# Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial del pan de abeja (*Apis mellifera*) producido en laboratorio

Rolando Enrique Choriego Marín

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras

Noviembre, 2015

### ZAMORANO CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

# Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial del pan de abeja (*Apis mellifera*) producido en laboratorio

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

Presentado por

Rolando Enrique Choriego Marín

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2015

# Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial de pan de abeja (*Apis mellifera*) producido en laboratorio

Pro	esentado por:
Rolando En	nrique Choriego Marín
Aprobado:	
Carolina Valladares, M.Sc. Asesora Principal	Luis Fernando Osorio, Ph.D. Director Departamento de Agroindustria Alimentaria
Juan Ruano, D.Sc. Asesor	Raúl H. Zelaya, Ph.D. Decano Académico

# Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial de pan de abeja (*Apis mellifera*) producido en laboratorio

### Rolando Enrique Choriego Marín

Resumen: Dentro de la colmena el pan de abeja es una mezcla fermentada de polen, miel y enzimas que sirve de alimento para las abejas obreras. En mercados extranjeros es comercializado como un producto con mayor valor nutricional que el polen apícola sin fermentar. Los objetivos del estudio fueron determinar las características fisicoquímicas y microbiológicas del pan de abeja producido en laboratorio y evaluar la aceptación sensorial del mismo. En laboratorio se preparó pan de abeja con polen más una mezcla de miel (20% humedad) y solvente (agua o suero de leche). Luego, en platos Petri, se apelmazó los ingredientes hasta formar una pasta homogénea y se incubaron a 35 °C. Se usó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con tres tratamientos evaluados en el tiempo (1 y 7 días) y los análisis se realizaron en tres repeticiones. Los análisis fueron fisicoquímicos (color, textura, pH, humedad y proteína cruda), microbiológicos (coliformes totales, hongos y levaduras) y evaluación sensorial de aceptación con 50 panelistas no entrenados (atributos de color, apariencia, textura, sabor, acidez, astringencia y aceptación general). El estudio concluyó que los prototipos de pan de abeja producidos en laboratorio fueron de color amarillo, rojizo y ligeramente brillantes; con un pH de 4.25, humedad del 16.9% y 13.9% de proteína cruda. El contenido de hongos y levaduras de los prototipos de pan de abeja excedió el límite de la norma salvadoreña para polen, pero no presentaron coliformes totales. Los panelistas evaluaron los prototipos de pan de abeja como "me gusta".

**Palabras clave:** Coliformes totales, fermentación, productos apícolas, proteína cruda, suero de leche.

**Abstract:** Inside the hive, bee bread is a fermented mixture of pollen, honey and enzymes that feeds the worker bees. In foreign markets bee bread is commercialized as a product with a higher nutritional value than unfermented bee pollen. The objectives of the project were to determine the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of bee bread produced in laboratory, and evaluate its sensory acceptance. In the laboratory, bee bread was made with pollen and a mixture of honey (20% moisture) and solvent (water or whey). Then, in Petri dishes the ingredients were crushed gently until obtaining a homogeneous paste that was incubated at 35 °C. A Randomized Complete Blocks design was used with three treatments evaluated through time (1 and 7 days) and analyzed in three replicates. The analysis were physicochemical (color, texture, pH, moisture and crude protein), microbiological (total coliforms, molds and yeasts) and a sensory evaluation with 50 untrained panelists evaluating attributes of color, appearance, texture, flavor, sourness, astringency and general acceptation. The study concluded that bee bread prototypes produced in laboratory were yellow, reddish and slightly brilliant; with a pH of 4.25, 16.9% of moisture and 13.9% of crude protein. The molds and yeast content exceeded the limit of the Salvadorian technical regulation for pollen but not for total coliforms. The panelists evaluated the bee bread prototypes as "I like it".

**Key words:** Bee products, crude protein, fermentation, total coliforms, whey.

# **CONTENIDO**

	Portadilla	i
	Portadilla	ii
	Contenido	
	Índice de Cuadros, Figuras y Anexos	V
1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	3
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6
4.	CONCLUSIONES	15
5.	RECOMENDACIONES	16
6.	LITERATURA CITADA	17
7.	ANEXOS	20

# ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cu	adros	Página
1.	Resultados del análisis físico de color	6
2.	Resultados de dureza del análisis físico de textura.	7
3.	Resultados del análisis de humedad	7
4.	Resultados del análisis de pH	8
5.	Resultados del análisis de proteína cruda	9
	Resultados del análisis de coliformes	10
7.	Resultados del análisis de hongos y levaduras	11
8.	Resultados del análisis sensorial de aceptación de color y apariencia	11
9.	Resultados del análisis sensorial de aceptación de textura	12
10.	Resultados del análisis sensorial de aceptación de sabor, acidez y astringencia	13
	Resultados del análisis sensorial de aceptación general	13
Fig	guras	Página
1. 2.	Contenido de humedad de muestras de polen y pan de abeja	8 10
3.	Comparación de apariencia entre polen (izquierda) y el prototipo de pan de abeja producido en laboratorio (derecha)	12
An	exos	Página
1.	Corte transversal de un panal de abejas ( <i>Apis mellifera</i> ) donde se observan celdas con miel y pan de abeja	20
2.	Especificaciones usadas en el Texture Analyzer Brookfield CT3 4500 para el análisis de textura del pan de abeja producido en laboratorio	21
3.	Boleta empleada para la evaluación sensorial de las muestras	22
<i>3</i> . 4.	Correlación de pH y contenido de humedad con la carga de hongos y levaduras	
т.	en el prototipo de pan de abeja	23
5.	Correlación de resultados de atributos sensoriales evaluados en el prototipo de	23
٥.	pan de abeja	24

## 1. INTRODUCCIÓN

Apicultura es la crianza de abejas con para aprovechar productos como la miel, la cera, la jalea real, el veneno, el propóleo (propolis) y el polen. De estos, el más explotado comercialmente es la miel, pero los demás también son de importancia económica. A los productos apícolas les han sido atribuidas diferentes propiedades nutricionales y medicinales a través del tiempo (Crane 1997).

