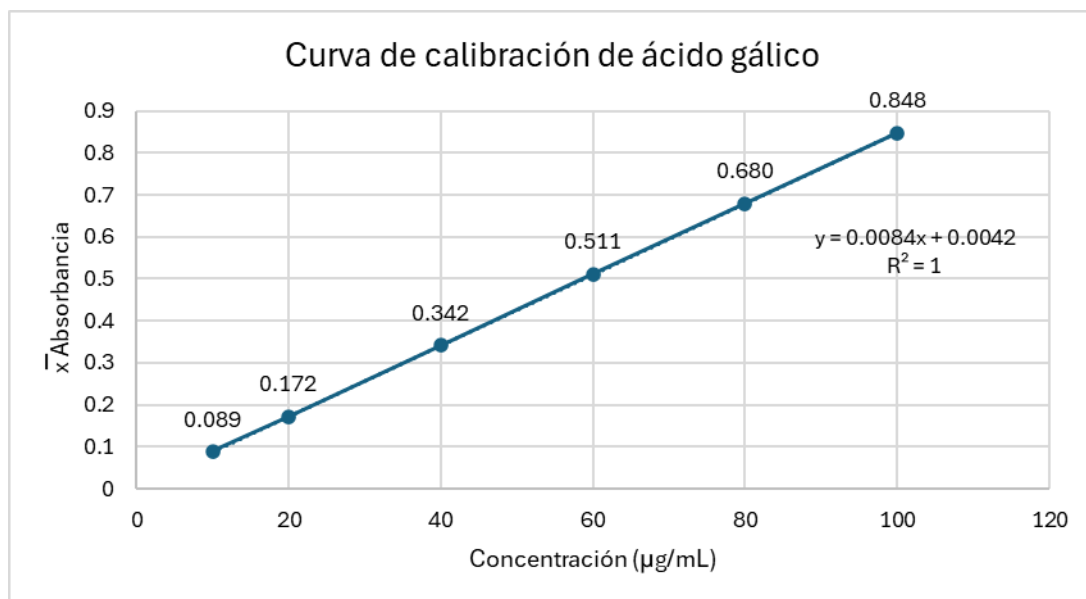


Figura 9. Curva de calibración de ácido gálico

* Elaboración propia

La figura de la curva de calibración de ácido gálico mostrado corresponde al análisis de determinación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu en extractos etanólicos de propóleo obtenidos de La Joya y Vítor, Arequipa. La gráfica muestra cómo la absorbancia promedio (eje Y) se incrementa de manera lineal conforme aumenta la concentración de ácido gálico (eje X), siguiendo la ecuación $y = 0.0084x + 0.0042$ con un coeficiente de determinación ($R^2 = 1$), lo que indica una excelente correlación y fiabilidad en el rango evaluado

Relacionando la figura con la tabla 9, se observa que las muestras de propóleo presentan absorbancias netas de 0.515 (Vítor) y 0.468 (La Joya) medidas a 760 nm. Estas absorbancias caen dentro del rango lineal de la curva de calibración. La muestra de Vítor con absorbancia neta de 0.515 se corresponde con una concentración calculada de ácido gálico de 80.0 mg GAE/mL, mientras que la muestra de La Joya con absorbancia de 0.468 se asocia a una concentración de 72.7 mg GAE/mL.

4. Método de macrodilución

Tabla 10. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor - Arequipa frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643

Extracto etanólico de propóleo de Vitor – Arequipa					
Tubo	Concentración	CMI frente <i>Aspergillus niger</i>	CMF frente <i>Aspergillus niger</i>	CMI frente <i>Aspergillus flavus</i>	CMF frente <i>Aspergillus flavus</i>
		Turbidez	Crecimiento en placa	Turbidez	Crecimiento en placa
1	2 %	-	-	-	-
2	1 %	-	-	-	-
3	0.5 %	-	-	-	CMF
4	0.25 %	-	-	CMI	+
5	0.125 %	-	-	+	+
6	0.0625 %	-	-	+	+
7	0.03125 %	-	CMF	+	+
8	0.015625 %	-	+	+	+
9	0.0078125 %	CMI	+	+	+
10	0.00390625 %	+	+	+	+
11	Control negativo (solo caldo Sabouraud dextrosa)		-	-	-
12	Control positivo (caldo Sabouraud dextrosa con cepa + DMSO)		+	+	+

Leyenda:

(-) sin crecimiento / sin turbidez

(+) presencia de crecimiento o turbidez

CMI = concentración mínima inhibitoria

CMF = concentración mínima fungicida

El extracto etanólico de propóleo procedente del distrito de Vitor – Arequipa mostró una marcada actividad antifúngica frente a *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643, evidenciándose que para *A. niger* la concentración mínima inhibitoria (CMI) se alcanzó a una concentración de 0.0078125 % y la concentración mínima fungicida (CMF) a 0.03125 %, mientras que para *A. flavus* la CMI fue de 0.25 % y la CMF de 0.5 %. Estos resultados evidencian que el propóleo de Vitor posee una acción de tipo fungicida, de igual forma indica que la concentración que inhibe el crecimiento del hongo también es cercana a la que provoca su destrucción total. Se observa además que *A. niger* presentó mayor sensibilidad al extracto que *A. flavus*, lo cual puede deberse a diferencias en la composición de la pared celular y a mecanismos de resistencia propios de cada especie. La acción antifúngica del propóleo se atribuye a su contenido de flavonoides, ácidos fenólicos y ésteres fenólicos, compuestos con capacidad para alterar la permeabilidad de la membrana celular, desestabilizar proteínas de la pared fúngica y generar daño oxidativo irreversible.

Tabla 11. Prueba T de Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de Vitor frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643

Prueba T de muestras independientes							
	T	G l	Sig. (bilate ral)	Diferenci a de medias	Diferenci a de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
Propóleo de Vitor frente <i>Aspergillus niger</i> y <i>Aspergillus flavus</i>	- 13,9 87	4	0,000	- ,2422566 7	,0173205 7	-,29034629	- ,1941670 4

* Elaboración propia

La prueba T evidenció una diferencia significativa ($t = -13.987$; $gl = 4$; $p = 0.000$) entre la actividad antifúngica del extracto etanólico de propóleo de Vitor frente a *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*. Este resultado indica que el extracto presentó una inhibición significativamente mayor sobre *A. niger* en comparación con *A. flavus*, lo que coincide con la menor concentración mínima inhibitoria (CMI) observada para *A. niger*. Biológicamente, esto sugiere que *A. niger* es más sensible a los compuestos activos presentes en el propóleo. Desde el punto de vista fitoquímico, esta mayor eficacia podría atribuirse a la presencia de flavonoides, fenoles y terpenoides, conocidos por su capacidad para alterar la permeabilidad de la membrana celular fúngica y generar estrés oxidativo, lo que respalda el potencial del propóleo de Vitor como fuente natural de agentes antifúngicos efectivos.

