



Características microbiológicas de las mieles tropicales de *Apis mellifera*

****Guillermo Salamanca Grosso. *Carmen Amelia Henao Rojas
Gloria Inés Moreno. Alexandra Luna**

****Departamento de Química Universidad del Tolima
Facultad de Ciencias
Laboratorio de Bromatología
Secretaría de Salud del Tolima
gsalaman@angel.ut.edu.co**

Introducción

La miel silvestre es probablemente el más antiguo edulcorante conocido, posee dulzura y aroma, las abejas recolectan el néctar de las flores y le añaden invertasa que desdobra la sacarosa del néctar en glucosa y fructosa; a continuación, las abejas depositan el producto en los panales donde se produce una pérdida de agua. Mientras la composición del néctar es de aproximadamente el 20% de sacarosa y el 80% de agua, la miel contiene aproximadamente el 35% de glucosa, el 40% de fructosa y el 15% de agua y el 10% de productos misceláneos, con un 2% de sacarosa, así como proteínas, dextranos, ácidos orgánicos, aceites esenciales, residuales metabólicos provenientes del néctar floral, además de vitaminas, minerales, granos de polen, levaduras y bacterias.

Las características organolépticas de las mieles en general dependen de la presencia del contenido de azúcares totales, de su madurez y de otro lado de la presencia de isoprenoides, los lupeoles, carotenos, ácido pufénico, alcaloides, flavonoides, ácidos orgánicos, glicósidos, aminoácidos, coumarinas, limonoides, melicianinas y simaroubalidanos, que aportan propiedades especiales a las mieles de abeja y que definen el *flavor* de este producto de la campiña.

Como producto de origen natural las mieles de *Apis mellifera*, presentan una flora microbiana propia, al igual que el resto de los productos alimentarios, pero con un comportamiento microbiológico característico. La flora microbiana se puede dividir en dos grupos, que en principio reúnen a los microorganismos propios de las mieles y en segunda instancia a los microorganismos secundarios ocasionales o accidentales. En este orden, en la miel se encuentran bacterias del género *Bacillus*, que se presentan en estado esporulado, aunque en mieles recientes se pueden encontrar formas vegetativas. Se trata de microorganismos que no tiene acción negativa sobre la miel y no son peligrosos para la salud humana. Bajo algunas circunstancias pueden encontrarse algunos patógenos para las abejas, como *Bacillus larvae*, responsable de la Loque americana, y *Bacillus alvei*, agente relacionado con la Loque europea.

Los mohos que se encuentran en algunas mieles, pertenecen a los géneros *Penicillium* y *Mucor*, se han reportado casos de contaminación con *Bettsya alvei* o moho del polen, se encuentran en la miel en forma de esporas, pero no crean problemas a no ser que la miel gane humedad en su superficie, por un mal almacenamiento, pudiendo entonces desarrollarse y alterar el producto. Existe la posibilidad de contaminación de la miel a partir de hongos del tipo *Acosphaera apis* (Orden *Acosphaerales*), además de la acción de *Acosphaera* mayor.

Las levaduras, son del tipo osmófilo, pertenecientes al género *Saccharomyces*, responsables de la fermentación de la miel, cuando las condiciones de humedad lo permiten. Dentro de este género las especies más frecuentes son *Saccharomices bisporus* variedad *mellis*, *Saccharomices rouxii*, *Saccharomices bailii* variedad *osmophilus*. También se pueden encontrar levaduras banales; esta flora propia de la miel es introducida por la abeja en la colmena, con el néctar, polen o mielato, o por las mismas abejas durante las operaciones de limpieza, al vehicularlos sobre o dentro de su organismo. Otros agentes considerados como ocasionales o accidentales, son introducidos en las mieles de manera fortuita o por manipulaciones poco higiénicas durante la extracción o procesado de la miel. Si estas manipulaciones se realizan con higiene, no estarán presentes y si aparecen se mantendrán en niveles muy bajos o despreciables.

Durante la extracción y beneficio, las fuentes de esta contaminación residen en la manipulación incorrecta de la miel, el uso de material con deficientes procedimientos de desinfección, locales no apropiados incidencia del viento, presencia de insectos y permanencia de animales de compañía. Entre estos microorganismos existen diferentes géneros, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y algunos otros patógenos de las abejas.

La carga microbiana de la miel, en principio, se puede considerarla baja, si se compara con otros productos de origen animal como la leche por ejemplo; al ser un medio hostil, que se opone a la proliferación de los microorganismos debido a su concentración de sólidos, aunque pueden permanecer bajo la condición de viables durante largo tiempo, desarrollándose bajo circunstancias favorables.

