

Caracterización fisicoquímica, sensorial y microbiológica del polen con miel

Liliana Michelle Romero Tandazo

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Caracterización fisicoquímica, sensorial y microbiología del polen con miel

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Liliana Michelle Romero Tandazo

Zamorano, Honduras

Caracterización fisicoquímica, sensorial y microbiológica del polen con miel

Liliana Michelle Romero Tandazo

. En los últimos años, el deseo de mantener una alimentación saludable es importante para los consumidores y ha permitido que la miel y el polen sean los productos de la colmena con mayor consumo debido a sus propiedades nutricionales. Actualmente en el mercado hondureño no existe un producto que contenga la mezcla de polen con cierta porción de miel y la información en relación a las propiedades de este producto es limitada. El objetivo de este estudio fue determinar las características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de tres concentraciones de polen y miel producidas en la Planta Apícola de Zamorano. Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con tres tratamientos evaluados en el tiempo (día uno y siete) y tres repeticiones. Los análisis realizados fueron fisicoquímicos (color, pH, A_w y proteína cruda), microbiológicos (coliformes totales, mesófilos aerobios, hongos y levaduras); y un análisis sensorial basado en una prueba de aceptación donde se evaluó el color, apariencia, aroma, aceptación general por 60 panelistas no entrenados. El estudio concluye que independiente del contenido de polen y miel, el producto presenta alta acidez y bajo contenido de agua libre lo que permite obtener un producto microbiológicamente estable hasta los siete días de producido. El contenido de bacterias mesófilas, hongos y levaduras cumplen los límites según la norma técnica salvadoreña para polen NSO, 65:38.01:04. Los panelistas dieron al producto una valoración mínima de “me gusta poco” en atributos de color, aroma, apariencia y aceptación general.

Palabras clave: A_w , coliformes totales, mesófilos aerobios, pH, proteína.

Abstract. In the last years, the desire to support a healthy supply is important for the consumers and has allowed that the honey and the pollen be the products of the beehive with major consumption due to their nutritional properties. Nowadays, the Honduran market does not provide any product that contains the mixture of pollen with certain portions of honey; therefore, the information in relation to the properties of this product is limited. The aim of this study was to determine the physiochemical, sensory, and microbiological characteristics in three pollen and honey concentrations produced at honeybee plant in Zamorano. A design of Complete Random Blocks (BCA for its Spanish acronyms) with three treatments evaluated with time (during the first and seventh days) and three repetitions. The realized analyses were physicochemical (color, pH, A_w and raw protein), microbiological (total coliforms, aerobic mesophylls, fungi and yeasts) and a sensory analysis based on a test of acceptance and the color, appearance, aroma, and general acceptance by 60 untrained panelists were evaluated. The study concludes that independently from the content of pollen and honey, the product contains high acidity and low content of free water, which allows obtaining a microbiologically stable product seven days after its production. The content of mesophilic bacteria, fungi and yeasts comply with the limits, according to the technical Salvadorian regulations for pollen NSO, 65:38.01:04. The panelists gave to the product a minimal valuation of “I like it little” attributing color, aroma, appearance and general acceptance.

Key Words: A_w , mesophilic aerobic, pH, protein, total coliform.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4. CONCLUSIONES	13
5. RECOMENDACIONES	14
6. LITERATURA CITADA.....	15
7. ANEXOS	19

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Descripción de los tratamientos.....	5
2. Resultado de análisis físico: Color L*a*b*.	6
3. Resultado de análisis químicos: A _w	7
4. Resultado de análisis químicos: pH.....	8
5. Resultado de análisis químico: Proteínas cruda (%).	8
6. Resultado de análisis microbiológicos: Coliformes totales (Log ₁₀ NMP/g).	9
7. Resultado de análisis microbiológicos: Bacterias mesófilas aerobias (Log ₁₀ UFC/g).	10
8. Resultado de análisis microbiológicos: Hongos y levaduras (Log ₁₀ UFC/g).	10
9. Resultado de análisis sensorial de aceptación: Apariencia y color	11
10. Resultado de análisis sensorial de aceptación: Aroma y aceptación general.	12
Anexos	Página
1. Estructura del polen con miel, al día 7 con un aumento de 100X.	19
2. Boleta empleada para la evaluación sensorial de las muestras.....	19
3. Correlación de resultados de atributos sensoriales evaluados en el polen y miel..	20
4. Valor F y P análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales.	20
5. Costos variables para la producción de un bote de 150 gramos.....	21
6. Aceptabilidad del producto según costos variables según la encuesta realizada a los panelistas.....	21

1. INTRODUCCIÓN

El consumo y comercialización de la miel a nivel mundial, se encuentra en auge, por ser un producto natural y saludable en comparación con otros edulcorantes industriales (UPEG 2016). La miel tiene, propiedades antisépticas y nutritivas pues contiene diferentes azúcares simples (fructosa y glucosa), ácidos orgánicos y enzimas (CODEX 1981). La miel es elaborada por las abejas obreras que se encargan de recolectar el néctar de las flores y lo depositan en su estómago para transportarlo hasta la colmena. El néctar es almacenado dentro del panal que se encuentra a 35°C lo que permite reducir el porcentaje de humedad del néctar de un 60% hasta un 16-18% de humedad que contiene la miel (Bradbear 2005).