Tabla 12. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de La Joya - Arequipa frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643

Extracto etanólico de propóleo de La Joya – Arequipa					
Tubo	Concentración	CMI frente <i>Aspergillus niger</i>	CMF frente <i>Aspergillus niger</i>	CMI frente <i>Aspergillus flavus</i>	CMF frente <i>Aspergillus flavus</i>
		Turbidez	Crecimiento en placa	Turbidez	Crecimiento en placa
1	2 %	-	-	-	CMF
2	1 %	-	-	CMI	+
3	0.5 %	-	-	+	+
4	0.25 %	-	CMF	+	+
5	0.125 %	-	+	+	+
6	0.0625 %	CMI	+	+	+
7	0.03125 %	+	+	+	+
8	0.015625 %	+	+	+	+
9	0.0078125 %	+	+	+	+
10	0.00390625 %	+	+	+	+
11	Control negativo (solo caldo Sabouraud dextrosa)	-	-	-	-
12	Control positivo (caldo Sabouraud dextrosa con cepa + DMSO)	+	+	+	+

Leyenda:

(-) sin crecimiento / sin turbidez

(+) presencia de crecimiento o turbidez

CMI = concentración mínima inhibitoria

CMF = concentración mínima fungicida

El extracto etanólico de propóleo del distrito de La Joya – Arequipa mostró una actividad antifúngica moderada frente a *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643. Para *A. niger*, la CMI fue de 0.0625 % y la CMF de 0.25 %, mientras que para *A. flavus* la CMI se registró en 1 % y la CMF en 2 %. Estos resultados indican una acción fungicida, con mayor sensibilidad de *A. niger* frente al extracto. Las diferencias observadas podrían deberse a variaciones estructurales de la pared celular y a la resistencia intrínseca de cada especie. En conjunto, el propóleo de La Joya demuestra un efecto antifúngico relevante, aunque ligeramente menor que el del propóleo de Vitor, posiblemente por diferencias en su composición química y origen botánico, reflejando la influencia del entorno florístico en la potencia biológica del propóleo.

Tabla 13. Prueba T de Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de La joya frente *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643

	T	Gl	Sig. (bilate ral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
Propóleo de La joya frente <i>Aspergillus niger</i> y <i>Aspergillus flavus</i>	- 9,75 3	4	0,001	- 1,0275667	0,1053568	- 1,3200 840	- ,735049 3

* Elaboración propia

La prueba T de muestras independientes evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($t = -9.753$; $gl = 4$; $p = 0.001$) entre la actividad antifúngica del extracto etanólico de propóleo de La Joya frente a *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*, con una diferencia de medias de -1.0276. Esto indica que el extracto ejerció una inhibición significativamente mayor sobre *A. niger* que sobre *A. flavus*, lo que concuerda con una mayor sensibilidad del primero frente a los compuestos activos del propóleo. Biológicamente, este hallazgo sugiere que *A. niger* presenta una pared celular más susceptible a la acción de los metabolitos secundarios del extracto. Desde el punto de vista fitoquímico, la actividad antifúngica podría estar asociada a la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos y compuestos terpénicos, los cuales actúan desestabilizando la membrana celular fúngica y afectando procesos metabólicos esenciales, lo que respalda el potencial del propóleo de La Joya como fuente natural de agentes antifúngicos eficaces.

Tabla 14. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente *Aspergillus niger* ATCC 16888

<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888					
Tubo	Concentración	CMI de propóleo de Vitor	CMF de propóleo de Vitor	CMI de propóleo de La Joya	CMF de propóleo de La Joya
1	2 %				
2	1 %				
3	0.5 %				
4	0.25 %				CMF
5	0.125 %				
6	0.0625 %			CMI	
7	0.03125 %		CMF		
8	0.015625 %				
9	0.0078125 %	CMI			
10	0.00390625 %				

CMI = concentración mínima inhibitoria

CMF = concentración mínima fungicida

* Elaboración propia

El extracto etanólico de propóleo de los distritos de Vitor y La Joya – Arequipa evidenciaron una clara actividad antifúngica frente a *Aspergillus niger* ATCC 16888, aunque con diferencias en su potencia. Para el propóleo de Vitor, la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 0.0078125 % y la concentración mínima fungicida (CMF) de 0.03125 %, mientras que el propóleo de La Joya presentó una CMI de 0.0625 % y una CMF de 0.25 %. Estos resultados indican que ambos extractos poseen efecto fungicida, pero el propóleo de Vitor mostró mayor eficacia al requerir concentraciones más bajas para inhibir y eliminar el crecimiento del hongo. Esta diferencia puede atribuirse a variaciones en la composición química del propóleo derivadas de las especies vegetales predominantes en cada zona, las cuales influyen en el contenido de flavonoides, ácidos fenólicos y terpenoides. En conjunto, los hallazgos demuestran que el propóleo de Vitor presenta una actividad antifúngica superior, confirmando su potencial como fuente natural de compuestos bioactivos con efecto inhibitor y fungicida frente a *Aspergillus niger*.

Tabla 15. Prueba T de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente *Aspergillus niger* ATCC 16888

	Prueba T de muestras independientes						
	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
Propóleo de Vitor y La joya frente <i>Aspergillus niger</i>	- 229 ,56 4	4	0,000	- ,05469000	,00023823	- ,05535 144	- ,054028 56

* Elaboración propia

La tabla 15 muestra una diferencia significativa entre las CMI del propóleo de Vitor y La Joya frente a *Aspergillus niger* ($p = 0.000$). La CMI del propóleo de Vitor (0.0078125%) fue mucho menor que de La Joya (0.0625%). Esto demuestra que el propóleo de Vitor posee una mayor potencia antifúngica, posiblemente debido a diferencias en su composición fitoquímica y origen botánico, esto resalta su potencial como fuente natural de compuestos antimicrobianos.

Tabla 16. Prueba T de Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente *Aspergillus niger* ATCC 16888

	Prueba T de muestras independientes						
	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
Propóleo de Vitor y La joya frente <i>Aspergillus niger</i>	- 9,4 67	4	0,001	-,21872333	,02310458	- ,282871 93	- ,1545747 4

* Elaboración propia

La prueba T de muestras independientes evidenció diferencias significativas entre las concentraciones mínimas fungicidas (CMF) del propóleo de Vitor y La Joya frente a *Aspergillus niger* ($p = 0.001$). El propóleo de Vitor presentó valores de CMF significativamente menores, indicando mayor eficacia antifúngica en comparación con el de La Joya. El intervalo de confianza del 95% confirmó esta diferencia, sugiriendo que la variación puede deberse a diferencias en la composición química del propóleo influenciadas por su origen botánico.

