UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Influencia del proceso de deshidratación en la calidad fisicoquímica y bioactiva del polen apícola.

Nazly Andrea Pulido Chavarro

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Bogotá D.C., Colombia

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Influencia del proceso de deshidratación en la calidad fisicoquímica y bioactiva del polen apícola.

Nazly Andrea Pulido Chavarro

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora

Amanda Consuelo Díaz Moreno
Ingeniera de Alimentos, Ph D

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Bogotá D.C., Colombia

2013

A mi mamá y hermana por apoyarme y acompañarme siempre, por llenar de alegría mi presente y de inspiración mi futuro.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó en el Grupo Aseguramiento de Calidad de Alimentos del Instituto de Ciencia y Tecnología de alimentos - ICTA de la Universidad Nacional de Colombia, gracias al apoyo de personas e instituciones a las cuales quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

A la Profesora Consuelo Díaz Moreno y el Profesor Henry Alexander Váquiro, directores de esta tesis, por su apoyo y orientación durante el desarrollo de la misma. Su experiencia, dedicación y colaboración han sido imprescindibles para la realización de este trabajo.

A los profesores de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, quienes con sus sugerencias y apoyo enriquecieron el trabajo.

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (COLCIENCIAS), por el financiamiento del Programa Estratégico en Alternativas para la Generación de Valor en Productos Apícolas en Colombia a través de la Innovación y el Desarrollo Tecnológico.

Al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), de la Universidad Nacional de Colombia, y a su Director Aníbal Herrera, por facilitar sus instalaciones y equipos para el desarrollo de la fase experimental.

A todos los compañeros de la Maestría, en especial a Claudia Salazar por todos los momentos compartidos y colaboración.

Resumen

El trabajo estudia la cinética de secado por aire caliente y evalúa la influencia de la temperatura del aire de secado sobre características fisicoquímicas y bioactivas en polen apícola. Para realizar el estudio se establecieron tres temperaturas (50 °C, 55 °C y 60 °C) y dos velocidades de aire de secado (3 m s^{-1} y 4 m s^{-1}). Los datos experimentales de las curvas de secado se analizaron empleando un modelo difusivo basado en la Segunda ley de Fick para un sistema de geometría esférica junto con los datos de humedad obtenidos con las isotermas de desorción. Los resultados indican que cuanto mayor es la temperatura del aire de secado el tiempo requerido para secar es menor y que se obtiene un mejor ajuste del modelo considerando el coeficiente de la difusividad efectiva dependiente de la temperatura. En cuanto a la influencia de la temperatura del aire de secado en la calidad del producto final se evidenció que no existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fenoles totales, contenido de vitamina E, contenido de carotenoides y la actividad antioxidantes en las muestras antes y después del proceso.

Palabras clave: Polen apícola, secado, modelo difusional, compuestos bioactivos, actividad antioxidante.

Abstract

The research studies the kinetics of the hot air drying and evaluates the influence of air - drying temperature on the physical, chemical and biological characteristics in bee pollen. To do the research three temperatures were established (50°C, 55°C and 60°C) and two drying air velocities (3 m s-1 and 4 m s -1). The experimental data of the drying curves was analyzed using a diffusive model based on Fick's Second Law for a geometric sphere system together with the humidity data obtained with the desorption isotherms. The results show that the higher the air's temperature is, the time required for drying the pollen is reduced; and that the results have a better adjustment to the model considering the coefficient of the effective diffusiveness depending on the temperature. In respect to the influence of the drying-air's temperature on the final product quality, it can be evidenced that there is not meaningful statistical difference on the amount of total phenol, vitamin E, carotenoids as well as the antioxidant activity before and after the research process.

Key Words: Bee – pollen, drying, diffusion model, bioactive compounds, antioxidant capacity.

Contenido

Pág.

Resumen VIII

Abstract IX

Lista de figuras XIII

Lista de Símbolos y abreviaturas XIV

Introducción 17

1. Cinética de secado de polen apícola 20
1.1 Marco de referencia 20
1.1.1 Generalidades del secado 20
1.1.2 Etapas de proceso 21
1.1.3 Modelización del proceso 23
1.2 Materiales y métodos 27
1.2.1 Adecuación de materia prima 27
1.2.2 Contenido de humedad 27
1.2.3 Experiencias de secado 27
1.2.4 Modelización de las cinéticas de secado 27
1.2.5 Identificación de la difusividad efectiva 29
1.3 Resultados y discusión 29
1.4 Conclusiones y recomendaciones 33
1.4.1 Conclusiones 33
1.4.2 Recomendaciones 33

2. Isotermas de desorción de polen apícola 35
2.1 Marco de referencia 35
2.1.1 Actividad de agua 35
2.1.2 Isotermas de sorción 36
2.2 Materiales y métodos 39
2.2.1 Contenido de humedad 39
2.2.2 Determinación de la isoterma de desorción 39
2.2.3 Modelización de las isotermas y análisis estadístico 40
2.2.4 Calor isostérico de Sorción 42
2.3 Resultados y discusión 43
2.4 Conclusiones y recomendaciones 47
2.4.1 Conclusiones 47
2.4.2 Recomendaciones 48

3. Efecto de la temperatura del aire de secado sobre características fisicoquímicas, antioxidantes, microestructurales y microbiológicas en polen apícola. 49
3.1 Marco de referencia 49
3.1.1 Producción nacional de polen 49
3.1.2 Generalidades polen 51
3.1.3 Estructura del grano de polen 51

3.1.4 Composición nutricional 52
3.1.5 Compuestos bioactivos presentes en el polen 55
3.1.6 Calidad microbiológica del polen 59
3.2 Materiales y métodos 61
3.2.1 Adecuación materia prima y proceso de secado 61
3.2.2 Caracterización Fisicoquímica 61
3.2.3 Características Antioxidantes 62
3.2.4 Características microestructurales 64
3.2.5 Características microbiológicas 64
3.3 Resultados y discusión 66
3.3.1 Efecto sobre las características fisicoquímicas. 66
3.3.2 Efecto sobre el contenido de fenoles totales, contenido de carotenoides totales, contenido de vitamina E y actividad antioxidante. 67
3.3.3 Efecto sobre la carga microbiológica del polen apícola. 71
3.4 Conclusiones y recomendaciones 72
3.4.1 Conclusiones 72
3.4.2 Recomendaciones 72

A. Anexo: Isotermas de adsorción 74

Bibliografía 77

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1-1. Modelos empíricos.....25
Tabla 1-2. Tiempos de proceso de secado reportados por diversos autores para alimentos. 30
Tabla 1-3. Parámetros de la difusividad efectiva.....31
Tabla 1-4. Valores de difusividad efectiva reportados por diversos autores para alimentos. 32
Tabla 2-1. Modelos isotermas de sorción 38
Tabla 2-2. Humedades relativas en equilibrio con soluciones saturadas de sales a distintas temperaturas.....40
Tabla 2-3. Ajuste de los modelos de GAB, Oswin, Henderson y Halsey. 45
Tabla 2-4. Valores del contenido de humedad de la monocapa (X_m) obtenidos por el modelo de GAB para otros alimentos.....46
Tabla 3-1. Vitaminas presentes en el polen apícola.....54
Tabla 3-2. Caracterización fisicoquímica de polen apícola húmedo y seco proveniente del Departamento de Boyacá 55
Tabla 3-3. Características microbiológicas del polen apícola húmedo y seco proveniente del Departamento de Boyacá.....60
Tabla 3-4. Criterios de calidad microbiológica del polen apícola para diferentes países. 61
Tabla 3-5. Propiedades fisicoquímicas de polen apícola sometido a diferentes temperaturas de secado. 67
Tabla 3-6. Efecto de la temperatura del aire de secado sobre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de muestras de polen fresco y deshidratado.....68
Tabla 3-7. Características microbiológicas del polen húmedo y seco a diferentes temperaturas de aire de secado.....71

Lista de figuras

Pág.

Figura 1-1. Curva de secado típica 22
Figura 1-2. Valores experimentales y estimados para la evolución del contenido de humedad adimensional a velocidades de secado de (a) 3 m s^{-1} y (b) 4 m s^{-1}. 29
Figura 2-1. Velocidad de las alteraciones de los alimentos en función de la actividad de agua 35
Figura 2-2. Isotermas de sorción 37
Figura 2-3. Datos experimentales y simulados usando los modelos de: (a) GAB, (b) Oswin, (c) Henderson y (d) Halsey. 44
Figura 2-4. Influencia del contenido de humedad y la temperatura en el calor isostérico de sorción del polen apícola. 47
Figura 3-1. Dilución y homogenización de la muestra 65
Figura 3-2. Estructura del grano (a) polen fresco, (b) polen seco 50 °C, (c) polen seco 55 °C y (d) polen seco 60°C por microscopía electrónica de barrido. 69
Figura 3-3. Efecto de la temperatura del aire de secado en el contenido de vitamina E en polen apícola. 70

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Unidad SI
a_w	Actividad de agua	
A	Parámetros de los modelos empíricos de Oswin, Henderson y Halsey.	
B	Parámetros de los modelos empíricos de Oswin, Henderson y Halsey	
C	Parámetros de los modelos empíricos de Oswin, Henderson y Halsey	
C_G	Parámetro del modelo de GAB	
D_0	Difusividad efectiva de referencia, factor preexponencial	$m^2\ s^{-1}$
D_e	Difusividad efectiva	$m^2\ s^{-1}$
E_a	Energía de activación	$kJ\ mol^{-1}$
H_m	Calor de sorción en la monocapa	$kJ\ mol^{-1}$
H_n	Calor de sorción en la multicapa	$kJ\ mol^{-1}$
K_G	Parámetro del modelo de GAB.	
N	Término de la serie	
Q_{st}	Calor isostérico de sorción	$kJ\ mol^{-1}$
r	Distancia radial	M
R	Constante de los gases ideales	$kJ\ kmol^{-1}\ K^{-1}$
R^2_{adj}	Coeficiente de correlación ajustado	
T	Tiempo	S
T	Temperatura	° C
$\overline{X}$	Contenido de humedad promedio	$kg\ kg^{-1}$
X_e	Contenido de humedad en equilibrio	$kg\ kg^{-1}$
X_m	Contenido de humedad en la monocapa	$kg\ kg^{-1}$
X_0	Contenido de humedad inicial	$kg\ kg^{-1}$
v	Velocidad del aire de secado	$m\ s^{-1}$

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Unidad SI
A	Coeficiente para transformar el modelo de GAB en su forma cuadrática	

Abreviaturas

Abreviatura	Término
EMR	Error Medio relativo
HRE	Humedades Relativa en Equilibrio

Introducción

Los productos apícolas son considerados alimentos funcionales, constituyen parte de la dieta humana desde hace siglos y han sido empleados en la medicina tradicional, por sus propiedades nutricionales y terapéuticas. El polen apícola es un producto que se utiliza como suplemento dietario por su alto valor nutricional, producto rico en azúcares, proteínas, lípidos, vitaminas, compuestos fenólicos y carbohidratos [1, 2]. En EE.UU., el polen apícola fue definido por la FDA (*Foods and Drugs Administration*) como un "suplemento nutricional usado para complementar la dieta mediante el aumento de la ingesta dietaría total", mediante el acto administrativo conocido como Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 [3]

En el 2006 el Observatorio de Cadenas Productivas, del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural [4] estimó que hay cerca de 1750 colmenas dedicadas exclusivamente a la producción de polen y cerca de 1300 para producción mixta de miel y polen. La producción nacional de polen, es estimada como una de las de mayor rendimiento, obteniéndose hasta 36 Kg por colmena/año, lo cual representa aproximadamente una cantidad de 240 toneladas por año. La mayor parte de la producción se concentra en Boyacá y Cundinamarca.

Los productores de polen del Altiplano Cundiboyacense han identificado la capacidad productiva en esta región; sin embargo existe la necesidad fortalecer la cadena productiva considerando las tendencias en el mercado de alimentos hacia productos inocuos y diferenciados, implementando protocolos de producción que permitan la obtención de pólenes que cumplan con los estándares de calidad exigidos para la comercialización de alimentos a nivel nacional e internacional.

Por otro lado, la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, en el año 2007 participó en la Convocatoria para la Cofinanciación de Programas y Proyectos de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación para el Sector Agropecuario por

Cadenas Productivas del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, para la cual formuló el Programa de Investigación denominado "*Estrategias para establecer la Denominación de Origen de Productos de las Abejas en Colombia",* identificando la necesidad de mejorar la competitividad de la cadena apícola estableciendo parámetros de calidad y diferenciación para productos apícolas colombianos. Actualmente se desarrolla el proyecto "Establecimiento de procesos de conservación y transformación de polen apícola para la obtención de alimentos con características funcionales", el cual está trabajando en la implementación de mejoras en el manejo postcosecha y procesos de generación de valor del polen apícola.

En este contexto, el presente trabajo propone evaluar la influencia del proceso de secado sobre la calidad fisicoquímica y bioactiva del polen apícola, proporcionando a la cadena apícola, la base tecnológica para la obtención de polen seco estable y con buenos atributos de calidad.

Las condiciones de proceso utilizadas en el estudio fueron temperatura (50 °C, 55 °C y 60 °C) y velocidad de aire de secado (3 m s^{-1} y 4 m s^{-1}), los ensayos se hicieron con polen apícola de origen geográfico común. Las cinéticas de secado fueron evaluadas a partir de la solución analítica propuesta por Crank (1979) a la segunda Ley de Fick para un sistema con geometría de una esfera. La formulación del modelo fue realizada considerando que el material era homogéneo e isótropo; que el efecto de la contracción sobre los procesos de transferencia era despreciable; que la difusividad efectiva era constante; y que la resistencia externa a la transferencia de materia y calor era despreciable. Todas las cinéticas siguieron un comportamiento propio del secado de materiales alimentarios, es decir, a mayores temperaturas del aire de secado se presenta una reducción del tiempo de proceso.

Las isotermas de desorción del polen apícola fueron determinadas a temperaturas de 50 °C y 60 °C empleando la técnica gravimétrica estática. El modelo de GAB se consideró como el más adecuado para representar la influencia de la actividad de agua sobre el contenido de humedad de equilibrio del polen apícola. Las isotermas

presentaron una forma sigmoide Tipo III, según la clasificación propuesta por Brunauer (1940), mostrando un comportamiento acorde con materiales agroalimentarios.

Para evaluar la influencia de las condiciones del proceso de secado por aire caliente sobre las características fisicoquímicas y bioactivas del polen se comparó polen húmedo con las muestras deshidratadas correspondientes utilizando la prueba estadística t con dos colas con un nivel de confianza del 95%, mostrando que la temperatura y velocidad del aire de secado evaluadas no tienen un efecto significativo sobre el contenido de fenoles, carotenoides totales, contenido de vitamina E y la actividad antioxidante total en polen apícola.

1. Cinética de secado de polen apícola

1.1 Marco de referencia

1.1.1 Generalidades del secado

En la actualidad las operaciones de secado son esenciales en diferentes industrias (química, alimentaria, agrícola, biotecnológica, cerámica, farmacéutica, de polímeros, elaboración de papel y procesamiento de minerales y madera) para la obtención de productos con unas características deseadas que favorecen su manipulación, preservación, almacenamiento y/o transporte [6].

En la industria de alimentos, el secado o deshidratación es una técnica de conservación cuyo objetivo principal es la disminución de la actividad del agua, con el fin de detener o aminorar el crecimiento de microorganismos perjudiciales, así como ciertas reacciones químicas [7]. Además de facilitar la conservación, se utiliza para reducir costos de embalaje y transporte, pues el secado reduce el peso y a veces el volumen [8].

El secado convectivo, o secado por aire, es un método de deshidratación utilizado desde la antigüedad, que en la actualidad se sigue utilizando y mejorando. Consiste en la evaporación del agua usando una corriente de aire o de vapor de agua sobrecalentado, de las cuáles, se transfiere la energía al producto para la evaporación del agua [9].

Durante el secado convectivo tienen lugar dos procesos simultáneamente que determinan la velocidad del proceso [6]:

- Transferencia de calor desde el aire circundante al producto que permita la evaporación del agua en la superficie.
- Transferencia del agua desde el interior del sólido hasta su superficie para su posterior evaporación.

La transferencia de calor desde el medio ambiente circundante hacia el sólido puede ocurrir por convección, conducción, radiación o como resultado de una combinación de estos mecanismos. Estos procesos suministran calor a la superficie del objeto que está siendo secado, de forma tal que el calor luego se difunde dentro del sólido esencialmente por conducción [10]

La eliminación de agua en forma de vapor desde la superficie del material depende fundamentalmente de las condiciones externas de temperatura, humedad, velocidad y dirección del flujo de aire caliente, así como de la geometría del sólido [6]. La evaporación es controlada por la difusión de vapor desde la superficie del sólido hacia el aire que lo circunda. El contacto entre el aire y el agua líquida contenida en la matriz sólida involucra fenómenos de transporte interfacial, donde tienen especial consideración las características higroscópicas del material, los coeficientes de transferencia por convección y las propiedades termodinámicas de la mezcla aire – vapor [11]

A medida que la humedad superficial se evapora, el transporte de humedad desde el interior hacia la superficie se desarrolla fundamentalmente a través de uno o varios de los siguientes mecanismos: difusión líquida (si el sólido se encuentra a una temperatura por debajo del punto de ebullición del líquido), difusión de vapor (si el líquido se evapora dentro del material) y diferencias de presión hidrostática (por tensión interna debido al encogimiento del material).

1.1.2 Etapas de proceso

En los procesos de secado, los datos suelen expresarse como la variación que experimenta el peso del producto que sé está secando con el tiempo. En la Figura 1-1, se representa una curva típica de secado frente al tiempo. En ella se distinguen tres períodos, los cuales se clasifican en función de la variación de la velocidad de secado.

