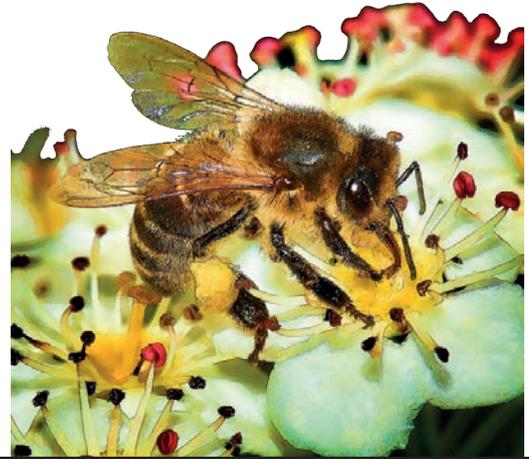


# XIX JORNADA MALAGUEÑA DE APICULTURA



Antequera, 11 de febrero de 2017

asociación MALAGUEÑA de apicultores  
www.mieldemalaga.com



## SALUD SERRANO

Departamento de Bromatología y  
Tecnología de Alimentos.  
Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.  
Email: sserrano@uco.es

## DESCONTAMINACION MICROBIANA DE POLEN APICOLA POR EXPOSICION DIRECTA AL OZONO

### RESUMEN

El ozono (O<sub>3</sub>), forma menos estable que el oxígeno, es un potente agente oxidante, con gran poder de desinfección. Desde hace décadas ha sido empleado mediante inyección en agua para desinfectar superficies, dada su alta capacidad microbicida. Los efectos bactericidas del ozono se han documentado en una amplia variedad de microorganismos, incluyendo bacterias Gram negativas y positivas, así como en células vegetativas y esporos. Existen numerosas ventajas en la utilización del ozono en agroindustria, como el aumento de la vida útil de productos agroindustriales. Otra ventaja de la utilización del ozono es la ausencia de residuo en el alimento tratado. El presente trabajo investiga la eficacia del ozono en el proceso de descontaminación microbiana del polen apícola, mediante la acción directa del ozono, en una emisión de 200 mg/h, en tres periodos de tiempo: treinta, sesenta y ciento veinte minutos.

**PALABRAS CLAVE:** Polen Apícola, Ozono, Descontaminación Microbiológica

### INTRODUCCIÓN

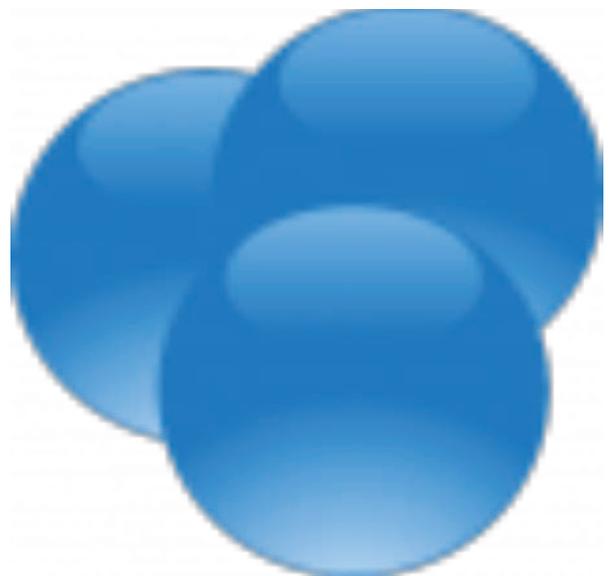
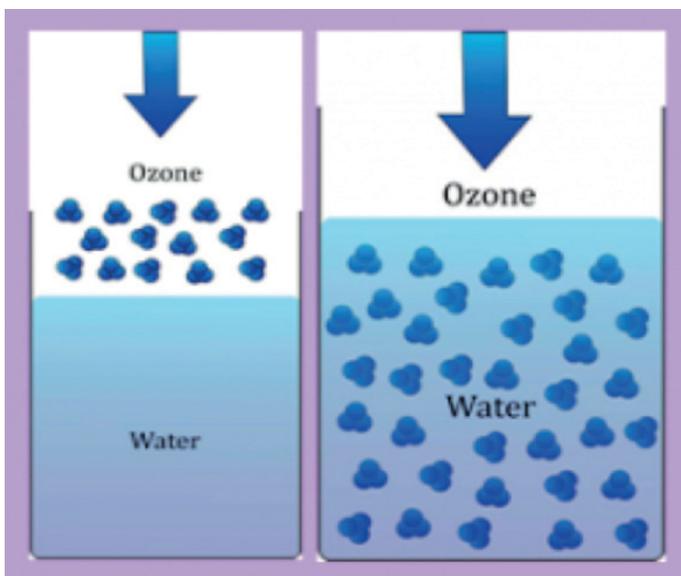
La contaminación microbiana del polen tiene dos fuentes principales. Una es intrínseca a la propia planta, y, por otro lado, la manipulación que realiza la abeja sobre el polen, para formar el pellet de polen. El polen de la planta podría estar contaminado por bacterias saprofitas [5]. La presencia de microorganismos en polen ha sido estudiada por diversos autores [11, 2].

