

**Evaluación de dos sistemas de secador y dos
tiempos de secado en las características
microbiológicas, físico-químicas y sensoriales
del polen de abejas**

Andrea Denisse Navarro Montero

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2013

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Evaluación de dos sistemas de secador y dos
tiempos de secado en las características
microbiológicas, físico-químicas y sensoriales
del polen de abejas**

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

Presentado por

Andrea Denisse Navarro Montero

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2013

Efecto de dos tipos de secador y dos tiempos de secado en las características microbiológicas, físico-químicas y sensoriales del polen de abejas

Andrea Denisse Navarro Montero

Resumen: El polen de abejas es un alimento natural que actualmente es utilizado en la medicina tradicional, en industrias farmacéuticas e industria alimentaria. La calidad microbiológica y sensorial del polen depende del tiempo y del tipo de secador utilizado durante el procesamiento. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de dos tipos de secador y dos tiempos de secado en las características microbiológicas, físico-químicas y sensoriales del polen de abeja. El diseño experimental utilizado fue un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo factorial de 2x2, evaluando el tipo secador (solar y horno) y el tiempo de secado (1 y 3 horas) más un control. Microbiológicamente se hicieron recuentos de coliformes totales, aerobios mesófilos, hongos y levaduras. Se realizaron análisis químicos (humedad y a_w), físicos (color e impurezas) y sensoriales (apariencia, color y aceptación general). El polen secado en horno, presentó menores recuentos de aerobios mesófilos independiente del tiempo de secado. La carga de hongos y levaduras disminuyó luego del secado independiente del tiempo y tipo de secador. Todos los tratamientos presentaron ausencia de coliformes totales. En las propiedades físicas y sensoriales los tratamientos no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$). Se recomienda aumentar el tiempo de secado a seis horas.

Palabras clave: Aerobios mesófilos, coliformes, hongos y levaduras.

Abstract: Bee pollen is a natural food which is currently used in traditional medicine, in pharmaceutical and food industry. Microbiological and sensory quality of pollen depends on the type of dryer used during processing. The aim of this study was to determine the effect of two types of dryer and two drying times on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of bee pollen. The experimental design used was a Completely Randomized Design (CRD) with a 2x2 factorial arrangement, evaluating the type of dryer (solar and oven) and the drying time (1 and 3 hours) with the addition of a control. Microbiologically quantification of coliforms, aerobic mesophiles and moulds and yeasts were performed. Chemical analyzes (moisture and a_w), physical (color and impurities) and sensory (appearance, color and general acceptance) were performed. The oven dried pollen had lower aerobic mesophiles recounts independent of drying time. The load of fungi and yeasts after drying decreased not depending of drying time and type of dryer. All treatments showed absence of total coliforms. In physical and sensory properties the treatments showed no significant differences ($P>0.05$). It is recommended to increase drying time to six hours.

Keywords: Aerobic mesophiles, coliforms, moulds and yeasts.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIONES.....	15
5. RECOMENDACIONES.....	16
6. LITERATURA CITADA.....	17
7. ANEXOS.....	20

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Descripción de los tratamientos.....	6
2. Resultado análisis sensorial: apariencia.....	7
3. Resultado análisis sensorial: color.....	8
4. Resultado análisis sensorial: aceptación general.....	9
5. Resultados análisis químicos: humedad.....	10
6. Resultados análisis químicos: A_w	10
7. Resultado análisis físicos: impurezas.....	11
8. Resultado valores L^*a^*b de color.....	12
9. Resultados microbiológicos: aerobios mesófilos.....	13
10. Resultados microbiológicos: hongos y levaduras.....	14
Figuras	
1. Estructura utilizada para el secado solar.....	3
Anexos	Página
1. Correlaciones entre las variables de los tratamientos.....	20
2. Correlaciones entre los factores de los tratamientos.....	21

1. INTRODUCCIÓN

La apicultura es una actividad que produce importantes beneficios a la agricultura y el medio ambiente, por medio de la acción polinizadora de las abejas. Al mismo tiempo constituye una importante actividad económica con un atractivo potencial de exportación, convirtiéndose en alternativa de diversificación agropecuaria (Suárez Ramírez 2011).

La miel no es el único producto de la colmena. El apicultor también obtiene polen, cera, propóleo, veneno, jalea real entre otros (Prost y Le Conte 2007). El polen como producto comercial apícola, adquiere cada día mayor importancia en la generación de ingresos por parte de la colmena y es uno de los alimentos naturales puros y ricos en nutrientes. El polen es usado en la medicina natural, industria alimentaria y en las industrias farmacéuticas (Estevinho *et al.* 2011), por tal razón en los últimos años está en aumento la demanda del polen y que ha despertado el interés de los apicultores.

El polen fresco contiene del 30 al 40% de agua y a temperatura ordinaria fermenta o se enmohece y sus proteínas, grasas y glúcidos se degradan rápidamente. Por lo anterior para conservarlo, hay que enfriarlo, o secarlo. El procesamiento del polen incluye tres importantes operaciones sucesivas que permiten la conservación del mismo, dichas operaciones son el secado, la limpieza y el almacenamiento (Prost y Le Conte 2007).

