

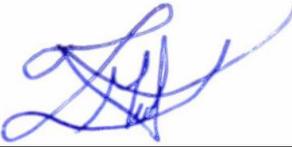
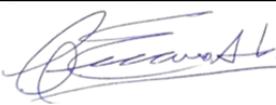
**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DIRECCION DE INVESTIGACION**

NOMBRE DE LA INVESTIGACIÓN.

Evaluación de parámetros microbiológicos en concordancia con la norma salvadoreña de jalea real NSO: 67.38.03:05 en diferentes técnicas de extracción de jalea real de abejas (*Apis mellifera*).

TÍTULO A OBTENER: Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia

AUTORES.

Nombres, apellidos	Institución y dirección	Teléfono y E-mail	Firma
Magaña Reyes, Fatima Elizabeth	Jardines de la sabana 1 senda seis polígono 4 e casa número 20 Ciudad Merliot	7527-2942 fatyely_515@gmail.com	
Montiel Sandoval, Linda Jacqueline	Residencial cumbres de Santa Tecla pasaje11 polígono I-3 casa número 24	7712-3069 cottonlinda55@gmail.com	
Ingeniero Agrónomo Carlos Enrique Ruano Iraheta	Universidad de El Salvador, Facultad C.C.A.A. Depto. Zootecnia	74178782 cruano33@yahoo.com	

Visto bueno:

Ing. Carlos Enrique Ruano Iraheta Coordinador General de Procesos de Graduación del Departamento de Zootecnia	Firma: 
Ing. Enrique Alonso Alas García Director General de Procesos de Graduación de la Facultad:	Firma: 
Ing. Msc. Blanca Eugenia Torres de Ortiz Jefe del Departamento de Zootecnia:	Firma: _____
Sello: 	
Lugar y fecha: Ciudad Universitaria, 29 de septiembre de 2020	

Evaluación de parámetros microbiológicos en concordancia con la norma salvadoreña de jalea real NSO: 67.38.03:05 en diferentes técnicas de extracción de jalea real de abejas (*Apis mellifera*).

AUTORES: Magaña Reyes, FE. Montiel Sandoval, LJ.¹ Ruano Iraheta, CE.²

RESUMEN.

La presente investigación fue realizada en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador; en el municipio de San Luis Talpa, cantón Tecualuya del departamento de La Paz, en donde se evaluaron tres tratamientos en estudio para la extracción de jalea real de abejas *Apis mellifera*: T1-bomba neumática, T2-espátula y T3-jeringa, en el periodo del 26 de abril al 8 de diciembre del año 2019. Utilizando 12 colmenas seleccionadas en forma aleatoria para el estudio. Las muestras de jalea real fueron analizadas en el laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), ubicado en la Universidad de El Salvador. Se utilizó el diseño de bloques completos al azar, con un nivel de significancia del 5%. Las variables en estudio fueron: peso de jalea real extraída, residuo de jalea real en el equipo utilizado, presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, presencia de hongos y levaduras, y presupuesto parcial en base al CIMMYT.

Los tratamientos en estudio: T1-bomba neumática, T2-espátula y T3-jeringa, presentaron iguales efectos sobre la variable peso y diferencias ($p \leq 0.05$) sobre la variable residuo, los mejores tratamientos para esta variable según la prueba de Duncan, fueron: T1 y T2. La mayor cantidad de jalea real extraída se observó en el T2 con un promedio por colmena de $2.08 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$, en comparación con el T3 y T1, en los que se obtuvo $1.88 \text{ g} \pm 0.17 \text{ g}$ y $1.98 \text{ g} \pm 0.45 \text{ g}$, respectivamente por colmena. Las muestras analizadas cumplieron con los parámetros microbiológicos establecidos, con excepción de T2 (espátula), en donde se evidenció únicamente en la primera cosecha presencia de coliformes totales (por contaminación cruzada). Económicamente el tratamiento con mejores resultados fue el T2 (espátula), el cual generó mejores resultados en cuanto a su presupuesto parcial, en el cual se obtuvo un beneficio neto parcial de \$14.23 para la producción de tres meses, pero únicamente se incluyeron los costos necesarios para la extracción de la jalea real. Las conclusiones principales fueron: El mayor promedio de jalea real extraída por colmena fue la espátula con $2.08 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$. La jalea real extraída en el estudio posee las condiciones necesarias para el consumo, comparados con la norma salvadoreña NSO 67.38.03:05, excepto por las muestras obtenidas de la cosecha uno del tratamiento dos; con espátula, porque se observó presencia de coliformes totales, las cuales no están relacionadas a ETA, por lo tanto, se consideró que puede ser consumida sin riesgo de enfermedad.

Palabras clave: jalea real, métodos de extracción, bomba neumática, *Escherichia coli*, beneficio neto.

¹ Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Zootecnia, Estudiantes tesistas.

² Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Zootecnia, Docente asesor.