La miel de por sí no es un medio estéril, es susceptible de contaminación al manipularse sin observar las normas de higiene. Algunos estudios han demostrado que determinados géneros de *Salmonella*, son capaces de resistir 34 días en la miel, cuando ésta se mantiene a 10° C, con lo que existiría un riesgo si el producto contaminado se emplea como ingrediente en la industria alimentaria o en el hogar.

La presencia de glucosa oxidasa facilita bajo ciertas condiciones de humedad del producto resultante del proceso de envasado y comercialización, la formación de gluconolactona que se encuentra en equilibrio con el ácido glúconico, con formación de peróxido de hidrógeno. Al final la miel pierde calidad y aroma, problemas de fermentación indebida suelen ser las causas de deterioro más frecuentes.



Figura 1. Cuadro completamente operculado para la extracción de miel

Desde el punto de vista técnico se distinguen diversos tipos de apiario: los fijos, que se instalan en un lugar definitivo, generalmente protegidos por cercas y resguardos y los Apiarios migratorios, ambulatorios o trashumantes: Se utilizan para polinización a la vez que efectúan la labor de recolección del néctar. Para establecer un apiario con fines comerciales hay que tener en cuenta la calibración de las zonas, además de la naturaleza de las plantas productoras de néctar y época en que florecen, las plantas productoras de polen y época en que florecen y las condiciones climáticas como también la frecuencia, dirección y velocidad de los vientos, corrientes pueden producir enfriamiento interno de la colmena, dificultad en el vuelo normal de las abejas y reseca las flores, inhibiendo la producción del néctar, temperatura, pues las abejas necesitan una temperatura favorable para su desarrollo, Frecuencia e intensidad de las lluvias y humedad relativa que permite el desarrollo normal de las etapas dentro de la colonia.

Los microorganismos con capacidad de evolucionar en un ambiente tan concentrados como los azúcares presentes en una miel, se conocen como osmófilos o sacarófilos, éstos provienen de las flores del medio ambiente de donde provienen o manipulan las mieles, del equipo utilizado en las operaciones de extracción y sobre todo de las condiciones de envasado. Las flores se enriquecen de levaduras durante la polinización y cuando están en zonas donde existen frutos en descomposición.

Sección experimental.

En este trabajo se han desarrollado dos tipos de actividad, una de campo correspondiente a la elaboración de un censo de poblacho apícola para las provincias apícolas existentes en los departamentos de Boyacá y Tolima, buscando al mismo tiempo establecer las condiciones climáticas y la flora típica asociada a la producción de mieles.

Una segunda parte consistió en evaluar las propiedades fisicoquímicas de éstas mieles como también sus contenidos remanentes de humedad en los productos comercializados. La tercera fase que es la que corresponde a este trabajo buscó el acercamiento para una prospección tendiente a la identificación de levaduras, mohos y mesozoico aerobios como una perspectiva de posible contaminación microbiana.

Materiales y Equipo.

En este trabajo se utilizó una autoclave vertical de 20 litros de capacidad, rango 212-274 ° F, con una presión máxima permisible de generación de 0-30 PSI, (All American Electric Presssure Steam Model 25X, Wisconsin), incubadora Zeitbergeenzer con un rango de operación de 25 –20 ° C, Nevera Phillips Polaris adaptada a 4 ° C, balanza analítica Vietske 200 ± 1 mg, microscopio binocular Carlzeiss Jena, provisto de dos oculares, 12x, con apertura de 55-75, de 5 objetivos, 6.3/020x a 100/1.32x, se usó además un pHmetro, con electrodo combinado de vidrio y un sistema de cuenta colonias cuando fue necesario.

Resultados y discusión.

En condiciones de Producción, las mieles cosechadas en ambientes tropicales presentan en algunos casos bacterias del género *Bacillus*, que se presentan en estado esporulado. Se trata de microorganismos que no tiene acción negativa sobre la miel y no son peligrosos para la salud humana, igualmente presentan mohos, su origen podría explicarse si se considera la facilidad con la cual proliferan las esporas de *Bettsya alvei* o moho del polen, que suele encontrarse en las mieles, estas especies suelen acompañar de otras especies tales como *Penicillium* y *Mucor* donde prevalecen las formas esporuladas, sin crear problemas a no ser que en las mieles alcancen niveles de humedad hasta el 22 % ya sea por extracción bajo condiciones de inmadurez o por almacenamiento deficiente.

Las mieles exhiben un marcado efecto higroscópico; cuando se mantienen muestras de este producto a una temperatura de 30 °C, la miel comienza a perder humedad y a deshidratarse, con un acentuado efecto superficial, la fase superior recién deshidratada, lentamente va actuando como una película, evitando que el interior el producto pierda mas humedad, cuando la temperatura se hace menor, se genera entonces un gradiente de absorción de agua, efecto que se hace notorio en ambientes de humedad relativa superiores al 60%. El comportamiento de una miel con 18.8 % de humedad bajo condiciones de humedad relativa del 70, 80 y 85 % y a 25 °C se muestra en la figura 2.

