

**Efecto del tiempo de secado en las  
características fisicoquímicas, microbiológicas  
y sensoriales del polen de abejas  
(*Apis mellifera*)**

**Yordany Ramírez Del Jesús**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano  
Honduras**  
Noviembre, 2016

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Efecto del tiempo de secado en las  
características fisicoquímicas, microbiológicas  
y sensoriales del polen de abejas  
(*Apis mellifera*)**

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

**Yordany Ramírez Del Jesús**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2016

**Efecto del tiempo de secado en las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del polen de abejas**  
(*Apis mellifera*)

**Yordany Ramírez Del Jesús**

**Resumen:** El tiempo de secado en los alimentos determina su posterior aceptación como alimento apto para consumo humano. En este estudio se determinó el efecto que tiene el tiempo de secado en las características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas del polen de abejas *Apis mellifera*. Además, se evaluó el cumplimiento con lo establecido en la norma salvadoreña sobre polen. La temperatura de secado empleada fue de  $45 \pm 1$  °C, y los tiempos de secado fueron de cinco, siete y nueve horas de secado y un testigo (cero horas). Los análisis efectuados fueron pérdida de peso, humedad, pH, % proteína cruda, recuentos de hongos y levaduras, aislamiento e identificación de hongos y un análisis sensorial basado en una prueba hedónica de cinco puntos donde se evaluó: apariencia, color, aroma y aceptación general. Se concluyó que con 9 horas de secado el polen alcanza  $12.46 \pm 1.46\%$  de humedad, pierde peso en un  $17.53 \pm 1.98\%$  y disminuye la aceptación del atributo aroma en polen. Basado en costos deberían aplicarse 5 horas de secado ya que independientemente si se usa cinco o hasta nueve horas de secado se logra cumplir con los límites establecidos por la norma salvadoreña sobre Polen (<300 UFC/g), sin embargo, en ambos casos no alcanzó el porcentaje de humedad (<4%). Los hongos encontrados en el polen fueron *Trichothecium roseum*, *Penicillium* spp; *Trichoderma* spp, *Chyso sporium xerophilum*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus* spp; y especies del género *Mucor*. De los mencionados solo *Trichothecium roseum*, *Penicillium* spp y *Aspergillus* spp, producen micotoxinas.

**Palabras clave:** Aroma, hongos y levaduras, humedad, micotoxinas, temperatura.

**Abstract:** Drying time in food determines subsequent acceptance as food for human consumption. In this study the effect of drying time in the physical-chemical, sensory and microbiological characteristics of *Apis mellifera* bee pollen was determined. In addition, the compliance with the provisions of Salvadorian Rule on pollen was evaluated. The drying temperature employed was  $45 \pm 1$  °C, and drying times were five, seven and nine hours of drying and a control (zero hours). Analyses were weight loss, moisture, pH, % crude protein, counts of molds and yeasts, isolation and identification of molds and sensory analysis based on a hedonic five points scale Appearance, color, aroma and general acceptance attributes were evaluated. It was concluded that 9 hours drying pollen reached  $12.46 \pm 1.46\%$  moisture, loses weight  $17.53 \pm 1.98\%$  and decreases attribute acceptance of aroma in pollen. Based on costs, 5 hours of drying should be applied because regardless if five is used or up to 9 hours of drying the limits set by the Salvadorian Standard on pollen (<300 UFC/g) are met, but in both cases did not reach the moisture percentage (<4%). The molds found in pollen were: *Trichothecium roseum*, *Penicillium* spp; *Trichoderma* spp, *Chyso sporium xerophilum*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus* spp; and species of the genus *Mucor*. Only those mentioned *Trichothecium roseum*, *Penicillium* spp and *Aspergillus* spp, produce mycotoxins.

**Key words:** Aroma, fungi and yeast, moisture, mycotoxins, temperature.

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros y Anexos.....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>16</b>
<b>5. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>17</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>18</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>22</b>

## ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

### Cuadros Página

1. Descripción de tratamientos.....	6
2. Análisis físico de Pérdida de peso. ....	7
3. Análisis físico de Color en la escala L*a*b*. ....	8
4. Análisis químico de Humedad (%).....	9
5. Análisis químico de Proteínas (%).....	10
6. Análisis químico de pH.....	10
7. Análisis microbiológicos: Hongos y levaduras.....	11
8. Identificación de hongos encontrados en el polen. ....	12
9. Análisis sensorial del atributo Apariencia. ....	13
10. Análisis sensorial del atributo Color.....	14
11. Análisis sensorial del atributo Aroma. ....	14
12. Análisis sensorial del atributo Aceptación general. ....	15

### Anexos Página

1. Hoja de evaluación del análisis sensorial. ....	22
2. Analisis de correlacion entre los parametros fisicoquimicos.....	23
3. Análisis de correlación entre los parámetros sensoriales.....	24
4. Características microscópicas de los grupos de hongos encontrados en polen. ....	24
5. Características morfológicas de las colonias de hongos en polen. ....	25

## 1. INTRODUCCIÓN

El manejo de las abejas es una práctica que deja diversos beneficios de tipo alimenticio (miel y polen) y medicinal (miel, polen y propóleos). Las abejas *mellifera* son una especie de abejas que pertenecen al género *Apis*, las cuales son abejas sociales que almacenan grandes cantidades de miel (FAO 2005). Igualmente, estas abejas hacen un gran trabajo con sus patas para dar forma a lo que se conoce como polen de abejas. Las abejas se alimentan de ese polen, debido a que es su fuente natural de proteínas (Mesa 2015).

El polen es considerado el gametofito masculino de las flores. Igualmente, es clasificado como alimento y cuyo proceso es regido por normas nacionales dependiendo de cada país o región (Campos *et al.* 2008). Dicho producto, pasa por un delicado proceso de aglomeración y estabilización por secado, lo cual le da gran valor comercial (Salamanca *et al.* 2011a). El polen está compuesto por proteínas, lípidos, azúcares reductores, fibra, minerales, aminoácidos esenciales, compuestos fenólicos y vitaminas. La composición del polen, varía dependiendo del origen botánico, lo que hace de este producto, un alimento esencial en la dieta de los humanos (Campos *et al.* 2008).

En ciertas partes del mundo el secado del polen se hace al sol, y este proceso resulta un problema debido a que se necesitan largas horas de exposición y puede terminar su proceso lleno de polvo y bacterias (Ibarra *et al.* 2007). El secado adecuado que mantiene las características fisicoquímicas y nutricionales del polen es a una temperatura de 45 °C. Igualmente, con dicha temperatura se pierde mayor humedad, alcanzando niveles de 7-8% (Barajas *et al.* 2012).

La norma salvadoreña sobre el polen de abeja establece que dicho producto deshidratado es el que ha sido sometido a un proceso de secado a una temperatura no superior a 42 °C y con un contenido de humedad no superior al 4% (CONACYT 2005). La norma chilena sobre polen, establece que el secado se realiza con corriente de aire caliente a temperatura menor o igual que 45 °C y humedad final menor o igual que 10% (CTP 2011).