El polen está constituido por los gametofitos masculinos de las plantas superiores que son partículas microscópicas (20-40 μm) con diferentes morfologías contenidos originalmente en el saco polínico de las flores (Ulloa *et al.* 2010). La presencia de Zn, Cu, Fe y una alta relación K/Na hacen que el polen apícola sea importante para la dieta humana (Puig *et al.* 2012). El polen a pesar de sus propiedades proteicas y nutritivas presenta apenas un consumo del 11% comparado con la capacidad de producción de la colmena (Caballero *et al.* 2009).

A mediados del siglo XX se empezaron a utilizar trampas para la cosecha de polen, se conoce que contiene recuentos elevados de bacterias, levaduras y hongos. La alta población microbiana del polen está relacionada con la humedad relativa y el porcentaje de humedad que contiene el polen a la cosecha (Salamanca *et al.* 2008). El secado del polen se realiza entre 40 a 45°C de 4 a 5 horas; este proceso, aunque disminuye la microbiota del polen apícola fresco, no siempre es un método efectivo para obtener un producto con calidad microbiana aceptable (Castillo 2015). Las abejas colocan el polen dentro de las celdas que contienen néctar permitiendo que la mezcla se fermente provocando una baja de pH (Araneda *et al.* 2014) y por lo tanto, la reducción de la microbiota del polen que colectaron en campo. El polen con miel da lugar a la fermentación de bacterias ácido lácticas provocando un cambio en la estructura química del producto aportando propiedades sensoriales y características en cuanto a sabor, aroma, apariencia, textura y además, tiene mayor vida anaquel (Ramírez *et al.* 2011).

En 2015, Choriego evaluó dos prototipos de pan de abeja, producidos en laboratorio y determino que al día siete las muestras de pan de abeja tenían colores amarillos, rojizos y ligeramente brillante, con pH de 4.25 y 13.9% de proteína cruda. No obstante, demostró que el contenido de hongos y levaduras excedían el límite de la Norma Salvadoreña 65:38.01.04 para polen.

En este estudio se evaluó polen cosechado en Ecuador durante la producción 2016, el cual luego de la cosecha se mantuvo en refrigeración a una temperatura entre 3 y 8°C hasta el procesamiento.

Con este estudio se provee información a la industria apícola que podría permitirles diversificar el procesamiento de los productos de la colmena. Los objetivos de esta investigación fueron:

- Determinar el efecto de la concentración de polen con miel en características fisicoquímicas del producto.
- Valorar la aceptación sensorial de diferentes formulaciones de polen con miel.
- Determinar efecto del polen y miel en los recuentos microbiológicos del producto.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio.

El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, departamento de Francisco Morazán, Honduras. El producto se procesó en la Planta Apícola de Zamorano, los análisis fisicoquímicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) y los análisis microbiológicos en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ).

Producción de polen con miel.

Las materias primas polen y miel se prepararon según el flujo de proceso del Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de la Planta Apícola de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano 2015. Luego en recipientes plásticos ($d = 9\text{cm}$ y $h = 5.5\text{cm}$) se colocaron muestras de 150 gr de la mezcla homogénea de polen y miel según la fórmula del tratamiento (dos recipientes por tratamiento). Los recipientes se mantuvieron cerrados y a temperatura ambiente ($23 \pm 3.39\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante uno y siete días.

Análisis de color.

Se utilizó el colorímetro Colorflex Hunter L a^*b^* modelo 45 serie Cx0687, utilizando el método AN 1018.00. Los valores fueron reportados como $L^*a^*b^*$, en el cual la coordenada “L” representa luminosidad y puede tomar valores de 0 a 100, donde 0 es Negro y 100 es blanco. La “a” define la desviación del punto acromático correspondiente a cuantificar el color con base a la escala donde -80 corresponde a verde, +80 corresponde a rojo y 0 es neutro. La coordenada b^* cuantifica el color con base en la escala donde -80 corresponde a azul y +80 corresponde a amarillo (HunterLab 2012).

Análisis de A_w .

Se utilizó el equipo “Aqualab” 3TE 62.22875, según el método AOAC 978.118 (Nielsen S 2017). Se tomaron tres lecturas por tratamiento en cada repetición.

Análisis de pH.

Se utilizó el potenciómetro Large Display pH de la Planta Apícola y antes de cada repetición se realizó la calibración del equipo. Se pesaron 10 gr de muestra y se le agregaron 100 ml de agua destilada, se mezcló hasta suspender uniformemente la muestra. Posteriormente, se introdujo el potenciómetro en cada frasco y se tomaron tres lecturas por tratamiento en cada repetición.

Análisis de proteína cruda.

Se utilizó el equipo kjedahl compuesto por: digestión, destilación y titulación utilizando el método AOAC 2001.11 (Persson *et al.* 2008). Se calculó el porcentaje de proteína cruda por la ecuación 1.

$$\text{Porcentaje de proteína} = \frac{(T-Bx) \times N \times 14.007}{M \times O} \times (6.25) \quad [1]$$

Donde:

T: Volumen de ácido clorhídrico utilizado para titular en (ml).

Bx: Promedio del volumen de ácido clorhídrico utilizado para titular blancos (ml).

N: Normalidad de la solución de ácido clorhídrico estandarizado.