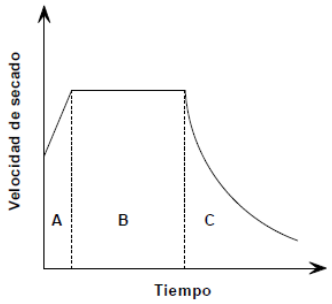

Figura 1-1. Curva de secado típica

- **Período de inducción o de velocidad de secado creciente** (Figura 1-1.A): En esta etapa se inicia el proceso de secado de manera que el producto se calienta y aumenta la temperatura de la interfase, produciéndose una adaptación del material a las condiciones de secado. La duración de este período es función del contenido de humedad del sólido, de su temperatura, de la velocidad del aire, entre otros, pero a fines de cálculo se prescinde de él ya que se considera que en su transcurso el secado tiene al régimen estacionario y suele ser de corta duración [9].
- **Período de velocidad de secado constante (Figura 1-1.B):** La velocidad con que se elimina agua de la superficie del sólido es menor que la velocidad con que llega a ella desde el interior del mismo. De esta manera la superficie del material se mantiene constantemente húmeda y se comporta como una masa de líquido. De aquí que la velocidad de secado sea igual a la velocidad de evaporación del agua, que a su vez será proporcional a la velocidad de flujo de calor que llega desde el aire al sólido. En tales condiciones, la temperatura de la interfase permanece constante y el calor que llega al sólido se invierte totalmente en evaporar el líquido. A medida que transcurre el tiempo, el sólido se va secando y llega un momento en el que la velocidad con que el agua llega a la superficie se hace menor que la velocidad de evaporación, que implicaría el uso de toda la energía que llega del aire en evaporar el agua del alimento. Desde este momento parte del calor que llega al sólido se invierte en calentarlo. El contenido de humedad del producto en este instante se conoce como humedad crítica [9].
- **Período de velocidad de secado decreciente (Figura 1-1.C):** La humedad del producto sigue disminuyendo hasta alcanzar la humedad de equilibrio. En este

período las líneas que se obtienen pueden ser curvas, en otros casos serán rectas o bien una combinación de ambas. La interpretación exacta del fenómeno aún no se ha dado pero hay varias teorías que intentan explicarlo. En los casos en los que la disminución de la velocidad de secado es lineal con el contenido de humedad, se supone que la evaporación del agua que contiene el material continúa produciéndose en la misma forma que en el período de velocidad contante, con la salvedad de que no ocurre en toda la superficie, ya que comienzan aparecer zonas secas, de manera que la velocidad de secado disminuye a medida que lo hace la superficie húmeda [9].

1.1.3 Modelización del proceso

La modelización matemática de procesos constituye una herramienta básica en los nuevos sistemas de producción ya que permite estimar previamente cuál va a ser el desarrollo del proceso, permitiendo la posterior optimización y control integral del proceso [12].

En términos matemáticos, todos los procesos involucrados, aún en el proceso de secado más simple, son altamente no lineales y por consiguiente el desarrollo de modelos representa cierta complejidad. Aun así, la modelización y simulación de procesos, junto con la experimentación a escala de laboratorio y planta piloto, son necesarias para el desarrollo de nuevos equipos y aplicaciones [13].

En la modelización de un proceso de secado convectivo se pueden distinguir los siguientes apartados [12]:

- La ***identificación de resistencias controlantes*** constituye el primer paso para abordar la modelización del proceso. En primer lugar se debe identificar si la velocidad del proceso está controlada por la transferencia de calor o por la de materia. Cuando ambas resistencias sean significativas, el modelo deberá incluir ecuaciones que consideren la transferencia de masa simultánea. Si se asume que la velocidad del proceso está controlada por el proceso de transferencia de materia, también hay que especificar si la resistencia controlante de este proceso

se localiza en la fase gaseosa (resistencia externa) o en el interior del sólido (resistencia interna)[12].

- ***Selección del mecanismo de transferencia de materia.*** Como se ha mostrado anteriormente existen diferentes teorías utilizadas para describir el movimiento del agua en el interior de los sólidos durante el secado. Dentro de ellas, la más frecuentemente utilizada para la modelización del proceso de secado es la teoría difusional. Además de estas teorías que intentan explicar el movimiento del agua utilizando leyes física, también se pueden utilizar modelos empíricos sin ningún tipo de fundamentos, los cuáles no buscan explicar el proceso sino su descripción e identificación de las variables más relevantes [14].
- ***Planteamiento matemático del modelo.*** Una vez seleccionada la teoría que se utilizará para describir el proceso de secado, el siguiente paso es la obtención de las ecuaciones matemáticas que describirán el proceso. Durante la obtención de las ecuaciones matemáticas representativas del proceso, frecuentemente se asumen una serie de hipótesis que puedes estar relacionadas con la homogeneidad e isotropicidad del sólido o con sus variaciones de volumen durante el secado [12].
- ***Propiedades del material.*** El conocimiento de las propiedades físicas como actividad de agua, difusividad, conductividad, calor específico e isotermas de sorción es esencial para el desarrollo y solución de modelos matemáticos fundamentados en principios de transferencia de materia y calor que gobiernan el proceso de secado [12, 15]
- ***Resolución de ecuaciones matemáticas.*** El grado de complejidad de la resolución del modelo difusional planteado depende en gran parte de condiciones de entorno asumidas. En función del objetivo de la modelización se pueden plantear modelos con diferentes grados de complejidad en la resolución, lo que permite evaluar el esfuerzo requerido en la modelización y realizar la selección del modelo oportuno teniendo en cuenta este factor. Según las ecuaciones planteadas se podrán utilizar métodos de resolución analíticos como el método de separación de variables o por el contrario en algunas ocasiones hay que recurrir a métodos de resolución numéricos como el de diferencias finitas o el de elementos finitos [12, 15].

- ***Validación del modelo.*** Una vez ajustado el modelo, es necesaria su validación con el propósito de determinar su fiabilidad en la representación del proceso. La validación se lleva a cabo a partir de información experimental diferente a la utilizada en la identificación paramétrica. Una manera de validar el modelo es extrapolar los resultados obtenidos a otras condiciones experimentales y ver la capacidad de predicción del modelo en dichas condiciones. [12, 15]

Modelos empíricos

Entre las ecuaciones empíricas comúnmente utilizadas para el estudio y modelado de la cinética de secado de alimentos están el modelo de Newton o también conocida como Lewis, Page, Henderson – Pabis, logarítmico, exponencial de dos términos, page modificado, Wang – Singh, entre otros., sin embargo todos estos modelos derivan y proponen una similitud con respecto al modelo difusional de la segunda ley de Fick [16, 17].

A continuación en la Tabla 1-1, se muestran algunos de los modelos más utilizados por los investigadores para simular las curvas de secado en diversas matrices alimentarias.

Tabla 1-1. Modelos empíricos

Modelo matemático	Expresión matemática
Newton	$MR = \exp(-kt)$
Page	$MR = \exp(-kt^n)$
Page modificado (I)	$MR = \exp[-(kt)^n]$
Page modificado (II)	$MR = \exp[(-kt)^n]$
Henderson – Pabis	$MR = a \cdot \exp(-kt)$
Logaritmico	$MR = a \cdot \exp(-kt) + c$
Wang – Singh	$MR = 1 + at + bt^2$

En estos modelos MR representa la razón de humedad adimensional, dada por la expresión $MR = (X - X_e)/(X_0 - X_e)$, donde X es el contenido de humedad del producto en un instante dado, X_0 es el contenido de humedad inicial del producto y X_e es el contenido de humedad en equilibrio del producto. La predicción del proceso de secado

experimental se realiza a través de los modelos matemáticos, los cuales necesitan a su vez linealizarse para obtener las constantes de secado propias de cada modelo, siendo éstas las que describen los mecanismos de los fenómenos de transferencia de calor y materia e investigan la influencia de aquellas variables de proceso que ejercen una remoción del agua [16].

Modelos difusionales

Los modelos difusionales son fáciles de formular y normalmente proporcionan resultados razonables, su principal inconveniente son las suposiciones que se tienen en cuenta para poder resolver, en casi todos ellos se emplea como fuerza impulsora el gradiente de humedades [12].

Al emplear un modelo difusivo para describir los mecanismos de transporte, las ecuaciones empleadas se deducen a partir de la ley de Fick. A continuación, se presenta la ecuación modificada de la ley de Fick para geometría esférica:

$$\frac{\partial W}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial r}\left(D_e \frac{\partial W}{\partial r}\right) + \frac{2}{r} D_e \frac{\partial W}{\partial r}$$

Ecuación 1-1

Donde W es el contenido en humedad (kg agua/ kg ss), r es la dimensión radial (m), D_e es la difusividad efectiva (m2 s-1) y t es el tiempo (s) [18].

El efecto de la temperatura y la humedad sobre la difusividad efectiva ha sido ampliamente descrito mediante la ecuación de Arrhenius de la siguiente manera:

$$D_e = D_0\,(X)\,\exp\left[-\frac{E_a(X)}{R_c\,T}\right]$$

Ecuación 1-2

Donde E_a es la energía de activación que puede depender del tipo de sólido y del contenido de humedad, D_0 es un término preexponencial, R_c es la constante de los gases ideales y T es la temperatura absoluta [19]. La influencia de la temperatura en la difusividad efectiva tiene su origen en la mayor movilidad de las moléculas de agua que

se origina al aumentar la temperatura causando una disminución en la resistencia interna a la transferencia de masa.

1.2 Materiales y métodos

1.2.1 Adecuación de materia prima

El polen apícola se recolectó en apiarios ubicados en la Región del Altiplano Cundiboyacense y se almacenó a –18 °C hasta su análisis.

1.2.2 Contenido de humedad

La humedad inicial del polen apícola se determinó por triplicado según metodología descrita por Díaz et al. [20], la cual consistió en secar 3.0 g de muestra a 65 °C durante 24 h en una estufa con circulación forzada de aire (Thermo Scientific, Heraeus UT - 6, Alemania). El contenido de humedad fue calculado a partir de la diferencia entre la masa del material húmedo y seco, expresando los resultados en base seca (kg kg^{-1} b.s).

1.2.3 Experiencias de secado

Las muestras se secaron con aire caliente a temperaturas de 50 °C, 55 °C y 60 °C en un secador convectivo piloto ubicado en el Laboratorio de Ingeniería Química - LIQ de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Las velocidades del aire de secado empleadas fueron 3.0 ± 0.2 m s^{-1} y 4.0 ± 0.2 m s^{-1}. Cada experimento se realizó por triplicado.

1.2.4 Modelización de las cinéticas de secado

A partir del balance de agua en régimen transitorio para un volumen de control diferencial de geometría esférica, la transferencia de humedad en la dirección radial puede ser descrita usando la Ecuación (1-1), la cual ha sido formulada considerando que el material es homogéneo e isótropo y que el principal mecanismo de transporte de humedad a través del material es la difusión líquida.

Las condiciones iniciales y de contorno necesarias para la solución de la ecuación de gobierno (Ecuación (1-1)) fueron establecidas considerando que la distribución de la humedad dentro del sólido al inicio del proceso eran uniforme (Ecuación (1-4)), que existía simetría en la distribución de la humedad (Ecuación (1-5)), y que la resistencia externa a transferencia de materia era despreciable (Ecuación (1-6)).

Si $\mathbf{t = 0, X = X_0}$ **Ecuación 1-3**

Si $\boldsymbol{t > 0, \frac{\partial X}{\partial r}\Big|_{r=0} = 0}$ **Ecuación 1-4**

Si $\boldsymbol{t > 0, X|_{r=R} = X_e}$ **Ecuación 1-5**

Teniendo en cuenta las condiciones iniciales y de contorno (Ecuaciones (1-4), (1-5) y (1-6)), la solución analítica de la Ecuación (1-1) por el método de separación de variables conduce a la Ecuación (1-7), al considerar que el cambio de volumen del material es despreciable, que la difusividad efectiva es constante y que el proceso es isotérmico:

$$\frac{\bar{X} - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} exp\left(\frac{n^2 \pi^2 D_e t}{R^2}\right)$$ **Ecuación 1-6**

En las Ecuaciones (1-1) y (1-7), X es el contenido de humedad local (kg kg^{-1} b.s.), X_0 es el contenido de humedad inicial (kg kg^{-1} b.s.), X_e es el contenido de humedad de equilibrio (kg kg^{-1} b.s.), $\bar{X}$ es el contenido de humedad promedio (kg kg^{-1} b.s.), D_e es la difusividad efectiva (m^2 s^{-1}), r es la dimensión (posición) radial (m), R es el radio (m), t es el tiempo (s) y n es el término de la serie. Para completar la formulación del modelo matemático fueron consideradas las isotermas de desorción y las propiedades físicas del aire húmedo.

1.2.5 Identificación de la difusividad efectiva

La identificación del coeficiente de difusión efectiva, el cual fue considerado como constante (Ecuación (1-8)) y como una función tipo Arrhenius dependiente de la temperatura (Ecuación (1-9)).

$$D_e = constante$$ **Ecuación 1-7**

$$D_e = D_0\ exp\left[-\frac{E_a}{R(T+273.16)}\right]$$ **Ecuación 1-8**

Siendo E_a la energía de activación (kJ mol^{-1}), D_0 es un término preexponencial, R es la constante de los gases ideales (kJ $kmol^{-1}$ K^{-1}) y T es la temperatura (°C).

Para evaluar la calidad del ajuste obtenido con el de los modelos sobre los datos experimentales se utilizaron el coeficiente de determinación ajustado (R^2_{adj}) y el error medio relativo (EMR).

1.3 Resultados y discusión

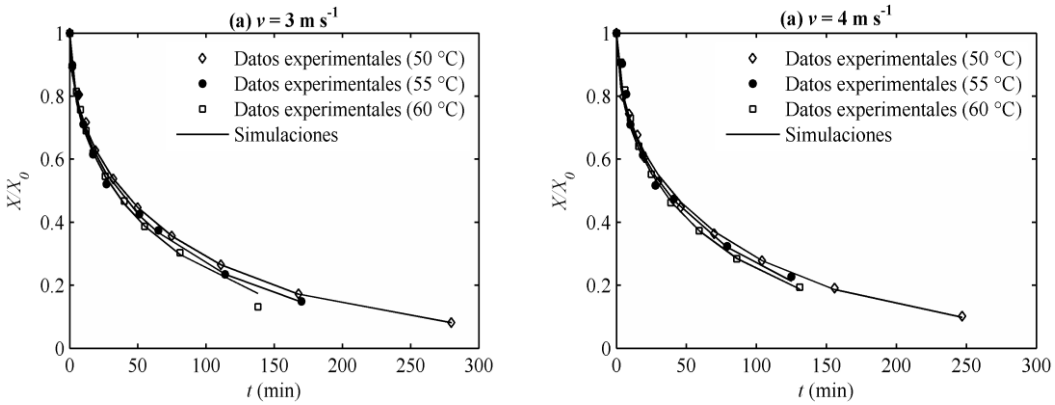

Figura 1-2. Valores experimentales y estimados para la evolución del contenido de humedad adimensional a velocidades de secado de (a) 3 m s^{-1} y (b) 4 m s^{-1}.

En la Figura 1-2, se muestra las curvas de secado de polen apícola para las temperaturas y velocidades evaluadas. Todas las cinéticas siguieron un comportamiento propio del secado de productos agroalimentarios, es decir, al aumentar la temperatura del aire de secado se presenta una disminución del tiempo de proceso; este

comportamiento es reportado por diversos autores para otros alimentos, *ver* Tabla 1- 2. El tiempo de secado necesario para alcanzar el contenido de humedad en equilibrio en todos los experimentos oscilo entre 131 - 280 min. El tiempo de secado más largo para polen apícola fue para la temperatura y velocidad del aire de secado de 50 °C y 3 m s^{-1} respectivamente, mientras que el tiempo de secado más corto fue para la temperatura y velocidad del aire de secado de 60 °C y 4 m s^{-1}

Tabla 1-2. Tiempos de proceso de secado reportados por diversos autores para alimentos.

Producto	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Referencia
Arroz	50 °C 60 °C 80 °C 100 °C 120 °C	360 270 120 90 70	[21]
Zanahoria	50 °C 60 °C 70 °C	1260 960 660	[22]
Arveja verde	55 °C 60 °C 65 °C 70 °C	390 360 285 270	[23]
Pimiento rojo	50 °C 60 °C	1590 1260	[24]
Fresas	50 °C 55 °C 65 °C	1620 1320 900	[25]
Perejil	50 °C 60 °C 70 °C	360 245 150	[26]
Ocra (var. *Hibiscus esculentus)*	50 °C 60 °C	930 630	[27]

	70 °C	480	

Los valores identificados para los parámetros del coeficiente de difusión efectiva fueron de 2.1151 X 10^{-11} m^2 s^{-1}, cuando la difusividad se considera constante, y D_0 = 1.7685 X 10^{-9} m^2 s^{-1} y E_a = 12.049 kJ mol^{-1}, cuando la difusividad se considera una función de la temperatura (Ecuación (1-9)). Los resultados de la identificación de los parámetros del modelo muestran que se obtiene un mejor ajuste a los datos experimentales cuando se considera la difusividad efectiva dependiente de la temperatura.

Tabla 1-3. Parámetros de la difusividad efectiva

v (m s^{-1})	T (°C)	Difusividad efectiva constante		Difusividad efectiva dependiente de la temperatura	
		EMR (%)	R^2_{adj}	EMR (%)	R^2_{adj}
3	50	3.99	0.998	1.00	0.999
	55	2.03	0.995	2.12	0.995
	60	6.58	0.997	4.64	0.996
4	50	3.00	0.999	1.94	0,999
	55	3.16	0.983	3.39	0,983
	60	4.53	0.992	2.54	0.992

De acuerdo a los valores identificados para la Ecuación 1-9, la difusividad puede cambiar con la temperatura de secado de 1.9951 X 10^{-11} m^2 s^{-1}, 2.1362 X 10^{-11} m^2 s^{-1} y 2.2862 X 10^{-11} m^2 s^{-1} a temperaturas de secado de 50, 55 y 60 °C respectivamente. De este modo, la difusividad se incrementa con la temperatura en el rango de condiciones estudiadas, un comportamiento típico en el secado de materiales de origen biológico [28].

Sin embargo, los valores de la difusividad efectiva estuvieron dentro del rango de valores esperados para el secado de materiales alimentarios propuesto por Saravacos y Maroulis [28], que oscila ente el orden de 1X10^{-5} y 1X10^{-14} m^2 s^{-1}.