En el 2015, Castillo evaluó tiempos de secado en polen (cero, uno, tres y cinco horas) y determinó que el tiempo de secado influye significativamente en la reducción del porcentaje de humedad y aumenta su pérdida de peso. No obstante, demostró que solo el tiempo de secado de 5 horas lograba cumplir con los límites permitidos en cuanto a coliformes totales. Los tiempos de secado utilizados no influyeron significativamente en la reducción del conteo de mesófilos aerobios y de hongos y levaduras. Sin embargo, el conteo de mesófilos aerobios si cumplió con los límites establecidos en la norma salvadoreña sobre polen.

Según Peña *et al.* (2011), el secado del polen ayuda a la disminución de la microbiota del polen. Atendiendo a esta consideración, la importancia de secar el polen radica en la disminución del porcentaje de humedad, responsable del crecimiento de bacterias, y hongos y levaduras (Ibarra *et al.* 2007). Este estudio es de importancia para la industria apícola porque generó información sobre tiempos de secado para la conservación de la calidad e inocuidad del polen.

Los objetivos de este estudio fueron:

- Determinar el efecto del tiempo de secado en las características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas del polen de abejas *Apis mellifera*.
- Estimar el tiempo de secado del polen que permita cumplir con los estándares legales de la norma salvadoreña.
- Identificar los hongos aislados de las diferentes muestras de polen.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación del estudio.** Las muestras de polen fueron recolectadas en el departamento de El Paraíso en el oriente de Honduras, durante la cosecha de mayo del 2016. Los análisis fisicoquímicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ), los análisis microbiológicos en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ) y los análisis sensoriales en el Laboratorio de Análisis Sensorial de Zamorano. Los laboratorios que sirvieron para la realización de los análisis forman parte del Departamento de Agroindustria Alimentaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Departamento de Francisco Morazán, ubicada a 32 km al sureste de Tegucigalpa, Honduras.

**Toma de muestra.** El polen fue almacenado a temperatura entre 5 y 10 °C. Se tomaron tres muestras al azar de diferentes bolsas y de diferentes apiarios, pero de la misma cosecha, mismo productor y sistema de cosecha. El tamaño de cada muestra fue de  $420 \pm 10$  g. Las muestras de polen una vez limpiadas se pesaron (304 g) para su posterior secado. La distribución por tratamiento fue de 76 g, o sea cuatro tratamientos. Se colocaron 11 g de polen de cada tratamiento en frascos de vidrio debido a que el polen es un producto higroscópico. Dicha cantidad sirvió para el análisis microbiológico. La cantidad de muestra restante se dispuso para los análisis fisicoquímicos y sensoriales.

**Secado de muestra.** Para el secado se utilizó un horno deshidratador de alimentos, Excalibur 3900 series. Se colocaron láminas de papel encerado sobre las bandejas con malla plástica, para evitar el contacto directo del polen con las bandejas. Sobre el papel encerado, se colocó una capa fina de polen de aproximadamente 1 cm de grosor, para aumentar el área de contacto y el secado se dé homogéneo. La temperatura de secado fue de  $45 \pm 1$  °C y el tiempo de secado de las diferentes muestras fue de cinco, siete y nueve horas según cada tratamiento.

**Análisis físicos.**

**Pérdida de peso.** Este parámetro fue expresado en porcentaje (%) y se utilizó el método señalado por la norma del Codex Stan 249, empleado para fideos y cereales (FAO y OMS 2007) (Ecuación 1).

$$(\%) = [(P_i - P_f) \div P_i] \times 100 \quad [1]$$

En donde:

P<sub>i</sub>: peso inicial de la muestra

P<sub>f</sub>: peso final de la muestra

**Color.** Se utilizó el colorímetro marca Hunter L\*a\*b\* modelo Color Flex. Las lecturas obtenidas representan un valor para cada eje, lo cual puede detectar las diferencias de la muestra en su coloración, claridad y tonalidad. El eje \*L representa la luminosidad y va de (0 a 100) o sea de negro a blanco, respectivamente. El eje a\* cuantifica el color -80 y corresponde a verde, 80 corresponde a rojo y 0 es el neutro. El eje b\* cuantifica el color -80 y corresponde a azul y 80 corresponde a amarillo (Wrolstad y Smith 2010). Aquellos casos en los que a\* = b\* = 0 son acromáticos; por eso el eje \*L representa la escala acromática de grises que va de blanco a negro.

### **Análisis químicos.**

**Porcentaje de humedad.** Se utilizó el método, humedad por horno de convección, basado en el método 100-105 °C AOAC 945.15/950 (Latimer 2012). Se pesaron las muestras en una balanza analítica OHAUS, 3 ± 0.005 g y se colocaron en los crisoles y fueron trasladadas al horno (Fisher Scientific) que trabaja a 105 °C por 24 horas. Pasadas las 24 horas, se dejaron enfriar los crisoles en un desecador hasta lograr un peso constante, luego se pesaron nuevamente las muestras y los resultados de humedad se expresaron en porcentaje (%). (Codex Alimentarius 2000) (Ecuación 2).

$$(\%) = (C+MH) - (C+MS) / (C+MH) - (C) \times 100 \quad [2]$$

En donde:

C: Crisol Seco

C + MH: Crisol + Muestra Húmeda

C + MS: Crisol + Muestra Seca

**pH.** Se utilizó un potenciómetro marca Sper Scientific Large Display pH Pen para medir pH. La medición se hizo basado en el procedimiento descrito en los métodos oficiales de análisis de la AOAC International: método número 981.12 (AOAC 2005).

**Proteína cruda AOAC 2011.11.** Se midió con el método Kjeldahl, dicho método se divide en tres partes: digestión, destilación y titulación. Los reactivos utilizados para cada una de las partes del método fueron: ácido sulfúrico, amoníaco, y ácido clorhídrico, respectivamente (Persson 2008). Las cantidades gastadas de ácido clorhídrico equivalen aproximadamente al porcentaje de nitrógeno contenido en la muestra (Ecuación 3) el cual

se dividió por el peso de la muestra y se multiplicó por un factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6.25 y por 100 para expresarlo en porcentaje (Ecuación 4).

$$P2 = N \times V \times 14.007 \quad [3]$$

$$\% \text{ Proteínas} = P2 \div P0 \times 100 \times F \quad [4]$$

En donde:

N= Normalidad del ácido de valoración.

V = Volumen de ácido clorhídrico consumido.

14.007 = Peso atómico del nitrógeno.

P2= Nitrógeno (mg).

P0: Peso de la muestra (mg).

F: Factor proteínico.