ABSTRACT

This research was carried out at the Experimental and Practice Station of the Faculty of Agronomic Sciences of the University of El Salvador; in the municipality of San Luis Talpa, Tecualuya canton of the department of La Paz, where three treatments under study were evaluated for the extraction of royal jelly from the *Apis mellifera* bee: T1-pneumatic pump, T2-spatula and T3-syringe, in the period from April 26 to December 8, 2019. In 12 hives each of these were randomly selected. The royal jelly samples were analyzed in the Food Microbiology laboratory of the Center for Research and Development in Health (CENSALUD), located at the University of El Salvador. The randomized complete block design was used, with a significance level of 5%. The variables under study were: weight of royal jelly extracted, residual of royal jelly in the equipment used, presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, fungi and yeasts, and partial budget based on CIMMYT.

The treatments under study: T1-pneumatic pump, T2-spatula and T3-syringe, presented the same effects on the weight variable and differences ($p \leq 0.05$) on the residual variable, the best treatments for this variable applying Duncan's test were: T1 and T2. The highest amount of extracted royal jelly was observed in T2 with an average per hive of $2.08 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$, compared to T3 and T1, in which $1.88 \text{ g} \pm 0.17 \text{ g}$ and $1.98 \text{ g} \pm 0.45 \text{ g}$ were obtained, respectively by hive. The analyzed samples complied with the established microbiological parameters, with the exception of T2 (spatula), where the presence of total coliforms (due to cross contamination) was evidenced only in the first harvest. Economically, the treatment with the best results was T2 (spatula), which generated better results in terms of its partial budget. The treatment that generated the best results based on a partial budget is the T2 treatment (spatula), in which a partial net benefit of \$ 14.23 was obtained for the three-month production, but only the costs necessary for the extraction of the jelly were included. The main conclusions were: The highest average was the spatula with $2.08 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$ per hive. The royal jelly extracted in the study has the necessary conditions for consumption, compared to the Salvadoran standard NSO 67.38.03: 05, except for the samples obtained from harvest one of treatment two; with spatula, because the presence of total coliforms was observed, which are not related to ATS, therefore, it was considered that it can be consumed without risk of disease.

Keywords: royal jelly, extraction methods, pneumatic pump, *Escherichia coli*, net benefit.

1. INTRODUCCION

La gran mayoría de apicultores salvadoreños independientes y apicultores asociados en cooperativas se dedican a la comercialización de miel específicamente, dejando de lado otros productos de la colmena, como la jalea real, cera, polen, api toxina, propóleos por lo que desaprovechan una fuente extra de ingresos. La jalea real tiene diferentes elementos de los cuales se puede mencionar: proteínas, azúcares, grasas, minerales y vitaminas” (Bradbear, 2005). Se trata de una sustancia cremosa, de color blanco lechoso, altamente nitrogenada, con olor levemente picante y un sabor amargo y ácido” (Pérez y Jimeno, 1988).

Para la producción de jalea real específicamente es necesario el conocimiento de cría artificial de abejas reina en la colmena, uno de estos es el método Hopkings, el cual es una manera de producir reinas sin hacer traslarve a copas celdas. (Swiss Contact, 2010). En este estudio, se evaluaron tres métodos alternativos de extracción de jalea real, con el objetivo de determinar cuál de los tratamientos evaluados es la mejor opción, en cuanto a la cantidad de jalea real extraída, la menor cantidad de residuo generado, con ausencia de microorganismos patógenos y con bajos costos de producción, para que los productores con baja y mediana tecnificación puedan comercializar a nivel nacional, regional e internacional.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Ubicación

La investigación fue realizada en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador; en el municipio de San Luis Talpa, cantón Tecualuya del departamento de La Paz, ubicado en las siguientes coordenadas: 13°28'3" latitud norte, -89°05'8" longitud oeste y elevación 50 msnm. El estudio comenzó con la fase de preparación de las colmenas, donde se realizaron actividades rutinarias como alimentación artificial, reparación de marcos, aceptación de marcos con refuerzo de cría, miel y polen, esto con la finalidad de mantener fuerte la colmena, esta fase inicio el 26 de abril, la fase experimental inicio el 12 de agosto y finalizó el 8 de noviembre de 2019. La fase de laboratorio comenzó el 15 de noviembre y finalizó el 11 de diciembre del 2019.

Las unidades experimentales fueron 12 núcleos de *Apis mellifera* con cinco marcos en cada caja. Posteriormente se manejaron para convertirlas en colmenas completas de 10 marcos en cajas tipo Langstroth. Los núcleos fueron adquiridos de un apicultor en el municipio de San Juan Opico, departamento de La Libertad, cuyo apiario se encuentra ubicado en las siguientes coordenadas: 13°53'00" latitud norte, -89°21'0" longitud oeste y elevación 492 msnm.

2.2 Metodología de campo

La extracción de jalea real se realizó bajo el método Hopkings para cría artificial de reinas, se realizaron tres cosechas, la primera cosecha inicio el 12 de agosto de 2019 y finalizó el 6 de septiembre de 2019, la segunda cosecha inicio el 9 de septiembre y finalizo el 4 de octubre 2019 y finalmente la tercera cosecha inicio el 7 de octubre y termino el 1 de noviembre 2019. En cada cosecha se evaluaron las tres técnicas de extracción de jalea real, cada una en una colmena diferente, el periodo de descanso para cada colmena fue de tres semanas entre cosecha. Se marcó la colmena con una letra del alfabeto, seguido de un número romano que identifica a cada bloque o semana en la que se realizó la cosecha, y luego un número arábigo del uno al tres que identifica el tratamiento evaluado, los cuales corresponden a los siguientes:

Tratamiento 1(T 1): Extracción de jalea real con bomba neumática, con presión de aspiración de 40 litros por hora, dimensiones de 23cm de diámetro y 17cm de altura, fabricada en acero inoxidable y manguera flexible transparente de 50cm. (Testigo relativo).

