

**Obtención de polen apícola de los Montes de María de Bolívar mediante fermentación
ácido-láctica**

Jennifer Isabel Guerrero Mier

Directora

Diana Carolina Mantilla Escalante, MSc, PhD

Codirectora

María Clara Alcalá Orozco, PhD

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería

Ingeniería de Alimentos

2024

Dedicatoria

Agradezco a Dios por llenarme siempre de sabiduría y guiarme durante todo este tiempo. A mi padre, mi madre y mis hermanos, que cada día me motivaron a seguir adelante, con sacrificio y amor hicieron posible este logro, a mis queridas tías que me apoyaron siempre con las mejores energías. Mi agradecimiento sincero a la Dra. Diana Mantilla, al Dr. Marcos Masson y al consejero académico Orlando Gómez, quienes me brindaron la oportunidad de crecer profesionalmente y creyeron en mi desde el primer día, fueron mi guía, mi apoyo, siempre me demostraron que deseaban lo mejor para mí, por eso les agradezco tanto.

A todas las personas que hicieron esto posible, les doy las gracias de todo corazón.

Agradecimientos

Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco

José de Caldas-FFJC, en el marco de la Convocatoria No. 935- CT 287-2023 Programa

Orquídeas, Mujeres en la Ciencia: Agentes de Paz.

Resumen

El polen apícola es considerado un superalimento debido a su contenido nutricional, es una rica fuente de nutrientes esenciales, vitaminas, minerales, carbohidratos, lípidos, proteínas y compuestos fenólicos. Sin embargo, su biodisponibilidad es limitada, debido al recubrimiento de una capa exterior altamente resistente a la degradación conocida como exina. En el presente estudio se realizó una fermentación ácido-láctica en el polen cosechado de los Montes de María del departamento de Bolívar, utilizando tres tipos de cultivos bacterianos, *Lactobacillus Plantarum* ATCC 8014 (LP), Choozit TM 82 LYO 50 DCU (CZT) y Yo-mix 885 LYO 50 DCU (YM), se utilizó una metodología experimental con muestras en proporciones 1:1 y 2:1 de agua: polen, basado en experimentos controlados, donde se evaluó el tiempo de la fermentación, el pH, el porcentaje de ácido láctico y la selección de bacterias ácido-lácticas. Se analizó la actividad antioxidante mediante los ensayos de Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox TEAC μM TX (DPPH), Potencial Reductor Férrico (FRAP) y Capacidad Antioxidante Equivalente a Vitamina C (ABTS). Los análisis fisicoquímicos incluyeron la determinación de humedad y sólidos totales por el método termogravimétrico (secado en estufa a 105°C), cenizas y minerales mediante determinación de cenizas, lípidos por el método Soxhlet con éter, proteínas totales y nitrógeno por los métodos Kjeldahl y Winkler, respectivamente, los carbohidratos se determinaron con el método AOAC 986.25 E y la fibra dietética se evaluó tras desengrasado y deshidratación, las calorías se calcularon indirectamente utilizando el Factor de Atwater.

Adicional, se realizó un análisis microbiológico del polen seco sin fermentar, la muestra blanca 1:1 y el polen fermentado 1:1 con LP, los coliformes totales y fecales se analizaron mediante el método BAM Chapter 4, los mesófilos aerobios con ISO 4833-1:2014 y *Staphylococcus coagulasa* positiva con el método ISO 6888-1:2001.

Los resultados mostraron que las muestras 1:1 ajustadas a la escala de McFarland 0.5 produjeron más ácido láctico que las muestras 2:1. Los análisis fisicoquímicos revelaron que la muestra con BM presentó una diferencia significativa en el contenido de proteínas en comparación con las demás muestras. La fermentación aumentó la humedad, disminuyó las cenizas y minerales, las proteínas totales, los lípidos y las calorías. La muestra fermentada con YM demostró una mayor capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) en comparación con las fermentadas con LP y CZT.

Palabras claves: Polen apícola, fermentación ácido láctica, *Lactobacillus Plantarum*, compuestos bioactivos.

Abstract

Bee pollen is considered a superfood due to its nutritional content, being a rich source of essential nutrients, vitamins, minerals, carbohydrates, lipids, proteins, and phenolic compounds. However, its bioavailability is limited due to the coating of a highly resistant outer layer known as exine. In this study, lactic acid fermentation was performed on pollen harvested from the Montes de María in the Bolívar department, using three types of bacterial cultures: *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 (LP), Choozit TM 82 LYO 50 DCU (CZT), and Yo-mix 885 LYO 50 DCU (YM). An experimental methodology was used with samples in 1:1 and 2:1 water to pollen ratios, based on controlled experiments, where fermentation time, pH, lactic acid percentage, and selection of lactic acid bacteria were evaluated. Antioxidant activity was analyzed using Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC $\mu\text{M TX DPPH}$), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), and Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (ABTS) assays. Physicochemical analyses included determining moisture and total solids by the thermogravimetric method (oven drying at 105°C), ash and minerals by ash determination, lipids by the Soxhlet method with ether, total proteins and nitrogen by the Kjeldahl and Winkler methods, respectively, carbohydrates by the AOAC 986.25 E method, and dietary fiber evaluated after defatting and dehydration. Calories were indirectly calculated using the Atwater Factor.

Additionally, a microbiological analysis was performed on dry, unfermented pollen, the 1:1 blank sample, and the 1:1 fermented pollen with LP. Total and fecal coliforms were analyzed using the BAM Chapter 4 method, aerobic mesophiles with ISO 4833-1:2014, and coagulase-positive *Staphylococcus* with the ISO 6888-1:2001 method.

The results showed that the 1:1 sample adjusted to the McFarland 0.5 scale produced more lactic acid than the 2:1 sample. Physicochemical analyses revealed that the BM sample had

a significant difference in protein content compared to the other samples. Fermentation increased moisture, decreased ash and minerals, total proteins, lipids, and calories. The sample fermented with YM demonstrated higher antioxidant capacity (DPPH, ABTS, and FRAP) compared to those fermented with LP and CZT.

Keywords: Bee pollen, lactic acid fermentation, *Lactobacillus Plantarum*, bioactive compounds.

Tabla de Contenido

Dedicatoria.....	2
Agradecimientos	3
Resumen.....	4
Abstract.....	6
Lista de tablas	12
Lista de figuras.....	13
Lista de apéndices	16
Lista de abreviaturas	17
Planteamiento del problema.....	19
Justificación	21
Objetivos.....	23
Objetivo General.....	23
Objetivos Específicos.....	23
Marco teórico	24
Estado del arte.....	24
Fundamentos teóricos	27
Abeja.....	27
Polinización.....	28
Polen	28
Exina	30
Fermentación natural de abeja al polen	32
Fermentación <i>in vitro</i>	32

Composición fisicoquímica del polen.....	33
Compuestos bioactivos del polen.....	36
Flavonoides 36	
Compuestos fenólicos	37
Ubicación geográfica	38
Marco Legal	40
Resolución No. 00008390 – 12-07-2023	40
Ley 2193 del 06-01- 2022.....	40
Resolución No. 000206 de 2022.....	40
Resolución No. 2674 de 2013.....	41
Programa sanitario apícola ICA.....	41
Resolución No. 00019650 de 2022.....	41
Materiales y Metodología	42
Materiales 42	
Metodología Experimental.....	42
Recolección de las muestras	43
Pretratamiento del polen	43
Activación de bacterias ácido-lácticas	43
Preparación del inóculo.....	43
Preparación del sustrato y fermentación.....	44
Análisis fisicoquímicos.....	44
Análisis microbiológicos	44
Análisis de las propiedades funcionales	45

Análisis estadístico.....	45
Estudio técnico económico	45
Resultados y Discusión.....	46
Análisis fisicoquímicos.....	46
Análisis de pH y de ácido láctico.....	56
Análisis de pH y de ácido láctico de las muestras 1:1 y 2:1 de agua: polen con LP ATCC 8014	56
Análisis de pH y ácido láctico de las muestras 1:1 y 2:1 de agua: polen con YM 885 LYO 50	
DCU	60
Análisis de pH y ácido láctico de las muestras 1:1 y 2:1 de agua: polen con CZT TM 82 LYO 50	
DCU	62
Análisis Propiedades funcionales del polen.....	64
Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC $\mu\text{M TX}$) (Ensayo DPPH).....	64
Capacidad Antioxidante Equivalente a Vitamina C (Ensayo ABTS).....	66
Potencial Reductor Férrico (Ensayo FRAP).....	68
Estudio técnico económico	70
Viabilidad Técnica.....	70
Viabilidad Financiera.....	72
Comparación de precios de venta y comercialización del polen fermentado en plataformas de comercio digitales	75
Margen de ganancia	78
Sistemas de costos directo para Bolsas de Polen 100 g con los distintos cultivos lácticos	79
Sistemas de costos directo para Bolsas de Polen 250 g con los distintos cultivos lácticos	85
Conclusiones.....	91

Referencias bibliográficas.....	93
Apéndices.....	106

Lista de Tablas

Tabla 1. <i>Reportes sobre la composición fisicoquímica de polen a nivel mundial</i>	34
Tabla 2. <i>Reportes sobre la composición fisicoquímica del polen de la subregión de los Montes de María del departamento de Bolívar</i>	35
Tabla 3. <i>Puntos clave equipos e insumos</i>	71
Tabla 4. <i>Estimación de precio IVA incluido</i>	77
Tabla 5. <i>Sistema de costo directo para bolsa de polen de 100 g fermentado con (YM)</i>	79
Tabla 6. <i>Sistema de costo directo para bolsa de polen de 100 g fermentado con (CZT)</i>	81
Tabla 7. <i>Sistema de costo directo para bolsa de polen de 100 g fermentado con (LP)</i>	83
Tabla 8. <i>Sistema de costo directo para bolsa de polen de 250 g fermentado con (YM)</i>	85
Tabla 9. <i>Sistema de costo directo para bolsa de polen de 250 g fermentado con (CZT)</i>	87
Tabla 10. <i>Sistema de costo directo para bolsa de polen de 250 g fermentado con (LP)</i>	89

Lista de Figuras

Figura 1. <i>Estructura del polen vista polar ligeramente oblicua</i>	30
Figura 2. <i>Estructura de la exina</i>	31
Figura 3. <i>Ubicación geográfica del Carmen de Bolívar</i>	39
Figura 4. <i>Humedad</i>	46
Figura 5. <i>Carbohidratos totales</i>	48
Figura 6. <i>Cenizas y minerales</i>	49
Figura 7. <i>Calorías totales</i>	50
Figura 8. <i>Proteína total</i>	51
Figura 9. <i>Lípidos totales</i>	53
Figura 10. <i>Sólidos totales</i>	54
Figura 11. <i>Peso obtenido (g) Vs horas de secado</i>	56
Figura 12. <i>pH (LP) proporción 1:1</i>	57
Figura 13. <i>Ácido Láctico Vs Tiempo (LP) proporción 1:1</i>	57
Figura 14. <i>pH (LP) proporción 2:1</i>	58
Figura 15. <i>Ácido Láctico Vs Tiempo (LP) proporción 2:1</i>	58
Figura 16. <i>pH (YM) proporción 1:1 & 2:1</i>	60
Figura 17. <i>Ácido láctico (YM) proporción 1:1 & 2:1</i>	60
Figura 18. <i>pH (CZT) proporción 1:1 & 2:1</i>	62
Figura 19. <i>Ácido láctico (CZT) proporción 1:1 & 2:1</i>	62

Figura 20. <i>Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC μM TX)</i>	64
Figura 21. <i>Capacidad Antioxidante Equivalente a Vitamina C</i>	66
Figura 22. <i>Potencial Reductor Férrico</i>	68
Figura 23. <i>Valor cotizado reactivos</i>	72
Figura 24. <i>Valor cotizado materiales</i>	73
Figura 25. <i>Presupuesto Operacional</i>	73
Figura 26. <i>Comparación de precios de venta y comercialización del polen fermentado en el mercado actual</i>	75
Figura 27. <i>Precio de venta asociado a 100 g</i>	76
Figura 28. <i>Margen de ganancia al 20%, 30% y 40%</i>	78
Figura 29. <i>Sistemas de costos directo para bolsas de polen 100 g fermentado con (YM) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%</i>	80
Figura 30. <i>Sistemas de costos directo para bolsas de polen de 100 g fermentado con (CZT) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%</i>	82
Figura 31. <i>Sistemas de costos directo para bolsas de polen de 100 g fermentado con (LP) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%</i>	84
Figura 32. <i>Sistemas de costos directo para bolsas de polen 250 g fermentado con (YM) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%</i>	86
Figura 33. <i>Sistemas de costos directo para bolsas de polen 250 g fermentado con (CZT) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%</i>	88

Figura 34. *Sistemas de costos directo para bolsas de polen de 250 g fermentado con (LP) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%..... 90*

Lista de apéndices

Apéndices A. <i>Recolección de las muestras</i>	106
Apéndices B. <i>Pretratamiento del polen</i>	107
Apéndices C. <i>Activación de bacterias acido-lácticas</i>	108
Apéndices D. <i>Preparación del inóculo</i>	109
Apéndices E. <i>Preparación del sustrato y fermentación</i>	110
Apéndices F. <i>Polen seco sin fermentar</i>	111
Apéndices G. <i>Análisis microbiológicos de muestra blanco: polen sin inóculo 1:1</i>	112
Apéndices H. <i>Análisis microbiológicos de polen fermentado inóculo 1:1 (Lactobacillus plantarum)</i>	113

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Descripción
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico).
ANSA	Abejas nativas sin agujón.
AOAC	Association of Official Analytical Chemists- Asociación de Químicos Analíticos Oficiales.
ATCC	American Type Culture Collection- Colección de cultivos tipográficos americanos.
ATP	Adenosín Trifosfato.
B	Beneficio neto total.
BAM	Binary aligned mapped-Alineación binaria mapeada.
CF	Costos fijos.
CT	Contrato.
CV	Total, de Costos Variables.
CVU	Costo variable unitario.
CZT	Choozit.
DCU	Dosis Cultivo Unitario.
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo.
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
Fe	Hierro.
FFJC	Fondo Nacional Francisco José de Caldas.
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power- Poder antioxidante reductor férrico.
g	Gramos.
h	Horas.
IJ 1-1	Polen: agua inóculo ajustado
IJ 2-1	Polen: agua inóculo ajustado.
ISO	International Organization for Standardization- Organización Internacional de Normalización.
Kg	Kilo gramo.
LAB	Lactic acid bacteria - Bacterias ácido lácticas
LYO	Liofilizado.
M	Margen de beneficio bruto.
MB	Muestra blanca.
mg	Miligramos.
Min	Minutos.
MU	Margen de beneficio unitario.
MRS	Man, Rogosa y Sharpe.
NADH	Nicotamida Adenina Dinulético.
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible.
P	Precio de venta unitario.

PDET	Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial.
Pg	Precio por gramos.
pH	Potencial de hidrogeno.
PF	Polen sin fermentar.
PL	<i>Lactobacillus Plantarum</i> .
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido.
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity-Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox.
TM	Cepas termófilas para acidificación rápida.
TX	Trolox.
U	Unidades producidas.
μM	Micromoles.
V	Ventas.
YM	Yomix.

Planteamiento del problema

La ingesta de polen apícola como alimento aporta diversos beneficios a la salud, además, fomenta la agricultura sostenible y promueve la conservación de la biodiversidad, Sifuentes, (2018).

El polen apícola puede suministrar una variedad de nutrientes para el crecimiento y el desarrollo, como proteínas, lípidos, carbohidratos, minerales, vitaminas y compuestos fenólicos, Tsuruda et al., (2021). Estas sustancias le otorgan al polen una serie de propiedades como la capacidad antioxidante, antibacteriana, antiinflamatoria y el fortalecimiento del sistema inmunológico, Abdelnour et al., (2019).

Lo anterior, hace que el polen apícola sea reconocido por su alto contenido nutricional y propiedades funcionales, sin embargo, su digestibilidad es limitada y sus compuestos no son completamente absorbidos por el organismo. Esto se debe al recubrimiento del polen por una capa exterior conocida como exina, Benavides et al., (2017), la cual está compuesta principalmente por esporopolenina, un polímero orgánico resistente a los procesos de absorción del metabolismo humano, Roulston & Cane, (2000).

En los últimos años, se ha investigado los procesos de transformación en la estructura de la exina, con el propósito de mejorar la absorción de los compuestos presentes en el polen. Estos procedimientos se pueden realizar a través de tratamientos físicos o biotecnológicos como la fermentación bacteriana, Yan et al., (2019).

Los procesos realizados mediante fermentación por bacterias ácido-lácticas en el polen han demostrado numerosos beneficios para el organismo, por ejemplo, la mejora en la digestión, el fortalecimiento del sistema inmune y mitigación de los riesgos asociados a enfermedades crónicas, Mora Adames, (2017).

La fermentación del polen ofrece la posibilidad de mejorar la digestibilidad y biodisponibilidad de los nutrientes presentes en este, Fuenmayor et al., (2011), además, los compuestos fenólicos y antioxidantes presentes pueden aumentar durante la fermentación, lo que podría potencializar las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de los productos finales, López et al., (2023).

En Colombia, los estudios de fermentación ácido-láctica en polen apícola han sido realizados en zonas de la región Andina, Valencia et al., (2024), no obstante, la información que se obtiene de en zonas costeras o de bosque seco tropical es limitada.

Por otro lado, la región de los Montes de María, ubicada en la región Caribe colombiana, posee características geográficas para la producción de los productos de la colmena, Sindey Mojica et al., (2023), sin embargo, los apicultores realizan las ventas de forma ilegal y a precios que generan pérdidas en el sector apícola de la región, Palacio et al., (2010), generando la necesidad de desarrollar productos con valor agregado y que cumplan los estándares de calidad exigidos por las entidades competentes. Por tanto, el propósito de este estudio es obtener polen apícola fermentado de la subregión de los Montes de María del departamento de Bolívar en Colombia, con propiedades funcionales utilizando bacterias ácido-lácticas, que ayuden a generar un producto con valor agregado y con alta competitividad en el mercado.

Justificación

El presente proyecto de grado surge de la necesidad de desarrollar un producto alimenticio con valor agregado mediante la fermentación del polen, con el objetivo de aprovechar al máximo los compuestos bioactivos y las propiedades nutricionales del polen apícola proveniente de la subregión de los Montes de María en el departamento de Bolívar, Colombia. A través de la fermentación *in vitro* con cultivos probióticos específicos, como *Lactobacillus Plantarum* ATCC 8014 y los mix de bacterias comerciales Choozit TM 82 LYO 50 DCU, que contiene *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* y *Lactobacillus bulgaricus*, y Yo-Mix 885 LYO 50 DCU que contiene *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp.*, se busca mejorar las propiedades funcionales del polen, eliminando la exina y facilitando la absorción de sus nutrientes por parte del organismo. Este proceso biotecnológico ayudará en el diseño de productos a base de polen fermentado para su comercialización en el mercado actual. Asimismo, este proyecto promueve el desarrollo sostenible del medio ambiente al resaltar la importancia del polen apícola en el equilibrio ambiental y la biodiversidad, contribuyendo a la reproducción y permanencia de plantas silvestres y cultivadas. Además de los beneficios biotecnológicos y nutricionales mencionados, este proyecto también se alinea con varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 de las Naciones Unidas, en particular, contribuye al ODS 2, Hambre Cero, al desarrollar un producto alimenticio innovador que mejora la seguridad alimentaria y promueve una nutrición saludable, también, apoya el ODS 12, Producción y Consumo Responsables, dado que se fomentan prácticas sostenibles en la apicultura y la producción de alimentos.

Al fortalecer la apicultura local y proteger la biodiversidad, este proyecto impacta positivamente el ODS 15, Vida de Ecosistemas Terrestres, por tanto, se genera un valor agregado significativo en términos de sostenibilidad y responsabilidad social.

Objetivos

Objetivo General

Obtener polen apícola fermentado con propiedades funcionales, empleando bacterias ácido lácticas, que genere mayor valor agregado al producto final.

Objetivos Específicos

Identificar cepas de bacterias ácido-lácticas, que sean compatibles con el proceso de fermentación del polen apícola y que tengan el potencial de mejorar sus propiedades funcionales a partir de revisión bibliográfica.

Evaluar la viabilidad económica de la producción a gran escala del polen apícola fermentado efectuando un análisis de costo-beneficio.

Marco teórico

A lo largo de este marco teórico, se abordan temas fundamentales que incluyen los fundamentos teóricos relacionados con las abejas y su papel esencial en la polinización, así como el estudio detallado del polen y su estructura, con énfasis en la exina, se analiza el proceso de la fermentación natural del polen por las abejas y la fermentación *in vitro*, y se presenta un análisis de la composición fisicoquímica del polen a nivel mundial en comparación con el polen cosechado en la subregión de los Montes de María, en el departamento de Bolívar. También se profundiza en el estudio de los compuestos bioactivos presentes en el polen, detallando cuáles son estos compuestos y qué función cumplen.

Estado del arte

Se han realizado diversas investigaciones sobre la fermentación ácido-láctica en el polen apícola, esto ha generado un interés de potencializar sus propiedades nutricionales y funcionales. Este proceso biotecnológico ha sido utilizado debido a que mejora el perfil nutricional del polen, convierte los azúcares en ácido láctico y aumenta la digestibilidad y biodisponibilidad de sus nutrientes esenciales, Benavides et al., (2020). Asimismo, para fermentar el polen y remover la exina, se han explorados diversos métodos que incluyen, distintas proporciones de muestra, diferentes microorganismos como, cultivos lácticos, hongos, levaduras, enzimas, Portillo, (2016) y variedad de polen apícola y corbicular, en ensayos *in vitro* e *in vivo*, Đorđević et al., (2022). A continuación, se presentarán investigaciones relacionadas con la fermentación ácido-láctica en el polen apícola, analizando el potencial para mejorar sus propiedades funcionales y resaltando los beneficios y avances obtenidos en el campo de la alimentación funcional y la salud.

