

Biotempo (Lima)



<https://revistas.urp.edu.pe/index.php/Biotempo>

ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF THE SHELF LIFE OF PEACH NECTAR WITH PROPOLIS AS A NATURAL PRESERVATIVE

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA VIDA ÚTIL DE NÉCTAR DE DURAZNO CON PROPÓLEO COMO CONSERVANTE NATURAL

Alejandrina Zavaleta-Rengifo^{1*}; César Lozano-Lévano¹ & Andrea Villaseca-Robertson¹

¹ Laboratorio de Microbiología. Empresa Nindecyt. Lima, Perú.

*Corresponding author: mirellazavaleta5@gmail.com

Alejandrina Zavaleta-Rengifo:  <https://orcid.org/0000-0002-5822-5910>

César Lozano-Lévano:  <https://orcid.org/0000-0002-5275-538X>

Andrea Villaseca-Robertson:  <https://orcid.org/0000-0001-7973-8355>

ABSTRACT

Propolis is a resinous substance produced by bees, and various investigations show that it has antioxidant, antimicrobial, and antifungal properties, which is why it is considered a great alternative as a natural preservative for foods and beverages, compared to artificial preservatives. The objective of this research work was to microbiologically evaluate the useful life of peach nectar with propolis as a natural preservative, under the parameters of NTS N°071-MINSA/DIGESA-V.01. The methodology used consisted of preparing nectar samples with different concentrations of propolis (0.03% and 0.05%) and storing them for two, five and nine days at room temperature, subsequently performing the seeding and microbiological count for mesophilic aerobes, coliforms total, molds and yeasts. The results showed a greater antimicrobial effect on total coliforms and molds, for nectar samples with propolis at 0.05%; and a greater antimicrobial effect on yeasts and mesophilic aerobes, for samples at 0.03%. Although the shelf life of the product could not be determined due to the high initial microbial loads, the potential preservative activity of propolis is evident.

Keywords: antifungal – antimicrobial – natural drink – natural preservative – preservative activity

RESUMEN

El propóleo es una sustancia resinosa producida por las abejas, y diversas investigaciones demuestran que posee propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas, por lo que se le considera una alternativa como conservante natural de alimentos y bebidas, frente a conservantes artificiales. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar microbiológicamente la vida útil de un néctar de durazno con propóleo como conservante natural, esto bajo los parámetros de la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V.01. La metodología utilizada consistió en elaborar muestras de néctar con diferentes concentraciones de propóleo (0,03% y 0,05%) y almacenarlas por dos, cinco y nueve días a temperatura

ambiente, realizando posteriormente el sembrado y recuento microbiológico para aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras. Los resultados presentaron mayor efecto antimicrobiano sobre coliformes totales y mohos, para muestras de néctar con propóleo a 0,05%; y mayor efecto antimicrobiano sobre levaduras y aerobios mesófilos, para las muestras a 0,03%. A pesar de que no pudo determinarse el tiempo de vida útil del producto debido a las altas cargas microbianas iniciales, es evidente la potencial actividad conservante que posee el propóleo.

Palabras clave: actividad conservante – antifúngico – antimicrobiano – bebida natural – preservante natural

INTRODUCCIÓN

Actualmente son muchos los consumidores que están optando por alimentos orgánicos, es decir, sin la adición de aditivos químicos alimentarios, entre los que se encuentran los conservantes artificiales (Muñoz & Quintana, 2019). Esto debido a que este tipo de conservantes, a pesar de que desempeñan un papel importante en la seguridad de los alimentos, ya sea retrasando o previniendo su deterioro microbiológico, han demostrado poseer efectos genotóxicos y mutagénicos que pondrían en riesgo la salud del consumidor, asociándolos a la aparición de enfermedades tan graves como el cáncer (Cauja, 2019).