En general, los diferentes métodos de estimación, el rango de condiciones empleadas y, en particular, la variación en la estructura física y composición de los alimentos, dificulta la comparación entre los diferentes valores de difusividad reportados en la literatura [29]. A modo de ejemplo, en la Tabla 1-4, se muestran valores de difusividad efectiva obtenidos en la literatura para algunos productos de origen vegetal.

Tabla 1-4. Valores de difusividad efectiva reportados por diversos autores para alimentos.

Producto	Temperatura (° C)	D_e (m^2 s^{-1})	Referencia
Amaranto	40 °C	1.35×10^{-9}	[30]
	50 °C	1.68×10^{-9}	
	60 °C	2.04×10^{-9}	
	70 °C	2.45×10^{-9}	
Quinua (*Chenopodium quinua* Willd.)	30 °C	2.53×10^{-12}	[31]
	90 °C	7.67×10^{-11}	
Pistacho	25 °C	5.42×10^{-11}	[32]
	40 °C	2.29×10^{-10}	
	55 °C	4.91×10^{-10}	
	70 °C	8.82×10^{-10}	
Semillas de uva	40 °C	3.89×10^{-10}	[33]
	50 °C	5.33×10^{-10}	
	60 °C	8.03×10^{-10}	
Soya (*Glycine max* L. Merril)	50 °C	5.14×10^{-9}	[34]
	70 °C	7.11×10^{-9}	
	130 °C	1.34×10^{-8}	
	150 °C	1.85×10^{-8}	
Marañón	100 °C	0.9×10^{-9}	[35]
	110 °C	1.4×10^{-9}	
	120 °C	2.2×10^{-9}	
Café	40 °C	4.6×10^{-10}	[36]
	50 °C	6.1×10^{-10}	
	60 °C	10.7×10^{-10}	

1.4 Conclusiones y recomendaciones

1.4.1 Conclusiones

- El proceso de secado con aire caliente de polen apícola presento dependencia con la temperatura, ya que al aumentar la temperatura del aire de secado disminuye el tiempo de proceso.

- Las cinéticas de secado de polen apícola fueron simuladas con precisión usando un modelo difusivo en el cual el coeficiente de difusión efectiva fue considerado como una función tipo Arrhenius dependiente de la temperatura. El modelo del proceso describe el secado con aire caliente del polen apícola con correlaciones satisfactorias entre los valores estimados y los datos experimentales.

- Los menores tiempos de secado se obtuvieron con la combinación de mayor temperatura (60 °C) y mayor velocidad (4 m s^{-1}) del aire de secado.

- Los valores de la difusividad efectiva estuvieron dentro del rango de valores propuesto por Saravacos y Maroulis para el secado de materiales alimentarios

1.4.2 Recomendaciones

- Estudiar las propiedades físicas del material como calor específico, conductividad térmica, porosidad, coeficientes de masa interfaciales, ya que son necesarias para el desarrollo y solución de modelos matemáticos fundamentados en los principios físicos que gobiernan el proceso de secado.

- Profundizar en el estudio de las cinéticas de secado de polen apícola considerando la variación de volumen de las muestras durante el proceso, la influencia de humedad en la difusividad efectiva, la resistencia externa a la transferencia de materia.

- Estudiar las cinéticas de rehidratación de polen apícola con el fin de conocer la velocidad con qué puede absorberse el agua; además conocer cómo afecta a la velocidad de rehidratación, las variables del proceso.

2. Isotermas de desorción de polen apícola

2.1 Marco de referencia

2.1.1 Actividad de agua

El agua es el componente principal de la mayoría de los alimentos. Muchos de los fenómenos fisicoquímicos y microbiológicos que se producen están controlados por su grado de disponibilidad. La manera de determinar el grado de disponibilidad del agua es a través de la medida de la actividad del agua [37].

La actividad de agua se define como el ratio entre la presión del vapor de agua en un sistema y la presión de vapor de agua pura a la misma temperatura o la humedad relativa del aire que envuelve el sistema [38, 39] y puede ser determinada por diversas técnicas de medida de la actividad de agua, aunque lo habitual es emplear higrómetros de punto de rocío, higrómetros eléctricos o métodos gravimétricos [39].

La actividad de agua tiene gran importancia para valorar la estabilidad de los alimentos tras procesos de transformación y durante su almacenamiento. Las velocidades relativas de deterioro de deterioro de los alimentos en función de la actividad de agua se muestran en la Figura 2-1 [40].

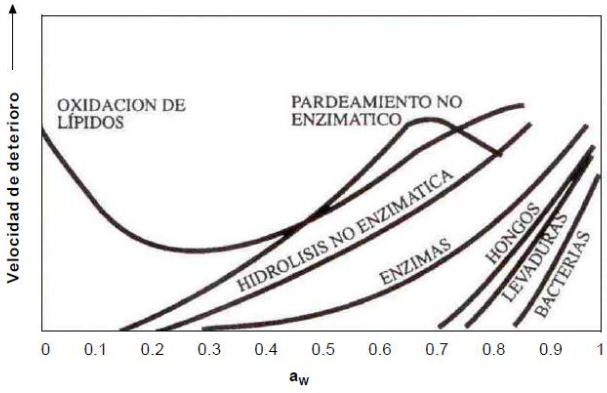

Figura 2-1. Velocidad de las alteraciones de los alimentos en función de la actividad de agua

Para bajas actividad de agua (<0.1), el riesgo de oxidación de los lípidos es muy alto. Esta débil dependencia del agua se puede explicar porque las reacciones que afectan a

sustratos lípidicos se desarrollan en las interfases. A partir de 0.3 hasta 0.8 de a_w, la velocidad de las reacciones ligadas al pardeamiento no enzimático, la hidrólisis no enzimática y la actividad enzimática aumenta progresivamente con la actividad de agua. El crecimiento de los microorganismos es muy bajo cuando la actividad de agua es menor a 0.6 [40].

El contenido de agua en polen apícola es un indicador de calidad importante, debido a que influye directamente sobre varías características del producto como textura, sabor y aroma, además de influir en el tiempo de almacenamiento. Un alto contenido de agua puede aumentar la actividad de los microorganismos y enzimas, que a su vez, puede generar cambios en las características sensoriales del producto [41].

En la comercialización del polen apícola el contenido de agua es un parámetro de control debido a que contenidos de agua altos causan fermentación del producto y contenidos de agua bajos pueden conllevar a la rancidez del producto [41]. Diversos autores recomiendan que el contenido de agua del polen después del proceso de secado debe oscilar entre 4 – 8 % [3, 42-44].

En relación a la actividad de agua del polen apícola seco se reportan valores de 0.543 – 0.639 para pólenes brasileros [45], 0.28 – 0.59 para pólenes colombianos [46], 0.310 – 0.414 para pólenes españoles [47] y 0.250 – 0.430 para pólenes portugueses [47].

2.1.2 Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción de agua representan, de una manera gráfica, la relación entre la actividad de agua de un material y su contenido en agua a una temperatura dada (Figura 2-2) [48], o dicho de otro modo, relacionan la cantidad de agua presente con la disponibilidad de ésta. Las características de sorción de los materiales alimentarios son esenciales para diseñar, modelar y optimizar muchos procesos tales como el secado, empaque y almacenamiento [49].

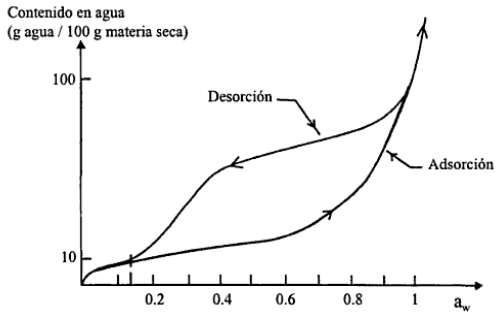

Figura 2-2. Isotermas de sorción

Los términos de adsorción y desorción tienen que ver con la forma con la que se lleva a cabo la experimentación (partiendo de un producto seco o de producto húmedo respectivamente) para la determinación de las condiciones en equilibrio [50].

En el proceso de secado los datos de sorción son útiles para el control de éste proceso debido a que se puede conocer la humedad máxima que debe tener le producto seco para que sea estable en su almacenamiento. También se utiliza para determinar la humedad del producto en equilibrio con el aire de secado, que representa información útil para la modelización del proceso y finalmente con el análisis de las isotermas se puede estimar la energía requerida para el secado [12].

Para la determinación experimental de las isotermas de sorción se pueden emplear diferentes métodos [48, 49]. Estos métodos pueden ser clasificados dentro de tres categorías: (1) gravimétrico, (2) manométrico, y (3) higrométrico. El método gravimétrico consiste en la medición de los cambios de masa de manera continua o discontinua tanto en sistemas estáticos o dinámicos. El método manométrico mide la presión de vapor de agua en equilibrio con un producto alimenticio de contenido de humedad dada mediante el uso de manómetros. El método higrométrico mide la humedad relativa en equilibrio del aire en contacto con un producto alimenticio de contenido de humedad dada [49]

Modelización de las isotermas de sorción

La modelización de las isotermas de sorción es un apartado necesario para la modelización posterior del proceso de secado [12]. Sin embargo, en la literatura se encuentra una amplia variedad de modelos *ver* Tabla 2 -1 [48, 49]:

Tabla 2-1. Modelos isotermas de sorción

Ecuación	Expresión matemática
Langmuir	$a_w\left(\frac{1}{M}-\frac{1}{M_0}\right)=\frac{1}{CM_0}$
Brunauer – Emmett- Teller (BET)	$\frac{a_w}{(1-a_w)M}=\frac{1}{CM_0}+\frac{C-A}{CM_0}a_w$
Oswin Modificada	$M=(A+BT)\left(\frac{a_w}{1-a_w}\right)^N$
Halsey Modificada	$a_w=exp\left[\frac{-\exp(A+BT)}{M^C}\right]$
Henderson Modificada	$a_w=1-exp[-A(T+B)M^C]$
Chung – Pfost	$a_w=exp\left[-\frac{A}{RT}\exp(-BM)\right]$
Ferro Fontan	$\ln\left(\frac{\gamma}{a_w}\right)=\alpha M^{-r}$
Guggenheim, Anderson y de Boer (GAB)	$M=\frac{M_0CKa_w}{(1-Ka_w)(1-Ka_w+CKa_w)}$

Sin embargo, dentro del gran número de modelos disponibles en la literatura, la ecuación de Guggenheim, Anderson y de Boer (GAB) ha sido considerada como un modelo fundamental para la caracterización de la sorción del agua en materiales alimentarios [51].

Calor isostérico de sorción

El calor isostérico de sorción es una medida de la energía de enlace entre las moléculas de agua y la superficie a la están absorbidas. Por lo tanto, representa la energía requerida para eliminar el agua de la matriz sólida y se considera como la diferencia entre el calor isostérico y el calor de vaporización del agua pura. La energía necesaria para eliminar una determinada cantidad de agua aumentará a medida que transcurre el

proceso de deshidratación del alimento, por lo tanto este calor será una función dependiente de la humedad. Puede ser calculado a partir de las isotermas de sorción usando la Ecuación 2-1, la cual se deriva de la ecuación Clausius – Clapeyron [49].

$$Q_{st} = -R\frac{\partial(ln\, a_W)}{\partial\,(1/T)} = \frac{RT^2}{a_W}\frac{\partial a_W}{\partial T} \qquad \textbf{Ecuación 2-1}$$

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Contenido de humedad

La humedad inicial y en equilibrio del polen apícola se determinó por triplicado según metodología descrita por Díaz et al. [20], la cual consistió en secar 3.0 g de muestra a 65 °C durante 24 h en una estufa con circulación forzada de aire (Thermo Scientific, Heraeus UT - 6, Alemania). El contenido de humedad fue calculado a partir de la diferencia entre la masa del material húmedo y seco, expresando los resultados en base seca (kg kg^{-1} b.s).

2.2.2 Determinación de la isoterma de desorción

El polen apícola empleado se recolectó en apiarios ubicados en la Región del Altiplano Cundiboyacense y se almacenó a –18 °C hasta su análisis. Las isotermas se realizaron empleando el método gravimétrico estático, el cual consiste en colocar una masa conocida de muestra en una atmósfera a condiciones controladas de temperatura y humedad relativa, hasta que alcance la condición de equilibrio. Para el control de la humedad relativa se utilizaron recipientes de vidrio cerrados herméticamente, los cuales contenían un vaso de precipitado con una disolución saturada de una sal con actividad de agua conocida Tabla 2-2.

Tabla 2-2. Humedades relativas en equilibrio con soluciones saturadas de sales a distintas temperaturas

Sal	%HRE	
	50 °C	**60 °C**
Cloruro de litio	11.10	10.95
Cloruro de Magnesio	30.54	29.26
Carbonato de potasio	42.69	42.11
Bromuro de sodio	50.93	49.66
Cloruro de sodio	74.43	74.50
Cloruro de potasio	81.20	80.25
Sulfato de potasio	95.82	95.50

Fuente: Greenspan [52]

2.2.3 Modelización de las isotermas y análisis estadístico

Con el fin de modelar las isotermas de desorción del polen apícola se emplearon el modelo de GAB (Ecuación (2-2)) y los modelos empíricos de Oswin (Ecuación (2-5)), Henderson (Ecuación (2-6)) y Halsey (Ecuación (2-7)).

El modelo teórico de GAB (Ecuación (221)) está basado en el fenómeno de adsorción, lo cual otorga significado físico a sus parámetros,

$$X_e = X_m \frac{C_G K_G a_w}{(1-K_G a_w)[1+(C_G-1)K_G a_w]} \qquad \textbf{Ecuación 2-2}$$

siendo X_e el contenido de humedad en equilibrio; X_m el contenido de humedad de equilibrio en la monocapa; C_G y K_G parámetros del modelos. Los parámetros C_G y K_G pueden ser escritos como funciones dependientes de la temperatura usando relaciones tipo Arrhenius (Ecuaciones (2-3) y (2-4)).

$$C_G = C_{G0} \exp\left(\frac{H_m - H_n}{R(T+273.15)}\right)$$ **Ecuación 2-3**

$$K_G = K_{G0} \exp\left(\frac{\lambda - H_n}{R(T+273.15)}\right)$$ **Ecuación 2-4**

En estas ocasiones C_{G0} y K_{G0} son parámetros propios del modelo de GAB; H_m es el calor de sorción de la monocapa (kJ mol^{-1}); H_n es el calor de sorción en la multicapa (kJ mol^{-1}); λ es el calor latente de vaporización del agua pura (kJ mol^{-1}); R es la constante de los gases ideales (kJ kmol^{-1} K^{-1}); y T es la temperatura (°C).

Las ecuaciones empíricas empleadas en la representación matemática de las isotermas de sorción en función de la temperatura son los modelos de Oswin (Ecuación (2-5)), Henderson (Ecuación (2-6)) y Halsey (Ecuación (2-7))

$$X_e = (A + BT)\left(\frac{a_w}{1 - a_w}\right)^C$$ **Ecuación 2-5**

$$X_e = \left[-\frac{\ln(1-a_w)}{A(T+B)}\right]^{1/C}$$ **Ecuación 2-6**

$$X_e = \left[\frac{-\exp(A+BT)}{\ln a_w}\right]^{1/C}$$ **Ecuación 2-7**

Los parámetros de los diferentes modelos fueron estimados mediante la función nlinfit de Matlab® R2007b (The MathWorks Inc., Natick, MA, EEUU), la cual emplea el algoritmo de Gauss–Newton con modificaciones de Levenberg–Marquardt, para estimar parámetros de modelos no lineales por mínimos cuadrados.

Para evaluar la calidad del ajuste obtenidos con el de los modelos sobre los datos experimentales se utilizaron el coeficiente de determinación ajustado R^2_{adj} y el error medio relativo EMR.

2.2.4 Calor isostérico de Sorción

El calor isostérico sorción se calculó a partir de la isoterma de sorción de GAB usando la Ecuación (2-1), la cual se obtiene a partir de la ecuación de Clausius–Clapeyron.

Para calcular la ecuación de Clausius – Clapeyron se utilizó el modelo de GAB para determinar la derivada analítica parcial de la actividad de agua con respecto a la temperatura [53].

Para el cálculo de la actividad de agua, se puede reordenar la ecuación del modelo de GAB (Ecuación (2-8)) de la siguiente manera:

$$(C_G - 1)K_G{}^2 a_w^2 + [2 - C_G(1 - X_m/Xe)]K_G a_w - 1 = 0 \qquad \textbf{Ecuación 2-8}$$

Considerando los siguientes coeficientes, α y β la Ecuación (2-8) se transforma en la forma cuadrática (Ecuación (2-11)):

$$\alpha = (C_G - 1)K_G{}^2 \qquad \textbf{Ecuación 2-9}$$

$$\beta = [2 - C_G(1 - 1 - X_m/Xe)]K_G \qquad \textbf{Ecuación 2-10}$$

$$\alpha a_w^2 + \beta a_w - 1 = 0 \qquad \textbf{Ecuación 2-11}$$

La solución correcta para la Ecuación (2-11), se obtiene utilizando la raíz positiva de la ecuación cuadrática (Ecuación (2-12)).

$$a_w = \frac{-\beta + (\beta^2 + 4\alpha)^{1/2}}{2\alpha} \qquad \textbf{Ecuación 2-12}$$

Mediante la derivación de la expresión anterior con respecto al tiempo cuando el contenido de humedad de la monocapa (X_m) es constante, y usando las relaciones

$(2\alpha a_w + \beta) = (\beta^2 + 4\alpha)^{1/2}$ y $\alpha a_w^2 = 1 - \beta a_w$, obtenidas a partir de las Ecuaciones. (2-11) y (2-12), el derivado analítico parcial de la actividad de agua se obtiene:

$$\frac{\partial a_w}{\partial T} = \frac{(\beta a_w - 1)\frac{d\alpha}{dT} - \alpha a_w \frac{d\beta}{dT}}{\alpha(2\alpha a_w + \beta)} \quad \textbf{Ecuación 2-13}$$

donde;

$$\frac{d\alpha}{dt} = 2K_G(C_G - 1)\frac{dK}{dT} + {K_G}^2\frac{dC}{dT} \quad \textbf{Ecuación 2-14}$$

$$\frac{d\beta}{dT} = 2\frac{dK}{dT} - \left(C_G\frac{dK}{dT} + K_G\frac{dC}{dT}\right)\left(1 - \frac{X_m}{X_e}\right) \quad \textbf{Ecuación 2-15}$$

$$\frac{dC}{dT} = -C_0\,\frac{H_m - H_n}{RT^2}\exp\left(\frac{H_m - H_n}{RT}\right) \quad \textbf{Ecuación 2-16}$$

$$\frac{dK}{dT} = -K_0\frac{(\lambda - H_n) - T\frac{d\lambda}{dT}}{RT}\exp\left(\frac{\lambda - H_n}{RT}\right) \quad \textbf{Ecuación 2-17}$$

2.3 Resultados y discusión

En la Figura 2-3, se puede observar la tendencia general que presentan las isotermas de sorción del polen apícola, es decir, que al disminuir la temperatura del sistema se produce un aumento en el contenido de humedad para todo el rango de actividad de agua [49, 54]. Además, la experimentación permitió establecer una relación entre la temperatura y la actividad de agua para una humedad constante, de manera que si aumenta la temperatura también lo hace la actividad de agua. Este comportamiento también ha sido observado en otros productos como el almidón de maíz [55], piña [56] y patatas [57]. El aumento de la actividad de agua con la temperatura se debe principalmente a cambios en la fijación de las moléculas de agua en la matriz sólida, disociación de las moléculas de agua y/o aumento de la solubilidad de solutos en el agua [58]. Para valores de actividad de agua elevados, los componentes solubles del alimento tienen una mayor cantidad de agua a su disposición para solubilizarse y por lo tanto el aumento de la temperatura tiene un efecto positivo sobre esta solubilidad [59]. Asimismo, la isoterma de sorción de este estudio se puede definir de acuerdo a la clasificación de

Van de Waals, de forma sigmoidea (*S*) o del tipo III, que se presentan en la mayoría de los alimentos, en especial vegetales y frutas [48, 60].