Kaškonienė et al., (2020), analizó los efectos de la fermentación láctica en el polen de abeja polifloral, encontró que la fermentación del polen de abeja con *Lactobacillus rhamnosus* y

Lactococcus lactis, aumentó la actividad antioxidante y antimicrobiana en comparación con el polen no fermentado, además, se observó un incremento en el contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides tras la fermentación. Además, demostró que la fermentación del polen de abeja ya sea espontánea o con bacterias específicas, generan mejoras significativas en las propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Estos efectos fueron atribuidos tanto a la actividad de la microflora natural como a las bacterias probióticas añadidas durante el proceso de fermentación.

Fuenmayor et al., (2011), examinó la viabilidad de mejorar la biodisponibilidad del polen recolectado por abejas mediante fermentación en fase sólida con bacterias ácido-lácticas probióticas. Tras un tratamiento térmico de 121 °C/15 min, que redujo la carga microbiana sin afectar las propiedades antioxidantes. Los resultados obtenidos mostraron que *Lactobacillus Acidophilus* tiene mejor capacidad de acidificación (0,16 g ácido láctico/kg*h. En este mismo estudio, fue realizada una Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) que reveló cambios significativos en la microestructura externa de los granos de polen post fermentación, enseñando mejor accesibilidad de nutrientes.

Zuluaga & Quicazan, (2019), investigaron el efecto de la fermentación sobre las características estructurales y los compuestos bioactivos de los alimentos a base de polen de abeja, empleando *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus Plantarum* y un cultivo comercial Choozit®. Se utilizaron técnicas con SEM y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), para evaluar los cambios estructurales en el polen de abeja del altiplano cundiboyacense. Se encontró que la levadura y las bacterias incrementaron los fenólicos totales 31% y la actividad antioxidante un 39% y la DSC reveló mayor flujo de calor en productos fermentados que en polen fresco, indicando modificaciones estructurales confirmadas por SEM.

Uțoiu et al., (2018), con su investigación buscaba mejorar los beneficios para la salud del polen mediante su fermentación con un consorcio de Kombucha/SCOBY, para esto fermentó polen en té verde con vinagre de Kombucha, se analizó la formación de compuestos bioactivos, la dinámica de bacterias ácido-lácticas (LAB), la evolución de ácidos orgánicos y azúcares solubles. Los resultados mostraron que la fermentación incrementa los compuestos bioactivos polifenoles, silicio soluble, SCFA y la proporción de LAB, además de revelar la liberación del contenido del polen y un efecto antitumoral moderado en células Caco-2, afirma que la fermentación con Kombucha mejora la biodisponibilidad y los efectos saludables del polen.

Fundamentos teóricos

Abeja

Las abejas son insectos himenópteros que construyen panales en cavidades o al aire libre, Vit, (2004). Asimismo, las abejas desempeñan un papel fundamental como polinizadores de numerosas plantas tanto silvestres como cultivadas, Mayer & Kessler, (2021), su labor es esencial para mantener el equilibrio en los ecosistemas, favorecer la producción de alimentos, además, actúan como indicadores de posibles riesgos ambientales emergentes, Minambiente, (2020).

En la apicultura las abejas desempeñan un papel crucial, siendo responsables de la producción de diversos productos como miel, jalea real, propóleo, cera y polen, Cruz et al., (2018). La especie utilizada en la apicultura comercial es la abeja *Apis mellifera* o abeja doméstica, López, (2020), que construye panales para la cría, almacenamiento de miel y polen Vit, (2004).

Por otra parte, las abejas tienen una gran importancia ambiental como los principales polinizadores del planeta, Organización de las Naciones Unidas, (2022), al transportar el polen de flor en flor, las abejas facilitan la fecundación de las plantas y contribuyen significativamente a la reproducción de muchas especies, Balvanera et al., (2022); esta función de polinización es esencial para la producción de alimentos y para mantener la biodiversidad.

Polinización

La polinización implica mover los granos de polen de la parte masculina de una flor llamada antera a la parte femenina estigma de otra flor, ya sea de la misma planta o de otra, el cigoto resultante contiene la combinación genética de ambos progenitores, que se utilizará para desarrollar semillas, frutas y así reproducir una nueva generación de plantas, Balvanera et al., (2022).

En el proceso de la polinización destacan tres tipos, la polinización entomofilia, es el tipo más común de polinización en plantas con flores, insectos como abejas, mariposas, moscas y escarabajos visitan las flores en busca de néctar y polen, transportando involuntariamente el polen de una flor a otra, Urra, (2015), la polinización anemofilia, la cual ocurre en plantas adaptadas para liberar grandes cantidades de polen ligero y pequeño que puede ser transportado por el viento, Bentabol et al., (2021), y la polinización hidrofilia, es la menos común y se da en plantas acuáticas, en el cual el polen flota en la superficie del agua y es transportado hasta el estigma de otra flor, Nel et al., (2024).

Polen

El polen de abeja está constituido por una variedad de gránulos de diversos tonos y es recolectado por las abejas, Guayubar & Guayubar,(2019). En este proceso se producen diferentes tipos de polen. El polen corbicular, es aquel que es recolectado directamente de las flores y transportado en las escopas de las abejas hacia la colmena, Casas, (2016). Una vez almacenado en la colmena, este polen se convierte en polen apícola, esencial tanto para alimentar a las larvas como para nutrir a las abejas adultas, Manzano, (2019). Mediante la adición de néctar y saliva, el polen almacenado se transforma en pan de abejas, conocido también como *bee bread*, un

producto fermentado que combina polen con enzimas producidas por las abejas para mejorar su digestibilidad y valor nutricional, Manzano, (2019).

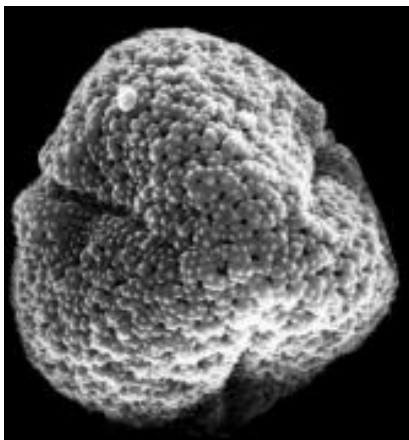
El polen es una rica fuente de proteínas, vitaminas, minerales, lípidos y antioxidantes, lo que lo convierte en un suplemento dietético potencialmente beneficioso para los seres humanos, Taylor et al., (2017). Entre los nutrientes que se encuentran en el polen se incluyen aminoácidos esenciales, vitaminas del complejo B, vitamina C, vitamina E, carotenoides, flavonoides y minerales como el calcio, el magnesio, el potasio y el hierro, Alonso & Gil, (2023). Estas sustancias le otorgan al polen una serie de propiedades como la capacidad antioxidante, antibacteriana, antiinflamatoria y el fortalecimiento del sistema inmunológico, Abdelnour et al., (2019).

Es importante destacar que el color del polen está determinado por la planta de la que proviene, ya que contiene pigmentos naturales como flavonoides, carotenoides y antocianinas, los cuales son compuestos liposolubles sintetizados de manera natural por las plantas, Quiñones et al., (2024).

El polen está estructurado principalmente por exina, la cual es una capa externa del grano de polen; la intina, compuesta por capa interna que contiene el poro principal; la esporodermis, que actúa como pared protectora y aislante para la intina; el tectum, es la capa de la pared externa; la cabeza del pilo, otra capa externa que se encuentra sobre la intina; y la columéla, una región que soporta tanto el tectum como la cabeza del pilo, Gonzales, (2016).

Figura 1.

Estructura del polen vista polar ligeramente oblicua



Nota. El gráfico representa la estructura del polen en vista polar ligeramente oblicua, resaltando su forma, disposición, y simetría. Tomado de *Pollen morphology, exine structure and systematics of Acalyphoideae* (p.22), por Takahashi et al., 2002, Review of Palaeobotany and Palynology.

Exina

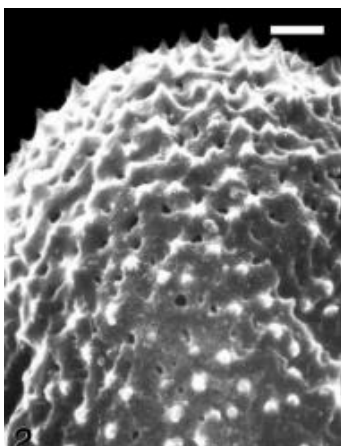
La exina es una capa exterior que posee el polen Benavides et al., (2020), está constituida por una variedad de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos, y tiene una estructura altamente organizada y regular, que puede variar en patrones ornamentales o esculpidos, Kovacik et al., (2009); estos patrones pueden ser específicos de cada especie de planta y son útiles en la taxonomía del polen, además, la exina desempeña un rol crucial en el grano del polen, por ejemplo, salvaguarda el gametofito durante su trayecto desde la antera hasta el estigma de la flor, evitando daños físicos y desecación, De Las et al., (2010), también, actúa como depósito para las proteínas involucradas en las reacciones de autoincompatibilidad en ciertas plantas con granos de polen, Domínguez & Heredia, (1998).

De esta forma, la exina está compuesta principalmente por esporopolenina, un polímero orgánico resistente, Roulston & Cane, (2000), y está compuesta principalmente por carbono,

hidrógeno y oxígeno, y su fórmula típica es $C_{90}H_{144}O_{27}$. Asimismo, la esporopolenina es un copolímero lipídico derivado de ácidos p-hidroxicinámicos específicamente ácidos ferúlico y p-cumárico y ácidos grasos, los cuales están entrelazados mediante éteres y ésteres, Barrier et al., (2010). La esporopolenina, al ser extremadamente resistente, permite que los granos de polen sobrevivan durante largos períodos de tiempo en sedimentos y fósiles, lo que es crucial para estudios paleontológicos y paleoclimáticos, Flores et al., (2019).

Figura 2.

Estructura de la exina



Nota. El gráfico representa la estructura de la exina, resaltando su composición y diseño en la superficie del polen. Tomado de *Pollen morphology, exine structure and systematics of Acalyphoideae* (p.22), por Takahashi et al., 2002, Review of Palaeobotany and Palynology.

Fermentación natural de abeja al polen

La fermentación se refiere al proceso en el cual los microorganismos se propagan y generan productos en condiciones tanto aeróbicas como anaeróbicas, Mora Adames, (2017). Es decir, es un proceso biológico que convierte azúcares en energía celular y ácido láctico. Durante esta etapa inicial de la fermentación del ácido láctico, la glucosa se oxida para producir ácido pirúvico, generando la energía necesaria para la formación de Adenosín Trifosfato (ATP), luego, el ácido pirúvico se reduce a ácido láctico gracias a Dinulético (NADH), Guevara, (2016).

Lo mismo sucede en la fermentación natural que realiza la abeja al polen. Esta ocurre tras la ingestión y digestión del polen en su estómago y posteriormente en el intestino, Braille, (2022), las bacterias *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* metabolizan los azúcares del polen, produciendo ácidos orgánicos como ácido láctico y ácido acético.

Este proceso no solo conserva el polen en forma de pan de abeja, sino que también mejora su valor nutricional al liberar nutrientes esenciales para las larvas, facilitando así su digestión y asimilación en la colmena, de Pierre Jean-Prost, (2018).

Fermentación *in vitro*

La fermentación *in vitro* se refiere a un proceso de fermentación que ocurre fuera del organismo vivo, típicamente en un entorno controlado de laboratorio (Real Academia Española, 2011). Este proceso implica la utilización de cultivos microbianos como bacterias, levaduras u otros microorganismos, para producir productos específicos mediante la fermentación de sustratos adecuados, como carbohidratos, Dalmau, (2024).

En el contexto de la investigación científica y la biotecnología, la fermentación *in vitro* se utiliza para estudiar y optimizar condiciones de fermentación, así como para producir productos

de interés comercial o científico, por ejemplo, se pueden desarrollar técnicas de fermentación *in vitro* para la producción de alimentos funcionales, productos farmacéuticos, enzimas industriales, ácidos orgánicos, entre otros, Ostos et al., (2018).

El proceso *in vitro* permite un control preciso sobre las condiciones de fermentación, como la temperatura, pH, nutrientes disponibles y la composición del medio, lo que puede mejorar la eficiencia y el rendimiento del proceso de fermentación en comparación con las condiciones naturales o *in vitro*, Tejada et al., (2022).

Composición fisicoquímica del polen

El polen es una rica fuente de nutriente, como proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas, fenoles, flavonoides y diversas sustancias bioactivas, en investigaciones recientes se ha cuantificado estos nutrientes. Zuluaga, C (2015), en su estudio estable una comparación fisicoquímica de polen en diferentes partes del mundo obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 1.*Reportes sobre la composición fisicoquímica de polen a nivel mundial*

Reportes sobre la composición fisicoquímica de polen a nivel mundial								
Origen Geográfico	Origen Botánico	Humedad (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	Fibra cruda (%)	Digestibilidad (%)	Referencia
Colombia	Multifloral	7.7±5.2	23.8 ± 3.2	6.g ± 3.5	2.5 ±0.4	-	-	(Fuenmayor <i>et al.</i> ,2014)
Brasil	Multifloral	7.4 ±0.7	21.0±4.0	7.0 ± 2.0	2.4 ±0.8	-	-	(Almeida-Muradian <i>et al.</i> , 2005)
Serbia	N.E.	-	24.0 ± 0.1	4.7 ± 0.3	2.8 ± 0.1	-	-	(Andelkovic <i>et al.</i> , 2012)
Bulgaria	N.E.	13.8 ±1.1	19.8±9.0	7.2 ± 0.5	1.8 ± 0.1	-	-	(Balkanska and Ignatova, 2012)
Arabia Saudi	Oiva	28.5±3.2	40.0 ± 4.2	30.6 ± 2.5	6.5 ± 1.0	2.5±0.1	-	(Basuny <i>et al.</i> , 2013)
Australia	Eucalyptus marginata	3.2±0.2	20.6 ± 1.1	0.8 ± 0.2	2.2 ±0.1	15.6 ±5.1	52.0 ± 9.0	(Bell <i>et al.</i> , 1983)
Brasil	N.E.	4.2 ± 1.7	20.5 ± 2.6	4.9 ± 0.7	2.9±0.5	3.4 ±0.6	-	(Carpes <i>et al.</i> , 2009)
Brasil	N.E.	3.5 ± 0.3	23.4 ± 1.2	5.4 ±0.6	3.0 ± 0.2	-	-	(de Arruda <i>et al.</i> , 2013)
Portugal	Multifloral	-	21.8 ± 2.2	5.2 ±:0.6	2.9 ±0.7	-	-	(Feás <i>et al.</i> , 2012)
Italia	Castanea	10.8 ±1.3	26.6 ± 0.3	2.1 ±0.1	2.6±0.2	-	-	(Gabriele <i>et al.</i> , 2015)
Sudáfrica	Aloe greatheadii var. davvana	18.8 ±3.3	31.4 ± 1.0	5.5 ±: 1.0	3.6 ±0.2	-	-	(Human and Nicolson, 2006)
Brasil	Multifloral	16.6 ± 0.0	19.8 ± 0.0	3.4 ± 0.0	2.0 ± 0.1	-	-	(Sattler <i>et al.</i> , 2015)

Nota. Esta tabla muestra composición fisicoquímica del polen apícola en diferentes partes del mundo.

En este estudio se obtuvo la composición química del polen cosechado de la subregión de los

Montes de María del departamento de Bolívar.

Tabla 2.

Reportes sobre la composición fisicoquímica del polen de la subregión de los Montes de María del departamento de Bolívar

Origen Geográfico	Origen Botánico	Humedad (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	Fibra cruda (%)	Digestibilidad (%)
Colombia subregión de los Montes de María del departamento de Bolívar	Multifloral	11.8 ± 2.26	29 ± 0.1	6.6 ± 4.53	5.6 ± 2.75	-	-

Nota. Esta tabla muestra composición fisicoquímica del polen apícola de la subregión de los Montes de María del departamento de Bolívar.

También, se han realizado diferentes caracterizaciones de polen en regiones poco conocidas en mundo, por ejemplo, Miel Sabinares Arlanza, ubicada en España, ellos realizaron análisis para conocer la composición fisicoquímica del polen, el análisis mostró que este polen contiene aproximadamente un 15% de agua en su estado original, un 20% de materias albuminoides, un destacado 40% de ácidos aminados y un 30% de glúcidos. Además, incluye vitaminas, rutina beneficiosa para el crecimiento, oligoelementos naturales y una variedad de aminoácidos esenciales, como el ácido aspártico (12.57%), ácido glutámico (12.18%), leucina (9.06%), lisina (7.70%) y otros componentes vitales para la salud, Sabinares, (2021).

Compuestos bioactivos del polen

Los compuestos bioactivos son elementos químicos presentes en cantidades reducidas en plantas y ciertos alimentos, Hidalgo, (2024). El polen de abeja contiene una variedad de sustancias bioactivas, como fitoquímicos y antioxidantes, que pueden poseer propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y contribuir a mejorar la salud, Serrano et al., (2024).

El polen de abeja contiene varios tipos de sustancias bioactivas, como flavonoides, fenólicos, ácidos grasos omega-3 y vitaminas, como la vitamina C y la vitamina E, Ares et al., (2018), estas sustancias tienen propiedades antioxidantes, que ayudan a neutralizar los radicales libres y protegen las células del daño oxidativo, Pascoal et al., (2014). Además, algunos estudios sugieren que el polen de abeja puede tener propiedades antiinflamatorias, ayudando a reducir la inflamación en el cuerpo y promoviendo así la salud general y el bienestar.

Los principales compuestos bioactivos en el polen son:

Flavonoides

Son un grupo diverso de compuestos polifenólicos que tienen diversas funciones en las plantas, como protección contra el estrés ambiental, defensa contra patógenos y atracción de polinizadores, Ponce de León & Ibarra, (2022). En términos de beneficios para la salud humana, los flavonoides actúan como antioxidantes potentes, ayudando a neutralizar los radicales libres en el cuerpo y protegiendo las células contra el daño oxidativo, Van Acker et al., (1996). Los flavonoides también se han asociado con efectos antiinflamatorios y pueden tener beneficios para la salud cardiovascular, entre otros, Merino, (2013).

Compuestos fenólicos

Son compuestos químicos que incluyen diversas subclases, como ácidos fenólicos (por ejemplo, ácido cafeico y ácido gálico) y flavonoides mencionados anteriormente, Duran & Padilla, (1993). Los compuestos fenólicos también actúan como antioxidantes, ayudando a combatir el estrés oxidativo y protegiendo las células del daño causado por los radicales libres, Nardini, (2022). Además de sus propiedades antioxidantes, algunos compuestos fenólicos pueden tener efectos antiinflamatorios, antimicrobianos y otros beneficios para la salud, Martín, (2018).

Ahora bien, los fenoles son compuestos que se generan en las plantas y constituyen uno de los principales tipos de metabolitos secundarios vegetales, Martín, (2018), estos compuestos se sintetizan internamente en las plantas y están regulados genéticamente en términos de calidad y cantidad, aunque pueden ser afectados por factores ambientales, Lozano, (2018). Además, actúan como fitoalexinas y desempeñan un papel crucial en la coloración de varias partes de la planta.

Ubicación Geográfica

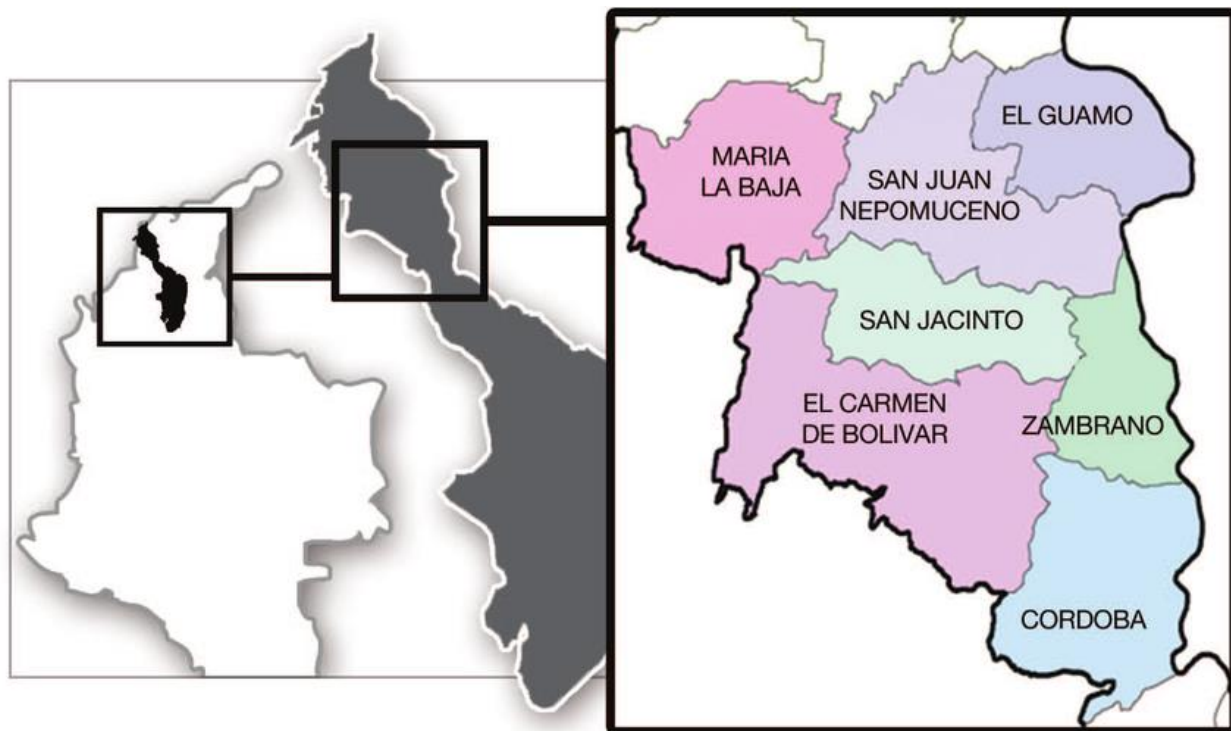
Carmen de Bolívar

El Carmen de Bolívar es un municipio estratégicamente ubicado en el departamento de Bolívar, Colombia, en los Montes de María. Es el centro económico y comercial más importante de la subregión, siendo el tercer municipio más poblado del departamento. Produce una variedad de productos agrícolas como como ñame, yuca, plátano, maíz, café, aguacate, mango, cacao, también es un buen territorio para la apicultura y producción de miel y polen Bonilla et al., (2024).