El polen es el gameto masculino de las flores que las abejas recolectan y mezclan con saliva y néctar dentro de la colmena, pero que el apicultor cosecha usando trampas especiales para este fin (CONACYT 2005). Las abejas recolectan polen por ser su fuente de proteínas, vitaminas y minerales. Desde la Edad Media al polen se le han atribuido propiedades medicinales, pero no fue hasta mediados del siglo XX cuando se estableció el uso de trampas fuera de las colmenas para cosecharlo. Actualmente se comercializa como suplemento nutricional e inclusive para tratar algunas enfermedades (Crane 1997). Cabe aclarar que las características del polen varían dependiendo de la especie vegetal de la cual provengan y no es posible que un tipo particular de polen tenga las mismas características del polen en general (Krell 1996).

Dado el contenido proteico del polen, este producto pierde rápidamente su valor nutricional cuando se almacena de forma inadecuada. Por esto, para conservar sus características es necesario secarlo y almacenarlo fuera de la exposición de rayos ultravioleta (Krell 1996). El polen es un producto nutritivo pero también difícil de digerir por animales monogástricos (Mutsaers *et al.* 2005 y Bell *et al.* 1983). Sin embargo, las abejas obtienen sin problemas los nutrientes (proteínas, lípidos y micronutrientes) que requieren a partir del polen (Broadhurst 2013) porque no lo consumen como tal, lo usan para producir pan de abeja.

El pan de abeja es una mezcla fermentada de polen, miel y enzimas que es almacenada en las celdas de la colmena para servir de alimento para las abejas (Markiewicz-Żukowska *et al.* 2013). Dentro de la colmena, las abejas mezclan el polen con saliva y miel antes de almacenarlo. Esto da lugar a una eventual fermentación acido láctica del producto, similar a la que ocurre en otros alimentos fermentados, cambiando la composición química del producto y aumentando su vida útil (Bogdanov 2015). El proceso de elaboración de pan de abeja puede replicarse fuera de la colmena bajo las condiciones apropiadas usando polen. Hacer esto presenta la ventaja de aumentar digestibilidad y vida de anaquel del producto en comparación al polen seco o congelado (Dany 1988).

El término pan de abeja podría parecer extraño a personas que no estén familiarizadas con apicultura, pues el producto no es una masa elaborada a partir de cereales y tiene

características diferentes de lo que comúnmente se conoce como pan. Sin embargo, esta es la denominación correcta de este producto apícola. Algo similar ocurre con la jalea real, pues el *Codex Alimentarius* (2009) define jalea como el producto hecho jugo y/o extracto acuoso de una o más frutas, de sabor dulce y consistencia gelatinosa semisólida. La jalea real tampoco concuerda en esta definición pero así es como ha sido denominado este otro producto apícola.

El pan de abeja ha sido evaluado en cuanto a su composición química y actividad antioxidante, la cual se debía tanto a compuestos fenólicos como no fenólicos, mayormente ácidos grasos instaurados (Markiewicz-Żukowska *et al.* 2013). También se ha comparado las propiedades químicas de pan de abejas africanizadas y abejas europeas, encontrándose diferencias en pH pero siendo ambos más ácidos que el polen (Degrandi-Hoffman *et al.* 2015). No obstante, es poca la información disponible en cuanto a características físicas y sensoriales del pan de abeja.

Algunos autores han replicado en laboratorio el proceso de conversión de polen a pan de abeja usando como iniciadores cultivos bacterianos comerciales (Duan *et al.* 2015) o incluso pan de abeja tomado de la colmena (Araneda *et al.* 2014). Un método sencillo para replicar la producción de pan de abeja fue propuesto por Dany (1988) usando frascos de cierre hermético y con una cámara de aire de 20-25% del volumen total de los frascos. Asimismo recomendó fermentar el producto a 28-32 °C los primeros días para luego reducir la temperatura a 20 °C y usar como cultivo iniciador bacterias ácido lácticas liofilizadas u obtenidas de suero de leche. También recalcó la importancia de dar las condiciones apropiadas al producto más que a la proporción exacta de ingredientes. Condiciones como mantener bajo presión y herméticamente sellado el polen fermentado, conservar la cámara de aire en el contendor y de no exponer el producto a temperaturas menores a 18 °C. Siguiendo estas indicaciones el producto debería estar fermentado de 8 a 12 días después de elaborado y podría almacenarse durante un tiempo prolongado.

Con este estudio se estableció un precedente en la Planta Apícola de Zamorano, para la producción de pan de abeja en laboratorio para que eventualmente este pueda ser comercializado. Los objetivos de esta investigación fueron:

- Determinar las características fisicoquímicas y microbiológicas del pan de abeja producido en laboratorio.
- Evaluar la aceptación sensorial del pan de abeja producido en laboratorio.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación del estudio.** El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, departamento de Francisco Morazán, Honduras. El pan de abeja se procesó en la Planta Apícola de Zamorano usando polen cosechado en el departamento de El Paraíso, Honduras. 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 pan de abeja en laboratorio.** Se preparó el pan de abeja en el laboratorio de la Planta Apícola mezclando polen cosechado en el departamento de El Paraíso, Honduras con una solución hecha de miel (20% de humedad) y solvente (agua o suero de leche de vaca) en una proporción de 1:1. En platos Petri de plástico de 9 cm de diámetro se colocaron el polen y la solución de miel, y con una cuchara se apelmazó los ingredientes hasta formar una pasta de consistencia homogénea que cubriese toda la superficie del plato. Los platos Petri se incubaron a 35 °C, la temperatura interna de la colmena (Hess 1926), durante un día o siete días dependiendo del tratamiento.

Análisis de color. El sistema CIELAB se utiliza para medir el color dependiendo de la magnitud de tres componentes: L\*, a\* y b\*. El valor L\* expresa luminosidad en una escala de 0 a 100, donde 0 es negro y 100 es blanco. El valor a\* cuantifica el color en una escala de - 80 a 80, donde -80 corresponde a verde, 80 corresponde a rojo y 0 es el neutro. El valor b\* cuantifica el color en una escala de -80 a 80, donde - 80 corresponde a azul y 80 corresponde a amarillo (Wrolstad y Smith 2010). Se usó un colorímetro Color Flex Hunter L a b modelo 45 serie Cx0687, se llenó de muestra la cámara de análisis del colorímetro y se realizó la lectura de color a cada muestra según el método AN 1018.00 (Hunterlab 2012).