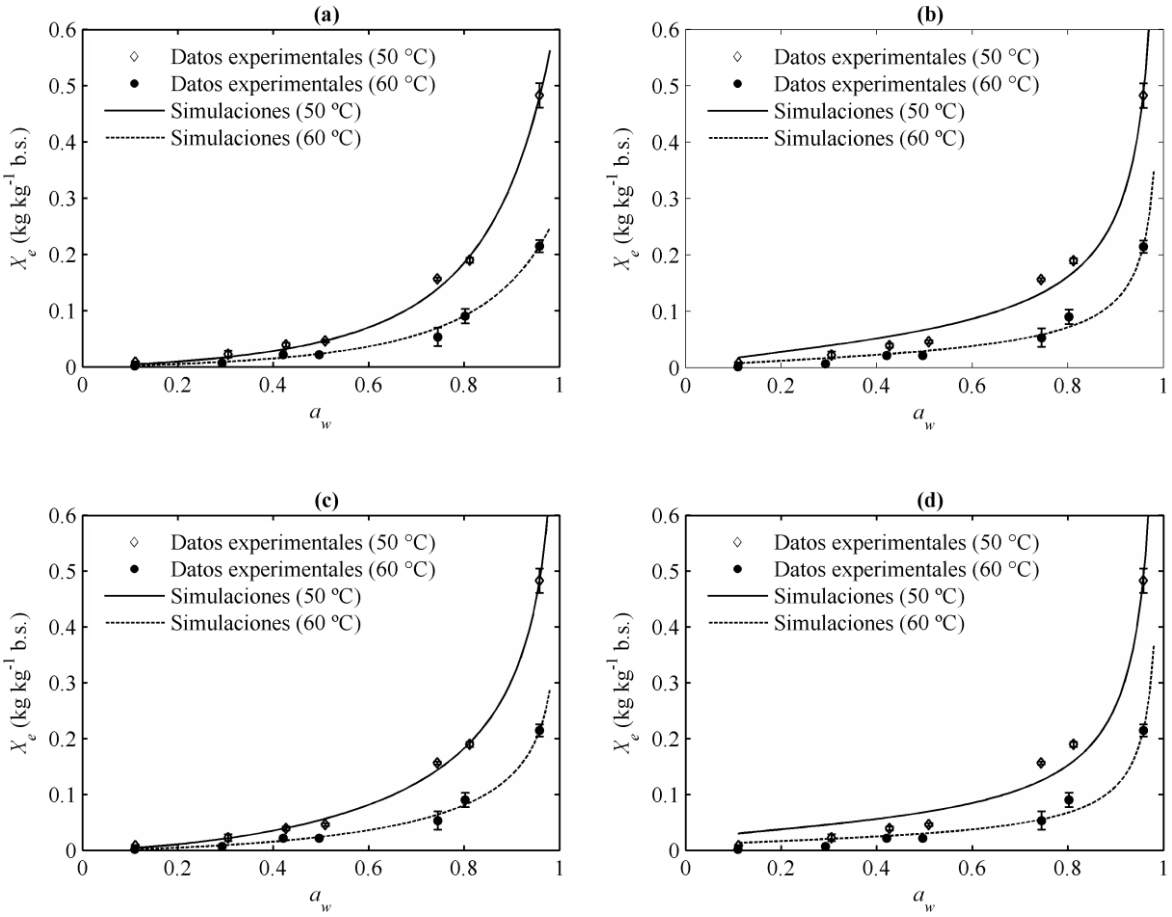

Figura 2-3. Datos experimentales y simulados usando los modelos de: (a) GAB, (b) Oswin, (c) Henderson y (d) Halsey.

La Tabla 2-3, muestra los parámetros identificados junto con los estadísticos resultantes del ajuste de las isotermas de desorción a los modelos de GAB, Oswin, Henderson y Halsey. Todos los modelos utilizados para correlacionar el contenido de humedad de equilibrio) con la actividad de agua y la temperatura presentaron coeficientes de determinación ajustado $\left(R^2_{adj}\right)$ mayores a 0.93. Sin embargo, el modelo de GAB es el que

ofrece una mejor estimación de las isotermas de sorción por cuanto posee significado físico y presenta el mejor resultado en el ajuste.

Tabla 2-3. Ajuste de los modelos de GAB, Oswin, Henderson y Halsey.

Modelo	Ecuación	Parámetros	R^2_{adj}	EMR
GAB	Ec. 2-1	X_m = 0.0881 kg kg^{-1} (b.s) C_G = 6.087×10^{-16} K_G = 23.814 H_m = 144.41 kJ mol^{-1} H_n = 51.71 kJ mol^{-1}	0.997	13.9
Oswin	Ec. 2-4	A = 0.1915 B = - 2.821 °C^{-1} C = 1.3385	0.969	37.0
Henderson	Ec. 2-5	A = 0.3815 °C^{-1} B = -36.452 °C C = 0.6815	0.997	15.2
Halsey	Ec. 2-6	A = 0.8682 B = -0.0943 °C^{-1} C = 1.117	0.937	56.9

Los parámetros del modelo de GAB son X_m, C_G y K_G , donde X_m es la humedad en la monocapa (kg kg^{-1} (b.s)) y corresponde a la humedad de producto cuando los puntos de adsorción primarios están saturados por moléculas de agua y C_G y K_G son con constantes de energía. C_G representa la diferencia de potencial químico de las moléculas de sorbato entre capas de sorción superiores y la monocapa y K_G es la relación entre el potencial químico de las moléculas de sorbato en estado líquido puro y en capas de sorción muy superiores [51]. Para este estudio, el modelo de GAB, presento valores para el contenido de humedad de la monocapa X_m = 0.0881 kg kg^{-1} (b.s). La tendencia de X_m a diferentes temperaturas de sorción de humedad, es que al aumentar la temperatura disminuye el contenido de la humedad de la monocapa, lo que puede deberse a la menor disponibilidad de los sitios activos para la unión con el agua. Resultados similares para el contenido de humedad de la monocapa (X_m) encontrada a partir del modelo de GAB, fueron encontrados en otros estudios como se muestra en la Tabla 2-4.

Tabla 2-4. Valores del contenido de humedad de la monocapa (X_m) obtenidos por el modelo de GAB para otros alimentos.

Producto	X_m (kg kg^{-1} (b.s))	Temperatura (°C)	Referencia
Cáscara de limón	0.0640 0.0690 0.0620 0.0490	20 °C 30 °C 40 °C 50 °C	[61]
Almidón de maíz	0.0556 0.0480 0.0450	30 °C 45 °C 60 °C	[55]
Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)	0.0999 0.0866 0.0573	20 °C 30 °C 40 °C	[62]
Pimiento rojo	0.0996 0.0995 0.0860	30 °C 45 °C 60 °C	[54]

En la Figura 2-4, se muestran los valores estimados para el calor isostérico de sorción a temperaturas de 50 y 60 °C, calculado de acuerdo a la Ecuación (2-1) y al modelo de GAB identificado según los parámetros presentados en la Tabla 2-2. El calor isostérico de sorción disminuye cuando el contenido de humedad se incrementa. Para Iglesias y Chirife [63], el contenido en humedad para el cual el calor de sorción se aproxima a la energía de vaporización del agua puede ser un indicativo del punto a partir del cual el agua se encuentra en forma libre en el producto. En este caso, y a partir de los resultados obtenidos, se puede comprobar que en el caso de desorción de agua, el punto en el cual el calor de sorción se aproxima al calor de vaporización es para valores de humedad superiores a 0.4 kg kg^{-1} (b.s).

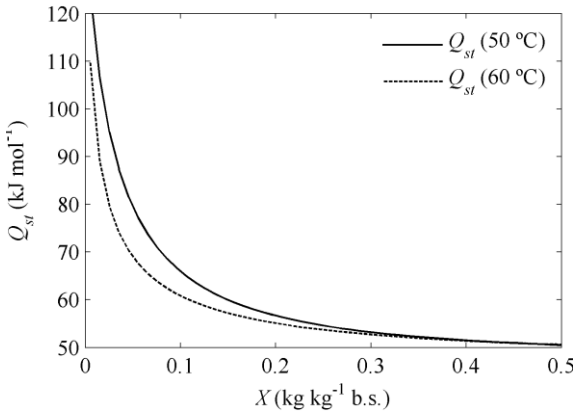

Figura 2-4. Influencia del contenido de humedad y la temperatura en el calor isostérico de sorción del polen apícola.

El incremento en el calor de sorción a bajos contenidos de humedad es atribuido a la existencia de espacios polares altamente activos en el material, es decir, espacios de sorción donde la energía de interacción entre el agua y el alimento es mayor que la energía que mantiene las moléculas de agua en estado líquido [53].

2.4 Conclusiones y recomendaciones

2.4.1 Conclusiones

- En las isotermas de sorción de polen apícola, el contenido de humedad en equilibrio, a actividad de agua constante, disminuyo cuanto mayor era la temperatura.

- Las isotermas de desorción del polen apícola presentaron una forma sigmoide Tipo III, según la clasificación propuesta por Brunauer (1940).

- El modelo de GAB (Guggenheim, Anderson y de Boer) se consideró como el que mejor se ajustó a los datos experimentales de las isotermas. A través de este modelo, fue calculado el calor isostérico de sorción del agua en función del contenido de humedad de equilibrio y la temperatura, encontrando un comportamiento acorde al de los alimentos.

- La modelización de las isotermas de sorción es un paso previo necesario para poder aplicarlas en la modelización posterior de las cinéticas de secado, y conocimiento resulta necesario cuando se aborda el estudio del proceso de secado de un producto a la temperatura de proceso estudiadas.

2.4.2 Recomendaciones

- Determinar las isotermas de adsorción de polen apícola, con el fin de obtener conocimiento de las características de adsorción de agua, de la humedad crítica y la actividad de agua, debido a que la información que estás suministran son de interés en numerosas aplicaciones en la ciencia y tecnología de alimentos, como por ejemplo, para hacer las predicciones de la vida útil y de la aceptabilidad de productos que se deterioran por ganancia de humedad, para evaluar riesgos de deterioro en relación con la oxidación de los lípidos, el pardeamiento no enzimático, las reacciones enzimáticas, el desarrollo de microorganismo [51, 58].

3. Efecto de la temperatura del aire de secado sobre características fisicoquímicas, antioxidantes, microestructurales y microbiológicas en polen apícola.

3.1 Marco de referencia

3.1.1 Producción nacional de polen

La apicultura en Colombia es una de las actividades agropecuarias con mayor trayectoria, pero a la vez, también ha sido una de las actividades con menor desarrollo técnico, dado que aún no se ha generado un avance considerable de tipo tecnológico industrializado para el mejoramiento de sus procesos productivos. Se estima que en el país la apicultura todavía es desarrollada con métodos y elementos artesanales, sin técnica alguna, destinada a complementar los ingresos familiares de los hogares rurales, en la mayoría de los casos [64].

La Cadena Productiva de las abejas y la Apicultura - CPAA, inicia su organización en el año 2006 con el Diagnostico de la Apicultura en Colombia, el cual permitió, la identificación de los principales actores de la cadena y sus características. Posteriormente en 2007 y 2008 se trabajó en la identificación de los núcleos regionales y la constitución de Comités Regionales en los departamentos de Magdalena, Sucre, Antoquia, Santander, Boyacá, Quindio, Cundinamarca, Tolima, Huila, Valle, Atlántico y Cauca. Durante el año 2009 se constituye el Consejo Nacional de la Cadena Productiva de las abejas y la Apicultura – CPAA, con representantes de los eslabones de la cadena, de entidades de apoyo y del Gobierno Nacional, también se realizan talleres con los líderes para construir la Agenda Prospectiva de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la CPAA.

Desde sus inicios la Cadena Productiva de las abejas y la Apicultura – CPAA ha buscado la integración de los actores apícolas y ha apoyado la realización de eventos relacionados con la apicultura. En el 2010 el Consejo Nacional y representantes de los

diferentes eslabones y de entidades de apoyo de la CPAA, trabajaron en la consolidación del Plan Estratégico de Acción 2011 – 2015, en donde se establecen las acciones de coordinación entre los diferentes actores. Estas acciones se encuentran agrupadas en líneas estratégicas, que a su vez se enmarcan en 5 ejes estratégicos principales: I. Fortalecimiento organizacional, II. Incremento del consumo de productos de las abejas, III. Incremento de la producción, IV Conservación de ambientes aptos para las abejas y V. Formación de recurso humano.

Una ventaja importante para la producción de polen en Colombia es que el país tiene un clima tropical con floración prácticamente durante todo el año, lo cual conlleva a producciones de más de 30 kg/colmena/año, mientras que países donde existe estacionalidad como Argentina, EE.UU., Israel, Brasil, España y Chile reportan producciones que van desde 3 hasta 15 kg/colmena/año [65].

Actualmente, la producción nacional de polen, es estimada como una de las de mayor rendimiento a nivel mundial, obteniéndose hasta 36 Kg por colmena/año, lo cual representa aproximadamente una cantidad de 240 toneladas por año [4]. En el Plan Estratégico de Acción 2011 – 2015 para la Cadena Productiva de las abejas y la Apicultura – CPAA, se estima un incremento en la producción de polen para el año 2015 de 550 toneladas/año [66]

Los apicultores han identificado el altiplano cundiboyacense como una zona altamente polinífera [66], por lo cual la mayor parte de la producción de polen se concentra en Boyacá y Cundinamarca [4].

El costo de producción de un kilogramo de polen en Colombia es difícil de estimar, los apicultores consultados reportaron costo desde menos de 1 USD hasta 6 USD ; el precio de venta oscila entre 5 USD y 6 USD por kilogramo de polen seco, pero es posible encontrar precios mucho más altos en los anaqueles de los supermercados para el consumidor final [67].

3.1.2 Generalidades polen

El polen es un polvo de aspecto variable de fino a grueso, constituido por microgametófitos que son los granos de polen; los cuales son una multitud de partículas microscópicas (6 - 200 µm de diámetro) con forma muy variable, usualmente esférica u ovalada, contenidos originalmente en el saco polínico de las flores. También |considerados como los gametos masculinos (células de esperma) en las plantas superiores [68].

La razón por la que las abejas visitan las flores, es la recolección de polen y néctar para suplir los requerimientos alimenticios de la colmena. Una vez la abeja ha recolectado el polen lo humedece con secreciones salivares, formando pellets esféricos que transportan a la colmena en las corbículas de sus patas posteriores. A este polen se conoce como polen apícola o polen corbicular, el cual es recolectado por los apicultores por medio de trampas ubicadas en la entrada de las colmenas y sometido a procesos de secado; además representa una fuente de energía y de proteínas para el consumo humano [44].

El polen apícola es un producto que se utiliza como suplemento en la dieta humana por su alto valor nutricional, producto rico en azúcares, proteínas, lípidos, vitaminas, compuestos fenólicos y carbohidratos [1, 2]. En EE.UU., el polen apícola fue definido por la FDA (*Foods and Drugs Administration*) como un “suplemento nutricional usado para complementar la dieta mediante el aumento de la ingesta dietaría total”, mediante el acto administrativo conocido como Dietary Supplement Health and Education Act of 1994 [3].

3.1.3 Estructura del grano de polen

Un grano de polen está constituido por dos partes: “la célula viva” y la “esporodermis” o pared externa [69]. La principal función de la pared externa del polen es la protección de protoplasma celular, mediante la impermeabilización y la resistencia a degradación física, química y biológica. La esporodermis está formada por varios estratos que difieren sus caracteres químicos, morfológicos y ontogénicos. Consta fundamentalmente de dos capas muy diferenciadas, una interna que está en contacto con el protoplasma celular denominada “*intina*”, y otra externa rodeando a todo el conjunto, llamada “*exina*” [44, 69].

