

Estudio químico y microbiológico del polen obtenido en la U.N.A. La Molina¹

Ycela Briceño²

Moisés Quito³

Miguel Dávila⁴

RESUMEN

BRICEÑO Y, QUITO M, DAVILA M. 1987. Estudio químico y microbiológico del polen obtenido en la UNA La Molina. Revista Peruana de Entomología 30. Se dan los resultados de la composición química y el análisis microbiológico del polen colectado por las abejas del Apiario del Departamento de Entomología de la UNA, en los años 1978 y 1979. Los contenidos del polen fresco (en base seca) de proteína total (25.32%), lisina (1.44% en proteína), triptofano (11.72% en proteína), vitamina B₁ (17.83 ug/g) vitamina B₂ (24.17 ug/g), vitamina C (384.14) estuvieron en niveles altos con respecto a los estándares conocidos, variando de acuerdo a la temperatura y métodos de secado. Los minerales fluctuaron de acuerdo a las flores visitadas, siendo alto el Fe. La población microbiana se vió en cierto grado controlada por la temperatura del secado a 40 y 55°C. El almacenaje durante un año fue relativamente satisfactorio para la composición química, pero cierta población de bacterias permanecen viables. Se recomiendan mayores y constantes estudios de este tipo.

Palabras clave: polen, composición química del polen, estudio microbiológico del polen, Apiario de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

SUMMARY

BRICEÑO Y, QUITO M, DAVILA M. 1987. Chemical and microbiological studies of the polen collected in the Apiary of La Molina University. Rev. Per. Ent. 30. Samples of polen collected during 1978 and 1979 in Universidad Nacional Agraria La Molina were studied. The chemical composition of fresh collected polen, on dry basis was characterized for 25.32% total protein, 1.44% of lysin in protein, 11.72% tryptophane in protein, 17.83 ug/g of B₁ vitamine, 24.17 ug/g of B₂ vitamine. This results varied according with temperature and drying procedures. Minerals fluctuated according with visited flowers. Iron was high. Microbial population was in part controlled by 40° and 50° temperatures. One year storage was relatively satisfactory in chemical composition, but certain bacterial population were viable. Emphizise is made for move continuous studies.

Key words: polen, chemical composition of polen, microbiological studies of polen, Apiary of La Molina University.

INTRODUCCION

La importancia del polen en la alimentación humana ha ido acrecentándose en los últimos tiempos existiendo diferentes métodos de colección de este polen recogido por las abejas. En el Apiario de la Universidad Nacional Agraria La Molina, se ha incrementado el uso de trampas para polen y su obtención llevó a la necesidad de un estudio químico para conocer su valor bromatológico y también su grado de contaminación por bacterias y por hongos.

La muestra polinífera es heterogénea pues depende de la floración de plantas cultivadas o las silvestres existentes en los 5 km a la redonda que cubren las abejas en sus vuelos de visitas a flores, en una determinada época del año.

Los objetivos del trabajo, además de los estudios químicos y microbiológicos consistieron en ver la temperatura adecuada del secado del grano

de polen, sin afectar su aspecto físico (colores vivos y brillantes, forma integral del grano) ni químico y además lograr la estabilidad del mismo frente a los ataques de bacterias, mohos y levaduras.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de polen correspondieron al verano de los años 1978 y 1979 obtenidas con trampas de polen ideadas por Dávila (1976). Las muestras obtenidas se depositaron en bolsas de polietileno de primer uso, previamente sometidas a radiación ultravioleta por tres horas y remitidas al laboratorio donde se dividieron en partes para efectuar: (a) análisis químico y microbiológico en fresco, (b) secado a tres temperaturas (30°C, 40°C, 50°C,) en dos tipos de secadoras: túnel de aire caliente y secadora doméstica, luego el análisis del material secado.

La porción destinada al análisis microbiológico fue extraída en primer lugar observando condiciones asépticas. La porción destinada al análisis en fresco fue pulverizada en mortero de porcelana con el fin de obtener una mayor exposición del grano de polen al ataque de reactivos.