El secado es esencial para disminuir el contenido de agua logrando que las reacciones de putrefacción y deterioro microbiano sean minimizadas y convirtiéndole en un producto más estable. Sin embargo los alimentos se someten a cambios estructurales físicos y químicos durante el secado y es posible que sean afectados los atributos de calidad como textura, color, sabor y valor nutricional. Uno de los cambios físicos más importantes que le ocurren a los alimentos durante el secado es la reducción del volumen, debido al encogimiento y cambios microestructurales de las partículas (Djendoubi Mrad 2011).

Diversos estudios en matrices alimentarias sugieren estudiar las condiciones del secado como temperatura, velocidad del aire de secado para conseguir no solamente la máxima eficacia y un suficiente control de proceso, sino también conservar las características del producto final como el valor nutritivo, la textura, el color y la actividad de agua (Pulido *et al.* 2012).

El secado al sol es posible pero se arriesga a perder propiedades terapéuticas (antibiótico, antineoplásico, antidiarreico y antioxidante) del polen (Graikou *et al.* 2011). El secado al aire no es rápido ni constante como para impedir el desarrollo microbiano (Lewicki 2006). Por todas estas razones, se impone un secado artificial y rápido. En principio una corriente de aire cálido y seco atravesará finas capas de polen. Los

secaderos se componen de tamices superpuestas en los que el polen es extendido en capas de menos de un centímetro de espesor. Un tiempo de tres a quince horas es suficiente para que el porcentaje de agua sea menor al 10% (Prost y Le Conte 2007).

Callejas (2006) realizó el proceso de secado de polen hondureño con un horno con seis bandejas a 40°C durante dos a cuatro horas encontrando que las características físico-químicas se encontraban superiores a los límites establecidos para el contenido de carbohidratos, proteínas, cenizas y humedad. Mientras que en relación a las especificaciones microbiológicas todas las muestras cumplieron con el límite para aerobios mesófilos pero exceden el recuento de coliformes totales, mohos y levaduras.

La mayor parte de los estudios destinados al sector de la apicultura se han enfocado principalmente en la miel, debido a que es el producto apícola con mayor volumen de producción y demanda, siendo el más conocido tanto a nivel nacional como internacional. El presente estudio para polen contribuirá a la industria apícola ya que presenta la importancia de un buen secado para el aseguramiento de la calidad del producto e informando a los productores de polen para el aseguramiento de la calidad del producto.

Los objetivos del presente estudio consistieron en:

- Determinar el efecto del tipo de secado en las características físicas, químicas y sensoriales del polen de abejas.
- Determinar el efecto del tiempo de secado en las características físicas, químicas y sensoriales del polen de abejas.
- Comparar los resultados microbiológicos con los parámetros legales establecidos en la norma Salvadoreña emitida por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. Las muestras de polen destinadas para este estudio fueron cosechadas en el departamento de La Paz. Los análisis físico-químicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ), los análisis microbiológicos en el Laboratorio de Microbiología (LMAZ), el análisis sensorial y el proceso de secado de bandejas se realizó en la Planta de Innovación de Alimentos (PIA), mientras que el secado solar se llevó a cabo en las instalaciones de la Planta Apícola. Todas las instalaciones anteriormente se encuentran en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, departamento de Francisco Morazán, ubicada a 32 km al este de Tegucigalpa, Honduras.

Toma de muestra. El tamaño de la muestra fue de 165 gramos por tratamiento, guardando la muestra en botes de vidrio para evitar que el polen absorba humedad. La cantidad de polen se tomó al azar de diferentes paquetes de polen.

Secado de la muestra. Se colocó una capa fina de polen de 1 cm de grosor en una bandeja de plástico y se colocó papel toalla sobre el polen para evitar contacto directo del sol con el producto y de esta forma impedir el deterioro de las propiedades terapéuticas del polen. Sobre el papel toalla se colocó una lámina de vidrio y se prosiguió con el secado como es observado en la Figura 1.

El secado en horno por convección forzada se realizó en la Planta de Innovación de Alimentos utilizando el horno deshidratador (Excalibur 3000 series) a 40°C colocando una capa fina de polen de 1 cm de grosor, con el propósito de que el secado fuese lo más homogéneo posible. El tiempo de secado solar y de horno para diferentes muestras fue de 1 y 3 horas.



Figura 1. Estructura utilizada para el secado solar.

Análisis Impurezas. La remoción de impurezas se realizó en la Planta Apícola mediante el uso de un tamiz plástico comercial para separar restos quitinizados, propóleo, resinas, polvo y algunas partes del cuerpo de las abejas. Cada tratamiento fue colocado en el tamiz por separado, al finalizar el tamizado se pesó la cantidad de impurezas. Los resultados se expresaron en porcentaje (%).

$$\text{Porcentaje de Impurezas} = \frac{\text{PTM}-\text{PT}}{\text{PM}} * 100 \quad [1]$$

En donde:

PTM: Peso del tamiz con muestra

PT: Peso del tamiz vacío

PM: Peso de la muestra de polen inicial

Análisis Sensorial. Se llevaron a cabo tres evaluaciones sensoriales de aceptación basadas en la evaluación de los atributos apariencia, color y aceptación general. Se utilizó una escala hedónica de nueve puntos, donde 1 equivale a me disgusta extremadamente y 9 me gusta extremadamente. Se contó con la colaboración de sesenta panelistas no capacitados quienes recibieron las muestras colocadas completamente al azar con el fin de evitar sesgo entre los panelistas.