En relación con los sorbatos y benzoatos, que son dos de los tipos de conservantes más utilizados por la industria alimentaria (Cabana-Lagares, 2020), aunque estos resulten ser poco tóxicos para los mamíferos, existen trabajos que demuestran que su consumo periódico logran que estos se transformen en mutágenos potenciales y tienen efectos genotóxicos (Piper & Piper, 2017), como se ha demostrado en alteraciones cromosómicas de células de hamsters chinos, linfocitos humanos, médula ósea de ratones que han sido expuestos a sorbatos y benzoatos (Piper & Piper, 2017; Chaleshtori *et al.*, 2018).

Por ello, el uso de conservantes naturales, que pueden obtenerse de diversas fuentes, ya sea animal, vegetal o microbiana, se presentan como una gran alternativa sobre este tipo de aditivos artificiales, para diversos alimentos, incluyendo los néctares y jugos (Vasilaki *et al.*, 2019). Uno de los conservantes naturales más utilizados es el propóleo, que se caracteriza por ser resinoso debido a las sustancias que recolectan las abejas de las plantas y los exudados de diferentes lugares (Tiveron *et al.*, 2016), y este se utiliza por sus actividades antisépticas, antibacterianas y antimicóticas; y la capacidad de captación de radicales libres es una de las propiedades principales por las que se utiliza como conservante (Pasupuleti *et al.*, 2017; El-Deeb, 2017) y se ha aplicado en bebidas lácteas; jugos de frutas y productos cárnicos (Yang *et al.*, 2017) Este producto

llama mucho la atención por su relación en la salud de las abejas y su papel determinante como antiséptico en la colmena y la inmunidad frente a los patógenos (Anjum *et al.*, 2019); por esta misma razón, hay muchas investigaciones señalando las innumerables propiedades biológicas como su acción antitumoral, anticancerígena, antihipertensiva, antivirales, anti hepatotóxico, entre otras (Anjum *et al.*, 2019; Omar *et al.*, 2017; Touzani *et al.*, 2019; El-Guendouz *et al.*, 2019).

La actividad antibacteriana del propóleo está relacionada con numerosos compuestos fenólicos, como la artepilina C, la cual presenta efecto sobre la permeabilidad de la membrana celular del microorganismo, la disrupción del potencial de membrana y la producción de ATP, así como la disminución de la movilidad bacteriana (Przybyłek & Karpiński, 2019); mientras que, para la actividad antifúngica se relaciona por los compuestos fenólicos y derivados de estos como ácidos cinámicos y benzoicos incluyendo terpenoides, sesquiterpenos, flavononas auronol, entre otros (Robles, 2018).

La importancia de estas características radica, en que las principales causas de deterioro de muchos alimentos, incluidos los néctares, son bacterias, hongos filamentosos y levaduras, los cuales también causan daño sobre la salud del consumidor (Cardozo & Ruiz, 2019). Por lo que son evaluados dentro del aspecto microbiológico de la vida útil de un producto. Siendo la vida útil, el momento desde el cual un alimento es producido hasta cuando ya no es considerado aceptable para su consumo (Vásquez, 2015).

En la presente investigación se elaboró y evaluó la vida útil de néctar de durazno con propóleo como conservante natural, desde un enfoque microbiológico, basado en el análisis de las cargas microbianas de coliformes totales, aerobios mesófilos, mohos y levaduras, comparados con los parámetros de aceptabilidad de la Norma sanitaria peruana N°071-MINSA/DIGESA-V.01(DIGESA, 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del Laboratorio de microbiología de la Empresa Nindecyt, Los Olivos-Lima, Perú, entre los meses de agosto a noviembre del año 2020, y tuvo como población, néctares de durazno de 470 mL elaborados en la Empresa Nindecyt, de donde se extrajeron al azar nueve muestras para ser evaluadas en este proyecto. El propóleo utilizado fue adquirido del Mercado Productores “Merprolima”, Los Olivos, Lima, Perú.

A las muestras de néctar se le adicionó 0,03% y 0,05% de propóleo, y junto a una muestra blanco (0% de propóleo), fueron almacenadas por dos, cinco y nueve días a temperatura ambiente, posteriormente se les realizó el análisis microbiológico para aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras a cada una. Las variables independientes evaluadas fueron el porcentaje de propóleo y el tiempo de almacenamiento, mientras que la variable dependiente fue la carga microbiana encontrada en las muestras durante su almacenamiento.