El municipio forma parte de los Territorios PDET (Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial), lo que enfatiza su importancia en los planes de desarrollo regional. Su ubicación geográfica estratégica lo convierte en un punto clave para la infraestructura de transporte, siendo propicio para la construcción de un puerto seco, Martínez et al., (2023), se localiza a 144 km de la capital Cartagena de Indias, Sindei Mojica et al., (2023)

Figura 3.

Ubicación geográfica del Carmen de Bolívar



Nota. El gráfico representa el área de estudio de donde se recolecta el polen apícola utilizado en esta investigación. Tomado de *potencialidad de la capacidad agrícola de la zona de desarrollo económico y social – Zodes Montes de María del departamento de Bolívar Colombia*, (p.17), por Maza et al., 2012, ResearchGate.

Marco Legal

En el marco legal del sector apícola en Colombia, se abordan varios aspectos esenciales que buscan regular y fomentar la apicultura en el país, se destacan resoluciones como la No. 00008390 de 2023, la Ley 2193 de 2022, la Resolución No. 000206 de 2022, y la Resolución No. 2674 de 2013. Además, el Programa Sanitario Apícola del ICA juega un papel crucial en la protección de la salud de las abejas y la calidad de los productos, mientras que la Resolución No. 00019650 de 2022 regula el registro de predios y apicultores dedicados a la cría de abejas *Apis mellifera* y abejas nativas sin aguijón. A continuación, se resaltan los aspectos clave que regula cada una de estas normativas.

Resolución No. 00008390 – 12-07-2023

Por la cual se establecen los requisitos y el procedimiento para obtener la certificación en Buenas Prácticas Apícolas (BPAP) en los predios dedicados a la producción de la especie *Apis Mellifera*.

Ley 2193 del 06-01- 2022

La cual tiene por objetivo incentivar, fomentar y proteger la apicultura y sus actividades complementarias en Colombia, donde se enfatiza el fortalecimiento de la calidad y comercialización de productos y servicios de las abejas, creación de un sistema nacional de la información apícola y asignación de recursos para desarrollo de la apicultura.

Resolución No. 000206 de 2022

Por la cual se adopta el Manual de Condiciones de Bienestar Animal en la cría de abejas *Apis Mellifera* en el sector agropecuario, donde se establecen principios de bienestar animal para

las abejas, establece prácticas de manejo para las colonias de abejas, fija lineamientos para la cosecha de productos apícolas.

Resolución No. 2674 de 2013

Establece las normas para certificar que los alimentos en Colombia se elaboren de forma segura, con inocuidad y de buena calidad, se orienta en garantizar la higiene, el control de calidad y la seguridad durante la producción, almacenamiento y distribución de alimentos.

Programa sanitario apícola ICA

El Programa Sanitario Apícola del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), protege a las abejas y garantiza la calidad de los productos apícolas en Colombia. Se enfoca en prevenir y controlar enfermedades como la Loque americana, Loque europea, Tropilaelaps, Acarapiosis, Varroasis y el Pequeño Escarabajo de las Colmenas. Estas enfermedades pueden afectar gravemente la salud de las abejas y la producción apícola. Los apicultores deben notificar al ICA sobre la presencia de enfermedades en sus colmenas y cumplir con las regulaciones establecidas para proteger la sanidad de las abejas y la calidad de los productos apícolas, Villanueva & Instituto Colombiano Agropecuario, (2022).

Resolución No. 00019650 de 2022

La cual establece los requisitos para registrar ante el ICA, los predios dedicados a las actividades con la especie *Apis mellifera* y/o abejas nativas sin aguijón- ANSA. Así como el registro de Apicultores y/o criadores de abejas nativas sin aguijón en el territorio nacional, Instituto Colombiano Agropecuario, (2023).

Materiales y Metodología

En esta sección de materiales y metodología, se detalla el proceso experimental para la fermentación *in vitro* del polen apícola recolectado en los Montes de María, Bolívar. Se explican los materiales utilizados, incluidos los cultivos lácticos y los equipos empleados, así como el procedimiento aplicado en cada etapa del experimento, desde la recolección, pretratamiento, activación bacteriana, preparación del inóculo y fermentación del polen. Además, se describen los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y de propiedades funcionales realizados, junto con el análisis estadístico y el estudio técnico-económico que evalúa la viabilidad y los precios de comercialización del polen fermentado.

Materiales

Para la fermentación *in vitro* del polen apícola, se utilizó polen cosechado en los Montes de María, Bolívar, para la fermentación bacteriana, se emplearon tres cultivos lácticos, *Lactobacillus Plantarum* marca *Kwik Stik*, *Choozit* y *Yo-Mix*, adquiridos de Danisco Colombia LTDA. Además, se utilizaron tres equipos específicos durante la investigación, el Horno Memmert INB 400 (modelo Singledisplay de la marca Memmert), la Mini Incubadora para BOD TE-381/1 de Tecnal y el Autoclave eléctrico All American 75x de 40 litros marca Inmeza.

Metodología Experimental

Este proyecto se realizó bajo la línea de investigación de ingeniería en procesos de alimentos y biomateriales, enfocado en los ejes temáticos de desarrollo agroindustrial y procesos biotecnológicos. Para esto se llevaron a cabo experimentos controlados en las proporciones 1:1 y 2:1 de agua: polen por duplicado, basada en el método de Domínguez, C. (2016). En estos experimentos se analizaron las variables de tiempo de la fermentación, la producción de ácido

láctico y la selección de bacterias ácido-lácticas *L. Plantarum*, Choozit y Yo- Mix, con el propósito de evaluar las propiedades funcionales del polen de abeja antes y después de la fermentación. Zuluaga, (2016).

La metodología se desarrolló de la siguiente manera:

Recolección de las muestras

Para todos los ensayos se recolectó polen proveniente de los Montes de María (Bolívar, Colombia), en bolsas de polietileno a una temperatura de refrigeración de (4 °C).

Pretratamiento del polen

Las muestras de polen fueron tamizadas, en un bastidor malla N° 16, luego se secaron por 7 horas a 55 °C y almacenadas en refrigeración a 4 °C.

Activación de bacterias ácido-lácticas

Las cepas lácticas (*L. Plantarum*, Choozit y Yo- Mix), fueron sumergidas en 9 ml de Caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe) e incubadas a 35 °C por 24 horas en condiciones anaeróbicas, luego, estas fueron sembradas en placas con agar MRS, permitiendo su crecimiento durante 24 horas a 35 °C, finalmente, las colonias fueron suspendidas en una solución salina 0.1% hasta lograr una turbidez equivalente a un patrón McFarland 0.5.

Preparación del inóculo

Para preparar el inóculo, se tomó 1 ml de la cepa activa, la cual se suspendió en una solución que contenía 1 g de polen y 9 ml de caldo MRS, posteriormente, se incubó a 35 °C por 24 horas.

Preparación del sustrato y fermentación

Antes de la fermentación, se realizaron las proporciones 1: 1 y 2: 1 agua: polen, se adicionó el respectivo inóculo y se incubaron a 37 °C durante 72 horas, todas las muestras fueron preparadas por duplicado. El pH inicial fue ajustado para todos los ensayos a 5.8, utilizando NaOH 1N. Cada día de fermentación, fueron tomadas alícuotas de 2 ml de cada una de las muestras para titular acidez, adicionando 50 microlitros de fenolftaleína, y empleando NaOH 0.1N hasta una coloración rosada.

Análisis fisicoquímicos

La humedad y los sólidos totales se determinaron mediante el método termogravimétrico (Gravimetría - Secado en estufa a 105°C), las cenizas y minerales se analizaron utilizando el método termogravimétrico de determinación de cenizas, los lípidos fueron extraídos por el método de Soxhlet con éter, las proteínas totales y el nitrógeno se cuantificaron mediante los métodos Kjeldahl y Winkler, respectivamente, los carbohidratos se determinaron según el método AOAC 986.25 E y la fibra dietética se evaluó de la misma manera después del proceso de desengrasado y deshidratación, mientras que las calorías se calcularon mediante determinación indirecta utilizando el Factor de Atwater.

Análisis microbiológicos

Los Coliformes Totales y fecales se analizaron por el método BAM Chapter 4, los Mesófilos aerobios con ISO 4833-1:2014 y Staphylococcus coagulasa positiva con el método ISO 6888-1:2001.

Análisis de las propiedades funcionales

La actividad antioxidante se evaluó mediante los análisis de actividad atrapadora del radical DPPH, la decoloración del radical catión ABTS⁺ y la capacidad reductora de hierro (III) a hierro (II) (FRAP), utilizando los kits de ensayo de capacidad antioxidante BQCKit de DPPH, ABTS y FRAP.

Análisis estadístico

Los resultados se muestran como desviación estándar y promedio, la normalidad de los datos se verificó utilizando Shapiro-Wilk test. Las propiedades fisicoquímicas se compararon mediante la prueba de ANNOVA.

Estudio técnico económico

Se realizó un estudio técnico, donde se evaluó la viabilidad técnica y económica y los precios de comercialización del polen en el mercado actual. También se efectuó la estimación de precios para el polen fermentado de 100 g y 250 g, posteriormente se estableció el margen de ganancia al 20%, 30% y 40% para el polen fermentado.

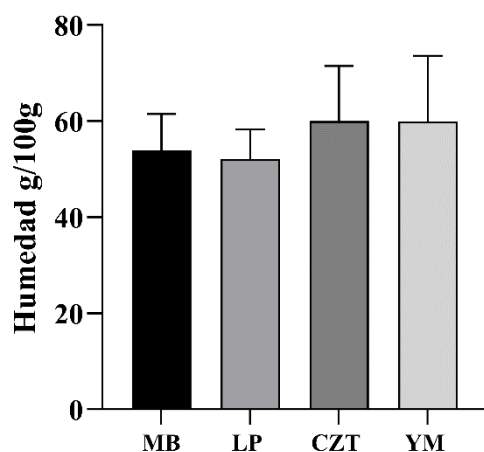
Resultados y Discusión

Análisis fisicoquímicos

En los análisis realizados se evalúa cómo la fermentación podría afectar la composición del polen, analizando la humedad para observar su incremento o disminución durante el proceso, se examinan las cenizas y minerales para verificar si la fermentación altera estos componentes, y se revisan las calorías para detectar posibles reducciones, también, se determina el contenido proteico y lipídico para identificar cambios significativos, y finalmente, se evalúan los sólidos totales para comprender cómo la fermentación afecta la cantidad total de nutrientes y cómo estas modificaciones influyen en la composición nutricional del polen.

Figura 4.

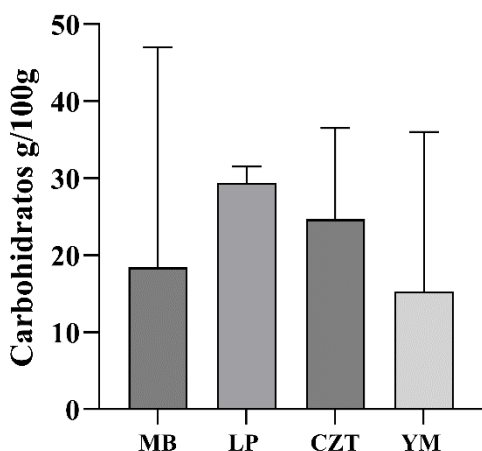
Humedad



Nota. El gráfico representa la cantidad final de humedad después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $****p \leq 0.0001$.

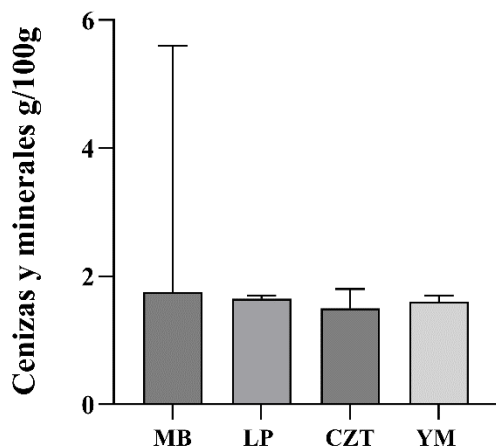
Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en la humedad, si bien no existe una diferencia significativa, la humedad en MB es menor que las muestras con LP, CZT y YM, registrando 45% de humedad; al agregar agua y fermentar con diferentes cultivos lácticos, la humedad aumenta un 59,225 %. Bautista, J.; Zuluaga, C, (2017), demostró que la humedad a aumenta de 6,77% a 49,17% al implementar cultivos lácticos para fermentar el polen cosechado en el altiplano cundiboyacense, Bautista & Zuluaga, (2017), lo anterior se debe, a que las levaduras y bacterias utilizan el polen como sustrato para crecer y reproducirse, y durante este proceso de fermentación generan calor y liberan vapor de agua como subproducto, Carbonero, (1975).

En su investigación Bautista & Zuluaga, (2017), demostraron que el proceso de fermentación utilizando el cultivo comercial Choozit® es la opción más favorable para transformar el polen. Según los ensayos realizados, las características fisicoquímicas del producto final fueron humedad 49,17%, grasa 34,91%, ceniza 2,51%, proteína 10,28%, y fibra cruda seca y desengrasada 41,69%. Estos resultados recalcan el potencial del polen como una valiosa fuente nutricional para la alimentación de aves. Aunque el estudio realizado por Zuluaga, C, (2016) p. 166, demostró que la fermentación de polen en la proporción 2:1 de agua: polen presenta valores más bajos de productividad, rendimiento y digestibilidad en comparación con otros tratamientos indicados.

Figura 5.*Carbohidratos totales*

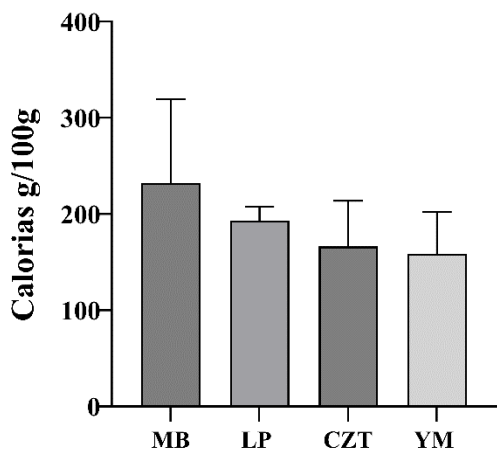
Nota. El gráfico representa los carbohidratos totales después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media ± error estándar (n = 7). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; **** $p \leq 0.0001$.

Las diferencias en el contenido de carbohidratos entre el polen fermentado con LP, YM, CZT y MB se deben a variaciones en el metabolismo microbiano, las condiciones de fermentación, la composición inicial del polen y las interacciones entre los microorganismos utilizados en los cultivos comerciales. Por ejemplo, LP puede descomponer los carbohidratos más eficientemente debido a su alta actividad enzimática, Plaza et al., (2018), mientras que la combinación de microorganismos en YM y CZT puede resultar en una menor degradación de carbohidratos. La duración de la fermentación y las condiciones específicas como temperatura y pH también juegan un papel crucial en estas diferencias.

Figura 6.*Cenizas y minerales*

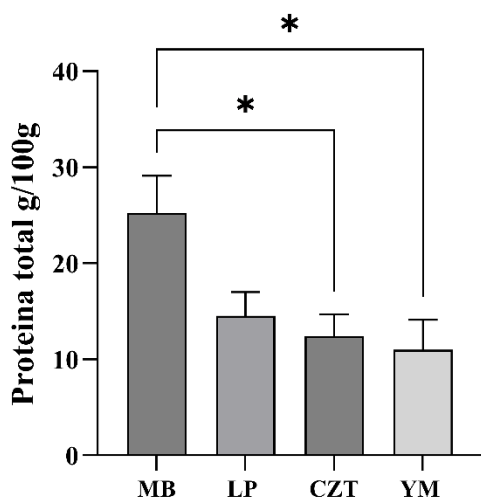
Nota. El gráfico representa el contenido de cenizas y minerales después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $****p \leq 0.0001$.

En cuanto al contenido de cenizas y minerales entre las muestras analizadas, es importante destacar que el polen MB mostró valores ligeramente superiores en cuanto a cenizas y minerales comparado con el polen fermentado; este hallazgo indicó que el proceso de fermentación no afectó de manera significativa la composición mineral del polen, manteniendo niveles similares de estos componentes en LP, CZT y YM. Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas ($p \leq 0,3502$), esto podría deberse a la estabilidad de los minerales durante la fermentación, ya que estos no se degradan ni se transforman fácilmente, y a la naturaleza del proceso fermentativo, que probablemente no consume minerales de manera significativa.

Figura 7.*Calorías totales*

Nota. El gráfico muestra las calorías totales después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $****p \leq 0.0001$.

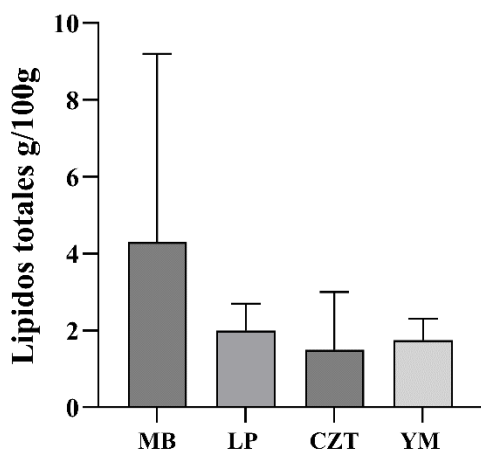
La MB tiene un contenido calórico mayor en comparación con el polen fermentado, siendo esto representa una reducción del 5.45% LP, 11.82% CZT y 10.91% YM. Estas diferencias pueden deberse a la degradación de ciertos componentes calóricos durante la fermentación, como los azúcares, y a la variabilidad en las capacidades metabólicas de los diferentes cultivos bacterianos utilizados, Jakubczyk et al., (2020), la fermentación también puede provocar una pérdida de materia orgánica y cambios en el contenido de humedad, afectando así el contenido calórico total del polen fermentado, Adadi et al., (2011).

Figura 8.*Proteína total*

Nota. El gráfico representa la proteína total después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; **** $p \leq 0.0001$.

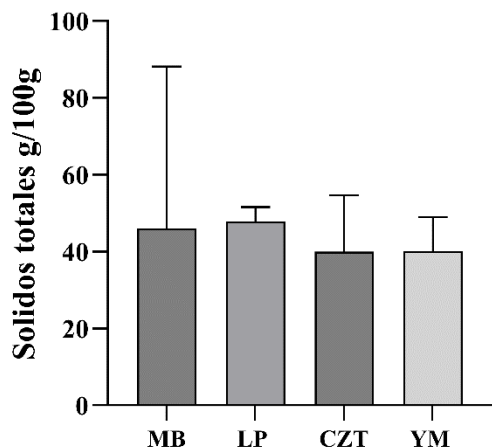
El contenido proteico mostró una diferencia significativa MB con respecto a CZT y YM ($p \leq 0,0064$), las proteínas totales son mayor en MB, que en las muestras inoculadas con CZT y YM, lo anterior se puede aludir al origen botánico del polen o al proceso de fermentación que realiza cada cultivo láctico. Fuenmayor et al. (2014), halló que las proteínas totales disminuyeron de 32,1 g/ 100g en base seca a 23,8 g/ 100g después de la fermentación, B et al., (2014). Aunque Zuluaga & Quicazan, (2019), en su artículo Efecto de la fermentación sobre las características estructurales y los compuestos bioactivos de los alimentos a base de polen de abeja, muestran que el contenido final de proteína es mayor después de la fermentación, Zuluaga & Quicazan, (2019); esto respalda los resultados obtenidos por Bautista, J.; Zuluaga, C, (2017), reveló que la proteína aumento de 5,03% 10,28% este aumento de proteína se deba al origen botánico del

polen apícola del altiplano cundiboyacense, por tanto, el bajo contenido proteico del polen apícola de los Montes de María puede estar relacionado con los microorganismos presentes en la fermentación, que utilizan parte de las proteínas del polen como fuente de energía y materia prima para su metabolismo, estas pueden descomponer las proteínas del polen en péptidos más pequeños y otros productos de degradación y esto puede llevar a una reducción directa en el contenido proteico del polen, Fuenmayor, (2009).

Figura 9.*Lípidos totales*

Nota. El gráfico representa los lípidos totales después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $****p \leq 0.0001$.

El análisis del contenido lipídico en las muestras no presentó diferencias significativas, pero se observó que MB posee un mayor contenido de lípidos en comparación con LP, CZT y YM. Esta diferencia puede deberse a la composición intrínseca y la fuente del material base MB, que puede tener un contenido natural de lípidos más alto. Además, los diferentes procesos de fermentación y el tipo de cultivos bacterianos utilizados pueden haber influido en la degradación o modificación de los lípidos, reduciendo su contenido final después de la fermentación ácido-láctica.

Figura 10.*Sólidos totales*

Nota. El gráfico representa los sólidos totales después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $****p \leq 0.0001$.