Humedad (%). Se determinó el contenido de agua utilizando el horno a 105°C (Fisher Scientific) por 24 horas (AOAC 952.08). Las muestras para esta prueba fueron pesadas en la balanza analítica Metler AE 200 (3 gramos por muestra) y colocadas en crisoles. Se realizó el análisis por duplicado. Los resultados obtenidos se expresaron en porcentaje (%).

$$\text{Porcentaje de Humedad} = \frac{(\text{C}+\text{MH})-(\text{C}+\text{MS})}{(\text{C}+\text{MH})-(\text{C})} * 100 \quad [2]$$

En donde:

C: Crisol Seco

C + MH: Crisol + Muestra Húmeda

C + MS: Crisol + Muestra Seca

Actividad de agua. Se determinó la actividad de agua (a_w) utilizando el Aqualab®. Modelo: Series 3TE (AOAC 978.18). Este instrumento está basado en el punto de rocío, tomando en cuenta la condensación del vapor de agua sobre un espejo enfriado (Decagon Devices 2012).

Color. La medición de color se realizó utilizando el colorímetro Color Flex Hunter L*a*b (LAA- I-001-004) que posee. Un espacio de color rectangular de tres dimensiones basadas en la teoría de colores opuestos.

El eje “L” es luminosidad donde 0 es negro y 100 es blanco.

El eje “a” representa colores rojo y verde, los valores positivos son rojos y los valores negativos son verdes y el 0 es neutro, con una escala de unidades de (-60 a +60).

El eje “b” mide los colores azul y amarillo, los valores positivos son amarillos y los valores negativos son azules (-60 a +60) (Prado Martínez, 2005).

Análisis Microbiológicos. Como parte de los análisis microbiológicos se realizaron recuentos de aerobios mesófilos, coliformes totales, hongos y levaduras. Se implementaron los métodos descritos en el Bacteriological Analytical Manual (BAM). Para los análisis de aerobios mesófilos se utilizó el método convencional explicado en el Capítulo 3: Conteo de Aerobios en placa. 2001. Para coliformes totales, los métodos descritos en el Capítulo 4: Determinación de (*Escherichia coli*) y coliformes. En el caso de los análisis de hongos y levaduras se implementó el método descrito en el Capítulo 18: Levaduras, mohos y micotoxinas.

Los resultados microbiológicos se compararon con los parámetros legales establecidos en la Norma Salvadoreña emitida por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Coliformes Totales. Se pesaron 13.28 g del medio ABRV (Agar Bilis Rojo Violeta Biomark™ Laboratories) y se diluyó en 320 mL de agua destilada, se prosigió a medir el pH en el potenciómetro (Thermo Scientific Orion 5 Star) y se ajustó a 7.4 ± 0.2 , una vez ajustado el pH se colocó el medio en el agitador magnético (IKA® C-MAG HS10) hasta que este hirviera y se introdujo en el baño maría (PRECISION) para evitar la solidificación. Se colocaron los platos Petri inoculados en la incubadora de 35°C (Thermo Scientific) por 24 horas. Se determinó la cantidad de coliformes totales utilizando la técnica de vertido de platos para la siembra y la técnica de conteo de platos para totalizar el número de colonias encontradas en las diluciones. Se expresaron los resultados en UFC/g.

Aerobios mesófilos. Se pesaron 5.17 g (Balanza digital. Fisher Science Education SLF 152-US) del medio AC (Agar Cuenta Estándar acumedia®) y se diluyó en 220 mL de agua destilada, se prosigió a medir el pH en el potenciómetro (Thermo Scientific Orion 5 Star) y se ajustó a 7.0 ± 0.2 , una vez ajustado el pH se colocó el medio en el agitador magnético (IKA® C-MAG HS10) hasta que este hirviera y se introdujo en el baño maría (PRECISION) para evitar la solidificación. Se colocaron los platos Petri inoculados en la incubadora de 35°C (Thermo Scientific) por 48 horas. La cantidad de mesófilos aerobios se determinó utilizando la técnica de vertido de platos para la siembra y la técnica de conteo de platos para totalizar el número de colonias encontradas en las diluciones. Se expresaron los resultados en UFC/g.