Análisis de textura. Se analizó la dureza solamente en el pan de abeja mediante una prueba de fuerza de corte en néwtones con un Texture Analyzer Brookfield CT3 4500. Antes de realizar el análisis, las muestras se colocaron en un desecador con sílice durante 4 días para acondicionar las muestras y eliminar la variabilidad por la actividad de agua.

Análisis de humedad. La cantidad de agua en las muestras se determinó usando el método AOAC 945.15 (Latimer, Jr. 2012). Se pesaron crisoles secos y luego, por duplicado, se colocó 3 g de muestra en cada crisol. Los crisoles con las muestras se colocaron en un horno de aire forzado a 105 °C durante 18-24 h. Después se dejó enfriar los crisoles en un desecador con sílice y se pesó los crisoles con muestra seca para calcular por diferencia el porcentaje de humedad en las muestras según la Ecuación 1.

Porcentaje de humedad = 
$$\frac{(C + MH) - (C + MS)}{MH} \times 100$$
 [1]

Donde:

• C: Peso del crisol.

• MH: Peso de la muestra húmeda.

• MS: Peso de la muestra seca.

Análisis de pH. Se midió en base al método AOAC 943.2 (Latimer, Jr. 2012), pero con algunas modificaciones. Se pesaron 10 g de cada muestra y se maceraron en un mortero. Se pasó la muestra macerada a un vaso de precipitados de 250 mL y se le agregaron 100 mL de agua destilada. Se mezcló con una varilla de vidrio el vaso de precipitados hasta suspender uniformemente la muestra y se colocó en un agitador magnético para mezclar constantemente la solución preparada por al menos 10 min. Después de esto se usó un potenciómetro Orion 3 Star para tomar la lectura de pH por triplicado a cada muestra y obtener un promedio.

Análisis de proteína cruda. Se hizo con el método AN 300 FOSS (Persson *et al.* 2008). Para esto se colocó, por duplicado, en tubos de ensayo de digestión de 250 mL 1 g de muestra envuelta en papel bajo en nitrógeno. Además se colocó, siempre por duplicado, como estándar 0.12 g de sulfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)SO<sub>2</sub>) y tubos solo con el papel encerado como blanco. A cada tubo se agregó dos tabletas catalizadoras Kjeltabs y 15 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 95%. Se colocaron los tubos listos en un digestor FOSS Tecator 20 a 420 °C para digerir la muestra durante una hora y luego se dejaron enfriar al menos 30 minutos.

Después de la digestión se usó un destilador FOSS Kjeltec 8100 para destilar el nitrógeno orgánico de las muestra con 30 mL de solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 40% en 50 mL de una solución receptora de ácido bórico (B(OH)<sub>3</sub>) al 4% p/v con indicador. Por último, se tituló la muestra destilada con ácido clorhídrico (HCl) al 0.1 N hasta obtener un color violeta o rosado pálido. Se introdujo el peso de la muestra y el volumen de ácido titulado a la Ecuación 2 para calcular el contenido de proteína cruda de las muestras.

Porcentaje de proteína = 
$$\frac{(T - B_x) \times N \times 14.007}{M \times 10} \times 6.25$$
 [2]

Donde:

• T: Volumen de ácido clorhídrico utilizado para titular la muestra.

• B<sub>x</sub>: Promedio del volumen de ácido clorhídrico utilizado para titular los blancos.

N: Normalidad de la solución de ácido clorhídrico estandarizado.

• M: Peso de la muestra.

Análisis de coliformes totales. La Norma Salvadoreña Obligatoria (NSO) 65.38.01:04 establece que el polen apícola deberá cumplir con el requisito de ausencia de coliformes totales y fecales (CONACYT 2005). Sin embargo, no especifica con claridad con qué método realizar el análisis. Dado este vacío legal se escogió el método de Número Más

Probable (NMP) por ser éste más sensible para identificar coliformes. Por ejemplo, Hwa Cho *et al.* (2010) obtuvieron mayores recuentos de *E. coli* en muestras de agua con el método de Número Más Probable en comparación a métodos de Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

El análisis se realizó según las especificaciones del Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la Food and Drug Adminsitration (FDA). Se usó como medios de cultivo Caldo Lauryl Triptosa (LTB) en las pruebas presuntivas y Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (LBBGB) en las pruebas confirmatorias (Feng *et al.* 2002).

**Análisis de hongos y levaduras.** Se usó el método establecido por la American Public Health Association (APHA) de vaciado en placa usando Agar Papa Dextrosa (PDA) acidificado con ácido tartárico como medio de cultivo (Vabderzant y Splittstoesser 1992).

**Análisis sensorial.** Se utilizó una prueba afectiva de aceptación con una escala de cinco puntos, tres muestras por prueba y con la participación de un grupo de 50 panelistas no entrenados conformado por personas del campus de Zamorano. Los atributos sensoriales evaluados fueron color, apariencia, aroma, textura, sabor, acidez y aceptación general.

**Diseño experimental.** Se usó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) evaluando tres tratamientos: polen, pan de abeja elaborado con agua y pan de abeja elaborado con suero de leche. Los tratamientos de pan de abeja fueron evaluados en dos medidas repetidas en el tiempo (día uno y día siete). Esto no se hizo en el polen porque permaneció refrigerado después de su cosecha, por lo cual no estuvo expuesto a factores que pudiesen cambiar sus características. El estudio contó con tres repeticiones, lo cual dio un total de 15 unidades experimentales. Los datos obtenidos se analizaron con el paquete estadístico SAS® 9.3 con una separación de medias de Duncan para identificar diferencias significativas (P<0.05) entre tratamientos y a través del tiempo en las características evaluadas.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Producción de pan de abeja en laboratorio.** Se hicieron pruebas preliminares usando agua potable en la solución de miel, evaluando diferentes proporciones de polen y solución de miel e incubando la pasta de polen a 35 °C durante 24 h. Después de la incubación, se escogió una proporción de polen-solución de miel dependiendo de la consistencia obtenida, ya que se buscaba obtener una pasta de polen con una consistencia sólida, uniforme y moldeable. Esta consistencia era obtenida al mezclar 1 mL de solución de miel por cada 3 g de polen. Al usar más solución de miel, el polen retenía más agua de la que podía captar, dejando agua acumulada en la superficie del plato Petri.

