

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Caracterización microbiológica del polen de abeja melífera (*Apis mellifera* L.)
comercializado por siete productores apícolas ubicados en los departamentos de
Escuintla, Huehuetenango, Jalapa, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá y
Suchitepéquez.**

**Informe de Tesis presentado por
Pablo César López Cárcamo
Para optar al título de Biólogo.**

Guatemala, noviembre de 2013

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Oscar Cóbar Pinto	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Fayver Manuel De León Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela Córdova Audón	Vocal V

DEDICATORIA

A la Vida por permitirme estar aquí y maravillarme de su esencia.

A mis Padres por darme la vida y su amor, por ser mi primera y más importante fuente de enseñanza.

A Bárbara por estar siempre a mi lado con amor, empujándome a alcanzar mis metas y ser cada día mejor persona y profesional.

A mis hermanos por ser una parte esencial en mi vida, por su amor y amistad.

A todos los colegas que me han enseñado en el camino y que me han dado ánimos para llegar hasta aquí.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Ing. Alejandro Nicol por la confianza depositada en mí para la realización de este proyecto. Al Componente Apícola de la Dirección de Inocuidad del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación por el espacio brindado para la realización de esta investigación. Agradezco a cada uno de los apicultores que donaron sus muestras para la realización de los análisis. Este trabajo fue realizado con el financiamiento del Programa Nacional de Monitoreo de Residuos de MAGA, 2011 y 2012.

Finalmente, un agradecimiento especial a la Dra. Dulce Bustamante, a la Licda. Mabel Vásquez y al Dr. Juan Fernando Hernández por su apoyo en la realización del presente trabajo.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	7
2. INTRODUCCIÓN	9
3. ANTECEDENTES.....	11
3.1. Problema.....	11
3.2. Marco teórico.....	12
3.2.1. La abeja melífera <i>Apis mellifera</i> L.....	12
3.2.2. La apicultura	13
3.2.3. Los productos de la colmena.....	15
3.2.3.1. El polen apícola.....	16
3.2.4. Producción de polen apícola en Guatemala.....	18
3.2.5. Contaminación microbiana en polen apícola.....	18
3.2.6. Normas y muestreos de inocuidad en productos apícolas	22
4. JUSTIFICACIÓN.....	24
5. OBJETIVOS.....	26
5.1. General.....	26
5.2. Específicos.....	26
6. HIPÓTESIS.....	27
7. MATERIALES Y MÉTODOS	28
7.1. Población y muestra.....	28
7.2. Técnicas de recolección de datos.....	28
7.3. Técnicas de análisis de datos	29
7.4. Equipo y materiales	30
7.5. Descripción de sitios de colecta.....	31
8. RESULTADOS.....	35
9. DISCUSIÓN.....	51
10. CONCLUSIONES.....	55
11. RECOMENDACIONES	56

12.	REFERENCIAS	57
13.	ANEXOS	67

1. RESUMEN

Las colmenas de abejas eusociales (Apidae: Apinae) generan gran diversidad de productos comestibles (miel, polen, jalea real y propóleo), que de ser manejados correctamente, pueden ser muy bien aprovechados, tanto para su comercialización como para su consumo familiar a nivel local. El polen, en particular, es un producto con altos valores nutricionales y medicinales, susceptible a contaminación microbiológica si no se procesa de manera adecuada. En Guatemala, el polen de la abeja melífera (*Apis mellifera*) es comercializado por productores apícolas de diferentes regiones del país como producto de consumo humano, sin embargo no existen estudios que describan su estado microbiológico.

Con la realización del presente estudio, se pretendía conocer y describir el estado microbiológico del polen comercializado por siete productores apícolas ubicados en igual número de departamentos. Se pretendía identificar las especies de hongos microscópicos y bacterias potencialmente patógenas en el polen de abeja. Para esto se colectaron muestras de polen directamente con los productores, se realizaron recuentos de unidades formadoras de colonias (UFC) para bacterias y hongos, y se pasó una encuesta dirigida a los apicultores para conocer sobre la metodología para el procesamiento del polen en cada apiario. Para dos apiarios no se logró documentar el manejo del polen. No obstante, estas dos series de muestras arrojaron datos interesantes.

Se identificaron las siguientes especies de mohos: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Así también, en algunas muestras se detectó la presencia de coliformes totales, pero en ninguna muestra se encontró *E. coli*, *S. aureus* ni *Salmonella* sp. El 100 % de las muestras provenientes de los apiarios HUE y SAC cumplieron con los estándares de inocuidad consultados, siendo las muestras más inocuas. El polen de los demás apiarios presentaron más de algún tipo de contaminación con relación a alguna de las tres normas consultadas. Aquellas muestras provenientes de envases nuevos o de productores que lavan con agua y jabón el equipo para la colecta de polen, presentaron

menores niveles de contaminación. Se logró documentar las técnicas de manejo del polen de cinco de los productores que participaron en el presente estudio.

2. INTRODUCCIÓN

Las colmenas de abejas eusociales (Apidae: Apinae) genera gran diversidad de productos comestibles (miel, polen, jalea real y propóleo), que de ser manejados correctamente, pueden ser muy bien aprovechados, tanto para su comercialización como para su consumo familiar a nivel local. El polen, en particular, es un producto con altos valores nutricionales y medicinales (Cocan *et al.*, 2005; Del Risco, 2005; Bogdanov, 2004; Villanueva *et al.*, 2002; Fernandes-Da-Silva & Serrao, 2000; Haro *et al.*, 2000; Serra & Escolá Jordá, 1997 y Herbert & Shimanuki, 1978). El polen es susceptible a contaminación microbiológica con bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Baldi Coronel *et al.*, 2004), debido a la metodología utilizada para su recolección, el equipo y vestuario utilizados en su procesamiento, y el ambiente.

En Guatemala, el polen de la abeja melífera (*Apis mellifera*) es comercializado por productores apícolas de diferentes regiones del país como producto de consumo humano, sin embargo no existen estudios que describan su estado microbiológico. Con ello se resalta la importancia de realizar evaluaciones sobre el estado microbiológico del polen comercializado en el país, ya que a nivel internacional se manejan parámetros de control de calidad para la comercialización de este producto.

Con la realización del presente estudio, se pretendía conocer y describir el estado microbiológico del polen comercializado por siete productores apícolas ubicados en los departamentos de Escuintla, Huehuetenango, Jalapa, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá y Suchitepéquez. No se documentó el manejo del polen para los apiarios de Escuintla y Suchitepéquez. Sin embargo, estos datos no se utilizaron para todos los análisis. Se colectaron muestras de polen directamente con los productores, se realizaron recuentos de unidades formadoras de colonias (UFC) para bacterias y hongos, y se pasó una encuesta a los apicultores para conocer sobre la metodología para el procesamiento o manejo del polen en cada apiario. La información obtenida por la encuesta se relacionó con los análisis microbiológicos realizados.

El desarrollo del presente estudio permitió conocer el estado microbiológico del polen comercializado por siete productores apícolas en igual número de departamentos en Guatemala. Con esto se establece una línea base para que puede servir para la evaluación de la inocuidad del polen producido en Guatemala, y que también sirva de referencia para el polen importado.

3. ANTECEDENTES

3.1. Problema

En Guatemala existen varios apicultores que además de miel, comercializan polen. El polen es recolectado por las abejas obreras de las flores ubicadas dentro de su área de pecoreo y almacenado dentro de su colmena. El mismo es recolectado por los apicultores por medio de trampas que pueden ser de diferente tipo. A su ingreso a la colmena, la carga polínica contiene un alto grado de humedad, por lo que es imprescindible su secado, el cual puede ser por distintos métodos. El polen es limpiado para separar cualquier partícula no comestible como piedras, restos de abejas y otras partículas presentes en un apiario. Posteriormente, el polen se empaca, a granel o en envase fraccionado para su venta al consumidor final.

Todo este proceso implica el contacto del polen con diferentes superficies (trampas, cajas receptoras de polen, envases para traslado, secadora, bandejas para limpieza, empaque final y las manos o guantes del apicultor) que están en riesgo de ser contaminadas por microorganismos. Así, la metodología para el procesamiento del polen es un factor que puede incidir en la contaminación del polen colectado. En Guatemala se desconoce el estado microbiológico del polen que se produce y comercializa a nivel nacional. Esto imposibilita que se proponga una norma de inocuidad que permita a su vez implementar un muestreo con el fin de garantizar su seguridad. Es vital que se conozca el estado microbiológico de un alimento de tan alto valor nutritivo, con una creciente demanda. Esto permitirá que en un futuro se proponga una norma de inocuidad que proteja la salud de los consumidores.

3.2. Marco teórico

3.2.1. La abeja melífera *Apis mellifera* L.

La abeja melífera *Apis mellifera* L. es un insecto perteneciente al orden Hymenoptera, familia Apidae, tribu Apini. Estos insectos se caracterizan por presentar una metamorfosis completa, el metatórax fusionado al primer segmento abdominal y diez a cien tubos de Malpigio como parte de su sistema digestivo. La abeja se distingue por presentar una marcada diferenciación de sexos, un cerebro bien desarrollado, y porque ocurre partenogénesis. *Apis mellifera* es una especie eusocial que, como toda abeja, se alimenta de néctar y polen y posee sentidos bien desarrollados. Están dotadas de avanzados sistemas de comunicación que les permite desde orientarse para la búsqueda de alimento hasta disparar alarmas como por ejemplo para defender la colmena cuando está siendo atacada (OIRSA-BID, 1990b y Le Conte, 2002a). Se distribuyen en prácticamente cualquier sitio en donde habiten humanos, a excepción de las zonas más frías del planeta.

El ciclo de vida de la abeja melífera comprende cuatro estadios: huevo, larva, pupa y adulto. El ciclo de la reina dura 16 días, el del zángano 24 días y el de la obrera 21 días. La reina y la obrera nacen de huevos fecundados, pero la diferencia en la alimentación determina si se desarrolla como una u otra. El zángano nace por partenogénesis, es decir de huevos no fecundados, por lo tanto contienen la mitad del material genético que las reinas o las obreras. Las labores dentro de la colmena están muy marcadas. La reina y los zánganos se encargan de la reproducción, mientras que las obreras, divididas en castas, realizan todos los demás trabajos que incluyen alimentar a las crías, construir el panal, limpiar la colmena, recolectar el néctar y el polen, proteger la colmena, etc. (OIRSA-BID, 1990 y Le Conte, 2002b).

Las abejas son de los insectos más beneficiosos para el ser humano en términos alimenticios y económicos. En el caso de la abeja melífera se consumen los productos que se dan en una colmena, siendo estos miel, polen, jalea real, propóleo, cera, leche de zánganos, etc. (Bruneau, 2002). Por otro, los servicios de polinización se traducen en enormes beneficios obtenidos por la generación de bienes y servicios agrícolas. Para muchos cultivos tales como el girasol, el haba, la colza, el alforfón (Vaissière, 2002), la canola (Sabbahi *et al.*, 2005), la cereza (Evans y Spivak, 2006), la alfalfa (Cane, 2002) y el melón (Di Trani de la Hoz, 2007) los servicios de polinización son fundamentales. Se reportaron beneficios para plantas nativas, *Tritelia laxa* Bentham y *Dinizia excelsa* Ducke en California y la Amazonía (Chamberlain y Schlising, 2008).

3.2.2. La apicultura

La apicultura es una actividad milenaria que se remonta a varios miles de años. Culturas tan diversas y distantes como los egipcios y los mayas ya se dedicaban a ella. Etimológicamente, la palabra apicultura proviene del latín *Apis* (abeja) y *Cultura* (cultivo), es decir el arte y la ciencia que se dedica al cultivo de las abejas o a la cría de abejas. Una definición más completa podría ser la ciencia aplicada que estudia la abeja melífera y que mediante el desarrollo y aplicación de tecnología produce beneficios económicos. La apicultura es una rama de la zootecnia que representa una gran fuente de riqueza por los múltiples beneficios que se pueden obtener a través de la explotación artesanal o industrial (SAG-DICTA, 2005).

Ya desde principios del siglo XX se definían dos tipos de apicultura, la apicultura amateur, que es la más numerosa y se distingue por apiarios con pocas colmenas que producen miel para autoconsumo o una venta del excedente en mercados locales y la apicultura profesional o especializada, de más de 50 colmenas, de la cual depende el mercado de la miel y de los demás productos de la

colmena (Phillips, 1920). La apicultura también puede dividirse en sedentaria cuando la ubicación de la colmena no varía, y en trashumante, si la ubicación del apiario varía siguiendo un patrón geográfico y florístico que permite obtener un máximo de beneficio.

