

## **DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS INDICADORES DE LA CALIDAD SANITARIA EN MUESTRAS DE POLEN.**

**Yamila Puig<sup>1</sup>, Carlos Alberto del Risco<sup>2</sup>, Virginia Leyva, Tamara K. Martino<sup>1</sup>, Neybis Aportela<sup>1</sup>, Idalmis Hernández<sup>1</sup>, Mayrin Machin<sup>1</sup>, Yaumara Ferrer<sup>1</sup>, Perla Soto<sup>1</sup> y Yaimí Oviedo<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. E mail: [yamila@sinha.sld.cu](mailto:yamila@sinha.sld.cu),  
[villy@sinha.sld.cu](mailto:villy@sinha.sld.cu)

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones Apícola. E mail: [carlos@eeapi.cu](mailto:carlos@eeapi.cu)

### **Resumen**

El polen es un producto natural que constituye un excelente alimento. Por su condición de estar expuesto al medio ambiente contiene una variada microbiota. Nos trazamos el objetivo de evaluar los indicadores de la calidad sanitaria de muestras de polen colectadas en el apiario del Centro de Investigaciones Apícolas Cuba entre los meses de diciembre del 2006 a mayo del 2007. Se estudiaron 28 muestras a las que se le realizaron las determinaciones cuantitativas de microorganismos totales, coliformes, coliformes fecales, hongos filamentosos y levaduras viables, según las Normas Cubanas/ISO vigentes para el análisis de alimentos en nuestro país. Como resultados se obtuvieron altos niveles de crecimiento de microorganismos totales, con valores entre  $10^4 - 10^7$  ufc/g; en el caso de los coliformes fecales se apreció una gran variabilidad en los resultados con valores mínimos de  $<10$  hasta valores máximos de  $10^4$  ufc/g. Respecto a coliformes totales, hongos filamentosos y levaduras se observó crecimiento en todas las muestras por encima de los límites microbiológicos tomados como referencia para el polen. Hongos filamentosos constituyó el grupo microbiano predominante. Todas las muestras de polen fresco se encontraron fuera de los límites microbiológicos tomados como referencia para este producto.

## **Introducción**

El polen es un producto natural recolectado de la flor y que la abeja transforma al añadir néctar y sustancias propias, está considerado como un excelente alimento. La característica que mayor interés suscita es que reúne todos los aminoácidos esenciales para el organismo y que habitualmente sólo se encuentran en alimentos de origen animal. Es difícil encontrar un alimento que iguale al polen por su variedad de aminoácidos, pero además contiene vitaminas y minerales imprescindibles para el correcto funcionamiento del organismo humano (1,2).

Sin embargo hay que tener en cuenta que el polen es un producto natural que queda expuesto a las condiciones ambientales de forma total, por lo que contiene una variada microbiota proveniente de la floración de la cual procede y la que es incorporada durante el proceso de recolección por la abeja, lo que dificulta su comercialización (3, 4,5),

En el mundo hay cada vez una mayor exigencia por el consumo de alimentos naturales donde se garantice una composición orgánica, nutritiva y sana, por lo tanto se exige con rigurosidad el establecimiento y ejecución de la determinación de la calidad de los mismos. En el caso del polen todavía no existe oficialmente una regulación de control de la calidad del producto en la mayoría de los países que lo producen y consumen, por lo que se investigan determinados grupos de microorganismos que sirven como patrón para conocer las características higiénicas sanitarias del mismo, como el contenido de microorganismos aerobios mesófilos viables y coliformes (6).

En Cuba por las condiciones climáticas existentes, altas temperaturas y humedad relativa (>70%), se obtiene un polen muy húmedo, con una variada microbiota, lo que se ha reportado en estudios realizados que muestran que el polen llega a la colmena con valores superiores a las que exigen para este alimento (6,7). Por tales razones, realizamos el siguiente trabajo con el objetivo de evaluar los indicadores de la calidad sanitaria en muestras de polen fresco.

## **Materiales y métodos**

Se realizó un estudio del comportamiento de los indicadores de la calidad sanitaria de 28 muestras de polen fresco procedentes del Centro de Investigaciones Apícolas, colectadas en el periodo de diciembre del 2006 a mayo del 2007. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de los Alimentos del Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos.

Las determinaciones fueron realizadas según las siguientes normas cubanas:

- Microorganismos aerobios mesófilos NC/ISO 4833 2002 (8)
- Coliformes totales NC/ISO 4832 2002 (9)
- Coliformes fecales NC 38-02-14 1989 (10)
- Hongos filamentosos y Levaduras NC/ISO 7954 2002 (11)

## Resultados y Discusión

En estudios realizados sobre polen fresco en Cuba se informa la presencia de una elevada carga microbiana (6, 7, 13) así como en estudios internacionales (14, 15). Estos resultados están en correspondencia con los encontrados en esta investigación (Tabla 1), donde se determinaron microorganismos totales con valores entre  $10^4 - 10^7$  ufc/g. Los indicadores coliformes totales, levaduras y hongos filamentosos estuvieron presentes en todas las muestras con crecimientos por encima de los límites microbiológicos tomados como referencia para el polen.