Al haber identificado la proporción más adecuada, se preparó más pasta de polen en platos Petri con esta proporción para su posterior análisis. Además, se usó suero de leche tomado de la Planta de Lácteos de Zamorano como sustituto del agua en la solución de miel para preparar el pan de abeja y que actuase como iniciador en el producto. Ambos tipos de pan de abeja fueron incubados durante uno o siete días a 35 °C.

**Análisis de color.** No se encontraron diferencias significativas en el color a través del tiempo (P>0.05). El Cuadro 1 muestra que tampoco se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en los atributos  $L^*$  y  $b^*$  (P>0.05), pero sí hubo diferencias en  $a^*$  (P<0.05).

Cuadro 1. Resultados del análisis físico de color.

Tratamiento	L*	a*	b*	
Tratamiento	Media ± D.E.*	Media ± D.E.	Media ± D.E.	
Polen	$51.750 \pm 0.190 \mathrm{a}$	$9.337 \pm 0.255 \mathrm{b}$	$44.080 \pm 0.727 a$	
Pan de abeja con agua	$51.485 \pm 1.684 a$	$10.600 \pm 1.151 \mathrm{a}$	$44.940 \pm 1.213  a$	
Pan de abeja con suero	$50.827 \pm 3.057 a$	$10.868 \pm 1.586 \mathrm{a}$	$44.548 \pm 2.213 a$	
C.V.¶(%)	2.431	4.254	2.270	

Desviación estándar.

Los valores L\* y b\* indican que tanto el polen como ambos tipos de pan de abeja son amarillos y ligeramente brillantes. Navarro Montero (2014) reportó un color de polen más opaco (valores L\* menores a 50), menos amarillos y ligeramente menos rojos que los encontrados. No obstante, ningún polen puede coincidir por completo con las

<sup>&</sup>lt;sup>a-b</sup>Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

<sup>&</sup>lt;sup>¶</sup>Coeficiente de variación.

características descritas de polen en general debido a que proviene de diferentes especies vegetales por lo que varía de un lugar a otro (Krell 1996).

Las diferencias en el valor a\* indican que ambos tipos de pan de abeja fueron significativamente más rojos que el polen. Esto podría estar relacionado con el macerado, pues al preparar la pasta a fermentar, los granos de polen de colores rojos, anaranjados y marrones eran aplastados y su área superficial incrementaba, teniendo un mayor impacto en el atributo a\* del color.

**Análisis de textura.** No hubo un efecto significativo del tiempo evaluado en la dureza del pan de abeja (P>0.05). El Cuadro 2 muestra que tampoco hubo diferencias entre pan de abeja elaborado con agua o con suero de leche (P>0.05). Existe la posibilidad de que no se haya encontrado diferencias por la alta variabilidad en el grosor de las muestras ( $2.16 \pm 0.40 \text{ mm}$ ). Por otro lado, es probable que no se hayan encontrado diferencias entre los tratamientos porque efectivamente son iguales, pues se elaboraron con el mismo procedimiento y las mismas materias primas entre tratamientos pero no entre repeticiones, salvo el solvente en la solución de miel dependiendo del tratamiento.

Cuadro 2. Resultados de dureza en newtones (N) del análisis físico de textura.

Tratamiento	Media ± D.E. <sup>2</sup>
Pan de abeja con agua	$1.095 \pm 0.322$ a
Pan de abeja con suero	$1.015 \pm 0.361$ a
C.V.¶ (%)	32.307

Desviación estándar.

**Análisis de humedad.** No hubo un efecto significativo del tiempo evaluado en la humedad de las muestras (P>0.05), pero sí hubo diferencias significativas en la humedad entre tratamientos (P<0.05). El Cuadro 3 muestra que ambos tipos de pan de abeja tienen un mayor contenido de humedad que el polen. Esta diferencia podría ser causada por el agua en la solución de miel que se agregó al polen para la producción de pan de abeja.

Cuadro 3. Resultados del análisis de humedad (%).

Tratamiento	Media ± D.E.*
Polen	$13.833 \pm 0.723 \text{ b}$
Pan de abeja con agua	$17.583 \pm 2.039 a$
Pan de abeja con suero	$16.333 \pm 1.218 a$
C.V.¶ (%)	5.476

Desviación estándar.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Letras iguales indican valores entre tratamientos estadísticamente iguales (P>0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

<sup>&</sup>lt;sup>a-b</sup>Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

Al analizar una muestra de pan de abeja tomada de una colmena de Zamorano, se encontró que tenía un 23% de humedad. En cambio, Fuenmayor Bobadilla (2009) reportó que el contenido de agua es de 19% en polen húmedo y de 18.44% en pan de abeja. Asimismo indicó que no hay una pérdida significativa de agua durante el proceso de conversión del uno al otro dentro de la colmena.

En la Figura 1 se observa que la humedad de ambos tipos de pan de abeja producidos en laboratorio fue similar a la del pan de abeja de Fuenmayor Bobadilla (2009). Sin embargo, el pan de abeja recolectado en Zamorano tuvo un alto contenido de humedad que podría ser a causa del poco tiempo que éste permaneció dentro de la colmena.

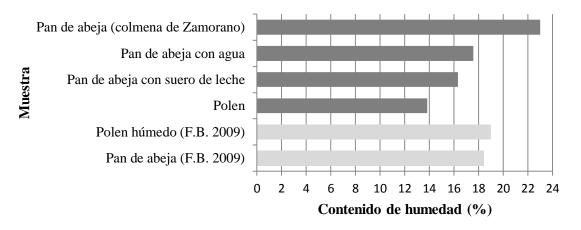


Figura 1. Contenido de humedad de muestras de polen y pan de abeja. Fuente: Fuenmayor Bobadilla (2009) y el autor.