Hongos y Levaduras. Se pesaron 8.58 g (Balanza digital. Fisher Science Education SLF 152-US) del medio PDA (Potato Dextrose Agar Symmag 3M) y se diluyó en 220 mL de agua destilada, se prosigió a medir el pH en el potenciómetro (Thermo Scientific Orion 5 Star) y se ajustó a 5.6 ± 0.2 , una vez ajustado el pH se colocó el medio en el agitador magnético (IKA® C-MAG HS10) hasta que este hirviera y se introdujo en el baño maría (PRECISION) para evitar la solidificación, se añadió un mililitro de ácido tartárico al

10% por cada 100 mL de medio PDA preparado. Se colocaron los platos Petri inoculados en la incubadora de 25°C (Isotemp Incubator) por 5 días. La cantidad de hongos y levaduras se determinó utilizando la técnica de vertido de platos para la siembra y la técnica de conteo de platos para totalizar el número de colonias encontradas en las diluciones. Se expresaron los resultados en UFC/g.

Diseño Experimental. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo factorial de 2×2, con dos tiempos de secado (1 y 3 horas) y dos tipos de secado (solar y horno) más un control (muestra de polen a la cual no se le ha aplicado ningún tipo de secado). Se realizaron tres repeticiones para un total de 45 unidades experimentales.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos.

Secado/Tiempo	1 hora	3 horas
Solar	Tratamiento 1	Tratamiento 2
Horno	Tratamiento 3	Tratamiento 4

Análisis Estadístico. Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA) haciendo uso del modelo lineal general (GLM) del programa de evaluación estadístico SAS (Statistical Analysis System). La separación de medias se realizó con la prueba Tukey. Para determinar el grado de significancia se utilizó una probabilidad de ($P < 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Sensorial

Apariencia. El Cuadro 2 muestra que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en relación al atributo de apariencia ($P>0.05$). En general los panelistas calificaron como que les gustó ligeramente.

La apariencia es el atributo inicial, ya que las propiedades que se captan por la vista afectan significativamente el control de la selección (Witting de Penna 2001). El color, la apariencia, olor y sabor varían de acuerdo al origen botánico del polen. La apariencia evaluada fue basada en granos heterogéneos, con diferentes formas y tamaños, principalmente esféricas (Campos *et al.* 2008).

Sensorialmente, el tiempo y tipo de secado no afectaron la percepción de los consumidores ante la apariencia del polen y este resultado podría estar relacionado a que el polen evaluado era multicolor (presentando variaciones desde amarillos claros, naranjas y verdes) y los granos eran heterogéneos con distintos tamaños y formas.

Cuadro 2. Resultado análisis sensorial: apariencia.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	Apariencia±D.E
Solar	1	6.20±1.50 ^a
Solar	3	5.98±1.30 ^a
Horno	1	6.27±1.48 ^a
Horno	3	6.25±1.31 ^a
Control	0	6.30±1.50 ^a
C.V (%)		22.04

^a Medias seguidas con letras iguales no presentan diferencias estadísticas ($P>0.05$).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V = Coeficiente de Variación.

Color. En general los tratamientos fueron calificados por los panelistas como que les agrado ligeramente. Los tratamientos no mostraron diferencias significativas en cuanto al atributo de color ($P>0.05$).

El panelista no observó cambios sensoriales de color, lo que indica que no detectaron cambios en la calidad del polen sometido a distintos tiempos y tipos de secado. El color del polen varía de blanco al negro, en su mayoría amarillo, naranja o amarillo-marrón, pero diferentes colores son posibles de acuerdo a las fuentes florales que se encuentren presentes (Campos *et al.* 2008). El contar con muestras de polen multicolor se le puede atribuir la falta de diferenciación, por parte de los panelistas, al evaluar los tratamientos.

Cuadro 3. Resultado análisis sensorial: color.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	Color±D.E
Solar	1	6.08±1.66 ^a
Solar	3	6.15±1.38 ^a
Horno	1	6.18±1.50 ^a
Horno	3	6.15±1.58 ^a
Control	0	6.43±1.49 ^a
C.V (%)		24.06

^a Medias seguidas con letras iguales en una misma columna no presentan diferencias estadísticas ($P > 0.05$).
D.E. = Desviación Estándar.
C.V = Coeficiente de Variación.

Aceptación general. No hubo diferencias significativas en el atributo de aceptación general ($P < 0.05$). Los gránulos de polen observados pueden variar de acuerdo a la región de donde provienen, un factor que depende de los pastos, vegetación y de las condiciones climáticas para la floración (Morais *et al.* 2011). Por la variabilidad que se encuentra en los gránulos de polen, el panelista probablemente otorgó la calificación de ligeramente me gusta al atributo de aceptación general.

Como observado en los Cuadros 2 y 3 las características próximas como apariencia, color y aceptación general, tienden a ser evaluadas de manera similar por los panelistas (Witting de Penna 2001). No se encontró correlación significativa entre los factores tiempo y tipo de secador entre las variables de apariencia y aceptación general, sin embargo se encontró una correlación alta positiva significativa entre el tipo de secador y el color de los tratamientos.

Cuadro 4. Resultado análisis sensorial: aceptación general.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	Aceptación General±D.E
Solar	1	6.21±1.68 ^a
Solar	3	6.33±1.39 ^a
Horno	1	6.25±1.77 ^a
Horno	3	6.13±1.54 ^a
Control	0	6.32±1.61 ^a
C.V (%)		22.62

^a Medias seguidas con letras iguales no presentan diferencias estadísticas ($P>0.05$).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V = Coeficiente de Variación.

