

Artículo original

Actividad antioxidante del extracto de propóleos y su incorporación en una formulación cosmética

Antioxidant activity of propolis extract and its incorporation into a cosmetic formulation

Lita E. Benavidez

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica

Email: lbenavidezt@yahoo.es

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antioxidante del extracto de propóleos y elaboración de una formulación cosmética cremagel. La actividad antioxidante del extracto de propóleos se determinó por neutralización de los radicales 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH^{•+}) y del ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS^{•+}). El extracto mostró actividad antioxidante por los métodos DPPH = 89,15 µg/mL y ABTS^{•+} = 1069,18 µg/mL obteniéndose un resultado menor que el valor de referencia trolox EC₅₀ = 5,04 µg/mL y EC₅₀ = 17,04 µg/mL respectivamente. Con el extracto se diseñó una formulación cosmética natural en forma de cremagel, a la que se adicionó extracto de propóleos como ingrediente principal. Para esta formulación se empleó un copolímero acrílico aniónico disperso en aceite portador, el extracto de propóleos, no se usó preservante. El resultado del pH del cremagel fue 6,81. La formulación pasó la prueba de centrifugación inicial durante dos horas por 3200 rpm y se mantuvo intacta durante un mes de estabilidad preliminar en una estufa a 40°C; no se evidenció separación de fases o rotura de la emulsión. Se concluye que el extracto de propóleos tiene actividad antioxidante y es apto para desarrollar formulaciones cosméticas naturales.

Palabras clave: propóleos; antioxidante; cosmética natural.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the antioxidant activity of propolis extract and elaboration of a cremagel cosmetic formulation. The antioxidant activity of the propolis extract was determined by neutralization of the 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radicals (DPPH^{•+}) and the 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazolin) -6-sulphonic acid (ABTS^{•+}). The extract showed antioxidant activity by the methods DPPH = 89.15 µg / mL and ABTS^{•+} = 1069.18 µg / mL obtaining a lower result than the value of a reference study trolox EC₅₀ = 5.04 µg / mL and EC₅₀ = 17.04 µg / mL respectively. With the extract a natural cosmetic formulation was designed in the form of cremagel, to which was added propolis extract as the main ingredient. For this formulation, an anionic acrylic copolymer dispersed in carrier oil, the propolis extract and no preservative was used. The pH result of the gel cream was 6.81. The formulation passed the initial centrifugation test for two hours at 3200 rpm and remained intact for one month of preliminary stability in an oven at 40 ° C; no separation of phases or breakage of the emulsion was evident. It is concluded that the propolis extract has antioxidant activity and is apt to develop natural cosmetic formulations.

Keywords: propolis; antioxidant; natural cosmetics.

Correspondencia:

Nombre: Lita E. Benavidez
Dirección: Jr. Puno 1002 Lima.

Recibido: 04/06/2016, **aceptado:** 29/09/2017

Citar como:

Benavidez LE. Actividad antioxidante del extracto de propóleos y su incorporación en una formulación cosmética. Ciencia e Investigación 2017 20(2):3-8.

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución - No Comercia_Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

INTRODUCCIÓN

“El propóleo es un material pegajoso, resinoso, de color variable dependiendo de su origen. Su aroma puede ser placentero a especies arbóreas, miel, ceras y vainilla, pero puede tener sabor amargo. Se obtiene de la recolección de las exudaciones o secreciones de origen vegetal (yemas, corteza, ramas, frutos jóvenes, etc.) realizada por la abeja (*Apis mellífera*). Luego de mezclar esas exudaciones con otros agentes como polen y enzimas se produce una modificación física y química, y el producto es transportado al interior de la colmena, para ser utilizado finalmente con diferentes funciones”.¹

“Las abejas emplean el propóleo con diversos fines, para tapizar el interior de las celdillas y cámaras de cría, así como para sellarlas evitando su contaminación; reforzar tabiques, paredes y todo aquello que sea inestable. También para reducir al mínimo las piqueras de entrada a las colmenas evitando que puedan penetrar depredadores, tapizar las piqueras para evitar que las obreras introduzcan en sus patas entes contaminantes, evitar las vibraciones cuando las colmenas sean ubicadas en sitios expuestos a las corrientes de aire, entre otros”.²