La apicultura, así como la meliponicultura (cría y cultivo de abejas sin aguijón, de la tribu Meliponini) y la bombicultura (cría y cultivo de abejorros, de la tribu Bombini), son sumamente importantes para la humanidad. Quizás la función más importante de las abejas en general (familia Apidae) es que aumentan la productividad de jardines, granjas y ecosistemas naturales por la función que tienen como polinizadores (Vaissière, 2002). En la relación planta abeja, ambos organismos se benefician el uno del otro. La abeja obtiene su energía del néctar y las proteínas importantes para su desarrollo las obtiene del polen. El polen que viaja de flor en flor asegura la fecundación, que dará lugar a la próxima generación de plantas. La miel, el producto estrella de la colmena, es una mercancía bien cotizada, un alimento rico en azúcares de fácil digestión que alimenta tanto a abejas como a seres humanos (Blackiston y Flottum, 2009). La apicultura es una importante actividad pecuaria a nivel mundial, que en el caso de Guatemala representa un importante ingreso para miles de agricultores en todo el país (MAGA, 2013 e Ibarra, 2011).

Según registros del MAGA (2013 y 2011) en 20 de los 22 departamentos del país se ubica una población de por lo menos 2,000 apicultores con más de 60,000 colmenas. Esta cifra puede que sea mucho más elevada. Según Ibarra (2011), sólo en el suroccidente, de la frontera con México a Escuintla, podría haber 50,000 colmenas. En Guatemala los apiarios se distribuyen desde la bocacosta, hasta la sierra de los Cuchumatanes. Guatemala posee una riqueza florística que favorece y distingue su actividad apícola. Anualmente se producen 2,600 toneladas métricas aproximadas de miel (MAGA, 2010). Cada día, mas apicultores diversifican los

productos apícolas debido a la oferta y demanda de éstos, lo que también supone un alza en la producción y demanda de polen (Nicol, 2010).

3.2.3. Los productos de la colmena

La colmena puede considerarse una pequeña unidad productiva que ofrece una diversidad de productos de alto valor alimenticio y medicinal. Además de proporcionarnos miel como producto principal, también se puede obtener polen, jalea real, propóleo, cera y apitoxina. Del mismo modo se pueden comercializar núcleos, colmenas, reinas y el servicio de polinización (SAG-DICTA, 2005). Una colmena manejada adecuadamente puede convertirse en un importante generador de recursos económicos para su propietario.

Durante siglos, la miel fue el único endulzante que servía como alimento y como medicina. Las antiguas culturas indias, chinas, egipcias, griegas, romanas, hebreas y musulmanas ya aprovechaban las propiedades alimenticias y medicinales de la miel. En América, las culturas precolombinas cultivaban abejas meliponas para aprovechar su miel. En África la miel ha sido utilizada tanto por las culturas mediterráneas como por las tribus más primitivas en el centro y el sur del continente (Bogdanov, 2011). La miel se compone principalmente de carbohidratos, pequeñas cantidades de agua y un gran número de compuestos menores como minerales, aminoácidos y proteínas (Bogdanov, 2007).

La jalea real es una sustancia natural producida por las glándulas de las abejas obreras debido a la fermentación de polen y miel (Van Toor, 2006). El propoleo es una sustancia oscura y viscosa de consistencia resinosa con que las abejas protegen el interior de la colmena, tapando grietas y orificios en los cuadros y paredes, aislando su interior de condiciones atmosféricas e intrusos y agentes infecciosos (Ara, 2003). Tanto la miel como el propoleo y la jalea real son importantes no solo por sus cualidades alimenticias, sino también por sus

propiedades medicinales antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas y antivirales, entre otras. Estas propiedades se deben principalmente a la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides (Viuda-Martos *et al.*, 2008).

La cera de abeja es el segundo producto de importancia de la colmena. Además de su uso en la apicultura, se utiliza en la industria cosmética y farmacéutica, para la elaboración de velas, arte y otros usos (Bogdanov, 2007 y 2004). La apitoxina o veneno de la abeja es una mixtura compleja de enzimas, péptidos, aminoácidos, carbohidratos y lípidos que puede ser utilizada para tratar reumatismo, sinusitis y otras dolencias en el sistema respiratorio y digestivo (Callegari *et al.*, s.f.). Los demás productos de la colmena como núcleos, colmenas, reinas, son fundamentales en el desarrollo interno de la apicultura.

Los servicios de polinización que brinda la apicultura son vitales para la humanidad. En las plantas polinizadas por abejas se traducen en frutas, vegetales y semillas, no solo para la alimentación humana, sino para la alimentación de mascotas y ganado que se crían por diversión o para consumo (James y Pitts-Singer, 2008).

3.2.3.1. El polen apícola

El polen es el gametofito masculino de las plantas con flor. Por su alto contenido energético, el polen es colectado y almacenado como fuente de alimento por numerosos insectos, tal es el caso de la abeja melífera (Bogdanov, 2004). El polen es esencial para que las abejas obreras completen su desarrollo en sus primeros días de vida y además le sirve a las abejas nodrizas para producir las proteínas de la jalea real (Le Conte, 2002a). Por su valor nutritivo es aprovechado por los seres humanos que lo colectan en sus apiarios.

El polen fresco es colectado en trampas especiales, que pueden estar ubicadas en la piquera, en el piso o en el techo de la colmena. Los rendimientos son variables (Bogdanov, 2004). Después de su colecta, el polen debe ser congelado por 48 horas para matar cualquier plaga y posteriormente, secado a una temperatura máxima de 40°C para no dañar sus propiedades. El polen seco es limpiado de todas las partículas extrañas y finalmente se envasa y comercializa (Bruneau, 2002).

El polen apícola ha sido utilizado desde tiempos ancestrales con fines alimenticios y médicos. Los datos revisados por Stanley y Linskens (1984), citados en Linskens y Jorde (1997) muestran que los contenidos de proteínas, grasas, fósforo y hierro en el polen, hacen que su valor nutricional sea comparable al del frijol, las arvejas y las lentejas, y que tiene más calcio y magnesio que las legumbres.

El polen apícola es rico en vitaminas y minerales (Baldi Coronel *et al.*, 2004) y contiene más ácido pantoténico que la carne, los huevos, la coliflor, la papa y el tomate, similares cantidades de ácido nicoténico que la carne y el hígado de res, así como de ácido ascórbico que la lechuga, la papa y el tomate. Únicamente la levadura tiene más cantidades de riboflavina. La alta concentración de vitamina B12 es una de las razones de su valor medicinal (Linskens y Jorde, 1997).

Aunque el valor nutritivo del polen apícola es ampliamente aceptado, su valor medicinal aún es discutido. No obstante agencias como el Consejo Federal de Salud de Alemania reconoce su uso oficial como medicina y numerosos estudios han reportado que puede ser beneficioso, como tónico vigorizante, como estimulante del apetito, como anticongestionante y antiflogístico, o para tratar casos de prostatitis y de úlceras gástricas. En animales se ha mostrado que puede ser útil para tratar el mal de altura

(Linskens y Jorde, 1997). El polen apícola tiene efectos antimicrobianos pero sobre todo es conocido como suplemento energético (Öscan *et al.*, 2004).

3.2.4. Producción de polen apícola en Guatemala

En Guatemala, numerosos apicultores han incursionado en la producción de polen, como una alternativa económica en sus unidades productivas. Los principales departamentos productores son: Sacatepéquez, Sololá, Suchitepéquez, Escuintla, Quetzaltenango, Quiché, Huehuetenango y recientemente Jalapa. La demanda nacional es creciente y la producción no llega a abastecer el mercado local. Esto ha obligado a que se importe polen de países como China. En Guatemala el polen apícola se consume como alimento pero también es un ingrediente para la elaboración de medicamentos. No obstante, el país carece de normas que regulen su calidad e inocuidad. Como es bien sabido todo alimento debe ser inocuo, es decir que debe garantizar que no causará ningún daño al consumidor cuando se prepare y/o consuma de acuerdo al uso a que se destinan (MAGA, 2006).

3.2.5. Contaminación microbiana en polen apícola

El polen recién colectado por las abejas contiene de 20 a 30 por ciento de agua. Dicho porcentaje de humedad, lo transforma en un medio de cultivo potencial, con condiciones ideales para el crecimiento de microorganismos (Bogdanov, 2004).

Mohos

Los mohos del género *Alternaria* causan principalmente enfermedades en plantas y son la principal fuente de contaminación en avena, sorgo y cebada (Deshpande, 2002). Sin embargo, existe poca información relativa a los efectos de

las micotoxinas de estos hongos en el ser humano. Según la Autoridad Europea de Inocuidad de los Alimentos (EFSA, 2011) la exposición alimentaria a estas toxinas es baja y por lo tanto se considera poco probable que sea un problema para la salud humana.

Las micotoxinas, subproductos del metabolismo de los hongos, pueden afectar la salud de las personas. A pesar de que se conocen entre 300 y 400 tipos de micotoxinas, únicamente alrededor de diez se asocian con problemas de salud pública. Las micotoxinas más conocidas son las de la familia de las aflatoxinas (B1, B2, G1 y G2) las cuales son producidas por varias especies de *Aspergillus*, pero en particular por *Aspergillus flavus*. A pesar de que la aflatoxicosis es muy rara, la ingesta de aflatoxinas puede derivar en cáncer como resultado de la exposición crónica. La forma más común de enfermedad asociada con la ingesta de aflatoxinas es el cáncer de hígado, sin embargo, también pueden estar implicadas en otras formas de cáncer. Debido a que las especies de *Aspergillus* son ubicuas, es imposible evitar la contaminación de los alimentos. Sin embargo, esta contaminación puede ser minimizada por el uso de procedimientos estrictos de producción, transformación, envasado y almacenamiento, así como de controles específicos (Sullivan, 2005).

Del mismo modo, *Fusarium* es una plaga en plantas. Es una plaga importante en el maíz y avena (Ellin Doyle, 1997). Por lo menos tres de las principales micotoxinas que causan problemas de salud son producidas por *Fusarium*: fumonisinas, deoxinivalenol (DON) y zearalenone (ZON). Las fumonisinas han sido asociadas con cáncer de hígado, cáncer de esófago y defectos del tubo neural. Las DON no ha mostrado potencial carcinogénico, sin embargo se consideran moduladores inmunológicos y producen vómitos y retraso del crecimiento en animales. Las ZON son sustancias químicas alteradoras endocrinas. No obstante, a pesar de que *Fusarium* es una plaga de importancia comercial, que

produce micotoxinas que podrían afectar la salud de los seres humanos, los efectos de estas aún no han sido bien estudiados (Shephard, 2012).

Ciertas especies del género *Mucor* son causantes de la mucormicosis, rara infección que puede afectar a personas con el sistema inmune comprometido. Normalmente la mucormicosis se contrae por inhalar esporas o por contacto ingresando al cuerpo por cortaduras, raspones u otras formas de trauma en el cuerpo. Los síntomas dependen de dónde se presente la infección. Cuando la infección es en el tracto respiratorio puede presentarse fiebre y dolor de cabeza. Cuando la infección es cutánea la piel puede parecer como ampollas, úlceras y en algunos casos la piel se torna de color negro (CDC, 2011).

Algunas especies de *Penicillium* pueden producir ocratoxinas, siendo la ocratoxina A la más tóxica. Se ha demostrado que las ocratoxinas son nefrotóxicas, inmunosupresoras, carcinogénicas y teratogénicas. En Italia se reportó un caso de insuficiencia renal aguda que muy probablemente se produjo después de que la persona inhalara ocratoxinas provenientes de un granero (Peraica *et al.*, 1999). La Agencia Internacional de Investigación de Cáncer clasificó a la ocratoxina A como una sustancia posiblemente carcinogénica para los seres humanos (IARC, 1993).

Los alcaloides del cornezuelo son producidos por especies de *Rhizopus*. Se conocen alrededor de 40 tipos de alcaloides del cornezuelo. Dichos alcaloides producen ergotismo, cuyos síntomas varían dependiendo del tipo de alcaloide. El ergotismo es muy raro hoy en día, sobre todo por los procedimientos de limpieza en la producción de alimentos. Además dichos alcaloides son fácilmente destruidos por la acción del calor (Peraica *et al.*, 1999).

Bacterias

El recuento aeróbico en placa es una forma de estimación indirecta del número de microorganismos en alimentos. La carga bacteriana puede indicar si un alimento está deteriorado o puede ayudar a determinar su vida útil y evaluar su inocuidad. Del mismo modo, los recuentos indican si las condiciones en las que el alimento se produjo fueron adecuadas (Banwart, 1989).

Los coliformes totales comprenden un grupo de bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios. La mayoría de coliformes pueden encontrarse en la flora intestinal de los animales y son expulsados en las heces por lo que son el grupo más ampliamente utilizado en la microbiología de los alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas. Los coliformes pueden habitar otros ambientes por lo se diferencian entre coliformes totales y coliformes fecales (Camacho *et al.*, 2009).

Escherichia coli es un habitante normal del tubo intestinal de los animales, incluyendo al hombre. A pesar de ser un habitante normal de la flora intestinal, *E. coli* puede estar asociada a diversas condiciones patológicas tanto del hombre como animales. Se conoce como colibacilosis al grupo de enfermedades causadas por *E. coli* y sus manifestaciones más comunes son la diarrea, el síndrome disentérico que puede derivar en disentería, tenesmo, hiperpirexia e hipotensión (López-Álvarez, 1976). *E. coli* O157 H7 es un serotipo relacionado con infecciones graves en el hombre producidas por agua o alimentos contaminados. Este microorganismo es la causa principal causa de colitis hemorrágica. Hasta el presente este es el serotipo más frecuentemente aislado en brotes epidemiológicos (Rubaglio & Tesone, 2007). *Escherichia coli* O157:H7 es de las bacterias patógenas más tóxicas. Produce una potente toxina que puede causar enfermedades como el síndrome urémico hemolítico (Chamorro, 2009, Barslund et al, 2007, Rivero et al., 2004).