Tabla 17. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente *Aspergillus flavus* ATCC 9643

<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643					
Tubo	Concentración	CMI de propóleo de Vitor	CMF de propóleo de Vitor	CMI de propóleo de La Joya	CMF de propóleo de La Joya
1	2 %				CMF
2	1 %			CMI	
3	0.5 %		CMF		
4	0.25 %	CMI			
5	0.125 %				
6	0.0625 %				
7	0.03125 %				
8	0.015625 %				
9	0.0078125 %				
10	0.00390625 %				

CMI = concentración mínima inhibitoria

CMF = concentración mínima fungicida

* Elaboración propia

El extracto etanólico de propóleo de los distritos de Vitor y La Joya – Arequipa mostró actividad antifúngica frente a *Aspergillus flavus* ATCC 9643, aunque con distinta eficacia entre ambos orígenes. Para el propóleo de Vitor, la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 0.25 % y la concentración mínima fungicida (CMF) de 0.5 %, mientras que para el propóleo de La Joya la CMI se registró en 1 % y la CMF en 2 %. Estos resultados indican que ambos extractos presentan efecto fungicida, pero el propóleo de Vitor demostró mayor potencia, al requerir concentraciones menores para inhibir y eliminar el crecimiento del hongo. La diferencia observada podría deberse a la composición química variable del propóleo, influenciada por las especies vegetales de cada zona geográfica y por factores ambientales que modifican el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y terpenoides. En conjunto, se evidencia que el propóleo de Vitor posee una mayor eficacia antifúngica frente a *A. flavus*, lo que resalta su potencial como agente natural alternativo en el control de hongos filamentosos de importancia sanitaria.

Tabla 18. Prueba T de Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente *Aspergillus flavus* ATCC 9643

	Prueba T de muestras independientes						
	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
Propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus flavus</i>	- 7,8 67	4	0,001	-,8400000	,1067708	- 1,1364 432	- ,543556 8

* Elaboración propia

La tabla 18 muestra una diferencia significativa entre las CMI del propóleo de Vitor y La Joya frente a *Aspergillus flavus* ($t = -7.867$; $p = 0.001$), evidenciando distinta eficacia antifúngica. El propóleo de Vitor (CMI = 0.25%) fue más potente que el de La Joya (CMI = 1%), ya que requirió menor concentración para inhibir el crecimiento del hongo, probablemente debido a un mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides bioactivos, lo que confirma su superioridad como agente natural con efecto antifúngico frente a *flavus*.

Tabla 19. Prueba T de Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de propóleo de Vitor y La Joya frente *Aspergillus flavus* ATCC 9643

	Prueba T de muestras independientes						
	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
Propóleo de Vitor y La Joya frente <i>Aspergillus flavus</i>	- 12, 235	4	,000	-1,48000	,12097	- 1,8158 6	- 1,14414

* Elaboración propia

La prueba T de muestras independientes evidenció una diferencia significativa entre las CMF del propóleo de Vitor y La Joya frente a *Aspergillus flavus* ($t = -12.235$; $p = 0.000$). El propóleo de Vitor presentó valores de CMF mucho menores, evidenciando mayor eficacia fungicida. El intervalo de confianza (-1.81586 a -1.14414) confirmó esta diferencia, atribuible posiblemente a un mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en el propóleo de Vitor, lo que resalta su potencial como agente antifúngico natural frente a *flavus*.

DISCUSIONES

El presente estudio examina el potencial antifúngico del extracto etanólico de propóleo, una sustancia natural conocida por sus propiedades medicinales. El propóleo, utilizado tradicionalmente en diversas culturas por sus beneficios para la salud, ha captado el interés científico debido a su riqueza en compuestos bioactivos. Este trabajo se centra en evaluar la eficacia del extracto etanólico de propóleo, con el objetivo de determinar su capacidad para inhibir el crecimiento de cepas patógenas que representan una amenaza importante para la salud pública. La investigación no solo busca validar el uso tradicional del propóleo, sino también expandir el conocimiento sobre sus posibles aplicaciones terapéuticas, especialmente en el contexto de la creciente resistencia fúngica a los antifúngicos convencionales. La evaluación de su actividad antifúngica *in vitro* contra patógenos como *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* ofrece una comprensión más detallada de sus propiedades y su viabilidad como tratamiento para infecciones fúngicas. Estos microorganismos suponen un desafío en la salud pública debido a su capacidad de causar infecciones graves y desarrollar resistencia. Este estudio tiene como objetivo aportar evidencia científica sobre el uso del propóleo y explorar alternativas naturales para su inclusión en futuras estrategias antifúngicas.

Respecto al objetivo general, se identificó que el extracto etanólico de propóleo, presentó actividad antifúngica ante *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643. Este hallazgo es consistente con el estudio de Diba K. et al. (40), quienes reportaron que una concentración de 0.125 g/dl de extracto etanólico de propóleo mostró actividad contra *A. niger*, observando cambios en las características morfológicas y efectos cuantitativos en las colonias fúngicas. Al igual que en el presente estudio, Diba et al. encontraron que la dilución del extracto fue clave para la efectividad del tratamiento, lo que refleja un efecto inhibitorio significativo a concentraciones bajas. Esto se debería a la mayor concentración de compuestos bioactivos en el extracto de propóleo de Vitor, que presenta propiedades antifúngicas más potentes, posiblemente debido a las condiciones específicas de recolección o a la composición química diferenciada de la zona (40).

De igual manera, al comparar los resultados con Marín D. y Encalada L. (46), quienes encontraron que *C. albicans* mostró sensibilidad al extracto etanólico de propóleo a concentraciones de 25%, 55% y 85%, se observa una coincidencia en la capacidad del propóleo para ejercer acción antifúngica. En su estudio, la diferencia significativa en la inhibición ($p=0.000$) corroboró que el extracto de propóleo tiene un efecto antifúngico considerable. De

manera similar, en este estudio, el extracto de propóleo mostró una mayor efectividad frente a *niger* que contra *A. flavus*, con diferencias significativas en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) al compararlas mediante la prueba T de Student, lo que indica que el propóleo presenta una actividad diferencial dependiendo de la especie fúngica. Esto podría atribuirse a la distinta resistencia o susceptibilidad de las especies de *Aspergillus* a los compuestos presentes en el propóleo, lo que sugiere que la acción antifúngica puede ser dependiente tanto de la concentración del extracto como de las características biológicas de cada hongo (46).