1. Trabajo financiado por el Fondo de Investigación UNALM 1978-1980. Ejecutado en los Laboratorios de Apicultura de Química y de Microbiología de la Univ. Nac. Agraria La Molina, Casilla Postal 456. Lima 100 Perú.
2. Dpto. de Química, Fac. de Ciencias. UNALM.
3. Dpto. de Tecn.Alim. y Produc. Agrop. (TAPA), Fac. Industrias Alimentarias. UNALM.
4. Dpto. Entomología. Facult. Agronomía. UNALM.

Las porciones sometidas a secado se fraccionaron en cantidades suficientes para las diferentes pruebas microbiológicas y químicas, siguiendo el mismo tratamiento expuesto para el análisis de material fresco.

Métodos de Análisis Químico

Los métodos reseñados a continuación, se aplicaron para la muestra fresca y seca.

Métodos de Análisis empleados:

Análisis proximal: Comprendió las siguientes determinaciones: Humedad, cenizas, nitrógeno efectuado mediante el método de Microkjeldahl y el porcentaje de proteína usando el factor 6.25. Fibra cruda, extracto etéreo (grasa), según los Métodos Oficiales de Análisis de la A.O.A.C., (1965).

Otros Análisis: Los azúcares se investigaron siguiendo el método de Bertrand modificado por Schönberg (Romero 1966). Los minerales se determinaron por absorción atómica en un instrumento Perkin Elmer modelo 303. La Tiamina (B₁), se determinó siguiendo el método de extracción diseñado por A.O.A.C. (1965) seguido por el método fluorométrico (Gilbert A. Leveille 1972). La fluorescencia de las muestras se determinó en un fluorómetro G.K. Turner Associates, usando filtros: Primarios 7-60 y Secundarios 2A-12.

La Riboflavina (B₂) se investigó según el método Fluorométrico de Connor, R.T. y Straub, G.J. La fluorescencia se puso en evidencia con el instrumento antes mencionado usando filtros: Primario 2A/47B y Secundario No. 22.

La determinación de Triptófano fue investigada según el método de Opienska-Blauth modificado por Hernández y Bates (1969), conocido por su exactitud y rapidez.

La investigación de Lisina se practicó según el método colorimétrico descrito por Tsai, Hansel y Nelson y modificado por Villegas (1971).

Métodos de Análisis Microbiológico

— En las muestras frescas de polen se realizaron las siguientes determinaciones:

— **Numeración de bacterias:** Bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes viables, *Clostridium* sulfito-reductores. *Escherichia coli*, *Streptococcus* del grupo D de Laceyfield y de Hongos siguiendo la metodología descrita por Mossel y Quevedo (1967).

Las pruebas de Numeración de *Streptococcus* y *E. coli*, se realizaron por el número más probable. Las otras pruebas por siembra, por incorporación y recuento en placas petri, a excepción de la numeración de hongos, que fue siembra por extensión y recuento de placas.

CUADRO 1.— Composición química del polen

Componentes	Según la Asociación Apícola Argentina (1973)	Según Beekeeping in the USA (USDA, 1967)
PROTEINAS		
— Total %	7.02% - 29.87%	10 - 36%
— Promedio	21.60	1.4
— Triptófano% (en proteína)		6.4
— Lisina % (en proteína)		
VITAMINAS (ug/g)		
— Tiamina (B ₁)	9.3 - 11.8	1.1 - 11.6
— Riboflavina (B ₂)	18.5 - 23.5	4.7 - 17.1
— Acido ascórbico		131.0 - 721
MINERALES %		
— Potasio	20.7	20.0 - 45.0
— Calcio	10.5	1.0 - 15.0
— Fósforo	13.6	0.6 - 26.6
— Magnesio	6.7	1.0 - 12.0
— Hierro	0.007	0.01 - 12.0
— Cobre		0.05 - 0.08
COMPOSICION PROXIMAL (%)		
Humedad	25	
Azúcares reductores	23 - 35	15.0 - 43.0
Grasas (extracto etéreo)	2	1.3 - 19.7
Cenizas	0.91 - 6.36	
pH	4.5	

— **Detección e investigación de Salmonella spp.:** siguiendo el método descrito por Mossel y Quevedo analizando 20 gramos de muestra.