Staphylococcus aureus es un microorganismo de gran importancia médica. Desde hace muchos años es reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano. *S. aureus* es un coco gram-positivo no móvil que no forma esporas, puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos. Es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. *S. aureus* posee un alto grado de patogenicidad y es responsable de una amplia gama de enfermedades tales como bacteremia, endocarditis y neumonía (Kanafani & Fowler, 2006). Entre otros, provoca intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos (Bustos-Martínez *et al.*, 2006). En los países tropicales el aislamiento de *S. aureus* en alimentos, es mayor que en otras regiones. Su control en alimentos es importante para evaluar la efectividad de las medidas sanitarias aplicadas en la preparación de alimentos (Carrera Vara *et al.*, 1998). *Staphylococcus aureus* es otro patógeno versátil, muy virulento que dispone de varios mecanismos de resistencia (Kanafani & Fowler, 2006).

La salmonelosis, infección de origen alimentario causada por *Salmonella* sp., es una de las principales causas de gastroenteritis en seres humanos. El género *Salmonella* está constituido por bacilos cortos Gram negativos no esporoformadores, anaerobios facultativos, estrechamente relacionados morfológica y fisiológicamente con otros géneros de la familia Enterobacteriaceae a la que pertenecen. *Salmonella* causa un amplio número de manifestaciones clínicas en los humanos, tales como fiebres entéricas, gastroenteritis, bacteriemia, infecciones localizadas, y estado de portador crónico. La infección debida a serovariedades no tíficas de *Salmonella* spp. representa un problema de salud pública nacional (Uribe *et al.*, 2006).

3.2.6. Normas y muestreos de inocuidad en productos apícolas

Las normas internacionales de polen incluyen aspectos de calidad e inocuidad. Generalmente, se titulan y codifican, según los criterios de cada país. Se

señala el objeto y el campo de aplicación. Se describe la naturaleza del producto y sus principales características físico-químicas, microbiológicas y organolépticas. Aquí se detallan las especificaciones microbiológicas y los límites máximos permisibles de productos agroquímicos.

Para el caso del polen se establecen máximos, en unidades formadoras de colonias, para microbios aerobios mesófilos, mohos y levaduras y *S. aureus* y se especifica que *Salmonella* spp, *E. coli* O157:H7 y coliformes fecales debe estar ausentes. Se mencionan muestreos y métodos de análisis, así como aspectos de etiquetado y otros anexos pertinentes. Para elaborar las normas reutilizan datos de muestras locales y datos publicados en otras normas internacionales regionales.

Para esta investigación se utilizaron las normas de El Salvador, México y Argentina, por ser países latinoamericanos que tienen mayor adelanto en el tema. A continuación se presenta una tabla que contiene los máximos para cada una de ellas, según el tipo de microorganismo.

Tabla 1 Valores de referencia. Límites máximos permisibles -LMP- de microbiota expresados en UFC para El Salvador, Argentina y México..

NORMA	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales / enterobacterias	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
Norma Salvadoreña	300	10000	Ausencia	Ausencia	----	Ausencia
Norma Argentina	100	150000	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Norma Mexicana	300	10000	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: NSO 65.38.01:05 SV, Código Alimentario Argentino. Capítulo X, Art. 785 AR y NMX-FF-094-1998-SCFI MX

4. JUSTIFICACIÓN

El polen de abejas es un producto con alto valor alimenticio rico en aminoácidos, minerales, vitaminas, hormonas, azúcares y almidón (Campos *et al.*, 2008; Del Risco, 2005; Prado, 2005; Bastos *et al.*, 2004; Bogdanov, 2004; Orzáez Villanueva *et al.*, 2002; Fernandes-Da-Silva & Serrao, 2000; Serra-Bonvehi & Escolá Jordá, 1997; Linskens & Jorde, 1997; Brown *et al.*, 1994 y Bell *et al.*, 1983). Ayuda a reducir la anemia, a estimular el apetito, a tratar la prostatitis, úlceras gástricas y el mal de altura (Linskens & Jorde, 1997). Constituye un excelente complemento nutricional para las familias de los apicultores guatemaltecos que lo consumen, y una alternativa económica viable para aquellos que lo comercializan. Procurar su inocuidad es importante para proteger la salud de los consumidores.

En países como España, Suiza, Alemania, Francia, Argentina y Estados Unidos, por mencionar a unos pocos, el polen de abeja se consume como suplemento nutricional y como medicamento alternativo (Bruneau, 2002). Tradicionalmente en Guatemala, el polen de abeja es consumido por un reducido grupo de aficionados, que buscan alternativas alimenticias sanas, y algunos laboratorios farmacéuticos lo han utilizado para formular suplementos alimenticios. Según Nicol (2010), a finales del 2009, uno de los mayores fabricantes guatemaltecos de trampas para coleccionar polen colocó en el mercado 1500 trampas, lo que supone un aumento significativo, a nivel nacional, en su recolección y consiguiente comercialización. Es importante que las autoridades guatemaltecas competentes protejan la salud de los consumidores mediante el monitoreo de la inocuidad del polen de abeja, tanto si se produce en el territorio nacional, como el que se pretende importar, basado en un marco técnico-jurídico evaluador.

Lamentablemente, en Guatemala no se cuenta con datos para sustentar los instrumentos técnico-legales que permitan normar el monitoreo de la inocuidad del polen de abeja, así como su producción y comercialización, en función de la protección de la salud de los consumidores. El presente estudio se convierte en una excelente oportunidad para generar

dichos datos mediante un estudio microbiológico, para que el polen sea incluido en el monitoreo oficial anual de la inocuidad de la miel, fortaleciendo así al sector apícola guatemalteco. Para la Unidad de Normas y Regulaciones -UNR- del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación -MAGA- es importante contar con criterios técnicos basados en resultados de investigaciones científicas realizadas en nuestro país, para normar las actividades apícolas. De esta manera, Guatemala se posicionará entre los países a nivel mundial que cuentan con instrumentos que normen y vigilen la calidad e inocuidad del polen de abeja, con lo cual se permita comercializar este producto a nivel nacional e internacional.

5. OBJETIVOS

5.1. General

Caracterizar la composición de microorganismos presentes en el polen de abeja comercializado en siete departamentos de Guatemala.

5.2. Específicos

- 5.2.1. Identificar especies de hongos microscópicos y bacterias potencialmente patógenas en el polen de abeja.
- 5.2.2. Documentar las técnicas de manejo del polen de los productores estudiados.
- 5.2.3. Determinar si la composición de especies de microorganismos presentes en el polen, está relacionada con el apiario de origen.
- 5.2.4. Generar información para la formulación de una línea base para el monitoreo de la inocuidad microbiológica del polen de abeja comercializado en Guatemala.

6. HIPÓTESIS

La composición de la microbiota del polen es similar en los apiarios estudiados de Huehuetenango, Jalapa, Sacatepéquez, San Marcos y Sololá, y cumple con los estándares de inocuidad internacionales.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Población y muestra

Población: polen de apiarios con producción para consumo humano en Guatemala.

Muestra: polen de siete apiarios, para consumo humano en Guatemala, distribuidos en los departamentos de Huehuetenango, Jalapa, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá, Escuintla y Suchitepéquez.

Los criterios a utilizar para la selección de los apiarios fueron los siguientes:

1. apicultores con más de tres años de experiencia en el manejo de polen, 2. apiarios con más de diez colmenas, 3. polen que se comercializa a granel u otras presentaciones, 4. Accesibilidad (camino de acceso).

7.2. Técnicas de recolección de datos

Se extrajo como mínimo 100 g de polen listo para el despacho al consumidor. Esta fue la cantidad mínima necesaria para realizar los distintos ensayos. Se seleccionaron productores conocidos en el mercado nacional. Se tomaron tres muestras de tres lotes distintos de cada productor. De este modo se colectaron 45 muestras de la siguiente manera: 5 apiarios * 3 lotes * 3 muestras. De esa forma las variables fueron: presencia/ausencia del patógeno X o moho o levadura Y y número de UFC de patógeno X o moho o levadura Y. Las muestras fueron depositadas en frascos estériles que se conservaron en termos o hieleras a bajas temperaturas, hasta ser trasladados al laboratorio. Allí se realizó la batería de análisis que permitió conocer su estado microbiológico. Los resultados fueron comparados entre unidades de producción.

A cada productor se le realizó una entrevista que permitió obtener la información sobre el manejo utilizado para la colecta del polen. Esto permitió describir su manejo. En el anexo se incluye la boleta que se utilizó como guía.

7.3. Técnicas de análisis de datos

De cada muestra se pesaron 25 g de polen apícola y se disolvieron en 225 ml de agua peptonada alcalina al 10 % m/v, se dejaron en reposo aproximadamente de 45 a 60 minutos hasta lograr una buena dilución del producto y de allí se tomaron las alícuotas que se sembraron en los agares específicos (Baldi Coronel *et al.*, 2004).

Tanto para bacterias, mohos y levaduras, se utilizó la metodología aconsejada por FAO (1981): medio agar para recuento en placa, 35°C, 72 horas (FAO, 1981); los resultados se expresaron en UFC/g. Para coliformes totales se utilizó como medio Caldo McConkey, 37°C, 48 horas (FAO, 1981). Para coliformes fecales se utilizó como medio Caldo EC, 45,5°C, 48 horas (FAO, 1981). Para los mohos y levaduras se utilizó agar extracto de levadura glucosa cloranfenicol. Las placas fueron incubadas en oscuridad a 25-28°C, durante de 4 a 7 días (Baldi Coronel *et al.*, 2004).

Estos microorganismos son algunos de los que frecuentemente ocurren en los alimentos. Los que se enlistan son los que se consideraron para el caso del polen apícola (NSO 65.38.01:05, N-CIN 67.01.121:05, González *et al.*, 2005, Prado, 2005, Baldi *et al.*, 2004 y Bucio Villalobos, s.f.).

Se enlistaron las especies de hongos microscópicos y bacterias potencialmente patógenas identificadas en cada muestra. Se determinó si las muestras cumplían con los estándares sanitarios determinados por las normas salvadoreña (NSO 65.38.01:05), argentina (Código Alimentario Argentino. Capítulo X, Art. 785) y mexicana (NMX-FF-094-1998-SCFI) (ver tabla 1). El cumplimiento

se evaluó para cada tipo de microorganismo y para cada muestra, siendo las variables de respuesta cumple y no cumple, según los límites establecidos. Esto nos permitió discutir en torno a una línea base que sirva para el control y muestreo de la inocuidad del polen apícola.

Se documentaron las técnicas de manejo del polen de cinco de los apicultores que participaron en el estudio. La caracterización constó de una sección de información general, una de manejo del polen (en donde se recabó información relacionada con los hábitos higiénicos de los productores, el estado sanitario del equipo y materiales utilizados durante la colecta de polen, el material de empaque y el área de almacenamiento) y una de datos ambientales relevantes (de las proximidades de los apiarios, fuentes de contaminación, tipo de cultivos en los alrededores, etc.)

Esta información sirvió para inferir relaciones entre el estado sanitario de las muestras y los hábitos higiénicos de los apicultores entrevistados. Este análisis no se realizó con las muestras de los apiarios adicionales ya que no se entrevistó a los productores. Los datos generados en la presente investigación sirven para establecer una línea base que permitirá muestrear, *a posteriori*, la inocuidad del polen de abeja comercializado en Guatemala.

7.4. Equipo y materiales

- Polen apícola
- Frascos estériles de 50 ml
- Marcador
- Bolsas plásticas
- Etiquetas
- Hielera
- Lápiz
- Lapicero
- Cinta adhesiva
- Guía de entrevista
- Libreta de apuntes
- Refrigerador
- Cajas de Petri (Placas)
- Agares específicos

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Guías de identificación
- Laptop
- Impresora
- Papel
- Tinta
- Velo, overol, guantes, ahumador

7.5. Descripción de sitios de colecta

Apiario SOL

El apiario SOL se compone de 93 colmenas ubicadas cerca de la aldea Xecruz, municipio de San Pedro La Laguna, Sololá, situado entre cafetales y maizales, con presencia de vegetación silvestre, propia del bosque húmedo montano bajo subtropical, según la clasificación de zonas de vida de Holdridge. No se identificó una fuente de contaminación próxima, no obstante, a unos 4 kilómetros se ubica un basurero municipal. Las principales fuentes de agua son algunos riachuelos y quebradas y el lago de Atitlán.

Apiario JAL

El apiario JAL se compone de 100 colmenas ubicadas en la periferia del caserío Los Llanitos, en el municipio de Mataquescuintla, departamento de Jalapa, rodeado de cafetales y sembradíos de tomate, con regular presencia de vegetación silvestre, propia del bosque húmedo subtropical templado, según la clasificación de zonas de vida de Holdridge. La principal fuente de agua es un riachuelo cercano. A pesar de que no se identificó una fuente de contaminación cercana, el apicultor encargado señaló como una posible fuente de contaminación el mismo riachuelo que surte de agua, debido al supuesto de que la mayoría de cuerpos de agua del país tienen algún grado de contaminación.