Respecto al objetivo 2, referente al análisis organoléptico, se obtuvo que el propóleo recolectado en el distrito de La Joya presentó un aroma intenso, así como un color marrón, mientras que el de Vitor mostró un aroma más suave y color marrón con manchas amarillas, diferencias que podrían atribuirse a las variaciones en la flora local y las condiciones ambientales de cada distrito. Los mismos que coinciden con los de Alcalá K. et al. (53), quienes indicaron que los propóleos fueron clasificados principalmente con un color marrón y aroma resinoso. A pesar de estas ligeras variaciones entre los propóleos recolectados en diferentes distritos, ambos estudios coinciden en el color marrón y en un aroma resinoso similar. Estas similitudes pueden explicarse por las características generales del propóleo, así como las condiciones ambientales y geográficas de las áreas de recolección, que afectan de manera similar las propiedades sensoriales del propóleo en ambos estudios (53).

Respecto al objetivo 3, referente al rendimiento del extracto etanólico de propóleo, fue ligeramente mayor en la muestra procedente de La Joya (47.52%) en comparación con la de Vitor (46.57%). Los mismos que guardan similitud con Martínez P. et al (54), quienes reportaron un rendimiento del 47.51% en el extracto etanólico de propóleo, determinado mediante la fórmula estándar para calcular el rendimiento de extractos vegetales. Los autores destacaron que un alto porcentaje de rendimiento sugiere una mayor posibilidad de obtener componentes activos, como los polifenoles, los cuales son conocidos por sus propiedades antioxidantes. La coincidencia en los valores de rendimiento entre este estudio sugiere que el propóleo recolectado en ambas regiones presenta un contenido similar de compuestos bioactivos, lo que podría estar relacionado con las condiciones de recolección y los métodos de extracción empleados (54).

Respecto al objetivo 4, referente al pH del propóleo, presentó valores ligeramente ácidos en ambas muestras, siendo 4.8 en La Joya y 5.0 en Vitor, lo cual concuerda con el rango esperado

para propóleos naturales, favoreciendo su estabilidad. Los mismos son semejantes en los resultados de Salamanca G. et al. (55), quienes encontraron que el pH del extracto etanólico de propóleo se encontró en un rango ligeramente ácido, similar a los resultados obtenidos en este estudio. Las muestras analizadas por Salamanca et al. mostraron valores de pH de 4.20 para bh-PM (Buesaco), 4.40 para bh-MB (San Juan de Pasto) y 4.10 para bmh-PM (La Unión). La coincidencia en los resultados sugiere que el pH del propóleo, al estar en un rango ligeramente ácido, contribuye a su estabilidad química y preserva la actividad de sus compuestos bioactivos, como los flavonoides y fenoles. Estos compuestos son conocidos por sus propiedades antioxidantes, así como antimicrobianas, por lo que el pH ácido puede ayudar a mantener su efectividad al evitar la degradación (55).

Referente con la humedad del extracto etanólico de propóleo, tuvo un nivel de humedad de 3.78% en La Joya y 4.00% en Vítor, valores adecuados que indican un secado eficiente del producto. Los mismos que guardan similitud con Guanche D. et al (56), quienes reportaron un contenido promedio de humedad del $4.39 \pm 1.58\%$, con una mediana de 4.24%, y un coeficiente de variación de 0.36%, lo que indica baja variabilidad en los valores de humedad entre las muestras. La coincidencia en los valores de humedad sugiere que el proceso de secado en ambos estudios fue eficiente, lo que contribuye a la estabilidad del extracto y asegura la preservación de sus propiedades. Además, los resultados similares entre los dos estudios reflejan una consistencia en la calidad del propóleo, garantizando su efectividad para usos terapéuticos al mantener un nivel de humedad controlado que favorece la conservación de los compuestos activos (56).

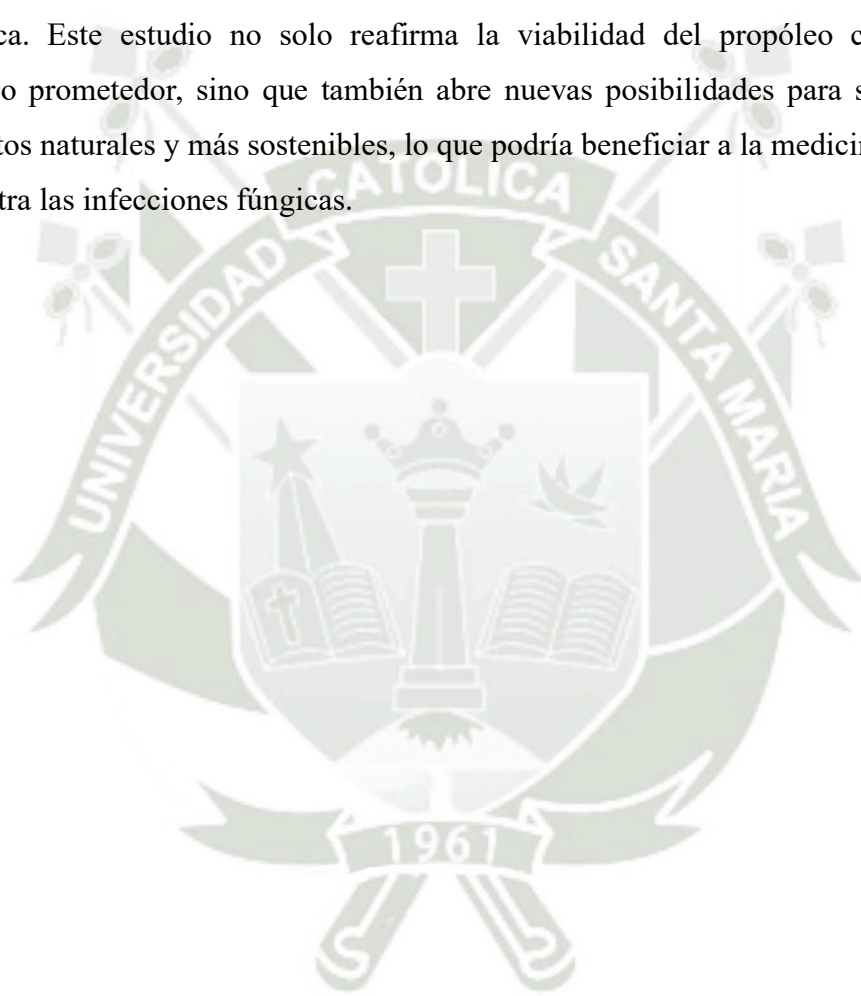
Referente al análisis fitoquímico, se reveló la presencia de metabolitos secundarios en ambos extractos de propóleo, con variaciones leves en su intensidad. El propóleo de La Joya presentó mayor contenido de taninos, flavonoides y alcaloides, mientras que el de Vítor mostró una respuesta más intensa en terpenos, lo que podría reflejar diferencias en la flora melífera de cada zona. Los cuales son semejantes en comparación con Wolska K. y Antosik K. (42), quienes encontraron que el propóleo exhibió una potente actividad antifúngica, eficaz contra una variedad de hongos patógenos, incluidos aquellos resistentes a tratamientos convencionales. En su estudio, los flavonoides y ácidos fenólicos fueron identificados como responsables de esta actividad. La coincidencia en la presencia de flavonoides y ácidos fenólicos entre los estudios respalda la eficacia del propóleo en la lucha contra hongos patógenos, lo que sugiere que los

compuestos presentes en el propóleo de Arequipa, aunque con algunas variaciones en su intensidad, podrían tener un perfil similar en cuanto a sus propiedades antifúngicas (42).

