

TITULO: ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ESTABILIDAD SANITARIA DEL PROPOFORTE Y APIASMIN.

AUTORES: Gisela Valdés*, Daymi Díaz*, Ana Silvia Falco** y Miguel Ruiz*

RESUMEN

Es un factor importante ofrecer al consumidor alimentos nutricionales y sanos por lo que se requiere conocer y determinar las condiciones en que se obtienen los productos para lograr garantizar cumplir con el destino de los mismos.

El trabajo tuvo como objetivo determinar la calidad sanitaria de las mezclas apícolas : Propoforte y Apiasmín, elaboradas con miel de abejas, Pan de Abejas Industrial (PAI), extracto hidroalcohólico de propóleos al 5% y jalea real (solo para el primer producto), pero donde el PAI empleado como materia prima contenía 10^5 UFC/g de microorganismos aerobios mesófilos viable, valor por encima del límite admisible para su utilización.

Se obtuvo como resultado que ambas mezclas apícolas tuvieron el mismo comportamiento y que desde su elaboración hasta los 12 meses mantuvieron niveles de 10^3 UFC/g de microorganismos aerobios mesófilos viable, valores por debajo del límite superior admisible para su consumo, bajo las condiciones de almacenamiento a que estuvieron sometidas (a temperatura ambiente).

* Estación Experimental Apícola

** Instituto de Investigaciones de la Industria Alimenticia.

INTRODUCCION

La producción de alimentos y suplementos nutricionales trae consigo no solo la obtención, diseño o formulación del producto que se quiere ofertar para el consumo sino que también posea las condiciones óptimas de calidad a través del cual se garantice al consumidor todas las propiedades nutricionales y funcionales que posee el mismo o para el cual fue creado.

Para garantizar esa calidad es necesario tener en cuenta las condiciones de conservación del alimento y determinar la vida de anaquel que es capaz de resistir el producto bajo las condiciones de elaboración y procesamiento tecnológico al que fue sometido.

El Propoforte y Apiasmín, mezclas apícolas elaboradas con miel de abejas, Pan de Abejas Industrial (PAI), extracto hidroalcohólico de propóleos al 5% y jalea real (solo para el primer producto), constituyen suplementos nutricionales (RS. No 039/99 y RS. No 041/99) con actividad biológica considerados también productos para regímenes especiales, que fueron diseñados en un proceso tecnológico donde se mezclan estas materias primas, se envasan y conservan sin aplicar ningún procesamiento que pueda disminuir la flora microbiana presente.

La protección al deterioro microbiano de estos productos entonces radicara en primera instancia a la calidad higiénica de las materias primas y durante el proceso de elaboración, a la alta concentración de azúcares proporcionada por la miel de abejas, a la acidez presente y a la presencia del propóleos que unido a la miel aportan actividad antimicrobiana.

Este trabajo tuvo como objetivo determinar en que medida se afectaba la calidad microbiológica o sanitaria del Propoforte y Apiasmín en el tiempo, al emplear un PAI con un contenido de 10^5 UFC/g de microorganismos aerobios mesófilos viable, valor superior al límite que se admite para su utilización como materia prima para estas formulaciones.

MATERIALES Y METODOS

Empleando una producción de PAI con valores de conteo total de microorganismos aerobios mesófilos viables de 1×10^5 UFC/g se elaboraron en el laboratorio muestras de Propoforte y Apiasmín, empleando para ello miel de abeja con un contenido de humedad del 18,0% y las demás materias primas como

extracto hidroalcohólico de propóleos al 5% y jalea real según proceden las formulaciones para cada producto.

Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante todo el tiempo de estudio. Fueron sometidas a la determinación del conteo total de microorganismos aerobios mesófilos viables (NC 76-04-1.1982), conteo de hongos filamentosos y levadura viables (NC 76-04-2.1982) y conteo de microorganismos coliformes (NC 76-04-3.1982) correspondiente al tiempo 0, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10 y 12 meses de elaborados.

A los resultados se le aplicó el Test de Kolmogorov-Smirnov para realizar el ajuste a la distribución normal aplicándole la transformación log x, Anova Factorial y la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestra los valores medios de las diferentes determinaciones de la calidad microbiológica estudiadas para ambas mezclas apícolas a los diferentes tiempos donde se pueden observar que solamente se obtuvo crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos viables, el cual se mantuvo desde la elaboración de los productos (tiempo 0) por debajo del valor permisible establecido según NEAG 3757:12:93 (1×10^4 UFC/g).