(6.25 por defecto)

(Santiago 2011)

### **Análisis microbiológicos.**

**Hongos y levaduras.** Para la determinación de hongos y levaduras se utilizó la norma oficial mexicana NOM-111-SSAL-1994, Bienes Y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos (SSA 1995). Se pesaron 7.02 g en la balanza digital “Fisher Science Education” (SLF 152-US) del medio “Potato Dextrose Agar” (PDA) y se diluyeron en 180 mL de agua destilada. Se prosiguió a medir el pH en el potenciómetro “Thermo Scientific Orion 5 Star” y se ajustó a  $5.56 \pm 0.2$ , una vez ajustado el pH se colocó el medio en el agitador magnético, hasta que este hirviera y se introdujo en una autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 50 minutos. Una vez esterilizado se colocó el medio en el baño maría para evitar la solidificación. Se añadió 1 mL de ácido tartárico al 10% por cada 100 mL de medio PDA preparado. Se colocaron los platos Petri inoculados en la incubadora a  $25^\circ\text{C}$  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 a fin de totalizar el número de colonias encontradas en las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ . Se expresaron los resultados en UFC/g.

Los resultados microbiológicos obtenidos se compararon con los parámetros legales señalados en la norma salvadoreña, emitida por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT 2005).

Una vez contados todos los hongos se conservaron a temperaturas de refrigeración para paralizar su crecimiento. Los hongos encontrados se seleccionaron y se aislaron en un Agar Malta, para su posterior identificación a la semana de haber sido sembrado (Samsom *et al.* 2010). La identificación se hizo basada en las características morfológicas de las colonias.

Se tomó con un aza estéril una pequeña parte del tejido fungoso para hacer el montaje en un portaobjetos a la que se le adicionó una gota de azul de lactofenol para hacer la tinción y facilitar así la observación de las estructuras. Una vez hecho el montaje se cubrió con un cubreobjetos y se observó en el microscopio (Olympus CH-30) con una cámara integrada (Motic 3MP) a 10 y 40X, con la ayuda del software “Motic Images Plus 2.0”.

Las características observadas al microscopio fueron micelio sin o con pocos tabiques, a menudo amplio; esporas asexuales en su mayoría formados endógenamente en esporangios, además micelio con tabicación regular; esporas asexuales o sexuales que no se formaban en los esporangios. Las características descritas sirvieron como árbol de decisión para determinar en qué división se encontraban los hongos identificados. Dichas características pertenecen al grupo de los Zigomicetos. Por su parte, otras esporas asexuales (conidios) producidos a partir de células especiales (células conidiógenas), fueron observadas, también esporas sexuales formadas en ascas o en basidios, dichas cualidades son característica del grupo de los Deuteromicetos (Samsom *et al.* 2010).

### **Análisis sensorial.**

**Prueba afectiva de aceptación.** Se evaluó mediante una prueba afectiva de aceptación basada en la determinación de los atributos de apariencia, color, aroma y aceptación general. Se usó una escala hedónica de 5 puntos, donde 1 correspondió a me disgusta extremadamente y 5 a me gusta extremadamente. Para este análisis se contó con la colaboración de 25 panelistas no entrenados a quienes se les entregaron las muestras de polen al azar para evitar sesgo entre los ellos.

**Diseño experimental.** Para evaluar cómo afectó el tiempo de secado en las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del polen de abeja *Apis mellifera*, se analizaron los resultados mediante un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con un nivel de significancia del 5%. Se evaluaron tres tratamientos y un testigo con tres repeticiones, para un total de 12 unidades experimentales en el estudio (cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de tratamientos.

<b>Horas de secado</b>	<b>Tratamientos</b>
0	Testigo
5	TRT 2
7	TRT 3
9	TRT 4

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA), usando un modelo lineal (GML) del programa de evaluación estadístico “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.4). Se utilizó una separación de medias TUKEY.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Resultados de análisis físicos.

**Pérdida de peso.** Se demostró que si hay diferencias estadísticas significativas en pérdida de peso ( $P = 0.0001$ ) (Cuadro 2). En el 2015, Castillo demostró que a medida que aumentaba las horas de secado, aumentaba la pérdida de peso, siendo sus horas de secado una, tres y cinco horas. Según Salamanca *et al.* (2011b), el polen sometido a temperaturas de 45 °C sufre una pérdida de humedad que oscila entre 9.20 y 16.6%.

Cuadro 2. Análisis físico de Pérdida de peso.

Horas de secado	(%) $\pm$ D.E.
0	0.00 $\pm$ 0.00 b
5	15.56 $\pm$ 0.97 a
7	16.43 $\pm$ 1.73 a
9	17.53 $\pm$ 1.98 a
%C.V.	11.58

a-b = Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

Al aplicar 9 horas de secado, por cada 76 g de polen fresco el 17.53  $\pm$  1.98% se pierden en el secado o sea 13.32 g. El costo de la pérdida equivale a L. 5.86, equivalente a USD. 0.255. Mientras tanto, al aplicar 5 horas de secado, por cada 76 g se pierden 15.56  $\pm$  0.97% que representan 11.82 g. El costo de dicha pérdida L. 5.20, equivalente a USD. 0.226. Tasa cambiaría al 19/09/2016 de L. 22.98 por cada dólar.

La pérdida de peso no solo está influenciada por la pérdida de humedad ya que Baldi *et al.* (2004), demostraron que mientras más rápida sea la exposición a secado se produce un endurecimiento de la capa externa del gránulo y la humedad queda atrapada en las capas inferiores. Por ello, se hace necesario evaluar la destrucción de componentes fotosensibles, las pérdidas en componentes nutricionales y la pérdida de componentes volátiles.

**Color.** Independiente del tratamiento aplicado no hubo diferencias estadísticas en color en la escala de los valores  $a^*$  y  $b^*$  ( $P > 0.05$ ) pero sí en la escala para el valor  $L^*$  ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 3). El color del polen depende principalmente del origen botánico (Telleria y Sarasola 2003). En un estudio realizado en Venezuela sobre la composición química del polen basado en color encontraron que el color del polen varía dependiendo los meses de recolección del mismo. Además, el color de una pelotita de polen depende de la especie de planta donde la abeja ha recolectado ya que una pelotita puede contener hasta cien mil granos de polen apelmazados con néctar y saliva y de diferentes especies con un peso promedio de 15 mg (Vit y Santiago 2008).

En la escala del valor  $L^*$  (0 a 100) de negro a blanco respectivamente. Los tratamientos presentaron valores  $L^*$  casi intermedios, lo que demuestra que el polen analizado tenía tonalidades no tan claras ( $F = 1.62$ ;  $P = 0.0001$ ;  $g.l = 5$ ) (Cuadro 3). En el 2015, Castillo también encontró que los valores en  $L^*$  fueron intermedios sin ninguna diferencia estadística entre los tratamientos.

Cuadro 3. Análisis físico de Color en la escala  $L^*a^*b^*$ .

Horas de secado	$L^*$	$a^*$	$b^*$
	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.
0	44.25 $\pm$ 3.60 ab	11.39 $\pm$ 0.26 a	33.19 $\pm$ 3.87 a
5	44.31 $\pm$ 2.64 ab	10.94 $\pm$ 0.79 a	33.37 $\pm$ 2.52 a
7	43.74 $\pm$ 3.20 b	11.37 $\pm$ 0.16 a	33.01 $\pm$ 2.80 a
9	44.57 $\pm$ 3.37 a	11.27 $\pm$ 0.78 a	34.06 $\pm$ 2.89 a
%C.V.	1.06	2.86	2.16

a-b = Medias seguidas con letra diferente en misma columna son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

La norma salvadoreña sobre Polen establece que el polen puede presentar las siguientes coloraciones: blanco, negro, amarillo, naranja, rojo, verde y violeta, variando tonalidad conforme su origen botánico (CONACYT 2005). El color en polen está determinado por la presencia de pigmentos como: flavonoides y carotenoides (Saavedra *et al.* 2013).