Humedad. Los tratamientos presentaron diferencias en las mediciones de humedad ($P<0.05$). Independientemente del tiempo de secado las muestras secadas en horno lograron una mayor reducción de la humedad. El factor de mayor influencia en los resultados fue el tipo de secador, el tiempo de secado no presentó una influencia significativa en los tratamientos.

El polen secado en horno con un tiempo de 3 horas permitió alcanzar un contenido de humedad menor al 12% utilizando la Ecuación 2, para la obtención del resultado. La humedad del polen secado al sol se mantuvo por encima del 13%, esto podría atribuirse a la irregularidad o variación de la temperatura y humedad con la que cuenta el secado solar. El tipo de secador fue el factor influyente en estos resultados ($P<0.05$). La variabilidad en el porcentaje de humedad que se encuentra en el secador solar podría estar influenciada por la alta humedad relativa que presenta el departamento de La Paz, ya que al momento de la recolección de la muestra, esta puede absorber humedad que se encuentra en el ambiente (Prado Martínez 2005).

La humedad alcanzada de los tratamientos no cumple con los parámetros establecidos por la Norma Salvadoreña ya que el límite de humedad permitido es de 4% en polen procesado y en este estudio la mínima humedad alcanzada fue de 11.52%, como mostrado en el Cuadro 5. Una posible razón radica en que el tiempo de secado fue corto, lo que pudo ocasionar que el exceso de humedad no fuera removido del polen. Por esta razón es necesario que el apicultor recolecte el polen diariamente y que el período de tiempo entre la recolecta y el secado no sea prolongado, cuando el tiempo de recolecta y secado es prolongado el polen es expuesto a altas humedades relativas y cuando este es secado al sol se produce un alto crecimiento de hongos (González *et al.* 2005).

Cuadro 5. Resultados análisis químicos: humedad.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	(%)±D.E
Solar	1	13.79±0.66 ^{ab}
Solar	3	13.41±0.80 ^{ab}
Horno	1	13.05±2.29 ^b
Horno	3	11.52±2.72 ^c
Control	0	14.72±0.72 ^a
C.V (%)		9.16

^{abc} Medias seguidas con letras distintas presentan diferencias estadísticas ($P < 0.05$).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V = Coeficiente de Variación.

Actividad de agua (A_w). No se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0.05$) en los análisis de actividad de agua del polen como se muestra en el Cuadro 6. El rango de a_w se encontró entre 0.35 a 0.40, estos datos no fueron comparados con la norma Salvadoreña porque esta no estipula un parámetro legal a seguir. Estudios anteriores establecieron que la actividad de agua del polen de abejas cuando se envasa para el consumo humano es generalmente menor a 0.3 (Estevinho *et al.* 2011). El contenido de agua puede ser controlado con un secado apropiado después de la recolección para evitar descomposición por acción enzimática (Prado Martínez 2005).

Aunque la humedad del polen secado es elevada en comparación a los parámetros legales los niveles de a_w son menores a 0.50 y no crean un ambiente adecuado para el desarrollo de los microorganismos, ya que con una actividad de agua menor a 0.60 el desarrollo microbiano es mínimo. El contenido de agua y la a_w juegan un papel importante en las características sensoriales y en la vida anaquel del polen de abejas. Una posible razón por la cual no se observaron diferencias estadísticas en la actividad de agua se podría deber a que esta agua que se encuentra en las partículas del polen está químicamente ligada y aunque el tiempo y tipo de secador cambien este tipo de agua no podrá ser removido.

Cuadro 6. Resultados análisis químicos: A_w .

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	A_w ±D.E
Solar	1	0.39±0.038 ^a
Solar	3	0.38±0.047 ^a
Horno	1	0.36±0.019 ^a
Horno	3	0.35±0.013 ^a
Control	0	0.40±0.049 ^a
C.V (%)		7.35

^a Medias seguidas con letras iguales no presentan diferencias estadísticas ($P > 0.05$).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V = Coeficiente de Variación.

Impurezas. Independientemente del tipo y tiempo de secado, los tratamientos fueron estadísticamente iguales en relación al contenido de impurezas ($P>0.05$) como se observa en el Cuadro 7. El porcentaje de impurezas resultó de 0.86 a 1.0%, utilizando la Ecuación 1 para la obtención del resultado. El bajo contenido de impurezas posiblemente esté relacionado con la ausencia de cambios en la estructura física de los gránulos de polen. Cambios físicos importantes que le ocurren a los alimentos durante el secado es la reducción del volumen externo, debido al encogimiento y cambios microestructurales de las partículas (Djendoubi Mrad 2011). De acuerdo con la norma Salvadoreña el producto no deberá contener impurezas de cualquier naturaleza.