Respecto al objetivo 5, referente con la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de propóleo según el método de concentración mínima inhibitoria (CMI), en el caso de *A. niger*, se observó inhibición completa del crecimiento en el propóleo de La Joya hasta una concentración de 0.0625 %, mientras que en el extracto de Vitor, la inhibición se mantuvo hasta 0.0078125 %, siendo esta última la CMI más baja. Por otro lado, *A. flavus* mostró una menor sensibilidad frente al extracto, con la CMI para La Joya definida en 1 %, mientras que para Vitor, la CMI fue de 0.25 %. Estos resultados son semejantes a los obtenidos por Hosseini H. et al. (39), quienes encontraron que la CMI del propóleo fue de 100 µg/mL, y que el extracto de propóleo redujo significativamente los niveles de aflatoxinas, indicando su actividad antifúngica. A pesar de las diferencias en las unidades de medida, ambos estudios coinciden en la efectividad del propóleo contra especies fúngicas, con *Aspergillus* siendo una de las más sensibles. Las variaciones en las concentraciones de CMI entre los estudios pueden deberse a diferencias en la composición química del propóleo, los métodos de extracción utilizados y las cepas fúngicas empleadas. Sin embargo, ambos estudios destacan el potencial antifúngico del propóleo como agente natural frente a *Aspergillus*, sugiriendo que sus compuestos bioactivos son responsables de esta actividad (39).

Respecto con el objetivo 6, referente con la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de propóleo según la concentración mínima fungicida (CMF), en el caso de *A. niger*, el propóleo de Vitor mostró una mayor eficacia, alcanzando una CMF de 0.03125 %, mientras que en el extracto de La Joya, la CMF fue de 0.25 %. Estos resultados coincidieron con los de Diba et al. (2020), quienes reportaron una CMF de 0.125 g/dl para *A. niger* frente a propóleo, lo que se tradujo en valores de eficacia más altos en comparación con los obtenidos en La Joya. Por otro lado, para *A. flavus*, el propóleo de Vitor mostró una CMF de 0.5 %, mientras que para La Joya la CMF fue de 2 %. Comparando con el estudio de Diba et al., quienes encontraron una CMF de 0.0625 g/dl para *A. flavus*, los valores en La Joya fueron considerablemente más altos, sugiriendo una menor eficacia antifúngica (40). Ambos estudios coincidieron en que el propóleo presentó una actividad antifúngica significativa frente a *Aspergillus*. Las variaciones en la potencia observadas entre los resultados podrían deberse a factores como la flora local, las técnicas de extracción y las cepas fúngicas empleadas. La composición química del propóleo, influenciada por el entorno botánico y las condiciones de extracción, también pudo haber contribuido a su efectividad antifúngica.

Finalmente, este estudio resalta la relevancia de seguir investigando agentes antifúngicos naturales, como el propóleo, frente a la creciente preocupación por la resistencia de los hongos a los tratamientos convencionales. Los resultados obtenidos muestran que el propóleo, especialmente el recolectado en el distrito de Vítor, tiene una notable capacidad para inhibir el crecimiento de *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*, dos hongos patógenos de interés. A diferencia de los tratamientos antifúngicos sintéticos, el propóleo presenta una alternativa potencialmente menos susceptible a la resistencia, gracias a su rica y compleja composición fitoquímica. Este estudio no solo reafirma la viabilidad del propóleo como un recurso terapéutico prometedor, sino que también abre nuevas posibilidades para su integración en tratamientos naturales y más sostenibles, lo que podría beneficiar a la medicina moderna en su lucha contra las infecciones fúngicas.