La intina es la capa más interna de la pared del grano de polen. Sus componentes principales con celulosa, pectina y glucoproteínas [70]. La exina es la capa más externa y más resistente de la pared del grano de polen. La función de la exina es la de proteger al grano frente a condiciones adversas, tales como los períodos de desecación prolongada, altas temperaturas, exceso de radiación ultravioleta, y también frente a los daños mecánicos provocados por el ataque microbiano. La exina de este modo mantiene la viabilidad de los granos de polen durante largos periodos de tiempo [71]. Su resistencia a la destrucción es una de las mayores del reino vegetal, ya que soporta la acción de los ácidos y las bases concentrada, así como el calentamiento hasta 300°C [72]. El componente químico fundamental es la esporopolenina, que se forma por la polimerización de carotenos y ésteres de carotenos oxidados en proporciones variables. En la exina hay también un componente polisacárido y otro lipídico, así como proteínas, fundamentalmente glucoproteínas. Desde el punto de vista estructural, la exina está compuesta por una capa interna en contacto con la intina conocida como endexina y una externa o ectexina [73]

3.1.4 Composición nutricional

El polen apícola es un producto que se utiliza como suplemento en la dieta humana por su alto valor nutricional, producto rico en azúcares, proteínas, lípidos, vitaminas, compuestos fenólicos y carbohidratos [1, 2].

Los carbohidratos son los principales componentes del polen. Esta fracción se compone fundamentalmente de almidón y polisacáridos presentes en la estructura del grano como calosa, celulosa, hemicelulosa, esporopolenina y pectinas [44, 68]. Los valores reportados en la literatura presentan una gran variación entre los valores para está fracción debido probablemente a los métodos analíticos utilizados y a la especie de la planta donde se recolecta [44]. En cuanto a los azúcares de bajo peso molecular como la sacarosa, glucosa y fructosa representan el 90% de todos los azúcares [44]. El contenido de sacarosa varía 15.8% - 18.4%, glucosa varía 8.2% - 13.1% y fructosa entre 15.9% - 19.9% dependiendo del origen geográfico y botánico del polen [74].

Diversos estudios reportan valores de fibra cruda entre 1.37 – 12.8 [42, 75-77]. Para el polen apícola colombiano se reporta un contenido de fibra dietaría total promedio de 12.84 ± 2.71%, de los cuales 10.63 ± 2,47% es de fibra dietaría insoluble y 2.21 ± 0.94 de fibra dietaría soluble [78].

El contenido de proteína en el polen es considerado una medida directa y confiable de su valor nutricional; además el polen contiene todos los aminoácidos esenciales para la dieta humana. Los valores reportados de proteína están en el rango de 23% en peso seco [79]. Los aminoácidos libres presentes en el polen se encuentran dentro de la capa exterior llamada exina (esporopolenina) que contiene mayoritariamente prolina 20.27 ± 3.82 mg/g polen [80].

La fracción proteica del polen contiene cantidades notables de enzimas, especialmente amilasa, invertasa, fosfatasa, transferasa así como factores coenzimáticos, como biotina, glutatión y ciertos nucleótidos [2, 81]

El contenido de grasa en polen apícola presenta diferencias considerables y su composición depende de su origen botánico. Diversos estudios reportan intervalos de variación de porcentaje de grasa 1.76 – 6.76% para pólenes argentinos [43], 5 – 7.6 % para pólenes españoles [42], 1.85 – 3.60% para pólenes venezolanos [82] Sin embargo, el contenido de grasa se debe principalmente a tres fracciones, triglicéridos y en menor cantidad ácidos grasos y esteres de esteroles [44]. Otro estudio sobre los ácidos grasos presentes en el polen reporta que los cuatro ácidos grasos dominantes presentes son el ácido palmítico (C-16), oleico (C-18:1), linoleico (C-18:2) y linolenico (C-18:3) y pueden variar entre el 1- 20% del peso seco total [3].

En cuanto a los componentes minoritarios el contenido de cenizas de polen presenta un media de 2.70% [76]. Los componentes principales de las cenizas son potasio (4840 µg/g), calcio (1320 µg/g), manganeso (109 µg/g), hierro (150 µg/g), y en menor proporción zinc y cobre [83].

Por otro lado, la mayor cantidad de vitaminas presentes en polen son provitamina A, vitamina E (tocoferoles), niacina, tiamina, ácido fólico y biotina, y al igual que los otros

componentes se presentan variaciones considerables dependiendo de origen botánico y geográfico del polen analizado (*Tabla 3-1)*.

Tabla 3-1. Vitaminas presentes en el polen apícola

Vitamina	Valor (mg/100g)
Ácido ascórbico (Vitamina C)	7 – 56
β - Carotina (Provitamina A)	1 – 20
Tocoferoles (Vitamina E)	4 – 32
Niacina (Vitamina B3)	4 – 11
Piridoxina (Vitamina B6)	0.2 - 0.7
Tiamina (Vitamina B1)	0.6 – 1.3
Riboflavina (Vitamina B2)	0.6 – 2.0
Ácido pantotenico	0.5 – 2.0
Ácido Fólico	0.3 – 1.0
Biotina (Vitamina H)	0.05 – 0.07

Fuente: Bogdanov [77]

En la Tabla 3-2, se muestra la caracterización de polen apícola húmedo resultante del Programa de investigación "*Estrategias para establecer la denominación de origen de productos de las abejas en Colombia".*

Tabla 3-2. Caracterización fisicoquímica de polen apícola húmedo y seco proveniente del Departamento de Boyacá

Componente*	Promedio ± DE	Min	Max
Humedad	7.7 ± 5.2	1.8	11.8
Cenizas	2.5 ± 0.4	1.5	3.2
Lípidos	6.9 ± 3.5	2.8	9.7
Proteína	23.8 ± 3.2	16.1	32.1
Carbohidratos			
Fructosa	19.5 ± 0.9	18.1	21.3
Glucosa	13.6 ± 2.4	11.6	20.3
Sacarosa	6.7 ± 2.0	4.5	9.0
Fibra dietaría soluble	2.7 ± 1.8	0.5	4.6
Fibra dietaría insoluble	11.7 ± 3.3	6.5	17.6
Fibra dietaría total	14.5 ± 3.5	7.8	18.1

En cuanto a pH y acidez en pólenes, existen menos estudios disponibles. Sin embargo, se reportan valores de pH entre 4.27 – 6.54 para pólenes argentinos [43], 4.35 – 5.13 para pólenes españoles [47], 4.33 – 6.33 para pólenes portugueses [84], para pólenes colombianos 4.4 – 5.2 [85]. En relación a la acidez libre en polen se reportan valores de 192 – 324 m_{eq} kg^{-1} para pólenes colombianos [85] y 105.3 – 609.9 m_{eq} kg^{-1} para pólenes brasileros [86].

3.1.5 Compuestos bioactivos presentes en el polen

Los compuestos bioactivos son compuestos esenciales y no esenciales (por ejemplo., vitaminas o polifenoles), que se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos y que se ha demostrado que tienen un efecto en la salud humana [87, 88]. Por ello, el consumo de alimentos funcionales está asociado con la disminución de enfermedades crónicas, debido a la presencia de compuestos bioactivos entre los que se encuentran vitaminas C y E, carotenoides, compuestos fenólicos, fitoesteroles, ácidos grasos, carbohidratos, compuestos organosulfurados, péptidos, entre otros [87-90].

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen uno de los grupos de compuestos más importantes encontrados en las plantas, de los cuales se conocen alrededor de 8000 estructuras [91-93]. Estructuralmente presentan un anillo de benceno hidroxilado como elemento común en sus estructuras moleculares, las cuales pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metil ésteres, glucósidos, entre otros. Aunque existen una gran variedad de estos compuestos pueden dividirse en las siguientes clases: fenoles simples, ácidos fenólicos, cumarinas e isocumarinas, naftoquinonas, antraquinonas, xantonas, estilbenos, flavonoides y ligninas [91]. La actividad antioxidante de estos compuestos ha sido asociada a sus características químicas estructurales como la capacidad de donación de protones del hidroxilo fenólico, la capacidad de deslocalizar y estabilizar electrones desapareados por resonancia en el anillo aromático, bajo potencial de oxidación, alta capacidad de quelación de metales que estos tienen e interacción con otras moléculas fácilmente oxidables [94].

Se ha establecido que la mayoría de los compuestos bioactivos encontrados son compuestos fenólicos, sin embargo, la concentración de éstos compuestos puede variar sustancialmente de acuerdo al origen de las muestras y así mismo pueden variar las propiedades biológicas que se les atribuyen [95]. Diversos autores han evaluado la composición fenólica del polen apícola. Serra Bonvehí et al., [96] identificaron 13 compuestos fenólicos en polen apícola procedente de España. Entre ellos, siete fueron ácidos fenólicos como el ácido 3,4 – dihidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido *ρ* – cumárico, àcido *o* – cumárico, éster etílico del ácido 4 – hidroxibenzoico y ácidos trans – cinámicos y flavonoides como rutina, quercetina, miricetina, kanferol y isoramnetina. Leja et al., [97] estudiaron los constituyentes fenólicos de polen apícola a partir de 12 especies botánicas diferentes en Polonia. Este estudio encontró una amplia variedad de compuestos fenólicos como fenilpropanoides, flavonoles y antocianinas. Carpes et al., [98] identificaron principalmente compuestos como rutina, miricetina, ésteres de metilo de ácidos benzoicos en polen apícola brasileño. Graikou et al.,[99] reportaron que el polen apícola griego es rico en flavonoides como kaempferol 3 – O – ramnósido, quercetina 3 – O – glucósido, quercetina 3 – O – ramnósido, isoramnetina 3 – O – xilosil – (1,6) – glucósido, entre otros y ácidos fenólicos. Silva et al., [1] obtuvieron el perfil de flavonoides de cargas de polen recolectadas por *Melipona*

subnitida Ducke donde se identificó principalmente selagina, naringenina, tricetina, isoramnetina y 8 – metoxiherbacetina.

Diversos estudios han mostrado una correlación directa entre el contenido de fenoles totales y actividades biológicas presentes en pólenes, como actividades antioxidante y antimicrobiana [97, 99-103].

Otros compuestos biactivos que pueden encontrarse en el polen apícola son antioxidantes tales como vitaminas C y E, carotenoides [3, 77].

Los carotenoides son compuestos tetraterpenoides, formados por ocho unidades de isoprenos. Estos pueden ser clasificados en dos grupos carotenos y xantofilas. Los carotenos presentan una estructura que solo contiene carbono e hidrógeno mientras que las xantofilas, además de poseer carbono e hidrógeno, contienen oxígeno, en forma de grupos sustituyentes como hidroxilo, carbonilo y epóxidos [104]. La actividad antioxidante de los carotenoides ha sido relacionada con la capacidad de deslocalizar electrones en el sistema conjugado de dobles enlaces que tienen en su cadena hidrocarbonada y su alta capacidad de neutralizar radicales libres y oxígeno singlete [105]. Los carotenoides usualmente encontrados en polen apícola son α–caroteno y β-caroteno, y en menor proporción, esteres de luteína, criptoxantina, xantofilas y flavoxantina [106]. Según Villar [107] los carotenoides presentes en el polen apícola son los responsables de proporcionar los colores amarillos, anaranjados y rojizos.

En cuanto al contenido de vitamina E en polen apícola se reportan valores entre 39.24 – 116.42 µg de α-tocoferol g^{-1} polen en pólenes colombianos [108], 13.5 – 43.5 µg de α-tocoferol para polen brasilero. La vitamina E es liposoluble y actúa como un antioxidante en los tejidos, es considerada esencial para la protección de los lípidos insaturados en las membranas biológicas frente al daño oxidativo [109-111].

3.1.6 Efecto del procesamiento de alimentos sobre el contenido compuestos bioactivos en alimentos.

Diversas investigaciones han sido encaminadas a evaluar la influencia del procesamiento de alimentos sobre el contenido de compuestos bioactivos en diversas matrices alimentarias. Song et al., [112] observaron una degradación de la clorofila *a* y *b* en los tres condiciones de escaldado (80 °C – 30 min, 90 °C – 20 min y 100 °C – 10 min) y una menor pérdida de nutrientes como azúcares, aminoácidos y vitaminas en la condición de 100 °C – 10 min. Kaiser et al., [113] evaluaron el impacto del escaldado por inmersión en agua a 90 ºC y 100 ºC durante 1, 5, 7 y 10 minutos de hojas de cilantro reportando un incremento significativo en el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante independientemente para las condiciones estudiadas. Wolfe y Liu, [114] reportando un incremento en el contenido de fenoles totales y flavonoides en cáscara de manzana escaldadas por inmersión en agua hirviendo durante 10 – 20 segundos. Turkmen et al., [115] observaron un aumento en la capacidad antioxidante medida por la metodología DPPH en espinacas y brócoli sometidas a tres procesos de cocción (agua hirviendo, vapor y microondas), pero no se observó ningún cambio en la capacidad antioxidante en los puerros y calabazas sometidos a las mismas condiciones. Amorim et al., [116] estudiaron el cambio en compuestos bioactivos en algas *"wakame"* después del proceso de cocinado observando una disminución significativa en el contenido de ácido ascórbico, vitamina E y clorofila, y un aumento significativo en el contenido de β – caroteno, luteína y fucoxantina. Lemos et al., [117] reportaron que el tostado a 150 ºC por 45 min no reduce significativamente el contenido de fenoles totales en nueces de barú con cáscara, pero si una reducción significativa del contenido de fenoles totales en nueces de barú sin cáscara. Lima et al., [118] observaron pérdidas del 21.6 % en el contenido de fenoles totales después del tostado en granos de café. Chen et al., [119] evaluaron la estabilidad de los carotenoides y la vitamina A durante el almacenamiento de jugo de zanahoria reportando una disminución de luteína, α – caroteno, β – caroteno y vitamina A en jugo de zanahoria a medida que aumenta la temperatura de almacenamiento (4, 25 y 35 °C). Chen et al., [120] evaluaron el efecto de diferentes tratamientos de secado en la estabilidad de los carotenoides en mango reportando un menor contenido total de carotenoides menor en el secado por aire caliente a 60 °C por 20 h en comparación con

los otros tratamientos. Madrau et al., [121] evaluaron la influencia de los parámetros de secado en los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de albaricoques usando dos temperaturas de aire de secado reportaron una disminución significativa de catequina, rutina, ácido clorogénico, epicatequina y quercetina 3 – O – glucosido. Berasategi et al., [122] evaluaron la estabilidad del aceite de aguacate durante el calentamiento a 180 °C reportando una pérdida total de vitamina E después de 4 horas de calentamiento, además de reportan una disminución del contenido de fitoesteroles totales en comparación con la muestra control.

3.1.7 Calidad microbiológica del polen

Los microorganismos presentes en polen apícola están relacionados con la floración de la cual proviene el polen, condiciones ambientales donde se encuentren ubicadas las colmenas, el proceso de recolección y del tracto intestinal de la abeja Apis melífera; además de los procesos de producción y almacenamiento [69, 123-125].

Diversos estudios encaminados a la caracterización microbiológica del polen han permitido identificar microorganismos como bacterias, hongos y levaduras. Gilliam (1979) identificó 41 bacterias pertenecientes al género *Bacillus*, donde 33 de estas pertenecían a la de especie *Bacillus subtilis*, y las especies restantes fueron *Bacillus megaterium*, *Bacillus. licheniformis, Bacillus. pumilus* y *Bacillus circulans*[126]. En estudios posteriores, esta misma autora identificó 148 hongos, prevaleciendo los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Mucor* [127]; adicionalmente identificó 131 levaduras [128].

Estudios más recientes reportan la presencia de hongos productores de micotoxinas como *Mucor mucedo, Alternaria alternata, Mucor hiemalis, Cladosporium cladosporioides, Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger, Aspergillus carbonarius, Aspesgillus ochraceus, Aspergillus flavus* y *Penicillium verrucosum* [125, 129]

En Colombia en un estudio realizado en el 2009 por Fuenmayor sobre la aplicación de bioprocesos en polen de abejas para el desarrollo de un suplemento nutricional proteico, se evaluó la calidad microbiológica del polen húmedo y seco proveniente del Departamento de Boyacá. El análisis de la calidad microbiológica de las muestras secas mostraron una alta concentración de bacterias acidolácticas causantes de la

fermentación natural del polen y aunque recientemente se les ha asociado con posibles efectos prebióticos y benéficos para los humanos, su elevada concentración causa el incumplimiento de las normas internacionales de calidad microbiológica que exigen un recuento de mesófilos, categoría dentro de la cual se encuentran la mayoría de las bacterias acidolácticas por debajo de 300 UFC/g; adicionalmente, se encontró una alta concentración de coliformes, mohos y levaduras que también indican que no es un polen con una calidad microbiológica ajustada a los parámetros internacionales [130] y apto para consumo. A continuación se muestran los valores reportados de calidad microbiológica de polen húmedo y seco del Departamento de Boyacá (*Tabla 3-3*).

Tabla 3-3. Características microbiológicas del polen apícola húmedo y seco proveniente del Departamento de Boyacá.

Característica	Polen Húmedo	Polen seco
Bacterias ácido lácticas (UFC/g)	1430000	66000
Mohos (UFC/g)	149000	1000
Levaduras (UFC/g)	128000	1000
Mesófilos totales (UFC/g)	>100	>100
Coliformes totales (NMP/g)	1100	7.5
Coliformes fecales (UFC/g)	7.2	3
Presencia de *Salmonella* sp.	Negativa	Negativa
***Clostridium* sp. (UFC/g)**	<10	<10
***Staphyloccoccus aureus* (UFC(g)**	<10	<10

Resultados expresados en Base Húmeda.
Fuente: [130]

Como conclusión de este estudio se evidencio la necesidad de mejorar las prácticas postcosecha y en particular al proceso de secado y limpieza, como procesos de reducción de carga microbiana para consumo directo o para ser utilizado como ingrediente natural dentro de otros procesos de la industria de alimentos.

De acuerdo con la normatividad internacional de calidad microbiológica para polen se han establecido valores referencia para su producción y comercialización en países, *ver* Tabla 3 - 4.

Tabla 3 - 4. Criterios de calidad microbiológica del polen apícola para diferentes países.

Parámetros	México	Argentina	Brasil
Aerobios mesófilos	10000 UFC/g	10000 UFC/g	10000 UFC/g
Mohos y levaduras	300 UFC/g	100 UFC/g	100 UFC/g
NMP coliformes	Ausente	Ausente	Ausente
Salmonella	Ausente	Ausente	Ausente

Por otro lado, otro estudio evalúo el efecto de la temperatura en el secado de polen sobre la calidad microbiológica concluyendo que la mayor reducción en la carga de microorganismos (*mésofilos, hongos y levaduras*) se presenta a una temperatura de 60°C; mientras que en 40°C se muestra un leve incremento en la carga microbiana de las muestras analizadas [131].