Cuadro 7. Resultado análisis físicos: impurezas.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	(%)±D.E
Solar	1	0.9000±0.15 ^a
Solar	3	0.9100±0.10 ^a
Horno	1	1.0400±0.20 ^a
Horno	3	0.8600±0.05 ^a
Control	0	0.9700±0.12 ^a
C.V (%)		14.93

^a Medias seguidas con letras iguales no presentan diferencias estadísticas ($P>0.05$).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V = Coeficiente de Variación.

Color. Independiente del tipo y tiempo de secado, en los diferentes análisis de color no se mostraron diferencias entre tratamientos ($P>0.05$).

Valor L*. Los tratamientos tuvieron variaciones ligeras en tonalidades con rangos de 42.90 a 43.64, presentando valores de L* bajos, indicando menor luminosidad.

Valor a*. En la escala a* de -60 (verdes) a +60 (rojo), las muestras presentaron valores positivos entre 8.00 y 8.28 que corresponden al color rojo.

Valor b*. En la escala b* de -60 (azul) a +60 (amarillo), las muestras se comportaron homogéneamente con valores positivos que corresponden al color amarillo en tonalidades intermedias encontrando valores de 20.90 a 21.42 (Cuadro 8).

Los granos de polen cambian de forma, color y sabor dependiendo de la planta de donde lo obtengan, así que se tiene polen desde el amarillo claro hasta el negro pasando por el malva, verde y todas las tonalidades del marrón; dependiendo además de la época del año y la especie en floración el tipo de polen también varía (Suarez Ramírez 2011).

Cuadro 8. Resultado valores L*a*b de color.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	L±D.E	a±D.E	b±D.E
Solar	1	43.04±0.81 ^a	8.28±0.54 ^a	21.09±0.92 ^a
Solar	3	43.30±0.77 ^a	8.17±0.78 ^a	21.30±0.97 ^a
Horno	1	43.30±1.32 ^a	8.07±0.65 ^a	21.26±1.05 ^a
Horno	3	42.90±0.99 ^a	8.00±0.54 ^a	20.90±0.73 ^a
Control	0	43.64±0.70 ^a	8.07±0.74 ^a	21.42±0.71 ^a
C.V (%)		2.79	10.62	3.79

^a Medias seguidas con letras iguales no presentan diferencias estadísticas (P>0.05).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V = Coeficiente de Variación.

Coliformes totales. Hubo ausencia de estos microorganismos en los cinco tratamientos durante las tres repeticiones, cumpliendo de esta forma con los criterios microbiológicos establecidos en la norma Salvadoreña, la cual dicta la ausencia de estos microorganismos para poder cumplir legalmente con los parámetros establecidos. La actividad antimicrobiana que posee el polen está altamente relacionada con el alto contenido de compuestos fenólicos, factor que inhibe naturalmente el crecimiento de estos microorganismos (Graikou *et al.* 2011).

Aerobios mesófilos. El conteo microbiológico de aerobios mesófilos presentó diferencias estadísticas significativas (P<0.05) el polen secado en horno con tiempos de 1 y 3 horas presentaron una menor cantidad de aerobios mesófilos comparado con los tratamientos secados al sol y el control. A medida que el contenido de agua disminuye, de igual manera lo hacen estos microorganismos, otra posible razón radica en la actividad antibacteriana atribuida principalmente al alto contenido de flavonoides tales como quercetina y kaempferol presentes en el polen de abejas, los cuales inhiben el crecimiento de bacterias no deseadas (Khider *et al.* 2013). Todos los tratamientos cumplieron con los parámetros establecidos en la norma Salvadoreña, permaneciendo por debajo del límite permitido (<10,000 UFC/g).

El total de aerobios mesófilos está correlacionado positivamente con la a_w . La correlación es particularmente más clara para los valores de pH 3.4 a 5.1 y una a_w de 0.55 en polen de abejas (Estevinho *et al.* 2011). Como se muestra en el Cuadro 6 la a_w no fue mayor que 0.4. Se observa en las correlaciones que a medida que aumenta la a_w de igual manera lo hacen los aerobios mesófilos y viceversa. Es probable que debido a que la a_w es menor a 0.55 el desarrollo de aerobios mesófilos fuese bajo, y de esta manera se pudiese cumplir con los parámetros legales.

Como observado en el Cuadro 9 el conteo de aerobios mesófilos aumenta cuando el tipo de secador empleado es solar y el proceso de secado requiere de más de una hora. Una posible razón podría que el polen secado al sol está expuesto a una alta humedad relativa de 65% y una temperatura de 29°C, lo que propicia un ambiente apto para la multiplicación de estos microorganismos, mientras que el polen secado en horno fue

expuesto a una humedad relativa de 17% y una temperatura de 40°C, condiciones que no son ideales para el crecimiento de estos microorganismos.

Cuadro 9. Resultados microbiológicos: aerobios mesófilos.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	UFC/g±D.E
Solar	1	1516±221 ^b
Solar	3	3520 ±1041 ^a
Horno	1	890±457 ^c
Horno	3	843±523 ^c
Control	0	2299±145 ^b
C.V (%)		28.8

^{abc} Medias seguidas con letras distintas presentan diferencias estadísticas (P<0.05).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V = Coeficiente de Variación.