Elaboración del néctar

Se utilizó 2,5 kg de durazno, el cual se lavó, peló y licuó, obteniéndose 1,74 kg de pulpa, esta se diluyó en agua de mesa, en una proporción de 1:2 respectivamente, se le adicionó azúcar, con un cálculo previo del °Brix, ácido cítrico, Carboximetilcelulosa (estabilizante) y el propóleo (tintura al 30%) a diferentes concentraciones, luego se pasteurizó a 80°C por 5-8 min y se envasó en botellas estériles de 470 mL.

Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos por muestra fueron realizados en base a los descritos en el Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos (Valenzuela *et al.*, 2001), se prepararon previamente diluciones sucesivas de 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} de 1 mL: 9 mL de muestra inicial y agua peptonada, respectivamente.

Aerobios mesófilos

El tipo de siembra utilizada fue de placa vertida, y se utilizó el Agar Plate count fundido (45-55°C), adicionando previamente a cada placa 1 mL de la dilución, e incubando a 30°C por 48±2 h. Para el recuento, se eligieron dos placas con 30 a 300 colonias, se halló la media de estas y se multiplicó por el factor de dilución, expresando la concentración en UFC/mL (Unidad formadora de colonias por mL).

Coliformes totales

La técnica microbiológica utilizada fue de tubos múltiples, para la prueba presuntiva se utilizó Caldo lauril triptosa, con adición de 1 mL de la dilución, e incubó a 37°C durante 24-48 h. Para la prueba confirmativa, los tubos positivos (con gas y turbidez) fueron corroborados inoculando con tres asadas por tubo positivo a tubos con Caldo lactosado verde brillante bilis, incubados a 37°C durante 24-48h. Los tubos positivos confirmados fueron comparados con los valores de la tabla de Número más probable (NMP) y los resultados fueron expresados como NMP /mL.

Levaduras y mohos

La técnica microbiológica utilizada fue la de placa vertida, se utilizó el Agar OGYE fundido (45-55°C), adicionando previamente a cada placa 1 mL de la dilución, e incubando a 22- 25°C durante 5 días. El recuento para levaduras se realizó al día 3 y el de mohos al día 5, para ambos casos se eligieron 2 placas con 30 a 300 colonias, se halló la media de estas y se multiplicó por el factor de dilución, expresando la concentración en UFC/mL.

Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron registrados en un cuaderno de anotaciones y posteriormente se tabularon, promediaron y graficaron en hojas de cálculo de Microsoft Excel 2019 para su comparación con los rangos permisibles estipulados en la Norma sanitaria peruana (Dirección General de Salud Ambiental [DIGESA], 2008) para néctares de frutas.

Aspectos éticos

Los autores declaran que se cumplieron todas las normas éticas nacionales e internacionales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cargas microbianas (NMP/mL) más bajas para el caso de coliformes totales, se presentaron en las muestras con adición del propóleo al 0,05%; presentándose para el día dos, cinco y nueve, cargas de 4NMP/mL, 7NMP/mL y 20NMP/mL respectivamente, mientras que para las muestras con 0% de propóleo las cargas alcanzaron valores de 70 NMP/mL, 150NMP/mL y 1100NMP/mL para los días dos, cinco y nueve, respectivamente (Fig 1).