La similitud en los sólidos totales entre las cuatro muestras de polen fermentado puede explicarse por la naturaleza del proceso de fermentación, que, aunque modifica la composición química de algunos componentes, no necesariamente altera la cantidad total de sólidos presentes, durante la fermentación, las bacterias y levaduras actúan sobre los nutrientes del polen, transformando ciertos compuestos como los azúcares en otros productos, pero el contenido total de sólidos, que incluye proteínas, fibras y minerales, permanece relativamente constante. Esta estabilidad en los sólidos totales puede deberse a la resistencia de estos componentes a los cambios metabólicos inducidos por la fermentación, Vinderola et al., (2011), además, los diferentes cultivos bacterianos utilizados pueden tener efectos específicos sobre ciertos nutrientes, los lactobacilos representan ciertamente uno de los grupos microbianos fundamentales, debido a su significativa contribución en diferentes procesos metabólicos y

biotecnológicos, Saarela et al., (2002), pero no afectan significativamente la cantidad global de sólidos presentes en el polen

En cuanto a los resultados obtenidos, la proporción de agua usada y la fermentación tienden a reducir el contenido de sólidos totales, proteínas, lípidos y calorías, mientras que aumentan la humedad. En general estos resultados destacan cómo la fermentación y la proporción de agua modifican significativamente la composición nutricional del polen apícola.

Benavides et al., (2020), demostró que las fermentaciones realizadas con CZT y YM tienen mayor viabilidad y rendimiento, junto con la fermentación realizada con LP. Sin embargo, V. Shirsat et al., (2019), mostró que las proteínas experimentaron un incremento del 1,53%, mientras que los azúcares totales redujeron su concentración en un 32,6%, el ácido láctico aumentó en un 1,35%, y el contenido total de aminoácidos libres creció un 1,99%. Además, se observó una disminución del 1,8% en el contenido total de polifenoles.

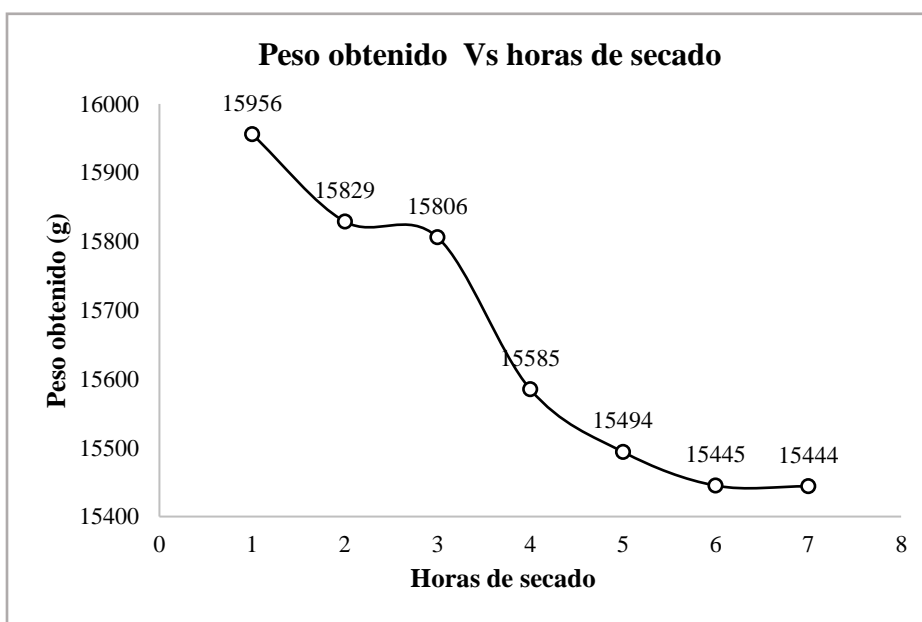
Análisis de pH y de ácido láctico

Se realiza un análisis detallado del pH y del ácido láctico en muestras con proporciones 1:1 y 2:1 de agua: polen, utilizando cultivos de *Lactobacillus Plantarum* ATCC 8014, Yo-Mix 885 LYO 50 DCU, y Choozit TM 82 LYO 50 DCU. El propósito de este análisis es evaluar cómo estas combinaciones influyen en los parámetros de acidez y producción de ácido láctico durante el proceso de fermentación, con el fin de optimizar la formulación y calidad del producto final basado en polen fermentado.

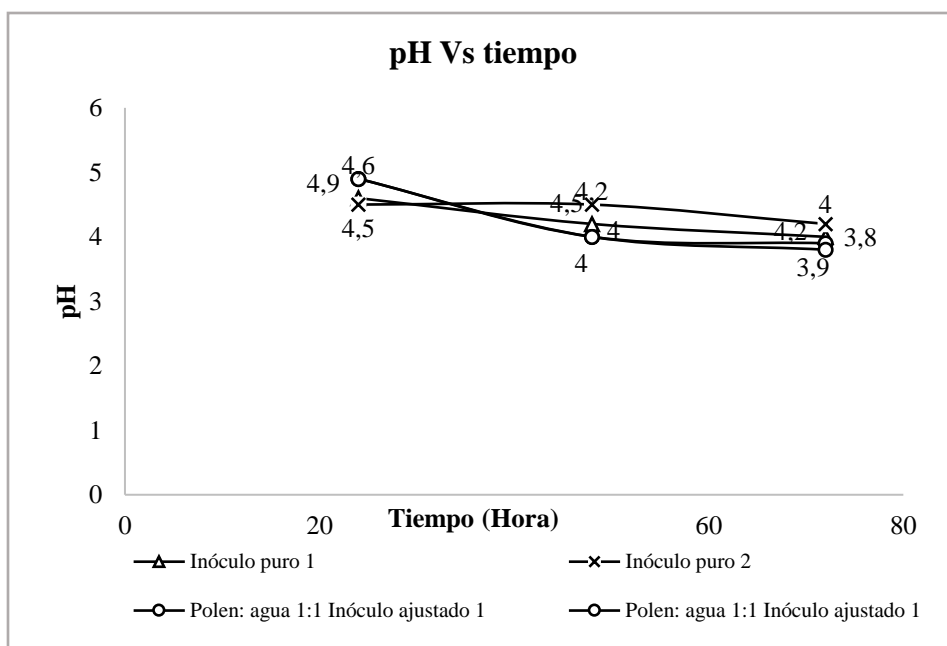
Análisis de pH y de ácido láctico de las muestras 1:1 y 2:1 de agua: polen con LP ATCC 8014

Figura 11.

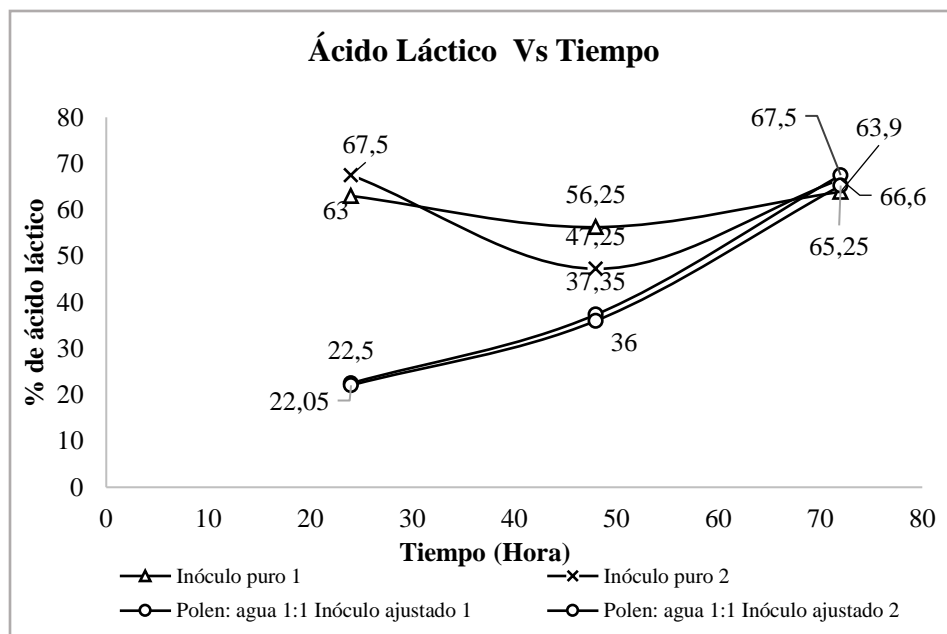
Peso obtenido (g) Vs horas de secado



Nota. El gráfico representa la disminución del peso de la muestra de granos de polen apícola de los Montes de María sin fermentar, tras 7 horas de secado.

Figura 12.*pH (LP) proporción 1:1*

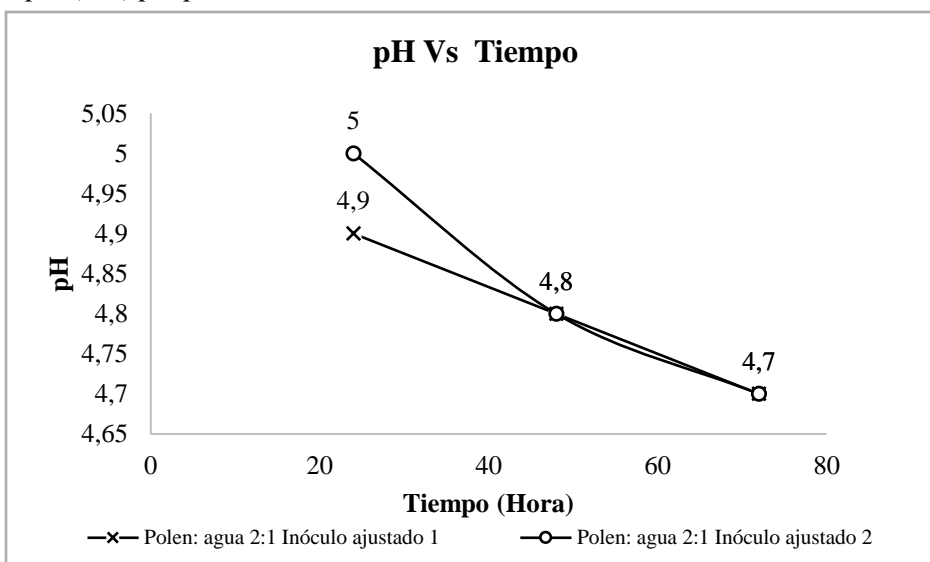
Nota. El gráfico representa el pH durante la fermentación de las muestras inoculadas con (LP), correspondientes a IP -1(Inóculo puro 1), IP- 2 (Inóculo puro 2), IJ -1 (polen: agua inóculo ajustado 1) IJ -2 (polen: agua inóculo ajustado 2).

Figura 13.*Ácido Láctico Vs Tiempo (LP) proporción 1:1*

Nota. El gráfico representa la producción de ácido láctico durante la fermentación de las muestras inoculadas con (LP), correspondientes a IP -1(Inóculo puro 1), IP- 2 (Inóculo puro 2), IJ -1 (polen: agua inóculo ajustado 1) IJ -2 (polen: agua inóculo ajustado 2).

Figura 14.

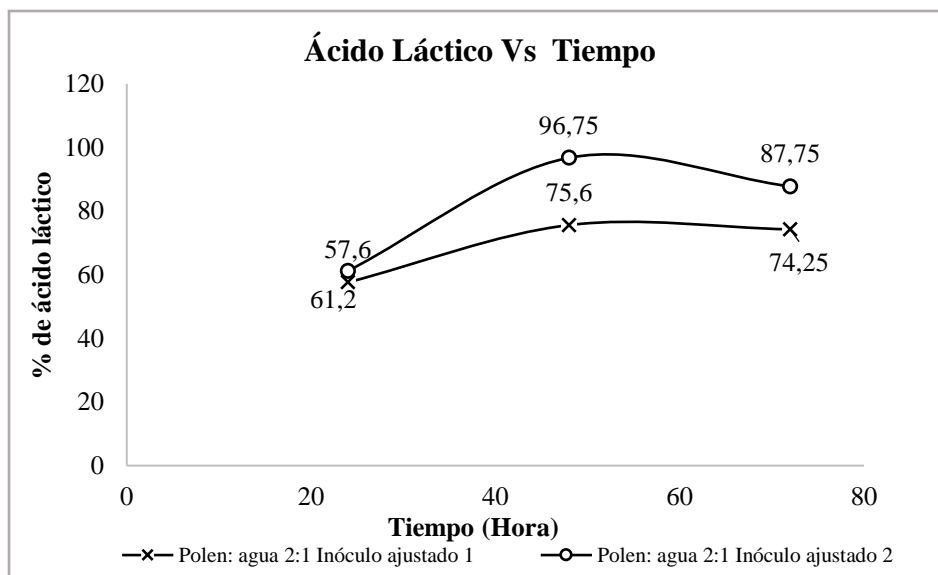
pH (LP) proporción 2:1



Nota. El gráfico representa el pH durante la fermentación de las muestras inoculadas con (LP), correspondientes a IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 1) y IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 2).

Figura 15.

Ácido Láctico Vs Tiempo (LP) proporción 2:1



Nota. El gráfico representa la producción de ácido láctico durante la fermentación de las muestras inoculadas con (LP), correspondientes a IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 1) y IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 2).

Los datos obtenidos revelaron que los inóculos ajustados con la escala de McFarland 0.5, en la proporción 1:1 agua: polen, fueron más efectivos, en este caso, el inóculo ajustado 1, presentó mejor pH, al pasar las primeras 24 horas alcanzó un pH 4,9 y 3,9 a las 72 horas. Con relación a la producción de ácido láctico, aumentó de 22,5% a las 24 horas a 67,5% a las 72 horas.

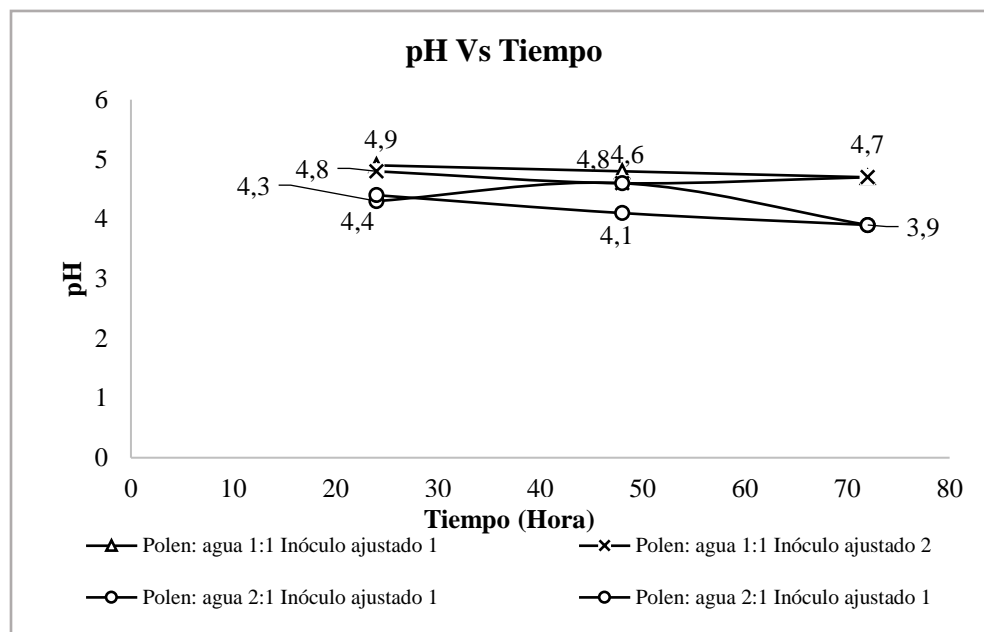
La proporción 2:1 agua: polen, tuvo resultados significativos al pasar las 72 horas, ambos inóculos alcanzaron un pH de 4,7; aunque después de las 48 horas, hubo una ligera disminución en el ácido láctico. La mayor producción de ácido láctico se observa en el inóculo ajustado 2, que podría tener una mayor concentración de bacterias o una mayor eficiencia metabólica en la fermentación.

En el estudio realizado por Benavides et al., (2020) , se encontró un cambio significativo para la relación polen: agua 2:1 neutralizado, al ser un comportamiento típico de fermentación al disminuir el pH e incrementar la acidez para cada uno de los tres cultivos starter.

Análisis de pH y ácido láctico de las muestras 1:1 y 2:1 de agua: polen con YM 885 LYO 50 DCU

Figura 16.

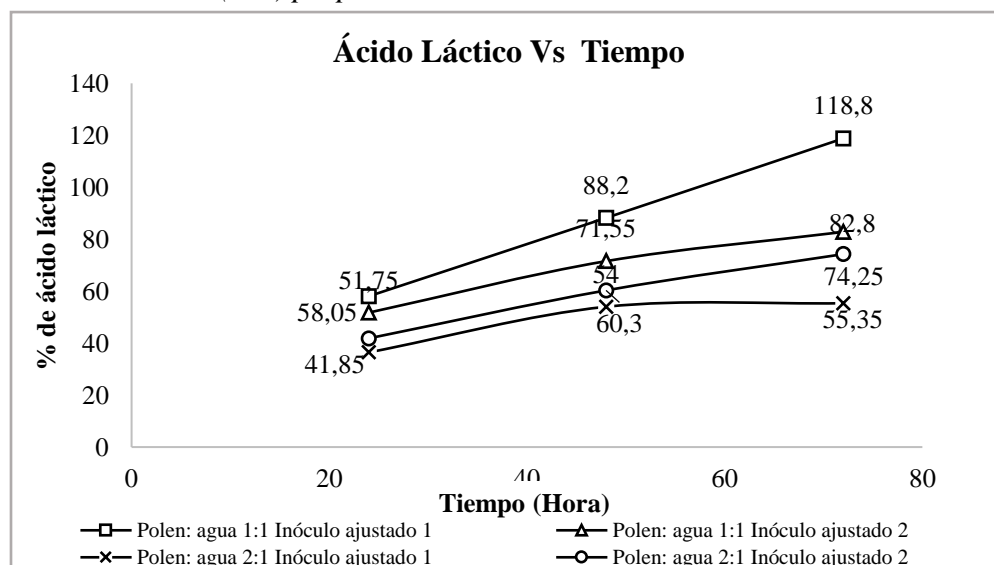
pH (YM) proporción 1:1 & 2:1



Nota. El gráfico representa el pH durante la fermentación de las muestras inoculadas con (YM), correspondientes a IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 1), IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 2), IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 1) e IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 2).

Figura 17.

Ácido láctico (YM) proporción 1:1 & 2:1



Nota. El gráfico representa la producción de ácido láctico durante la fermentación de las muestras inoculadas con (YM), correspondientes a IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 1), IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 2), IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 1 y IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 2).

En las muestras inoculadas con el cultivo comercial YM, los pH registrados indicaron que las muestras 2:1 de agua: polen, presentaron mejor pH durante las 72 horas, obteniendo un pH final de 3,9. No obstante, las muestras 1:1 agua: polen, también, mostraron disminución en el pH, aunque estas fueron menos progresivas que las muestras 2:1.

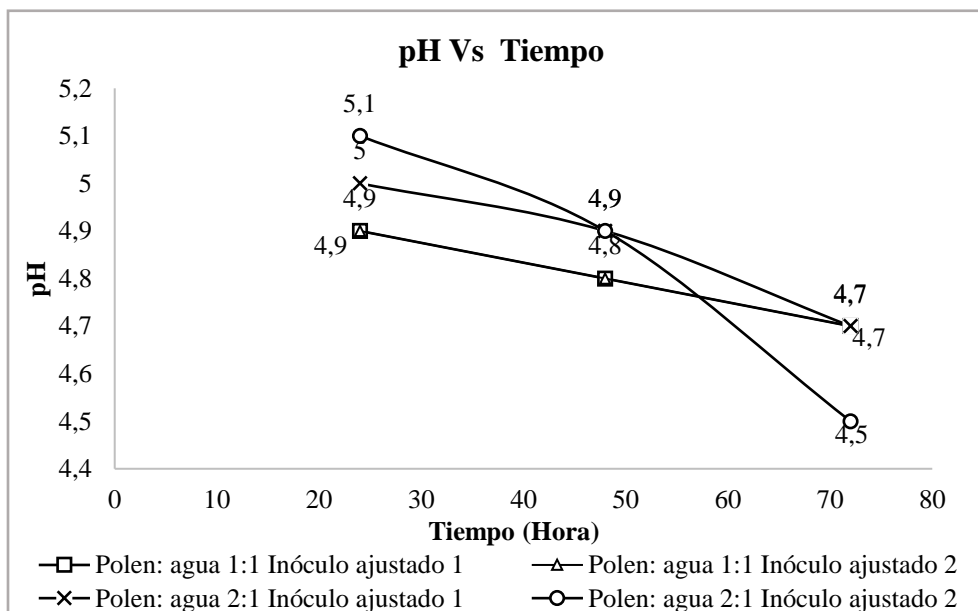
Ahora bien, en la producción de ácido láctico, los inóculos 2:1 de agua: polen, no produjeron casi ácido láctico, como las muestras 1:1 agua: polen, el inóculo ajustado 1:1-1 originó 58,05 % de ácido láctico en 24 horas y 118,8% en 72 horas, igualmente, que el inóculo 1:1-2 produjo 51,75% en 24 horas y 82,8 % en 72 horas, por tanto, se demuestra que la proporción 1:1 ajustada con la escala McFarland a 0.5, exactamente el Inóculo 1:1-1, a nivel general presenta mejores características de fermentación ácido láctica, por ende, se puede inferir que este cultivo se puede ajustar para ser utilizados en futuras fermentaciones a escala piloto, debido a que, posee buena producción de ácido láctico y en términos comerciales tiene un precio muy asequible en el mercado, lo que permitirá que los apicultores puedan realizar la fermentación ácido láctica del polen con este cultivo.

Por otra parte, demostró que YM, puede ser un fermento útil, aunque en las primeras 3 horas los valores de pH oscilaban entre 6.2 y 6.1, lo que es algo lento en comparación con los otros cultivos fermentativos.

Análisis de pH y ácido láctico de las muestras 1:1 y 2:1 de agua: polen con CZT TM 82 LYO 50 DCU

Figura 18.