CONCLUSIONES

- Se identificó que el extracto etanólico de propóleo, presentó actividad antifúngica ante *Aspergillus niger* ATCC 16888 y *Aspergillus flavus* ATCC 9643 recolectados del distrito de la Joya y de Vítor de la ciudad de Arequipa.
- El análisis organoléptico reveló que el propóleo del distrito de La Joya presentó un aroma intenso y color marrón, mientras que el propóleo de Vítor mostró un aroma más suave y color marrón con manchas amarillas.
- La evaluación respecto con el rendimiento del extracto etanólico de propóleo, fue ligeramente mayor en la muestra procedente de La Joya (47.51%) en comparación con la de Vítor (46.57%).
- La evaluación respecto al pH del propóleo presentó valores ligeramente ácidos en ambas muestras, siendo 4.8 en La Joya y 5.0 en Vítor, lo cual concordó con el rango esperado para propóleos naturales, favoreciendo su estabilidad.
- La evaluación respecto con la humedad del extracto etanólico de propóleo, tuvo un nivel de humedad de 3.78% en La Joya y 4.00% en Vítor, valores adecuados que indican un secado eficiente del producto.
- En el análisis de los grupos de metabolitos presentes en el extracto etanólico de propóleo, se observó que en La Joya presentó mayor intensidad en el color de taninos, flavonoides y alcaloides, mientras que el de Vítor tuvo una mayor intensidad de color en terpenos, lo que podría estar relacionado con las diferencias en la flora melífera de cada zona.
- El propóleo de Vítor mostró una mayor inhibición del crecimiento, con CMI más bajas para *A. niger* (0.0078125 %) y *A. flavus* (0.25 %) en comparación con La Joya, que presentó CMI de 0.0625 % y 1 %, respectivamente. Esto sugiere que el extracto de Vítor inhibe más eficazmente el crecimiento de ambos hongos.
- El propóleo de Vítor mostró una mayor eficacia con una CMF de 0.03125 % para *A. niger* y 0.5 % para *A. flavus*, mientras que el de La Joya presentó valores más altos, con CMF de 0.25 % para *A. niger* y 2 % para *A. flavus*. Estos resultados evidencian que el propóleo de Vítor posee una mayor acción fungicida, lo que podría estar relacionado con la composición química y el entorno botánico de cada distrito.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere continuar con la investigación sobre la actividad antifúngica del extracto etanólico de propóleo en otras cepas de hongos patógenos para explorar su potencial como alternativa natural en el control de infecciones fúngicas.
- Se sugiere evaluar el impacto de las variaciones organolépticas entre los propóleos de diferentes zonas sobre la aceptación y efectividad en aplicaciones terapéuticas, considerando las diferencias en aroma y color, lo cual podría influir en su comercialización.
- Se sugiere realizar un análisis más detallado sobre los factores que afectan el rendimiento del extracto, como las condiciones de recolección y el proceso de extracción, con el fin de optimizar la eficiencia del proceso en futuras producciones.
- Se sugiere monitorear y ajustar el pH del propóleo durante su procesamiento y almacenamiento para garantizar su estabilidad y asegurar la calidad del producto final, especialmente en aplicaciones farmacéuticas y cosméticas.
- Se sugiere establecer estándares más estrictos de control de humedad durante el proceso de secado del propóleo, asegurando una conservación óptima de sus propiedades bioactivas y una mayor vida útil del producto.
- Se sugiere investigar más a fondo las propiedades bioactivas de los metabolitos identificados, como los taninos, flavonoides, alcaloides y terpenos, para comprender su relación con la actividad antifúngica y su potencial en otros usos terapéuticos.
- Se sugiere continuar con estudios sobre la actividad antifúngica de los propóleos de diferentes zonas para confirmar los resultados obtenidos y explorar la posibilidad de aplicar el extracto de Vitor en tratamientos más efectivos contra infecciones fúngicas en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bankova V, Trusheva B, Popova M. Propolis extraction methods: a review. J Apic Res [Internet]. 2021;60(5):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1901426>
2. Almuhayawi M. Propolis as a novel antibacterial agent. Saudi J Biol Sci [Internet]. 2020;27(11):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.016>
3. Fekri A, Abendinzadeh S, Torbati M, Damirchi S, Savage G. Considering sourdough from a biochemical, organoleptic, and nutritional perspective. J Food Compos Anal [Internet]. 2024;125(1):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105853>
4. Hossain R, Quispe C, Khan R, Saikat A, Ray P, Ongalbek D, et al. Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. Chin Med [Internet]. 2022;26(17):1. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13020-022-00651-2>
5. Szalai E, TRajti P, Szabó B, Koi T. Organoleptic and halitometric assessments do not correlate well in intra-oral halitosis: a systematic review and meta-analysis. J Evid Based Dent Pract [Internet]. 2023;23(3):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2023.101862>
6. Geow C, Tan M, Yeap S, Chin N. A Review on Extraction Techniques and Its Future Applications in Industry. Eur J Lipid Sci Technol [Internet]. 2021;123(4):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000302>
7. Cerqueira P, Cunha A, Aguiar C. Potential of propolis antifungal activity for clinical applications. J Appl Microbiol. 2022;133(3):1207–1228.
8. Petruzzi L, Corbo M, Campaniello D, Speranza B. Antifungal and Antibacterial Effect of Propolis: A Comparative Hit for Food-Borne Pseudomonas, Enterobacteriaceae and Fungi. Foods. 2022;9(5):1–10.
9. Zuhlendri F, Chandrasekaran K, Kowacz M, Ravalía M. Antiviral, Antibacterial, Antifungal, and Antiparasitic Properties of Propolis: A Review. Foods. 2021;10(6):1–8.
10. Ożarowski M, Karpiński T, Alam R, Łochyńska M. Antifungal Properties of Chemically Defined Propolis from Various Geographical Regions. Microorganisms. 2022;10(2):1–10.

11. Hossain S, Yousaf M, Liu Y, Chang D, Zhou X. An Overview of the Evidence and Mechanism of Drug–Herb Interactions Between Propolis and Pharmaceutical Drugs. *Sec Ethnopharmacol*. 2022;13(1):1–10.
12. Lazo G, Lemes D, Pauletti P, Bastos J. Analysis of the antimicrobial activity of propolis: A narrative review of in-vitro studies. *Biomed Sci*. 2025;97(3):1–8.
13. Altabbal S, Athamnah K, Rahma A, Wali A. Propolis: A Detailed Insight of Its Anticancer Molecular Mechanisms. *Pharmaceuticals*. 2023;16(3):1–10.
14. Aboody M, Mickymaray S. Anti-Fungal Efficacy and Mechanisms of Flavonoids. *Antibiotics*. 2020;9(2):1–8.
15. Junior S, Ferraz M, Oliveira A, Maniglia F. Advances in the phytochemical screening and biological potential of propolis. *Fundam Clin Pharmacol*. 2023;37(5):1–10.
16. Yañez C, Hurtado P, Ramos M, Reali J. Flavonoids Present in Propolis in the Battle against Photoaging and Psoriasis. *Antioxidants*. 2021;10(12):1–10.
17. Duan J, Pan L, Liu X, Song X. Extraction, purification, structural character and biological properties of propolis flavonoids: A review. *Fitoterapia*. 2022;157(1):1–8.
18. Hossain R, Quispe C, Khan R, Saikat A, Ray P. Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chin Med*. 2022;17(100):1–10.
19. Pfeiffer P, Juarez J, Hernandez J, Taboada P. Nanocarriers as drug delivery systems for propolis: A therapeutic approach. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021;65(1):1–10.
20. Stojanović S, Najman S, Popov B, Najman S. Propolis: hemijski sastav, biološka i farmakološka aktivnost – pregled. *Acta medica Median*. 2020;59(2):1–10.
21. Municipalidad Distrital de La Joya. Información institucional. 2020.
22. Municipalidad Distrital de Vitor. Información institucional. 2020.
23. Yu R, Liu J, Wang Y, Wang H, Zhang H. *Aspergillus niger* as a Secondary Metabolite Factory. *Sec Org Chem* [Internet]. 2021;9(1):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.701022>
24. Behera B. Citric acid from *Aspergillus niger*: a comprehensive overview. *Crit Rev Microbiol* [Internet]. 2020;46(6):1–50. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1828815>