Hongos y Levaduras. El cuadro 10 muestra que se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en relación a estos recuentos microbiológicos. Los tratamientos presentan niveles más bajos una vez que el polen se sometió al proceso de secado, sin embargo todos los tratamientos sobrepasan el límite de acuerdo a la norma Salvadoreña.

El crecimiento y la esporulación de los hongos dependen en gran medida de los factores ambientales. Probablemente la etapa más crítica de contaminación es la recolección del polen en las trampas. Los apicultores no siempre cosechan el polen a diario, por lo que el producto puede estar expuesto a la intemperie. Períodos largos entre la cosecha y el secado, permite que los hongos presentes en el polen crezcan y puedan producir micotoxinas (González *et al.* 2005). La alta humedad relativa (>65%) causa una multiplicación elevada en mohos y levaduras.

Los hongos mayormente encontrados en el polen son *Aspergillus nigri*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus turbingensis*, *Penicillium verrucosum*, *Alternaria* spp., especies del género *Fusarium*. Otras especies de menor interés con respecto a la producción de micotoxinas como (*Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Botrytis* y *Epicoccum*) (González *et al.* 2005). Estos hongos son llamados "hongos de campo" debido a que permanecen sobre el polen causando daños en su aspecto. También persisten en el polen almacenado si no se controlan las condiciones del almacenamiento (Carrillo 2003).

Los mohos y levaduras no serán capaces de multiplicarse en condiciones que presenten una a_w baja <0.50, pero estos permanecerán en el polen incluso después del secado (Baldi *et al.* 2004). Esto es importante ya que cualquier condición que incremente la cantidad de microorganismos puede potencialmente dar lugar a daños en la salud. La temperatura y humedad relativa encontrada en los dos tipos de secador indica que al aplicarse un tipo de secado independiente del tipo de secador o tiempo de secado los recuentos de mohos y levaduras se reducen significativamente.

Cuadro 10. Resultados microbiológicos: hongos y levaduras.

Tipo de secado	Tiempo de secado (horas)	UFC/g±D.E
Solar	1	1966±465 ^b
Solar	3	1617±377 ^b
Horno	1	1276±182 ^b
Horno	3	1336±280 ^b
Control	0	9939±1525 ^a
C.V (%)		12.6

^{ab} Medias seguidas con letras distintas presentan diferencias estadísticas ($P < 0.05$).

D.E. = Desviación Estándar.

C.V= Coeficiente de Variación.

4. CONCLUSIONES

- El tipo de secador (horno y solar) no influyó en las características sensoriales, sin embargo intervino en el color y la humedad final del polen.
- Secado de polen menor a tres horas disminuye el recuento de aerobios mesófilos y reduce los recuentos de mohos y levaduras.
- El polen cumple con los parámetros legales establecidos en la norma Salvadoreña emitida por el CONACYT en relación a límites para aerobios mesófilos y coliformes totales pero exceden el recuento de mohos y levaduras.

5. RECOMENDACIONES

- Aumentar el tiempo de secado para definir el tiempo que es indicado para disminuir humedad, hongos y levaduras.
- Realizar un muestreo en más departamentos de Honduras para continuar con el desarrollo de la norma Hondureña y determinar de esta manera parámetros específicos de calidad que deben ser aplicados al polen de abejas.
- Capacitar a los apicultores en los procedimientos de buenas prácticas agrícolas (BPA), buenas prácticas de manufactura (BPM) y procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES) para garantizar calidad en el producto terminado.

6. LITERATURA CITADA

AOAC (Association of Analytical Communities). 1995. Method 978.18D Preparation of Reference Salt Slushes. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th Ed. AOAC International, Arlington VA.

AOAC. (Association of Analytical Communities). 1996. Official methods of analysis 952.08. Water content in seafood. Association of Official Analytical Chemists.

Baldi, B., D. Grasso, S. Chaves Pereira, G. Fernández. 2004. Caracterización Bromatológica del Polen Apícola Argentino. Ciencia, Docencia y Tecnología. Universidad Nacional de Entre Ríos. Concepción del Uruguay, Argentina. 145-181 p.

BAM (Bacteriological Analytical Manual). 2001. Aerobic Plate Count. Chapter 3.

BAM (Bacteriological Analytical Manual). 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Chapter 4.

BAM (Bacteriological Analytical Manual) 2001. Yeasts, Molds and Mycotoxins. Chapter 18.

Callejas Lemus, M.C. 2006. Desarrollo de la norma técnica para polen en Honduras. Tesis Ing. Agroindustria Alimentaria. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 87 p.

Campos, M.G.R., S. Bogdanov, L. Bicudo de Almeida-Muradian, T. Szczesna, Y. Mancebo, C. Frigerio y F. Ferreira. 2008. Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apiculture Research and Bee World 47(2): 156-163.

Carrillo, L. 2003. Los Hongos de los Alimentos y Forrajes. Consultado 4 de octubre de 2013. Disponible en: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micologia.htm>

CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). 2004. Calidad del polen de abejas. Especificaciones NSO 65.38.01:05. 6 p.