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Adecuación materia prima y proceso de secado

El polen apícola se recolectó en apiarios ubicados en la Región del Altiplano Cundiboyacense y se almacenó a -18 °C hasta su análisis. Las muestras se secaron con aire caliente a temperaturas de 50 °C, 55 °C y 60 °C en un secador convectivo piloto ubicado en el Laboratorio de Ingeniería Química - LIQ de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. La velocidad del aire de secado fue 3.0 ± 0.2 m s^{-1}. Cada experimento se realizó por triplicado.

3.2.2 Caracterización Fisicoquímica

- **pH y Acidez.**

La determinación de la acidez se realizó según metodología descrita por Díaz et al., [20] la cual consiste en tomar 2.5 g de muestra previamente pesada, molida y mezclada con 35 mL de agua libre de CO_2, después se dejó en agitación durante 30 min, se filtró al vacío realizando tres lavados de 5 mL con agua libre de CO_2 al material filtrado. La acidez libre se determinó por la valoración potenciométrica con NaOH 0.05 N hasta

pH 8.3 expresando los resultados en $m_{eq}\,kg^{-1}$. Mientras que la determinación de pH se realizó mediante la medición potenciométrica.

- **Actividad de agua**

La actividad de agua se midió a 25 °C utilizando un medidor de actividad de agua (GBX, modelo FastLAB, Francia). Este equipo utiliza la tecnología de punto rocío para medir la actividad de agua [37].

- **Contenido de humedad**

La humedad del polen se determinó según metodología descrita por Díaz, et al., [20] que consistió en pesar aproximadamente 3.0 g de muestra en un crisol previamente tarado, se secó en la estufa (Thermo Scientific, Heraeus UT - 6, Alemania) a 65 °C durante 24 h. El contenido de humedad se calculó por diferencia y los resultados fueron expresados en base seca (b.s).

3.2.3 Características Antioxidantes

- **Preparación de extractos**

El extracto etanólico de polen se realizó utilizando 1g de polen previamente molido en un vaso de precipitado, al cual se le adicionó 100 mL de etanol al 96 % y dejado en oscuridad durante 24 h.

- **Determinación del contenido de fenoles totales**

El contenido total de compuestos fenólicos de los extractos etanólicos fue determinado con el reactivo de Folin Ciocalteau según metodología descrita por Morais et al., [101] con algunas modificaciones. 500 µL del reactivo fueron mezclados con 500 µL del extracto y neutralizados con 2 mL de carbonato de sodio al 10 %. La absorbancia fue medida a 765 nm después de 2 h. La curva estándar (R^2 = 0.995; y =0.846 x + 0.053) fue preparada usando ácido cafeico 0.1 - 1 mg mL^{-1} y los resultados fueron expresados como mg AC (equivalentes de ácido cafeico) g^{-1}.

- **Determinación del contenido de carotenoides totales**

El contenido de carotenoides totales se determinó por espectrofotometría realizando medidas de absorbancia a 450 nm, empleando β–caroteno como estándar. A partir de soluciones stock de β–caroteno de concentraciones conocidas se realizó la curva de calibración. Los extractos de polen se obtuvieron utilizando acetona. La concentración de β–caroteno en los extracto se determinó leyendo en el espectrofotómetro e interpolando los valores en la curva de calibración [107].

- **Determinación de la actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC).**

La capacidad antioxidante se determinó según metodología descrita por Marghitas, et al., [100] con algunas modificaciones. El radical ABTS•+ se generó por una reacción de oxidación del ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM) durante 16 horas en la oscuridad a temperatura ambiente. A partir de esta solución se realizó una dilución con etanol al 96% hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 ± 0.2 a 734 nm. Para el ensayo se mezcló 1 mL de la solución resultante con 10 µL del extracto. La absorbancia se midió a los 6 minutos. Para expresar los resultados como milimol de Trolox equivalente por gramo de muestra, se utilizó una curva de calibración de Trolox como estándar (0.2 – 2.0 mmol L^{-1}).

- **Determinación de la actividad antioxidante por el ensayo de la reducción del Hierro - (FRAP).**

La evaluación de la actividad reductora se llevo a cabo según metodología descrita por Benzie y Strain [132]. Un volumen de 20 µL de los extractos etanólicos se mezclaron con 450 µL del reactivo FRAP (2.5 mL de la solución 2,4,6-tripiridil-s-triazina a una concentración de 10 µM en HCl 40 mM, 2.5 mL de $FeCl_3$ 20 µM y 25 mL de buffer acetato de pH de 3.6) y 753 µL de agua destilada. La absorbancia se midió a 593 nm después de 30 min. Para expresar los resultados como milomol de Trolox equivalente por gramo de muestra, se utilizó una curva de calibración de Trolox como estándar (0.1 - 1.0 mmol L^{-1}).

- **Determinación de vitamina E**

El contenido en vitamina E se determinó por HPLC según metodología descrita por Lee, et al., [133] con algunas modificaciones. El equipo empleado fue un cromatógrafo marca JASCO (PU-980 Intelligent HPLC-Plus) con una columna Betasil-C18, tamaño de

partícula 5 µm, 250 mm X 4.6 mm, conectada a un detector de fluorescencia marca JASCO (FP- 920 Intelligent Fluorescense Detector). Se utilizó como fase móvil metanol: acetonitrilo (60:40) con un flujo de 0.7 ml/min. Para realizar la extracción, las muestras fueron saponificadas en solución de KOH al 60 % a 80 °C, posteriormente se realizaron extracciones consecutivas con hexano. La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y llevada a sequedad en un rota evaporador. El extracto seco se redisolvió en isopropanol para su análisis. La curva de calibración se realizó con α-tocoferol (pureza 95 %) marca SIGMA como estándar. Los resultados fueron expresados en µg de α- tocoferol g^{-1} polen.

- **Análisis estadístico**

El efecto de la temperatura del aire de secado sobre cada parámetro se estimó utilizando el paquete estadístico Statgraphics® 5.1 Plus (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA). Los resultados fueron analizados mediante una análisis de varianza – ANOVA y una prueba t student de dos colas. Las diferencia entre las medias se analizaron con una prueba Tukey con un nivel de confianza del 95 % ($\alpha = 0.05$).

3.2.4 Características microestructurales

- **Microscopía electrónica de barrido**

Las muestras previamente deshidratadas fueron montadas en talones de SEM y recubiertas por pulverización catódica con platino con un metalizador. Las fotos se obtuvieron con el microscopio electrónico Quanta 200 de FEI en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Universidad Nacional de Colombia; este método fue usado previamente por Human y Nicolson [2].

3.2.5 Características microbiológicas

La verificación de la calidad microbiológica de las muestras se realizó utilizando la metodología establecida en el Manual de Técnicas de Análisis para Control de Calidad Microbiológico de Alimentos para consumo humano del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos - INVIMA (1998), el cual contiene la metodología detalla de todos los análisis que se describen a continuación.

- **Dilución y homogenización de la muestra**

Se pesó 11 g de las muestras y se agregaran a frascos estériles con 90 mL de agua peptonada al 0.1%. Posteriormente se agitará hasta obtener una mezcla homogénea. Se realizarán diluciones seriadas hasta obtener el número de diluciones necesarias [134], como se describe a continuación:

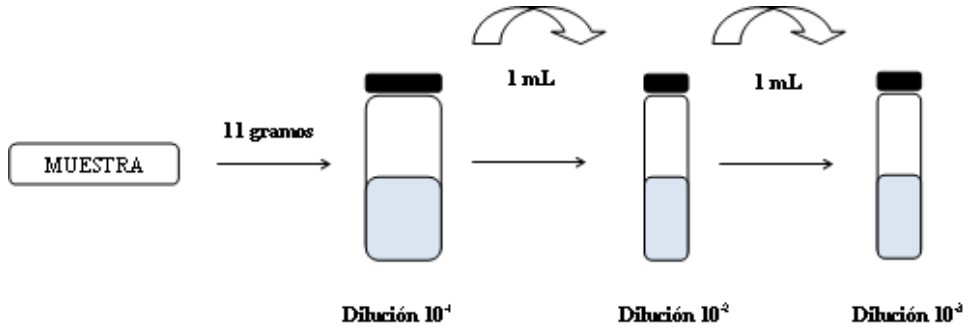

Figura 3-1. Dilución y homogenización de la muestra

- **Recuento en placa de mesófilos aerobios**

Se tomó una alícuota de 1 mL de cada una de las diluciones en cajas de petri estériles y se adicionaron 15 mL de *agar plate count* fundido y se mantenido a una temperatura de 45°C mezclando el inoculo con el medio de cultivo adicionado. Una vez solidificado el medio de cultivo se invirtieron las cajas y se incubaron a una temperatura de 35°C ± 0.2°C durante 48 horas. Se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de muestra, teniendo en cuenta el factor de dilución y el intervalo establecido para este tipo de microorganismos [134].

- **Recuento de mohos y levaduras**

Se tomó una alícuota de 1 mL de cada una de las diluciones consecutivas en cajas de petri estériles y se adicionaron 15 mL de agar OGY (oxitetraciclina glucosa extracto de levadura) fundido y mantenido a 45°C mezclando el inoculo de cultivo adicionado; una vez solidificado el medio se invertían las cajas y se incubaban a una temperatura de 22°C ± 2°C durante 5 a 7 días. Los resultados fueron reportados como unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de muestra.

- **NMP de coliformes totales**

Para este análisis se adicionó 1 mL de cada una de las diluciones consecutivas en tubos con caldo lactosa bilis verde brillante al 2% en series de tres tubos por cada dilución y se incubaron a 35°C ± 0.2°C por 24 a 48 horas. Pasado este tiempo, se registraron los tubos con turbidez y producción de gas para posteriormente realizar la prueba confirmativa de los tubos positivos. La prueba confirmativa de los tubos se realizó sembrando por estría por medio de un asa microbiológica de cada uno de los tubos positivos en la superficie de una placa de agar eosina azul de metileno o agar bilis rojo violeta (VRBA) incubando a una temperatura de 35°C ± 0.2°C durante 24 horas. Para calcular el NMP se tomó el número de tubos que dan positivos y se buscó el número de células correspondientes en una tabla de probabilidades para este ensayo [134].

- **Prueba presencia/ausencia de *Salmonella* sp.**

Del cultivo del enriquecimiento no selectivo se adicionó 1 mL en 10 mL, tanto en caldo selenito como en caldo tetrationato y se incubaron a una temperatura de 43°C ± 0.2°C durante 24 horas. A partir de cada uno de los cultivos obtenidos del enriquecimiento selectivo se realizó una siembra por agotamiento en el agar XLD (Xilosa, lisina, Desoxicolato) y agar hektoen y se incubaron las cajas a una temperatura de 35°C ± 2°C durante 24 – 48 horas. En caso de que se presentaran las colonias típicas de *Salmonella* se identificarían a través de pruebas bioquímicas [134].

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Efecto sobre las características fisicoquímicas.

La Tabla 3-6, muestra los valores promedio y las desviaciones estándar del contenido de humedad, actividad de agua, acidez y pH para las muestras analizadas. Se encontraron diferencias significativas entre la temperatura del aire secado y los parámetros de actividad de agua, pH y acidez ($\rho < 0.05$). Los valores reportados para contenido de humedad, actividad de agua, pH y acidez de polen apícola son similares a los reportados por otros autores [46, 86, 135, 136]. De acuerdo con la Norma Brasilera (Instrução Normativa No 3 del 19 de Enero de 2001), los valores de humedad, pH y acidez

presentados están dentro de las especificaciones de humedad, acidez y pH para polen apícola deshidratado.

Tabla 3-5. Propiedades fisicoquímicas de polen apícola sometido a diferentes temperaturas de secado.

Temperatura del aire de secado	Humedad	a_w	Acidez (m_{eq} kg^{-1})	pH
50 °C	3.42 ± 0.01 [a]	0.191 ± 0.010 [a]	261.90 ± 16.72 [a]	4.61 ± 0.05 [a]
55 °C	3.84 ± 0.43 [a]	0.193 ± 0.015 [a]	211.57 ± 10.15 [b]	4.70 ± 0.00 [b]
60 °C	3.95 ± 0.38 [a]	0.229 ± 0.009 [b]	252.05 ± 8.11 [a]	4.69 ± 0.02 [b]

Letras distintas en la misma columna indican que los valores son significativamente diferentes ($\rho < 0.05$)

El contenido inicial de humedad y de actividad de agua del polen apícola húmedo fue de 24.28 ± 0.82 kg kg^{-1} (b.s) y 0.719 ± 0.002. Los valores máximos en el contenido de humedad y actividad de agua de las muestras deshidratadas fueron de 3.95 ± 0.38 kg kg^{-1} (b.s) y 0.229 ± 0.009 correspondiente al polen apícola deshidratado con aire caliente a 60 °C. Estas características se presentan por el endurecimiento de la superficie, el cual dificulta la difusión del agua desde el interior del grano a la superficie.

3.3.2 Efecto sobre el contenido de fenoles totales, contenido de carotenoides totales, contenido de vitamina E y actividad antioxidante.

En la Tabla 3-6, se puede observar que un aumento en la temperatura del aire de secado no tiene un efecto importante sobre el contenido de fenoles totales, el contenido de carotenoides totales y la actividad antioxidante de los extractos de las muestras analizadas ($p < 0.05$). Este comportamiento se atribuye a la protección que concibe la estructura del grano de polen [44, 137], descrita en el *apartado 3.1.3*.

Tabla 3-6. Efecto de la temperatura del aire de secado sobre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de muestras de polen fresco y deshidratado

Muestra	Fenoles Totales	Carotenoides	TEAC	FRAP
	mg g^{-1} *	mg β-caroteno kg^{-1}*	mmol Trolox g^{-1} *	
Fresca	12.04 ± 0.58 [a]	659.8 ± 99.8 [a]	0.073 ± 0.008 [a]	0.073 ± 0.004 [a]
50 °C	13.43 ± 0.98 [a]	586.3 ± 80.6 [a]	0.078 ± 0.006 [a]	0.068 ± 0.008 [a]
55 °C	12.22 ± 0.10 [a]	605.9 ± 16.7 [a]	0.074 ± 0.004 [a]	0.067 ± 0.000 [a]
60 °C	12.47 ± 0.32 [a]	642.0 ± 39.2 [a]	0.075 ± 0.008 [a]	0.069 ± 0.004 [a]

Letras distintas en la misma columna indican que los valores son significativamente diferentes ($\rho < 0.05$)

* Datos expresados en base seca

A fin de hallar una justificación al no efecto de la temperatura del aire de secado sobre el contenido de fenoles totales, el contenido de carotenoides totales y la actividad antioxidante de los extractos de las muestras analizadas, se obtuvieron unas imágenes tomadas con un microscopio de barrido electrónico del polen apícola sometido a diferentes temperaturas de aire de secado para observar los cambios morfológicos que se presentaban en los granos de polen durante el proceso de secado. En la Figura 3-2, se observa el efecto de la temperatura del aire de secado en la estructura del grano de polen, dejando ver una modificación morfológica del grano de polen evidenciada por la ligera degradación de la capa externa “exina. Por lo anteriormente planteado, se confirma la resistencia de la capa externa del grano de polen reportada en la literatura por diversos autores [72, 138, 139].

(a) **(b)**

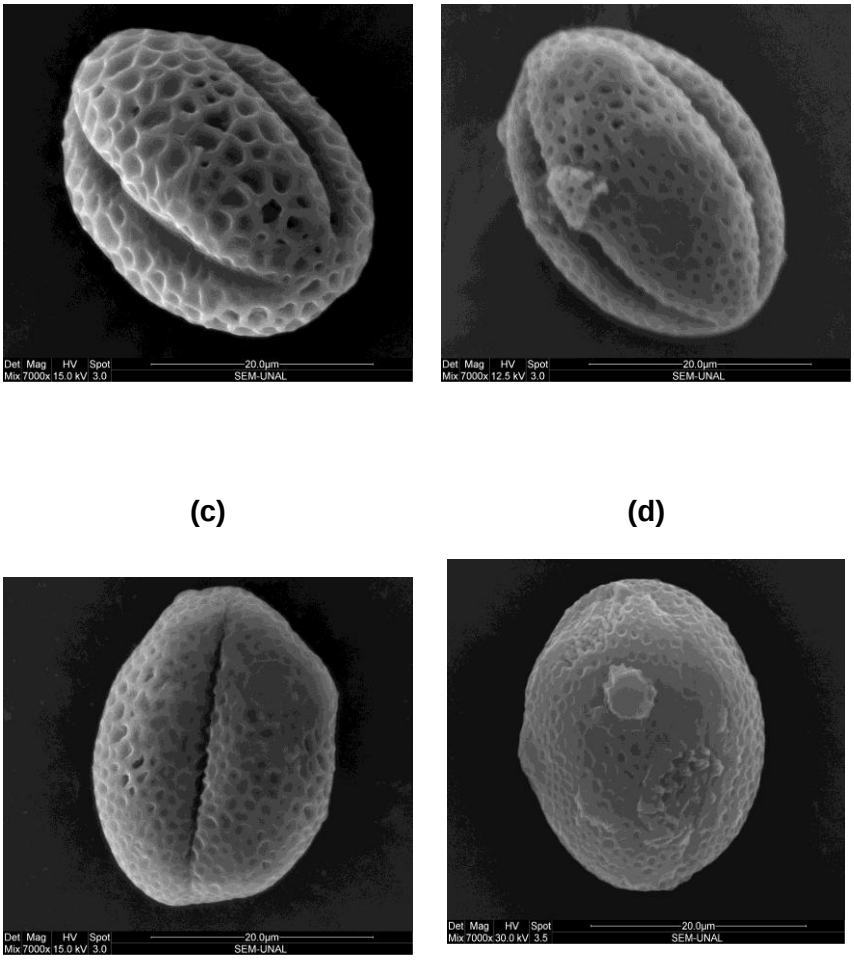

Figura 3-2. Estructura del grano (a) polen fresco, (b) polen seco 50 °C, (c) polen seco 55 °C y (d) polen seco 60°C por microscopía electrónica de barrido.