Tratamiento 2 (T 2): Extracción de jalea real con espátula de extracción hecha de acero inoxidable, 7cm de longitud, 1 mm de diámetro y un peso de 20 gramos aproximadamente.

Tratamiento 3 (T 3): Extracción de jalea real con embolo de jeringa plástica de 1ml.

Se preparó un espacio contiguo al módulo apícola de la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, donde se realizó la fase de campo de la investigación, para lo cual se llevaron a cabo las siguientes tareas:

- 2.2.1 Preparación del terreno: Se eliminaron plantas indeseables en el lugar donde se colocarían las colmenas posteriormente, para evitar que contribuyeran a la proliferación de hormigas, hongos u otras especies nocivas para las abejas.
- 2.2.2 Montaje del apiario: Montaje de las colmenas en el terreno seleccionado, cada núcleo de colmena fue colocado sobre una base. Cada una de las bases fueron fabricadas de pupitres no utilizados y las cajas se ubicaron a una altura del suelo de 80 centímetros.
- 2.2.3 Fabricación de reglas o media alza: Se elaboraron 2 reglas de madera de 2 cm de espesor por 15 cm de largo las cuales fueron utilizadas como una media alza. Se utilizaron dos por colmena para permitir que el marco permaneciera en posición horizontal sin caer por completo sobre la colmena dejando un espacio por debajo de aproximadamente 2cm.
- 2.2.4 Homogenización de las colmenas: Una vez montado el criadero, se realizaron revisiones, en busca de posibles enfermedades o patrones de cría inusual. Además de la colocación de cera estampada para completar los 10 marcos de la colmena. Antes de iniciar la prueba de los tres tratamientos todas las colmenas constaban de 10 marcos con muy buena aceptación de la cera estampada por parte de las abejas.
- 2.2.5 Alimentación artificial de estímulo: Se suministró una parte de azúcar por una igual de agua durante toda la fase de campo, con la finalidad de mantener fuerte las colonias durante el proceso de remoción de la reina.
- 2.2.6 Remoción de la reina: Se removió la reina de una colmena para que esta iniciará la producción de celdas reales, para esto se utilizó una caja núcleo vacía, para colocar los marcos de los laterales y dejar únicamente 2 a 3 marcos en el centro de la colmena, la abeja reina se ubica generalmente en estos, y es rodeada por las obreras, al localizarla era extraída y colocada en el ahumador para evitar que su feromona continuara realizando efecto sobre las obreras.
- 2.2.7 Se eligió un marco con abundante larva del día y huevos próximos a eclosionar, provenientes de una colmena donante y se colocó en posición horizontal sobre la cámara de cría, con ayuda de las reglas de madera, las cuales se ubicaron a ambos lados del marco, de modo que se facilitó la fabricación natural de copas celdas. Se formaron de 12 a 16 copas celdas por colmena, pero se utilizó un número de 10 copas celdas en cada colmena para la investigación, con el fin de facilitar la recolecta y de homogenizar la cantidad de copas celdas cosechadas por colmena.
- 2.2.8 Se marcó cada colmena con una letra del alfabeto que identificó a cada unidad experimental, seguido de un número romano para determinar la cosecha y un número arábigo del uno al tres para indicar el tratamiento en evaluación.

2.2.9 Extracción de jalea real:

Cuatro días después de la remoción de la reina en la colmena, se extrajo la jalea real, a través de un proceso inocuo, el cual contó con la higiene del personal encargado, se utilizó agua potable, jabón y alcohol gel sin aroma, se utilizaron guantes de látex y se trabajó dentro de una tienda de campaña, para evitar el ingreso de insectos y abejas, además se mantuvo el polvo y la suciedad fuera de la zona de extracción de jalea real, y el piso libre de suciedad.

Tratamiento 1: uso de bomba neumática, se removió la larva dentro de la copa celda con una aguja fina calibre 21 de 3 centímetros de longitud, luego se utilizó la bomba neumática de extracción, para extraer la jalea real la cual pasó a un frasco estéril con capacidad de 4ml color ámbar previamente colocado en el interior de la bomba.

Tratamiento 2: uso de espátula, se removió la larva dentro de la copa celda con una aguja fina calibre 21 de 3 centímetros de longitud, luego se utilizó la espátula para remover el contenido de jalea real dentro de la copa celda, sin remover porciones de la pared de la celda para evitar la contaminación con residuos de cera. Luego de la extracción de la jalea real se introdujo en un frasco estéril de 4ml de capacidad color ámbar.