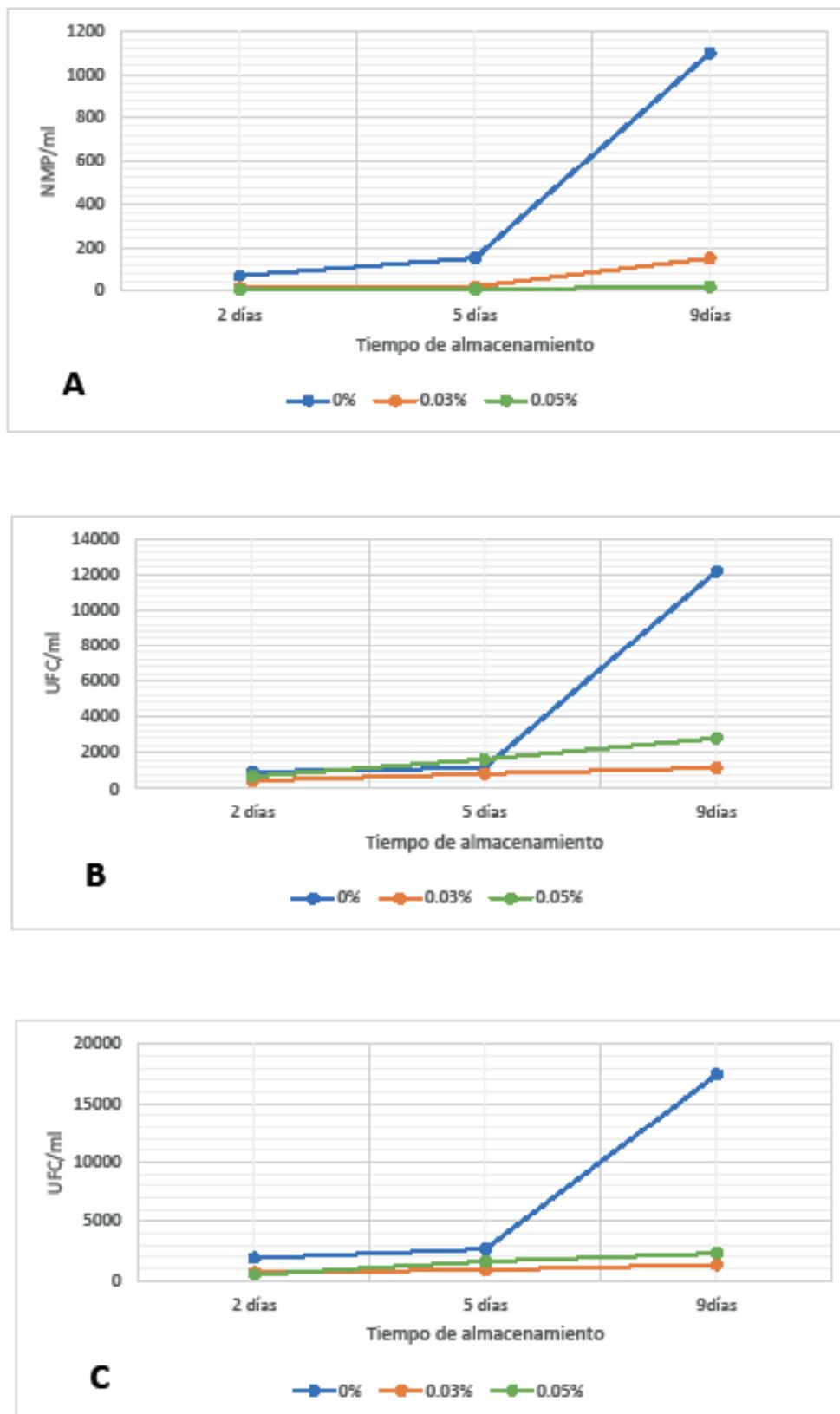


Figura 1. Comparación de las cargas microbianas en el néctar de durazno a diferentes concentraciones de propóleo durante su almacenamiento - A: coliformes totales, B: levaduras, C: aerobios mesófilos.