La composición química del propóleo es variable y compleja, depende de la flora, y el clima del lugar de asentamiento de la colmena, motivo por el cual ha sido determinada con aproximación. Al propóleo se le atribuye diferentes propiedades cosméticas entre las que destaca acción antiirritante, antipruriginoso y antimicrobiano, lo que le permite ser vehiculizado en una forma cosmética.¹

“Desde tiempos antiguos se ha reconocido las propiedades terapéuticas del propóleo. Los egipcios conocían sus propiedades antiputrefactivas y lo usaban para embalsamar cadáveres. En Grecia y Roma se empleaba como antiséptico y cicatrizante en el tratamiento de heridas y como desinfectante bucal. Las civilizaciones del Nuevo Mundo también conocieron sus propiedades; se conoce que los Incas emplearon el propóleo como agente antipirético. Adicionalmente, la Farmacopea Inglesa en el siglo XVII, incluyó el propóleo en el listado de medicamentos oficiales”.³

El propóleo por su pronunciada actividad antioxidante, es una materia prima promisoriosa de acción tópica⁵; los extractos de propóleo alcohólico y glicólico (EPA y EPG), fueron caracterizados en su composición polifenólica y capacidad antioxidante frente a los radicales libres. Formulaciones adicionales de estos extractos fueron sometidas a estudios de estabilidad física y funcional; estudios de liberación, permeación y retención cutánea *in vitro* así como estudios preliminares de eficacia *in vivo*. Los resultados demuestran que los extractos de propóleo son capaces de secuestrar eficientemente los radicales libres, principalmente los superóxidos. Cuando estos extractos fueron adicionados a formulaciones de productos de uso tópico, su actividad antioxidante fue mantenida. Ha sido un material muy utilizado en medicina popular desde por lo menos 300 AC; pero, fue a partir de la década de los 80 que su uso se ha incrementado y ganado popularidad, principalmente en la medicina alternativa. El extracto es extensamente utilizado en forma de spray y diluido en agua, además, es utilizado

en productos de higiene personal (champú, jabón y crema dental), así como también en dermocosméticos.⁵

También se reportan estudios donde se determina la presencia de flavonoides en extracto etanólico de propóleo. El porcentaje de flavonoides totales expresados en quercetina fue 8,71 g/100g de extracto seco⁶. Dentro de las otras propiedades del propóleo destacan por ejemplo su actividad cicatrizante, fotoprotectora y antibacteriana. En un estudio de investigación en pacientes diabéticos se demostró que el propóleo, ayudó a mejorar considerablemente el tejido cicatrizal dental y una mejoría notable en corto tiempo.⁴ En la evaluación de su efecto fotoprotector, se confirma la acción fotoprotectora del propóleo verde del Vale do Aço, Minas Gerais. Se desarrollaron diversas formulaciones estables de lociones fotoprotectoras a base del propóleo verde y se demostró el efecto proporcional del factor de protección solar (FPS) con el incremento de la concentración del propóleo⁷. También se demostró que la incorporación de los extractos de propóleo en formulaciones fotoprotectores incrementó el FPS.⁸ En referencia a su actividad antimicrobiana, un estudio demuestra que su contenido de flavonoides justifica su actividad antimicrobiana y son los responsables de la bioactividad contra varios microorganismos patógenos.⁹ En la determinación de la actividad antioxidante y actividad antimicrobiana con propóleos de diferentes orígenes, se llegó a la conclusión de que todos tienen acción antimicrobiana sobre las bacterias Gram positivas, mas no sobre las Gram negativas y que el efecto antimicrobiano observado para las distintas muestras de propóleos no fue directamente proporcional a la cantidad de antioxidantes presente en éstas, lo que hace pensar que el tipo de antioxidante, más que la cantidad presente, influye en la actividad antibacteriana.¹⁰ El uso de tinturas igual o superior al 10% también tiene acción antimicótica y antilevaduras.¹¹