**Análisis de pH.** No hubo un efecto significativo del tiempo evaluado (P>0.05) y no se encontró diferencias en pH entre los tratamientos (P>0.05), tal como muestra el Cuadro 4. Esto podría estar relacionado a que las muestras de pan de abeja no se incubaron el tiempo suficiente, porque los microorganismos presentes no fermentaron los azúcares disponibles o porque el polen producido en laboratorio no fue mezclado con la saliva de las abejas, la cual contiene enzimas que participan en el proceso de fermentación.

Cuadro 4. Resultados del análisis de pH.

Tratamiento	Media ± D.E. <sup>2</sup>
Polen	$4.28 \pm 0.09 \; a$
Pan de abeja con agua	$4.23 \pm 0.02$ a
Pan de abeja con suero	$4.26 \pm 0.04 \ a$
C.V.¶ (%)	0.603

Desviación estándar.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Letras iguales indican valores entre tratamientos estadísticamente iguales (P>0.05).

<sup>¶</sup>Coeficiente de variación.

Los resultados de ambos tipos de pan de abeja son similares al valor de 4.13 reportado por Fuenmayor Bobadilla (2009) en pan de abeja. Sin embargo, estos resultados difieren del pH de 3.88 encontrado en la muestra de pan de abeja tomado de una colmena de Zamorano. La diferencia en pH entre ambas muestras de pan de abeja producidas en la colmena podría ser causada por el origen del polen de cada muestra.

Análisis de proteína cruda. No hubo un efecto significativo del tiempo evaluado en los tratamientos (P>0.05). El Cuadro 5 muestra que el polen tuvo un mayor contenido de proteína cruda que el pan de abeja sin importar si este fue elaborado usando agua o suero de leche. Cada tratamiento de pan de abeja fue elaborado a partir del mismo tipo de polen que fue analizado. Por esto, la diferencia en el contenido de proteína cruda podría relacionarse con el hecho de agregar la solución de miel al polen. Al mezclar el polen con la solución de miel se añadieron agua y azúcares, lo cual aumentó la proporción de estos componentes y disminuyó el porcentaje de proteína cruda en las muestras. Sin embargo, atractivo que presenta el pan de abeja con respecto al polen es la calidad de la proteína por su digestibilidad y la estabilidad del producto (Dany 1988 y Bogdanov 2015), no la cantidad de proteína que contiene per se.

Cuadro 5. Resultados del análisis de proteína cruda (%).

Tratamiento	Media ± D.E.*
Polen	$16.293 \pm 0.211$ a
Pan de abeja con agua	$13.608 \pm 1.361 \mathrm{b}$
Pan de abeja con suero	$14.183 \pm 0.481 \text{ b}$
C.V.¶ (%)	7.035

Desviación estándar.

Al analizar la muestra de pan de abeja recolectada en las colmenas de Zamorano se encontró un 14.48% de proteína cruda, similar al de ambas muestras producidas en laboratorio. No obstante, estos resultados difieren del 17.1% de proteína cruda reportado por Fuenmayor Bobadilla (2009). Sin embargo, el mismo autor también reportó polen húmedo con un 16.3% de proteína cruda, valor similar al del polen usado en este estudio. (Figura 2). Las diferencias entre ambos estudios podrían ser debido a la diferencia del origen botánico del polen en cada muestra y a las condiciones ambientales bajo las cuales se produjo el polen o el pan de abeja (Krell 1996).

<sup>&</sup>lt;sup>a-b</sup> Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

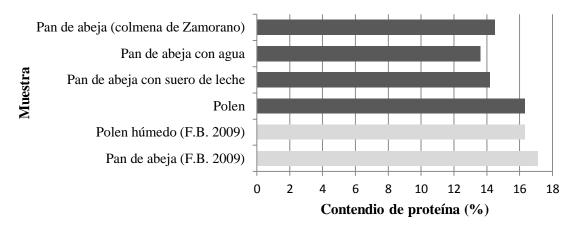


Figura 2. Contenido de proteína y humedad de muestras de polen y pan de abeja. Fuente: Fuenmayor Bobadilla (2009) y el autor.

Análisis de coliformes totales. En el Cuadro 6 se muestra que el resultado del análisis de coliformes totales en todas las unidades experimentales fue 0.176 Log<sub>10</sub> NMP/g de muestra, excepto en la de una repetición del análisis en polen. En ese caso particular el resultado fue 0.556 Log<sub>10</sub> NMP/g y esto pudo deberse a particularidades del proceso de muestreo y análisis en esa repetición en la muestra del polen. Sin embargo, debido a esto los datos no tuvieron un comportamiento normal y no se pudo hacer un análisis de varianza.

Cuadro 6. Resultados del análisis de coliformes (Log<sub>10</sub> NMP/g).

Tratamiento	Media	D.E.*	C.V.¶ (%)
Polen	0.303	0.219	72.488
Pan de abeja con agua	0.176	0.000	0.000
Pan de abeja con suero	0.176	0.000	0.000

Desviación estándar.

No obstante, obviando el dato de 0.556 Log<sub>10</sub> NPM/g, los resultados coinciden con lo reportado por Navarro Montero (2014), quien tampoco encontró presencia de coliformes en polen apícola. Y comparando los resultados de los tratamientos de pan de abeja, estos sí cumplen con el criterio de ausencia de la NSO 65:38.01:04 a pesar de que la norma solo se refiera a polen (CONACYT 2005).

Análisis de hongos y levaduras. No hubo diferencias significativas a través del tiempo ni entre tratamientos (P>0.05) en las muestras de pan de abeja evaluadas. Tampoco se encontró una correlación entre el contenido de hongos y levaduras y la humedad o el pH d la matriz (P>0.05), de modo que la población encontrada de estos microorganismos se debe a otros factores. Ninguno de los tratamientos cumplió con el límite máximo de

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

hongos y levaduras establecido en la NSO 65.38.01:04, equivalente a 2.477 Log<sub>10</sub> UFC/g (CONACYT 2005), como se observa en el Cuadro 7. Sin embargo, puesto que no hubo diferencias significativas entre los prototipos y el polen, el alto contenido de hongos y levaduras posiblemente se debió al material experimental empleado y no a los tratamientos aplicados. Sin embargo, el proceso de fermentación de pan de abeja no solo involucra bacterias ácido lácticas, sino también hongos y levaduras (Gilliam 1997), por lo cual sería comprensible encontrar a estos microorganismos en este producto pero no en polen seco.