A su vez, la flora intestinal de las abejas sanas está compuesta principalmente por bacterias Gram-negativas, especialmente de la familia Enterobacteriaceae, que constituyen aproximadamente el 70% de la población microbiana [1].

En 2001 la Food and Drug Administration aprobó para Estados Unidos el ozono como agente antimicrobiano en alimentos. Ello incorpora el uso del ozono como tratamiento en el procesado, almacenamiento, preparación y envasado de alimentos, además de mantenimiento de materias primas agroalimentarias con fines comerciales.

El uso del ozono se refuerza en comparación con otros métodos de descontaminación de alimentos como el agua oxigenada, la irradiación ultra violeta o el ácido paracético, debido a que su único producto de descomposición es el oxígeno, sin dejar residuo en el alimento o el medio ambiente. Otras ventajas de su empleo son la eliminación de olores y agentes alergénicos del aire [12].

El ozono tiene una fuerte actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos, protozoos y esporos de bacterias y hongos. También es efectivo contra la mayoría de los virus probados. Los mecanismos implicados en la inactivación microbiana por el ozono se atribuyen a sus reacciones de oxidación con componentes celulares de microorganismos. La actividad de oxidación del ozono está directamente asociada con su forma molecular o sus subproductos de descomposición, también conocidos como especies reactivas del oxígeno, tales como los radicales hidroxilos (OH), aniones superóxido ( $O_2^-$ ) e hidroperoxil ( $HO_2^-$ ). Las reacciones complejas de oxidación ocurren contra los lípidos no saturados en la envoltura celular microbiana, las enzimas intracelulares y el material genético [6,7]). El objetivo primario del ozono es la superficie de la célula microbiana. Las reacciones entre el ozono y los enlaces dobles de lípidos insaturados en la envoltura celular dan lugar a fugas de constituyentes celulares y lisis microbiana.



**Fuente:** <http://www.ozonesolutions.com/processes/ozone>

El tratamiento de ozonización puede aplicarse en forma de ozono acuoso (agua ozonizada) u ozono gaseoso dependiendo del producto a tratar.

Ejemplos de su aplicación son el incremento de la vida útil de ensaladas (Strickland Produce Company), y filetes de pescado (North Coast Seafood Company) [9].

La literatura consultada [2, 11] acerca de la microbiología del polen fresco revela una elevada carga microbiana que, de manera generalizada, se disminuye con tratamiento de desecación. Al objeto de favorecer la comercialización del polen congelado, este trabajo investiga las posibilidades del ozono como agente bactericida en el polen apícola.

## Material y métodos

Se obtuvieron 10 muestras de polen apícola en el apiario experimental del Departamento de Zoología de la Universidad de Córdoba situado en el Campus Universitario de Rabanales. Las muestras se obtuvieron a lo largo de la primavera del año 2016. Una vez obtenidas las muestras en condiciones higiénicas se transportaron al laboratorio para ser analizadas como se describe a continuación.