A pesar de haber empleado un PAI con valores de conteo total de microorganismos aerobios mesófilos viables por encima de 1×10^4 UFC/g, considerado como el límite permisible para este producto (ver tabla 2), las mezclas lograron desde el tiempo 0 hasta los 12 meses mantener este parámetro microbiológico por debajo del valor establecido y con respecto a las demás determinaciones como hongos filamentosos, levaduras viables y coliformes no hubo variación, se partió de una materia prima libre de estos microorganismos y se mantuvo así durante la elaboración y almacenamiento de los productos.

El conteo total de microorganismos aerobios mesófilos viables de ambas mezclas apícolas partió desde el tiempo 0 de valores por debajo de 1×10^4 UFC/g, es decir valores menores que el obtenido en el PAI utilizado, esto puede deberse al factor dilución, ya que según la formulación de estos productos esta materia prima va incorporada a un 10 %, por lo tanto al disminuir la concentración del mismo en el producto final (mezclas apícolas) consecuentemente trae un decrecimiento del número de microorganismos presentes.

Al primer mes de elaborados los productos se observo un decrecimiento de este grupo de microorganismos presentes (ver figura 1) que pudiera deberse a la adaptación que tienen que enfrentar a las nuevas condiciones que le ofrece el nuevo habitat, la presencia de miel de abejas y propóleos principalmente.

Posteriormente se observa un incremento hasta el quinto mes donde parece ser que ya ha habido una adaptabilidad en cierta medida a las nuevas condiciones o habitat impuestas por la formulación de las mezclas y después comienza un decrecimiento hasta el octavo mes con una ligera estabilidad hasta los doce meses.

Hay que tener en cuenta en este decrecimiento la presencia de propóleos a concentraciones de 0.5 mg/ml en estas mezclas apícolas, que brindan una marcada acción antimicrobiana probada *in vitro* incluso a concentraciones de 0.025 mg/ml (Díaz, 1998) e *in vivo* en diversas afecciones humanas y animales, así como también ha sido propuesto e incluso empleado como preservo en formulaciones nutricionales, cosméticos y farmacéuticos.

En el caso de las mezclas apícolas estudiadas la presencia de propóleos es básicamente por sus posibilidades como suplemento nutricional (RS. No I-097/98) y propiedades biológicas, no obstante brinda también su efecto protector de la calidad microbiológica de estos preparados.

La presencia de la miel de abejas a un 80% en estas preparaciones ofrecen también la posibilidad de su acción antimicrobiana frente a un gran número de microorganismos (Molan, 1992 y Valdés y col, 1998) asociada a cuatro factores como son: la formación de peróxido de hidrogeno, la presencia de sustancias naturales procedentes de la floración, la acidez y por ultimo las condiciones osmóticas que proporciona

el alto contenido de hidratos de carbono (65-80%), que permiten una baja actividad de agua impidiendo o limitando de esta forma el crecimiento microbiano.

Al realizar el procesamiento estadístico se obtuvo como resultado la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos (tiempo-producto) y entre los tiempos para $p < 0.001$ con un coeficiente de variación del 7.68% y un error estándar de 0.11 y 0.08 respectivamente, pero no entre los productos.

La formulación básica de ambos productos es la misma, solo los diferencia la presencia de un 1% de jalea real en el Propoforte la cual pudiera haber incrementado la actividad de agua del producto y por el aporte en nutrientes de alto valor posibilitar condiciones para el crecimiento de microorganismos, pero aún así ambas mezclas tuvieron el mismo comportamiento durante las condiciones de este estudio.

Con respecto al comportamiento de los diferentes tiempos, al aplicar la prueba de Rangos Múltiples de Duncan para $p < 0.05$, se encontró que al tiempo 0 le correspondió el valor medio más alto encontrado, no difiriendo significativamente de 5, 4, 6 y 3 meses, y los tiempos 1, 8, 12 y 10 meses correspondieron a los de menores valores sin diferencias significativas entre ellas (ver tabla 3).