Los carotenoides usualmente encontrados en polen apícola son α–caroteno y β-caroteno, y en menor proporción, esteres de luteína, criptoxantina, xantofilas y flavoxantina [106]. Según Villar [107] los carotenoides presentes en el polen apícola son los responsables de proporcionar los colores amarillos, anaranjados y rojizos. El polen apícola analizado tiene un contenido de β–caroteno aproximado de 659 ± 99.8 mg kg^{-1} (b.s.); presentando un contenido superior al reportado para pólenes brasileros por Mårgoåoan et al. y Almeida-Muradian et al. [3] quienes reportan valores de β–caroteno entre 10 – 200 mg kg^{-1} y 82.53 mg kg^{-1} para polen seco en base seca.

En la Figura 3-3, se muestra el efecto de la temperatura del aire de secado sobre el contenido de vitamina E. El contenido inicial fue de 79.10 ± 4.57 µg g^{-1} (b.s). Contenidos inferiores de vitamina E fueron reportados para pólenes brasileros 19.2 – 31.31 µg g^{-1} (b.s) [140]. Se puede observar que a 50 – 60 °C de temperatura del aire de secado no se presentan cambios significativos ($\rho < 0.05$) en el contenido de vitamina E.

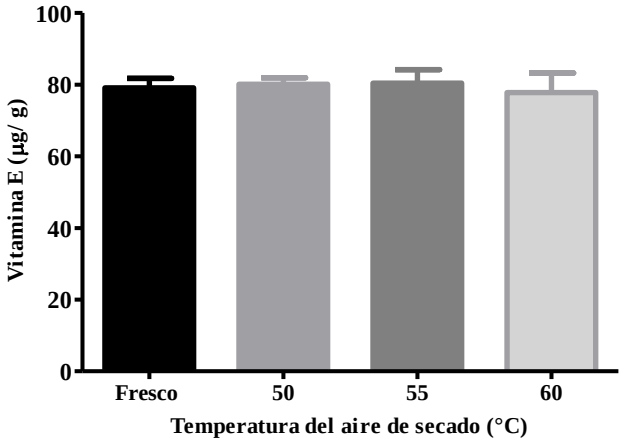

Figura 3-3. Efecto de la temperatura del aire de secado en el contenido de vitamina E en polen apícola.

Estudios en otras matrices de origen vegetal, revisan el efecto de la temperatura de secado sobre el contenido de compuestos fenólicos totales, carotenoides totales y actividad antioxidante donde muestran comportamientos diferentes a los encontrados en esta investigación. Miranda et al., [141] estudiaron el impacto de la temperatura del aire de secado sobre propiedades nutricionales, contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de semillas de quinua (*Chenopodium quinua Willd*.) encontrando que hay una disminución notable en el contenido de fenoles totales presentes, especialmente a 60 °C, 70 °C y 80 °C; además de presentar valores similares de actividad antioxidante a los 40 °C, 50 °C y 80 °C. Niamnuy et al, [142] investigaron el efecto del método y las condiciones de secado sobre la cinética de secado, contenido de isoflavonas, actividad antioxidante y actividad inhibitoria de α–glucosidasa en soya reportando que el aumento en la temperatura de secado (50, 70, 130 y 150 °C) conlleva aún aumento en la actividad antioxidante, pero a menores contenidos de isoflavonas. Topuz et al, [143] evaluaron la

influencia de los diferentes métodos de secado en el contenido de carotenoides y capsaicinoides de pimentón (Cv., Jalapeno) publicando que hay una disminución significativa de estos compuestos en el producto deshidratado a 60 °C durante 7 ± 0.5 horas.

3.3.3 Efecto sobre la carga microbiológica del polen apícola.

Con el fin de controlar la calidad microbiológica del polen apícola al finalizar el proceso de secado se comparó la carga microbiológica del polen fresco con pólenes secos a diferentes temperaturas del aire de secado. En la Tabla 3-7, se observan las características microbiológicas del polen húmedo y seco a diferentes temperaturas de aire de secado.

Tabla 3-7. Características microbiológicas del polen húmedo y seco a diferentes temperaturas de aire de secado.

Parámetro	Fresco	50°C	55°C	60°C
Mesófilos aerobios (UFC/g)	520000	1400	1400	1200
Mohos y levaduras (UFC/g)	6700	1400	2200	4100
Coliformes totales (NMP/g)	43	23	23	23
Presencia de *Salmonella* sp.	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

Si bien en Colombia no se han establecido criterios de calidad e inocuidad para polen apícola que permitan establecer si los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación están dentro de los rangos permitidos, se procedió a comparar con valores de referencia reportados en normas internacionales para polen apícola reportados en la Tabla 3-5.

Los análisis de calidad microbiológica muestran en primer lugar, que el polen apícola fresco presenta un recuento alto de los parámetros evaluados, incumpliendo con los valores de referencias establecidas en normatividades internacionales. Sin embargo, es importante resaltar que el polen posee una flora microbiana espontánea dadas las condiciones a las que está expuesto, puede ser flora propia o epifítica como floración,

origen geográfico, humedad, o flora exógena introducida por incorrecta manipulación, contaminación ambiental, condiciones de almacenamiento, procesamiento y comercialización, y la adición de enzimas y secreciones salivares utilizadas durante el proceso de recolección por la abeja [69, 144].

Por otro lado, se evidencia la influencia del proceso de secado sobre la carga microbiológica del polen, observándose una reducción en los recuentos microbiológicos, siendo el proceso de secado insuficiente en la reducción de la carga microbiológica de modo tal que las muestras alcancen los criterios microbiológicos reportados en normas internacionales.

3.4 Conclusiones y recomendaciones

3.4.1 Conclusiones

- Dentro de las temperaturas de aire de secado evaluadas (50, 55 y 60 °C) no se encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) en el contenido de fenoles totales, contenido de carotenoides totales, contenido de vitamina E y actividad antioxidante total en los extractos de polen apícola.

- El proceso de secado reduce los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y de mohos y levaduras, sin embargo no se alcanzan los recuentos mínimos que exigen las normas internacionales para polen.

- Los resultados obtenidos en este trabajo son esenciales para el procesamiento de polen apícola deshidratado con el fin de obtener los beneficios de los compuestos bioactivos presentes en este producto después del proceso de secado.

3.4.2 Recomendaciones

- Evaluar el efecto de la temperatura de aire de secado sobre otros compuestos de interés nutricional como ácidos grasos, vitaminas de complejo B, esteroles.

- Evaluar el efecto de la aplicación de ozono y/o radiación ultravioleta sobre la calidad nutricional, bioactiva y microbiológica del polen como pretratamiento al proceso de secado, con el fin de reducir la carga microbiológica del polen a niveles aceptables.

A. Anexo: Isotermas de adsorción

A continuación, se anexan las isotermas de adsorción de polen apícola evaluada a las temperaturas de 50 °C y 60 °C, obtenidas según metodología descrita en el Capítulo 2 de este documento.

En la Figura A - 1, se muestran las isotermas de adsorción de polen apícola a temperaturas de 50 y 60 °C. Los datos experimentales presentan una curva exponencial Tipo III. Las isotermas Tipo III son típicas de alimentos en los que están presentes componentes cristalinos solubles en agua como azúcares [48].

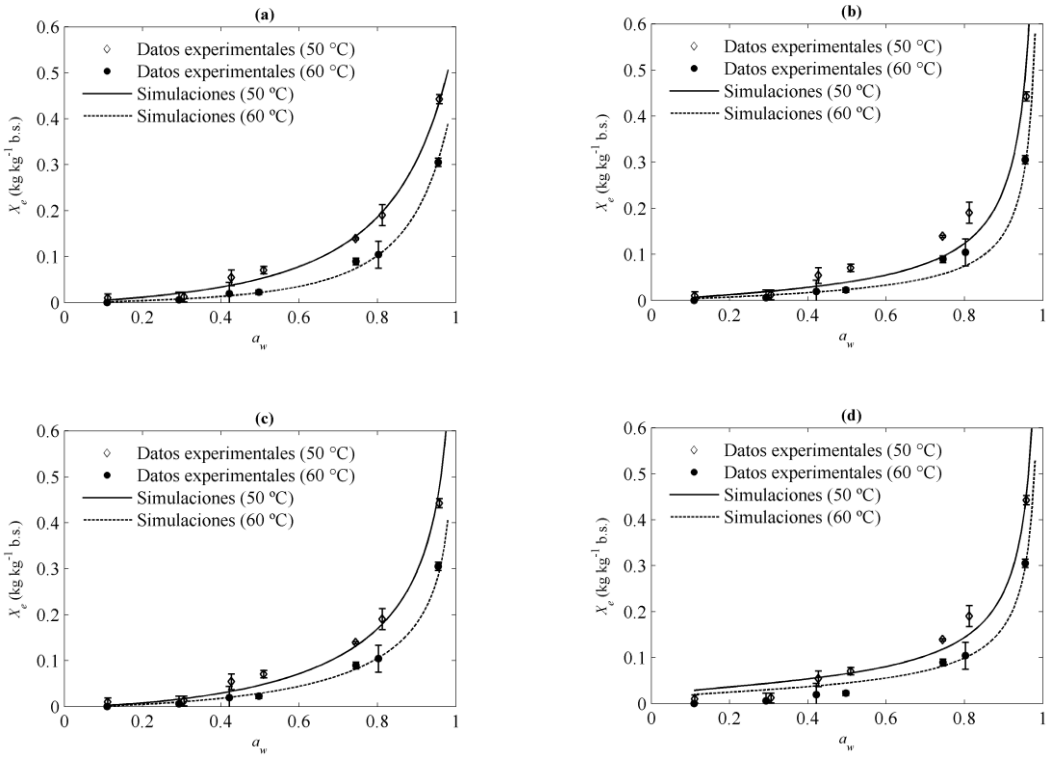

Figura A-1. Datos experimentales y simulados usando los modelos de: (a) GAB, (b) Oswin, (c) Henderson y (d) Halsey.

La Tabla A – 1, muestra los parámetros identificados junto con los estadísticos resultantes del ajuste de las isotermas de adsorción a los modelos de GAB, Oswin, Henderson y Halsey. Todos los modelos utilizados para correlacionar el contenido de humedad de equilibrio con la actividad de agua y la temperatura no presentaron una buena calidad en el ajuste. Esta situación se presenta debido a que las isotermas de adsorción, se obtienen colocando materiales secos en atmósferas de humedad relativa superior a su actividad de agua para que haya una adsorción de agua [145]; adicionalmente, el método gravimétrico estático presenta como principal desventaja el largo período de tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, además que nunca se sabe con total certeza si se ha alcanzado el mismo.

Tabla A – 1. Ajuste de los modelos de GAB, Oswin, Henderson y Halsey.

Modelo	Ecuación	Parámetros	R^2_{adj}	EMR
GAB	Ec. 2-1	X_m = 0.1375 kg kg^{-1} (b.s) C_G = 6.823 ×10^{-16} K_G = 409.82 H_m = 156.99 kJ mol^{-1} H_n = 59.52 kJ mol^{-1}	0.993	47.9
Oswin	Ec. 2-4	A = 0.1193 B = - 1.589 X 10^{-3} °C^{-1} C = 1.2207	0.921	100
Henderson	Ec. 2-5	A = 0.1893 °C^{-1} B = -22.816 °C C = 0.6556	0.984	49.3
Halsey	Ec. 2-6	A = -1.6176 B = -0.053294 °C^{-1} C = 1.435	0.970	43.29

Por lo anteriormente planteado, y por el objetivo del trabajo no se consideraron dentro del capítulo 2 del presente documento. Adicionalmente, porque el marco del proyecto se desarrolla bajo el fenómeno de desorción en una operación de secado con aire caliente en continuo. El secado se define como una operación unitaria por la que el agua que contiene un sólido se transfiere a la fase fluida que lo rodea debido a los gradientes de actividad de agua entre ambas fases [9]. El conocimiento de las isotermas de sorción juega un doble papel en la operación de secado. Por un lado, determina la fuerza impulsora para una transferencia de masa de agua controlada externamente, siendo la

fuerza impulsora la diferencia entre la humedad del aire y la humedad del aire próximo a la superficie del alimento, asumiendo que este aire está en equilibrio con el material seco y que, por lo tanto puede ser determinado mediante la isoterma de desorción de agua a la temperatura de proceso. Por otro lado, predice el contenido final en agua del alimento, que eventualmente está en equilibrio con el aire de secado [146].

Bibliografía

1. Silva, T.M.S., et al., Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee Melipona subnitida Ducke. Journal of Food Composition and Analysis, 2006. **19**(6-7): p. 507-511.

2. Human, H. and S.W. Nicolson, Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of Aloe greatheadii var. davyana (Asphodelaceae). Phytochemistry, 2006. **67**(14): p. 1486-1492.

3. Almeida-Muradian, L.B., et al., Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. Journal of Food Composition and Analysis, 2005. **18**(1): p. 105-111.

4. Martínez, T., Diagnostico de la actividad apícola y la crianza de abejas en Colombia, 2006, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - Dirección de cadena productivas Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura IICA. p. 121.

5. Crank, J., The mathematics of diffusion1979, Oxford: Clarendon Press. 414.

6. Mujumdar, A.S., Principles, classification and selection of dryers,, in Handbook of Industrial Drying, A.S. Mujumdar, Editor 2006 Taylor & Francis Group, LLC. p. 3 - 32

7. Vega-Mercado, H., M. Marcela Góngora-Nieto, and G.V. Barbosa-Cánovas, Advances in dehydration of foods. Journal of Food Engineering, 2001. **49**(4): p. 271-289.

8. Lewicki, P.P., Design of hot air drying for better foods. Trends in Food Science & Technology, 2006. **17**(4): p. 153-163.

9. Fito, P., et al., Introducción al secado de alimentos por aire caliente. 1 ed, ed. E.U.P.d. Valencia2001, Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia.

10. Aversa, M., et al., An analysis of the transport phenomena occurring during food drying process. Journal of Food Engineering, 2007. **78**(3): p. 922-932.

11. Mujumdar, A.S., Handbook of Industrial Drying. 3 ed2006: Taylor & Francis Group, LLC.

12. García-Pérez, J.V., Contribución al estudio de la aplicación de ultrasonidos de potencia en el secado convectivo de alimentos, in Departamento de Tecnología de Alimentos2007, Universidad Politécnica de Valencia: Valencia (España). p. 375.

13. Pakowski, Z. and A.S. Mujumdar, Basic Process Calculations and Simulations in Drying, in Handbook of Industrial Drying, A.S. Mujumdar, Editor 2006, Taylor & Francis Group, LLC. .

14. Mulet, A., Drying modelling and water diffusivity in carrots and potatoes. Journal of Food Engineering, 1994. **22**(1-4): p. 329-348.

15. Váquiro, H.A., Contribución al estudio y optimización del secado intermitente: Aplicación al secado de mango (Mangifera indica L var Tommy Atkins), in Departamento de Tecnología de Alimentos2009, Universidad Politécnica de Valencia: Valencia (España). p. 278.

16. Vega, A., et al., Mathematical modeling of hot-air drying kinetics of red bell pepper (var. Lamuyo). Journal of Food Engineering, 2007. **79**(4): p. 1460-1466.

17. Akpinar, E.K., Determination of suitable thin layer drying curve model for some vegetables and fruits. Journal of Food Engineering, 2006. **73**(1): p. 75-84.

18. Barbosa-Cánovas, G.V., Deshidratación de alimentos 1ed. Vol. 1. 2000, Zaragoza, España: Acribia S.A. 297.

19. Carrín, M. and H. Crapiste, Convective drying of foods, in Advances in food dehydration, C. Ratti, Editor 2009, CRC Press Taylor & Francis Group. p. 123 - 147.

20. Diaz, C., et al., Special features of pollen production in Colombia, 2009, Universidad Nacional de Colombia.

21. Luangmalawat, P., et al., Effect of temperature on drying characteristics and quality of cooked rice. LWT - Food Science and Technology, 2008. **41**(4): p. 716-723.

22. Doymaz, İ., Convective air drying characteristics of thin layer carrots. Journal of Food Engineering, 2004. **61**(3): p. 359-364.

23. Doymaz, I. and F. Kocayigit, Drying and Rehydration Behaviors of Convection Drying of Green Peas. Drying Technology, 2011. **29**(11): p. 1273-1282.

24. Doymaz, I. and M. Pala, Hot-air drying characteristics of red pepper. Journal of Food Engineering, 2002. **55**(4): p. 331-335.

25. Doymaz, İ., Convective drying kinetics of strawberry. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2008. **47**(5): p. 914-919.

26. Doymaz, İ., N. Tugrul, and M. Pala, Drying characteristics of dill and parsley leaves. Journal of Food Engineering, 2006. **77**(3): p. 559-565.

27. Doymaz, İ., Drying characteristics and kinetics of okra. Journal of Food Engineering, 2005. **69**(3): p. 275-279.

28. Saravacos, G. and Z. Maroulis, Transport properties of foods., ed. I. MARCEL DEKKER2001, New York.

29. Marinos-Kouris, D. and Z.B. Maroulis, Transport properties in the drying of solids, in Handbook of Industrial Drying, A. Mujumdar, Editor 2006, CRC Press, Boca Raton, FL, USA). p. 82 - 114.

30. Calzetta Resio, A.N., R.J. Aguerre, and C. Suarez, Drying characteristics of amaranth grain. Journal of Food Engineering, 2004. **65**(2): p. 197-203.

31. Gely, M.C. and E.M. Santalla, Moisture diffusivity in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) seeds: Effect of air temperature and initial moisture content of seeds. Journal of Food Engineering, 2007. **78**(3): p. 1029-1033.

32. Kashaninejad, M., et al., Thin-layer drying characteristics and modeling of pistachio nuts. Journal of Food Engineering, 2007. **78**(1): p. 98-108.

33. Roberts, J.S., D.R. Kidd, and O. Padilla-Zakour, Drying kinetics of grape seeds. Journal of Food Engineering, 2008. **89**(4): p. 460-465.

34. Niamnuy, C., et al., Kinetic modelling of drying and conversion/degradation of isoflavones during infrared drying of soybean. Food Chemistry, 2012. **133**(3): p. 946-952.