Cuadro 7. Resultados del análisis de hongos y levaduras (Log<sub>10</sub> UFC/g).

Tratamiento	Media ± D.E. <sup>2</sup>
Polen	$3.353 \pm 0.046$ a
Pan de abeja con agua	$3.143 \pm 0.106$ a
Pan de abeja con suero	$3.228 \pm 0.136$ a
C.V.¶ (%)	2.977

Desviación estándar.

**Análisis sensorial.** No hubo un efecto significativo del tiempo en los tratamientos en ninguna de los atributos sensoriales evaluados (P>0.05), pero sí hubo diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05) en los parámetros de color y apariencia (Cuadro 8). Para ambos parámetros se encontró que el polen fue mejor evaluado que cualquiera de las muestras de pan de abeja. Al hacer un análisis de correlación se encontró una correlación media (P<0.05, r=0.638) entre el color y la apariencia, de modo que la aceptación de una variable aumentó a medida que lo hacía la otra variable.

Cuadro 8. Resultados del análisis sensorial de aceptación de color y apariencia.

Tratamiento	Color	Apariencia	
Tratamiento	Media ± D.E. <sup>2</sup>	Media ± D.E.*	
Polen	$3.733 \pm 0.980 a$	$3.760 \pm 0.889 a$	
Pan de abeja con agua	$3.477 \pm 1.005 \mathrm{b}$	$3.384 \pm 0.987  \mathrm{b}$	
Pan de abeja con suero	$3.378 \pm 0.931  \mathrm{b}$	$3.310 \pm 0.961 \mathrm{b}$	
C.V.¶(%)	22.242	21.755	

Desviación estándar.

La diferencia en los resultados de color podría ser porque cada grano de polen presenta un color uniforme que agradó más a los panelistas que la masa de pan de abeja de color

<sup>&</sup>lt;sup>a-b</sup>Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

<sup>&</sup>lt;sup>a-b</sup>Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

amarillo con puntos difusos de colores más oscuros. En cuanto a la apariencia, la diferencia podría estar relacionada con que las muestras de pan de abeja no eran uniformes en forma y grosor debido al molde con que se sacó de los platos Petri; a diferencia de los granos de polen (Figura 3).

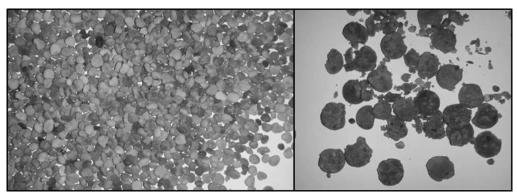


Figura 3. Comparación de apariencia entre polen (izquierda) y el prototipo de pan de abeja producido en laboratorio (derecha).

Las muestras de pan de abeja usadas para el análisis sensorial fueron cortadas de la masa en los platos Petri con un molde circular de aproximadamente 1 cm de diámetro. Sin embargo el borde de los círculos fue irregular y el grosor variaba entre cada muestra. Por lo anterior, los panelistas pudieron preferir el color y la apariencia del polen sobre los del pan de abeja. Aproximando el promedio de los resultados, el polen alcanzó un valor equivalente a "me gusta" en la escala hedónica de cinco puntos mientras que ambos en tipos de pan de abeja el resultado fue equivalente a "me es indiferente".

En el Cuadro 9 se observa que en cuanto a la textura no hubo diferencia significativa entre tratamientos, es decir que los panelistas valoraron igual tanto la textura del pan de abeja como la granulosidad del polen. Tanto el polen como ambos tipos de pan de abeja fueron evaluados como "me es indiferente" en la escala hedónica de cinco puntos empleada.

Cuadro 9. Resultados del análisis sensorial de aceptación de textura.

Tratamiento	Media ± D.E. <sup>2</sup>
Polen	$3.495 \pm 0.941$ a
Pan de abeja con agua	$3.495 \pm 1.063$ a
Pan de abeja con suero	$3.455 \pm 1.033$ a
C.V.¶ (%)	22.732

Desviación estándar.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Letras iguales indican valores entre tratamientos estadísticamente iguales (P>0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

En el Cuadro 10 se observa que para los parámetros de sabor, acidez y astringencia no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos (P>0.05), ni a través del tiempo en la evaluación sensorial (P>0.05). De la misma forma, en ninguno de estos parámetros fue posible alcanzar un valor promedio que fuese equivalente a "me gusta" en la escala hedónica de cinco puntos. Esto podría ser porque tanto el polen como el pan de abejas son alimentos inusuales, poco demandado por los consumidores (Castro Alvarado y Ortiz Banegas 2012) y de menor participación en el mercado de productos apícolas en comparación a la miel (Molina 2010). Por esta razón, posiblemente los panelistas reaccionaron erráticamente al producto.

Cuadro 10. Resultados del análisis sensorial de aceptación de sabor, acidez y astringencia.

Tratamiento	Sabor	Acidez	Astringencia	
	Media ± D.E.*	Media ± D.E.	Media ± D.E.	
Polen	$3.186 \pm 1.054 a$	$3.161 \pm 0.923 a$	$3.091 \pm 0.924 a$	
Pan de abeja con agua	$3.330 \pm 1.264 a$	$3.173 \pm 1.075 a$	$3.131 \pm 1.046 a$	
Pan de abeja con suero	$3.292 \pm 1.279 a$	$3.262 \pm 1.084 a$	$3.110 \pm 1.100 a$	
C.V.¶(%)	31.350	26.686	26.584	

Desviación estándar.

El Cuadro 11 muestra que no se encontró diferencias significativas en la aceptación general entre los tratamientos (P>0.05), ni a través del tiempo en la evaluación sensorial (P>0.05). Al aproximar el promedio de los resultados, las tres muestras alcanzaron un valor equivalente a "me gusta" en la escala hedónica de cinco puntos, a diferencia de lo ocurrido en el resto de atributos. Esto coincide con el análisis de correlación entre atributos sensoriales, donde se encontró que ninguno de estos tuvo correlación con la aceptación general (p>0.05). Es decir que a pesar de que individualmente uno o más atributos no hayan sido evaluados positivamente, el alimento como un todo sí fue del agrado de los panelistas.