M: Peso de la muestra (g).

Análisis de coliformes totales.

Para este análisis se utilizó la técnica de número más probable (NMP) de acuerdo al Manual de Bacteriología (BAM) de Food and Drug Administration FDA (Feng *et al.* 2002), señalado en el capítulo 4. Se analizó los tres tratamientos con sus respectivas medidas en el tiempo (al día 1 y 7) y se incubó a 35° por 1 día prueba presuntiva y 2 días para prueba confirmatoria.

Análisis de hongos y levaduras.

Para este análisis se utilizó la técnica vaciado en placa, señalado en el American Public Health Association (APHA 2001), capítulo 16, utilizando agar papa dextrosa (PDA) se acidificado con ácido tartárico el medio de cultivo (Vabderzant y Splittstoesser 1992). Se analizó los tres tratamientos con sus respectivas medidas repetidas en el tiempo (al día 1 y 7) y se incubó a 25°C por 2 días con una segunda revisión el día 5.

Análisis sensorial.

Se realizó la prueba afectiva de aceptación basada en la evaluación de los atributos de apariencia, color, aroma y aceptación general. Se usó una escala hedónica de nueve puntos, donde uno corresponde a me disgusta extremadamente y nueve corresponde a me gusta extremadamente. Para este análisis se contó con la colaboración de 60 panelistas no entrenados.

Descripción de los tratamientos.

La formulación del polen con miel fue basada según pruebas preliminares que indicaron que los tratamientos con mayor porcentaje de polen o miel obtienen mejor aceptabilidad y para el tratamiento con porcentajes equivalentes la misma proporción que en un prototipo de pan de abeja con relación (1:1).

Diseño experimental.

Para este estudio se usó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) evaluando tres tratamientos (Cuadro 1) y tres repeticiones con dos medidas repetidas en el tiempo (día uno y siete) en análisis de color, pH y microbiológicos. Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA), utilizando el modelo lineal general (GLM) del programa de evaluación estadístico “Statistical Analysis System” (SAS® versión 9.4). Se realizó la separación de media con la prueba DUNCAN con una probabilidad de 0.05.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Descripción
1	70% Miel y 30% polen
2	50% Miel y 50% polen
3	30% Miel y 70% polen

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímicos.

A continuación, se presentan los resultados de análisis fisicoquímicos realizados en este estudio:

Color L* a* b*. El cuadro 2 muestra que en los resultados de atributos L*a*b* no se encontraron diferencias significativas a través del tiempo en cada tratamiento ($P>0.05$), pero muestra que existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0.05$).

Cuadro 2. Resultado de análisis físico: Color.

Tratamiento	L*	a*	b*
	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.
70% Miel y 30% polen	38.71 $\pm$ 1.76 ^B	12.00 $\pm$ 1.20 ^A	49.56 $\pm$ 8.17 ^A
50% Miel y 50% polen	40.66 $\pm$ 1.67 ^B	10.83 $\pm$ 1.47 ^{AB}	49.02 $\pm$ 8.90 ^A
30% Miel y 70% polen	43.33 $\pm$ 1.98 ^A	9.98 $\pm$ 1.18 ^B	32.12 $\pm$ 3.24 ^B
CV%	4.40	7.71	17.83

^{A-B} Letras diferentes dentro de columna indican diferencias entre tratamiento ($P<0.05$)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

El análisis colorimétrico indica que en la escala de valor de L* los tratamientos presentan rangos bajos, encontrando menor luminosidad en los tratamientos que tienen mayor porcentaje de miel. En este estudio, la diferencia estadística entre tratamientos podría relacionarse con la tonalidad oscura de la miel y tonalidades más claras del polen. Por ello, el contenido de miel podría definir la claridad u oscuridad del producto, según las pequeñas cantidades de pigmentos (carotenoides, clorofila y xantofila) (Suescún y Vit 2008).

El valor de b* indica que los tratamientos presentan rangos intermedios para color amarillo en tratamientos con mayor porcentaje de miel. Murillo (2015), indica valores b* 46.50 $\pm$ 17.43 en miel y asocia a la zona de producción con la generación de tonalidades claras. Ramírez (2016), indica valores de b* 33.57 $\pm$ 2.52 en polen asociando a una tonalidad amarillo - anaranjado dependiendo de la cantidad de carotenoides del producto. En este estudio, el contenido de miel podría definir la desviación al color amarillo.

El valor a* indica que los tratamientos presentan rangos positivos para el color rojo a mayor porcentaje de miel. Choriego (2015), reporto valores de a* 9.33 $\pm$ 0.255 en polen asociando la tonalidad rojo y anaranjado al origen botánico.

El valor a^* indica que los tratamientos presentan rangos positivos para el color rojo a mayor porcentaje de miel. Choriego (2015), reporto valores de $a^* 9.33 \pm 0.255$ en polen asociando la tonalidad rojo y anaranjado al origen botánico.

El color rojo podría estar relacionado con el contenido de flavonoides que contienen las antocianinas en el polen (Saavedra *et al.* 2013). Este estudio muestra que los tratamientos con mayor porcentaje de miel tienden a presentar coloración amarilla anaranjado oscura contrario al polen que presento color anaranjado claro el cual le otorga un menor valor en el rango de a^* .