Tratamiento 3: uso de jeringa de 1ml. Se removió la larva dentro de la copa celda con una aguja fina calibre 21 de 3 centímetros de longitud, luego se utilizó el embolo de jeringa de 1 ml, para succionar la jalea real al interior de la copa celda, Luego de la extracción de la jalea real se introdujo en un frasco estéril de 4ml de capacidad color ámbar.

2.2.10 Recuento de la extracción de jalea real:

Para cada uno de los tratamientos, se procedió al pesado de lo extraído, para su posterior comparación, se utilizó una balanza semi-analítica, para determinar el peso en gramos, previamente se pesaron los depósitos de recolecta, para determinar el peso real del contenido:

2.3.1.1 Bomba neumática (T1), se encendió el equipo para que el paso de 1 ml de agua destilada (previamente pesada) permitiera la salida del residuo adherido a la manguera de extracción, el cual se colocará en un frasco de 1ml previamente pesado en una balanza semi-analítica, luego se restó la diferencia para determinar el peso del residuo.

2.3.1.2 Espátula (T2), se pesó la espátula antes y después de la cosecha, para esto después de la cosecha, la espátula se introdujo en 1 ml de agua destilada (previamente pesada) para liberar el residuo, y pesarlo con balanza semi-analítica, se restó la diferencia de pesos para determinar el peso del residuo.

2.3.1.3 Jeringa de 1ml (T3), luego de la cosecha, se aspiró 1 ml de agua destilada (previamente pesada) a través de la jeringa para que el residuo adherido a ella pueda pasar y ser colocado en un frasco de 1ml previamente pesada en balanza semi-analítica, luego se restó la diferencia de pesos para determinar el peso del residuo.

2.2.11 Conservación

La jalea real obtenida se colocó en botes de plástico estériles con capacidad de 4ml color ámbar, como dictamina la norma de jalea real salvadoreña. Cada frasco se etiquetó con fecha, el número de colmena y tratamiento al que corresponden, luego fue almacenado en un frigorífico a -4°C.

2.3 Metodología de Laboratorio

2.3.1 Parámetros microbiológicos

El Análisis de parámetros microbiológicos en concordancia con la norma Salvadoreña de Jalea Real NSO: 67.38.03:05 (CONACYT, 2005), se realizó en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de CENSALUD, de la Universidad de El Salvador. Al finalizar la investigación se realizaron tres cosechas, para las doce colmenas se obtuvo un total de 36 muestras, para fines prácticos las muestras fueron analizadas en lotes, como se realiza en los laboratorios de calidad internacionales, generando al final 9 lotes, cada lote constó de las muestras obtenidas para cada tratamiento y cosecha, teniendo en cuenta que las colmenas fueron alimentadas y manejadas de forma homogénea para cada tratamiento. Resultando al final 3 muestras por cosecha y 3 repeticiones por tratamiento, esto con la finalidad de reducir costos en análisis de laboratorio.

2.3.2. Procedimiento de preparación de diluciones de la muestra

Se prepararon 162 ml de agua peptonada buferada estéril, luego se colocaron 18 ml en 9 tubos de 20 ml cada uno. Los cuales se autoclavaron por 15 minutos a 121°C y a una presión de 15 atmosferas.

2.3.3. Dilución madre 10:1

En un tubo para dilución de 20 ml, con 18 ml de agua peptonada estéril, se colocaron (luego de pesar asépticamente) 2 g de Jalea Real y se agitó 25 veces. Esta dilución fue utilizada para determinar coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, hongos y levaduras

2.3.4. Dilución 10:2

Se tomó una porción de 2 ml de la dilución 10:1 con una pipeta estéril y se transfirió a un tubo de dilución que contenía 18 ml de agua peptonada estéril y se agitó 25 veces. Esta dilución fue utilizada para el recuento de levaduras y hongos.

2.3.5. Dilución 10:3

Partiendo de la dilución anterior se tomaron 2 ml con una pipeta estéril y se transfirieron a un frasco de dilución con 18 ml de agua peptonada estéril y se agitó 25 veces. Esta dilución fue utilizada para el recuento de levaduras y hongos.

No se deja transcurrir más de 15 minutos entre la dilución de la muestra y su inoculación en las placas.

2.3.6. Coliformes totales y fecales

Para el análisis de coliformes totales y *Escherichia coli* se utilizaron placas Compact Dry EC

Modo de empleo:

- 1- Se abrió la Compact Dry EC y se añadió 1ml de solución madre 1:10 (alimentos sólidos), en el centro de la placa.
- 2- Se esperó unos segundos para que auto difundiera.
- 3- Fue cerrada y marcada con los datos de identificación de la muestra, se incubaron las placas invertidas, durante 24 horas a 37°C.

2.3.7. Procedimiento para Determinar *Salmonella* spp

Para el análisis de *Salmonella* spp se utilizaron placas Compact Dry SL

Para la realización de este análisis fue necesario incubar la dilución madre durante 24 horas a una temperatura de 37°C. Para su pre enriquecimiento.