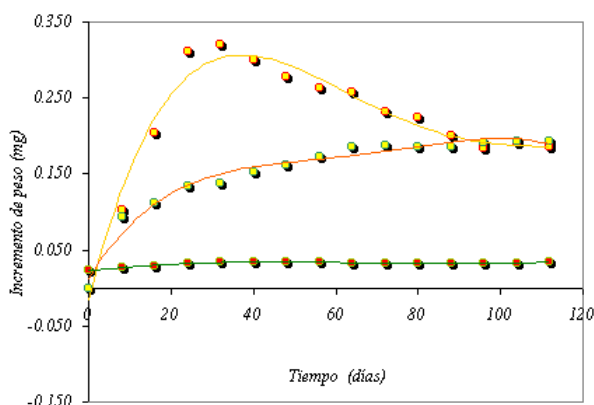


Figura 2. Incremento del peso de una muestra de miel con 18.8 % de humedad inicial bajo condiciones de humedad relativa dispersa sobre una superficie de 5 cm³

El agua que se absorbe del medio en condiciones de humedad relativa superiores al 60%, al principio ocupa la superficie del producto, que con rapidez

va ganando el interior, hasta alcanzar un contenido de equilibrio. La humedad relativa del entorno y el contenido neto de humedad permanecen en equilibrio mientras no se cambien las condiciones de temperatura. Al someter muestras de miel a diferentes condiciones de humedad relativa, se incrementa el contenido de humedad en el material alimentario, haciendo que la presión de vapor del agua en las condiciones externas disminuya e incremente la existente en el alimento, el comportamiento descrito influye en la actividad de agua y es dependiente de la temperatura del entorno. Estos cambios de humedad causan alteraciones en el producto, trayendo como consecuencia cambios en la actividad del agua (a_w) y fermentación localizada desde el interior de la miel o en la superficie donde predominen condiciones favorables para el desarrollo de los agentes.

Los microorganismos osmófilos o sacarófilos pueden provenir de flores, del medio ambiente de donde provienen o manipulan las mieles, del equipo utilizado en las operaciones de extracción y sobre todo de las condiciones de envasado. Las flores se enriquecen de levaduras durante la polinización y cuando están en zonas donde existen frutos en descomposición.

Las mieles suelen presentar levaduras, el número de células por gramo de miel resulta significativamente variable desde 1 a 100.000. Este número sin embargo no representa, en todo caso un índice de calidad como para establecer el grado de fermentabilidad, que presupone una dependencia de la actividad de agua a una cierta temperatura, ésta resulta favorable para el proceso fermentativo a 16 ° C.

La fermentación genera daños irreversibles al producto, las reacciones de fermentación conducen a la formación de alcohol etílico, anhídrido carbónico y ácido acético, butírico, cítrico, fórmico, málico y succínico, a lo cual se acompañan daños en el aroma y el sabor.

En general la acción de mohos y levaduras sobre alimentos edulcorados es meramente infectiva (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*), pero es a nivel de mohos donde se deben tomar precauciones y controles en virtud a la formación de micotoxinas (*Aspergillus spp*, *Fusarium spp*), no obstante ciertos mohos pueden generar intoxicaciones en niños o adultos con problemas digestivos.

En el trabajo que se discute se presenta un recuento de las correspondientes UFC para levaduras en las diferentes mieles con valores equivalentes a $(1.2 - 1.6) \times 10^4$ colonias/g y $(0.98 - 1.1) \times 10^2$ colonias/g para el caso de mohos. Los resultados obedecen a diversos factores entre los cuales se asocian las deficientes condiciones en las operaciones de extracción y beneficio, además los recipientes utilizados para el envasado se someten a ningún tipo de tratamiento, pues solo se lavan y secan sin someterlos a operaciones de esterilización. Los valores observados de alguna forma son cercanos a los estipulados por la norma Española en el control de este tipo de material y advierten sobre las condiciones de manipulación y comercialización de los productos, haciéndose necesario un estricto control por parte de las autoridades encargadas de la vigilancia

La presencia de enterobacterias totales (ET), en ciertos tipos de miel son indicio de una contaminación fecal originada mas en las deficientes condiciones de extracción beneficio y en la propia comercialización. Este parámetro ha adquirido relevancia en el análisis de diferentes tipos de alimentos. Los miembros de la familia enterobacteriaceae, son gérmenes de forma bacilar, gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados y móviles que fermentan los azúcares. En este sentido y para un trabajo mas amplio resulta conveniente sugerir la cualificación de *Shigella*, *Edwardsiella*, *Hatnias*, *Proteus*, *Yersinias*, *Morganellas* y *Erwinias* entre otras, de otro lado en el caso de *Escheretchia coli*, la prueba es diciente cuando se trata de adelantar pruebas para contaminaciones recientes, no obstante su baja resistencia en algunos casos podría ser un buen indicador abriendo la factibilidad de albergar cepas enterotoxigenicas, heteroinvasivas, enteropatogenas o enterohemorrágicas.