Apiario HUE

El apiario HUE se compone de 35 colmenas ubicadas en las afueras de la aldea La Cruz de Quev, en el municipio de Cuilco, departamento de Huehuetenango, rodeado de maizales y cultivos de frijol y rosa de Jamaica, con regular presencia de vegetació silvestre, propia del bosque seco subtropical, según la clasificación de zonas de vida de Holdridge. La principal fuente de agua es el río Cuilco cuyas aguas tienen cierto grado de contaminación. No se detectó algna otra fuente de contaminación próxima.

Apiario SNM

El apiario SNM se compone de 60 colmenas ubicadas en el parcelamiento Sallamhnos, en el municipio de Malacatán, departamento de San Marcos, rodeado de maizales y cultivo de hule, así como vegetación silvestre, propia del bosque muy húmedo subtropical cálido, según la clasificación de zonas de vida de Holdridge. Las principales fuentes de agua son algunos riachuelos. No se detectó algna fuente de contaminación directa.

Apiario SAC

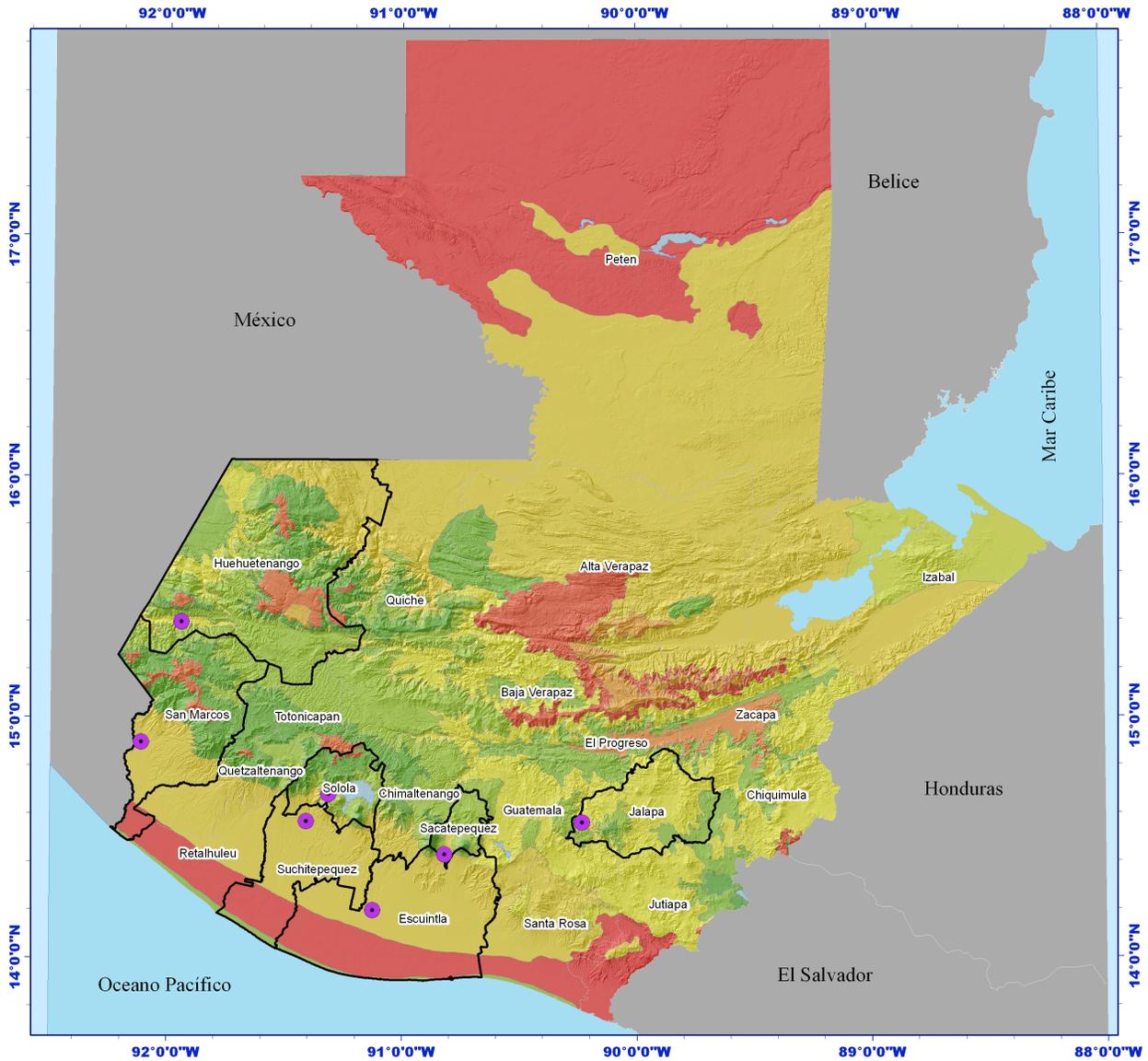
El apiario SAC se compone de 120 colmenas ubicadas en la periferia de Alotenango, en el municipio del mismo nombre, departamento de Sacatepéquez, situado entre cafetales, maizales y cultivos de hortalizas y cítricos, con escasa presencia de vegetación silvestre, propia del bosque húmedo subtropical cálido, según la clasificación de zonas de vida de Holdridge. Las principales fuentes de agua son riachuelos y quebradas. A pesar de que no se identificó una fuente de contaminación cercana, el apicultor encargado señaló como una posible fuente de contaminación el mismo riachuelo que surte de agua, debido al supuesto de que la mayoría de cuerpos de agua del país tienen algún grado de contaminación.

Apiarios ESC y SUC

Los apiarios ESC, ubicado en el municipio de Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla y SUC, ubicado en el municipio de San Antonio Suchitepéquez, Suchitepéquez, no se evaluaron de forma sistemática como los apiarios anteriores. Por tal razón no se incluye su descripción detallada, ni los datos relacionados con el manejo de polen ni tampoco relaciones entre su microbiota y su manejo.

El mapa 1 indica el sitio en donde se ubican los apiarios de donde provinieron las muestras utilizadas. Se identifican también las zonas de vida según Holdridge.

Mapa 1 Ubicación de apiarios y zonas de vida.



Simbología	
	Muestreo Apícola
	Departamento Muestreado
	Limite Departamental
Zonas de Vida	
	AGUA
	Bosque húmedo Montano Bajo Subtropical
	Bosque húmedo Montano Subtropical
	Bosque húmedo Subtropical (cálido)
	Bosque húmedo Subtropical (templado)
	Bosque muy húmedo Montano Bajo Subtropical
	Bosque muy húmedo Montano Subtropical
	Bosque muy húmedo Subtropical (cálido)
	Bosque muy húmedo Subtropical (frío)
	Bosque muy húmedo Tropical
	Bosque pluvial Montano Bajo Subtropical
	Bosque pluvial Subtropical
	Bosque seco Subtropical
	Monte espinoso Subtropical

Proyección Cartografica
Cuadrícula Geografica, Datum Horizontal WGS84
Escala de Generación 1:50 000

Kilometros

Fuente: Dirección Inocuidad de los Alimentos Guatemala, Enero 2013/SIGZ/villalta

Fuente: datos experimentales.

8. RESULTADOS

Para el presente estudio se colectaron muestras en siete apiarios ubicados en San Juan La Laguna, Sololá (apiario SOL); Jalapa, Jalapa (JAL); Cuilco, Huehuetenango (HUE); Malacatán, San Marcos (SNM); Alotenango, Sacatepéquez (SAC); San Antonio Suchitepéquez, Suchitepéquez (SUC) y Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla (ESC). Se entrevistó a cinco de los apicultores involucrados, responsables de los apiarios SOL, SAC, JAL, HUE y SNM. A todas las muestras se le realizaron los análisis microbiológicos con lo cual se pudo determinar el estado de la microbiota para cada apiario. No obstante, los apiarios ESC y SUC no se analizaron sistemáticamente ni se obtuvo datos relacionados con el manejo del polen.

En total se recolectaron 50 muestras de polen apícola: 9 muestras (3 muestras de 3 lotes distintos) del apiario SOL, 9 muestras (3 muestras de 3 lotes distintos) del apiario JAL, 9 muestras (3 muestras de 3 lotes distintos) del apiario HUE, 9 muestras (3 muestras de 3 lotes distintos) del apiario SNM, 6 muestras (3 muestras de 2 lotes distintos) del apiario SAC, 4 muestras (4 muestras de un mismo lote) del apiario SUC y 4 muestras (4 muestras de un mismo lote) del apiario ESC.

Microbiología: hongos microscópicos y bacterias patógenas por apiario

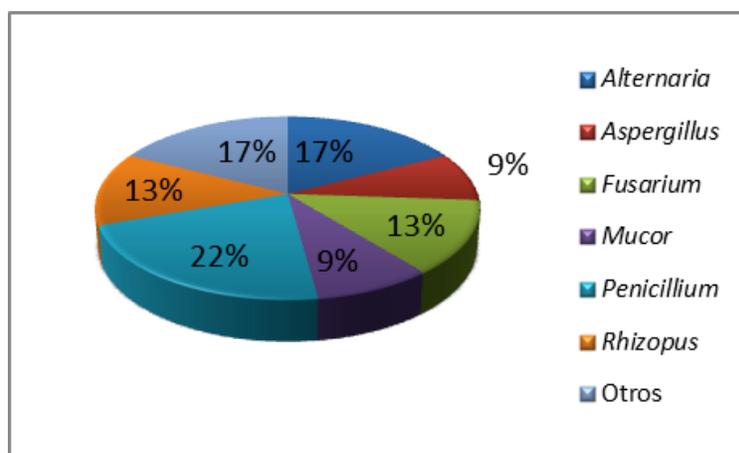
Las muestras del apiario SOL se tomaron de frascos reciclados de vidrio, presentación que se utilizaba para la venta al por menor en el momento de la colecta. Todas las muestras presentaron una carga de mohos y levaduras que osciló entre 30 y 280 UFC/g. Se detectaron hongos de los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* y otros. El recuento aeróbico en placa varió entre < 20 y 90 UFC/g. No se detectó la presencia de *S. aureus*, *E. coli* ni *Salmonella* sp. Sin embargo, cuatro muestras presentaron niveles de coliformes totales que variaron entre 10 y 70 UFC/g. En las tablas 2 y 10 y la figura 1 se muestran los detalles de los resultados.

Tabla 2 Mohos y levaduras, recuento aeróbico en placa y bacterias (coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.) en UFC/g, por muestra en apiario SOL.

Muestra	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
SOL1	40	40	10	<10	<10	Ausencia
SOL2	50	<20	<10	<10	<10	Ausencia
SOL3	30	40	<10	<10	<10	Ausencia
SOL4	70	40	<10	<10	<10	Ausencia
SOL5	110	30	60	<10	<10	Ausencia
SOL6	280	90	30	<10	<10	Ausencia
SOL7	200	30	70	<10	<10	Ausencia
SOL8	80	40	<10	<10	<10	Ausencia
SOL9	90	30	<10	<10	<10	Ausencia

Fuente: datos experimentales.

Figura 1 Porcentaje de ocurrencia de hongos microscópicos en el apiario SOL.



Fuente: datos experimentales.

Las muestras del apiario JAL se tomaron de bolsas plásticas nuevas selladas, presentación para la venta al por menor. Todas las muestras presentaron una carga de mohos y levaduras que osciló entre 90 y 180 UFC/g. Se detectaron hongos de los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* y otros. El recuento aeróbico en placa varió entre menor a 10 y hasta 60 UFC/g. No se detectó la presencia

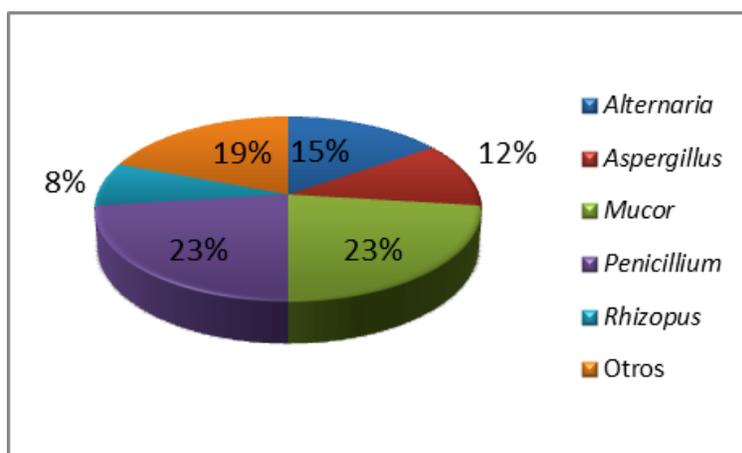
de *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp., ni coliformes totales. En las tablas 3 y 10 y la figura 2 se muestran los detalles de los resultados.