A_w . El cuadro 3 indica que no se encontró diferencias significativas entre tratamiento en el valor de actividad de agua ($P>0.05$). El polen con el que se trabajó en el estudio reporta una actividad de agua de 0.392 ± 0.05 y la miel procesada en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano presenta $A_w 0.607 \pm 0.19$ (Carrera 2016). En este estudio a pesar de las diferencias en contenido de polen y miel, los valores de A_w fueron iguales en todos los tratamientos. Lo anterior, podría estar relacionado con la higroscopicidad de los productos apícolas y por lo tanto, absorción de humedad durante proceso de mezclado y almacenamiento.

Cuadro 3. Resultado de análisis químicos: A_w .

Tratamiento	Media $\pm$ D.E.
70% Miel y 30% polen	0.55 ± 0.07^A
50% Miel y 50% polen	0.52 ± 0.05^A
30% Miel y 70% polen	0.51 ± 0.03^A
CV%	6.56

^A Medias seguidas de letras iguales indican que los tratamientos son iguales ($P>0.05$)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

Un alimento se considera seguro microbiológicamente cuando la actividad de agua es inferior a 0.6 pues los hongos, levadura osmofilas *Clostridium*, *Bacillus* y *Staphylococcus* no se pueden multiplicar (Coronel *et al.* 2004). En este estudio todos los tratamientos presentaron valores de A_w inferiores a 0.60, los cuales podrían no favorecer el crecimiento microbiano.

pH. El cuadro 4 indica que no se encontró diferencias significativas en el pH de los tratamientos a través del tiempo en cada tratamiento ($P>0.05$), ni se encontró diferencia significativa entre tratamiento ($P>0.05$). El polen con el que se trabajó en el estudio reportó pH 4.50 ± 0.39 y la miel procesada en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano presentó pH 4.60 ± 0.14 (Carrera 2016).

Cuadro 4. Resultado de análisis químicos: pH.

Tratamiento	Media $\pm$ D.E.
70% Miel y 30% polen	4.34 $\pm$ 0.47 ^A
50% Miel y 50% polen	4.44 $\pm$ 0.44 ^A
30% Miel y 70% polen	4.45 $\pm$ 0.38 ^A
CV%	8.38

^A Letras iguales en la misma columna indican que los tratamientos son iguales ($P > 0.05$)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

Los resultados coinciden con lo encontrado por Choriego (2015) con el prototipo de pan de abeja con miel, cuyos valores de pH al día 7 fueron similares 4.23 ± 0.09 . Carrera (2016), en sus resultados de estudio de un producto de miel con polen reportó que ambas materias primas presentaron pH con valores similares 4.63 ± 0.15 . En este estudio la acidez podría no haber disminuido pues aun no ocurrió la fermentación tipo láctica que suele disminuir el pH en el polen. Según Nagai *et al.* 2004, la fermentación láctica en polen se alcanza hasta el día 15, momento en que el polen se transforma en pan de abeja.

Proteína cruda. El cuadro 5 indica que se encontró diferencias significativas entre tratamientos en el contenido de proteína ($P < 0.05$). Los tratamientos con mayor contenido de miel presentaron menor contenido de proteínas.

Cuadro 5. Resultado de análisis químico: Proteínas cruda (%).

Tratamiento	Media $\pm$ D.E.
70% Miel y 30% polen	8.71 $\pm$ 2.07 ^C
50% Miel y 50% polen	14.39 $\pm$ 2.05 ^B
30% Miel y 70% polen	18.29 $\pm$ 0.93 ^A
CV%	9.94

^{A-C} Medias con diferente letra indican diferencias entre tratamiento ($P < 0.05$).

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

Según Urruchi (2012), la miel contiene menos de 0.4% de proteína y el principal componente son carbohidratos entre los cuales destacan glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, isomaltosa, turanosa (Zandamela 2008). Fuentemayor *et al.* (2014), indican que el contenido de proteína del polen seco del altiplano es de 23.8 ± 3.2 %. En estudios con prototipo de pan de abeja elaborado con miel encontraron menor contenido de proteína $13.60\% \pm 1.361$ en tratamientos que contenían miel (Choriego 2015).

En este estudio todos los tratamientos permitirán brindar una fuente de proteína de alta calidad, pero no son fuente de proteína. Teniendo en cuenta que un estudiante de Zamorano

de 70 Kg consumiera 25 g basado en una dieta de 1800 kcal del tratamiento con mayor porcentaje de polen aportaría 5.16 del porcentaje de su valor calórico diario.

Análisis microbiológicos.

A continuación, se presentan los resultados de análisis microbiológicos realizados en este estudio:

Coliformes totales. El cuadro 6 muestra que no se encontraron diferencias significativas en el tiempo en recuentos por tratamiento ($P>0.05$), pero si se encontró diferencias significativas entre tratamiento en los recuentos de estos microorganismos ($P<0.05$). Los resultados muestran menor recuento en los tratamientos con mayor concentración de miel. Cárdenas *et al.* (2008), indica que los antioxidantes fenólicos de la miel (ácidos, éteres orgánicos aromáticos y flavonoides) son reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias Gram positivas y negativas.

Cuadro 6. Resultado de análisis microbiológicos: Coliformes totales.