La idea de desarrollar productos cosméticos naturales es una demanda que merece ser atendida y es por esa razón que este estudio tiene como objetivo determinar la actividad antioxidante del extracto de propóleo, que debido a las propiedades mencionadas, es una buena alternativa para la cosmética natural.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección del propóleo.- Se obtuvo de la provincia de Cangallo del departamento de Ayacucho, al cual se le hizo el análisis porcentual y fitoquímico, cuyas características se describen a continuación:

Análisis organoléptico

- **Aspecto:** sólido - grumos
- **Color:** marrón negruzco
- **Olor:** resinoso balsámico
- **Consistencia:** rígido a temperaturas de 20° C y maleable a temperaturas mayores

Determinación de la composición química de la resina de propóleo.- La muestra se analizó en el Centro de Control Analítico CENPROFARMA de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los resultados se indican en la Tabla 1.

Obtención del extracto alcohólico.- Se retiró de la resina del propóleos y las impurezas de forma manual (astillas, residuos de cera, entre otros); A 25 g de propóleos se lo trató con 150 mL etanol, se dejó en maceración entre 7 a 15 días con agitación diaria y posteriormente se filtró y almacenó en un frasco de vidrio ámbar.

Marcha fitoquímica.- Se tomó una alícuota del extracto de propóleos y se adicionó en una batería de tubos de ensayos los reactivos indicados en la Tabla 2.

Determinación de la actividad antioxidante.- Método del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).¹² Se realizaron diluciones a partir de la solución madre obteniéndose concentraciones de 30, 50, 100 y 150 µg/mL (Tabla 3). El procedimiento consistió en adicionar 400 µL del extracto y 800 µL de DPPH y se leyó contra un blanco del solvente de la muestra problema y metanol.

También se realizó la determinación de la actividad antioxidante por el método del ABTS^{•+}.¹³ La actividad antioxidante de una muestra se expresa en IC₅₀ (concentración mínima necesaria para inhibir el 50% el ABTS^{•+}).

Se realizaron diluciones a partir de la solución madre obteniéndose concentraciones de 500, 1000 y 1500 µg/mL. Se adicionaron 20 µL de extracto y 980 µL de ABTS^{•+} y se leyó contra un blanco del solvente de la muestra problema y el agua bidestilada.

Formulación de la crema cosmética.- Con el extracto de propóleos obtenido se diseñó una formulación cosmética natural que se describe a continuación: El extracto se vehiculizó en un cremagel que empleó un copolímero acrílico aniónico disperso en aceite portador, el extracto de propóleos y no se usó preservante. (Tabla 5).

Los controles que se realizaron al cremagel fue la prueba centrífuga a 3200 rpm y se colocó el producto en una estufa a 40° C por el tiempo de un mes. Y también se determinó el pH.

RESULTADOS

El extracto alcohólico de propóleos dio un rendimiento de 80,02%.

Los resultados de la composición química de la resina de propóleos se presentan en la Tabla 1 y la marcha fitoquímica se muestra en la Tabla 2.

Las concentraciones de propóleos para determinar la actividad antioxidante por el método del DPPH y ABTS se presentan en la Tabla 3. Los resultados de la actividad antioxidante se muestran en la Tabla 4.

Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto de propóleos

Reactivos	Metabolitos secundarios	Resultados
Rvo. Cloruro férrico	Compuestos Fenólicos	+++
Gelatina 1%	Taninos	+
Rvo. Shinoda	Flavonoides	++
Sulfato de Cerio	Flavonoides	++
Rvo. Dragendorff	Alcaloides	++
Rvo. Mayer	Alcaloides	++
Rvo. Bertran	Alcaloides	++
Rvo. Wagner	Alcaloides	++
Lieberman Burchard	Esteroides y triterpenoides	-
Índice afrosimétrico	Saponinas	-
Rvo. Borntrager	Antraquinonas	++

Leyenda: (+++): Alta evidencia; (++): Mediana evidencia; (+): Baja evidencia; (-): Sin evidencia

Tabla 2. Composición química de la resina de propóleos

Ensayos	Métodos	Resultados
Proteínas	AOAC official method - 2001 -11	5.47%
Humedad	AOAC official method - 934.01 (1997)	1.75%
Cenizas	AOAC official method - 942.05	13.70%
Grasas	AOAC official method - 920.38	48.44%
Fibras	AOAC official method - 962.09	3.45%
Carbohidratos	AOAC official method - 966.25	27.20%
Energía	Cálculo	566.62 Kcal/100 g