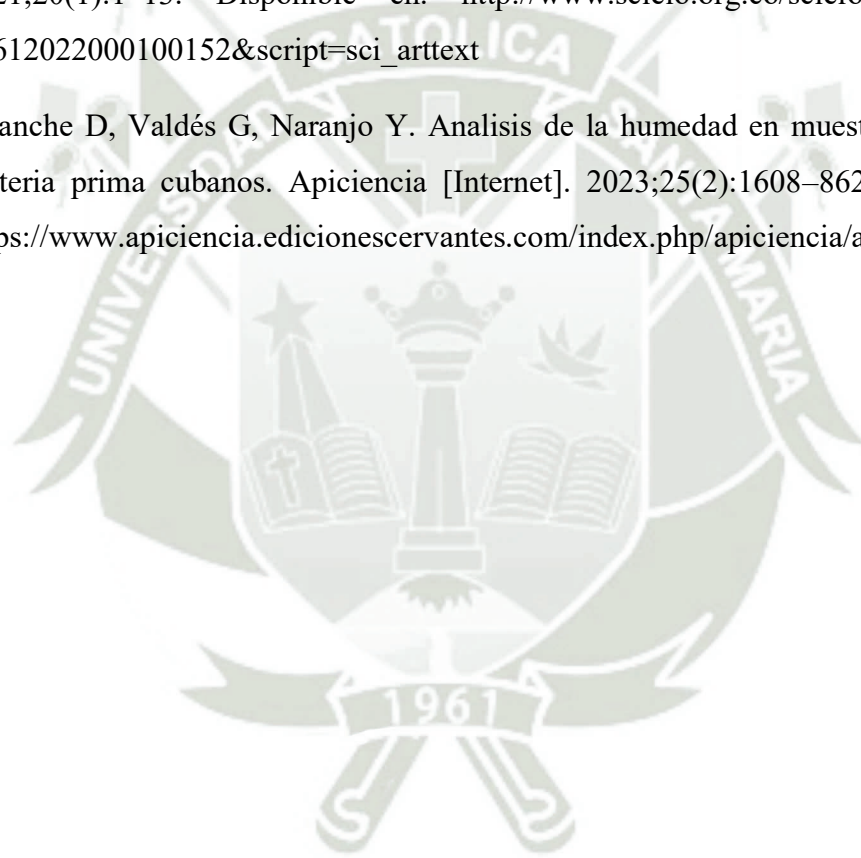
25. Salehi M, Khajavirad N, Seifi A, Jahanbin B. Proven *Aspergillus flavus* pulmonary aspergillosis in a COVID-19 patient: A case report and review of the literature. *Mycoses* [Internet]. 2021;64(8):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/myc.13255>
26. Cho H, Son S, Chen W, Son Y. Regulation of Conidiogenesis in *Aspergillus flavus*. *Cells* [Internet]. 2022;11(18):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cells11182796>
27. Djenontin E, Lavergne R, Morio F, Dannaoui E. Antifungal Resistance in Non-fumigatus *Aspergillus* Species. *Mycoses*. 2025;68(4):1–10.
28. Clark W, Geary D. The Story of the American Type Culture Collection—Its History and Development(1899–1973). *Adv Appl Microbiol*. 1974;17(1):1–10.
29. Rabby R, Hossain S, Chowdhury N, Akter F. Comparative Evaluation of a Disinfectant Formulation Comprising Hydrogen Peroxide, Peracetic Acid, and Acetic Acid Against *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* on Various Surfaces in Comparison to Other Disinfectants. *Int J Microbiol*. 2025;1(1):1–8.
30. Lopez E, Breton D, Malo A. The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria in vitro and foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf* [Internet]. 2021;21(1):604–41. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12872>
31. Krochmal B, Wicher R. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* [Internet]. 2021;10(2):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
32. Kowalska B, Dudek R. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens* [Internet]. 2021;10(2):1–21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7913839/pdf/pathogens-10-00165.pdf>
33. Shaikh J, Patil M. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *Peer Rev J*. 2020;8(2):1–10.
34. Maheshwaran L, Nadarajah L, Senadeera S, Ranaweera C. Phytochemical Testing Methodologies and Principles for Preliminary Screening/ Qualitative Testing. *Asian Plant Res J*. 2024;12(5):1–10.
35. Gupta D, Dangi C, Siddiqui S, Shingh B. A review of qualitative and quantitative phytochemicalanalysis for plant extracts. *Int J Multidiscip Res Stud*. 2023;6(2):1–16.

36. Zullkiflee N, Taha H, Usman A. Propolis: Its Role and Efficacy in Human Health and Diseases. *Molecules*. 2022;27(8):1–10.
37. Dhingra S, Rahman N, Peile E, Rahman M, Sartelli M. Microbial Resistance Movements: An Overview of Global Public Health Threats Posed by Antimicrobial Resistance, and How Best to Counter. *Front Public Heal*. 2020;8(1):1–10.
38. Talavera J. Efecto del extracto Etanolico de Propoleo Peruano sobre el Streptococcus Mutans Atcc 35668 In Vitro UCSM Arequipa 2009. [Tesis de grado] Universidad Católica de Santa María; 2018.
39. Hosseini H, Pour S, Amni J, Jabbarzadeh S. The effect of Propolis on inhibition of *Aspergillus parasiticus* growth, aflatoxin production and expression of aflatoxin biosynthesis pathway genes. *J Environ Heal Sci Eng* [Internet]. 2020;18(1):297–302. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40201-020-00467-y%0A%0A>
40. Diba K, Mahmoodi M, Hashemi J. In vitro activity of Propolis alcoholic extract on opportunistic pathogenic fungi. *Int J Res Appl Basic Med Sci* [Internet]. 2018;4(2):68–73. Disponible en: https://ijrabms.umsu.ac.ir/browse.php?a_id=39&sid=1&slc_lang=en
41. Wozniak M, Mrówczy L, Sip P, Waskiewicz A. Effect of the Solvent on Propolis Phenolic Profile and its Antifungal, Antioxidant, and In Vitro Cytoprotective Activity in Human Erythrocytes Under Oxidative Stress. *Molecules* [Internet]. 2020;25(18):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules25184266>
42. Wolska K, Antosik K. The activity of propolis against pathogenic fungi isolated from human infections. *Brazilian J Pharm Sci* [Internet]. 2023;59(1):1–11. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/s2175-97902023e19978>
43. Rodriguez M, Medina Y, Rodriguez M, Nava U. Activity of propolis from Mexico on the proliferation and virulence factors of *Candida albicans*. *BMC Microbiol* [Internet]. 2023;23(325):1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12866-023-03064-9%0A%0A>
44. Rodríguez G. Publicación: Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a *Candida albicans* de pacientes con candidiasis vulvovaginal en el año 2021 [Internet]. [Tesis Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Norbert Wiener; 2022. Disponible en: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/entities/publication/7be57cef-6365-48fa-b9d9->

db253a2843b4

45. Medina A. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de propóleo del Cusco sobre *Candida albicans* ATCC 10231 [Internet]. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] Universidad César Vallejo; 2021. Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/78052>
46. Marín D, Encalada L. Efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25 %, 55 % y 85 % sobre cepas de *Candida albicans* Arequipa 2021 [Internet]. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] Universidad Continental; 2021. Disponible en: <https://repositorio.continental.edu.pe/handle/20.500.12394/12020>
47. Chumbiray M, Ochoa C. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del propóleo frente a *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* [Internet]. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] Universidad Científica del sur; 2023. Disponible en: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/2883>
48. Heredia N. Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) [Internet]. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] Universidad Privada San Juan Bautista; 2023. Disponible en: <https://repositorio.upsjb.edu.pe/item/015af491-40b0-4061-add1-5141c82287f4>
49. Arenas A, Cepero V, Otiniano A. Characterization of tuna farms (*Opuntia ficus indica*) for the production of carmine mealybug (*Dactylopius coccus*) in La Joya, Arequipa. *Aporte Santiaguino*. 2017;10(2):245–58.
50. topographicmap. Mapa topográfico Vitor. 2020. p. 1–2.
51. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3ª ed. Lima: Pontificia universidad catolica del Perú; 2016. 287 p.
52. Ministerio de salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Lima; 2002. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/353004-manual-de-procedimientos-para-la-prueba-de-sensibilidad-antimicrobiana-por-el-metodo-de-disco-difusion>
53. Alcalá K, Montoya M, Luna A, Ghinis Y. Análisis sensorial del propoleo de Apis