Tratamiento	(Log₁₀ NMP/g) ± D.E.
70% Miel y 30% polen	0.39 ± 0.34 ^B
50% Miel y 50% polen	0.33 ± 0.40 ^B
30% Miel y 70% polen	1.07 ± 0.58 ^A
CV%	43.27

^{A-B} Medias con diferente letra indican diferencias entre tratamiento ($P<0.05$)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

El tratamiento con mayor porcentaje de polen reporta valores superiores en recuento de coliformes totales y podría estar relacionado, con la carga microbiana natural de este producto (Zuluga C *et al.* 2014; Puig *et al.* 2012). En este estudio, el recuento excede lo establecido en NSO 65:38.01:04 (CONACYT 2005), que indica ausencia de Coliformes totales para polen.

Bacterias mesófilas aerobias. El cuadro 7 muestra que no se encontraron diferencias significativas en el tiempo en el recuento de cada tratamiento ($P>0.05$), ni se encontró diferencias significativas entre recuentos de este microorganismo entre tratamientos ($P>0.05$). Lo anterior, podría estar relacionado con el contenido de agentes antimicrobianos las inhibidas que contiene la miel y que contiene peróxido de hidrógeno, flavonoides, ácidos fenólicos y la enzima glucosa oxidasa responsable en gran parte de la propiedad antibacteriana a la reducción de microorganismos (Ulloa *et al.* 2010).

Cuadro 7. Resultado de análisis microbiológicos: Bacterias mesófilas aerobias.

Tratamiento	(Log ₁₀ UFC/g) ± D.E.
70% Miel y 30% polen	2.23 ± 0.20 ^A
50% Miel y 50% polen	2.20 ± 0.16 ^A
30% Miel y 70% polen	2.14 ± 0.31 ^A
CV	10.62

^A Medias seguidas de letras iguales indican que los tratamientos son iguales (P>0.05)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

En este estudio todos los tratamientos cumplen con la norma para polen NSO 65:38.01:04, en el recuento de bacterias mesófilas (< 4 Log UFC/G). Castillo (2015), reporta valores de polen seco de 3.29 ± 0.53 asociando la presencia a deficiencias en las prácticas de manufactura del proceso.

Hongos y levaduras. El cuadro 8 muestra que no se encontraron diferencias significativas en el tiempo en los tratamientos (P>0.05), pero se encontró diferencias significativas entre tratamiento en los recuentos de estos microorganismos (P<0.05). Todos los tratamientos cumplen con la norma para polen NSO 65:38.01:04, (< 2.48 Log UFC/g).

Cuadro 8. Resultado de análisis microbiológicos: Hongos y levaduras.

Tratamiento	(Log ₁₀ UFC/g) ± D.E.
70% Miel y 30% polen	1.03 ± 0.29 ^C
50% Miel y 50% polen	1.37 ± 0.40 ^B
30% Miel y 70% polen	1.40 ± 0.43 ^A
CV	16.63

^{A-C} Medias con diferente letra indican diferencias entre tratamiento (P<0.05)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

En este estudio los recuentos de hongos y levaduras, fueron menores en los tratamientos con mayor contenido de miel a pesar de la carga natural que contiene el polen. Urruchi (2012), indica que ni la concentración de agua ni la saturación hipertónica de la miel, son favorable para el desarrollo de hongos y levaduras. La alta acidez de la miel y otras propiedades antimicrobianas (Bradbeer 2005) disminuyen el crecimiento de estos microorganismos.

Análisis sensorial.

A continuación, se presentan los resultados del análisis sensorial realizado en este estudio:

Apariencia y color. El cuadro 9 indica que se encontraron diferencias significativas entre tratamiento en la aceptación de la apariencia y el color de los tratamientos ($P < 0.05$). En los resultados de ambos atributos, los panelistas dieron una calificación de “me gusta poco” para los tratamientos con mayor porcentaje de polen o miel y calificaron como “me disgusta poco” para el tratamiento con igual cantidad de polen y miel.

Cuadro 9. Resultado de análisis sensorial: Aceptación de apariencia y color (escala hedónica 1-9).

Tratamiento	Apariencia Media $\pm$ D.E	Color Media $\pm$ D.E
70% Miel y 30% polen	5.33 $\pm$ 1.91 ^A	5.83 $\pm$ 1.86 ^A
50% Miel y 50% polen	4.46 $\pm$ 1.90 ^B	4.45 $\pm$ 1.86 ^B
30% Miel y 70% polen	5.71 $\pm$ 1.91 ^A	5.71 $\pm$ 1.87 ^A
CV%	35.80	32.99

^{A-B} Medias con diferente letra en la columna indican diferencias entre tratamiento ($P < 0.05$)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

Sanoja (2016), indica que existe mayor sensibilidad a los colores cálidos amarillos, rojos y naranjas ya que son considerados como alimentos con mayores características nutricionales y mayor aporte de energía mientras que los colores más fríos azul, morado generan rechazo y nos recuerdan a comida en mal estado. La decisión del panelista podría estar influenciada por el estímulo del color, asociando que la tonalidad oscura es de inferior calidad, aunque su valor nutritivo sea igual.