En cuanto al indicador coliformes fecales se obtuvo crecimiento en 17 muestras, las cuales se encontraron fuera de los límites de aceptabilidad; considerando que los límites propuestos por Aranda (12) y tomados como referencia no contemplan este indicador, se tomó entonces el proyecto de Norma Cubana de Criterios Microbiológicos, para alimentos listos para el consumo (16).

Con relación a la calidad microbiológica del polen es de interés señalar que el clima es un elemento importante. La humedad es un factor esencial, si se tiene en cuenta que un valor elevado de la misma (25-35%), unido al alto contenido de proteínas, es suficiente para alterar seriamente este producto, especialmente si la presencia de bacterias es elevada (17,18). Al realizar la observación de la tendencia de los indicadores de la calidad sanitaria en el periodo de estudio (Tabla 1), se apreció de forma general un comportamiento uniforme de todos los indicadores estudiados. No encontrándose una diferencia marcada de los resultados en los meses de sequía y los de lluvia. Por lo que se considera que las condiciones medioambientales de nuestro país constituyen un factor importante que influye en los resultados obtenidos.

Tabla 1 Resultados del estudio microbiológico

Muestras	MAM ufc/g	CT ufc/g	CF ufc/g	Hf ufc/g	Lev ufc/g
1	$1.3 \times 10^6$	$1.4 \times 10^4$	$2 \times 10^3$	$>3 \times 10^5$	$>3 \times 10^5$
2	$2.5 \times 10^5$	$2 \times 10^4$	$2.9 \times 10^3$	$>3 \times 10^5$	$>3 \times 10^5$
3	$1.9 \times 10^5$	$1.2 \times 10^4$	$3.7 \times 10^3$	$>3 \times 10^5$	$>3 \times 10^5$

4	$5.2 \times 10^5$	$1.8 \times 10^4$	$1.9 \times 10^2$	$>3 \times 10^5$	$3.9 \times 10^4$
5	$>3 \times 10^6$	$1.2 \times 10^4$	$6.4 \times 10^2$	$>3 \times 10^5$	$1.7 \times 10^5$
6	$>3 \times 10^5$	$1.2 \times 10^4$	$6 \times 10^3$	$>3 \times 10^5$	$<10^4$
7	$8.8 \times 10^5$	$>1.5 \times 10^5$	$<10$	$>3 \times 10^6$	$<10^4$
8	$8.8 \times 10^5$	$7,7 \times 10^4$	$4.3 \times 10^4$	$>3 \times 10^5$	$1.7 \times 10^3$
9	$>3 \times 10^6$	$4.2 \times 10^4$	$<10$	$4.1 \times 10^5$	$1.2 \times 10^5$
10	Presencia en $10^4$	$1.0 \times 10^5$	$<10$	$2.7 \times 10^5$	$<10^4$
11	$9.2 \times 10^5$	$3.8 \times 10^4$	$2.1 \times 10^2$	$2.5 \times 10^5$	$7.5 \times 10^4$
12	$4.7 \times 10^5$	$8.9 \times 10^4$	$2.5 \times 10^2$	$2.5 \times 10^4$	$<10^3$
13	$4.1 \times 10^6$	$5.6 \times 10^4$	$<10$	$7.6 \times 10^5$	$4.2 \times 10^4$
14	$2.8 \times 10^7$	$3.1 \times 10^4$	$<10$	$5.9 \times 10^5$	$9.3 \times 10^3$
15	$4.3 \times 10^6$	$2.9 \times 10^4$	$8.1 \times 10^3$	$7.8 \times 10^5$	$3.3 \times 10^4$
16	$2.4 \times 10^6$	$3.7 \times 10^4$	$4.7 \times 10^2$	$1.8 \times 10^5$	$4 \times 10^4$
17	$2 \times 10^7$	$3.5 \times 10^4$	$>1.5 \times 10^3$	$1.4 \times 10^5$	$2.8 \times 10^4$
18	$1.7 \times 10^6$	$>1.5 \times 10^5$	$>1.5 \times 10^3$	$2.5 \times 10^5$	$5 \times 10^5$
19	$4.9 \times 10^5$	$1.7 \times 10^4$	$2 \times 10^3$	$1.5 \times 10^5$	$5.5 \times 10^3$
20	$1.6 \times 10^5$	$1 \times 10^4$	$5.8 \times 10^2$	$5.5 \times 10^4$	$1.9 \times 10^3$
21	$9.5 \times 10^5$	$5 \times 10^2$	$<10$	$5.3 \times 10^5$	$3.7 \times 10^4$
22	$1 \times 10^6$	$8.5 \times 10^3$	$<10$	$3.4 \times 10^5$	$2.6 \times 10^4$
23	$1 \times 10^7$	$1.3 \times 10^3$	$<10$	$6.9 \times 10^4$	$2.5 \times 10^3$
24	$1.2 \times 10^7$	$1.9 \times 10^3$	$9 \times 10^2$	$1.7 \times 10^5$	$1.1 \times 10^4$
25	$1.7 \times 10^7$	$3.2 \times 10^3$	$<10$	$3.3 \times 10^5$	$2 \times 10^4$
26	$2.9 \times 10^4$	$3.1 \times 10^4$	$7.6 \times 10^2$	$1.3 \times 10^5$	$6.7 \times 10^3$
27	$3.5 \times 10^6$	$>1.5 \times 10^5$	$<10$	$5.7 \times 10^4$	$2.5 \times 10^3$
28	$1.8 \times 10^7$	$>1.5 \times 10^5$	$<10$	$4.7 \times 10^5$	$8.6 \times 10^3$