En la escala del valor  $a^*$  (-80 a +80) de verde a rojo respectivamente. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 3). Los tratamientos presentaron valores positivos lo que indica que el polen presentó gránulos de color rojo- anaranjado. El color rojo está relacionado con la cantidad de flavonoides (Saavedra *et al.* 2013).

En la escala del valor  $b^*$  (-80 a +80) de azul a amarillo respectivamente. Al igual que en el valor  $a^*$ , no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos, o sea el color amarillo indicado por los valores positivos ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 3) no se vio afectado por el tiempo de exposición en secado. Por su parte el color amarillo- anaranjado en polen está asociado con la cantidad de carotenoides (Saavedra *et al.* 2013).

## Resultados de análisis químicos.

**Humedad.** En el cuadro 4 se puede observar que existe una diferencia significativa entre secar y no secar polen. Sin embargo, da igual secar a cinco, siete o nueve horas, ya que estadísticamente dichos tratamientos son iguales. Ninguno de los tratamientos cumplió con lo establecido en la norma salvadoreña sobre polen que establece: El polen deshidratado debe contener 4% de humedad después de haber sido secado (CONACYT 2005).

Existe un agua no deseada en el polen que esta químicamente retenida y para su eliminación el secado no es el método apropiado (Gergen *et al.* 2004). Aunado a lo anterior, en este estudio, se puede especular que el polen al alcanzar 5 horas de secado elimina toda el agua libre, quedando consigo el agua químicamente retenida, razón por la cual pudo deberse el no encontrar diferencias estadísticas entre los tratamientos cinco, siete y nueve horas de secado.

Cuadro 4. Análisis químico de Humedad (%)

Horas de secado	(%) $\pm$ D.E.
0	13.51 $\pm$ 1.89 a
5	13.44 $\pm$ 2.58 a
7	13.10 $\pm$ 2.16 ab
9	12.46 $\pm$ 1.56 b
%C.V.	3.41

a-b = Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).  
D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

En el 2008, Leyva *et al* demostraron que aplicando un proceso de secado a 40 °C por 24 horas se alcanzan niveles de humedad en un rango de (7.9 a 16.1%) en polen. Sin embargo, el promedio de humedad encontrado por Callejas (2006), en un estudio donde evaluó las características fisicoquímicas del polen de 5 departamentos de Honduras, encontró que el polen de El Paraíso tenía 12.19% de humedad después de haber sido sometido a un proceso de secado de 42 a 45 °C, aunque no especifica las horas de exposición.

**Proteína.** Independientemente del tratamiento aplicado no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos ( $P = 0.0561$ ) en el contenido de proteínas (Cuadro 5). Existe una correlación positiva (0.6567 y  $P = 0.0203$ ), entre el pH y el porcentaje de proteínas en el polen lo que indica que a medida que aumenta el pH aumenta el porcentaje de proteínas.

Las proteínas están compuestas de aminoácidos y poseen un grupo funcional carboxilo y un grupo amino, ácido débil y base débil respectivamente, la carga de estos aminoácidos varía en función del pH del medio (Gonzales 2012). No obstante, mediante un análisis proximal hecho a tres muestras de polen de diferentes lugares, Salamanca *et al.* (2008),

mostró que el polen con mayor pH contenía mayor cantidad de proteínas, con valores de pH: 5.45, 5.82 y 6.30 y 16.2, 17.1 y 17.8 de proteínas, respectivamente.

Cuadro 5. Análisis químico de Proteínas (%)

<b>Horas de secado</b>	<b>(%) ± D.E.</b>
0	17.22 ± 1.00 a
5	16.51 ± 0.46 a
7	16.81 ± 0.30 a
9	16.96 ± 0.92 a
%C.V.	2.59

a = Medias seguidas con letras iguales son estadísticamente iguales (P>0.05).

D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

**Análisis de pH:** No hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (P = 0.0771) (Cuadro 6). Independientemente del secado todos los tratamientos cumplieron con lo establecido en la norma salvadoreña sobre polen en cuanto a pH: rango de pH de (4-6) (CONACYT 2005). Los resultados de este estudio coinciden con los resultados de Castillo (2015), quien encontró que a 5 horas de secado el pH del polen era 4.60 (Cuadro 6). El polen seco presenta valores de pH de 4.2-5.2 (Salamanca *et al.* 2008).

Cuadro 6. Análisis químico de pH.

<b>Horas de secado</b>	<b>Media ± D.E.</b>
0	4.56 ± 0.06 a
5	4.60 ± 0.04 a
7	4.61 ± 0.05 a
9	4.61 ± 0.08 a
%C.V.	0.46

a = Medias seguidas con letra iguales son estadísticamente iguales (P>0.05).

D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

La variación de la temperatura afecta directamente a la constante de disociación del agua, por lo tanto, el cambio en la temperatura genera variación en la concentración de iones de hidronio (Jiménez 2000). En este estudio, debido a que la temperatura de secado fue constante podría no causar cambios significativos en pH.

### **Resultados de análisis microbiológicos.**

**Hongos y levaduras:** Hubo una diferencia significativa entre cero y nueve horas de secado del polen en cuanto a hongos y levaduras (Cuadro 7). Lo anterior indica que tuvo efecto el tiempo de secado sobre la disminución en el conteo de hongos y levaduras a las 9 horas de

secado. Sin embargo, todos los tratamientos cumplieron con lo establecido en la norma salvadoreña sobre polen: 300 UFC/g equivalente a 2.477 Log UFC/g (CONACYT 2005).

Cuadro 7. Análisis microbiológicos: Hongos y levaduras

<b>Horas de secado</b>	<b>Log UFC/g ± D.E.</b>
0	2.42 ± 0.14 a
5	2.35 ± 0.16 ab
7	2.25 ± 0.15 ab
9	2.21 ± 0.05 b
%C.V.	4.88

a-b = Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

Contrario a los resultados encontrados en este estudio, Castillo (2015) en su estudio, determinó que no había diferencias significativas entre los tratamientos después de secar el polen a una, tres y cinco horas. Dichos resultados son atribuidos a las condiciones de almacenamiento, cosecha, manipulación antes y después del secado, tiempos de secado aplicados o a la inexperiencia del analista.

En el 2008, Leyva *et al* en un estudio sobre la evaluación microbiológica del polen seco, demostraron que 20 de 28 muestras de polen analizadas no presentaron decremento en la cantidad de hongos y levaduras después de haber sido secadas a 40 °C por 24 horas. Lo que indica que la reducción microbiana en cuanto a hongos y levaduras no se logró al igual que este estudio que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos de secado aplicados. La calidad microbiológica del polen está basada en la humedad relativa y su porcentaje de humedad (Salamanca *et al.* 2008). Según Leyva *et al.* (2008), el polen para mantener su calidad microbiológica debe conservarse seco, ya que la reducción de la humedad influye en el crecimiento de bacterias y hongos, tales como los que se describen en el cuadro 8.