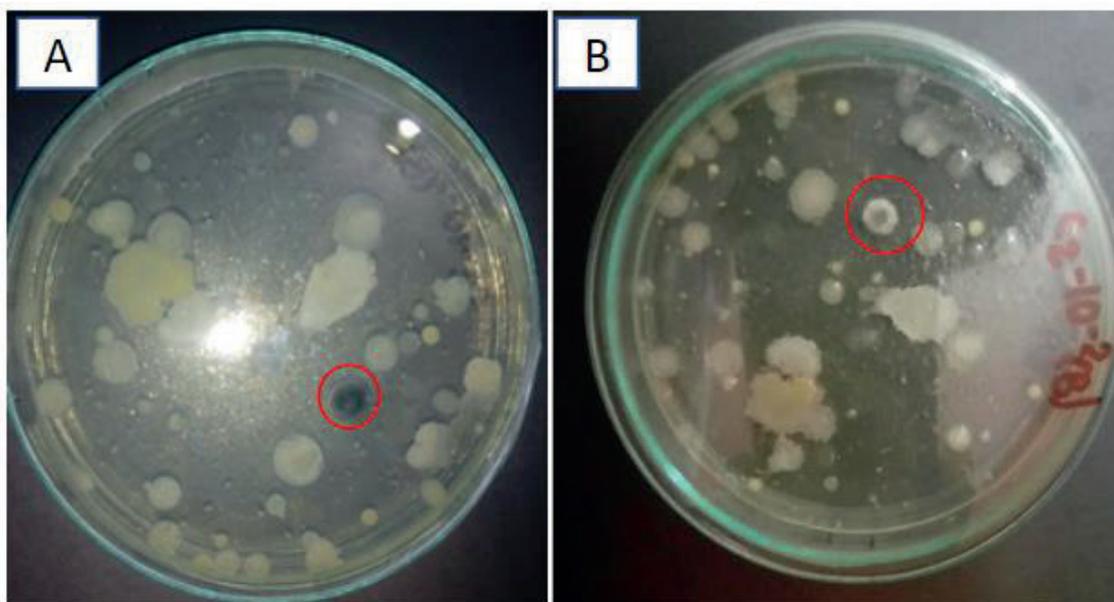


Figura 2. Placas con presencia de mohos. Placas A (0%, cinco días, 10-2) y B (0,03%, nueve días, 10-1) con presencia de moho.

Para el caso de levaduras, se observó que las muestras con propóleo presentaron una disminución de las UFC/mL respecto a las muestras sin propóleo, de las cuales fueron las de 0,03% las que presentaron menor carga de levaduras, con valores de 455 UFC/mL, 840 UFC/mL, y 1170 UFC/mL para los días dos, cinco y nueve, respectivamente (Fig 1).

En el caso de mohos, se observó que la mayoría de las muestras presentaron ausencia de UFC de mohos/mL, siendo solo las muestras con 0% de propóleo con cinco días de almacenamiento y 0,03% de propóleo con nueve días de almacenamiento, las que presentaron 50 y 5 UFC de mohos/mL respectivamente (Fig 2).

Para el caso de aerobios mesófilos, se observó que las cargas microbianas más bajas se presentaron para el néctar con adición del propóleo al 0,05%, esto para los tres días seleccionados durante su almacenamiento, con cargas de 490 UFC/mL, 1605 UFC/mL y 2290 UFC/mL para los días dos, cinco y nueve, respectivamente (Fig 1).

En base a los datos presentados se comprueba el efecto antimicrobiano del propóleo sobre todos los microorganismos en las diferentes muestras de néctar; sin embargo, las cargas microbianas no superaron los rangos de aceptabilidad según la normativa sanitaria para el caso de las bacterias, esto se debe a que el origen del propóleo utilizado y el tipo de extracción o proceso por el cual pasó inicialmente produce que la composición de propóleos varíe significativamente, esto dado que las abejas melíferas utilizan diferentes fuentes vegetales para

la recolección de propóleos en diferentes condiciones fitogeográficas y climáticas, produciendo así varios tipos de propóleos con perfiles químicos específicos (Bankova *et al.*, 2021; Aziz *et al.*, 2022), por lo que se debe buscar el mejor tipo de extracción para cada caso en particular. En este caso se aplicó tintura de propóleo de origen peruano al 30%, del cual hay escasa literatura al respecto, siendo este el producto de la maceración del 30% de propóleo puro y 70% de alcohol etílico, el cual presentó una menor actividad antimicrobiana, principalmente sobre el crecimiento bacteriano, en comparación con trabajos como los de Cauja (2019) e Inti (2019) en el que se utilizó el propóleo sólido puro de origen ecuatoriano y extracto etanoico o tintura de propóleo al 20% de origen peruano.