Tabla 3 Mohos y levaduras, recuento aeróbico en placa y bacterias (coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.) en UFC/g, por muestra en apiario JAL.

Muestra	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
JAL1	90	50	<10	<10	<10	Ausencia
JAL2	120	30	<10	<10	<10	Ausencia
JAL3	90	<10	<10	<10	<10	Ausencia
JAL4	180	60	<10	<10	<10	Ausencia
JAL5	150	40	<10	<10	<10	Ausencia
JAL6	120	40	<10	<10	<10	Ausencia
JAL7	110	30	<10	<10	<10	Ausencia
JAL8	90	50	<10	<10	<10	Ausencia
JAL9	120	40	<10	<10	<10	Ausencia

Fuente: datos experimentales.

Figura 2 Porcentaje de ocurrencia de hongos microscópicos en el apiario JAL.



Fuente: datos experimentales.

Todas las muestras de polen del apiario HUE se tomaron de frascos nuevos de plástico, presentación para la venta al por menor. Únicamente una muestra de polen presentó una carga de mohos y levaduras igual a 10 UFC/g. La ausencia de mohos y

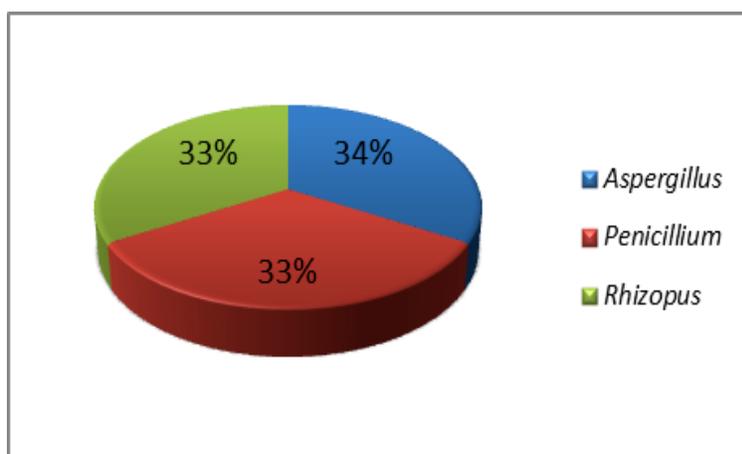
levaduras se cuantificó como cargas menores a 10 UFC/g. Se detectaron hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Dos muestras presentaron un recuento aeróbico en placa de 30 y 1800 UFC/g. No se detectó la presencia de *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp., ni coliformes totales. En las tablas 4 y 10 y la figura 3 se muestran los detalles de los resultados.

Tabla 4 Mohos y levaduras, recuento aeróbico en placa y bacterias (coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.) en UFC/g, por muestra en apiario HUE.

Muestra	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
HUE1	<10	30	<10	<10	<10	Ausencia
HUE2	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
HUE3	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
HUE4	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
HUE5	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
HUE6	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
HUE7	<10	1800	<10	<10	<10	Ausencia
HUE8	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
HUE9	10	<10	<10	<10	<10	Ausencia

Fuente: datos experimentales.

Figura 3 Porcentaje de ocurrencia de hongos microscópicos en el apiario HUE.



Fuente: datos experimentales.

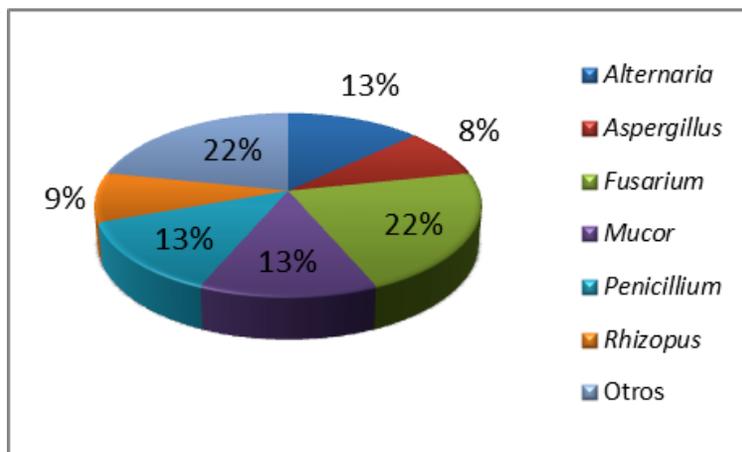
Todas las muestras del apiario SNM se tomaron de bolsas plásticas grandes, presentación para su venta a granel. Todas las muestras presentaron una carga de mohos y levaduras que fluctuó entre 30 y 170 UFC/g. Se detectaron hongos de los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* y otros. El recuento aeróbico en placa osciló entre menos de 10 a 120 UFC/g. No se detectó la presencia de *S. aureus*, *E. coli* ni *Salmonella* sp. Sin embargo, dos muestras presentaron niveles de coliformes totales que de 10 y 40 UFC/g. En las tablas 5 y 10 y la figura 4 se muestran los detalles de los resultados.

Tabla 5 Mohos y levaduras, recuento aeróbico en placa y bacterias (coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.) en UFC/g, por muestra en apiario SNM.

Muestra	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
SNM1	80	60	40	<10	<10	Ausencia
SNM2	30	120	10	<10	<10	Ausencia
SNM3	80	50	<10	<10	<10	Ausencia
SNM4	50	40	<10	<10	<10	Ausencia
SNM5	170	<10	<10	<10	<10	Ausencia
SNM6	40	40	<10	<10	<10	Ausencia
SNM7	80	40	<10	<10	<10	Ausencia
SNM8	50	60	<10	<10	<10	Ausencia
SNM9	110	60	<10	<10	<10	Ausencia

Fuente: datos experimentales.

Figura 4 Porcentaje de ocurrencia de hongos microscópicos en el apiario SNM.



Fuente: datos experimentales.

Del apiario SAC únicamente se colectaron seis muestras de dos lotes distintos ya que al momento de la colecta, el apicultor no disponía de más lotes. Todas las muestras se tomaron de bolsas Ziploc® nuevas, presentación para su venta al por menor. En las muestras del apiario SAC no se detectaron mohos ni levaduras. El recuento aeróbico en placa estuvo por debajo de las 10 UFC/g. Tampoco se detectó la presencia de *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp., ni coliformes totales. En la tabla 6 se muestran los detalles.

Tabla 6 Mohos y levaduras, recuento aeróbico en placa y bacterias (coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.) en UFC/g, por muestra en apiario SAC.

Muestra	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
SAC1	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
SAC2	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
SAC3	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
SAC4	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
SAC5	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
SAC6	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia

Fuente: datos experimentales.

Del apiario SUC se colectaron 4 muestras provenientes de un mismo lote a solicitud del productor. Todas las muestras se tomaron de una bolsa de plástico, presentación de

su venta a granel. En estas muestras no se detectaron hongos. El recuento aeróbico en placa osciló entre 10 y 50 UFC/g. No se detectó la presencia de *S. aureus*, *E. coli* ni *Salmonella* sp. No obstante, una muestra presentó un nivel de coliformes totales de 90 UFC/g. En la tabla 7 se muestran los detalles.

Tabla 7 Mohos y levaduras, recuento aeróbico en placa y bacterias (coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.) en UFC/g, por muestra en apiario SUC.

Muestra	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
SUC1	<10	50	90	<10	<10	Ausencia
SUC2	<10	20	<10	<10	<10	Ausencia
SUC3	<10	40	<10	<10	<10	Ausencia
SUC4	<10	10	<10	<10	<10	Ausencia

Fuente: datos experimentales.

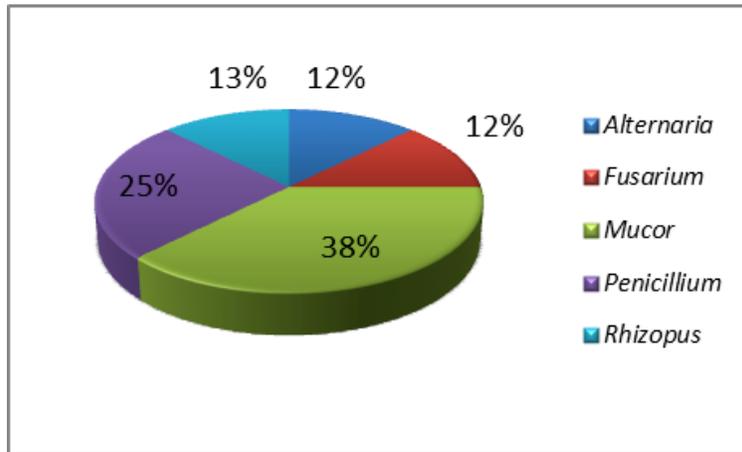
Del mismo modo, del apiario ESC se colectaron 4 muestras de un mismo lote a solicitud del productor. Las muestras provenían de bolsas de plástico, presentación para su venta a granel. Tres muestras presentaron mohos y levaduras, cuyas cargas fluctuaron entre 30 y 60 UFC/g. En las tablas 8 y 10 y en la figura 5 se muestran los detalles.

Tabla 8 Mohos y levaduras, recuento aeróbico en placa y bacterias (coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp.) en UFC/g, por muestra en apiario ESC.

Muestra	Mohos y levaduras	Recuento aeróbico en placa	Coliformes totales	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp
ESC1	60	<10	<10	<10	<10	Ausencia
ESC2	<10	<10	<10	<10	<10	Ausencia
ESC3	60	30	20	<10	<10	Ausencia
ESC4	30	70	10	<10	<10	Ausencia

Fuente: datos experimentales.

Figura 5 Porcentaje de ocurrencia de hongos microscópicos en el apiario ESC.



Fuente: datos experimentales.

La tabla 10 muestra el porcentaje de muestras contaminadas con mohos y levaduras, por apiario. Cuando el recuento de mohos y levaduras estuvo por debajo de 10 UFC se consideró como ausencia, es decir muestra no contaminada. La tabla 10 muestra la frecuencia de hongos microscópicos. Las tablas 11 y 12 muestran el porcentaje de muestras contaminadas con bacterias aerobias y coliformes totales, respectivamente.

Tabla 9 Porcentaje de muestras contaminadas con hongos por apiario.

Apiario	Número de muestras		%
	Total	Contaminadas	
SOL	9	9	100.0%
JAL	9	9	100.0%
HUE	9	1	11.1%
SNM	9	9	100.0%
SAC	6	0	0.0%
SUC	4	0	0.0%
ESC	4	3	75.0%

Fuente: datos experimentales.

Tabla 10 Frecuencia de hongos microscópicos por especie y por apiario.

Apiario	Frecuencia por especie							Frecuencia total
	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>	Otros	
SOL	4	2	3	2	5	3	4	23
JAL	4	3	0	6	6	2	5	26
HUE	0	1	0	0	1	1	0	3
SNM	3	2	5	3	3	2	5	23
ESC	1	0	1	3	2	1	0	8

Fuente: datos experimentales.

Tabla 11 Porcentaje de muestras contaminadas con bacterias aeróbicas por apiario.

Apiario	Número de muestras		%
	Total	Contaminadas	
SOL	9	9	100.0%
JAL	9	8	88.9%
HUE	9	2	22.2%
SNM	9	8	88.9%
SAC	6	0	0.0%
SUC	4	4	100.0%
ESC	4	2	50.0%

Fuente: datos experimentales.

Tabla 12 Porcentaje de muestras contaminadas con coliformes totales por apiario.

Apiario	Número de muestras		%
	Total	Contaminadas	
SOL	9	4	44.4%
JAL	9	0	0.0%
HUE	9	0	0.0%
SNM	9	2	22.2%
SAC	6	0	0.0%
SUC	4	1	25.0%
ESC	4	2	50.0%

Fuente: datos experimentales.

Técnicas de manejo de polen

Las técnicas de manejo se documentaron para 5 de los siete apiarios estudiados.

Apiario SOL

En este apiario, de diciembre a enero, se colocan trampas de piquera para colecta de polen en 10 colmenas seleccionadas por su fortaleza. En este apiario se producen alrededor de 150 libras de polen por temporada. El apicultor, el cual tiene una experiencia de 3 años, se hace acompañar de un ayudante. Este productor posee un lugar especial para el manejo de polen, así como su equipo específico, el cual consta de baldes plásticos con cubierta de nylon para la recolección, bandejas secadoras de grado alimenticio, mesa de plástico, pinzas, paletas y guantes.

El polen procesado se empaca en frascos plásticos de grado alimenticio o en bolsas plásticas nuevas. No obstante, la muestra utilizada para este estudio se sustrajo de frascos de vidrio reciclados, ya que para el momento de la toma de muestras, el productor no contaba con empaque para la venta final. Cuando las trampas se dejan de usar, se lavan con abundante agua, se limpian y se dejan secar al ambiente. Finalmente, las trampas se almacenan en la bodega de la cooperativa.

Apiario JAL

En este apiario se recolecta polen en el mes de marzo. Se utilizan trampas de piquera en 15 colmenas seleccionadas por su fortaleza. En este apiario se producen alrededor de 20 libras de polen por temporada. El apicultor, el cual tiene una experiencia de 3 años, se hace acompañar de un ayudante. Este productor posee un lugar especial para el manejo de polen, así como su equipo específico, el cual consta de cubetas de plástico, una mesa de madera, brochas, pinzas y paletas.