En el 2008, Salamanca *et al* aislaron hongos en polen e identificaron que entre los agentes que causan más problemas debido a la humedad son: *Aspergillus flavus*; *Aspergillus ochraceus*; *Aspergillus niger*; *Aspergillus clavatus*; *Penicillium* spp; *Fusarium* spp; *Aspergillus parasiticus* y especies del género *Mucor*. Los hongos encontrados en este estudio son similares a los encontrados por Salamanca *et al.* (2008), a diferencia de: *Trichothecium roseum*, *Trichoderma* spp, *Chysosporium xerophilum*, *Rhizopus oryzae*.

Cuadro 8: Identificación de hongos encontrados en el polen.

Hongos identificados	Generalidades
<i>Trichothecium roseum</i>	Deuteromicetos. Se encuentran en el suelo, productos en descomposición y productos como cereal. Producen toxinas.
<i>Penicillium spp.</i>	Deuteromicetos. Se encuentra en el suelo vegetación y en el aire. Producen micotoxinas y compuestos alergénicos.
<i>Trichoderma spp.</i>	Deuteromicetos. Se encuentra en todos los suelos agrícolas y las maderas próximas a podrirse. No producen micotoxinas.
<i>Aspergillus spp.</i>	Deuteromicetos. Se encuentra mayormente en alimentos commodities, como granos básicos. Produce micotoxinas.
<i>Chrysosporium xerophilum</i>	Deuteromicetos. Se encuentra mayormente en frutas secas y en chocolates. No produce micotoxinas.
<i>Rhizomucor mieheu</i>	Zigomicetos. Se encuentra en los pastos y el compost. Es un coagulante natural. No produce micotoxinas.
<i>Rhizopus oryzae</i>	Zigomicetos. Se encuentra en el suelo, maní, agua contaminada vegetales y frutas en descomposición. No produce micotoxinas.
<i>Mucor spp.</i>	Zigomicetos. Mayormente se encuentra en el suelo, estiércol, papas en descomposición, en animales y humanos. No produce micotoxinas.

(Samsom *et al.* 2010)

La familia de los Deuteromicetos son llamados los hongos imperfectos. Son contaminantes transportados por el aire con propagación anamórfica que producen conidios especializados no móviles y de reproducción asexual (Samsom *et al.* 2010).

Según Gallego y Sanchez (2011), la familia de los Zigomicetos se caracteriza por poseer hongos ubicuos, los cuales producen podredumbre en alimentos sobre todo en aquellos que contienen un alto contenido de humedad. Los Zigomicetos poseen un esporangióforo (micelio) unido a un esporangio (saco de esporas) que le dan la capacidad de reproducirse asexualmente ya que dichas esporas no poseen flagelos.

### Resultados de análisis sensoriales.

**Apariencia.** Independientemente del tratamiento aplicado no hubo diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ) para la aceptación del atributo apariencia (Cuadro 9). Este resultado es contrario a otros estudios que demuestran que el polen al ser evaluado con tratamientos

de secado de menor tiempo (una, tres y cinco horas), los panelistas, aunque no sean entrenados encuentran diferencias significativas en cuanto a este atributo (Castillo 2015). Existe una correlación media positiva (0.6042 y  $P = 0.001$ ) entre apariencia y color. Por lo tanto, a medida que aumenta la valoración en la percepción del color por los panelistas, aumenta la valoración de la apariencia y viceversa. Tal es el caso que los panelistas le dieron la misma valoración a la apariencia y al color, atributos que les gustaron moderadamente.

Cuadro 9. Análisis sensorial del atributo Apariencia.

<b>Horas de secado</b>	<b>Media <math>\pm</math> D.E.</b>
0	3.68 $\pm$ 0.79 a
5	3.76 $\pm$ 0.81 a
7	3.73 $\pm$ 0.88 a
9	3.87 $\pm$ 0.88 a
%C.V.	18.96

a = Medias seguidas con letras iguales son estadísticamente iguales ( $P > 0.05$ ).

D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación

El no encontrar diferencias en este estudio pudo deberse a que el polen a las cinco horas ya había perdido toda el agua libre que contenía. Dicha agua se encuentra ligada a compuestos orgánicos volátiles que afectan directamente al color (flavonoides y carotenoides) y que se eliminan al secar lo que redujo la percepción de los panelistas. La apariencia en polen está basada en la evaluación de la heterogeneidad de los granos y sus diferentes formas y tamaños, pero principalmente esféricas (Campos *et al.* 2008).

Los panelistas podrían haber visto muestras de polen estandarizadas porque a primera vista se observa una mezcla de colores en las muestras de polen. El color se vuelve importante al evaluar apariencia porque a menudo comemos con los ojos (Lepore y Dahl 2012). A los panelistas les gusto moderadamente el atributo apariencia en polen.

**Color.** Los panelistas no encontraron diferencias entre los tratamientos en cuanto a la evaluación de color. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $P = 0.7000$ ) (Cuadro 10). En el 2015, Castillo en su estudio tampoco encontró diferencias en la evaluación de color, el no encontrar diferencias estadísticas significativas en este estudio pudo deberse, a que los panelistas vieron varias mezclas de colores en cada muestra de polen que a la vista de ellos les parecieron iguales todas las muestras evaluadas. A los panelistas les gustó moderadamente el color del polen.

La percepción de color del ojo humano está dominada por la retina que posee conos y bastones, los 6 a 7 millones de bastones concentran su atención en el color amarillo (Williamson y Cummins 2015). El polen posee color amarillo en diferentes tonalidades, las cuales varían dependiendo la vegetación y la composición química (Prado 2005). Según el mismo autor antes mencionado, las tonalidades del polen de El Paraíso, Honduras, van de amarillo naranja a amarillo crema, evaluado en la guía universal del color PANTONE 747XR. Lo anterior puede estar relacionado con que los panelistas centraron su atención en

el color amarillo predominante que posee el polen de El Paraíso, y no, en la distribución de tonalidades que presenta en base a su origen botánico. Dentro de ese marco no encontraron diferencias entre los tratamientos.

Cuadro 10. Análisis sensorial del atributo Color.

<b>Horas de secado</b>	<b>Media ± D.E.</b>
0	3.85 ± 0.82 a
5	3.69 ± 0.94 a
7	3.76 ± 0.83 a
9	3.73 ± 0.91 a
%C.V.	18.32

a = Medias seguidas con letras iguales son estadísticamente iguales (P>0.05).

D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

**Aroma.** Según el Cuadro 11, los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas en la aceptación del aroma del polen (P=0.0041). Los panelistas prefirieron el primer tratamiento que no había sido sometido a ningún tiempo de secado. En el 2004 Baldi *et al*, demostraron que de 37 muestras de polen refrigerado a temperaturas de 2-4 °C, un 86.5% presentaron un olor agradable y persistente y que solo un 13.5% de las muestras presentaron un olor desagradable. Atendiendo a esta consideración al secar polen, el aroma es menos percibido por los panelistas.