MAM: Microorganismos aerobios mesófilos, CT: Coliformes totales, CF: Coliformes fecales, HF: Hongos filamentosos, Lev: Levaduras

Con relación a los grupos de microorganismos aislados durante el estudio, se realizó el análisis de la distribución de la concentración en el polen de los indicadores coliformes fecales, coliformes totales, hongos filamentosos y levaduras en las muestras (Fig. 1), pudiéndose apreciar que los

hongos filamentosos constituyeron el grupo de microorganismo predominantes, observándose crecimiento en la mayoría de las muestras a concentraciones superiores de 150 000 ufc/g; es importante señalar, que en la determinación de microorganismos aerobios mesófilos una gran parte del recobrado correspondió a hongos filamentosos. La presencia de una amplia variedad de hongos en polen ha sido informada por Gilliam y col. (19), así como en estudios realizados en Colombia (20, 21). Se considera que la humedad es el factor más importante en el desarrollo de hongos, llegando a transformar el polen en no apto para el consumo (22).

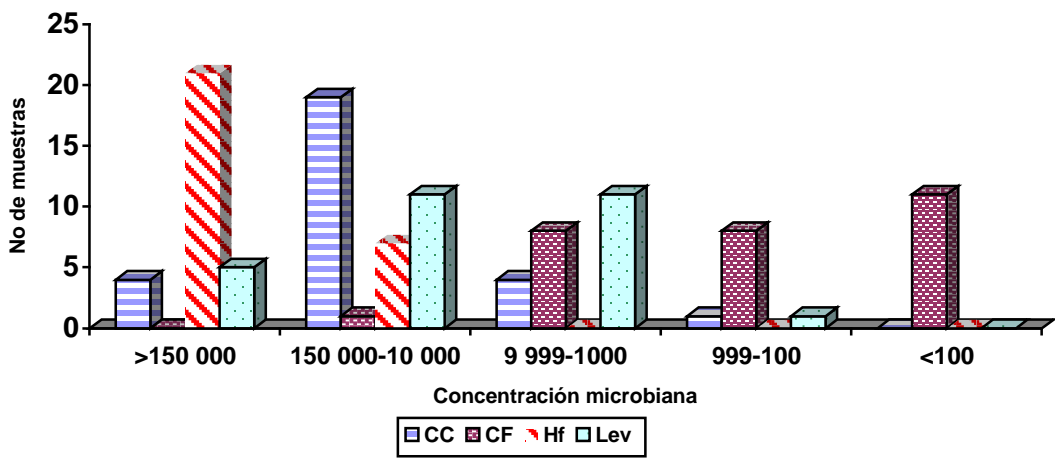


Fig. 1 Concentración de los microorganismos indicadores en las muestras estudiadas.

## Conclusiones

- Todas las muestras de polen fresco se encontraron fuera de los límites microbiológicos tomados como referencia para este producto.
- Los resultados obtenidos de los diferentes indicadores de la calidad sanitaria no tuvieron variaciones marcadas en los meses de sequía y los de lluvia.
- Los hongos filamentosos constituyeron el grupo de microorganismos predominante.
- El estudio de la microbiota arrojó que hubo alteración no solo en los indicadores de la calidad (hongos), sino también en los indicadores relacionados con la inocuidad (coliformes fecales).