El polen procesado se empaca en frascos de vidrio o de plástico grado alimenticio, o bolsas selladas para su venta al consumidor. Cuando las trampas se dejan de usar, se limpian con un cepillo y se lavan con abundante agua hirviendo y se dejan secar al ambiente. Finalmente, las trampas se almacenan en una bodega en la casa del productor.

Apiario HUE

En este apiario se recolecta polen durante dos periodos: de octubre a noviembre y de agosto a septiembre. Se utilizan trampas de piquera en 10 colmenas seleccionadas por su fortaleza. En este apiario se producen alrededor de 20 libras de polen por temporada. El apicultor, el cual tiene una experiencia de 3 años, se hace acompañar de un ayudante. Este productor posee un lugar especial para el manejo de polen, así como su equipo específico, el cual consta de cubetas de plástico y cedazo, una mesa de madera, brochas, pinzas y paletas.

El polen procesado se empaca en frascos de plástico grado alimenticio, para su venta al consumidor. Cuando las trampas se dejan de usar, se lavan con abundante agua y jabón y se dejan secar al ambiente. Finalmente, las trampas se almacenan en sacos de nylon depositados en una bodega en la casa del productor.

Apiario SNM

En este apiario se recolecta polen durante octubre a diciembre. Se utilizan trampas de piquera en 15 colmenas seleccionadas por su fortaleza. En este apiario se producen alrededor de 100 libras de polen por temporada. El apicultor, el cual tiene una experiencia de 6 años, se hace acompañar de un ayudante. Este productor posee un lugar especial para el manejo de polen, así como su equipo específico, el cual consta de cubetas de plástico y cedazo, bandejas secadoras de plástico, una mesa de plástico, brochas, pinzas y paletas.

El polen procesado se empaqueta en bolsas de plástico grado alimenticio, para su venta al consumidor. Cuando las trampas se dejan de usar, se lavan con abundante agua y jabón y se dejan secar al ambiente. Finalmente, las trampas se almacenan en una bodega en la casa del productor.

Apiario SAC

En este apiario existen dos épocas de recolección de polen: de diciembre a febrero y en el mes de agosto. Se utilizan trampas de piquera en 15 colmenas seleccionadas por su fortaleza. En este apiario se producen alrededor de 200 libras de polen por temporada. El apicultor, el cual tiene una experiencia de 6 años, se hace acompañar de un ayudante. Este productor posee un lugar especial para el manejo de polen, así como su equipo específico, el cual consta de cubetas de plástico, cedazo, bandejas secadoras de plástico, brochas, una mesa de plástico, pinzas, paletas y guantes.

El polen procesado se empaqueta en frascos plásticos de grado alimenticio o en bolsas Ziploc nuevas, para su venta al consumidor. Cuando las trampas se dejan de usar, se lavan con abundante agua y jabón, se limpian y se dejan secar al ambiente. Finalmente, las trampas se almacenan en una bodega en la casa del productor.

Relación de la composición de la microbiota, las técnicas de manejo de polen y el apiario de origen.

La composición de la microbiota fue bastante similar entre los apiarios estudiados. Las técnicas de manejo de polen fueron también muy similares entre los distintos apiarios.

En el apiario SOL todas las muestras estuvieron contaminadas de hongos y levaduras y de bacterias aeróbicas y cuatro de nueve muestras estuvieron contaminadas con coliformes totales. Es importante resaltar que en este caso el empaque para la venta final al consumidor, de donde se extrajeron las muestras, se trató de envases de vidrio

reciclados que muy probablemente no fueron correctamente desinfectados. Por otro lado es importante señalar que el lavado de las trampas y demás equipo únicamente se hace con agua.

En el apiario JAL todas las muestras estuvieron contaminadas con hongos y levaduras y ocho de nueve muestras estuvieron contaminadas con bacterias aerobias. En este caso las muestras se colectaron de bolsas plásticas nuevas y selladas. Al igual que en el caso anterior, el lavado de las trampas y demás equipo únicamente se hace con agua.

En el apiario HUE únicamente una de nueve muestras estuvo contaminada con hongos y levaduras y dos de nueve muestras estuvieron contaminadas con bacterias aerobias. En este caso las muestras fueron colectadas de frascos de plástico nuevos. Cabe destacar que el lavado de trampas y demás equipo utiliza además de agua, jabón.

En el apiario SNM todas las muestras estuvieron contaminadas por mohos y levaduras, ocho de nueve muestras estuvieron contaminadas con bacterias aerobias y dos de nueve muestras con coliformes totales. En este caso las muestras se colectaron de bolsas plásticas nuevas pero no selladas. Al igual que en el caso anterior, el lavado de trampas y demás equipo utiliza además de agua, jabón.

En el apiario SAC ninguna muestra estuvo contaminada y al igual que en los dos casos anteriores, el lavado de trampas y demás equipo utiliza además de agua, jabón. Es importante señalar que de los cinco apicultores entrevistados, el de este apiario es el que tiene más experiencia en inocuidad alimentaria.

Cumplimiento de estándares internacionales

El cumplimiento de las muestras de polen, en relación con estándares internacionales, se evaluó por apiario. Se tomó cada muestra y se comparó con los valores establecidos en cada una de las tres normas mencionadas anteriormente (ver tabla 1). Con esto se sacó un porcentaje de cumplimiento por tipo de microorganismo y general por apiario.

Esta comparación permitió discutir sobre una hipotética línea base que podría servir para implementar muestreos de la inocuidad del polen consumido.

Mohos y levaduras

El 100 % de las muestras de polen provenientes de los apiarios HUE, SAC, SUC y ESC cumple con los parámetros establecidos en las tres normas de referencia. El 100 % de las muestras de polen del apiario SOL cumple con los parámetros establecidos en las normas salvadoreña y mexicana, pero únicamente el 33.3 % cumple la norma argentina. El 100 % de las muestras de polen del apiario JAL cumple con los parámetros establecidos en las normas salvadoreña y mexicana, pero únicamente el 66.7 % cumple la norma argentina. El 100 % de las muestras de polen del apiario SNM cumple con los parámetros establecidos en las normas salvadoreña y mexicana, pero únicamente el 77.8 % cumple con la norma argentina. En la tabla 13 se muestran los detalles.

Tabla 13 Frecuencia y porcentaje de muestras que cumplen los estándares de las normas salvadoreña, argentina y mexicana para mohos y levaduras.

Apiario	El Salvador			Argentina			México		
	%	No. de muestras		%	No. de muestras		%	No. de muestras	
		Cumplen	Total		Cumplen	Total		Cumplen	Total
SOL	100.0%	9	9	33.3%	3	9	100.0%	9	9
JAL	100.0%	9	9	66.7%	6	9	100.0%	9	9
HUE	100.0%	9	9	100.0%	9	9	100.0%	9	9
SNM	100.0%	9	9	22.2%	2	9	100.0%	9	9
SAC	100.0%	6	6	100.0%	6	6	100.0%	6	6
SUC	100.0%	4	4	100.0%	4	4	100.0%	4	4
ESC	100.0%	4	4	100.0%	4	4	100.0%	4	4

Fuente: datos experimentales, NSO 65.38.01:05, Código Alimentario Argentino. Capítulo X, Art. 785 y NMX-FF-094-1998-SCFI.

Coliformes totales

El 100 % de las muestras de polen provenientes de los apiarios JAL, HUE y SAC cumple con los parámetros establecidos en las tres normas de referencia. El 54.6 % de las muestras del apiario SOL cumple con los parámetros establecidos en las normas de referencia. El 77.8 % de las muestras de polen del apiario SNM cumple con las normas de referencia. El 75 % de las muestras de polen del apiario SUC cumple con las normas de referencia. El 50 % de las muestras de polen del apiario ESC cumple con las normas de referencia. En la tabla 14 se muestran los detalles.

Tabla 14 Frecuencia y porcentaje de muestras que cumplen los estándares de las normas salvadoreña, argentina y mexicana para coliformes totales.

Apiario	El Salvador			Argentina			México		
	%	No. de muestras		%	No. de muestras		%	No. de muestras	
		Cumplen	Total		Cumplen	Total		Cumplen	Total
SOL	54.6%	5	9	54.6%	5	9	54.6%	5	9
JAL	100.0%	9	9	100.0%	9	9	100.0%	9	9
HUE	100.0%	9	9	100.0%	9	9	100.0%	9	9
SNM	77.8%	7	9	77.8%	7	9	77.8%	7	9
SAC	100.0%	6	6	100.0%	6	6	100.0%	6	6
SUC	75.0%	3	4	75.0%	3	4	75.0%	3	4
ESC	50.0%	2	4	50.0%	2	4	50.0%	2	4

Fuente: datos experimentales, NSO 65.38.01:05, Código Alimentario Argentino. Capítulo X, Art. 785 y NMX-FF-094-1998-SCFI.

Recuento aeróbico, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp

Todas las muestras de polen, independientemente de su origen, cumplen con los parámetros establecidos para el recuento aeróbico en placa y para *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* sp según las tres normas de referencia consultadas.

Cumplimiento general

En la tabla 15 se muestra el porcentaje de cumplimiento por apiario, según cada norma. Para obtener el resultado, se consideró que para que una muestra cumpliera tenía que estar dentro de los parámetros aceptados para cada tipo de microorganismo.

Tabla 15 Frecuencia y porcentaje de muestras que cumplen los estándares de las normas salvadoreña, argentina y mexicana en términos generales.

Apiario	El Salvador			Argentina			México		
	%	No. de muestras		%	No. de muestras		%	No. de muestras	
		Cumplen	Total		Cumplen	Total		Cumplen	Total
SOL	55.6%	5	9	33.3%	3	9	55.6%	5	9
JAL	100.0%	9	9	66.7%	6	9	100.0%	9	9
HUE	100.0%	9	9	100.0%	9	9	100.0%	9	9
SNM	77.8%	7	9	22.2%	2	9	77.8%	7	9
SAC	100.0%	6	6	100.0%	6	6	100.0%	6	6
SUC	75.0%	3	4	75.0%	3	4	75.0%	3	4
ESC	50.0%	2	4	50.0%	2	4	50.0%	2	4

Fuente: datos experimentales, NSO 65.38.01:05, Código Alimentario Argentino. Capítulo X, Art. 785 y NMX-FF-094-1998-SCFI.

El 100 % de las muestras de polen provenientes de los apiarios HUE y SAC cumple con los parámetros establecidos en las normas de referencia. El 100 % de las muestras de polen provenientes del apiario JAL cumple con los parámetros establecidos en las normas salvadoreña y mexicana, pero únicamente el 66.7 % de dichas muestras cumple con los parámetros argentinos. El 55.6 % de las muestras de polen del apiario SOL cumple con los parámetros de las normas salvadoreña y mexicana y 33.3 % de estas mismas muestras cumplen con la norma argentina. El polen del apiario SNM cumple en un 77.8 % los parámetros de las normas salvadoreña y mexicana y en un 22.2 % la norma argentina. El 75 % de las muestras de polen del apiario SUC cumple con los parámetros establecidos en las normas de referencia. Finalmente, el 50 % de las muestras del apiario ESC cumple con los parámetros establecidos en las tres normas de referencia.

9. DISCUSIÓN

Los géneros de mohos identificados en las diferentes muestras de polen fueron: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Similares resultados reportan Bucio-Villalobos *et al.* (2007 y s.f.), así como otros trabajos efectuados en estudios con alimentos (Makun *et al.*, 2010). Estos mohos son ubicuos, se encuentran tanto al aire libre como en los interiores. En climas cálidos y húmedos crecen mejor. Como otros hongos, los mohos se propagan y reproducen mediante esporas, las cuales pueden sobrevivir en condiciones ambientales extremas. Algunas personas son sensibles a los mohos y las reacciones pueden ir desde síntomas como congestión nasal o irritación de los ojos a reacciones severas como fiebre y dificultad para respirar. Las personas inmunodeprimidas pueden llegar a sufrir de infecciones de moho, por ejemplo en los pulmones (CDC, 2003). Algunos mohos pueden producir micotoxinas que pueden ser dañinas (USDA, 2010).

Estudios hechos por Kačániová y colaboradores (2011), muestran la contaminación de polen apícola de distintos orígenes botánicos. Ellos reportan la contaminación con 21 especies distintas de hongos, de 9 géneros diferentes, siendo las más frecuentes *Mucor mucedo*, *Alternaria alternata*, *Mucor hiemalis*, *Aspergillus fumigatus* y *Cladosporium cladosporioides*, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio.

Belhadj y sus colaboradores (2012) reportaron la contaminación de polen apícola con mohos, levaduras, coliformes totales y *S. aureus*. Asimismo, Nogueira y su equipo (2012) reportaron la presencia de mohos y levaduras, siendo *Rhodotorula mucilaginosa* la más frecuente. Este último estudio también evaluó la presencia de bacterias patógenas como *E. coli*, *Clostridium sp.* y *Salmonella Sp.* obteniendo resultados negativos. Los resultados reportados por estos estudios coinciden con lo obtenido en esta investigación.