Modo de empleo:

- 1- Se abrió la Compact Dry SL y se añadió 1ml de solución salina en el extremo superior de la Compact Dry SL y una alícuota de la solución madre de 0.1 en el centro de la placa.
- 2- Se esperó unos segundos para que auto difundiera.
- 3- Fue cerrada y marcada con los datos de identificación de la muestra, se incubaron las placas invertidas, durante 24 horas a 37°C

2.3.8. Recuento De Hongos y Levaduras.

Para el análisis de hongos y levaduras se utilizaron placas Compact Dry YMR

Modo de empleo

- 1- Se abrió la Compact Dry YMR y se añadió 1ml de la solución madre en el centro de la placa.
 - 2- Se esperó unos segundos para que se auto difundiera.
 - 3- Fue cerrada y marcada con los datos de identificación de la muestra, se incubaron las placas invertidas, durante 72 horas a 26°C.
- Este procedimiento fue repetido con la solución 1:100 y la solución 1:1000 para poder realizar un mejor conteo de las colonias.

Las placas son colocadas en la incubadora de forma invertida, fueron debidamente identificadas y separadas dentro de la incubadora por cosecha.

2.3.9. Recuento de microorganismos

Para el cálculo de la cantidad N de microorganismos presentes en las muestras de jalea real como un promedio ponderado a partir de dos diluciones sucesivas se utilizó la siguiente ecuación:

$$N = \frac{\sum c}{V \times 1.1 \times d}$$

En donde $\sum c$ es la suma de colonias contadas en las dos cajas conservadas proveniente de dos diluciones sucesivas por lo menos una de las cuales contiene un mínimo de 10 UFC; V es el volumen de inóculo puesto en cada caja en mililitros (para el caso de Compact Dry corresponde a 1ml); d es la dilución correspondiente a la primera dilución retenida o seleccionada (Microkit. 2006).

2.4 Metodología estadística

Para la investigación se utilizó el diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones y la prueba estadística de Duncan, con una probabilidad del 0.05%.

Las doce semanas fueron representadas por los bloques, para lo cual se realizaron tres cosechas, en cada colmena se evaluó únicamente una alternativa de extracción. El factor de estudio de la investigación son técnicas de extracción de jalea real de abeja *Apis mellifera*: bomba neumática, espátula y jeringa. Las variables en estudio se dividen en dos, las cuantitativas que indican cantidad de jalea real extraída por cada uno de los métodos en estudio (gramos), la cantidad de residuos de jalea real adheridos a la herramienta o equipo de extracción (gramos) y costo de producción por tratamiento a través de presupuesto parcial (USD), y las variables microbiológicas en donde se determina la presencia de hongos y levaduras, presencia de *Salmonella* spp, presencia de *Escherichia coli* y presencia de coliformes totales.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Peso de jalea real

En los datos obtenidos de la variable peso en relación a los tratamientos no hubo diferencia estadística. Los datos son confiables con un coeficiente de variación: 13.47%. Para el análisis de la variable peso se calcularon las medias de la cosecha de jalea real obtenida de 10 copa celdas por colmena por tratamiento. Los resultados fueron: tratamiento 1 (bomba), 1.98 g \pm 0.45 g por colmena; tratamiento 2 (espátula), 2.08 g \pm 0.11 g por colmena y tratamiento 3 (jeringa), 1.88 g \pm 0.17 g por colmena (Cuadro 1). Estos datos fueron inferiores a los 9 gramos reportados por Ballesteros y Vásquez, (2007), posiblemente por diferencias en cantidad de copa celdas (30 por colmena), además del efecto de la genética, estado de la colmena, flora apícola y condiciones ambientales. La cantidad de jalea real total obtenida al sumar las colmenas evaluadas para cada tratamiento fue de 23.79 gramos para el T1 (bomba), 24.96 gramos para el T2 (espátula) y 22.58 gramos para él T3 (jeringa). La cantidad de jalea real total obtenida en el tratamiento 2 (espátula), es ligeramente mayor comparada con los tratamientos 1 y 3 (Cuadro 1), Cualquier diferencia de peso por pequeña que sea entre un método y otro puede mejorar o desfavorecer el porcentaje de jalea real obtenida al final de la cosecha.

Cuadro 1: Promedio de jalea real por tratamiento y colmena en gramos

Promedio de cosecha por tratamiento (g)						
Cosecha 1 12/08/2019 a 06/09/2019		Cosecha 2 09/09/2019 a 04/10/2019		Cosecha 3 07/10/2019 a 01/11/2019		Promedio por Tratamiento
T1	1.75	T1	2.29	T1	1.89	1.98
T2	1.95	T2	2.13	T2	2.15	2.08
T3	1.96	T3	2.00	T3	1.68	1.88