## Análisis microbiológico

Diez gramos de cada muestra fueron homogenizados en 90 ml de agua de peptona y se obtuvo la serie de diluciones decimales. Se realizó la siembra (por duplicado) en medios de cultivo para la enumeración de los siguientes microorganismos siguiendo la metodología de Gomes et al. (2010):

- Enumeración de microorganismos aerobios mesófilos totales: Medio Plate Count Agar (PCA) con incubación a 30°C durante 72 horas.
- Enumeración de mohos y levaduras: Medio Potatoe Dextrose Agar (PDA) con incubación a 25°C durante 5 días.
- Enumeración de *Staphylococcus aureus*. Medio Baird Parker Agar con incubación a 37°C durante 48 horas.
- Enumeración de enterobacterias totales: Medio Violet Red Bilis Glucose Agar (VRBG) con incubación a 37°C durante 24 horas.
- Enumeración de coliformes totales: Caldo Brilliant Green Bilis Lactose con incubación a 31°C con lecturas a las 24 y 48 horas.

## Proceso de ozonización de la muestra:

Las muestras de polen recién cosechadas se sometieron a la acción directa del ozono (emisión de 200 mg/h/10g de polen) por tiempos de 30, 60 y 120 minutos. Las muestras fueron analizadas microbiológicamente después de las exposiciones para los microorganismos mencionados.



**Tratamiento de ozonización gaseosa del polen apícola. Fuente. Elaboración propia**

## **Resultados, discusión y conclusiones:**

Según se observa en la tabla 1, se obtuvieron reducciones medias de 2.0, 1.33 y 2.55 log ufc/g en 30 minutos de exposición a partir de medias de recuentos iniciales 106,106 y 108 ufc/g para enterobacterias, aerobios mesófilos totales y mohos y levaduras, respectivamente. Estas reducciones se corresponden con 98.9, 95.3 y 99.7 %, respectivamente. A los 60 y 120 minutos de exposición se consiguió una reducción adicional de 1 log en el mejor de los casos.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de recuentos microbiológicos del polen fresco antes del tratamiento y después del tratamiento con ozono durante 30, 60 y 120 minutos.

	Aerobios mesofilos			Mohos/levaduras			Enterobacterias totales		
	Rango	media	SD	Rango	media	SD	Rango	media	SD
Sin tratamiento	2.0x10 <sup>4</sup> -2.7x10 <sup>7</sup>	2.0x10 <sup>6</sup>	6.3x10 <sup>6</sup>	6-8.8x10 <sup>9</sup>	7.5x10 <sup>8</sup>	2.0x10 <sup>9</sup>	2.5x10 <sup>4</sup> -9.7x10 <sup>7</sup>	8.5x10 <sup>6</sup>	2.4x10 <sup>7</sup>
Ozono 30m	1.5x10 <sup>3</sup> -6.5x10 <sup>5</sup>	9.4x10 <sup>4</sup>	1.4x10 <sup>5</sup>	0-6.9x10 <sup>6</sup>	2.1x10 <sup>6</sup>	2.0x10 <sup>6</sup>	1.1x10 <sup>3</sup> -3.5x10 <sup>5</sup>	9.3x10 <sup>4</sup>	1.0x10 <sup>5</sup>
Ozono 60m	1.0x10 <sup>3</sup> -4.0x10 <sup>5</sup>	5.4x10 <sup>4</sup>	8.9x10 <sup>4</sup>	0-4.2x10 <sup>6</sup>	1.4x10 <sup>6</sup>	1.3x10 <sup>6</sup>	1.0x10 <sup>3</sup> -1.8x10 <sup>5</sup>	4.1x10 <sup>4</sup>	4.7x10 <sup>4</sup>
Ozono 120m	1.0x10 <sup>3</sup> -9.0x10 <sup>4</sup>	1.3x10 <sup>4</sup>	1.9x10 <sup>4</sup>	0-2.2x10 <sup>6</sup>	8.5x10 <sup>5</sup>	7.2x10 <sup>5</sup>	0-1.3x10 <sup>5</sup>	1.8x10 <sup>4</sup>	3.1x10 <sup>4</sup>