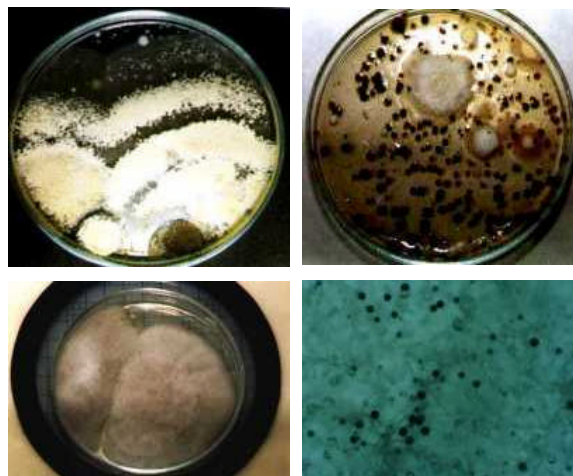


Figura 3. Microfotografías de a partir de cultivos de hongos y levaduras propias de mieles de *Apis mellifera* en mieles tropicales

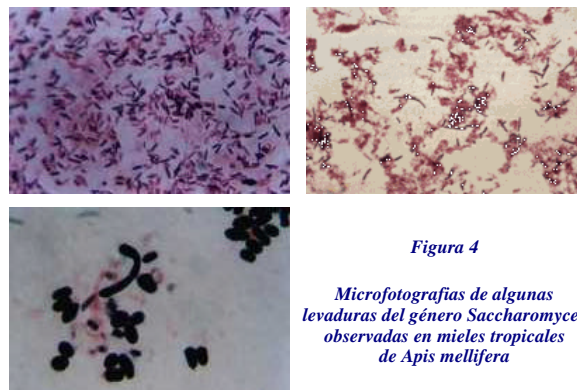


Figura 4
Microfotografías de algunas levaduras del género *Saccharomyces* observadas en mieles tropicales de *Apis mellifera*

En la Norma de Calidad para la miel destinada al mercado en Colombia aun no ha considerado en detalle las características finales de las mieles para consumo y manejo, en España y la Unión Europea sin embargo, se hace referencia a la Norma microbiológica aplicable a mieles, especificándose la

condición máxima de 1.10^4 col g⁻¹ para el recuento de colonias aerobias mesófilas (31± 1°C) y ausencia para Enterobacteriaceae total, específicamente ausencia en 25 g de miel para el caso de Salmonella – Shigella, mientras que en el caso de los mohos un máximo de 1.10^2 UFC g⁻¹.

Grupos de Microorganismos	Microorganismos por gramo de Miel (UFC/g) <i>Resultados analíticos</i> <i>Límite legal</i>
<i>Aerobios mesófilos</i>	1.10^4
<i>Enterobacteriaceae total</i>	<i>Ausencia</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Ausencia</i>
<i>Salmonella – Shigella</i>	<i>Ausencia/25 g</i>
<i>Mohos Levaduras totales</i>	1.10^2

En la obtención de miel se hace necesario que los cuadros seleccionados para la extracción y beneficio estén completamente operculados, de lo contrario los niveles de humedad influyen en las propiedades bacteriológicas de las muestras generando problemas de estabilidad.



Referencias

1. Dustmann J H. (1979) Antibacterial Effect of Honey. *Apiacta* 14, 7-11.
2. Molan P C. (1992) The Antibacterial Activity of Honey. 1. The Nature of the Antibacterial Activity. *Bee World* 73, 5-28.
3. Allen K L, Molan P C, Reid G M. (1991) A Survey of the Antibacterial Activity of Some New Zealand Honeys. *J. Pharm. Pharmacol.* 43, 817-822.
4. Abiss, J.S. y Blood, R. M. The detection of Escherichia coli in Foods, Isolation and identification methods for food poisoning organisms Academic Press 1982.
5. Pascual Anderson, R. Técnicas para el análisis Microbiológico de alimentos y bebidas, Ministerio de salud y Consumo, Instituto Nacional de Sanidad, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición, Servicio de Microbiología, Majadahonda 8 Madrid 1980).
6. Real Decreto 380/1984 del 25 de Enero; B.O.E. 27-2-84.) España.
7. Real Decreto del 5 de Agosto de 1983; (B.O.E. 13-8-83) España.
8. Salamanca, G.G. ; V congreso Colombiano de Fitoquímica, Medellín Agosto de 1997. Universidad de Antioquia- Universidad Nacional