Cuadro 11. Análisis sensorial del atributo Aroma.

<b>Horas de seca</b>	<b>Media ± D.E.</b>
0	4.14 ± 0.80 a
5	3.60 ± 0.88 b
7	3.65 ± 0.98 b
9	3.49 ± 1.06 b
%C.V.	21.44

a-b = Medias seguidas con letra diferente son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

El polen en su composición contiene azúcares reductores y aminoácidos esenciales (Campos *et al*. 2008). No obstante, el secado induce la disminución de la cantidad de alcoholes y ácidos presentes en un alimento (Portillo *et al*. 2009). Partiendo del supuesto anterior, existe una diferencia entre secar y no secar polen y dicha diferencia es percibida por los panelistas al evaluar el atributo aroma (Cuadro 11).

En el 2004, Gergen *et al* confirmaron que parte del agua contenida en el polen después de un proceso de secado se encuentra ligada a compuestos polares que sufren descomposición

a altas temperaturas y las sustancias aromáticas se evaporan. Esta evidencia se comprueba con los resultados obtenidos en el Cuadro 10, donde el polen sin secar presentó mayor valoración por los panelistas debido a que contenía mayor humedad y consigo sustancias aromáticas, al secar el polen dichas sustancias se evaporaron y el polen fue menos valorado en cuanto al aroma. A los panelistas les gustó extremadamente el tratamiento sin secar a diferencia de los secados que les gustó moderadamente.

**Aceptación general.** Los resultados del cuadro 12, demuestran que los panelistas independientemente del tratamiento evaluado no encontraron diferencias estadísticas significativas en la aceptación de los tratamientos ( $P = 0.3935$ ). Estos resultados son contrarios a los resultados del estudio realizado por Castillo (2015), que demuestran que los panelistas dan mayor valor al polen seco (una, tres y cinco horas de secado), que al polen fresco (cero horas de secado). Según este estudio, desde un punto de vista generalizado a los panelistas les gusta moderadamente el producto y cero horas de secado no influyó en la aceptación del polen.

Cuadro 12. Análisis sensorial del atributo Aceptación general.

<b>Horas de secado</b>	<b>Media <math>\pm</math> D.E.</b>
0	3.84 $\pm$ 0.76 a
5	3.63 $\pm$ 0.67 a
7	3.69 $\pm$ 0.75 a
9	3.74 $\pm$ 0.86 a
%C.V.	16.45

a= Medias seguidas con letras iguales son estadísticamente iguales ( $P > 0.05$ ); D.E. = Desviación estándar; %C.V. = Coeficiente de variación.

Existe una correlación media significativa (0.6239 a 0.6492 y  $P = 0.0001$ ) entre la aceptación general y los atributos evaluados, apariencia, color y aroma respectivamente. Lo anterior indica que a medida que los panelistas le dan una mayor valoración a los atributos mencionados tendrán una mejor aceptación general por el polen. Estas pruebas son completamente subjetivas la evaluación de la aceptación general es el resumen de una buena o mala percepción de la apariencia, color, aroma y demás atributos que se evalúan en un alimento.

#### 4. CONCLUSIONES

- Los tiempos de secado de cinco, siete y nueve horas lograron cumplir con los límites establecidos por la norma salvadoreña sobre polen en cuanto a recuentos de hongos y levaduras, mas no en el porcentaje de humedad.
- Se determinó que 45°C por cinco horas es el óptimo tratamiento que asegura la vida útil del polen, ya que aunque no se logró cumplir con la norma salvadoreña, los límites encontrados cumplen con las normas Sudamericanas sobre polen.
- Se encontró que el secado disminuye la aceptación del atributo aroma en polen.
- Se concluyó que la norma salvadoreña sobre polen debe ser revisada, ya que es difícil cumplir con la norma en todos los parámetros especificados.
- En términos de costos es preferible secar polen solo durante 5 horas, porque se logra cumplir con los límites microbiológicos establecidos por la norma salvadoreña sobre polen.
- Los hongos identificados fueron: *Trichothecium roseum*, *Penicillium* spp; *Trichoderma* spp, *Chysosporium xerophilum*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus* spp; y especies del género *Mucor*. La mayoría no producen micotoxinas a excepción de *Trichothecium roseum*, *Penicillium* spp y *Aspergillus* spp, pero comprometieron la calidad del polen.

## **5. RECOMENDACIONES**

- Una vez seco, analizar lo más pronto posible el polen, ya que es un producto altamente higroscópico.
- Evaluar otros métodos de secado para determinar si se logra cumplir con los límites establecidos en cuanto a porcentaje de humedad.
- Evaluar diferentes muestras de polen que haya en el mercado, para determinar porcentaje de humedad y validar si está cumpliendo con el 4% tan estricto que especifica la norma salvadoreña sobre polen.

## 6. LITERATURA CITADA

AOAC (Association of Analytical Communities). 2005. Official methods of analysis 981.12. Quantitative Chemistry. pH of Acidified Foods. [internet]. 18th ed. India; FSSI. [consultado 2015 sept 30] <http://www.fssai.gov.in/Portals/0/Pdf/15Manuals/FRUITS%20AND%20VEGETABLES.pdf>

Baldi B, Grasso D, Chaves S, Fernandez G. 2004. Caracterización bromatológica del polen apícola argentino. Ciencia, Docencia y Tecnología [consultado 2016 ago 18] N° 25 - 145-181 p. [http://revistadyt.uner.edu.ar/pdfs/Cdt29\\_Baldi.pdf](http://revistadyt.uner.edu.ar/pdfs/Cdt29_Baldi.pdf)

Barajas J, Cortes M, Rodríguez E. 2012. Evaluación del efecto de la temperatura en el secado de polen apícola procedente de dos zonas de Cundinamarca. Portal de revistas UN. Vol. 78, núm. 165 (2011) /Barajas-Ortiz.

Callejas M. 2006. Desarrollo de la norma técnica para polen en Honduras. [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 15p.

Campos M, Bogdanov S, Bicudo L, Szczesna T, Mancebo Y, Frigerio C, Ferreira F. 2008. Pollen composition and standardization of analytical methods. Journal of Apicultural Research and Bee World 47(2): 156–163 p.

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. 28 p.

Codex Alimentarius. 2000. Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarias Comité del Codex Sobre los Azúcares. Norma para la Revisión del Codex para humedad de la Miel y Polen. Publicado el 11 de febrero del 2000. Londres y Reino Unido. Volumen 21. 38 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 2015 nov 20]. <http://faolex.fao.org/docs/pdf/els61998.pdf>

CTP (Comité Técnico Polen). 2011. Norma Chilena NCh3255-2011. [Internet]. Chile: INN (Instituto Nacional de Normalización); [consultado 2016 ago 28] [http://www.redagricola.com/sites/default/files/inn\\_polen.pdf](http://www.redagricola.com/sites/default/files/inn_polen.pdf),

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2005: La apicultura y los medios de vida sostenibles. [internet]. Roma: [consultado 2016 ago 17]. [http://teca.fao.org/sites/default/files/resources/Apicultura%20y%20los%20medios%20de%20vida%20sostenibles\\_0.pdf](http://teca.fao.org/sites/default/files/resources/Apicultura%20y%20los%20medios%20de%20vida%20sostenibles_0.pdf)

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), OMS (Organización Mundial de la Salud). Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. 2007. Codex Alimentarius. Cereales, legumbres, leguminosas, productos derivados y proteínas vegetales. 1a ed. Roma: Editorial WHO & FAO, 125 p.