Estos resultados son coincidentes con los obtenidos por otros autores como Zagon et al. [12] que presentan una reducción de 4,4 log en la ozonización de pimienta blanca, o Jian & Cranston [4] que en su estudio sobre pimienta negra en grano y pimienta negra molida muestran reducciones de 3-4 log y 3-6 log, respectivamente. Por el contrario, otros autores como Koseki et al. [8] probaron agua ozonizada en pepinos y fresas sin obtener buenos resultados (reducción de 0.7 log). De las escasas referencias específicas para polen, Hong-Sun et al. [3] concluyen que el ozono aplicado por 8 horas no fue suficiente para la eliminación total de microorganismos y causó cambios significativos en la composición ácidos grasos, en la oxidación lipídica y destrucción de pigmentos naturales del polen.

A la luz de nuestros resultados podemos concluir en que el elevado poder descontaminante del ozono abre posibilidades para incrementar la vida útil del polen apícola y garantizar su calidad microbiológica en su comercialización como polen congelado. Y ello, claro está, condicionado a futuros estudios necesarios sobre la influencia del ozono en su composición química para obtener los parámetros de tratamiento adecuados para el mantenimiento de su calidad nutricional.

## Referencias:

- [1] Glinski, Jarosz J. 1998. Microflora de las abejas. *Mikrobiol* 27, 95-107.
- [2] Gomes, S., Dias, L., Moreira, L., Rodrigues, P. & Estevinho, L. M. 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology* 48: 544–548.
- [3] Hong-Sun Yook, Young-Jin Chung, Jung-Ok Kim, Oh-Jin Kwon, Sung Kim, Myung-Woo Byun. 1997. Effects of ionizing energy and ozone treatments on the microbial decontamination and physicochemical properties of aloe powders and bee pollen. *Journal of Food Science and Nutrition*. 2, (2), 89-95.
- [4] Jian Z. & Cranston P.M. 1995. Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 68 (1), 11-18.
- [5] Kedzia B. 1999. Estudios sobre la contaminación de microorganismos a base de hierbas materias primas. *Disertación*. Ed. IMP, Poznan; 44-50.
- [6] Khadre, M. A., A.E. Yousef & J.G. Kim. 2001. Microbiological aspects of ozone application in food: a review. *Journal of Food Science* 66, 1-11.
- [7] Kim, J.G., A. E. Yousef & M. H. Khadre. 2003. Ozone and its current and future application in the food industry, p. 167-218. In S. Taylor (ed.) *Advances in food science and nutrition*, Vol 45. Elsevier Sci. Ltd., London, UK.

[8] Koseki, S., Yoshida K., Isobe S. & Itoh, K. 2004. Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries. *Journal of Food Protection*. 67 (6), 1247-1251.

[9] Rice R.G. & Graham D.M. 2000. Recent North American developments in ozone applications in food processing. *Proceedings of the International Ozone Association, Pan American Group*. Orlando, Florida. Oct. 1-4, 2000. [www.intl-ozone-assoc.org](http://www.intl-ozone-assoc.org).

[10] Rice R.G., Graham D.M. & Lowe M.T. 2002. *Recent Ozone Applications in Food Processing and Sanitation*.

<http://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/october-november-2002/recent-ozone-applications-in-food-processing-and-sanitation/>

[11] Serra Bonvehí, J. & Escolá Jordá, R. 1997. Composición nutricional y calidad microbiológica. *Vida Apícola* 86, 13-16.

[12] Zagon J., Dehne L. I., Wirz J., Linke B. & Boegl K. W. 1992. Ozone treatment for removal of microorganisms from spices as an alternative to ethylene oxide fumigation or irradiation? Results of a practical study. *Bundesgesundheitsblatt*. 35 (1), 20-23.