Decagon Devices, Inc. 2012. Fundamentals of Water Activity. Hopkins Court, Pullman Washington, Estados Unidos. 12 p.

Djendoubi Mrad, N., N. Boudhrioua, N. Kechaou, F. Courtois y C. Bonazzi. Food and Bioproducts Processing 90(3): 433-441.

Espina, D. y Ordetx, G. 1984. Apicultura tropical. 4ta. Ed. Costa Rica. Editorial tecnológica de Costa Rica. 506 p.

Estevinho, L., S. Rodrigues, A. Pereira y X. Feás. 2011. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. International Journal of Food Science and Technology 47 (2): 429-435.

González, G., M.J. Hinojo, R. Mateo, A. Medina y M. Jiménez. 2005. Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. International Journal of Food Microbiology 105(1): 1-9.

Graikou, K., S. Kapeta, N. Aligiannis, G. Sotiroudis, N. Chondrogianni, E. Gonos y I. Chinou. 2011. Chemical analysis of Greek pollen – Antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. Chemistry Central Journal 5: 33.

Khider, M., K. Elbanna, A. Mahmoud y A. Owayss. 2013. Egyptian Honeybee Pollen as Antibacterial, Antioxidant Agents, and Dietary Food Supplements. Food Science Biotechnology 22(5): 1461-1469.

Lewicki, P.P. 2006. Design of hot air drying for better foods. Trends in Food Science & Technology 17(4): 145-192.

Llorente Martínez, J. 2009. La apicultura, el arte de criar abejas (en línea). Consultado 23 de septiembre de 2013. Disponible en: <http://apicultura.over-blog.es/article-28887872.html>

Morais, M., L. Moreira, X. Feás y L. Estevinho. 2011. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. Food and Chemical Toxicology 49: 1096-1101.

Prado Martínez, J.V. 2005. Caracterización físico-química y microbiológica del polen de abejas de cinco departamentos de Honduras. Tesis Ing. Agroindustria Alimentaria. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 93 p.

Prost, P. y Y. Le Conte. 2006. Apicultura: Conocimiento de la abeja, manejo de la colmena. 4 ed. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 791 p.

Pulido, N., C., Salazar, C. Diaz y M. Quicazán. 2012. Evaluación del efecto de la temperatura de secado sobre el contenido total de compuestos fenólicos en polen apícola. Universidad de Antioquia, Colombia. 4 p.

Suarez Ramirez, M.Y. 2011. Evaluación de la calidad microbiológica del polen utilizando buenas prácticas apícolas (BPA) en tres apiarios del municipio del Viracha.

Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Zootecnia, Tunja. 67 p.

Witting, E. 2001. Evaluación Sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos (en línea). Consultado 23 de septiembre de 2013. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/wittinge01/

7. ANEXOS

Pearson Correlation Coefficients, N=5							
Prob > r under H0: Rho=0							
	Secador	Tiempo	Apariencia	Color	Aceptación	Humedad	Aw
Impurezas	0.37793	-0.2707	0.34979	0.40044	0.46822	0.41619	0.08929
	0.05305	0.6596	0.5639	0.5041	0.4264	0.4858	0.8865
L	0.67552	0.43823	0.09607	0.84074	0.86924	0.80074	0.63327
	0.2107	0.4604	0.8779	0.0744	0.0556	0.1035	0.2514
a	-0.580881	-0.47205	-0.45622	-0.44634	0.23562	0.46768	0.57099
	0.3045	0.4221	0.44	0.4512	0.7028	0.427	0.3147
b	0.45375	0.27799	-0.10399	0.66459	0.95318	0.83041	0.65392
	0.4427	0.6507	0.8678	0.2211	0.0121	0.0817	0.2313
Mesófilos	0.34202	0.49429	-0.27637	0.57718	0.83943	0.88607	0.92727
	0.5732	0.3973	0.6526	0.3082	0.0754	0.0454	0.0233
Hongos	0.86033	0.6535	0.35247	0.93872	0.55879	0.74821	0.72728
	0.0613	0.2317	0.5607	0.018	0.3275	0.1458	0.1638

Anexo 1. Correlaciones entre las variables de los tratamientos.

Pearson Correlation Coefficients, N = 5		
Prob > r under H0: Rho=0		
	Secador	Tiempo
Apariencia	0.66844 0.2174	-0.05811 0.926
Color	0.95402 0.0118	0.69672 0.1911
Aceptación	0.24717 0.6885	0.32492 0.5937
Humedad	0.38995 0.5164	0.14843 0.8117
Aw	0.29531 0.6295	0.25161 0.6831
Impurezas	0.37793 0.5305	-0.2707 0.65696
L	0.67552 0.2107	0.43823 0.4604
a	-0.58081 0.3045	-0.47205 0.4221
b	0.45375 0.4427	0.27799 0.6507
Mesófilos	0.34202 0.5732	0.49429 0.3973
Hongos	0.86033 0.0613	0.6535 0.2317

Anexo 2. Correlaciones entre los factores de los tratamientos.