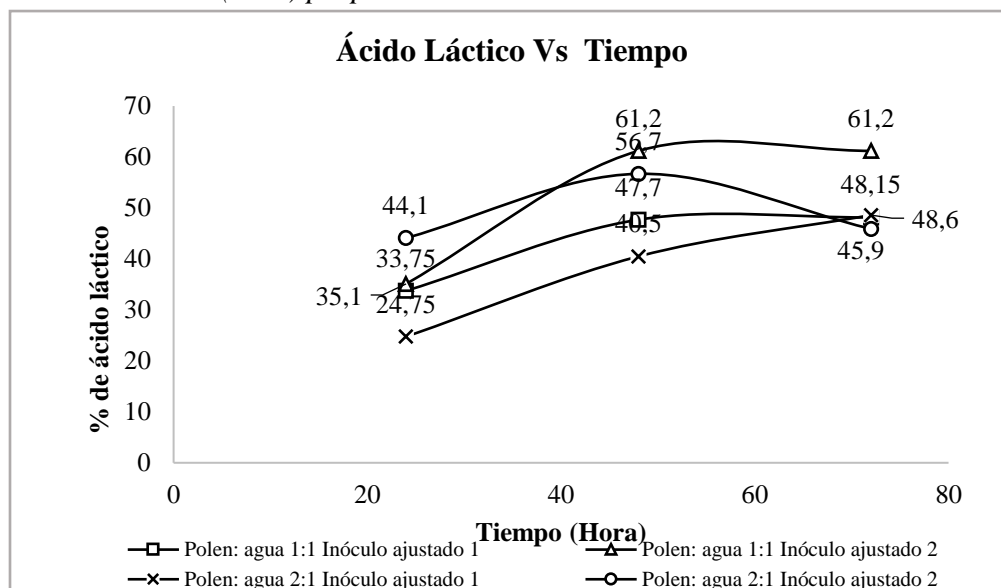
pH (CZT) proporción 1:1 & 2:1



Nota. El gráfico representa el pH durante la fermentación de las muestras inoculadas con (CZT), correspondientes a IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 1), IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 2), IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 1) y IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 2).

Figura 19.

Ácido láctico (CZT) proporción 1:1 & 2:1



Nota. El gráfico representa la producción de ácido láctico durante la fermentación de las muestras inoculadas con (CZT), correspondientes a IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 1), IJ 1-1 (polen: agua inóculo ajustado 2), IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 1 y IJ 2-1 (polen: agua inóculo ajustado 2).

El cultivo láctico CZT resultó ser menos efectivo para la fermentación del polen apícola, ya que, no generó una cantidad significativa de ácido láctico, como se espera en un proceso de fermentación. Los inóculos 1:1 de agua: polen, alcanzaron un pH de 4,7 a las 72 horas, en cuanto al ácido láctico el 1:1-1 produjo 33,75 pasadas las 24 horas y 48,15 a las 72 horas, el inóculo 1:1-2 produjo más ácido láctico, 35,1 a las 24 horas y 61,2 a las 72 horas. Por otra parte, los inóculos 2:1 agua: polen, reportaron pH similar a las muestras 1:1, y la producción de ácido láctico fueron menores.

En comparación con LP, y el cultivo comercial YM, estos valores de ácido láctico parecen estar en el rango más bajo, el ácido láctico es un subproducto importante en la fermentación y su presencia en cantidades adecuadas es crucial para el desarrollo del sabor y la calidad del producto final. Basado en la baja producción de ácido láctico. Se puede concluir que CZT no es muy efectivo para la fermentación de polen en cuanto a producción de ácido láctico.

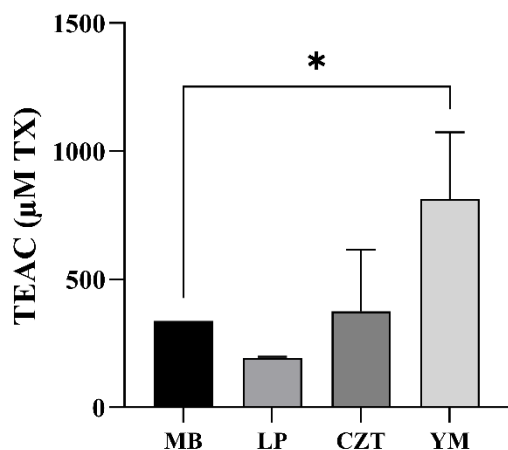
Análisis Propiedades funcionales del polen

En este análisis, se evalúan las propiedades funcionales del polen, enfocándose en su capacidad antioxidante. Se utilizan métodos como el ensayo DPPH para medir la Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC $\mu\text{M TX}$), el ensayo ABTS para determinar la Capacidad Antioxidante Equivalente a Vitamina C, y el ensayo FRAP para evaluar el Potencial Reductor Férrico, estos análisis permiten cuantificar y comparar la actividad antioxidante del polen apícola obtenido de los Montes de María de Bolívar, proporcionando una comprensión más profunda de sus beneficios potenciales para la salud.

Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC $\mu\text{M TX}$) (Ensayo DPPH)

Figura 20.

Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC $\mu\text{M TX}$)



Nota. El gráfico representa la capacidad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC $\mu\text{M TX}$) después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $****p \leq 0.0001$.

Se evaluó el potencial antioxidante de las muestras de polen mediante el ensayo DPPH, los resultados revelaron que hubo diferencia significativa * $p \leq 0,0113$ entre MB y YM, debido a que la muestras de YM, reporto mejor capacidad Antioxidante 1073,97 TEAC ($\mu\text{M TX}$) en comparación al resto de muestras analizadas.

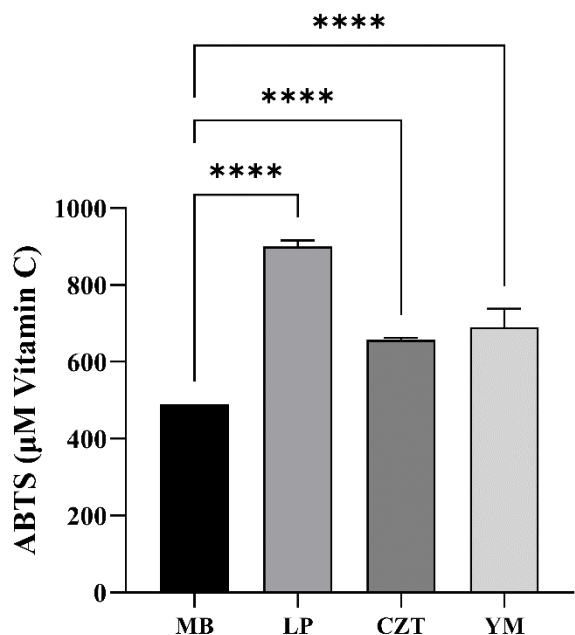
Las muestras LP y CZT, disminuyeron su capacidad antioxidante DPPH después de la fermentación, mientras que, YM, aumentó significativamente esta capacidad. Según (Zuluaga, 2016) el polen fermentado mostró un aumento del 31 % en el contenido fenólico total y del 39 % en la actividad antioxidante. Asimismo, el estudio de Zhang et al., (2022), indico que la fermentación es una estrategia prometedora para mejorar el valor nutricional del polen de abeja gracias a que aumenta significativamente capacidad antioxidante DPPH.

Por otro lado, Zhang et al., (2023)., menciona que la fermentación incrementó notablemente las actividades antioxidantes y antiinflamatorias del polen de abeja, aumentando su contenido total de fenoles y flavonoides entre 1.99 y 1.53 veces. Asimismo, Salazar González, (2014), encontró diferencias significativas en la actividad antioxidante medida mediante TEAC entre el polen antes y después de la fermentación. Este estudio evidenció que el tratamiento térmico afecta notablemente la capacidad antioxidante del polen, siendo importante considerar estos cambios al evaluar su valor nutricional y potencial uso en aplicaciones alimenticias y farmacéuticas.

Capacidad Antioxidante Equivalente a Vitamina C (Ensayo ABTS)

Figura 21.

Capacidad Antioxidante Equivalente a Vitamina C



Nota. El gráfico representa la capacidad antioxidante equivalente a vitamina C después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $****p \leq 0.0001$.

La Capacidad Antioxidante Equivalente a Vitamina C mostró una diferencia significativa $p \leq 0,0001$ frente MB con los cultivos LP, CZT y YM, lo que indica que los resultados del estudio son altamente significativos, es decir, que existe una diferencia real entre las muestras analizadas. Todas las muestras demostraron tener una buena capacidad antioxidante ABTS. Sin embargo, LP mostro tener mayor capacidad antioxidante. Esto se debe a su capacidad para producir metabolitos antioxidantes durante la fermentación, esta bacteria genera compuestos

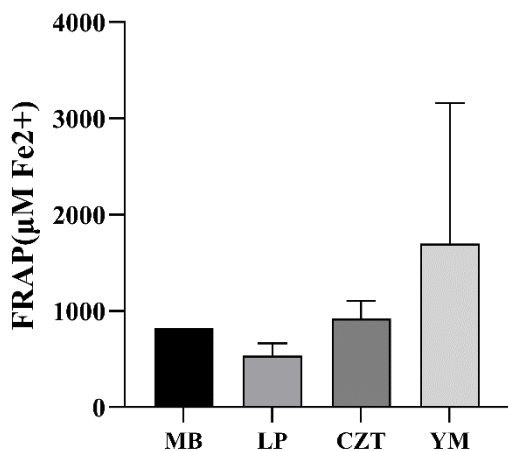
como ácidos orgánicos, péptidos bioactivos y exopolisacáridos que poseen propiedades antioxidantes, Jurado et al., (2013) , además, LP puede liberar enzimas que incrementan la disponibilidad de compuestos antioxidantes presentes en el polen, mejorando así su capacidad para neutralizar los radicales libres, por tanto, las muestras fermentadas con LP muestran mayor capacidad antioxidante en comparación con otras muestras analizadas.

En la investigación realizada por Merino, (2017)., se evaluó la capacidad antioxidante de diversas muestras de polen apícola mediante dos métodos DPPH y ABTS, se observó que los valores obtenidos con el método ABTS fueron consistentemente más altos que los obtenidos con el método DPPH. Además, se encontró que los pólenes monoflorales mostraron una capacidad antioxidante superior en comparación con los pólenes multiflorales en ambos métodos de medición.

Potencial Reductor Férrico (Ensayo FRAP)

Figura 22.

Potencial Reductor Férrico



Nota. El gráfico representa el potencial reductor férrico después de la fermentación, comparando los cultivos: Muestra Blanca (MB), *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit (CZT) y Yo-Mix (YM). Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 7$). Las diferencias significativas se determinaron utilizando el valor de $*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$; $***p \leq 0.0001$.

Si bien no se registró diferencia significativa, los resultados obtenidos del potencial reductor férrico, muestra que YM, posee este potencial reductor, debido al valor obtenido en el ensayo de $3160,3 \mu\text{M Fe}^{2+} \pm 1,68$ mayor que el resto de las muestras, en este sentido, el aumento podría atribuirse a la producción de nuevos compuestos antioxidantes durante la fermentación o a la liberación de aquellos que estaban previamente inaccesibles en el polen sin fermentar, esto, a su vez, podría estar relacionado con los cambios observados en las propiedades fisicoquímicas del polen durante el proceso de fermentación.

Kaškonienė et al., (2020), encontró que los componentes bioactivos presentes en el polen y el pan de abeja tienden a reducirse en general durante este proceso. Aunque hubo algunas excepciones, además, los cambios en los compuestos fenólicos de ambos productos afectaron sus capacidades antioxidantes.

Zuluaga & Quicazan, (2019), indicaron que la actividad antioxidante varió significativamente según el método de fermentación. Los consorcios de levadura-LAB mostraron los niveles más altos de actividad antioxidante, mientras que los productos fermentados con levaduras o *L. plantarum* mostraron niveles reducidos entre un 35% y un 47% menos que el polen de abeja fresco.

En el estudio realizado por Salamanca et al., (2017), sobre el polen corbicular colombiano destacó la presencia significativa de fracciones fenólicas y flavonoides en extractos hidroalcohólicos. Se encontraron variaciones en la fracción fenólica entre 11.8 ± 2.22 y 30.6 ± 7.10 mg EAG/g y en los flavonoides desde 5.67 ± 2.35 hasta 12.1 ± 1.13 mg Eq. Quercetina/g de polen. La capacidad antioxidante se evaluó mediante métodos como FRAP y ABTS, mostrando valores de reducción de hasta (30.6 ± 7.10) μ M de Trolox/g para FRAP y (17.9 ± 4.30) μ M de Trolox/g para ABTS Osorio et al., (2017). Asimismo, Mărghițaș et al., (2009). observo que su actividad antioxidante fue más baja, que estudios antes realizados, el valor máximo reportado para DPPH fue de $2,814 \pm 0,03$ mg Trolox/g, y para FRAP fue de $5,355 \pm 0,04$ mg Trolox/g.

Estudio técnico económico

En este estudio técnico-económico, se abordan temas fundamentales como la viabilidad técnica, especificando los equipos e insumos necesarios para el proyecto, así como la viabilidad financiera, incluyendo un presupuesto operacional detallado, se realiza un análisis de mercado que compara los precios de venta y la comercialización del polen fermentado en plataformas de comercio digitales, además, se estiman los precios de venta y los márgenes de ganancia al 0%, 20%, 30% y 40%, y se aplican sistemas de costos directos para bolsas de polen de 100 g con diferentes cultivos lácticos; el propósito de este análisis es determinar la rentabilidad y viabilidad económica del proyecto, optimizando los recursos y estrategias de comercialización para maximizar los beneficios.

Viabilidad Técnica

La viabilidad técnica de la obtención de polen apícola fermentado con propiedades funcionales se fundamenta en la posibilidad de implementar procesos de fermentación controlada que permitan modificar las características del polen, de manera beneficiosa, en el siguiente gráfico se muestran los puntos clave y equipos e insumos necesarios para este proyecto a nivel de laboratorio.

Tabla 3.*Puntos clave equipos e insumos*

Puntos clave	Equipos e insumos
Materias primas	Polen apícola
Elementos básicos	Insumos básicos de laboratorio. Office 365 agua potable Agar Baird-Parker Agar Sulfito-Hierro Agar Saboureaud Caldo MRS Agua de peptona tamponada PDA (potato, dextrose agar) Reactivo de Folin-Ciocalteu
Selección de microorganismos	LP ATCC 8014 Cultivos comerciales CZT y YM 885 LYO 50 DCU
Optimización de condiciones de fermentación	pH: 5.8 Temperatura: 35 °C y 55 °C Tiempo de fermentación: 3 días
Control de la calidad y seguridad	Capitaciones BPM y BPA, implementado tecnologías de gestión y calidad.
Evaluación de propiedades funcionales	DPPH Antioxidant Assay Kit ABTS Assay Kit Antioxidant Capacity FRAP Antioxidant Capacity Assay Kit

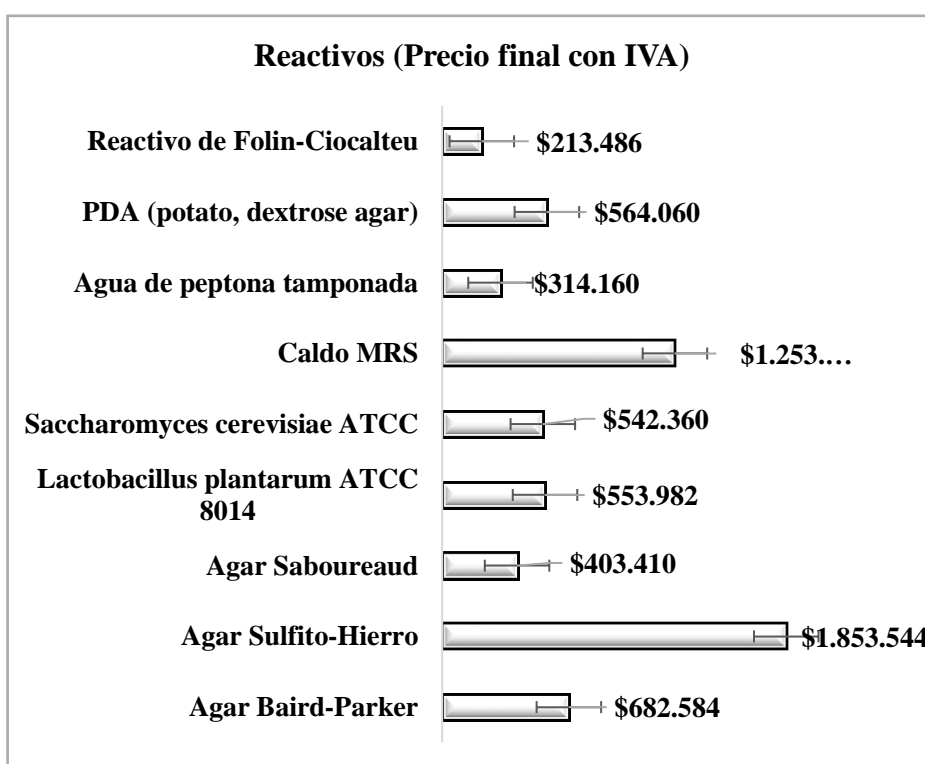
Nota. La tabla presenta los puntos clave para la fermentación de polen apícola: materias primas, elementos básicos, selección de microorganismos, optimización de condiciones, control de calidad y evaluación de propiedades funcionales.

Viabilidad Financiera

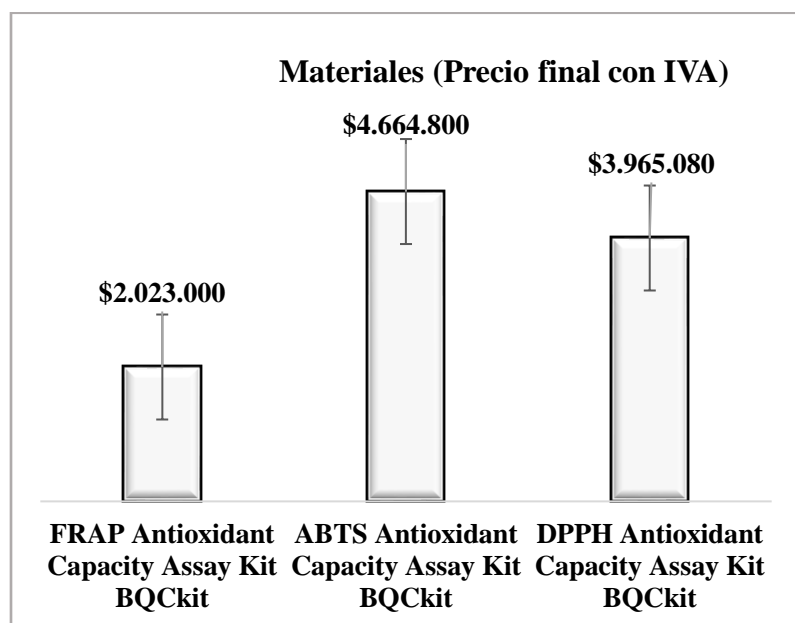
El estudio de viabilidad financiera o económica se centra en el análisis de los costos y bienes asociados con el plan propuesto para la obtención de polen apícola fermentado con propiedades funcionales, aquí se detallará los precios incluidos en el proceso de planificación, producción y comercialización.

Figura 23.

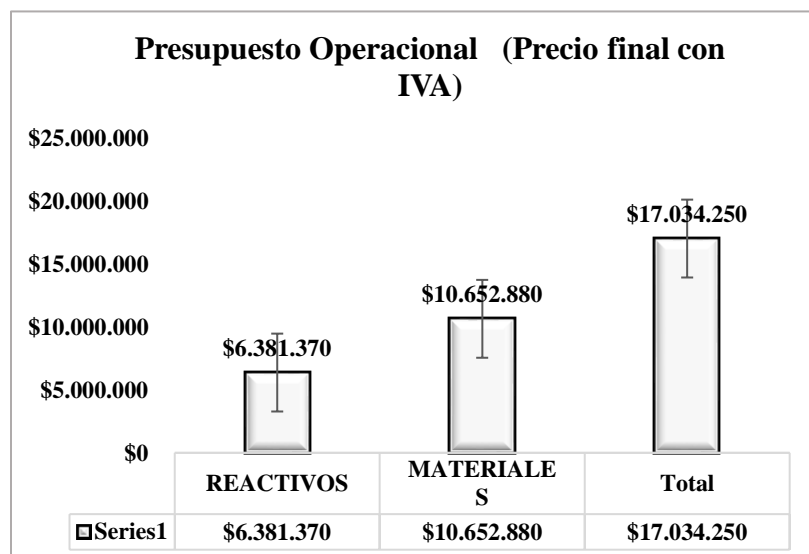
Valor cotizado reactivos



Nota. El gráfico representa el precio de los reactivos utilizados para la fermentación del polen apícola, expresado en pesos colombianos.

Figura 24.*Valor cotizado materiales*

Nota. El gráfico representa el precio de los materiales utilizados para el análisis de la capacidad antioxidante del polen apícola después de la fermentación, expresado en pesos colombianos.

Figura 25.*Presupuesto Operacional*

Nota. El gráfico representa el presupuesto operación general para la ejecución del proyecto.

Para asegurar el éxito del proyecto a nivel de laboratorio, es fundamental tener en cuenta la implementación de procesos de fermentación controlada, la selección precisa de microorganismos, la optimización de las condiciones de fermentación, el riguroso control de calidad y seguridad, así como la evaluación de las propiedades funcionales del polen apícola fermentado.