- Mellifera l. en la localidad de Amazcala, Querétaro, México. Actas del Congr [Internet]. 2025;1(1):1–10. Disponible en: <https://doi.org/10.47300/actasidi-unicyt-2024-23>
54. Martínez P, Olvas H, Pedroza D, Avalos J. Evaluación in vitro de la actividad cicatrizante y antioxidante del extracto etanólico de propóleo.: El propóleo y su capacidad cicatrizante. Rev Biociencias [Internet]. 2024;11(1):1–8. Disponible en: <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1645>
55. Salamanca G, Osorio M, Cabrera J. Propóleos de Nariño: Propiedades fisicoquímicas y actividad biológica. Biotecnol en el Sect Agropecu y Agroindustrial [Internet]. 2021;20(1):1–13. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612022000100152&script=sci_arttext
56. Guanche D, Valdés G, Naranjo Y. Analisis de la humedad en muestras de propoleos materia prima cubanos. Apiciencia [Internet]. 2023;25(2):1608–862. Disponible en: <https://www.apiciencia.edicionescervantes.com/index.php/apiciencia/article/view/119>





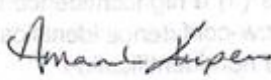
ANEXOS

ANEXO 1. CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE CEPA *ASPERGILLUS FLAVUS*

Microbiologics

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS: Product Name: Aspergillus flavus Catalog Number: 01182 Lot Number: 11B2-16** Reference Number: ATCC® 9643™ Passage from Reference: 2 Expiration Date: 2025/06/30	RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Jacob A Lohman Release Date: 2023/07/24
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Large, filamentous, irregular shape, olive green in color, reverse is pale yellow	Medium: PDA
Microscopic Features: Chains of small conidia which arise from short sterigmata arranged radially over the surface of the vesicle	Method: Lactophenol Blue (1)
ID System: MALDI-TOF (1)	
See attached ID System results document.	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	
**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information. Individual products are traceable to a recognized culture collection. (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.	
 ACCREDITED TESTING CERT #2655.01	(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.
 ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.01	

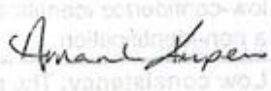
ANEXO 2. CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE CEPA *ASPERGILLUS NIGER*





Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS:	RELEASE INFORMATION:
Product Name: <i>Aspergillus niger</i>	Quality Control Technologist: Tiffany A Lewandowski
Catalog Number: 0245	Release Date: 2024/04/08
Lot Number: 245-51**	
Reference Number: ATCC® 16888™*	
Passage from Reference: 3	
Expiration Date: 2026/02/28	

Performance	
Macroscopic Features: Flat, fuzzy, "salt and pepper" appearance on top surface. Reverse side has both yellow and cream colonies.	Medium: Nutrient
Microscopic Features: Chains of small conidia which arise from short sterigmata arranged radially over the surface of the vesicle	Method: Lactophenol Blue (1)
ID System: MALDI-TOF (1)	
See attached ID System results document.	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



ANEXO 3. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS

a. Muestra



3 kg de propóleo de la Joya y de Vitor de la ciudad de Arequipa

b. Molienda



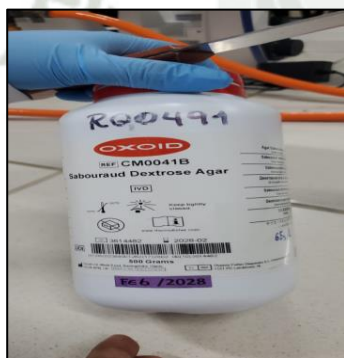
Proceso de molienda

c. Macerado



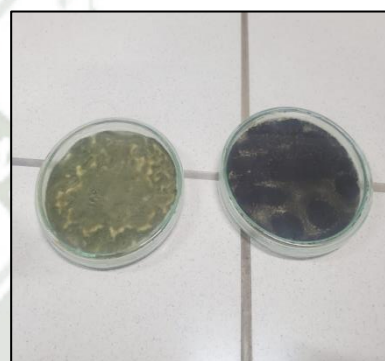
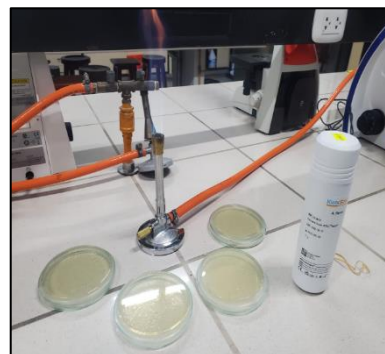
Proceso de maceración y agitación

d. Preparación de agar



Preparación del agar Sabouraud dextrosa para sembrado de las cepas

e. Sembrado



Sembrado de las cepas

f. Preparación del caldo





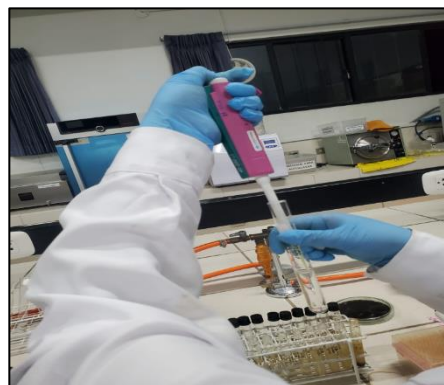
Preparación del caldo Sabouraud dextrosa para llenado de los tubos

g. Escala



La escala de McFarland

h. Macrodilución



Macrodilución

i. CMI



Aspergillus flavus de Joya

Aspergillus niger de Joya

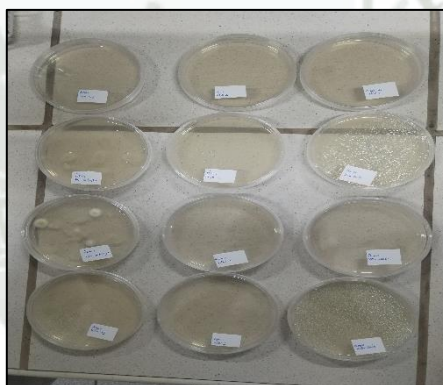


Aspergillus flavus de Vitor



Aspergillus niger de Vitor

j. CMF



Resultado de cepas