Se encontró una relación directa entre la apariencia y el color por lo que los tratamientos que tuvieron mayor aceptación en apariencia mostraron una mayor aceptación en el atributo de color (0.72260 y $P < 0.001$). Dado que la primera impresión de un producto entra por la vista y es un criterio para elegir un producto alimenticio Rettig y Ah-hen (2014).

Aroma y aceptación general. El cuadro 10 indica que se encontró diferencias significativas entre tratamiento en la aceptación del aroma y aceptación general de los tratamientos ($P < 0.05$). Los panelistas dieron una calificación de “me gusta poco” para todos los tratamientos en ambos atributos.

Se encontró una relación directa entre el aroma y la aceptación general por lo que los tratamientos con mayor aroma mostraron mayor aceptación general (0.81334 y $P < 0.001$). Lo que podría estar relacionado con que el aroma de los alimentos es el responsable de la aceptabilidad del producto (Urtasun 2016).

Cuadro 10. Resultado de análisis sensorial: Aceptación del aroma y aceptación general (escala hedónica 1-9).

Tratamiento	Aroma Media $\pm$ D.E	Aceptación general Media $\pm$ D.E
70% Miel y 30% polen	6.46 $\pm$ 1.81 ^A	6.55 $\pm$ 1.74 ^A
50% Miel y 50% polen	5.65 $\pm$ 1.81 ^B	5.51 $\pm$ 1.74 ^B
30% Miel y 70% polen	6.08 $\pm$ 1.80 ^{AB}	6.10 $\pm$ 1.5 ^{AB}
CV%	29.57	27.72

^{A-B} Medias con diferente letra indican diferencias entre tratamiento (P<0.05)

C.V. Coeficiente de Variación

D.E. Desviación Estándar

Los resultados del análisis sensorial del aroma y aceptación general indican que existe mayor aceptación por el tratamiento con mayor porcentaje de miel.

4. CONCLUSIONES

- El producto presentó alta acidez y bajo contenido de agua libre lo que permite obtener un producto inocuo hasta los siete días independientemente del contenido de polen y miel.
- El producto obtuvo una valoración mínima de “me gusta poco” en atributos de color, aroma, apariencia y aceptación general, independiente del contenido de polen y miel.
- Todos los tratamientos cumplen los límites según la norma técnica salvadoreña para polen NSO, 65:38.01:04 con relación al contenido de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras.

5. RECOMENDACIONES

- Prolongar el estudio en tiempo para conocer su comportamiento y vida anaquel.
- Utilizar polen, miel y colorantes naturales con el fin de mejorar la aceptación del producto.
- Realizar un estudio de mercado para determinar potencial demanda del producto.
- Utilizar polen proveniente de una temporada específica de cosecha.

6. LITERATURA CITADA

Araneda X, Velásquez C, Morales D, Martínez I. 2014. Producción de pan de abejas (*Apis mellifera* L.) bajo condiciones de laboratorio [Journal]. Idesia 32 (4):63–69. [consultado 28 sep 2017]. DOI: 10.4067/S0718-34292014000400008.

Bradbear N. 2005. La apicultura y los medios de vida sostenibles. Roma. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). [consultado 28 sep 2017]. <http://worldcatlibraries.org/wcpa/oclc/97166163>.

Caballero D, Lanza M, Rosa L. 2009. Manual de apicultura básica para Honduras. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 1 ;5-13. ISBN13: 978-92-9248-134-6.

Cardenas C, Villat C, Laporte G, Noia M, Mestorino G. 2008. Características microbiológicas de la miel. Universidad Nacional de la Plata. [consultado 2017 sep 15]. https://www.researchgate.net/profile/Nora_Mestorino/publication/275584391_Caracteristicas_microbiologicas_de_la_miel/links/554034620cf2736761c27459/Caracteristicasmicrobiologicas-de-la-miel.pdf.

Carrera G. 2016. Caracterización fisicoquímica y sensorial de miel de abeja complementada con polen y/o jalea real [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano - Honduras. [consultado 28 oct 2017]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5756/3/AGI-2016-T010.pdf>. 31p.

Castillo D. 2015. Efecto del tiempo de secado en las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del polen de abejas cosechado en El Paraíso, Honduras [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano - Honduras. [consultado 2017 oct 28]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4547/1/AGI-2015-011.pdf>. 28 p.

CODEX (Codex Alimentarius)1981. Norma para la miel. Roma [internet]. [consultado 2017 sept 15]. https://www.fao.org/input/download/standards/310/cxs_012s.pdf. 9 p.

CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). 2005. Norma Salvadoreña NSO 65.38.01:04 (Calidad del polen de abejas. Especificaciones). [internet]. El Salvador: CONACYT; [consultado 2017 oct 20]. <http://faolex.fao.org/docs/pdf/els61998.pdf>.

Coronel B, Grasso D, Chaves S, Fernandez G. 2004. Caracterización bromatológica del polen apícola argentino [Tesis]. Argentina. Universidad Nacional de Entre Ríos, Ciencia. [consultado 28 oct 2017]. <http://www.redalyc.org/pdf/145/14502906.pdf>.

Choriego R. 2015. Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial del pan de abeja (*Apis mellifera*) producido en laboratorio [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano - Honduras. [consultado 2017 oct 28]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4562/1/AGI-2015-016.pdf>. 30 p.

Feng P, Weagant S, Grant M, Burkhardt W. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria [internet]. N 4º; [consultado 2015 sep 15]. <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm064948>.