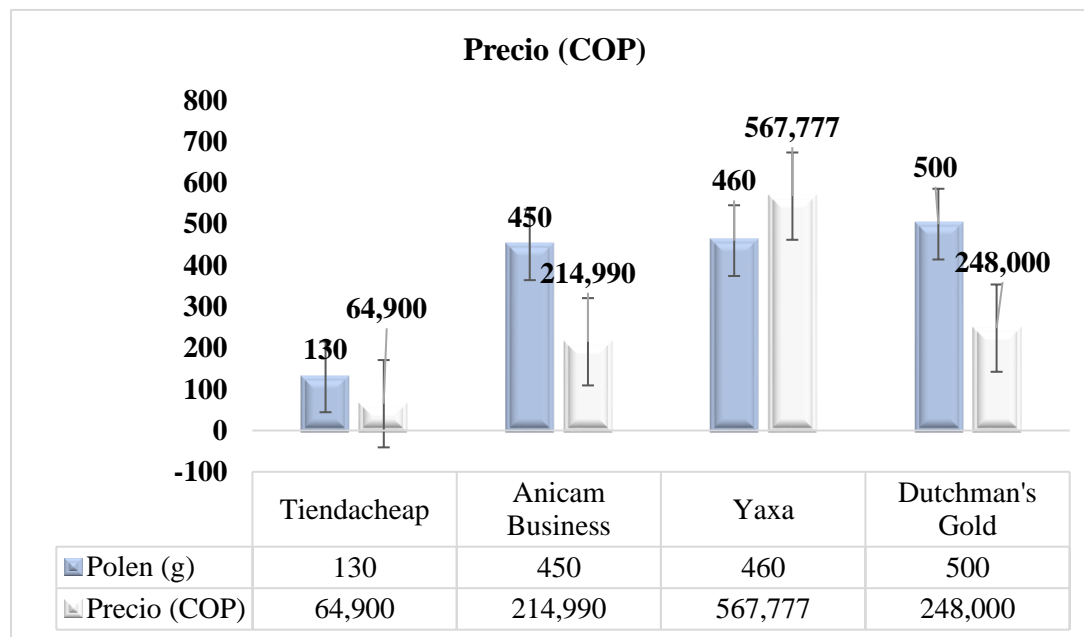
Además, para garantizar la viabilidad económica del proyecto, es crucial llevar a cabo un análisis detallado de costos y beneficios asociados con la obtención del polen apícola fermentado. Los materiales requeridos para el proceso tienen un costo de \$10.652.880 COP, mientras que los reactivos suman \$6.381.370 COP, es esencial establecer un cultivo que se ajuste a los objetivos, considerando estos costos iniciales. Esto permitirá que los apicultores adopten este modelo sin complicaciones y desarrollen productos a partir del polen fermentado.

Para garantizar que este proyecto tenga viabilidad económica y que a futuro se pueda comercializar el polen fermentado, se indagó en diferentes plataformas de comercio digital los precios a asociados, con el fin de establecer una comparación sistemática partir de sus precios y calculando el valor para 100 g de cada referencia.

Comparación de precios de venta y comercialización del polen fermentado en plataformas de comercio digitales

Figura 26.

Comparación de precios de venta y comercialización del polen fermentado en el mercado actual



Nota. El gráfico compara los precios de venta y estrategias de comercialización del polen fermentado en el mercado actual, destacando las variaciones en función de factores productivos y logísticos.

Se realiza la comparación de precios a partir de 100 g, donde se halla el precio del gramo, con la siguiente fórmula:

$$\text{Precio por gramo (Pg)} = \frac{\text{Precio de la bolsa}}{\text{Peso de la bolsa}}$$

Calculamos el precio para 100 g de polen por cada distribuidor.

$$\text{Pg Tiendacheap} = \frac{64.900}{130} = 499 \text{ pesos}$$

$$\text{Precio por 100 g} = 499 * 100 \text{ g} = 49.900 \text{ pesos}$$

$$Pg \text{ Anicam Business} = \frac{214.990}{450} = 477 \text{ pesos}$$

$$\text{Precio por 100 g} = 477 * 100 \text{ g} = 47.700 \text{ pesos}$$

$$Pg \text{ Yaxa} = \frac{567.777}{460} = 1.234 \text{ pesos}$$

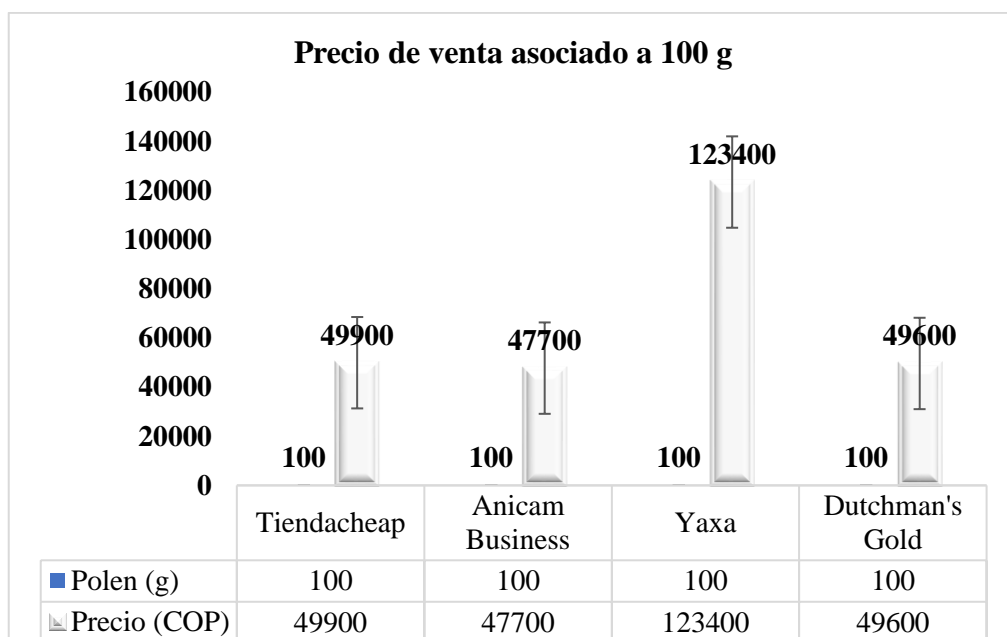
$$\text{Precio por 100 g} = 1.234 * 100 \text{ g} = 123.400 \text{ pesos}$$

$$Pg \text{ Dutchman's Gold} = \frac{248.000}{500} = 496 \text{ pesos}$$

$$\text{Precio por 100 gramo} = 496 * 100 \text{ g} = 49.600 \text{ pesos}$$

Figura 27.

Precio de venta asociado a 100 g



Nota. El gráfico representa los precios de venta asociado a 100 g, expresados en pesos colombiano.

Al analizar los precios del polen de las 4 comercializadoras, Anicam Business destaca por tener el costo más bajo con 477 COP por gramo, resultando en 47.700 COP por 100 g. Lo que lo convierte en la opción más económica frente a Dutchman's Gold 496 COP por gramo y 49.600 COP por 100 g y Tiendacheap 499 COP por gramo y 49.900 COP por 100 g. Por otro lado, Yaxa ofrece el polen más caro, a 1.234 COP por gramo, sumando 123.400 COP por 100 g. La comparación revela una amplia variabilidad de precios, destacando una diferencia notable de costos entre los productos, y muestra que el polen fermentado tiene un precio significativamente más alto. En promedio 3.5 veces superior al polen natural, probablemente debido a su proceso de producción más complejo o a sus propiedades nutricionales. Esto indica la importancia de evaluar tanto el costo como la calidad y las características específicas del producto al momento de elegir el polen adecuado para la compra.

Tabla 4.

Estimación de precio IVA incluido

1 g de polen = 0.805 pesos	
Peso por bolsa	100 g
Precio neto	67.650
IVA	19%
Aplicación de IVA	12.850
Precio de bolsa de 100 g	80.500

Con base a lo anterior se establece la estimación de costos de venta para el polen fermentado de 100 y 250 g.

Estimación de Precios con diferentes gramajes

$$\text{Precio por gramo (Pg)} = \frac{\text{Precio de la bolsa}}{\text{Peso de la bolsa}}$$

$$\text{Precio por gramo} = \frac{80.500}{100} = 0.805$$

Precio para 100 g de polen fermentado

$$\text{Precio} = 0.805 * 100 \text{ g} = 80.500 \text{ pesos}$$

Precio para 250 g de polen fermentado

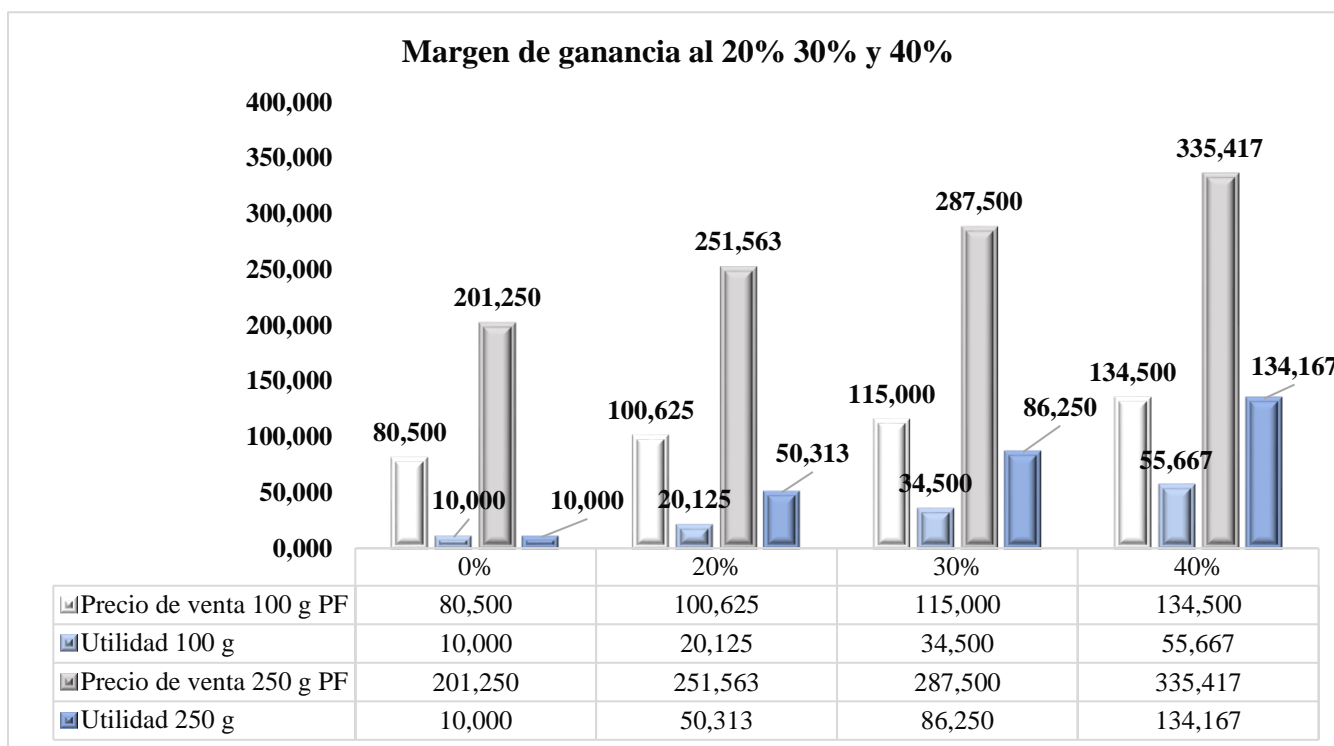
$$\text{Precio} = 0.805 * 250 \text{ g} = 201.250 \text{ pesos}$$

Margen de ganancia

Para comprobar el margen de ganancia se estable la siguiente relación a 20%, 30% y 40% para 100 g y 250 g de polen.

Figura 28.

Margen de ganancia al 20%, 30% y 40%



$$\text{Precio de venta} = \frac{\text{Precio de base}}{(1 - \text{Margen de ganancias})}$$

$$\text{Utilidad} = \text{Precio de venta} - \text{Precio de base}$$

Sistemas de costos directo para Bolsas de Polen 100 g con los distintos cultivos lácticos

La cosecha de polen la realizan 2 personas, cada 5 días, durante 1 mes.

La mano de obra 50.000 pesos por día.

El polen natural tiene un precio de 40.000 pesos.

Tabla 5.

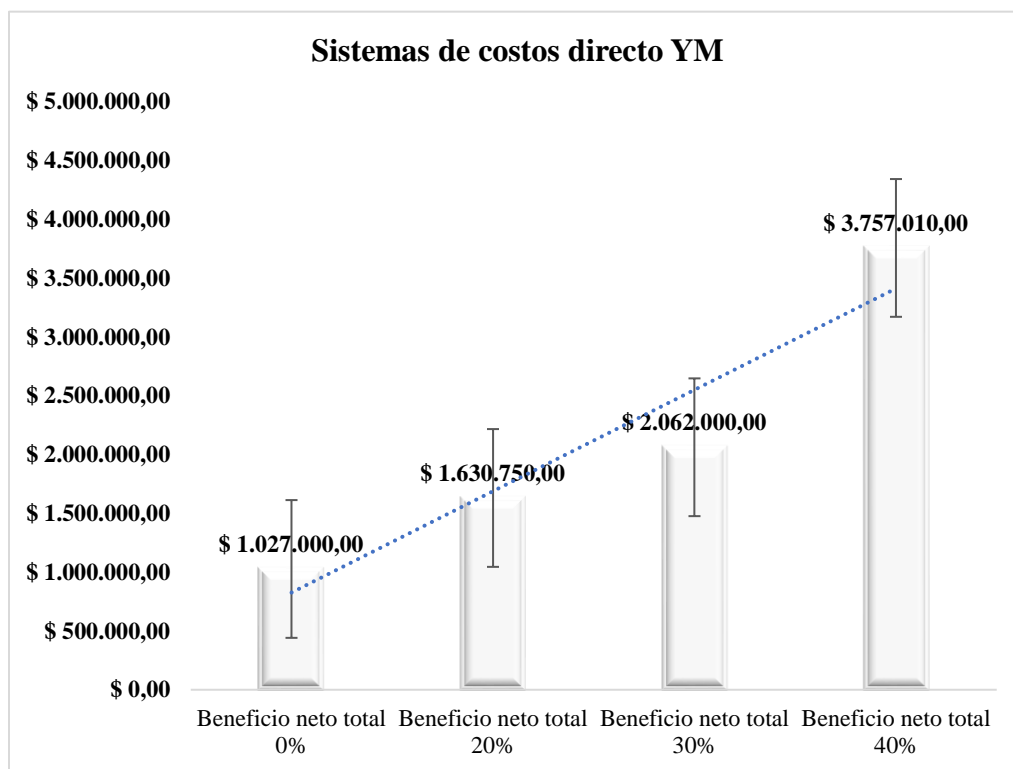
Sistema de costo directo para bolsa de polen de 100 g fermentado con (YM)

Sistema de costo directo para bolsa de polen fermentado de 100 g			
YM			
Concepto		Bolsa de polen fermentado de 100 g	Total
Unidades producidas	U	30	30
Ventas	V	\$ 2.415.000	\$ 2.415.000
Precio de venta unitario	P=V/U	\$ 80.500	
Costos variables			
Materias primas		\$ 120.000	\$ 120.000
Cultivo YM 885 LYO 50 DCU		\$ 24.000	\$ 24.000
Gastos de personal variables (mano de obra)		\$ 600.000	\$ 600.000
Otros gastos variables (empaque)		\$ 20.000	\$ 20.000
Total, de Costos Variables	CV	\$ 764.000	\$ 764.000
Costo variable unitario	CVU=CV/ U	\$ 25.46,67	
Margen de beneficio bruto	M=V-CV	\$ 1.651.000,00	\$ 1.651.000,00
Margen de beneficio unitario	MU=M/U	\$ 55.033,33	
Costos fijos	CF		\$ 624.000,00
Beneficio neto total	B=M-CF		\$ 1.027.000,00

Nota. La tabla presenta el sistema de costo directo para una bolsa de 100 g de polen fermentado utilizando el cultivo Yo-Mix, desglosando los costos asociados a materias primas, mano de obra, insumos y otros factores de producción.

Figura 29.

Sistemas de costos directo para bolsas de polen 100 g fermentado con (YM) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%



Nota. El gráfico presenta el sistema de costos directos para bolsas de 100 g de polen fermentado con (YM), incluyendo márgenes de ganancia del 20%, 30% y 40%, lo que refleja variaciones en la rentabilidad según el porcentaje aplicado.

Tabla 6.

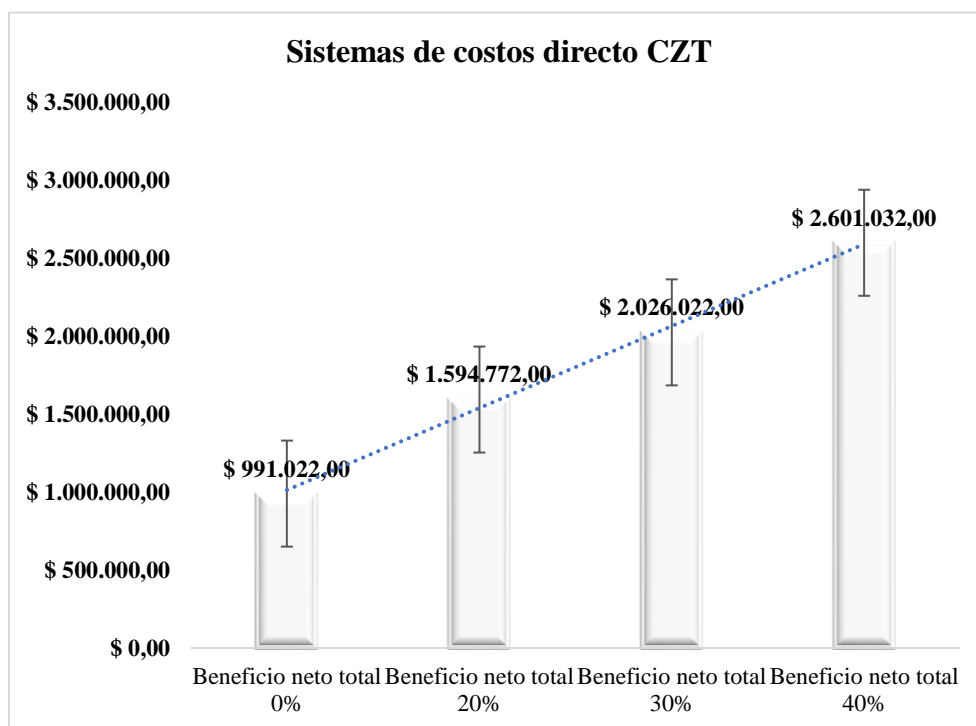
Sistema de costo directo para bolsa de polen de 100 g fermentado con (CZT)

Sistema de costo directo para bolsa de polen fermentado de 100 g			
CZT			
Concepto		Bolsa de polen fermentado de 100 g	Total
Unidades producidas	U	30	30
Ventas	V	\$ 2.415.000	\$ 2.415.000
Precio de venta unitario	$P=V/U$	\$ 80.500	
Costos variables			
Materia prima		\$ 120.000	\$ 120.000
Cultivo CZT TM 81 LYO 50		\$ 41.989	\$ 41.989
DCU			
Gastos de personal variables (mano de obra)		\$ 600.000	\$ 600.000
Otros gastos variables (empaquete)		\$ 20.000	\$ 20.000
Total, de Costos Variables	CV	\$ 781.989	\$ 781.989
Costo variable unitario	$CVU=CV/U$	\$ 26.066,30	
Margen de beneficio bruto	$M=V-CV$	\$ 1.633.011,00	\$ 1.633.011,00
Margen de beneficio unitario	$MU=M/U$	\$ 54.433,70	
Costos fijos	CF		\$ 641.989,00
Beneficio neto total	$B=M-CF$		\$ 991.022,00

Nota. La tabla presenta el sistema de costo directo para una bolsa de 100 g de polen fermentado utilizando el cultivo (CZT), desglosando los costos asociados a materias primas, mano de obra, insumos y otros factores de producción.

Figura 30.

Sistemas de costos directo para bolsas de polen de 100 g fermentado con (CZT) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%



Nota. El gráfico presenta el sistema de costos directos para bolsas de 100 g de polen fermentado con (CZT), incluyendo márgenes de ganancia del 20%, 30% y 40%, lo que refleja variaciones en la rentabilidad según el porcentaje aplicado.