Cuadro 11. Resultados del análisis sensorial de aceptación general.

Tratamiento	Media ± D.E.*
Polen	$3.560 \pm 0.903$ a
Pan de abeja con agua	$3.495 \pm 0.941$ a
Pan de abeja con suero	$3.460 \pm 0.999$ a
C.V.¶ (%)	22.968

Desviación estándar.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Letras iguales indican valores entre tratamientos estadísticamente iguales (P>0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Letras iguales indican valores entre tratamientos estadísticamente iguales (P>0.05).

<sup>¶</sup> Coeficiente de variación.

Por último, bajo las condiciones en las que se desarrolló este estudio no fue posible demostrar que hubo una fermentación que indicase si hubo o no una conversión de polen a pan de abeja. Por lo tanto el producto obtenido no podría llamarse con certeza pan de abeja. Sería más apropiado definirlo como un prototipo de pan de abeja que aún no está completo.

## 4. CONCLUSIONES

- El prototipo pan de abeja producido en laboratorio resultó de color amarillo, rojizo y ligeramente brillante; un pH de 4.25, con 16.9% de humedad y 13.9% de proteína cruda.
- El prototipo de pan de abeja producido en laboratorio tuvo un contenido de hongos y levaduras que excedió el límite permitido en el polen establecido en la norma técnica salvadoreña publicada en el 2005, pero no presentó coliformes totales.
- El prototipo de pan de abeja producido en laboratorio obtuvo una puntuación equivalente a "me gusta" en la escala usada en la evaluación sensorial.

### 5. RECOMENDACIONES

- Prolongar el tiempo de incubación del polen en la producción de pan de abeja en laboratorio.
- Determinar el contenido de azúcares y grasas en el pan de abeja, además de la humedad y la proteína cruda, para conocer más sobre la composición proximal del producto y verificar la fermentación de azúcares a través del tiempo.
- Comparar el uso de polen seco con polen en la producción de pan de abeja en laboratorio, así como también el pan de abeja producido en la colmena con el de laboratorio, y evaluar la digestibilidad de las proteínas.
- Desarrollar una técnica de producción en laboratorio que permita uniformizar el grosor del pan de abeja, considerando la forma de presentar el producto terminado para su envasado y comercialización.

### 6. LITERATURA CITADA

Araneda, X., C. Velásquez, D. Morales e I. Martínez. 2014. Producción de pan de abejas (*Apis mellifera* L.) bajo condiciones de laboratorio. IDEISA (Chile) 32(4):63-69.

Bell, R.R., E.J. Thronber, J.L. Seet, M.T. Groves, N.o. Ho y D.T. Bell. 1983. Composition and protein quality of honeybee-collected pollen of *Eucalyptus marginata* and *Eucalyptus calophylla*. JN Journal of Nutrition 11(12):2479-2484.

Bogdanov, S. 2015. Pollen: Production, Nutrition and Health: A Review (en línea). Consultado 15 de agosto de 2015. Disponible en http://www.bee-hexagon.net/files/fileE/Health/PollenBook2Review.pdf

Broadhurst, C.L. 2013. Bee Products for Better Health. Books Alive. 64 p.

Castro Alvarado, G.A. y O.F. Ortiz Banegas. 2012. Estudio de factibilidad para la introducción y comercialización del polen marca Zamorano en la ciudad de Tegucigalpa, Honduras. Tesis Ing. Agronegocios. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 32 p.

Codex Alimentairus. 2009. Norma del Codex para las confituras, jaleas y mermeladas (Codex STan 296-2009) (en línea). Consultado 30 de septiembre de 2015. Disponible en http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/11254/CXS\_296s.pdf

CONACYT. 2005. NSO 65.38.01:05. Calidad del polen de abejas. Diario Oficial (El Salvador) 368(159):14-21.

Crane, E. 1997. The Past and Present Importance of Bee Products to Man. *In*: A. Mizrahi y Y. Lensky (ed) Bee Products Properties, Applications and Apitherapy. Springer Science+Business Media, LLC. p 1-13.

Dany, B. 1988. Selbstgemachtes aus Bienenprodukten: Vollwertkost, Sportnahrung, Naturkosmetik, Naturheilmittel. München, Germany, Ehrenwirth Verlag. 174 p.

Degrandi-Hoffman, G., B. Eckholm y M. Huang. 2015. Methods for Comparing Nutrients in Beebread Made by Africanized and European Honey Bees and the Effects on Hemolymph Protein Titers. Journal of Visualized Experiments 2015 (97):e52448

Duan, C., Y. Feng, H. Zhou, X. Xia, Y. Shang y Y. Cui. 2015. Optimization of Fermentation Condition of Man-Made Bee-Bread by Response Surface Methodology. *In*: T. Zhang (ed) y M. Nakajima (ed). Advances in Applied Biotechnology. Proceedings of

the 2nd International Conference on Applied Biotechnology (ICAB 2014)-Volume II. Springer-Verlag GmbH Berlin Heidelberg. p 353-363.

Feng, P., S.D. Weagant, M.A. Grant y W. Burkhardt. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria (en línea). Consultado 15 de julio de 2015. Disponible en http://www.fda.gov/Food/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm#conventional

Fuenmayor Bobadilla, C.A. 2009. Aplicación de bioprocesos en polen de abejas para el desarrollo de un suplemento nutricional proteico. Tesis M.Eng. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional. 134 p.

Gilliam, M. 1997. Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. FEMS Microbiology Letters 155(1): 1-10.

Hess, W.R. 1926. Die Temperaturregulierung im Bienenvolk. Zeitschrift für vergleichende Physiologie 4(4): 465-486.

Hunterlab. 2012. Using Hitch Standarization on a Series of COlor Measuring Instruments. Reston, Virginia, USA, Hunter Associates Laboratory Inc., 6 p.

Hwa Cho, K., D. Han, Y. Park, S Won Lee, S. Min Cha, J. Kang y J. Ha Kim. 2010. Evaluation of the relationship between two different methods for enumeration fecal indicator bacteria: Colony-forming unit and most probable number. Journal of Environmental Sciences 22(6): 846-850.