La cosecha en la cual se obtuvo mayor cantidad de jalea real, por simple inspección, fue la cosecha número 2 (09/09/2019 a 04/10/2019). Los pesos obtenidos entre cosechas no fueron significativamente diferentes entre sí. Aunque a través de la evaluación de las temperaturas y precipitaciones registrados durante el periodo del 9 de septiembre al 4 de octubre 2019, en donde se llevó a cabo la segunda cosecha, se presentaron precipitaciones acumuladas de 274.2 mm de lluvia, mientras que para la primera cosecha y tercera se obtuvo: 1055mm y 325mm respectivamente, mientras que las temperaturas se mantuvieron menos fluctuantes durante la cosecha 2 en comparación a la cosecha 1 y cosecha 3, estos fenómenos podrían haber incidido en la cantidad de jalea real producida por las abejas. La mayor cantidad de jalea real obtenida por copa celda en promedio (de 10 copa celdas), 208 mg, se obtuvo al utilizar la espátula como herramienta de extracción. Este promedio se ubicó dentro del rango obtenido en el Centro de Investigación Tibaitatá, en el municipio de Mosquera, en Bogotá, donde se evaluaron tres tratamientos representados en colmenas de diez, ocho y seis marcos, cada uno con tres repeticiones. La colmena de 6 marcos produjo la mayor cantidad de jalea real por transferencia con una producción promedio por copa celda de 308,5 mg. La menor cantidad reportada en el estudio fue de 133mg por copa celda y la mayor fue de 311mg por copa celda (Ballesteros y Vásquez, 2007). Mientras que datos de Ramos y Soriano (2004) en su investigación sobre la calidad química de la jalea real, realizada en El Salvador, reportan una producción de 150 a 300 mg de jalea real por copa celda en condiciones de alimentación artificial. Dicha producción se encuentra acorde a los datos obtenidos por esta investigación (promedio de 208 mg para el tratamiento 2).

3.2 Variable residuos

La variable residuo produjo diferentes efectos sobre los tratamientos evaluados. Lo mejores resultados fueron los métodos de bomba y espátula en relación al método de jeringa ($p \leq 0.05$).

Para la comparación del residuo, se calcularon las medias del peso del residuo para los tratamientos y se obtuvieron los siguientes resultados: tratamiento 1: 0.09 ± 0.02 g por colmena; tratamiento 2: 0.04 ± 0.02 g por colmena y tratamiento 3: 0.26 ± 0.02 g por colmena.

La obtención de jalea real de buena calidad y en cantidades rentables para el apicultor dependen en gran medida de la alternativa utilizada, aunque el método de extracción usado como testigo (bomba), produce muy poco residuo, el tratamiento 2 (espátula), tiene la capacidad de extraer jalea real, dejando poco residuo adherido al instrumento. El tratamiento 3 (jeringa), demostró según su media, una cantidad de 0.26 gramos de jalea real por colmena adherido en su interior, lo que conlleva al desperdicio.

3.3 Análisis Microbiológico

3.3.1 *Escherichia coli* y coliformes totales

Al realizar los análisis microbiológicos correspondientes a *Escherichia coli*, los resultados determinaron que esta se encuentra ausente en el cien por ciento de las muestras, para cada tratamiento.

Los análisis microbiológicos demostraron la presencia de coliformes totales en una de las muestras. La presencia de coliformes totales en una de las muestras no se refiere estrictamente que pueda existir una contaminación fecal. Como se menciona en la Hoja informativa sobre bacterias coliformes de la División de Salud Pública de Carolina del Norte en 2009, las bacterias coliformes totales se encuentran comúnmente en el suelo y plantas, generalmente no están asociadas a enfermedades gastrointestinales, a diferencia de *Escherichia coli* y coliformes fecales. (División de Salud Pública Carolina del Norte, 2009)

Debido a que el medio compact dry Ec, es selectivo para *Escherichia coli*, la cual se encuentra ausente en cada una de las muestras analizadas, se puede suponer que la contaminación encontrada en la primera cosecha del método dos, no está relacionada a patógenos entéricos, tal como lo afirma Doyle (2007) y Jay (2002), las coliformes pueden proliferar en gran cantidad de alimentos, en agua y productos lácteos. Si bien el índice de coliformes ha sido aplicado a la evaluación de los alimentos durante muchos años, en algunos de ellos existen limitaciones, no indicando contaminación fecal, sino que refleja la higiene general de la planta industrial o proceso de recolecta.

3.3.2 Presencia y ausencia de *Salmonella* spp

El análisis microbiológico para la bacteria *Salmonella* sp demostró que esta se encuentra ausente en la totalidad de las muestras analizadas. *Salmonella* sp es uno de los microorganismos patógenos mayormente involucrado en las ETAs. La *Salmonella* spp puede atravesar toda la cadena alimentaria, desde los concentrados para animales y la producción primaria hasta los hogares o los establecimientos e instituciones de servicios de comidas. Por lo que su ausencia en producción de materia prima o alimentos, debe comprobarse. En el estudio ninguna muestra fue positiva a esta bacteria, se cumplió con la norma salvadoreña de Jalea real, situando a los tratamientos evaluados, como idóneos para la extracción sin presencia de *Salmonella* spp

3.3.3 Hongos y levaduras

Hongos y levaduras están presentes en todas las muestras analizadas (cuadro 2), pero en una cantidad inferior al límite máximo permitido, lo que indicó una buena conservación de la muestra durante la cosecha, transporte y almacenamiento.