Brindza y su equipo de investigadores (2010) reportaron la presencia de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y hongos microscópicos. El equipo de Nevas (2006) reportó la presencia de *Clostridium botulinum* en algunas pocas muestras de polen a lo

largo de un periodo de tres años. En el presente estudio no se evaluaron estos microorganismos. Gilliam (1979a y 1979b) señala la presencia de levaduras y de bacterias del género *Bacillus*. Más adelante Gilliam y su equipo (1989) lograron aislar varias especies de hongos microscópicos, siendo las más frecuentes *Penicillium* sp., *Mucor* sp. y *Aspergillus* sp. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos en la presente investigación. Bogdanov (2005) también señala que el polen puede presentar problemas de contaminación microbiológica y que es necesario establecer controles para controlarla.

Estudios anteriores han reportado la presencia de bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp, *Clostridium botulinum*), a diferencia de lo reportado en la presente investigación. Sin embargo, esos mismos estudios reportaron la presencia de hongos (*Aspergillus* sp, *Alternaria* sp, *Endomycopsis* sp, *Mucor* sp, *Fusarium* sp, *Penicillium* sp y *Rhizopus* sp) como fue el caso de esta evaluación. (Campos et al., 2008; Almeida-Muradian et al., 2007; González et al., 2005; Prado, 2005; Medina et al., 2004 y Bucio et al., s.f.).

El recuento total aerobio es una técnica ampliamente usada para estimar la carga bacteriana en alimentos. Este indicador resulta útil para evaluar la calidad e inocuidad de un alimento (Downes & Ito, 2001). El 100 % de las muestras colectadas en este estudio cumplieron con los parámetros establecidos en las normas internacionales para recuento aeróbico en placa. Esto es un indicador que el polen se produce en buenas condiciones higiénicas.

Los coliformes totales como indicadores sanitarios pueden aplicarse para la detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y fabricación de los alimentos, la inocuidad del agua utilizada para la preparación de un alimento y la evaluación de la calidad microbiológica, aunque su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario cuando los coliformes son de origen no fecal (Camacho *et al.*, 2009), tal como es el caso en la presente investigación.

Salmonella está relacionada con el consumo de carne de pollo, huevos y derivados y en el caso de otros alimentos esto puede ser una fuente de contaminación. En el caso específico de Guatemala, muchos apicultores poseen aves de traspatio. No obstante, la ausencia de *Salmonella* en las muestras de polen analizadas indica que el polen fue procesado de manera higiénica. De igual forma, la ausencia de *E. coli* y *S. aureus* en todas las muestras de polen es un indicador que el polen fue procesado de manera higiénica.

Se detectó la presencia de mohos en polen proveniente de cinco de los siete apiarios estudiados. Los apiarios que presentaron mayor incidencia fueron los apiarios SOL, JAL y SNM. No es posible establecer una relación entre estos resultados y el manejo de cada uno de estos apiarios. Los tres apicultores reportaron que trabajan el polen en un lugar específico para el efecto con equipo especial. Los tres reportaron que lavan su equipo con abundante agua, pero ninguno utiliza jabón. Además reportaron que dejan que el equipo y las trampas se secan en el ambiente lo que podría contaminar el equipo. Puede ser que el equipo no esté bien desinfectado y que por esto se presenten cargas de mohos tan altas. No obstante, puede que el polvo de las cercanías sea el principal causante de la ocurrencia de mohos. La mayoría de los mohos reportados se encuentran en el suelo y se levantan fácilmente con el polvo. Puede que los lugares para el manejo del polen no estén bien cerrados. Por otro lado, puede ser que el proceso de secado de polen no sea muy eficaz, lo que estaría favoreciendo la proliferación de mohos y levaduras.

Únicamente una muestra proveniente del apiario HUE presentó una carga baja de mohos. Puede que esta muestra en particular se haya contaminado en su manipulación. Tanto el apicultor del apiario HUE como el del apiario SAC reportaron que tienen un lugar específico para trabajar el polen, así como equipo especial para el efecto. A diferencia de los apicultores de los apiarios SOL, JAL y SNM, los de los apiarios HUE y SAC reportaron que utilizan jabón para lavar sus trampas y que además de esto las cubren cuando las almacenan. Puede que este factor esté haciendo la diferencia. Cabe destacar que no existe mayor relación entre el apicultor del apiario HUE y el apiario SAC.

Sin embargo, se pudo observar que estos dos productores son los que tiene una mayor experiencia y capacitación en el tema de manejo de la calidad e inocuidad del producto, lo que pueda estar relacionado con los resultados obtenidos. Otro dato curioso que se pudo observar es que en términos generales, los productores que pertenecían a una cooperativa obtuvieron resultados más satisfactorios. Esto a excepción del productor del apiario SAC que es la excepción.

Línea base para el monitoreo de la inocuidad del polen apícola

El polen apícola es un producto que ha ido ganando consumidores en los últimos años, especialmente por el auge del consumo de productos naturales y saludables. Esto supone la implementación de mecanismos de control para garantizar la inocuidad del mismo. Países como El Salvador, Argentina o México tienen establecidas normas o estándares de inocuidad para medir los controles.

Las normas salvadoreñas y mexicanas son bastante similares. La norma argentina es más estricta, especialmente en lo relacionado a mohos y levaduras. Quizás el consumo de polen en Argentina es mayor que en Mesoamérica y por eso existe una exposición mayor a micotoxinas producidas por hongos y levaduras. Ante tal razón en Argentina pudo haber tomado la decisión de ser más estricta para este parámetro.

Para el caso de Guatemala se propone adoptar y ajustar una de las normas propuestas por sus vecinos salvadoreños o mexicanos. Se considera que el consumo de polen en esta región es bajo por lo que se podría tolerar límites más altos que los establecidos para países en donde el consumo es mayor, tal es el caso de Argentina. No obstante, un estudio detallado de la ingesta de polen en el país podría dar mejores fundamentos para tomar una decisión en ese sentido.

No obstante, es importante realizar un estudio para determinar la contaminación química del polen, que debe ser otro factor importante a considerar para asegurar la inocuidad del polen apícola.

10. CONCLUSIONES

- 10.1. Se identificaron las siguientes especies de mohos: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Rhizopus*.
- 10.2. Se encontraron muestras contaminadas con mohos y levaduras, bacterias aeróbicas y coliformes totales.
- 10.3. No se encontraron muestras contaminadas con *E. coli*, *S. aureus* ni *Salmonella* sp.
- 10.4. El 100 % de las muestras provenientes de los apiarios HUE y SAC cumplieron con los estándares de inocuidad consultados, siendo las muestras más inocuas.
- 10.5. El polen de los demás apiarios presentaron más de algún tipo de contaminación con relación a alguna de las tres normas consultadas.
- 10.6. Aquellas muestras provenientes de envases nuevos o de productores que lavan con agua y jabón el equipo para la colecta de polen, presentaron menores niveles de contaminación.
- 10.7. La utilización de envases nuevos y el lavado adecuado del equipo de colecta de polen son características ligadas al manejo de cada apicultor y por ende ligadas al apiario de origen.
- 10.8. Se documentó las técnicas de manejo del polen de cinco de los productores que participaron en el presente estudio.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Profundizar sobre el estudio de las especies de mohos presentes en el polen producido en Guatemala, ya que como se indicó, algunas de las especies de los géneros identificados pueden producir micotoxinas, algunas de las cuales pueden ser perjudiciales para la salud humana.
- 11.2. Estudiar las posibles fuentes de contaminación de manera aislada para detectar con certeza cuáles son las que inciden en la ocurrencia de microorganismos.
- 11.3. Evaluar, desde el punto de vista microbiológico, las distintas etapas del manejo del polen (colecta, congelado, secado, limpiado y envasado), así como el efecto de la desinfección del equipo utilizado para el mismo en la incidencia de microorganismos.
- 11.4. Expandir el alcance del estudio a otros productores del país para poseer más y mejores datos que permitan consolidar una propuesta de norma para el país.
- 11.5. La información contenida en el presente puede servir para fijar la base de un muestreo de la inocuidad del polen producido y comercializado en Guatemala.

12. REFERENCIAS

- Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. 1993. IARC Monographs: Volume 56. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. WHO Press.
- Almeida-Muradian, L.B., A. Bera, M.L. Felsner. C.B. Cano. 2007. Productos Apícolas. In. Almeida-Muradian, L.B., M.D.V.C. Penteado. *Vigilancia sanitaria: tópicos sobre legislación y análisis de alimentos*. Ed. Guanabara. 183-198.
- Ara, A. 2004. *Los Grandes Remedios Naturales*. 2ª edición. Editorial EDAF, S.A. España. 264 Pp.
- Baldi Coronel, B., D. Grasso, S. Chaves Pereira y G. Fernández. 2004. Caracterización bromatológica del polen apícola argentino. *Ciencia, Docencia y Tecnología*. 15(29): 145-181.
- Banwart, G.J. 1989. *Basic food microbiology*. 2 ed. Chapman & Hall. Estados Unidos. 773 Pp.
- Bastos, D.H.M., M.O. Barth, C.I. Rocha, I.B.S. Cunha, P.O. Carvalho, E.A.S. Torres, M. Michelan. 2004. Fatty acid composition and palynological analysis of bee (*Apis*) pollen loads in the states of Sao Paulo and Minas Gerais, Brazil. *Journal of Apicultural Research*. 43(3): 35-39.
- Belhadj, H., D. Bouamra, S. Dahamna, D. Harzallah, M. Ghadbane & S. Khennouf. 2012. Microbiological Sanitary Aspects of Pollen. *Advances in Environmental Biology*, 6(4): 1415-1420.

- Bell, R.R., E.J. Thornber, J.L.L. Seet, M.T. Groves, N.P. Ho & D.T. Bell. 1983. Composition and protein quality of honeybee-collected pollen of *Eucalyptus marginata* and *Eucalyptus calophylla*. *Journal of Nutrition* 113: 2479-2484.
- Blackiston H. y K. Flottum. 2009. *Beekeeping for Dummies*. 2a edición. Wiley Publishing, Inc. Indiana. 392 Pp.
- Bogdanov, S. 2011. *The Honey Book*. Bee Product Science. Suiza. 105 Pp.
- Bogdanov, S. 2007. Authenticity of honey, and other bee products: State of the Art. Bee Product Science. *Boletín USAMV-CN*, 63-64. Suiza. 8 Pp.
- Bogdanov, S. 2005. Contaminants of bee products. *Apidologie* 37 (2006) 1-18
- Bogdanov, S. 2004. Quality and Standards of Pollen and Beeswax. *APIACTA* 38: 334-341.
- Brindza, J., J. Gróf, K. Bacigálová, P. Ferianc & D. Tóth. 2010. Pollen microbial colonization and food safety. *Acta Chimica Slovaca*. 3(1): 95-102.
- Brown, R., G. Baltan, G. Calcaianu, A. Callias, E. Contreras, L. Conway, F. Cozma, L.E. Essen, W.O. Grotz, L.J. Hayes, P. Hernuss, P. Ioyrish, N. Jonson, R. Korchemny, G. Leander, G. Liebold, I. Osmanagic, L. Pokrajcic, W. Robinson, A. Saenz, G. Salajan, J.F. Scheer, H.W. Schmidt, S. Schmidt, A. Soliman, F.A. Soliman, A. Di Fabio. 1994. *Bee Pollen: The Perfect Food*. The Arthritis Trust Of America. 6 pp.
- Bruneau, E. 2002. Ch 9. Les produits de la ruche. En “Le traité rustica de l’apiculture”. Editado por H. Clément. Éditions Rustica, Paris. 352-385.

- Bucio-Villalobos C.M., O.A. Martínez Jaime y JJ Torres-Morales. 2007. Hongos asociados al polen recolectado por las abejas. Memorias del IX Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos. Guanajuato, Gto. p301-306.
- Bucio Villalobos, C.M., G. López Preciado, O.A. Martínez Jaime & J.J. Torres Morales. S.f. Micoflora asociada a gránulos de polen recolectados por las abejas domésticas, caso León, Guanajuato. Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato.
- Bustos-Martínez, J.A., A. Hamdan-Partida & M. Gutiérrez-Cárdenas. 2006. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev. Biomed. 17:287-305.
- Callegari, A.L., L. Farias, E. Laars, J.L. Ferreira da Trindade. S.f. Apitoxina e suas indicações de uso. Universidad Tecnológica de Paraná. Brasil. 6 Pp.
- Camacho, A., M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano & O. Velásquez. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. 6 Pp.
- Campos, M.G.R., S. Bogdanov, L.B. De Almeida-Muradian, T. Szczesna, Y. Mancebo, C. Frigerio y F. Ferreira. 2008. Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research and Bee World 47(2): 156-163.
- Cane, J.H. 2002. Pollinating Bees (Hymenoptera: Apiformes) of U.S. Alfalfa Compared for Rates of Pod and Seed Set. J. Econ. Entomol. 95(1): 22-27.
- Carrera Vara, J.A., A. Caballero Torres & M.E. Lengomín Fernández. 1998. Vigilancia de Staphylococcus y Salmonella en alimentos. Rev. Cubana Aliment. Nutr. 12(1): 16-19.