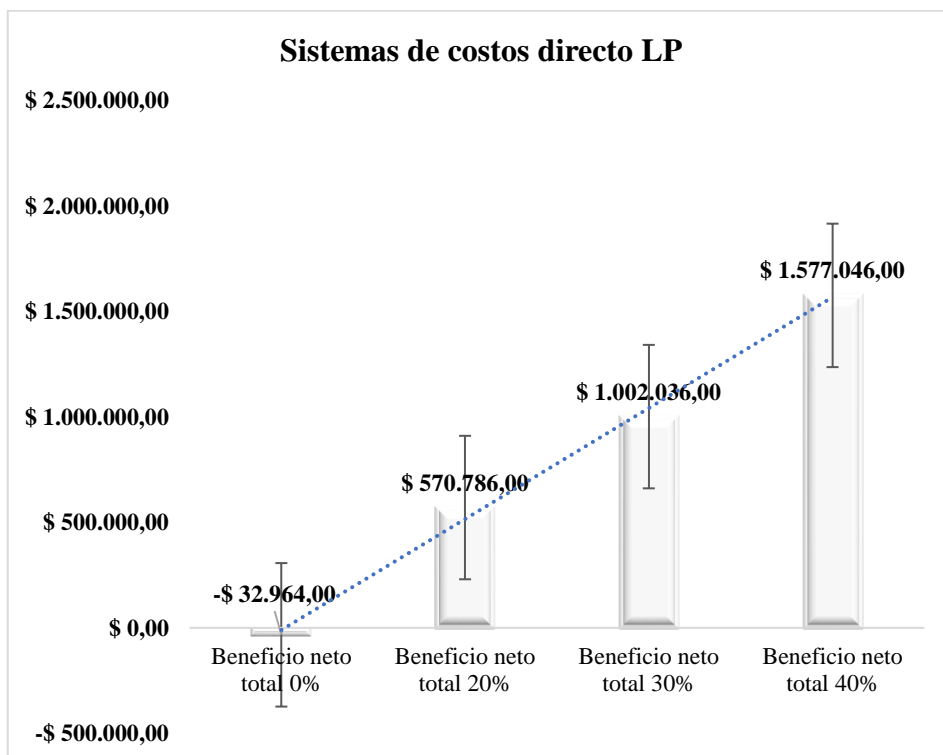
Tabla 7.*Sistema de costo directo para bolsa de polen de 100 g fermentado con (LP)*

Sistema de costo directo para bolsa de polen fermentado de 100 g			
LP			
Concepto		Bolsa de polen fermentado de 100 g	Total
Unidades producidas	U	30	30
Ventas	V	\$ 2.415.000,00	\$ 2.415.000
Precio de venta unitario	$P=V/U$	\$ 80.500	
Costos variables			
Materia prima		\$ 120.000	\$ 120.000
Cultivo LP ATCC 8014		\$ 553.982	\$ 553.982
Gastos de personal variables (mano de obra)		\$ 600.000	\$ 600.000
Otros gastos variables (empaque)		\$ 20.000	\$ 20.000
Total, de Costos Variables	CV	\$ 1.293.982	\$ 1.293.982
Costo variable unitario	$CVU=CV/U$	\$ 43.132,73	
Margen de beneficio bruto	$M=V-CV$	\$ 1.121.018,00	\$ 1.121.018,00
Margen de beneficio unitario	$MU=M/U$	\$ 37.367,27	
Costos fijos	CF		\$ 1.153.982,00
Beneficio neto total	$B=M-CF$		\$ -32.964,00

Nota. La tabla presenta el sistema de costo directo para una bolsa de 100 g de polen fermentado utilizando el cultivo (LP), desglosando los costos asociados a materias primas, mano de obra, insumos y otros factores de producción.

Figura 31.

Sistemas de costos directo para bolsas de polen de 100 g fermentado con (LP) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%



Nota. El gráfico presenta el sistema de costos directos para bolsas de 100 g de polen fermentado con (LP), incluyendo márgenes de ganancia del 20%, 30% y 40%, lo que refleja variaciones en la rentabilidad según el porcentaje aplicado.

Sistemas de costos directo para Bolsas de Polen 250 g con los distintos cultivos lácticos

Tabla 8.

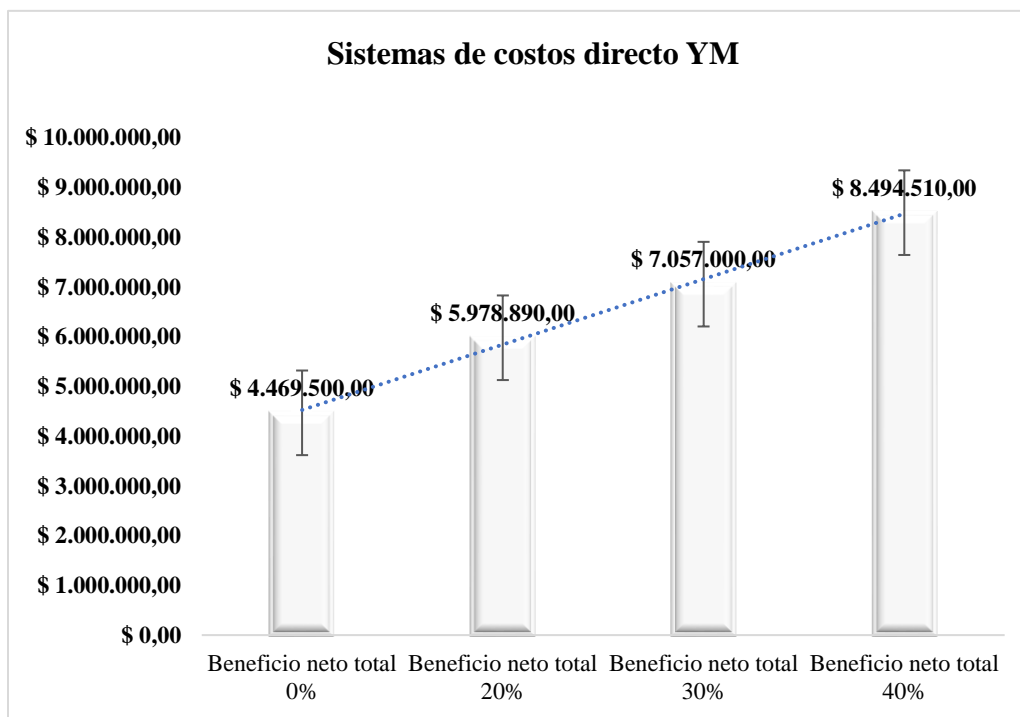
Sistema de costo directo para bolsa de polen de 250 g fermentado con (YM)

Sistema de costo directo para bolsa de polen fermentado de 250 g			
YM			
Concepto		Bolsa de polen fermentado de 250 g	Total
Unidades producidas	U	30	30
Ventas	V	\$ 6.037.500,00	\$ 6.037.500,00
Precio de venta unitario	$P=V/U$	\$ 201.250	
Costos variables			
Materias primas		\$ 300.000	\$ 300.000
Cultivo YM 885 LYO 50 DCU		\$ 24,000	\$ 24,000
Gastos de personal variables (mano de obra)		\$ 600.000	\$ 600.000
Otros gastos variables (empaques)		\$ 20.000	\$ 20.000
Total, de Costos Variables	CV	\$ 944.000	\$ 944.000
Costo variable unitario	$CVU=CV/U$	\$ 31.466,67	
Margen de beneficio bruto	$M=V-CV$	\$ 5.093.500,00	\$ 5.093.500,00
Margen de beneficio unitario	$MU=M/U$	\$ 195.582,53	
Costos fijos	CF		\$ 624.000,00
Beneficio neto total	$B=M-CF$		\$ 4.469.500,00

Nota. La tabla presenta el sistema de costo directo para una bolsa de 250 g de polen fermentado utilizando el cultivo (YM), desglosando los costos asociados a materias primas, mano de obra, insumos y otros factores de producción.

Figura 32.

Sistemas de costos directo para bolsas de polen 250 g fermentado con (YM) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%



Nota. El gráfico presenta el sistema de costos directos para bolsas de 250 g de polen fermentado con (YM), incluyendo márgenes de ganancia del 20%, 30% y 40%, lo que refleja variaciones en la rentabilidad según el porcentaje aplicado.

Tabla 9.

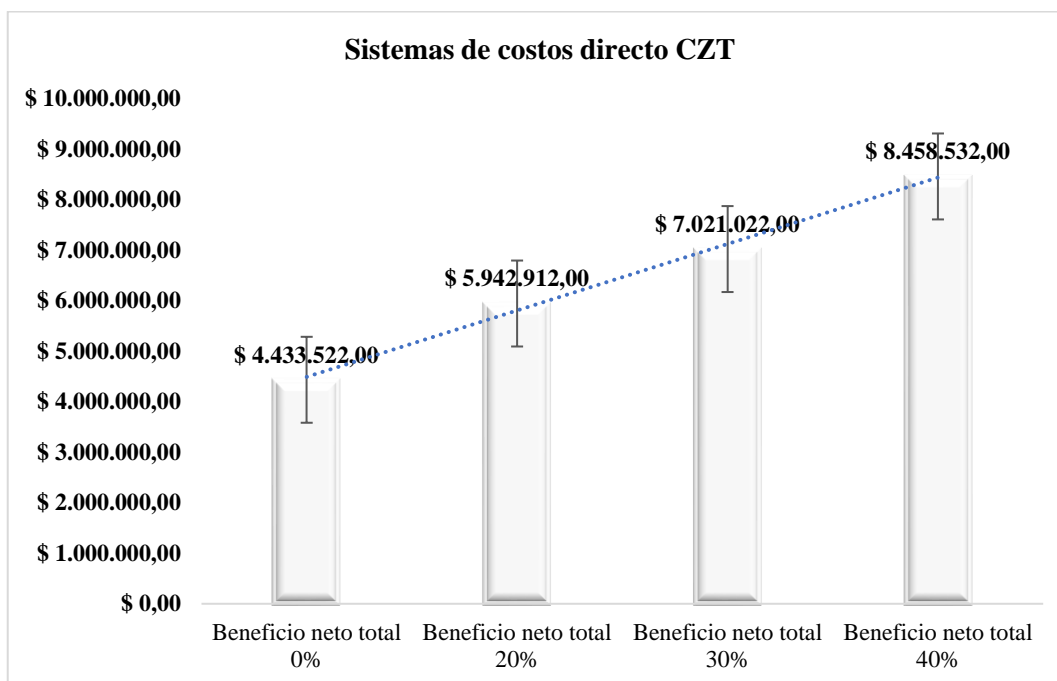
Sistema de costo directo para bolsa de polen de 250 g fermentado con (CZT)

Sistema de costo directo para bolsa de polen fermentado de 250 g			
CZT			
Concepto		Bolsa de polen fermentado de 250 g	Total
Unidades producidas	U	30	30
Ventas	V	\$ 6.037.500,00	\$ 6.037.500,00
Precio de venta unitario	$P=V/U$	\$ 201.250	
Costos variables			
Materia prima		\$ 300.000	\$ 300.000
Cultivo CZT TM 81 LYO 50		\$ 41.989	\$ 41.989
DCU			
Gastos de personal variables (mano de obra)		\$ 600.000	\$ 600.000
Otros gastos variables (empaquete)		\$ 20.000	\$ 20.000
Total, de Costos Variables	CV	\$ 961.989	\$ 961.989
Costo variable unitario	$CVU=CV/U$	\$32.066,30	
Margen de beneficio bruto	$M=V-CV$	\$ 5.075.511,00	\$ 5.075.511,00
Margen de beneficio unitario	$MU=M/U$	\$ 169.183,70	
Costos fijos	CF		\$ 641.989,00
Beneficio neto total	$B=M-CF$		\$ 4.433.522,00

Nota. La tabla presenta el sistema de costo directo para una bolsa de 250 g de polen fermentado utilizando el cultivo (CZT), desglosando los costos asociados a materias primas, mano de obra, insumos y otros factores de producción.

Figura 33.

Sistemas de costos directo para bolsas de polen 250 g fermentado con (CZT) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%



Nota. El gráfico presenta el sistema de costos directos para bolsas de 250 g de polen fermentado con (CZT), incluyendo márgenes de ganancia del 20%, 30% y 40%, lo que refleja variaciones en la rentabilidad según el porcentaje aplicado.

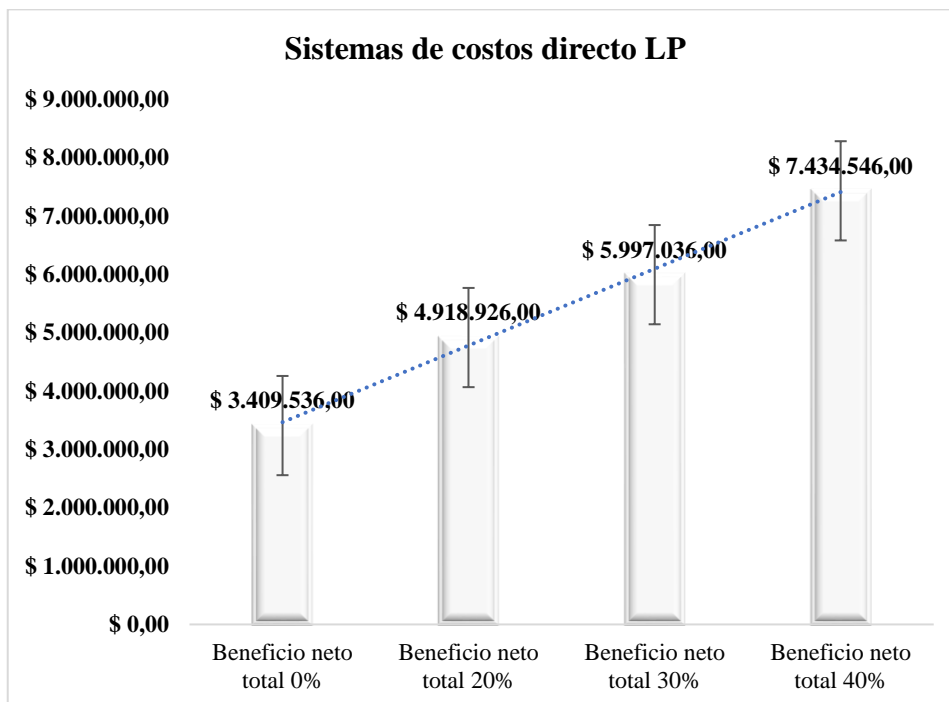
Tabla 10.*Sistema de costo directo para bolsa de polen de 250 g fermentado con (LP)*

Sistema de costo directo para bolsa de polen fermentado de 250 g			
LP			
Concepto		Bolsa de polen fermentado de 250 g	Total
Unidades producidas	U	30	30
Ventas	V	\$ 6.037.500	\$ 6.037.500
Precio de venta unitario	$P=V/U$	\$ 201.250	
Costos variables			
Materia prima		\$ 300.000	\$ 300.000
Cultivo LP ATCC 8014		\$ 553.982	\$ 553.982
Gastos de personal variables (mano de obra)		\$ 600.000	\$ 600.000
Otros gastos variables (empaquete)		\$ 20.000	\$ 20.000
Total, de Costos Variables	CV	\$ 1.473.982	\$ 1.293.982
Costo variable unitario	$CVU=CV/U$	\$ 49.132,73	
Margen de beneficio bruto	$M=V-CV$	\$ 4.563.518,00	\$ 4.563.518,00
Margen de beneficio unitario	$MU=M/U$	\$ 152.117,27	
Costos fijos	CF		\$ 1.153.982,00
Beneficio neto total	$B=M-CF$		\$ 3.409.536,00

Nota. La tabla presenta el sistema de costo directo para una bolsa de 250 g de polen fermentado utilizando el cultivo (LP), desglosando los costos asociados a materias primas, mano de obra, insumos y otros factores de producción.

Figura 34.

Sistemas de costos directo para bolsas de polen de 250 g fermentado con (LP) con margen de ganancia al 20%, 30% y 40%



Nota. El gráfico presenta el sistema de costos directos para bolsas de 250 g de polen fermentado con (LP), incluyendo márgenes de ganancia del 20%, 30% y 40%, lo que refleja variaciones en la rentabilidad según el porcentaje aplicado.

Conclusiones

El análisis de las propiedades funcionales del polen apícola fermentado revela que la fermentación con las cepas probióticas *Lactobacillus Plantarum* (LP), Choozit™ (CZT) y Yo-Mix™ (YM) mejora significativamente sus características bioactivas. La disminución gradual del pH durante la fermentación y la producción de ácido láctico confirmaron la eficacia de estas cepas en el proceso.

Los ensayos de capacidad antioxidante mostraron que la muestra fermentada con YM presentó una capacidad antioxidante superior en comparación con el polen no fermentado, lo que es consistente con los resultados de Kaškonienė et al. (2020), quienes encontraron mejoras en la actividad antioxidante del polen fermentado, aunque para este estudio se utilizó polen originario Vilnius, Lituania y se emplearon *Lactobacillus rhamnosus* y *lactis*. Asimismo, la muestra fermentada con LP demostró mayor capacidad antioxidante en el ensayo ABTS, confirmando los hallazgos de Domínguez y Quicazán (2019), en el cual utilizaron polen apícola multifloral del altiplano cundiboyacense colombiano, empleando *Lactobacillus Plantarum* y el mix Choozit™, observaron un incremento en la actividad antioxidante tras la fermentación, donde se registró un FRAP de 58.63 ± 4.79 y 38.22 ± 2.67 y TEAC 55.11 ± 1.90 y 58.18 ± 6.66 en las muestras inoculadas con CZT y LP respectivamente. Sin embargo el ensayo FRAP para este estudio no mostró diferencias significativas entre las muestras, aun así, la cepa YM presentó un mayor potencial reductor férrico.

La coincidencia de los resultados podría atribuirse a los cultivos utilizados, ya que contenían *Lactobacillus*, los cuales mejoran la fermentación al producir ácido láctico, incrementando la biodisponibilidad y actividad antioxidante del polen.

A pesar de las mejoras generales en propiedades funcionales, el estudio reveló que el contenido de humedad, lípidos y proteínas varió entre las muestras, indicando que las diferencias en el origen botánico del polen o en el metabolismo de las bacterias ácido-lácticas pueden influir en estos resultados. Estas observaciones coinciden con los estudios previos, pero la variabilidad en los resultados sugiere que la optimización del proceso de fermentación podría mejorar aún más las propiedades funcionales del polen apícola.

El análisis de costo-beneficio realizado para la producción a gran escala de polen apícola fermentado demostró que el proyecto es económicamente viable, los resultados obtenidos indicaron que el mejor porcentaje aplicable de ganancia es del 20% para el proyecto en fase 1. Las proyecciones indicaron que, para bolsas de 100g, el beneficio neto total superó el 35%, con ganancias al 20% de \$1.027.000 para la cepa YM y \$991.022 para la cepa CZT. Calculando el 35% de estas ganancias, se obtienen \$359.450 para YM y \$346.857,70 para CZT y para bolsas de 250g, las ganancias fueron aún más significativas, alcanzando \$4.469.500 con YM y \$4.433.522 con CZT ambas al 20% , de las cuales el 35% equivale a \$1.564.325 y \$1.551.732,70 respectivamente; estos resultados sugieren que la producción de polen apícola fermentado no solo es rentable, sino que también ofrece un margen de beneficio considerable, lo que respalda su viabilidad económica a gran escala.

Referencias Bibliográficas

- Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Alagawany, M., Farag, M. R., & Elnesr, S. S. (2019). Beneficial impacts of bee pollen in animal production, reproduction and health. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *103*(2), 477–484.
<https://doi.org/10.1111/JPN.13049>
- Adadi, P., Barajas, J., Martinez, T., & Rodríguez, E. (2011). Evaluation of the effect of temperature on the drying of bee pollen from two zones of cundinamarca. En *Año* (Vol. 78). <https://doi.org/http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v78n165/a05v78n165.pdf>
- Alonso, Q., & Gil, X. (14 de junio de 2023). Miel y polen, ¿qué te aporta cada uno?. Reina Kilama. <https://www.reinakilama.com/miel-y-polen-que-te-aporta-cada-uno/>
- Ares, A. M., Valverde, S., Bernal, J. L., Nozal, M. J., & Bernal, J. (2018). Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *147*, 110–124.
<https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2017.08.009>
- Ávila, F; Vergara, J; Herrera, G; Agamez, A, Mejia, W. (2012). Potencialidad de la capacidad agrícola de la zona de desarrollo económico y social-Zodes Montes de María del departamento de Bolívar-Colombia. *Desarrollo Económico y competitividad*. J4, N56, O13, O18, Q01.
https://www.researchgate.net/publication/281032601_Potencialidad_de_la_capacidad_agricola_de_la_zona_de_desarrollo_economico_y_social-Zodes_Montes_de_Maria_del_departamento_de_Bolivar-Colombia

- Balvanera, P., Quesada, M., Bastida, G., Sánchez, O., & Orduña, A. (14 de septiembre de 2022). Polinización. Biodiversidad México.
<https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/procesose/polinizacion>
- Barrier, S., Löbber, A., Boasman, A. J., Boa, A. N., Lorch, M., Atkin, S. L., & Mackenzie, G. (2010). Access to a primary aminosporepollenin solid support from plant spores. *Green Chemistry*, 12(2), 234–240. <https://doi.org/10.1039/B913215E>
- Bautista, J., & Zuluaga, C. (2017). Effect of lactic fermentation on the physicochemical characteristics of a nutritional complement for birds prepared from bee-pollen. *Journal of Research in Engineering Science- JRES*, 2, 67–75. <https://doi.org/10.33133/JRES-2-2017-171>
- Benavides, R., Quicazan, M., & Ramírez, C. (2017). *Evaluación de la digestibilidad y disponibilidad de nutrientes del polen apícola al aplicar diferentes pretratamientos*. https://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria_y_competitividad/article/view/2136
- Benavides, R., Quicazan, M., & Toro, C. (2020). *Influence of some factorson the lactic acid fermentationof bee pollen*. <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/publicaciones-e-investigacion/article/view/4484/4366>
- Bentabol, A., Hernández, Z., Perdomo, C., Solaz, A., & Hernández, A. (10 de marzo de 2021). *Los tipos de polinización*. Casa de la miel. <https://www.casadelamiel.org/es/los-tipos-de-polinizacion>

- Bonilla, Y., Rivera, U., & Arboleda, M. (11 enero de 2024). *El Carmen de Bolívar - Montes de María*. Sociedad Concesionaria vial Montes de María, SACYR.
<https://www.concesionariavialmontesdemaria.com/el-carmen-de-bolivar>
- Braille, L. (2022). *Pan de Abeja. ¿Qué es y en qué se diferencia del Polen?* Verdemiél.
<https://www.verdemiél.es/blog/2022/02/15/el-pan-de-abeja-el-producto-mas-completo-de-la-colmena/>
- Carbonero, P. (1975). *BIOQUÍMICA DE LAS FERMENTACIONES*. Universidad Politécnica de Madrid .
- Casas, L. (2016). *Determinación del origen botánico del polen corbicular colectado por Apis mellifera L. en apiarios establecidos en zonas biogeográficas del departamento de Boyacá*. Ibagué [Tesis de pregrado, Universidad del Tolima]. Repositorio institucional universidad del Tolima. <https://repository.ut.edu.co/handle/001/2680>
- Cruz, H., Flores, I., & García, J. (21 de mayo de 2018). *Las abejas y su aportación a la agricultura*. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/las-abejas-y-su-aportacion-a-la-agricultura>
- Dalmau, J. (15 de abril de 2024). *Todo sobre la fermentación*. Munkombucha.com
<https://munkombucha.com/blogs/noticias/todo-sobre-la-fermentacion>
- De Las, M., Ciciarelli, M., Passarelli, L. M., & Rolleri, C. H. (2010). Morfología del polen en especies de *Canna* (Cannaceae) y su implicancia sistemática. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN, 58(1), 63–79*.