Cuadro 2. Hongos y levaduras

LOTES	ESPECIFICACIONES	PRIMERA COSECHA	SEGUNDA COSECHA	TERCERA COSECHA
-------	------------------	--------------------	--------------------	--------------------

ADGJ(1)	<100 UFC/g	<5 UFC/g		
ADGJ(2)			<5 UFC/g	
ADGJ(3)				<5 UFC/g
BEHK(1)		<5 UFC/g		
BEHK(2)			<5 UFC/g	
BEHK(3)				<5 UFC/g
CFIL(1)		<5 UFC/g		
CFIL(2)			<5 UFC/g	
CFIL(3)				<5 UFC/g

Debido a su crecimiento lento y a su baja competitividad, los hongos y levaduras se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable. (Camacho, 2009). Por lo que la jalea real presenta un medio adecuado para la proliferación de hongos y levaduras, presentes en el ambiente a la hora de la cosecha, por lo que, fue considerada la dificultad de tener un alimento libre de hongos y levaduras, la norma salvadoreña de jalea real, estima que un alimento con menos de cien unidades formadoras de colonia por gramo es adecuado para el consumo. Los resultados demostraron que las tres técnicas produjeron jalea real adecuada para el consumo humano, en materia de hongos y levaduras.

3.4 Presupuesto Parcial

En El Salvador la jalea real se comercializa mezclada con miel, a un precio que va desde \$6.00 a \$10.00 los 345ml de miel con 1 porción (1 ml) de jalea real, y pura puede encontrarse en presentaciones de 25g a \$30.00¹. Se utilizó un precio estándar de \$1.20 por gramo de jalea real para determinar el ingreso bruto (Cuadro 3). Además, se consideró que en una producción apícola los costos de extracción de la miel son en su mayoría los mismos que los necesarios para la extracción de jalea real, tales como alimentación artificial, toldo apícola, materiales de limpieza, etc. Se tomaron en cuenta únicamente los costos propios de la extracción de jalea real; no se incluyeron los costos compartidos con la explotación de la miel, pero si se incluye la depreciación de equipos propios de la extracción de jalea real como bomba neumática y espátula.

Cuadro 3. Presupuesto parcial entre técnicas para la extracción de jalea real

Concepto	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Beneficios			
Rendimiento g (3 meses)	23.79	24.96	22.58

¹ Carlos Mendoza. 26 de abril de 2020. Entrevista sobre precio de Jalea Real. Entrevista vía telefónica. Apicultor.

Ingreso bruto (USD)	28.54	29.95	27.09
Costos variables Parciales (USD)			
Materiales de almacenamiento y cosecha (12 Botes ámbar estériles plásticos por tratamiento y hielo)	10.12	10.12	10.12
Bomba	389.00		
Espátula de extracción de jalea real		5.00	
Jeringas (caja)			8.00
Depreciación para 3 meses	19.44	0.60	No aplica por ser material descartable
Ingresos (USD)			
Beneficio Neto parcial	(390.02)	14.23	8.97

El tratamiento que generó mejores resultados en base a presupuesto parcial es el tratamiento 2, en el cual se obtuvo un beneficio neto parcial de \$14.23, por tratamiento para un periodo de 3 meses. Para la investigación, fue necesaria la adquisición de los instrumentos para la cosecha: bomba, espátula y jeringas, por lo que en el tratamiento número uno se observó una pérdida debido a los altos costos de la bomba de extracción de jalea real. Por lo que, si se consideran únicamente los costos que tendría la extracción en una explotación apícola establecida para la obtención de jalea real que ya cuente con el equipo, los costos que de la extracción de jalea real serían menores.

Según la investigación de Ballasteros y Vásquez (2007) realizada en conjunto con la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, para obtener un beneficio considerable de jalea real es necesario la obtención de 6,36 g por colmena, lo que puede equipararse si se aumenta el número de copa celdas producidas. Para El Salvador no existen datos precisos de los costos de producción de jalea real debido a su poca explotación, pero según el apicultor consultado para esta investigación se requieren al menos 3g por colmena para poder percibir ingresos de la producción, dato que no está muy apartado del 2.08g obtenidos para el tratamiento de espátula por colmena

4. CONCLUSIONES

Los pesos obtenidos en la extracción de jalea real presentaron similitud estadística entre tratamientos, pero el método de extracción con valores ligeramente mayores fue el de espátula, con una media de 2.08 g \pm 0.11 g por colmena. seguido por el tratamiento 1 de bomba con 1.98 g \pm 0.45 g y por último el tratamiento 3 jeringa con 1.88 g \pm 0.17 g por colmena.

Los métodos de extracción con menor cantidad de residuo adherido al instrumento son el de espátula, con una media de 0.04 g \pm 0.02 g por colmena, y el de bomba neumática con una media de 0.09 g \pm 0.02 g, estos tratamientos son estadísticamente similares entre sí, pero superiores al de jeringa.

La jalea real extraída en el estudio posee las condiciones necesarias para el consumo, comparados con la norma salvadoreña NSO 67.38.03:05, excepto por las muestras obtenidas de la cosecha uno del tratamiento dos; con espátula, porque se observó presencia de coliformes totales, las cuales no están relacionadas a ETA, por lo tanto, se consideró que puede ser consumida sin riesgo de enfermedad.

El tratamiento que generó mejores resultados en base al presupuesto parcial fue la espátula, en el cual se obtuvo un beneficio neto parcial de \$14.23 por tratamiento, pero solo se incluyeron los costos necesarios para la extracción de la jalea real

5 RECOMENDACIONES

Utilizar espátula para la extracción de jalea real, la cual debe tener las siguientes características: espátula de extracción hecha de acero inoxidable, 7cm de longitud, 1 mm de diámetro y un peso de 20 gramos aproximadamente, debido a que esta permite una extracción completa del contenido de la celda real, y produce menor cantidad de residuo adherido al instrumento de extracción.