— **Las muestras de polen sometidas a proceso de secado,** fueron analizadas utilizando las mismas pruebas microbiológicas que en la muestra fresca. Además de la numeración de *Staphylococcus* patógenos, siguiendo el procedimiento de Mossel y Quevedo (1967); siembra por extensión en placas petri y pruebas de patogenicidad.

— **La muestra de polen secado y almacenado por un año** en frascos de vidrio opaco, con tapa de rosca y sellados con cinta adhesiva, guardados en gaveta de madera al ambiente, fue analizada utilizando las mismas pruebas microbiológicas mencionadas para la muestra sometida al secado.

Secado de la Muestra.

Se utilizaron dos tipos de secadores:

Túnel de Aire Caliente (Casas 1971), compuesto de:

- Control de encendido.
- Motor: Voltaje 220, RPM 0.57. Serie 104729 M₁, AMP. 3.8.
- Ventilador
- Zona de resistencia compuesta de tres partes: resistencia 1 y 2, con conexión directa a un toma corriente sin regulado por un reostato de 0 a 260 voltios tipo F401AB/080- frecuencia 50/60 HZ.
- Cámara de secado.

CUADRO 2.— Composición Química del polen (UNALM 1978-79).

Análisis Efectuados	BASE HUMEDA					BASE SECA				
	Promedio 30° - 40° - 50°C									
	Fresco	Secado		Secado y almacenado durante un año		Fresco	Secado		Secado y almacenado durante un año	
		Túnel aire caliente	Secador domés- tico	Túnel aire caliente	Secador domés- tico		Túnel aire caliente	Secador domés- tico	Túnel aire caliente	Secador domés- tico
Análisis Proximal %										
Humedad	29.89	10.39	11.46	19.22	15.83	—	—	—	—	—
Materia seca	70.11	89.61	88.66	80.78	84.17	—	—	—	—	—
Proteínas (6.25)	17.75	20.03	19.54	19.88	21.35	25.32	30.30	22.04	24.60	25.39
Extracto etéreo	3.07	2.86	3.25	3.65	3.65	4.78	3.19	3.67	4.52	4.33
Azuc.Reduct. Totls.	30.09	37.18	34.00	44.33	49.90	42.91	41.53	35.44	54.98	59.22
Fibra (cruda)	11.68	14.21	13.82	3.37	3.51	16.66	15.88	15.93	4.16	4.18
Ceniza	3.50	3.60	3.53	3.22	3.30	4.99	3.90	3.99	3.98	3.91
Otros	4.03	11.84	14.21	6.34	2.47	5.74	13.12	18.92	7.76	3.16
Vitaminas (ug/g)										
Tiamina (B ₁)	11.76	15.96	10.36	7.37	4.90	16.77	17.83	11.70	9.18	5.82
Riboflavina (B ₂)	16.95	25.59	10.02	11.84	4.69	24.17	28.65	11.26	14.81	5.56
Ac.ascórbico (C)	269.33	306.53	301.32	99.18	141.33	384.14	340.89	339.12	171.12	160.95
Proteínas y aminoácidos %										
Proteína total	17.75	20.03	19.54	19.88	21.35	25.31	22.38	22.05	24.60	25.39
Triptofano en muestra	1.46	1.01	1.14	1.24	1.36	2.08	3.36	1.29	1.25	1.45
Triptofano en proteína	8.22	5.28	5.58	7.29	6.65	11.72	5.90	6.31	6.60	7.13
Lisina en muestra	1.79	1.99	2.11	2.46	2.51	2.55	2.22	2.38	2.64	2.70
Lisina en proteína	1.01	1.01	0.98	1.25	1.18	1.44	1.13	1.11	1.26	1.45
Minerales: ceniza										
Calcio %	2.23	2.26	2.25	2.28	2.10	3.18	2.85	2.82	2.91	2.54
Fósforo %	0.33	0.33	0.33	0.33	0.69	0.46	0.42	0.41	0.42	0.37
Potasio %	0.74	0.73	0.74	0.75	0.08	1.05	0.66	0.93	0.67	0.82
Magnesio %	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.12	0.10	0.10	0.11	0.09
Sodio %	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Hierro: p.p.m.	234.00	237.61	236.45	237.43	220.40	333.62	299.07	293.74	305.89	266.37
Cobre: p.p.m.	2.00	2.03	2.02	1.98	1.88	2.85	2.56	2.44	2.61	2.28
Manganeso: p.p.m.	49.00	49.77	49.51	49.12	46.15	69.86	62.63	61.51	64.05	55.78
Zinc: p.p.m.	108.50	110.17	109.64	90.65	102.16	154.69	138.50	136.18	141.65	123.51