Krell, R. 1996. Value-added products from beekeeping (en línea). Consultado 5 de julio de 2015. Disponible en http://www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e00.htm#con

Latimer, Jr., G.W. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th edition. Gaithersburg, Maryland, USA, AOAC International.

Markiewicz-Żukowska, R., S. K. Naliwajko, E. Bartosiuk, J. Moskwa, V. Isidorov, J. Soroczyńska y M. H. Borawska. 2013. Chemical composition and antioxidant activity of beebread, and its influence on the glioblastoma cell line (U87MG). Journal of Apicultural Science 57(2):147–157.

Molina, D.O. 2010. Análisis de la Cadena de Valor Apícola en Honduras, 2010. Tegucigalpa, Honduras. 49 p.

Mutsaers, M. H. van Blitterswijk, L. vaan't Leven, J. Kerkvliet y J. van de Waerdt. 2005. Bee products properties, processing and marketing. Agromisa Foundation. Wageningen, Netherlands.

Navarro Montero, A.D. 2014. Evaluación de dos sistemas de secador y dos tiempos de secado en las características microbiológicas, físico-químicas y sensoriales del polen de abejas. Tesis Ing. Agroind. Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 21 p.

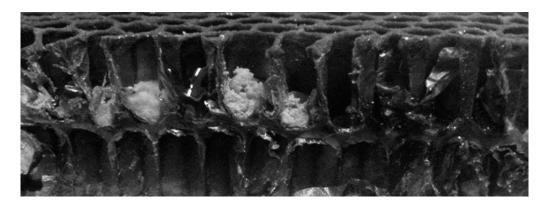
Persson, J., M. Wennerholm y S. O'Halloran. 2008. Handbook for Kjeldahl Digestion. A review of the classical method with improvements developed by FOSS. Fourth edition. Hilleroed, Denmark, FOSS. 79 p.

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.

Wrolstad, R.E. y D.E. Smith. 2010. Color Analysis. *In*: S.S. Nielsen (ed). Food Analysis. Fourth edition. West Lafayette, IN, USA. Springer Science+Business Media. p 573-586.

## 7. ANEXOS

**Anexo 1.** Corte transversal de un panal de abejas (*Apis mellifera*) donde se observan celdas con miel y pan de abeja.



**Anexo 2.** Especificaciones usadas en el Texture Analyzer Brookfield CT3 4500 para el análisis de textura del pan de abeja producido en laboratorio.

Parámetro	Especificación
Tipo objetivo	Distancia
Valor meta	10 mm
Carga de activación	0.067 N
Velocidad de la prueba	1 mm/segundo
Ajuste de la barra	40 mm
Sonda	TA7
Mesa base	TA RT KIT

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

#### Boleta de Evaluación Sensorial

Las abejas producen en la colmena pan de abeja para alimentarse de proteínas. Para esto mezclan el polen con néctar en la colmena y lo fermentan. Buen día. A continuación se le presentan tres muestras. Por favor evalúe las muestras de izquierda a derecha, marque el número de muestra y con una  ${\bf X}$  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.

#### Muestra:

	Me disgusta mucho	Me disgusta	Me es indiferente	Me gusta	Me gusta mucho
Color					
Apariencia					
Aroma					
Textura					
Sabor					
Acidez					
Astringencia*					
Aceptación general					

<sup>\*</sup>Astringencia: sensación entre sequedad intensa y amargor en la lengua, como la sensación que deja comer marañón.

#### Muestra:

	Me disgusta mucho	Me disgusta	Me es indiferente	Me gusta	Me gusta mucho
Color					
Apariencia					
Aroma					
Textura					
Sabor					
Acidez					
Astringencia					
Aceptación general					

#### Muestra:

	Me disgusta mucho	Me disgusta	Me es indiferente	Me gusta	Me gusta mucho
Color					
Apariencia					
Aroma					
Textura					
Sabor					
Acidez					
Astringencia					
Aceptación general					

**Anexo 4.** Correlación de pH y contenido de humedad con la carga de hongos y levaduras en el prototipo de pan de abeja.

 $\begin{aligned} Pearson & \ Correlation & \ Coefficients, \ N=15 \\ Prob & > |r| \ under \ H0: \ Rho=0 \end{aligned}$ 

	Humedad	рН	Log HyL
Humedad	1	-0.3763	-0.35802
		0.1668	0.1901
ъU	-0.3763	1	0.20306
pН	0.1668		0.4679
Log HyL	-0.35802	0.20306	1
	0.1901	0.4679	

**Anexo 5.** Correlación de resultados de atributos sensoriales evaluados en el prototipo de pan de abeja. En negritas los resultados con una correlación media o alta.

Pearson Correlation Coefficients, N = 288Prob > |r| under H0: Rho=0

	Color	Apariencia	Aroma	Textura	Sabor	Acidez	Astrng.*	A.G.•
Calan	1.0000	0.6383	0.5207	0.3640	0.2946	0.1823	0.2848	0.0439
Color		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0019	<.0001	0.4582
Apariencia	0.6383	1.0000	0.5520	0.4528	0.3446	0.2964	0.3747	-0.0066
Apartelicia	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9115
Aroma	0.5207	0.5520	1.0000	0.4634	0.4163	0.3331	0.4008	0.0846
Aroma	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1523
Textura	0.3640	0.4528	0.4634	1.0000	0.4343	0.4068	0.3658	0.0390
	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	0.5103
Sabor	0.2946	0.3446	0.4163	0.4343	1.0000	0.5929	0.5120	-0.0634
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	0.2840
Acidez	0.1823	0.2964	0.3331	0.4068	0.5929	1.0000	0.6318	0.0297
Acidez	0.0019	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	0.6159
Astrng.	0.2848	0.3747	0.4008	0.3658	0.5120	0.6318	1.0000	0.1064
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		0.0713
	0.0439	-0.0066	0.0846	0.0390	-0.0634	0.0297	0.1064	1.0000
A.G.	0.4582	0.9115	0.1523	0.5103	0.2840	0.6159	0.0713	

<sup>\*</sup>Astringencia.

<sup>•</sup> Aceptación general.