Respecto a la actividad antibacteriana y su eficacia, se considera siete posibles mecanismos principales, como la alteración de la función de la membrana citoplasmática, la inhibición del metabolismo energético, la reducción de la afinidad por el desarrollo de biopelículas, la inhibición de las proteínas de la membrana celular, el comprometer la permeabilidad de la membrana y la reducción de la resistencia bacteriana, todos estos de importancia en la industria alimentaria y clínica (Almuhayawi, 2020). Siendo los compuestos como pinocembrina, galangina y pinobanksina a los que se le atribuye la actividad antibacteriana significativa contra bacterias como *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884, y *Escherichia coli* (Escherich, 1885) (Anjum *et al.*, 2019).

Por su parte, en la mayoría de estudios se demuestra que el propóleo presenta un mayor efecto sobre las Gram positivas frente a las Gram negativas, esto dado que el propóleo contiene principalmente componentes de resina derivados de plantas y que estas son secretadas por las plantas para protegerse principalmente de los patógenos Gram positivos (Petruzzi *et al.*, 2020), pero esto puede variar según el origen del propóleo, encontrándose actualmente un mayor efecto en propóleos de Medio Oriente (El-Guendouz *et al.*, 2019; Zuhendri *et al.*, 2021), esta importancia radica en que dentro del grupo de bacterias, uno de los principales indicadores de contaminación de alimentos son las bacterias coliformes como *E. coli*, caracterizadas por ser de tipo Gram negativas (Ekici & Dümen, 2019). En este caso hay un efecto antibacteriano sobre el grupo de coliformes que se observa en los tres días evaluados, y dado que el propóleo evaluado en este estudio es de origen peruano, sería relevante profundizar sobre este efecto en futuros estudios.

Por su parte, la diferencia del efecto sobre hongos (mohos y levaduras) concuerda con los estudios realizados por Vasilaki *et al.* (2019), los cuales describen que el propóleo inhibe, debilita y retrasa el crecimiento de todos los mohos, mientras que presenta un efecto inhibitorio débil contra las cepas de levaduras. Este inhibe los mohos aflatoxigénicos principalmente, reduce el crecimiento de conidios en algunos como *Aspergillus flavus* Link, 1809, mientras que en otros como *Penicillium italicum* (Pers.) Sacc., detiene el crecimiento del micelio y actúa sobre la respiración del patógeno y la homeostasis energética, siendo estos efectos atribuidos a la presencia de pinocembrina (Anjum *et al.*, 2019). El propóleo también ha demostrado actividad antimicótica contra diferentes especies de levaduras, entre ellas las del género *Candida*, siendo en este efecto asociado a la gran cantidad de flavonoides que presenta, además de otros componentes clave involucrados en esta actividad como 3-acetilpinobanksin, pinobanksin-3-acetato, pinocembrina, ácido p-cumárico y ácido cafeico (Cerqueira *et al.*, 2022).

La aplicación del propóleo ha demostrado ser una buena técnica de biopasterización que sirve también para preservar los antioxidantes en los jugos de frutas, presentando mejores resultados frente a otras técnicas como las térmicas, con la exposición a altas bajas o medias temperaturas en diferentes tiempos, y las no térmicas como la exposición a radiación UV o a un campo. Esto se debe principalmente a su alto contenido de fenoles y flavonoides, que permiten la captación de radicales para limitar la oxidación del medio y con ello la inhibición del crecimiento de microorganismos (Chang

et al., 2021), este mecanismo de acción posiblemente se produce inhibiendo la ARN polimerasa bacteriana (Almuhayawi, 2020). Pero para que esto se dé, es evidente que futuros estudios requieren un mayor porcentaje de propóleo que el utilizado en el presente trabajo, más se tiene que considerar que esto afectaría el grado de acidez del producto entre otras características organolépticas (Seibert *et al.*, 2019), por lo que sería necesario realizar un estudio sensorial del producto final, para así obtener el porcentaje óptimo a emplear.