— Velocidad de aire regulable: 233 kilómetros por minuto.

— Bandeja de descarga de aire.

Regulación de la temperatura de secado:

a) Temperatura de 30°C. Haciendo funcionar el reostato simplemente con 170 voltios.

b) Temperatura de 40°C. Esta temperatura se mantiene constante combinando el funcionamiento de las resistencias 1 y 3.

c) Temperatura de 55°C. Esta se mantiene constante haciendo funcionar las resistencias 1 y 2 y además la resistencia 3, con el reostato regulado a 133 voltios.

Secador doméstico.— Muy utilizado por las amas de casa para secar ropa. Este secador fue adaptado por Dávila, y empleado para el secado de polen de este trabajo (figura 1).

La temperatura fue regulada variando la distancia existente entre la malla receptora de la materia a secar y las resistencias que se encuentran ubicadas en la parte inferior del secador. La cantidad de calor transmitida es constante, con resistencias para 220 voltios, conectadas directamente a un toma corriente.

Secado de polen propiamente dicho.— El polen recolectado se dispuso sobre una fuente con base de tela apoyada sobre ocho cuerdas, dentro del secador. El polen fue dispersado uniformemente tratando de formar una capa del espesor del grano de polen evitando espacios vacíos entre ellos, procediéndose luego al secado a la temperatura en estudio hasta que el grano de polen sea duro al tacto. Este secado se logra con circulación de aire caliente. Para ello el secador presenta 4 orificios circulares dispuestos dos por lado.

CUADRO 3.— Análisis microbiológico de polen. UNALM (número de colonias por gramo). Incubación: bacterias a 37°C; hongos a temperatura ambiente 20-23°C.