Hunterlab. 2012. Using Hitch Standardization on a Series of Color Measuring Instruments - AN-1018b. USA: Hunter Associates Laboratory Inc. [consultado 2017 sep 15]. <https://support.hunterlab.com/hc/en-us/articles/204138175-Using-Hitch-Standardization-on-a-Series-of-Color-Measuring-Instruments-AN-1018b>.

Murillo K. 2015. Evaluación del método de descristalizado en las características físicas, químicas y sensoriales de la miel de abeja (*Apis mellifera*) [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano - Honduras. [consultado oct 28]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4642/1/AGI-2015-028.pdf>. 27 p.

Nagai T, Nagashima T, Myoda T, Inoue R. 2004. Preparation and functional properties of extracts from bee bread. *Nahrung Food* 48(3):226-229. [consultado 2017 oct 28] <https://eurekamag.com/research/004/279/004279884.php>.

Nielsen S. 2017. Food analysis: Official methods of analysis 978.18 [internet]. 5th ed. India; [consultado 2017 oct 31]. https://books.google.hn/books?id=_u4mDwAAQBAJ&pg=PA280&lpg=PA280&dq=aoac+978.18.+aw&source=bl&ots=dH1AvnGx_S&sig=tqMASfosfO3f4Xtko_6g9lEvy8&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwiluLXEz5rXAhXBSyYKHV8aC_EQ6AEITAC#v=onepage&q=aoac%20978.18.%20aw&f=true.

Persson J, Wennerholm M., OHalloran. 2008. Handbook for Kjeldahl digestion: A review of the classical method with improvements Developed by FOSS. FFOSS .4ta ed. Dinamarca; [consultado 2017 jul 30]. ISBN:91-630-3471-9.

Puig Y, del-Risco C, Álvarez V, Leiva V, García. 2012. Comparación de la calidad microbiológica del polen apícola fresco y después de un proceso de secado. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas [Journal]*. 27p. [consultado 2017 sep 15]. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181223772004>.

Ramírez C, Rosas P, Velázquez Y, Armando J, Arce F. 2011. Bacterias lácticas: Importancia en Alimentos y sus Efectos en la Salud. *Revista Fuente*. 2(7):9-13. [consultado 2017 oct 28]. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>.

Rettig M, Ah H. 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible: Color in food as a measurable quality criterion [Food and technology Science]. Chile: Escuela de Graduados, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile; [consultado 2017 jul 29]. <http://www.agrarias.uach.cl/wp-content/uploads/2016/04/art07-Mathias.pdf>.

Saavedra C, Rojas I, Delgado P. 2013. Características polínicas y composición química del polen apícola colectado en Cayaltí (Lambayeque - Perú) [Journal]. [consultado 2017 oct 28]. Rev. Chil. Nutr. 40(1):71–78. doi:10.4067/S0717-75182013000100011.

Salamanca G, Pérez C, Vargas E. 2008. Origen botánico propiedades fisicoquímicas microbiológicas del polen colectado en algunas zonas apícolas de la campiña de Boyacá. II Congreso Iberoamericano sobre Seguridad Alimentaria. España. [consultado 2017 sep 15]. <https://es.scribd.com/doc/13754321/Propiedades-fisicoquimicas-del-polen-Colombia>.

Sanoja Manuela. 2016. El código secreto del color de los alimentos (y cómo aprovecharlo de él) [internet]. Barcelona: Vanguardia; [consultado 2017 sep 20]. <http://www.lavanguardia.com/vivo/nutricion/20160226/4023641265/colores-alimentos-beneficios.html>.

Suescún L, Vit P. 2008. Control de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. Fuerza Farmacéutica; [consultado 2017 sep 15]. 12;10. <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16252/1/ff2008suescun.pdf>.

Ulloa J, Mondragón P, Rodríguez R, Reséndiz J, Rosas. 2010. La miel de abeja y su importancia. Revista fuente. 2(4):11-17. [consultado 2017 sep 28]. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf>.

(UPEG) Unidad de Planificación y Evaluación de la Gestión. 2016. Análisis de Coyuntura del Cultivo de Miel de Abeja en Honduras [internet]. Tegucigalpa. [consultado 2017 sept 15]. 1:3-5. <http://sisem.sag.gob.hn/PSME/D15LMU.php?id=1137>.

Urruchi J. 2012. Composición química de la miel de abeja (*Apis mellifera*) producida en las localidades del río ichu de Huancavelica [Tesis]. Huancavelica- Perú: Universidad Nacional de Huancavelica. [consultado 2017 oct 28]. <http://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/731/TP%20-%20UNH%20ZOOT.%200004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. 136 p.

Urtasun L. 2016. Importancia del estudio del aroma en el pan - Tech Press. España: Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria; [consultado 2017 sep 15]. <http://techpress.es/59015>.