Gallego E, Sánchez J. 2011. Sitio web de MYCO-UAL. [internet]. España: Servicio de Informática de la UAL (Universidad de Almería). [actualizado 2011 dic 2, consultado 2011 feb 12] <http://www.ual.es/GruposInv/myco-ual/zigos.htm>

Gergen I, Radu F, Bordean D, Isengard H. 2004: Determination of water content in bee's pollen samples by Karl Fischer titration. In G. Campbell-Platt ed. Food Control 17 (3). Unites States. [consultado 2016 sept 12]; Elsevier Journal. pp. 176–179. DOI: 10.1016/j.foodcont.2004.09.018.

Gonzales V. 2012. Aminoácidos. Propiedades ácido base. España: OCW (OpenCourseWare) de la USAL (Universidad de Salamanca); [consultado 2016 sept 3]. [http://ocw.usal.es/ciencias-biosanitarias/bioquimica-ph-equilibrios-acido-2013-base/contenidos/3%20AminoacidosPropiedadesAcidoBase\\_2012.pdf](http://ocw.usal.es/ciencias-biosanitarias/bioquimica-ph-equilibrios-acido-2013-base/contenidos/3%20AminoacidosPropiedadesAcidoBase_2012.pdf)

Ibarra E, Erazo J, Fernandez E. 2007. Modelamiento diseño y automatización de un modelo genérico de secador de polen. [Tesis]. Universidad de la Salle. Bogotá, D.C., Colombia. 170 p.

Jiménez A. 2000. Determinación de los parámetros físico-químicos de calidad de las aguas. Gestión Ambiental. [consultado 2016 sept 5]; vol. 2(23): 12-19 p. <http://ocw.uc3m.es/ingenieria-quimica/ingenieria-ambiental/otros-recursos-1/OR-F-001.pdf>

Latimer G. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. [consultado 2016 sept 5] 19th edition. Gaithersburg, Maryland, USA, AOAC International. [http://www.aoac.org/aoac\\_prod\\_imis/AOAC/Publications/Official\\_Methods\\_of\\_Analysis/AOAC\\_Member/Pubs/OMA/AOAC\\_Official\\_Methods\\_of\\_Analysis.aspx?Uhkey=5142c478-ab50-4856-8939-a7a491756f48](http://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC/Publications/Official_Methods_of_Analysis/AOAC_Member/Pubs/OMA/AOAC_Official_Methods_of_Analysis.aspx?Uhkey=5142c478-ab50-4856-8939-a7a491756f48)

Lepore J, Dahl W. 2012. La aceptabilidad sensorial de los alimentos en puré. [internet]. Florida, USA; UF/IFAS Extensión. [Actualizado 2016 ago; consultado 2016 sept 11] <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/FS/FS21600.pdf>

Leyva V, Del Risco C, Martino T, Puig Y, Machin M, Aportela N, Hernández I, Soto P, Ferrer Y, De los Reyes M, Camejo A. 2008. Evaluación microbiológica de polen seco. Revista Ciencias y Abejas. [consultado 2016 ago 30]. Argentina. Vol. II, No 65; 1-10 p. <http://www.apiculturaonline.com/campoyabejas.html>

Mesa A. 2015. Caracterización fisicoquímica y funcional del polen de abejas (*Apis mellifera*) como estrategia para generar valor agregado y parámetros de calidad al producto apícola. [Tesis]. Universidad Nacional de Colombia. 89 p.

Peña Y, Del Risco C, Álvarez V, Leiva V, García R. 2011. Comparación de la calidad microbiológica del polen apícola fresco y después de un proceso de secado. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 43, No. 1, pp. 23-27.

Persson J. 2008. Handbook for Kjeldahl digestion. 4th ed. Hilleroed, Denmark. CA Andersson, Malmoe, Sweden. [consultado 2016 jul 15]. ISBN 91-630-3471-9

Portillo E, Labarca M, Grazziani L, Cros E, Assemat S, Davrieux F, Boulange R, Marcano M. 2009. Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao L.*) en función del tratamiento pos cosecha en Venezuela. Revista Científica UDO Agrícola, Vol. 9, No. 2, 2009 pp. 458-468.

Prado, J. 2005. Caracterización físico-química y microbiológica del polen de abejas en cinco departamentos de Honduras. [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 77 p.

Saavedra K, Rojas C, Delgado G. 2013. Características polínicas y composición química del polen apícola colectado en Cayaltí (Lambayeque - Perú). Revista Chilena de Nutrición. [consultado 2016 ago 18]; Vol.40 no.1 [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000100011&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000100011&script=sci_arttext)

Salamanca G, Hernández A, Reyes M, Osorio P. 2011b. Extracción y beneficio del polen corbicular de la zona alto andina de Boyacá (Colombia). Tolima, Colombia. [Internet][consultado 2016 ago 18]. [https://www.researchgate.net/publication/230839713\\_EXTRACCION\\_Y\\_BENEFICIO\\_DEL\\_POLEN\\_CORBICULAR\\_DE\\_LA\\_ZONA\\_ALTOANDINA\\_DE\\_BOYACA\\_COLOMBIA](https://www.researchgate.net/publication/230839713_EXTRACCION_Y_BENEFICIO_DEL_POLEN_CORBICULAR_DE_LA_ZONA_ALTOANDINA_DE_BOYACA_COLOMBIA)

Salamanca G, Osorio M, Gutiérrez A. 2011a. Sistema trazable en el proceso de extracción y beneficio del polen corbicular colectado por *Apis mellifera L.* (Himenóptera: Apidae) en la zona Alto andina de Boyacá, Colombia. Zootecnia Trop. 2011, vol.29, n.1, pp. 127-138. ISSN 0798-7269.

Salamanca G, Pérez C, Vargas E. 2008. Origen botánico propiedades fisicoquímicas microbiológicas del polen colectado en algunas zonas apícolas de la campiña de Boyacá. [internet]. España: II Congreso Iberoamericano sobre Seguridad Alimentaria. [consultado 2016 ago 17]. <https://es.scribd.com/doc/13754321/Propiedades-fisicoquimicas-del-polen-Colombia>

Samsom R.A, Houbraeken J, Thrane U, Frisvad J.C, Andesen B. 2010. Food and Indoor Fungi. 2a ed. The Netherlands: CBS-KNAQ Fungal Biodiversity Centre. ISSN 18979-6877. 35-340 p.