Se concluye que las cargas microbianas de aerobios mesófilos, levaduras y coliformes totales superaron el límite permisible para la aceptabilidad del néctar con propóleo, siendo la bebida no apta para el consumo humano, por lo que, para la obtención de un producto comercializable, se requiere el incremento del porcentaje de propóleo aplicado. Por su parte, las cargas microbianas de mohos del néctar con propóleo para ambos porcentajes evaluados (0,03% y 0,05%) se encontraron dentro del rango de aceptabilidad según la Norma Sanitaria Peruana N°071-MINSA/DIGESA-V.01 (DIGESA, 2008), por lo que se determina que el tipo de extracto de propóleo utilizado en este estudio presenta un efecto inhibitorio mayor sobre los hongos y de menor efecto sobre las bacterias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almuhayawi, M.S. 2020. Propolis as a novel antibacterial agent. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27: 3079-3086.
- Anjum, SI.; Ullah, A.; Khan, K.; Attaullah, M.; Khan, H.; Ali, H.; Bashir, M.; Tahir, M.; Ansari, M.; Ghramh, H.; Adgaba, N. & Dash, C. 2019. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Science*, 26: 16-43.
- Aziz, S.; Akbar, A.; Gul, Z.; Sadiq, M.B.; Achakzai, J.K.; Khan, N.A.; Samad, A.; Rehman, Z.U. & Ali, I. 2022. Functional Potential and chemical profile analysis of propolis oil extracted from propolis of Balochistan. *Journal of Food Quality*, 2022: 4782813.
- Bankova, V.; Trusheva, B. & Popova, M. 2021. Propolis extraction methods: A review. *Journal of Apicultural Research*, 60: 734-743.
- Cabana-Lagares, R.A. 2020. *Perfil de riesgos de sorbatos y benzoatos en bebidas a base de fruta no gaseosas en*