- de Pierre Jean-Prost, C. de J. y D. et ál. (2018, febrero 28). *Polen de abeja: qué es y cómo se produce. Apicultura y miel*. <https://apiculturaymiel.com/productos-de-la-colmena/polen-de-abeja-que-es-como-se-produce/>
- Domínguez, E., & Heredia, A. (1998). Nuevas perspectivas sobre la composición de la cubierta del grano de polen. *Encuentros en la Biología, ISSN-e 1134-8496, N°. 46, 1998, 46, 3*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/citart?info=link&codigo=276924&orden=0>
- Dorđević, M., Vujović, T., Cerović, R., Glišić, I., Milošević, N., Marić, S., Radičević, S., Fotirić Akšić, M., & Meland, M. (2022). In Vitro and In Vivo Performance of Plum (*Prunus domestica* L.) Pollen from the Anthers Stored at Distinct Temperatures for Different Periods. *Horticulturae, 8(7)*, 616. <https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE8070616/S1>
- Duran, R. M., & Padilla, R. B. (1993). Antioxidant activity of phenolic compounds. *Grasas y Aceites, 44(2)*, 101–106. <https://doi.org/10.3989/GYA.1993.V44.I2.1105>
- Flores, K., Vargas, N., & Ríos, Q. (2019). *Palinología*. <https://es.org/wiki/Palinolog%C3%ADa>
- Fuenmayor, C. (2009). *Aplicación de bioprocesos en polen de abejas para la obtención de un suplemento nutricional proteico*. [Tesis de posgrado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio institucional Universidad Nacional. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11128>
- Fuenmayor, C., Quicazán, M., & Figueroa, J. (2011). DESARROLLO DE UN SUPLEMENTO NUTRICIONAL MEDIANTE LA FERMENTACIÓN EN FASE SÓLIDA DE POLEN DE ABEJAS EMPLEANDO BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

PROBIÓTICAS. *Alimentos Hoy*, 20(23), 17–39.

https://acta.org.co/acta_sites/alimentoshoy/index.php/hoy/article/view/24

Gonzales, A. (2016). *Anatomía Floral*. (1ª ed., Vol. 1). Departamento de Biología, Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.

<http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema22/tema22-9polen.htm>

Guayubar, R., & Guayubar, D. (10 de julio de 2019). *Polen de abeja. Qué es polen de abeja, para qué sirve y propiedad*. <https://www.apicolamontegayubar.com/blog/polen-abeja/>

Hidalgo, K. (2024). *Definición de compuesto bioactivo - Diccionario de cáncer del NCI*.

<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/compuesto-bioactivo>

Instituto Colombiano Agropecuario. (2023). *Requisitos para el registro ante el ICA de los predios destinados a las actividades productivas con la especie Apis mellifera y/o abejas sin aguijón*. <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/registro-de-predios-apicolas>

Influencia de algunos factores en la fermentación ácido-láctica del polen apícola. (2020, septiembre 21). <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/publicaciones-e-investigacion/article/view/4484/4366>

Jurado, H., Ramírez, C., & Aguirre, D. (2013). Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 7(2), 37-53. Universidad de Caldas.

<http://vetzootec.ucaldas.edu.co/downloads/v7n2a03.pdf>

- Kaškonienė, V., Adaškevičiūtė, V., Kaškonas, P., Mickienė, R., & Maruška, A. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of natural and fermented bee pollen. *Food Bioscience*, 34, 100532. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2020.100532>
- Kovacik, L., Plitzko, J. M., Grote, M., & Reichelt, R. (2009). Electron tomography of structures in the wall of hazel pollen grains. *Journal of Structural Biology*, 166(3), 263–271. <https://doi.org/10.1016/J.JSB.2009.03.008>
- López, E. H. F. (2020). *Apis mellifera | Ecos del Bosque*. <https://ecosdelbosque.com/fauna/apis-mellifera>
- Lozano, M. X. (2018). *Phenolic compound chemistry*. Springer, University, West Lafayette, IN, U.S.A. https://www.academia.edu/31585750/Phenolic_compound_chemistry_pdf
- Manzano, J. (2019). *Diferencia entre el polen, grano de polen apícola y pan de abeja*. Ecocolmena.org. <https://www.ecocolmena.org/diferencia-entre-polen-grano-de-polen-apicola-y-pan-de-abeja/>
- Mărghitaș, L. A., Stanciu, O. G., Dezmirean, D. S., Bobiș, O., Popescu, O., Bogdanov, S., & Campos, M. G. (2009). In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chemistry*, 115(3), 878–883. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.01.014>
- Martín, D. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Martínez, C., Londoño, O., & López, E. (2023). *El Carmen de Bolívar*. https://es.wikipedia.org/wiki/El_Carmen_de_Bol%C3%ADvar

- Mary, R., & Guevara, B. (2016). *Evaluación de pretratamientos en el polen apícola como alternativa de adecuación para un sustrato de fermentación láctica*. [Tesis de posgrado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio institucional Universidad Nacional. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/56591>
- Mayer, C., & Kessler, R. (03 de noviembre de 2021). *POLINIZACIÓN Y BIODIVERSIDAD: ESTADO ACTUAL DE CONOCIMIENTO*. APOLO. <https://apolo.entomologica.es/index.php?d=polbiodiv>
- Merino, R. (2013). *Antioxidant capacity and total phenolic content in bee pollen*. [Tesis de pregrado, Universidad de Valladolid]. Repositorio Universidad de Valladolid. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/63403/TFG-G6736.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.(20 de mayo de 2020). *Las abejas, las reinas de nuestra biodiversidad*. Minambiente. <https://www.minambiente.gov.co/las-abejas-las-reinas-de-nuestra-biodiversidad/>
- Mora Adames, W. I. (2017). *Aplicación de fermentación láctica en el desarrollo de productos para la generación de valor en polen apícola*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/62433>
- Nardini, M. (2022). Phenolic Compounds in Food: Characterization and Health Benefits. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 783, 27(3), 783. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27030783>
- Nel, P., Reyes, V., Patiño, U., & Díaz, W. (08 de diciembre de 2024). *UNA MIRADA MICROSCÓPICA A LA POLINIZACIÓN*. Redcultural Medellín UNAL.

https://redcultural.medellin.unal.edu.co/expored/index.php?option=com_content&view=article&id=6

Organización de las Naciones Unidas. (18 de mayo de 2022). *Por qué las abejas son esenciales para las personas y el planeta*. ONU Programa para el medio ambiente. <https://www.unep.org/es/noticias-y-reportajes/reportajes/por-que-las-abejas-son-esenciales-para-las-personas-y-el-planeta>

Osorio, M., Hernandez, J., & Salamanca, G. (2017). *PHENOLIC COMPOSITION ANTIOXIDANT AND FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF COLOMBIAN CORBICULAR BEE POLLEN*. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias biológicas. https://www.researchgate.net/publication/322694584_PHENOLIC_COMPOSITION_ANTIOXIDANT_AND_FREE_RADICAL_SCAVENGING_ACTIVITY_OF_COLOMBIAN_CORBICULAR_BEE_POLLEN

Ostos, O., Rosas, S., & Gonzales, J. (2018). *Biotechnological applications of microorganisms*. *Nova* [online]. 2019, vol.17, n.31, pp.129-163. ISSN 1794-2470. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-24702019000100129&script=sci_abstract&tlng=en

Palacio, A. N., Ochoa, D., Diana, B., & Benítez, M. T. (2010). Estudio de Comercialización de Miel de Abejas Natural desde Antioquia. [Tesis de pregrado, Institución Universitaria de Envigado]. Repositorio institucional Institución Universitaria de Envigado. <https://bibliotecadigital.iue.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12717/116/1/CD1118.pdf>

Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-

inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 233–239.

<https://doi.org/10.1016/J.FCT.2013.11.010>

Plaza, L., Hernández, O., Cumella, J., Barcenilla, J., Mancheño, J., López de Felipe, F., Corzo, N., Moreno, F., Muñoz, R., & De Las Rivas, B. (2018). *Enzimas modificadoras de carbohidratos de Lactobacillus Plantarum WCFS1: caracterización genética, funcional y estructural*. INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS Y NUTRICION. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/10261/171720>

Ponce de León, I., & Ibarra, F. (2022). *Que son flavonoides y para que sirven*. Fundación canna. <https://www.fundacion-canna.es/flavonoides>

Portillo, C. (2016). *Identificación de levaduras presentes en el proceso de transformación de polen corbicular a pan de abejas por métodos tradicionales y moleculares*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio institucional Universidad Nacional. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/56727/carlayojanaportillocarrascal.2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Quiñones, H., Piedrahita, F., Velásquez, D., & Agrosavia. (2024). *Uso del del polen apícola como ingrediente de interés nutricional y antioxidante en matrices alimentarias*. https://www.agrosavia.co/eventos/ft_6181

Real Academia Española. (2011). *In vitro*. <https://www.rae.es/diccionario-estudiante/in%20vitro>

Roulston, T. H., & Cane, J. H. (2000). Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution*, 222(1–4), 187–209. <https://doi.org/10.1007/BF00984102/METRICS>

- Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., & Mattila-Sandholm, T. (2002). Gut bacteria and health foods—the European perspective. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2), 99–117. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00235-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00235-0)
- Sabinars, A. (23 de marzo de 2021). *Composición del polen de abeja*. Miel Sabinars Arlanza <https://www.mielarlanza.com/composicion-del-polen-de-abeja/>
- Salazar González, C. Y. (2014). *EVALUACIÓN DE DIFERENTES CONDICIONES DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN FASE SÓLIDA DE POLEN APÍCOLA*. [Tesis de posgrado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio institucional Universidad Nacional. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/52270>
- Serrano, M., Ojeda, N., & Navarro, E. (11 de febrero de 2024). *Polen de abeja: qué es y para qué sirve - Reina Kilama*. <https://www.reinakilama.com/polen-de-abeja-que-es-y-para-que-sirve/>
- Sifuentes, A. (2018). *Polen de abejas colombiano: alimento de alto valor nutricional y terapéutico*. <https://apiterapia.com.co/polen-de-abejas-colombiano/>
- Sindei Mojica, J., Carvajalino, M., & Duarte, A. (2023a). *El Carmen de Bolívar*. Agencia Nacional de Tierras. <https://www.ant.gov.co/wp-content/uploads/2024/01/AF-DTS-EL-CARMEN-DE-BOLIVAR-V1.pdf>
- Sindei Mojica, J., Carvajalino, M., & Duarte, A. (2023b). *El Carmen de Bolívar*. Agencia Nacional de Tierras. <https://www.ant.gov.co/wp-content/uploads/2024/01/AF-DTS-EL-CARMEN-DE-BOLIVAR-V1.pdf>

- Taylor, L., Garcia, H., & Davis, G. (31 de julio de 2017). *¿Tiene realmente el polen de abeja beneficios para la dieta y para la salud? - BBC News Mundo*.
<https://www.bbc.com/mundo/noticias-40740556>
- Tejada, L., Serrano, M., & Álvarez, S. (2022). *Fermentación láctica en la industria alimentaria*. Autmix. <https://autmix.com/blog/que-es-fermentacion-lactica>
- Tsuruda, J. M., Chakrabarti, P., & Sagili, R. R. (2021). Honey Bee Nutrition. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 37(3), 505–519.
<https://doi.org/10.1016/J.CVFA.2021.06.006/ATTACHMENT/09D5141C-D247-46F4-8C3A-9FBE20CF2BC7/MMC1.MP4>
- Urta, F. (07 de diciembre de 2015). *Sobre insectos polinizadores*. Museo Nacional de Historia Natural Chile <https://www.mnhn.gob.cl/noticias/sobre-insectos-polinizadores>
- Uțoiu, E., Matei, F., Toma, A., Diguță, C. F., Ștefan, L. M., Mănoiu, S., Vărăjmașu, V. V., Moraru, I., Oancea, A., Israel-Roming, F., Cornea, C. P., Constantinescu-Aruxandei, D., Moraru, A., & Oancea, F. (2018). Bee collected pollen with enhanced health benefits, produced by fermentation with a Kombucha Consortium. *Nutrients*, 10(10).
<https://doi.org/10.3390/nu10101365>
- Shirsat, D., K. Kad, S., & M. Wakhle, D. (2019). Solid State Fermentation of Bee-Collected Pollen. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(05), 1557–1563. <https://doi.org/10.20546/IJCMAS.2019.805.180>
- Valencia, J., Bermúdez, K., Tamayo, L., Zapata, M., & Giraldo, N. (2024). *La apicultura como motor de la seguridad alimentaria del país: propuesta de la San Martín*.

<https://www.sanmartin.edu.co/1/noticias/apicultura-como-motor-de-la-seguridad-alimentaria-del-pais-propuesta-san-martin/>

Van Acker, S. A. B. E., Van Den Berg, D. J., Tromp, M. N. J. L., Griffioen, D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J. F., & Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 331–342.

[https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02047-0](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02047-0)

Villanueva, M., & Instituto Colombiano Agropecuario. (2022). *PROGRAMA SANITARIO APICOLA*. <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/programa-apicola>

Vinderola, G., Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Reinheimer, J., & Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), 1033–1040.

<https://doi.org/10.1016/J.FM.2011.02.009>

Vit, P. (2004a). Productos de la colmena recolectados y procesados por las abejas: Miel, polen y propóleos. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 35(2), 32–39.

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

[04772004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Vit, P. (2004b). Productos de la colmena recolectados y procesados por las abejas: Miel, polen y propóleos. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 35(2), 32–39.

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

[04772004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

- Yan, S., Li, Q., Xue, X., Wang, K., Zhao, L., & Wu, L. (2019). Analysis of improved nutritional composition of bee pollen (*Brassica campestris* L.) after different fermentation treatments. *International Journal of Food Science & Technology*, *54*(6), 2169–2181. <https://doi.org/10.1111/IJFS.14124>
- Zhang, H., Lu, Q., & Liu, R. (2022). Widely targeted metabolomics analysis reveals the effect of fermentation on the chemical composition of bee pollen. *Food Chemistry*, *375*, 131908. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.131908>
- Zhang, H., Zhu, X., Huang, Q., Zhang, L., Liu, X., Liu, R., & Lu, Q. (2023). Antioxidant and anti-inflammatory activities of rape bee pollen after fermentation and their correlation with chemical components by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry-based untargeted metabolomics. *Food Chemistry*, *409*, 135342. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.135342>
- Zuluaga, C. (2016). *Valorización de polen apícola como alimento mediante el desarrollo de un proceso físico o biotecnológico*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/56771>
- Zuluaga, C., & Quicazan, M. (2019a). Effect of Fermentation on Structural Characteristics and Bioactive Compounds of Bee-Pollen based Food. *Journal of Apicultural Science*. <https://doi.org/10.2478/JAS-2019-0016>
- Zuluaga, C., & Quicazan, M. (2019b). EFFECT OF FERMENTATION ON STRUCTURAL CHARACTERISTICS AND BIOACTIVE COMPOUNDS OF BEE-POLLEN BASED FOOD. *Journal of Apicultural Science*, *63*(2), 209–222. <https://doi.org/10.2478/JAS-2019-0016>

Apéndices

Apéndices A. *Recolección de las muestras*

Recolección de las muestras



Preparación para recolección de las muestras



Recolección de las muestras polen



Polen cosechado

Apéndices B. Pretratamiento del polen

Pretratamiento del polen



Proceso de Tamizado



**Proceso de sacado por 7 hora a
55 °C**

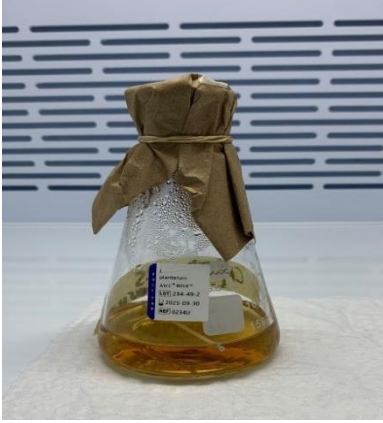


**Almacenamiento en bolsas de
polietileno a 4 °C**

Nota. Este apéndice detalla el proceso completo de pretratamiento del polen, comenzando con el tamizado para eliminar impurezas, seguido de su acondicionamiento, y culminando con las etapas de conservación y almacenamiento en condiciones controladas para preservar sus propiedades nutricionales y bioactivas.

Apéndices C.

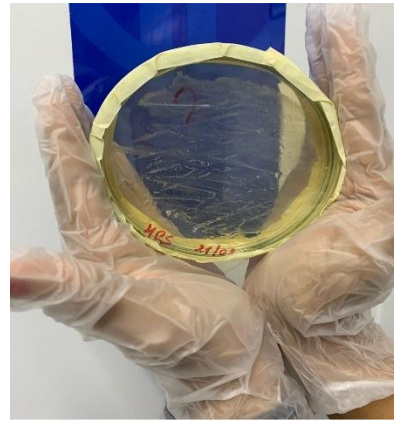
Activación de bacterias ácido-lácticas



Activación de la cepa LP



Activación de YM y CZT



Siembra en placas con agar MRS

Nota. Este apéndice expone las distintas fases del proceso de activación de bacterias ácido-lácticas, desde la rehidratación inicial, pasando por su acondicionamiento en medios de cultivo específicos, hasta alcanzar su pleno estado de actividad para ser utilizadas en la fermentación.

Apéndices D.

Preparación del inóculo



Cepas activas



Preparación del inóculo



Inóculo preparado

Nota. Este apéndice describe el procedimiento de preparación del inóculo, que abarca la selección y activación de microorganismos, su rehidratación en medios adecuados, y el ajuste de condiciones para asegurar una concentración óptima y viabilidad, garantizando así la eficacia del proceso de fermentación.

Apéndices E.

Preparación del sustrato y fermentación



**Proporciones 1: 1 y 2: 1 de
agua: polen**



**Preparación de muestras 1:1 y
2:1 con (LP), (CZT) y (YM)**



**Fermentación e incubación a
37 °C durante 72 horas**

Nota. Este apéndice describe la preparación del sustrato y el proceso de fermentación, detallando las proporciones de mezcla de agua y polen en relaciones 1:1 y 2:1. Se incluyen las proporciones de preparación de muestras 1:1 y 2:1 utilizando cultivos probióticos (LP), (CZT) y (YM). Además, se especifica el proceso de fermentación e incubación a 37 °C durante 72 horas para asegurar la adecuada transformación del polen.

Apéndices F.*Polen seco sin fermentar*

CÓD.	MUESTRA	Coliformes Totales	Coliformes fecales	Mesófilos aerobios	<i>Staphylococcus coagulasa positiva</i>	<i>Esporas de Clostridium Sulfito Reductor</i>
0540-03-24	Polen seco sin fermentar	<3NMP/g	<3NMP/g	0 ufc/g	0 ufc/g	0 ufc/g
0540-03-24	Polen seco sin fermentar	<3NMP/g	<3NMP/g	0 ufc/g	0 ufc/g	0 ufc/g
		BAM	BAM	ISO	ISO	INVIMA
	MÉTODOS	Chapter 4	Chapter 4	4833-1:2014	6888-1:2001	

Nota: Esta tabla presenta los resultados microbiológicos obtenidos para las muestras de polen seco sin fermentar, analizados de acuerdo con los métodos establecidos.

Apéndices G.*Análisis microbiológicos de muestra blanco: polen sin inóculo 1:1*

CÓD.	MUESTRA	Coliformes Totales	Coliformes fecales	Mesófilos aerobios	<i>Staphylococcus coagulasa positiva</i>	<i>Esporas de Clostridium Sulfito Reductor</i>
0541-03-24	Blanco: Polen sin inóculo 1:1	<3NMP/g	<3NMP/g	0 ufc/g	0 ufc/g	0 ufc/g
0541-03-24	Blanco: Polen sin inóculo 1:1	<3NMP/g	<3NMP/g	0 ufc/g	0 ufc/g	0 ufc/g
		BAM	BAM	ISO	ISO	INVIMA
	MÉTODOS	Chapter 4	Chapter 4	4833-1:2014	6888-1:2001	

Nota: Esta tabla muestra los resultados microbiológicos para la muestra blanco: polen sin inóculo 1:1 analizada según los métodos especificados.

Apéndices H.*Análisis microbiológicos de polen fermentado inoculo 1:1 (Lactobacillus plantarum 1.1)*

CÓD.	MUESTRA	Coliformes Totales	Coliformes fecales	Mesófilos aerobios	Staphylococcus coagulasa positiva	Esporas de Clostridium Sulfito Reductor
0542-03-24	Polen fermentado inoculo 1:1 (<i>Lactobacillus plantarum</i>)	<3NMP/g	<3NMP/g	660 ufc/g	0 ufc/g	0 ufc/g
0542-03-24	Polen fermentado inoculo 1:1 (<i>Lactobacillus plantarum</i>)	<3NMP/g	<3NMP/g	590 ufc/g	0 ufc/g	0 ufc/g
MÉTODOS		BAM Chapter 4	BAM Chapter 4	ISO 4833-1:2014	ISO 6888-1:2001	INVIMA

Nota: Esta tabla muestra los resultados microbiológicos de polen fermentado inoculo 1:1 (*Lactobacillus plantarum*) analizadas según los métodos especificados.

Las muestras de polen sin fermentar y MB muestran niveles muy bajos o indetectables de todos los tipos de microorganismos evaluados. No obstante, en las muestras de polen fermentado con LP, se observa un aumento significativo en la cantidad de mesófilos aerobios, lo que indica un crecimiento microbiano durante el proceso de fermentación, los otros tipos de microorganismos evaluados permanecen en niveles bajos o indetectables, lo que sugiere que la fermentación con LP no ha introducido contaminantes indeseables en la muestra.