Muestras Examinadas	Numeración de Bacterias					Detección de <i>Salmonella</i> sp.	Numeración de hongos	
	bacterias aerobias mesófilas viables	coliformes viables	<i>Clostridium</i> sulfito reductores	<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus</i> grupo D Lancefield		Mohos	Levaduras
Muestra 1978								
Polen fresco (Promedio 3 análisis)	1.8×10^6	1.1×10^5	40	1	3.0×10^3	ausente/20g	3.6×10^5	3.4×10^5
<i>Secado a 30°C</i>								
— Túnel aire caliente	2.0×10^3	2.1×10^2	6.0×10^2	nulo	1.5	ausente/20g	3.8×10^4	8.0×10^2
— Estufa doméstica	2.3×10^3	1.2×10^2	7.0×10^2	nulo	2.4	ausente/20g	2.6×10^4	nulo
<i>Secado a 40°C</i>								
— Túnel aire caliente	3.8×10^3	1.7×10^3	1.2×10^2	nulo	1.1×10^2	ausente/20g	2.4×10^5	3.4×10^3
— Estufa doméstica	3.8×10^3	2.6×10^2	3.0×10^2	nulo	2.3	ausente/20g	3.6×10^5	1.1×10^3
<i>Secado a 55°C</i>								
— Túnel aire caliente	1.7×10^4	4.5×10^3	2.4×10^2	nulo	46	ausente/20g	8.3×10^5	nulo
— Estufa doméstica	nulo	nulo	3.0×10^2	nulo	1	ausente/20g	2.8×10^4	nulo
Muestra 1979								
Polen fresco (Promedio 3 análisis)	1.8×10^3	3.4×10^3	5.0×10^2	nulo	21	ausente/20g	6.4×10^5	1.1×10^5
<i>Secado a 30°C</i>								
— Túnel aire caliente	5.8×10^3	nulo	7.0×10^2	nulo	1.5	ausente/20g	6.8×10^4	nulo
— Estufa doméstica	4.6×10^3	nulo	8.0×10^2	nulo	1	ausente/20g	2.1×10^5	nulo
<i>Secado a 40°C</i>								
— Túnel aire caliente	1.5×10^4	nulo	1.0×10^2	nulo	1	ausente/20g	6.9×10^4	nulo
— Estufa doméstica	2.7×10^3	nulo	9.0×10^2	nulo	1	ausente/20g	3.7×10^4	nulo
<i>Secado a 55°C</i>								
— Túnel aire caliente	4.4×10^2	nulo	6.0×10^2	nulo	nulo	ausente/20g	4.8×10^4	nulo
— Estufa doméstica	7.2×10^2	nulo	4.0×10^2	nulo	nulo	ausente/20g	2.4×10^4	nulo
Polen Seco Almacenado Durante 1 año								
<i>Secado a 30°C</i>								
— Túnel aire caliente	6.1×10^5	nulo	nulo	nulo	nulo	ausente/20g	4.5×10^2	nulo
— Estufa doméstica	6.5×10^2	nulo	nulo	nulo	nulo	ausente/20g	5.7×10^2	nulo
<i>Secado a 40°C</i>								
— Túnel aire caliente	3.7×10^3	nulo	nulo	nulo	nulo	ausente/20g	4.7×10^2	nulo
— Estufa doméstica	8.8×10^3	nulo	nulo	nulo	nulo	ausente/20g	5.7×10^2	nulo
<i>Secado a 55°C</i>								
— Túnel aire caliente	6.7×10^2	nulo	nulo	nulo	nulo	ausente/20g	1.1×10^2	nulo
— Estufa doméstica	3.3×10^3	nulo	nulo	nulo	nulo	ausente/20g	nulo	nulo

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición Química

El Cuadro 1 reúne los resultados publicados por la Asociación Apícola Argentina (1973) y por Beekeeping in U.S.A. (1967) que se incluyen como referencia que podríamos considerar para comparación.

El Cuadro 2 incluye los promedios de los resultados de los análisis químicos efectuados en la UNALM, tanto en base húmeda como en base seca, tanto de polen fresco como en secado y en almacenado durante un año.

En el Cuadro 2 pueden verse los considerables contenidos de proteínas, triptofano y lisina. Igualmente los diferentes elementos y las vitaminas. En el caso de las muestras en base seca, se puede apreciar siempre un aumento sobre la base húmeda, por la pérdida de agua.

El Cuadro 3 da los resultados sobre el estudio microbiológico. El polen fresco tiene muchos contaminantes del aire, polvo del ambiente y del contacto con los apéndices y otros órganos de la abeja durante la colección. Como no existen datos de otros estudios sobre polen, la comparación puede hacerse con respecto a otros alimentos frescos y de consumo directo, cuyas normas para

límites de población bacteriana bordean 10^5 bacterias/grano. Esto indicaría que el polen fresco recolectado por abejas tiene contenido microbiano semejante a esos alimentos, excepto en los que se refiere a coliformes, mohos, levaduras que en el polen fresco resulta ser más cargado.

Con respecto al secado y su efecto sobre las bacterias se puede apreciar que las bacterias aerobias mesófilas viables se mantienen y aún aumentan tanto en el polen secado como en el almacenado. *Clostridium* sobrevive al secado pero ya no se encuentran en el almacenado durante un año. *Escherichia coli* y *Staphylococcus* fueron nulos. Los *Streptococcus* disminuyeron en el secado pero no se registraron después de almacenamiento. *Salmonella* estuvo ausente. En la numeración de hongos, los mohos se mantuvieron en todo el proceso de secado y almacenado.