- Centers for Disease Control and Prevention. 2011. Mucormycosis: the basics. Department of Health and Human Services. Estados Unidos. 1 Pp.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2003. Los mohos en el medio ambiente. Department of Health and Human Services. Estados Unidos. 3 Pp.
- Cocan, O., L.A. Marghitas, D. Dezmirean & L. Laslo. 2005. Composition and biological activities of bee pollen: review. Bulletin of the University of Agriculture Science and Veterinary Medicine. 61: 221-226.
- Código Alimentario Argentino. 2003. Parámetros físicos y químicos de polen. Programa de competitividad. Capitulo 10. Art. 785-[Res. 1550,12.12.90]. Revisado el 4 de noviembre de 2005. Disponible en línea: www.alimentosargentinos.gov.ar
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 2005. Norma Salvadoreña: Calidad del Polen de Abejas: Especificaciones. CONACYT. El Salvador. 10 Pp.
- Chamberlain, S.A. y R.A. Schlising. 2008. Role of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) in the Pollination Biology of a California Native Plant, *Triteleia laxa* (Asparagales, Themidaceae). Environ. Entomol. 37(3): 808-816.
- Del Risco, C.A. 2005. Polen-Pan de Abejas: Composición, Nutrición, Acción en la Salud Humana y Microbiología. Centro de Investigaciones Apícolas. Disponible en www.apiamerica.com.ar
- Desphande S.S. 2002. Ch. 11. Fungal Toxins. In: Handbook of food toxicology. Editado por Marcel Dekker, Inc. Estados Unidos. Pp. 387-456.
- Di Trani de la Hoz, J.C. 2007. Visita de abejas (*Apis mellifera*, Hymenoptera: Apoidea) a flores de melón *Cucumis melo* (Cucurbitaceae) en Panamá. Revista de Biología Tropical. 55(2): 677-680.

- Dirección General de Normas. 1998. Productos Alimenticios no Industrializados para Consumo Humano – Polen – (pollinis). Especificaciones NMX – FF- 094-1998 – SCFI. México. 10p.
- Downes, F.P. y K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4 ed. APHA. Estados Unidos. 676 Pp.
- Ellin Doyle, M. 1997. Fusarium Mycotoxins. Food Research Institute, UW-Madison. Estados Unidos. 4 Pp.
- EFSA (Autoridad Europea de Inocuidad de Alimentos). 2011. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. EFSA Journal, 9(10):2407. 97 Pp.
- Evans, E.C. y M. Spivak. 2006. Effects of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) and Bumble Bee (Hymenoptera: Apidae) Presence on Cranberry (Ericales: Ericaceae) Pollination. J. Econ. Entomol. 99(3): 614-620.
- FAO. 1981. Manuels sur le contrôle de qualité des produits alimentaires. Analyse microbiologique. Ed 1. Part 4. Vol. 14.
- Fernandes-Da-Silva, P.G. & J.E. Serrao. 2000. Nutritive value and apparent digestibility of bee-collected pollen in the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latr. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Apidologie 31: 39-45.
- Fleche, C., M.C. Clément, S. Zeggane & J.P. Faucon. 1997. Contamination of bee products and risks for human health: the situation in France. Revue Scientifique et Technique de l'Office International Des Epizooties. 16(2): 609-619.
- Gilliam, M., D.B. Prest & B.J. Lorenz. 1989. Microbiology of Pollen and Bee Bread: taxonomy and enzymology of molds. Apidology, 20: 53-68.

- Gilliam, M. 1979a. Microbiology of Pollen and Bee Bread: The Yeasts. *Apidologie*, 10(1): 43-53.
- Gilliam, M. 1979b. Microbiology of Pollen and Bee Bread: The Genus *Bacillus*. *Apidologie*, 10(3): 269-274.
- González, G., M.J. Hinojo, R. Mateo, A. Medina & M. Jiménez. 2005. Occurrence of Mycotoxin Producing Fungi in Bee Pollen. *International Journal of Food Microbiology*. 205(1): 1-9.
- Haro, A., I. López-Aliaga, F. Lisbona, M. Barrionuevo, M.J. Alférez & M.S. Campos. 2000. Beneficial effect of pollen and/or propolis on the metabolism of iron, calcium, phosphorus and magnesium in rats with nutritional ferropenic anemia. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48: 5715-5722.
- Herbert, E.W. & H. Shimanuki. 1978. Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee stored pollen. *Apidologie*. 9(1): 33-40.
- James, R.R. y T.L. Pitts-Singer. Bee pollination in agricultural ecosystems. 2008. Oxford University Press. Nueva York. 248 Pp.
- Ibarra, J. 2011. Entrevista personal. Guatemala.
- Kačániová M., M. Juráček, R. Chlebo, V. Kňazovická, M. Kadasi-Horáková, S. Kunová, J. Lejková, P. Haščík, J. Mareček & M. Simko. 2011. Mycobiota and mycotoxins in bee pollen collected from different areas of Slovakia. *J Environ Sci Health B*. 2011;46(7):623-9.
- Krell, R. 1996. Value-Added Products from Beekeeping. FAO Agricultural Services. Bulletin No. 124.

- Le Conte. 2002a. Ch 1. Mieux connaître l'abeille. En "Le traité rustica de l'apiculture". Editado por H. Clément. Éditions Rustica, Paris. 12-17.
- Le Conte. 2002b. Ch 2. La vie sociale de la colonie. En "Le traité rustica de l'apiculture". Editado por H. Clément. Éditions Rustica, Paris. 52-83.
- Linskens, H.F. & W. Jorde. 1997. Pollen as Food and Medicine – A Review. *Economic Botany*. 51(1): 78-87.
- López-Álvarez, J. 1976. *Escherichia coli*: mecanismos de patogenicidad. Departamento de bacteriología Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de México. México. 39 Pp.
- Makun, H.A., S.T. Anjorin, B. Moronfoye, F.O. Odejo, O.A. Afolabi, G. Fagbayibo, B.O. Balogun & A.A. Surajudeen. 2010. Fungal and aflatoxin contamination of some human food commodities in Nigeria. *African Journal of Food Science*. 4(4): 127-135.
- Medina, A., G. González, J.M. Sáez, R. Mateo & M. Jiménez. 2004. Bee pollen, a substrate that stimulates ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Systematic and Applied Microbiology*. 27(2): 261-267.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 2013. Registro Guatemalteco Apícola.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 2011. Registro de Unidades de Producción Apícola.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 2010. Plan de Muestreo para la Detección de Residuos en Miel de Abeja.

- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 2006. Acuerdo Gubernativo 355-2006: Disposiciones para la emisión de licencias sanitarias de funcionamiento relacionadas con la miel de abejas. Guatemala. 8 Pp.
- Nevas, M., M. Lindström, A. Hörman, R. Keto-Timonen & H. Korkeala. 2006. Contamination routes of *Clostridium botulinum* in the honey production environment. *Environmental Microbiology* (2006) 8(6): 1085-1094.
- Nicol, A. 2010. Entrevista personal. Guatemala.
- Nogueira, C., A. Iglesias, X. Feás & L.M. Estevihno. 2012. Commercial Bee Pollen with Different Geographical Origins: A Comprehensive Approach. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13, 11173-11187.
- OIRSA-BID. 1990. La abeja melífera, su aguijón y su veneno. El Salvador. 84 Pp.
- Orzáez Villanueva, M.T., A. Díaz Marquina, R. Bravo Serrano y G. Blázquez Abellán. 2002. The importance of bee-collected pollen in the diet: a study of its composition. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 53(3): 217-224.
- Öscan, M., A. Ünver, D.A. Ceylan y R. Yetişir. 2004. Inhibitory effect of pollen and propolis extract. *Nahrung/Food.* 48(3): 188-194.
- Peraica, B. Radić, A. Lucić & M. Pavlović. 1999. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization.* 77(9): 754-766.
- Phillips, E.F. 2008. *Beekeeping (Gardening in America).* Applewoods Books, Massachusetts. 496 Pp.

- Prado, J. 2005. Caracterización físico-química y microbiológica del polen de abejas de cinco departamentos de Honduras. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería Agroindustrial. Zamorano, Honduras. 77 pp.
- Rubeglio, E.A. & S. Tesone. 2007. Escherichia coli O157 H7: presencia en alimentos no cárnicos. Arch. Argent. Pediatr. 105(3): 193-194
- Sabbahi, R., D. De Oliveira y J. Marceau. 2005. Influence of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Density on the Production of Canola (Crucifera: Brassicaceae). J. Econ. Entomol. 98(2): 367-362.
- SAG-DICTA. 2005. Manual Técnico de Apicultura. Honduras. 32 Pp.
- Serra-Bonhevi, J. & R. Escolá Jordá. 1997. Nutrient Composition and Microbiological Quality of Honeybee-Collected Pollen in Spain. J. Agric. Food Chem. 45(3): 725-732.
- Shephard, G. 2012. *Fusarium* mycotoxins and human health. Plant Breeding and Seed Science. 64(1): 113-121.
- Sullivan, D., G. Moran & D. Coleman. 2005. Ch. 7. Fungal Diseases of Humans. En “Fungi. Biology and Applications”. Editado por K. Kavanagh. John Wiley & Sons Ltd., Inglaterra. 171-190.
- United States Department of Agriculture. 2010. Molds on food: are they dangerous? Food Safety and Inspection Service. Estados Unidos. 5 Pp.
- Uribe, C. & M.C. Suárez. 2006. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. Colombia Médica. 37(2): 151-158.
- Vaissière, B. 2002. Ch 4. Pollinisation, apiculture et environnement. En “Le traité rustica de l’apiculture”. Editado por H. Clément. Éditions Rustica, Paris. 120-155.

- Van Toor, R.F. 2006. Producing Royal Jelly: A Guide for the Commercial and Hobbyist Beekeeper. 2a edición. Bassdrum Books. Nueva Zelandia. 103 Pp.
- Viuda Martos, M., Y. Ruiz Navajas, J. Fernández López y J.A. Pérez Álvarez. 2008. Functional properties of honey, propolis and royal jelly. Journal of Food Sciences. 73(9): 117-124.

13. ANEXOS

BOLETA INFORMATIVA

“Microbiología del polen de abeja en apiarios de Guatemala”

DATOS GENERALES:

Fecha de colecta de muestras: _____

Fecha de trapeo en campo del polen muestreado: _____

Nombre de apicultor: _____

Ubicación de apiario: _____

Municipio: _____ Departamento: _____

Número de colmenas del apiario proveedor de muestra: _____

Productos que explota:

Miel: _____ Polen: _____ Propóleo: _____ Jalea Real: _____

Cera: _____ Núcleos: _____

Indique el tipo de trampa que utiliza para la recolección de polen:

De piquera: _____ De piso: _____ De techo: _____

Cuántas trampas utiliza actualmente _____

¿Hace cuánto tiempo trampea

polen? _____

¿Cómo aprendió a cosecharlo y procesarlo?

Cuánto polen recolecta en una temporada _____ lbs aprox.

¿Conoce usted los beneficios de consumir polen?

¿Sabe usted que el polen puede contaminarse y con qué?

El polen que se cosecha: se consume en la familia _____ se vende localmente

Se vende a envasador de polen _____

DATOS MANEJO DE POLEN

¿Quiénes participan en la manipulación del polen (cosecha, limpieza, secado, envasado)?

¿Cuenta con un lugar específico para la manipulación del polen? Si ____ No ____

¿Cuenta con equipo y utensilios específicos para la manipulación del polen? Si ____ No ____

Si la respuesta anterior es afirmativa describa cuáles:

Trastos para recolecta de

trampas _____

Bandejas

secadoras _____

Mesas para limpieza (tipo de

superficie) _____

Herramientas para limpieza (brochas, pinzas, paletas, lámparas,

etc) _____

Trastos o bolsas para
almacenaje _____

Frascos u otro empaque
final _____

Lugar donde guarda las trampas cuando no se
usan _____

Cómo las protege de
suciedad _____

Procedimiento de limpieza de trampas previo
uso _____

DATOS AMBIENTALES

¿Sabe de la existencia de algún tipo de cultivo en las cercanías del apiario? _____

Si su respuesta es afirmativa indique cuáles:

¿Existen fuentes de agua contaminadas (estancadas, negras, de industrias, etc) en las
cercanías del apiario? _____

Si su respuesta es afirmativa indique cuáles:

¿Existe alguna otra fuente de contaminación en las cercanías del apiario? _____

APICULTURA Y POLEN

Épocas de mayor entrada _____ y
escasez _____ observada de polen.

Alimenta las colmenas con algún sustituto o suplemento de polen Si _____ No _____

¿Qué productos utiliza?

¿Cuándo?

¿Cómo lo aplica?

¿Cantidad por temporada?

¿Qué beneficios observa?

Comentarios adicionales:

Pablo César López Cárcamo

TESISTA

Licda. Mabel Vásquez Soto

ASESORA

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Hernández Escobar', written over a light yellow rectangular background.

Dr. Juan Fernando Hernández Escobar

REVISOR

Dr. Sergio Melgar Valladares

DIRECTOR

Dr. Oscar Cobar Pinto

DECANO