Estos resultados estadísticos se corresponden con el análisis realizado anteriormente donde durante el tiempo hay un decrecimiento del contenido de microorganismos que puede ser el resultado de la barrera de obstáculos que le brinda las nuevas condiciones físico-químicas que contienen los productos producto (miel-propóleos) que no permiten su crecimiento e incluso provocan la muerte, los microorganismos capaces de sobrevivir tienen que enfrasearse a un proceso de recuperación para lograr su estado de homeostasis, adaptarse a un mundo adverso, tienen que haber cambios en la composición de la membrana, en el sistema enzimático y en el pH interno fundamentalmente, lo que lleva a un elevado gasto energético que no le permite reproducirse, manteniéndose en un estado de latencia.

Si estas transformaciones no pueden llevarse a cabo, entonces puede afirmarse que el microorganismo no es capaz de vencer la barrera y generalmente muere con el tiempo. Además puede explicarse porque los microorganismos de un cultivo no son todos de la misma edad y por tanto no tienen la misma capacidad de adaptación lo cual provoca que al enfrentarse a una barrera como lo es la baja A_w no se recuperan en el mismo tiempo (Leitner, 1994), al cabo de los 3 meses se observó un ascenso en el contenido de microorganismo a niveles que no difieren del tiempo 0, posteriormente a los 4, 5 y 6 meses se mantienen ese mismo conteo y luego a los 7 hay una disminución significativa con respecto al tiempo que le antecedió y que se mantiene a los 8, 12 y 10 meses este con el mayor decrecimiento y cercano a los obtenidos a 1 mes durante el cual se observa que ocurrió muerte de los microorganismos presentes en los productos.

Con respecto a las diferencias significativas encontradas entre los tratamientos (tiempo-producto), al aplicar la prueba de Rangos Múltiples de Duncan para $p < 0.05$, se observa una correspondencia total con los resultados obtenidos en los diferentes tiempos y con los productos, no difieren significativamente entre sí un mismo tiempo para ambos productos, lo que indica que los productos aportan las mismas condiciones físico-químicas a los microorganismos presentes.

Hay que tener en cuenta que el proceso de obtención del PAI tiene implícito el riesgo de que no siempre se puede lograr conteos bajos ya sea por la variada y cuantiosa flora microbiana que puede contener el polen de forma natural, la que puede desarrollarse producto de las características y el proceso de recolección, beneficio y conservación o las debidas al proceso de fermentación que sufre el polen bajo condiciones no controladas con respecto a los microorganismos responsables de llevar a cabo este proceso. Cualquiera de estos 3 factores son los responsables de que se obtenga un PAI con niveles superiores a 1×10^4 UFC/g de microorganismos aerobios mesófilos viable.

Sí está claro que tanto el PAI empleado en la elaboración de los productos sometidos a este estudio como los obtenidos a lo largo de todo el proceso de producción realizado hasta el momento en la Estación Experimental Apícola han presentado los niveles de conteo de hongos filamentosos, levaduras viables y coliformes totales dentro de los valores permisibles.

Esto indica que a pesar del riesgo de trabajar con un proceso no controlado, se obtiene un producto libre de coliformes que está presente de forma natural en el polen y niveles más bajos o ausencia total (<10

UFC/g) de hongos filamentosos y levadura viables que también forman parte de esa variada y abundante flora que puede contener el polen (Valdés y col, 1992 y Valdés y col, 1993) .

La presencia de valores de conteo total de microorganismo aerobios mesófilos viables mas bajos en los productos estudiado se puede deber a los 3 factores mencionados anteriormente que pudieran interactuar a la vez, el factor de dilución que sufre el PAI al elaborar el producto, a la presencia de propóleos y por último a la presencia de la miel de abeja.

CONCLUSIONES:

1. El Propoforte y el Apiasmín brindan las mismas características físico-químicas a los microorganismos bajo las condiciones de este estudio.
2. Se obtuvo una reducción de 1 logaritmo del conteo total de microorganismo aerobios mesófilos viables del PAI al utilizarlo en el Propoforte y el Apiasmín.
3. El Propoforte y el Apiasmín elaborado con PAI con conteo total de microorganismo aerobios mesófilos viables de 10^5 UFC/g resultaron cumplir con los parámetros de calidad establecidos para estos productos.
4. El Propoforte y el Apiasmin presentan estabilidad de la calidad sanitaria a los 12 meses de elaborados y almacenados a temperatura ambiente.