## Bibliografía

1. Apicultura, miel, estados, oligoelementos, aporte energético, valor nutricional. Acceso: 20 de Junio 2007. Disponible en: <http://www.doloresnet.com/Agro/Mieles/Apicultura/MielPolenPropoleos.htm>.
2. Apicultura práctica y medicinal. El polen. Acceso: 20 de Junio 2007. Disponible en: <http://www.ecoaldeia.com/apicultura/polen.htm>.
3. Gilliam, M. Microbiology of pollen and bee bread: The yeasts. *Apidologie* 1979 10(1):43-54.
4. Gilliam, M. Microbiology of pollen and bee bread: The genus *Bacillus* *Apidologie* 1979 10(3): 269-274.
5. Pain, J. y Maugenet, J. Recherches biochimiques et physiologiques sur le pollen. 1966
6. Valdés, G.; García, O.; Ruiz, M.; Martín, M. y Giral, T. Evaluación de las condiciones higiénicas del polen. *Estación Experimental Apícola. Ciencia. Técn. Agric (Zootécnia)* 1993; 2(1): 87-93
7. Del Risco, C. A. Enterobacterias presentes en el polen apícola. *Apiamérica*. 2005 Disponible en: [www.apiamerica.com.ar](http://www.apiamerica.com.ar).
8. NC-ISO 4833: 2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de microorganismos. Técnica de placa vertida a 30° C
9. NC-ISO 4832: 2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida

10. NC-38-02-14: 1989. Sistema de normas sanitarias de alimentos. Determinaciones cuantitativas de coliformes fecales. Método de ensayos microbiológicos.
11. NC-ISO 7954: 2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de levaduras y mohos. Técnica de placa vertida a 25° C
12. Aranda, M. L.; Cardenal, J. A.; Albarez, J. A. y Pozo, J. El polen. Control sanitario. Normas legales. Vida Apícola 1999; 94: 54-58.
13. Mayra Rodríguez, M. J.; Guerra, O. M.; Padrón, S. E. y Fusté, M. V. Irradiación de tabletas de polen. Estudio de dosis. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. Rev Cubana Farm Mayo-ago 1995; 29(2).
14. Díaz, M. E. Evaluación de las trampas de polen canadiense O.A.C modificadas y racionalizadas. Ciencia y Técnica de la Agricultura. Apicultura 1985; Vol.1:79-86
15. Guerra, P. E.; Salamanca, G. y Henao, R. C. Estudio microbiológico de cargas de polen colectado y almacenado por Apis mellifera. Departamento de Química-Facultad de Ciencias Básicas. Grupo de Investigaciones Mellitopalinológicas. Universidad del Tolima. Acceso: 20 de Junio 2007. Disponible en: <http://www.ut.edu.co/investigacion/grupos/m/mpolen.pdf>.
16. Proyecto de Norma Cubana de Criterios Microbiológico. Alimentos de consumo humano y animal. Elaborado por el CTN No 61. Se encuentra en edición. Ciudad de la Habana. 2007 (Leyva. V comunicación personal)
17. Productos para la colmena. Polen, cosecha y conservación edición n° 58 de apicultura revista los lirios. Acceso: 20 de Junio 2007. Disponible en: [http://www.apicultura.entupc.com/nuestrarevista/nueva/notas/polen\\_cosecha\\_conservacion.htm](http://www.apicultura.entupc.com/nuestrarevista/nueva/notas/polen_cosecha_conservacion.htm).
18. Salamanca, G.; Hernández, V. E. y Fernando, V. E. El polen en el sistema de puntos críticos, cosecha, propiedades y condiciones de manejo. Facultad de Ciencias - Departamento de Química. Universidad del Tolima. Acceso: 20 de Junio 2007. Disponible en:  
a. [http://www.beekeeping.org/articulos/salamanca/polen\\_apicultura.htm](http://www.beekeeping.org/articulos/salamanca/polen_apicultura.htm)..
19. Gilliam, M. y Vandenberg, J.D. Fungi. In: Honeybee Pest, Predators and Diseases (R.A. Morse and R. Nowogradzki eds) Cornell University Press, Ithaca, New York (in press) (citado por Gilliam y colb, 1989)
20. García, G. D.; Roja M.M.A. y Sánchez, J. N. Contenido microbiológico cultivable del contenido del tracto intestinal y polen almacenado de Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). Acta Biológica Colombiana, Vol. 11 No. 1, 2006 123 – 129. . Acceso: 20 Junio 2007. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v11n1/v11n1a10.pdf>.
21. Salamanca, G. y Henao, R. C. A. Aspectos relativos a la microbiología del polen colectado por Apis mellifera y su estabilidad al secado. Universidad del Tolima. Acceso: 20 de Junio 2007. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v11n1/v11n1a10.pdf>.
22. Productos de la colmena, polen. Acceso: 20 de Junio 2007. Disponible en: [http://www.apihelmantica.com/html/productos/productos\\_polen.htm](http://www.apihelmantica.com/html/productos/productos_polen.htm).