35. Umesh Hebbar, H. and N.K. Rastogi, Mass transfer during infrared drying of cashew kernel. Journal of Food Engineering, 2001. **47**(1): p. 1-5.

36. Nilnont, W., et al., Finite element simulation for coffee (Coffea arabica) drying. Food and Bioproducts Processing, 2012. **90**(2): p. 341-350.

37. Mathlouthi, M., Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. Food Control, 2001. **12**(7): p. 409-417.

38. Araya-Farias, M. and C. Ratti, Dehydration of Foods: General Concepts, in Advances in food dehydration, C. Ratti, Editor 2009, Taylor & Francis Group, LLC.

39. Berk, Z., Physical Properties of Food Materials, in Food Process Engineering and Technology2009, Academic Press: San Diego. p. 7-25.

40. Jeantet, R., et al., Ciencia de los alimentos Vol. 1. 2006, Zaragoza (España): Editorial Acribia S.A. 391.

41. Morgano, M.A., et al., Determination of water content in Brazilian honeybee-collected pollen by Karl Fischer titration. Food Control, 2011. **22**(10): p. 1604-1608.

42. Serra Bonvehí, J. and R. Escolà Jordà, Nutrient Composition and Microbiological Quality of Honeybee-Collected Pollen in Spain. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997. **45**(3): p. 725-732.

43. Coronel, B.B., et al., Caracterización bromatológica del polen apícola argentino. Ciencia, Docencia y Tecnología, 2004. **XV**(29): p. 38.

44. Bogdanov, S., Pollen: Collection, Harvest, Composition and Quality, 2011, Bee Product Science. p. 12.

45. Correia-Oliveira, M.E., et al., Atividade de água (Aw) em amostras de pólen apícola desidratado e mel do Estado de Sergipe. Revista da Fapese, 2008. **4**(2): p. 27-36.

46. Barajas, J., T. Martínez, and E. Rodríguez, Evaluation of the effect of temperature on the drying of bee - pollen from two zones of Cundinamarca. Dyna, 2010. **165**: p. 10.

47. Nogueira, C., et al., Commercial Bee Pollen with Different Geographical Origins: A Comprehensive Approach. International Journal of Molecular Sciences, 2012. **13**(9): p. 11173-11187.

48. Al-Muhtaseb, A.H., W.A.M. McMinn, and T.R.A. Magee, Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food Products: A Review. Food and Bioproducts Processing, 2002. **80**(2): p. 118-128.

49. Basu, S., U.S. Shivhare, and A.S. Mujumdar, Models for Sorption Isotherms for Foods: A Review. Drying Technology, 2006 **24**: p. 15.

50. Navarrete, N.M., et al., Termodinámica y cineticas de sistemas alimento entorno 1ed1999, Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia 383.

51. Timmermann, E.O., J. Chirife, and H.A. Iglesias, Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? Journal of Food Engineering, 2001. **48**(1): p. 19-31.

52. Greenspan, L., Humidity fixed points of binary Saturated Aqueous Solutions. Journal of Research of the National Bureau of Standards, 1977. **81A**(1): p. 89-96.

53. Villa-Vélez, H.A., et al., Modelling thermodynamic properties of banana waste by analytical derivation of desorption isotherms. International Journal of food Engineering, 2012. **8**: p. 1 - 21.

54. Kaymak-Ertekin, F. and M. Sultanoğlu, Moisture sorption isotherm characteristics of peppers. Journal of Food Engineering, 2001. **47**(3): p. 225-231.

55. Peng, G., et al., Modeling of water sorption isotherm for corn starch. Journal of Food Engineering, 2007. **80**(2): p. 562-567.

56. Hossain, M.D., et al., Sorption isotherms and heat of sorption of pineapple. Journal of Food Engineering, 2001. **48**(2): p. 103-107.

57. Kaymak-Ertekin, F. and A. Gedik, Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. LWT - Food Science and Technology, 2004. **37**(4): p. 429-438.

58. Sahin, S. and S. Sumnu, Water Activity and Sorption Properties of Foods, in Physical Properties of Foods2006, Springer New York. p. 193-228.

59. Lewicki, P.P., Water as the determinant of food engineering properties. A review. Journal of Food Engineering, 2004. **61**(4): p. 483-495.

60. Brunauer, S., et al., On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. Journal of the American Chemical Society, 1940. **62**(7): p. 1723-1732.

61. García-Pérez, J.V., et al., Water sorption isotherms for lemon peel at different temperatures and isosteric heats. LWT - Food Science and Technology, 2008. **41**(1): p. 18-25.

62. Tolaba, M.P., et al., Grain sorption equilibria of quinoa grains. Journal of Food Engineering, 2004. **61**(3): p. 365-371.

63. Iglesias, H.A. and J. Chirife, Prediction of the effect of temperature on water sorption isotherms of food material. International Journal of Food Science & Technology, 1976. **11**(2): p. 109-116.

64. Silva, D., Guía ambiental apícola. 1 ed2005, Bogotá (Colombia): Instituto de investigación de recursos biológicos Alexander von Humboldt.

65. Franky, A., Sistema de producción de polen, 2006: Memorias Encuentro de Apicultores, San Rafael - Antioquia.

66. MADR, Plan Estrategido de Acción CPAA 2011 - 2025, 2011: Bogotá.

67. Espinal, C.F., H. Martínez, and C. Santos, La cadena de las abejas y la apicultura en Colombia, M.d.A.y.D. Rural, Editor 2006.

68. Campos, M.G., et al., Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research, 2008. **47**(2): p. 154.

69. Del Risco, C.A., Polen - pan de abejas: composición, nutrición, acción en la salud humana y microbiología., 2002: Cuba p. 7.

70. Xu, F.-X. and B.K. Kirchoff, Pollen morphology and ultrastructure of selected species of Magnoliaceae. Review of Palaeobotany and Palynology, 2008. **150**(1–4): p. 140-153.

71. Scott, R.J. and R.J. Scott, Pollen exine – the sporopollenin enigma and the physics of pattern

Molecular and Cellular Aspects of Plant Reproduction1994: Cambridge University Press.

72. Meier-Melikyan, N.R., et al., Development of Pollen Grain Walls and Accumulation of Sporopollenin. Russian Journal of Plant Physiology, 2003. **50**(3): p. 330-338.

73. Erdtman, G., An introduction to pollen analysis. An introduction to pollen analysis., 1943.

74. Qian, W.L., et al., Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. Journal of Food Composition and Analysis, 2008. **21**(1): p. 78-83.

75. Hassan, M., Chemical composition and nutritional value of palm pollen grains. Global J Biotechnol Biochem, 2011. **6**(1): p. 1-7.

76. Herbert E , S.H., Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee-stored pollen. Apidologie, 1978. **9**: p. 8.

77. Bogdanov, S., Pollen: Nutrition, Functional Properties and Health, in The Pollen (Book)2011. p. 28.

78. Dìaz, C., et al., Determinaciòn de fibra dietaría en polen apícola colombiano. Vitae, 2012. **19**(1): p. S454-S456.

79. Llnskens, H. and W. Jorde, Pollen as food and medicine—a review. Economic Botany, 1997. **51**(1): p. 78-86.

80. Paramás, A.M.G., et al., HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). Food Chemistry, 2006. **95**(1): p. 148-156.

81. Xue, X., et al., Analysis of coenzyme Q10 in bee pollen using online cleanup by accelerated solvent extraction and high performance liquid chromatography. Food Chemistry, 2012. **133**(2): p. 573-578.

82. Zanoni, B., C. Peri, and R. Gianotti, Determination of the thermal diffusivity of bread as a function of porosity. Journal of Food Engineering, 1995. **26**(4): p. 497-510.

83. Kump, P., M. Necemer, and J. Snajder, Determination of trace elements in bee honey, pollen and tissue by total reflection and radioisotope X-ray fluorescence spectrometry. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 1996. **51**(5): p. 499-507.

84. Estevinho, L.M., et al., Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. International Journal of Food Science & Technology, 2012. **47**(2): p. 429-435.

85. Zuluaga, C.M., C.D. Moreno, and M.C. Quicazán, Quimiometría aplicada a la diferenciación por origen de productos de las abejas. Alimentos Hoy, 2011. **20**(24): p. 23-46.

86. Marcia C, M., et al., Physicochemical composition of bee pollen from eleven brazilian states. Journal of Apicultural Science, 2011. **55**(2): p. 107 -116.

87. Biesalski, H.-K., et al., Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. Nutrition, 2009. **25**(11–12): p. 1202-1205.

88. Kris-Etherton, P.M., et al., Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. The American Journal of Medicine, 2002. **113**(9, Supplement 2): p. 71-88.

89. Pennington, J.A.T., Food Composition Databases for Bioactive Food Components. Journal of Food Composition and Analysis, 2002. **15**(4): p. 419-434.

90. McClements, D.J., et al., Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2009. **49**(6): p. 577-606.

91. Balasundram, N., K. Sundram, and S. Samman, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 2006. **99**(1): p. 191-203.

92. Gómez-Caravaca, A.M., et al., Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **41**(4): p. 1220-1234.

93. Petti, S. and C. Scully, Polyphenols, oral health and disease: A review. Journal of Dentistry, 2009. **37**(6): p. 413-423.

94. Rice-Evans, C., N. Miller, and G. Paganga, Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science, 1997. **2**(4): p. 152-159.

95. Saric, A., et al., Antioxidant effects of flavonoid from Croatian Cystus incanus L. rich bee pollen. Food and Chemical Toxicology, 2009. **47**(3): p. 547-554.

96. Serra Bonvehí, J., M. Soliva Torrentó, and E. Centelles Lorente, Evaluation of Polyphenolic and Flavonoid Compounds in Honeybee-Collected Pollen Produced in Spain. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001. **49**(4): p. 1848-1853.

97. Leja, M., et al., Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. Food Chemistry, 2007. **100**(1): p. 237-240.

98. Carpes, S.T., et al., Polyphenols and palynological origin of bee pollen of Apis mellifera L. from Brazil. Characterization of polyphenols of bee pollen. CyTA - Journal of Food, 2012. **11**(2): p. 150-161.

99. Graikou, K., et al., Chemical analysis of Greek pollen - Antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. Chemistry Central Journal, 2011. **5**(1): p. 33-41.

100. Marghitas, L.A., et al., In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. Food Chemistry, 2009. **115**(3): p. 878-883.

101. Morais, M., et al., Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. Food and Chemical Toxicology, 2011. **49**(5): p. 1096-1101.

102. Fountain, D.W., C.A. Cornford, and G.J. Shaw, Benzoic Acid and Hydroxylated Benzoic Acids in Pollen. Grana, 1995. **34**(3): p. 213-216.

103. Almaraz-Abarca, N., et al., Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (Prosopis juliflora, Leguminosae). Journal of Food Composition and Analysis, 2007. **20**(2): p. 119-124.

104. Vargas, F.D.-. and O.P.-. López, Carotenoids., in Natural colorants for food and nutraceutical uses.2003, CRC Press LLC: United States of America. p. 342.

105. Stahl, W. and H. Sies, Antioxidant activity of carotenoids. Molecular Aspects of Medicine, 2003. **24**(6): p. 345-351.

106. Muniategui, S., et al., Determination of carotenes from bee-collected pollen by high performance liquid chromatography. Journal of Apicultural Research, 1990. **29**(3): p. 147 - 150.

107. Villar, O.H.C., Relación entre el contenido de caroteno, color y caractreísticas botánicas del polen corbicular, in Facultad de Ciencias Agrarias2004, Universidad Austral de Chile: Chile. p. 102.

108. Pulido, N., et al., Cuantificación de Vitamina E en muestras comerciales de polen apicola. Vitae, 2012. **19**(1): p. S357-S359.

109. Miyazawa, T., K. Nakagawa, and P. Sookwong, Health benefits of vitamin E in grains, cereals and green vegetables. Trends in Food Science & Technology, 2011. **22**(12): p. 651-654.

110. Kornsteiner, M., K.-H. Wagner, and I. Elmadfa, Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. Food Chemistry, 2006. **98**(2): p. 381-387.

111. Blasa, M., et al., Chapter 3 - Fruit and Vegetable Antioxidants in Health, in Bioactive Foods in Promoting Health, W. Ronald Ross and R.P. Victor, Editors. 2010, Academic Press: San Diego. p. 37-58.

112. Song, J.-Y., G.-H. An, and C.-J. Kim, Color, texture, nutrient contents, and sensory values of vegetable soybeans [Glycine max (L.) Merrill] as affected by blanching. Food Chemistry, 2003. **83**(1): p. 69-74.

113. Kaiser, A., D.R. Kammerer, and R. Carle, Impact of blanching on polyphenol stability and antioxidant capacity of innovative coriander (Coriandrum sativum L.) pastes. Food Chemistry. **140**(1–2): p. 332-339.

114. Wolfe, K.L. and R.H. Liu, Apple peels as a value-added food ingredient. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. **51**(6): p. 1676-1683.

115. Turkmen, N., F. Sari, and Y.S. Velioglu, The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry, 2005. **93**(4): p. 713-718.

116. Amorim, K., M.-A. Lage-Yusty, and J. López-Hernández, Changes in bioactive compounds content and antioxidant activity of seaweed after cooking processing. CyTA - Journal of Food, 2012. **10**(4): p. 321-324.

117. Lemos, M.R.B., et al., The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [Dipteryx alata Vog.]. Food Research International, 2012. **48**(2): p. 592-597.

118. Lima, A.R., et al., Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. Química Nova, 2010. **33**: p. 20-24.

119. Chen, H.E., H.Y. Peng, and B.H. Chen, Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice. Food Chemistry, 1996. **57**(4): p. 497-503.

120. Chen, J.P., C.Y. Tai, and B.H. Chen, Effects of different drying treatments on the stability of carotenoids in Taiwanese mango (Mangifera indica L.). Food Chemistry, 2007. **100**(3): p. 1005-1010.

121. Madrau, M., et al., Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. European Food Research and Technology, 2009. **228**(3): p. 441-448.

122. Berasategi, I., et al., Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. Food Chemistry, 2012. **132**(1): p. 439-446.

123. García, D.G., M.A.R. Mogollón, and J.S. Nieves, Cultured Microbiological Content of the Intestinal Tract and Stored Pollen of Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). Acta Biológica Colombiana, 2006. **11**(1): p. 123-129.

124. Bucio Villalobos, C.M., et al., Micoflora asociada a granos de polen recolectados por abejas domésticas (Apis mellifera L). Nova scientia, 2010(4): p. 93-103.

125. González, G., et al., Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. International Journal of Food Microbiology, 2005. **105**(1): p. 1-9.

126. Gilliam, M., Microbiology of pollen and bread: The genus bacillus. Apidologie, 1979. **10**(3): p. 269-274.

127. Gilliam, M., D. Prest, B., and B. Lorenz, J., Microbiology of pollen and bee bread : taxonomy and enzymology of molds. Apidologie, 1989. **20**(1): p. 53-68.

128. Martha, G., Microbiology of pollen and bee bread: The yeasts. Apidologie, 1979. **10**(1): p. 11.

129. Kačániová, M., et al., Mycobiota and mycotoxins in bee pollen collected from different areas of Slovakia. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 2011. **46**(7): p. 623-629.

130. Fuenmayor, C.A., Aplicación de bioprocesos en polen de abejas para el desarrollo de un suplemento proteico., in Departamento de Ingeniería Química y Ambiental2009, Universidad Nacional de Colombia p. 125.

131. Pardo, D., et al., Comparison of the microbiological quality of bee pollen obtained by drying it at to differents temperatures, in Apimondia 20112011, Universidad de Colombia.

132. Benzie, F.F. and J.J. Strain, The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry 1996. **239**: p. 7.

133. Lee, J., et al., Optimization of an Extraction Procedure for the Quantification of Vitamin E in Tomato and Broccoli using Response Surface Methodology. Journal of Food Composition and Analysis, 2000. **13**(1): p. 45-57.

134. INVIMA, MANUAL DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA EL CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO, ed. H.I. Holguín M, Rubio B, Vargas M, Muñoz A, Figueroa G.1998, Bogotá (Colombia).

135. Correia-Oliveira, M., et al., Actividad de agua en muestras de polen apícola deshidratado y miel del Estado de Sergipe. Fapese, 2008. **4**(2): p. 27 - 36.

136. Melo, I.L. and L.B. Almeida-Muradian, Comparison of methodologies for moisture determination on dried bee pollen samples. Ciencia y Tecnología de alimentos 2011. **31**(1): p. 194 - 197.

137. Boavida, L., J. Becker, and J. Feijó, The making of gametes in higher plants. Journal of Developmental Biology 2005. **49**: p. 595 - 614.

138. Domínguez, E., et al., Pollen sporopollenin: degradation and structural elucidation. Sexual Plant Reproduction, 1999. **12**(3): p. 171-178.

139. Ariizumi, T. and K. Toriyama, Genetic regulation of sporopollenin synthesis and pollen exine development. Annual review of plant biology, 2011. **62**: p. 437-460.

140. Melo, I.L. and L.B. Almeida-Muradian, Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples. Quim. Nova, 2010. **33**(3): p. 5.

141. Miranda, M., et al., Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (Chenopodium quinoa Willd.). Industrial Crops and Products, 2010. **32**(3): p. 258-263.

142. Niamnuy, C., et al., Evaluation of bioactive compounds and bioactivities of soybean dried by different methods and conditions. Food Chemistry, 2011. **129**(3): p. 899-906.

143. Topuz, A., et al., Influence of different drying methods on carotenoids and capsaicinoids of paprika (Cv., Jalapeno). Food Chemistry, 2011. **129**(3): p. 860-865.

144. Loper, G., M., et al., BIOCHEMISTRY AND MICROBIOLOGY OF BEE-COLLECTED ALMOND (PRUNUS DULCIS) POLLEN AND BEE BREAD. I- Fatty Acids, Sterols, Vitamins and Minerals. Apidologie, 1980. **11**(1): p. 63-73.

145. Labuza, T.P., Interpretation of Sorption Data in Relation to the State of Constituent Water, in Water Relations of Foods, R. Duckworth, Editor 1975, Academic Press. p. 155-172.

146. Quirijns, E.J., et al., An improved experimental and regression methodology for sorption isotherms. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2005. **85**(2): p. 175-185.