BIBLIOGRAFIA

Díaz M. D. (1998.) Determinación de la concentración mínima inhibitoria de propóleos cubanos empleando dos técnicas diferentes. Tesis de Diploma. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.

Leitner, L. (1994). Further the development and utilization of hurdle tecnology for food preservation. Journal of Food Engenering. No 22-c. p.421..

Molan. P. (1992). The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. Bee World. 73 (1) 5-28.

Norma cubana. Productos Alimenticios y Bebida. Método de ensayo microbiológico. Determinación del conteo total de microorganismos aerobios mesófilos viables. NC 76-04-1: 1982.

Norma cubana. Productos Alimenticios y Bebida. Método de ensayo microbiológico. Determinación de hongos filamentosos y levaduras viables. NC 76-04-2: 1982.

Norma cubana. Productos Alimenticios y Bebida. Método de ensayo microbiológico. Determinación de microorganismos coliformes. NC 76-04-3: 1982.

Norma Empresa de la Agricultura. Apicultura. Miel con productos apícolas. Especificaciones. 3757:12:93.

Registro Sanitario. INHA. Extracto hidroalcoholico de propóleos al 5%. No I 097/98. Tomo I. Folio 097.

Registro Sanitario. INHA. Propoforte. No 039/99. Tomo V Folio 39.

Registro Sanitario. INHA. Apismin. No 041/99. Tomo V. Folio 41.

Valdés. G, García. O, Ruiz. M, Martín. M y Giral. T. (1992). Evaluación de las condiciones higiénicas del polen. Ciencia. Técnica. Agricultura. (Zootecnia) 2(1).

Valdés. G, Valera. L, Martín. M y Ruiz. M. (1993). Evaluación de la calidad microbiológica del polen apícola y el polen acidificado. En XXXIII Congreso Internacional de Apimondia. Bélgica..

Valdés. G, Giral. T y Ruiz. M. (2000). Caracterización de la actividad antibacteriana de la miel de abejas de las principales floraciones en Cuba. Revista cubana de Agricultura. Vol. 1. No. 1. ISSN 1607-5080. 39-43.

Tabla 1. Valores medios de calidad sanitaria de las mezclas apícolas

Tiempo (meses)	Propoforte				Apiasmin			
	Conteo total de m.o mesófilos aerobios viables (UFC/g)	Conteo de hongos filamentosos (UFC/g)	Conteo de levaduras viables (UFC/g)	Conteo de m.o coliformes (UFC/g)	Conteo total de m.o mesófilos aerobios viables (UFC/g)	Conteo de hongos filamentosos (UFC/g)	Conteo de levaduras viables (UFC/g)	Conteo de m.o coliformes (UFC/g)
0	5.0 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	7.4 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
1	2.4 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	2.8 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
3	3.5 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	4.6 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
4	5.0 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	5 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
5	5.4 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	6.2 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
6	4.0 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	6.4 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
7	2.5 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	3.2 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
8	1.8 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	2.2 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
10	2.1 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	1 x 10 ³	< 100	< 100	< 10
12	2.2 x 10 ³	< 100	< 100	< 10	1.8 x 10 ³	< 100	< 100	< 10

Tabla 2. Resultados de la calidad microbiológica del PAI empleado.

Muestras	Conteo total de m.o aerobios mesófilos viables (UFC/g)	Conteo de hongos filamentosos (UFC/g)	Conteo de levaduras viables (UFC/g)	Conteo de coliformes (UFC/G)
1	8 x10 ⁴	< 10	< 10	< 10
2	7 x10 ⁴	< 10	< 10	< 10
3	5 x10 ⁴	< 10	< 10	< 10
4	1 x10 ⁵	< 10	< 10	< 10
5	5 x10 ⁴	< 10	< 10	< 10

Tabla 3. Resultados Estadísticos para los diferentes tiempos estudiados.

Tiempo	n	Valor medio (UFC / g)
0	10	5.9×10^3 a
5	10	5.7×10^3 a
4	10	4.9×10^3 a
6	10	4.6×10^3 a
3	10	3.6×10^3 ab
7	10	2.4×10^3 bc
1	10	2.3×10^3 bcd
8	10	1.8×10^3 cd
12	10	1.7×10^3 cd
10	10	1.2×10^3 d

Letras diferentes difieren para $p < 0.05$

Figura 1. Comportamiento del Conteo total de microorganismos aerobios viables para cada producto