Santiago F. 2011. Determinación de proteínas por el método de Kjeldahl. Notas de aplicaciones. Barcelona: [internet] [consultado 2016 ago 28] <http://www.grupo-selecta.com/notasdeaplicaciones/analisis-alimentarios-y-de-aguas-nutritional-and-water-analysis/determinacion-de-proteinas-por-el-metodo-de-kjeldahl-kjeldahl-method-for-protein-determination/>

SSA (Secretaría de Salud de Estados Unidos Mexicanos) 1995. Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. [internet]. [actualizado 2003 mar 4, consultado 2016 ago 29] <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>

Telleria I, Sarasola M. 2003. Análisis de polen corbicular recolectado durante los años 2002 y 2003 en los colmenares de estudio eco-etológico de oñati y goizueta. [internet]. España: Euskadi; [consultado 2016 ago 17] [http://www.euskadi.eus/contenidos/documentacion/eco\\_etologico\\_abejas/es\\_doc/adjuntos/analisis\\_polinico.pdf](http://www.euskadi.eus/contenidos/documentacion/eco_etologico_abejas/es_doc/adjuntos/analisis_polinico.pdf)

Vit P, Santiago B. 2008. Composición química de polen apícola fresco recolectado en el páramo de Misintá de los andes venezolanos. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. [consultado 2016 ago 8]; Vol. 58 N° 4, 2008. 411-415 p. <http://www.alanrevista.org/ediciones/2008/4/art-14/>

Williamson S, Cummins J. 2015. The rods and cones of the human eye. [Internet]. Georgia, USA: Hyperphysics (© C. R. Nave, 2010) GSU (Georgia State University). [actualizado 2015 sept 15, consultado 2016 sept 12] <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/vision/rodcone.html>.

Wrolstad R, Smith D. 2010. Color Analysis. S.S. Nielsen (Ed). Food Analysis. West Lafayette, IN, USA. Springer Science+Business Media, 4a ed. pp. 573-586.

## 7. ANEXOS

### Anexo 1. Hoja de evaluación del análisis sensorial.

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** marque con una X el espacio adecuado según su evaluación de las muestras 531, 242, 800 y 654 según su sabor y gusto general. En la escala, 1 significa extremadamente desagradable y 5 significa extremadamente agradable.

Muestra \_\_\_\_\_

	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Aceptación general					

Muestra \_\_\_\_\_

	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Aceptación general					

Muestra \_\_\_\_\_

	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Aceptación general					

Muestra \_\_\_\_\_

	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Aceptación general					

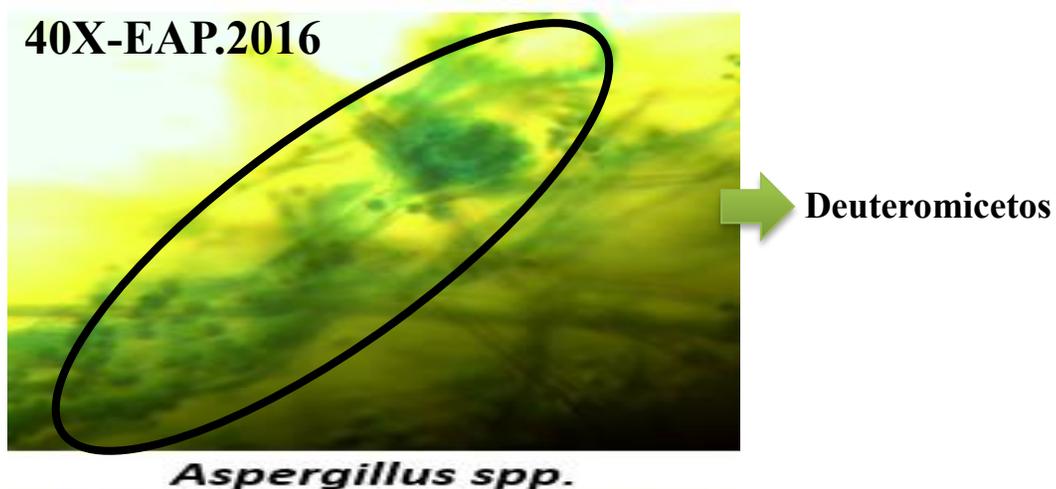
**Anexo 2.** Analisis de correlacion entre los parametros fisicoquimicos.

Pearson Correlation Coefficients, N = 12								
Prob >  r  under H0: Rho=0								
	L*	a*	b*	pH	PROTEINA	HUMEDAD	HONGOS Y LEVADURAS	PERDIDA DE PESO
L*	1	-0.8444	0.79401	-0.2420	-0.34728	0.52971	-0.56072	0.05018
		0.0005	0.002	0.4485	0.2687	0.0765	0.0579	0.8769
a*	-0.8446	1	-0.4209	-0.1256	0.11552	-0.77165	0.53513	-0.17962
	0.0005		0.173	0.6972	0.7207	0.0033	0.073	0.5764
b*	0.79401	-	1	-	-0.72592	-0.06243	-0.50648	0.01104
	0.002	0.42096		0.66602	0.0075	0.8472	0.0929	0.9728
pH	-0.2420	-0.1256	-0.6660	1	<b>0.65677</b>	0.43859	-0.0879	0.48694
	0.4485	0.6972	0.0181		<b>0.0203</b>	0.1538	0.7859	0.1084
PROTEINA	-0.3472	0.11552	-0.7259	<b>0.65677</b>	1	0.29475	0.31507	-0.16882
	0.2687	0.7207	0.0075	<b>0.0203</b>		0.3524	0.3185	0.5999
HUMEDAD	0.52971	-0.7716	-0.0624	0.43859	0.29475	1	-0.14259	0.00803
	0.0765	0.0033	0.8472	0.1538	0.3524		0.6584	0.9802
HONGOS Y LEVADURAS	-0.5607	0.53513	-0.5064	-0.0879	0.31507	-0.14259	1	-0.53042
	0.0579	0.073	0.0929	0.7859	0.3185	0.6584		0.076
PERDIDA DE PESO	0.05018	-0.1796	0.01104	0.48694	-0.16882	0.00803	-0.53042	1
	0.8769	0.5764	0.9728	0.1084	0.5999	0.9802	0.076	

**Anexo 3.** Análisis de correlación entre los parámetros sensoriales.

Pearson Correlation Coefficients, N = 252 Prob >  r  under H0: Rho=0				
	APARIENCIA	COLOR	AROMA	ACEPTACION GENERAL
APARIENCIA	1	0.6041 <.0001	0.34744 <.0001	0.63728 <.0001
COLOR	0.6041 <.0001	1	0.38625 <.0001	0.64929 <.0001
AROMA	0.34744 <.0001	0.38625 <.0001	1	0.62393 <.0001
ACEPTACION GENERAL	<b>0.63728</b> <b>&lt;.0001</b>	<b>0.64929</b> <b>&lt;.0001</b>	<b>0.62393</b> <b>&lt;.0001</b>	1

**Anexo 4.** Características microscópicas de los grupos de hongos encontrados en polen.



**Anexo 5.** Características morfológicas de las colonias de hongos en polen.