Fue interesante observar que en algunos casos la acción de la estufa doméstica fue más efectiva en el control de bacterias y hongos, tal vez por la influencia del calor más directa en comparación con el secado túnel de aire caliente, por el hecho de poseer ventilación.

CONCLUSIONES

1. Un buen contenido de proteína total, así como los porcentajes de Lisina y Triptófano, nos hacen pensar que se trata de una buena fuente proteica: 25.3175% (proteína total) 2.55% y 1.44% (Lisina en muestra y en proteína respectivamente). Esto expresado en base seca.

2. Hay armonía en el contenido de las Vitaminas Tiamina (B_1), Riboflavina (B_2) y Acido Ascórbico (Vitamina C); considerando otros productos de carácter alimenticio.

3. Los valores de proteínas, azúcares, vitaminas y extracto etéreo (grasas), guardan relación con los rangos publicados para polen de EE.UU. y Argentina.

4. El contenido mineral, es fluctuante con lo reportado en la literatura especializada, por encontrarse relacionado directamente con la variedad de flores; así como la temporada y otros factores como: clima, suelo y otros.

5. Se insiste en que la composición química del polen guarda estrecha relación con la época de recolección, y que varía por la floración, dado que se obtiene una muestra mixta.

6. La labilidad del ácido ascórbico a la modalidad de secado y a la temperatura, se manifiesta a los 55°C , sobre todo en túnel de aire caliente.

7. El almacenaje durante un año, fue relativamente satisfactorio químicamente.

8. Desde el punto de vista químico la mejor temperatura fue de 40°C , en estufa doméstica.

9. El efecto del secado sobre el control de la población microbiana es mayor en estufa doméstica.

10. Los procesos de secado y las temperaturas utilizada, reprimen en cierto grado el desarrollo microbiano.

11. La temperatura óptima de secado teniendo en cuenta el aspecto microbiológico fluctúa entre 40°C y 55°C .

12. El secador recomendable, de acuerdo a los resultados sería el secador doméstico (aire caliente). Utiliza menor tiempo de secado y mayormente no perjudica al ácido ascórbico.

13. En el polen secado, conservado por lo menos un año en almacenamiento, determinada población de bacterias permanecen viables.

14. Se recomienda continuar el estudio microbiológico en lo que se refiere a resistencia de las poblaciones microbianas a otras temperaturas de secado, otras condiciones de almacenaje y tiempo de almacenamiento. Así como la investigación química con amplias proyecciones.

REFERENCIAS

- Anelli G, Lotti G. 1971. Mineral Composition of Pollens. *Agrochimica*. 15(6): 539-45.
- Asociación Apícola Argentina. 1973. Manual de Apicultura. Buenos Aires. 50 p.
- A.O.A.C. Asociación of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 1970, Eleven Edition. Washington. Edit. Beard.
- Barker R J. 1972. Whether the superiority of pollen in diet of honey bees is attributable to its high content of free proline. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 65(1), 270-1.
- Dávila M. 1974. Principios de Apicultura. Departamento de Entomología. UNALM. (mimeo.). Cap. II. 31 pp.
- Dávila M, Usca J, Aguilar P. 1976. Estudio comparativo de Ocho Modelos de Trampas para Polen. *Rev. per. Ent.* 19(1): 60-66.
- Erdtman G. 1943. An Introduction to Pollen Analysis. Atlanta. Mass. U.S.A.
- Polar E. 1975. Zinc in pollen and its incorporation into seeds. *Planta*. 123(1): 97-103.
- Root A.I. ABC y XYZ de la Apicultura. 1974. Enciclopedia de la Guía Científica y Práctica de las Abejas. Buenos Aires, 9ª edición. Librería Hachette S.A. 492 pp.
- U.S.D.A. Agricultural Research Service. 1967. Beekeeping in the United States. Agriculture Handbook No. 335. 55 pp.