No utilizar émbolos para la extracción de jalea real debido a que estos permiten la acumulación de una gran cantidad de residuo en su interior.

Utilizar de forma adecuada los instrumentos para la producción de jalea real inocua, limpiar adecuadamente los instrumentos antes y después de la extracción, poner mucho énfasis en el lugar de almacenaje de los instrumentos para evitar la contaminación cruzada, por lo que deben ser colocados lejos de pesticidas, desinfectantes, pinturas, materiales utilizados en corrales de animales etc.

Realizar limpieza y desinfección del toldo apícola antes de ser utilizado para la cosecha, y almacenarlo en un lugar limpio y seco mientras este no se usa. Es recomendable utilizar desinfectantes y jabones sin olor para evitar que la jalea real presente algún sabor u olor inusual.

La jalea real debe ser almacenada en frascos color ámbar esterilizados, con tapa de material plástico para su conservación con el fin de evitar la descomposición por efecto de la luz.

Para la conservación y transporte de jalea real es necesaria la refrigeración por lo que lo ideal sería la utilización de hielo certificado que garantice la inocuidad del mismo. Todos los materiales donde será almacenada la jalea real deben garantizar su inocuidad.

6 BIBLIOGRAFÍA

Ballesteros, H.H; Vásquez, R. 2007. Determinación de la producción de jalea real en colmenas de cría de diferentes dimensiones; Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología

Agropecuaria; Revista técnica (en línea); Consultado 22 de agosto de 2018; Disponible en file:///C:/Users/JESUS/Downloads/Dialnet-DeterminacionDeLaProduccionDeJaleaRealEnColmenasDe-5624571%20(1).pdf; p. 1.

Bradbear, N. 2005. “La apicultura y los medios de vida sostenibles”, Folleto de la FAO sobre diversificación número uno (en línea), Dirección de Sistemas de Apoyo a la Agricultura Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. Roma. Consultado 15 de julio del 2018. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/008/y5110s/y5110s00.htm#Contents>

Camacho, A. M. Giles, A. Ortigón, M. Palao, B. Serrano y Velázquez, O. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. (en línea). Consultado 19 de enero de 2019. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Cuenta-mohos-levaduras_6530.pdf

CONACYT, 2005. Norma Salvadoreña NSO 67.38.03:05. Jalea Real especificaciones. Editado por CONACYT, colonia medica San Salvador. El Salvador, (en línea) Consultado 18 de enero de 2019. disponible en: <https://www.defensoria.gob.sv/images/stories/varios/NORMAS/PRODUCTOS%20APICOLAS/NSO67.38.03.05%20JALEA%20REAL.pdf>

Division de Salud Publica Carolina del Norte, 2009. Hoja informativa Sobre Bacterias Coliformes en Pozos de Agua Potable. Bacterias Coliformes. Carolina del Norte. (en línea). Consultado 26 de abril de 2020. Disponible en: https://epi.dph.ncdhhs.gov/oeo/docs/Las_Bacterias_Coliformes_WellWaterFactSt.pdf

Doyle M., Beuchat L. Food Microbiology. Editorial ASM Press, 3era edition, 2007. (en línea); Consultado 11 de enero de 2020. Disponible en: <http://www.ganaderia.mendoza.gov.ar/index.php/prensa/104-la-jalea-real>.

Jay J. 2002. Microbiología Moderna de los Alimentos. Editorial Acribia S.A: Zaragoza (España). 2002, 4 edición, 615 p

Microkit. 2006. COMPACT DRY PLATES, consultado 23 de noviembre de 2018, Disponible (en línea): https://www.microkit.es/distribuidores-microkit/pdf/microkit53_es.pdf

Pérez Arquillue, C; Jimeno, M. 1988. Hojas divulgativas, Jalea Real, numero 19 Departamentos de Producción Animal y Ciencias de los Alimentos. Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C. I. C. A. T. Diputación de Cantabria (Muriedas) (en línea); Consultado 29 de junio del 2018. Disponible en http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1988_19.pdf

Ramos, R. Soriano, S. 2004. Propuesta de Métodos Analíticos para Determinar la Calidad de la Jalea Real Producida por la Abeja *Apis mellifera* y Comercializada en El Salvador. (en línea); Tesis para optar al grado de Licenciado en Química y Farmacia, Facultad de química

y Farmacia de la Universidad de El Salvador; Disponible en <https://www.google.com.sv/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://ri.ues.edu.sv/3151/&ved=2ahUKEwil2oEv04TdAhXPtVkkHe5LCe4QFjAAegQIAhAB&usg=AOvVaw3G4LzVr4WTQUlC8uXp8Sal>.

Swiss Contact, 2010. Guía práctica sobre manejo de colmenas, X Crianza de reinas. (en línea) Consultado 20 de agosto de 2018, Disponible en <http://teca.fao.org/sites/default/files/resources/manejocolmenas.pdf>