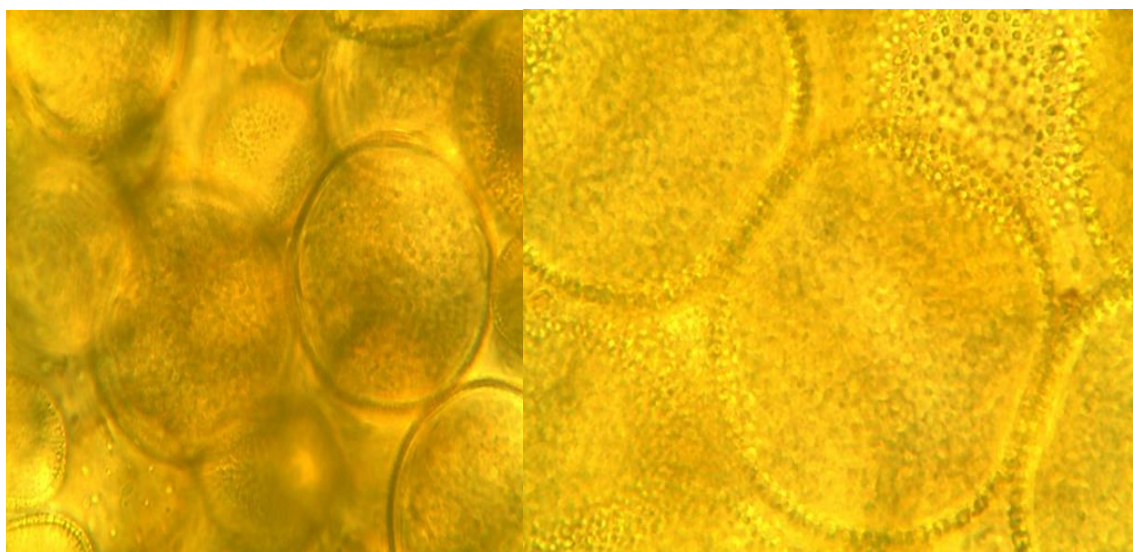
Vabderzant, C. y D.F. Splittstoesser. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Third edition. Washington, DC, United States, American Public Health Association. 1219 p.

Zandamela E. 2008. Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique [Tesis]. Departament de ciència Animal i dels aliments facultat de veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona. [consultado 2017 oct 28]. <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf?sequence=1>.

Zuluga C, Quicazan M, Serrato J. Evaluación del efecto de tratamientos térmicos sobre las características bioactivas y estructurales de polen apícola [Tesis]. 2014: Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia. [consultado 2017 oct 28].http://investigacion.bogota.unal.edu.co/fileadmin/recursos/direcciones/investigacion_bogota/documentos/memorias/2015/ingenieria_tecnologias/evaluacion_del_efecto_de_tratamiento_termico.pdf.

7. ANEXOS

Anexo 1. Estructura del polen con miel, al día 7 con un aumento de 100X.



Anexo 2. Boleta empleada para la evaluación sensorial de las muestras.

Boleta de Evaluación Sensorial

Buen día. A continuación, se le presentarán tres muestras. Por favor evalúe las muestras de izquierda a derecha, marque el número y con una X en el cuadro que indique su grado de aceptación para cada característica de cada muestra. Al terminar deje las cosas en la mesa. Muchas gracias por su participación.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Me disgusta extrema- damente	Me disgusta mucho	Me disgusta moderada- mente	Me disgusta poco	Ni me disgusta/ Ni me gusta	Me gusta poco	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta extremada mente

Nacionalidad:

Código de la Muestra:

Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Color									
Apariencia									
Aroma									
Aceptación General									

Código de la Muestra:

Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Color									
Apariencia									
Aroma									
Aceptación General									

Código de la Muestra:

Atributo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Color									
Apariencia									
Aroma									
Aceptación General									

Anexo 3. Boleta empleada para la evaluación sensorial de las muestras.

	COLOR	APARIENCIA	AROMA	ACEPTACION
COLOR	1.00000	0.72260 <.0001	0.66624 <.0001	0.61728 <.0001
APARIENCIA	0.72260 <.0001	1.00000	0.60102 <.0001	0.66340 <.0001
AROMA	0.66624 <.0001	0.60102 <.0001	1.00000	0.81334 <.0001
ACEPTACION	0.61728 <.0001	0.66340 <.0001	0.81334 <.0001	1.00000

*Los resultados con negrilla indican una correlación alta.

Anexo 4. Valor F y P análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales.

Fisicoquímicos

Análisis	Valor F	Pr>F
L	2.65	0.4109
A	4.24	0.0450
B	2.41	0.4071
A _w	2.82	0.1306

Microbiológicos

Análisis	Valor F	Pr>F
Coliformes T	5.75	0.0054
Bacterias M	0.88	0.8123
Hongos y L	10.07	<.0001

Sensorial

Análisis	Valor F	Pr>F
Color	5.37	<.0001
Apariencia	2.81	0.0033
Aroma	2.06	0.0470
Aceptación G	4.19	0.0039

Anexo 6. Costos variables para la producción de un bote de 150 gramos.

	70% Miel y 30% polen	50% Polen y 50% miel	70%Polen y 30% miel
Polen	\$0.86	\$1.43	\$2.02
Miel	\$0.27	\$0.19	\$0.11
Envase	\$0.34	\$0.34	\$0.34
Etiqueta	\$0.04	\$0.04	\$0.04
Sellos	\$0.02	\$0.02	\$0.02
Costo (\$/150g)	1.53	2.02	2.53

Anexo 5. Aceptabilidad del producto según costos variables según la encuesta realizada a veinte panelistas.