Tabla 3. Concentración de propóleos para determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH y ABTS^{•+}

	Tubo blanco (µL)	Tubo control (µL)	Extracto propóleos 30 µg/mL	Extracto propóleos 50 µg/mL	Extracto propóleos 100 µg/mL	Extracto propóleos 150 µg/mL	Tubo blanco (µL)	Tubo control (µL)	Extracto propóleos 500 µg/mL	Extracto propóleos 1000 µg/mL	Extracto propóleos 1500 µg/mL
Metanol	800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Etanol (solvente de muestra problema)	400	400	—	—	—	—	20	20	—	—	—
Muestra problema	—	—	400	400	400	400	—	—	20	20	20
DPPH	—	800	800	800	800	800	—	—	—	—	—
Agua bidestilada	—	—	—	—	—	—	980	—	—	—	—
ABTS	—	—	—	—	—	—	—	980	980	980	980

El pH de la formulación fue de 6,81; la misma pasó centrífuga a 3200 rpm. El producto se mantuvo estable a temperatura de 40 °C por el tiempo de un mes. La formulación del cremagel se presenta en la Tabla 5.

DISCUSIÓN

Los resultados cualitativos del extracto alcohólico de propóleos proveniente de Ayacucho, confirman que tiene compuestos fenólicos, flavonoides a los cuales se atribuiría la propiedad antioxidante, lo cual es coincidente con el estudio de Rengifo⁶.

El extracto de propóleos demostró además tener un IC₅₀ DPPH de 89,15 µg/mL y IC₅₀ ABTS = 1069,18 µg/mL; se observa también que el porcentaje de inhibición del reactivo radical libre DPPH y ABTS aumenta a medida que aumenta la concentración del extracto de propóleos (Tabla 4), lo que le permite ser un buen insumo o ingrediente para las formulaciones cosméticas, tal como lo demuestra un estudio en el que se determinó que tanto el extracto etanólico de propóleos como el extracto glicólico tienen buena capacidad antioxidante y fueron vehiculizados en formulaciones, en la cual demostraron tanto *in vitro* como *in vivo* ser un buen insumo para contrarrestar las afecciones ocasionadas por las radiaciones UVB y la acción cicatrizante.⁴⁻⁸

Diferentes investigaciones han demostrado que la presencia de flavonoides le confiere al propóleos la acción antimicrobiana;⁹ existen estudios que también demuestran que el uso de tinturas de propóleos al 10% tiene actividad antimicótica y

antilevaduriforme;¹¹ cualitativamente el extracto alcohólico de propóleos confirma que tiene compuestos flavonoides, lo cual hace que sea una materia prima interesante para desarrollar formulaciones cosméticas naturales. Se realizó una formulación cosmética y se hizo una estabilidad preliminar de la misma, no observándose separación de fases ni ruptura de la emulsión en el tiempo de un mes a 40°C.

CONCLUSIÓN

El extracto etanólico de propóleos mostró actividad antioxidante *in vitro* (DPPH y ABTS^{•+}) y se presenta como un insumo apto para desarrollar formulaciones cosméticas naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Vazquez, JC. (2010). Caracterización botánica de los propóleos producidos en distinto origen geográfico en la región apícola I - Cuenca del Salado, Pcia. de Buenos Aires [Tesis doctoral no publicada]. Universitat Politècnica de València. doi:10.4995/Thesis/10251/12264

Tabla 5. Formulación de un cremagel con Propóleos y miel de abejas

INGREDIENTE	Porcentaje (%)
Acrylamide/Sodium Acrylate Copolymer and Paraffinum Liquidum and Trideceth-6	3 - 5
Glicerina	2 - 5
Isononanoato de isononilo	2 - 5
Miel de abeja	2 - 5
Extracto de propóleos	5
Agua	CSP 100

Tabla 4: Concentración, absorbancia y % de Inhibición del reactivo DPPH y ABTS^{•+}