- Colombia. (Tesis para optar el grado de licenciado). Universidad de la Salle de Arequipa, Perú.
- Cardozo, J.L. & Ruiz, D. 2019. *Evaluación fisicoquímica y microbiológica del néctar pitahaya amarilla (Hylocereus triangularis), sometido a tratamientos por radiación con luz ultravioleta UV-C y pasteurización*. (Tesis de optar el grado de licenciado). Universidad Señor de Sipán en Chiclayo, Perú.
- Cauja, J. 2019. *Evaluación de las propiedades del propóleo como conservante natural en una bebida elaborada a base de piña (Ananas comosus)*. (Tesis para optar el grado de licenciado). Universidad Nacional de Chimborazo en Riobamba, Ecuador.
- Cerqueira, P.; Cunha, A. & Almeida-Aguiar, C. 2022. Potential of propolis antifungal activity for clinical applications. *Journal of Applied Microbiology*, 133: 1207-1228.
- Chaleshtori, F.; Arian, A. & Chaleshtori, R. 2018. Assessment of sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in some products in Kashan, Iran with estimation of human health risk. *Food and chemical toxicology*, 120: 634-638.
- Chang, Z.Q.; Leong, W. & Chua, L.S. 2021. Statistical approach to reveal propolis as a potential biopreservative for fruit juices. *Future Foods*, 4: 100051.
- Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). 2008. *Norma Sanitaria N° 071-/DIGESA V.01 que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. DIGESA.
- El-Deeb, A. M. 2017. Utilization of propolis extract as a natural preservative um raw milk. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 8: 315-321.
- El-Guendouz, S.; Lyoussi, B. & Miguel, M. 2019. Insight on propolis from Mediterranean countries: Chemical composition, biological activities and application fields. *Chemistry & Biodiversity*, 16: 1-35.
- Ekici, G. & Dümen, E. 2019. *Escherichia coli and food safety*. In: *The universe of Escherichia coli*. IntechOpen.
- Inti, J. 2019. *Caracterización de los propóleos del distrito de Huaraz y su efecto conservante en yogurt frutado*. (Tesis para optar el grado de Doctor). Universidad Nacional Federico Villarreal en Lima, Perú.
- Muñoz, A.C. & Quintana, G.J. 2019. *Productos a base de alimentos naturales y orgánicos*. (Tesis para obtener el grado de licenciado). Universidad Autónoma de Bucaramanga. Colombia.
- Omar, R.; Igoli, J.O.; Zhang, T.; Gray, A.I.; Ebiloma, G.U.; Clements, C.J.; Fearnley, J.; Ebel, R.; Paget, T.; De Koning, H. & Watson, D. 2017. The chemical characterization of Nigerian propolis samples and their activity against *Trypanosoma brucei*. *Scientific Report*, 7: 923.
- Pasupuleti, V.R.; Sammugam, L.; Ramesh, N. & Gan, S. 2017. Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017: 1259510.
- Petruzzi, L.; Rosaria-Corbo, M.; Campaniello, D.; Speranza, B.; Sinigaglia, M. & Bevilacqua, A. 2020. Antifungal and antibacterial effect of propolis: A comparative hit for food-borne *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* and *Fungi*. *Foods*, 9: 559.
- Piper, J.D. & Piper, P.W. 2017. Benzoate and sorbate salts: a systematic review of the potential hazard of these invaluable preservatives and the expanding spectrum of clinical uses for sodium benzoate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16: 868-880.
- Przybyłek, I. & Karpiński, T. M. 2019. Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24: 2047.
- Robles, S. 2018. *Caracterización química de propóleos mexicanos por HPLC-UV-ESI-MS*. (Tesis para obtener el grado de maestro). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Seibert, J. B.; Bautista-Silva, J. P.; Amparo, T. R.; Petit, A.; Pervier, P.; dos Santos, J.C.; Azevedo, M.C.; Silveira, B.M.; Brandão, G.C.; Bianco de Souza, G.H.; Teixeira, L.F.M. & Dos Santos, O.D.H. 2019. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. *Food chemistry*, 287: 61-67.
- Tiveron, A.P.; Rosalen, P.L.; Franchin, M.; Lacerda, R.C.; Bueno-Silva, B.; Benso, B. & Alencar, S.M. 2016. Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of south brazilian organic propolis. *PLoS One*, 11: e0165588.

- Touzani, S.; Embaslat, W.; Imtara, H.; Kmail, A.; Kadan, S.; Zaid, H.; Elarabi, I.; Badiaa, L. & Saad, B. 2019. *In vitro* evaluation of the potential use of propolis as a multitarget therapeutic product: Physicochemical properties, chemical composition, and immunomodulatory, antibacterial, and anticancer properties. *BioMed Research International*, 2019: 4836378.
- Valenzuela, A.; Llanos, Z.; Osorio, S. & Azabache, N. 2001. *Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos*. Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA).
- Vasilaki, A.; Hatzikamari, M.; Stagos-Georgiadis, A.; Goula, A.M. & Mourtzinis, I. 2019. A natural approach in food preservation: Propolis extract as sorbate alternative in non-carbonated beverage. *Food Chem*, 298: 125080.
- Vásquez, G. J. 2015. *Determinación de la temperatura óptima de almacenamiento para maximizar la vida útil del néctar de mango *Mangifera indica* con kiwicha *Amaranthus caudatus* de la marca Allfruit mediante pruebas en el tiempo real*. (Tesis para obtener el grado de licenciado). Universidad Nacional de San Agustín en Arequipa.
- Yang, W.; Wu, Z.; Huang, Z.Y. & Miao, X. 2017. Preservation of orange juice using propolis. *Journal of Food Science and Technology*, 54: 3375–3383.
- Zulhendri, F.; Chandrasekaran, K.; Kowacz, M.; Ravalía, M.; Kripal, K.; Fearnley, J. & Perera, C. O. 2021. Antiviral, Antibacterial, Antifungal, and Antiparasitic Properties of Propolis: A Review. *Foods*, 10: 1360.

Received March 2022.

Accepted June 5, 2022.