Sustancia antioxidante Extracto de Propóleos µg/mL	Promedio de absorbancia	D.S Promedio de absorbancia	DPPH		ABTS	
			Promedio de absorbancia	D.S Promedio de absorbancia	Promedio de absorbancia	D.S Promedio de absorbancia
			(%Inhibición)			(%Inhibición)
0	0.4345	0.0008	0	0.7360	0.0043	0
30	0.3413	0.0033	220.600	—	—	—
50	0.3148	0.0071	290.411	—	—	—
100	0.1991	0.0025	546.767	—	—	—
150	0.0863	0.0047	811.937	—	—	—
500	—	—	—	0.5402	0.0027	265.450
1000	—	—	—	0.3599	0.0065	517.010
1500	—	—	—	0.2476	0.0024	664.867
2500	—	—	—	0.1192	0.0093	849.899
4000	—	—	—	0.0393	0.0048	952.838
		IC ₅₀ (µg/mL)	89,15 µg/mL		IC ₅₀ (µg/mL)	1069,18 µg/mL

2. Lopez del Villar J, Ubillus CM. Estandarización del Propóleos de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco Perú como materia prima para su utilización a nivel industrial. [En línea] Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2004. [citada 19 ago 2016]. 94 p. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2328/1/Lopez_vj.pdf
3. Palomino GL. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia. [En línea] Tesis para optar el título de Magister en Ciencias Químicas. Medellín: Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. 2009. [citada 19 ago 2016]. 143 p. Disponible en: http://www.bdigital.unal.edu.co/670/1/34317446_2009.pdf
4. Ramos SM. Uso del propóleos en el proceso de cicatrización post extracción dentaria en pacientes diabéticos. [En línea] Tesis para optar el título de [Odontólogo. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. 2014. [citada 19 ago 2016]. 143 p. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/5266/1/RAMOSmartha.pdf>
5. De Oliveira FM. Desenvolvimento de formulações tópicas fotoquimiorrotectoras contendo extrato de própolis: estudos de estabilidade, permeação e retenção cutânea in vitro e de eficácia in vivo. [En línea] [Tesis para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias Farmacéuticas] [Citado]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo. 2007. Doi: 10.11606/T.60.2007.tde-01.122.008-163751
6. Rengifo-Penadillos R. Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos. [Internet]. *Pharmaciencia* [citada 19 ago 2016], 2013; 1(2): 42-50. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/462>
7. Soares Dos Reis G, Furtado VA, Ramos PL, Moreira ML. Preparación de un protector solar y evaluación de la acción fotoprotectora del propóleos verde del Vale do Aço, Minas Gerais, Brasil. [Internet] *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. [citada 19 ago 2016], 2009; 8(4):282-8. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85611265008>
8. Santos NC, Cunha NL, Neves de Lima A, Severino GJ, Rolim NP. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. [Internet] *Tecnologia de Cosméticos*. [citada 19 ago 2016], 2009; 90(4): 334 -9 Disponible en: http://rbfarma.org.br/files/pag_334a339_incremento_fps_257_90-4.pdf
9. Rodrigues LS. Padronização do extracto de própolis e avaliação da atividade antimicrobiana. [Internet] Tesis para optar el Grado Académico de Magister en Ciencias Farmacéuticas. Recife: Universidade Federal de Pernambuco. 2007. [citada 19 ago 2016]. 86 p. Disponible en: <http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/3595>
10. Ríco LE. Estudio de la actividad antimicrobiana y antioxidante de propóleos de distintos orígenes. [Internet] Tesis para optar el Fin de Grado Ciencia y Tecnología de Alimentos. Valencia: Universitat Politècnica de València. 2015. [citada 19 ago 2016]. 52 p. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10251/54188>
11. La Guardia GM. Actividad *in vitro* de seis tipos de propóleos nacionales contra los principales hongos dermatofitos y levadurasiformes que afectan la piel y anexos en perros. [Internet] Tesis para optar el Grado de Medicina Veterinaria. Universidad de Guatemala. 2011. [citada 19 ago 2016]. 52 p. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/id/eprint/2888>
12. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science And Technology*; 1995; 25(1):25-30.
13. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Cienc Tecnol Aliment*, 2005; 25(4):726-32.

