



**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL PROPÓLEO COMO  
BIOCONSERVANTE EN EL DULCE DE HIGOS (*Ficus carica L.*)”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** DANIELA ESTEFANÍA MOLINA CHIRIBOGA

**TUTORA:** ING. PAOLA FERNANDA ARGUELLO HERNÁNDEZ M.Sc.

**RIOBAMBA-ECUADOR**

**2015**

©2015, Daniela Estefanía Molina Chiriboga

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL PROPÓLEO COMO BIOCONSERVANTE EN EL DULCE DE HIGOS (*Ficus carica L.*)**, de responsabilidad de la señorita egresada Daniela Estefanía Molina Chiriboga, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

Ing. Paola Arguello M.Sc.

**DIRECTORA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

Dra. María Eugenia Macas M.Sc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

Dra. Anita Albuja M.Sc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

**DOCUMENTALISTA**

**SISBIB ESPOCH**

\_\_\_\_\_

Yo, Daniela Estefanía Molina Chiriboga, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de titulación; y el patrimonio intelectual del Trabajo de titulación, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

---

DANIELA ESTEFANÍA MOLINA CHIRIBOGA

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de titulación lo dedico principalmente a mis padres Luis Molina y Alicia Chiriboga por ser mi fuerza, inspiración, un gran ejemplo de lucha. A mi hermano Andrés por acompañarme, compartir y disfrutar momentos juntos en cada etapa de mi vida, y como no mencionar a mi querida hermana Karen que ha sido mi confidente, mejor amiga, mi apoyo, la que me comprende, que llevo hace más de 20 años para acompañar y alegrar mi vida. A Paúl que está siempre junto a mí, para brindarme todo su amor y cariño, finalmente a Diany por ser una excelente amiga y un apoyo incondicional en estos últimos años.

Daniela

## **AGRADECIMIENTO**

A mi familia por creer en mí y darme siempre todo su confianza, amor y apoyo incondicional.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a la Escuela de Bioquímica y Farmacia y a sus Docentes por haber impartido sus conocimientos para el desarrollo de mi vida profesional.

A mi directora de trabajo de titulación Ing. Paola Arguello por las facilidades brindadas y ser una guía incondicional durante todo este proceso. A la Dra. María Eugenia Macas por su valiosa colaboración y asesoramiento.

A todas las personas que de alguna manera colaboraron para la realización de este trabajo.

Daniela

## CONTENIDO

	Páginas
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	<b>xii</b>
<b>ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xv</b>
<b>SUMARY</b> .....	<b>xvi</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPITULO I</b>	
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
<i>1.1. Antecedentes de investigación</i> .....	<i>4</i>
<i>1.2. Bases Teóricas</i> .....	<i>5</i>
<b>1.2.1. Descripción del Producto</b> .....	<b>5</b>
<i>1.2.1.1. Origen del Higo</i> .....	<i>5</i>
<i>1.2.1.2. Caracterización de la especie</i> .....	<i>6</i>
<i>1.2.1.3. Taxonomía y morfología</i> .....	<i>6</i>
<i>1.2.1.4. Variedad</i> .....	<i>7</i>
<i>1.2.1.5. Beneficios del Higo</i> .....	<i>7</i>
<i>1.2.1.6. Transformación agroindustrial</i> .....	<i>8</i>
<b>1.2.2. Aditivos alimentarios</b> .....	<b>8</b>
<i>1.2.2.1. Conservantes</i> .....	<i>9</i>
<i>1.2.2.1.1. Ácido sórbico y sorbatos</i> .....	<i>10</i>
<i>1.2.2.1.1. Ácido benzoico</i> .....	<i>11</i>
<b>1.2.3. Propóleo</b> .....	<b>12</b>
<i>1.2.3.1. Origen botánico del propóleo</i> .....	<i>12</i>
<i>1.2.3.2. Caracterización fisicoquímica y organoléptica del propóleo</i> .....	<i>12</i>
<i>1.2.3.3. Calidad de propóleo</i> .....	<i>13</i>
<i>1.2.3.4. Actividad antioxidante</i> .....	<i>13</i>

1.2.3.5. Actividad antimicrobiana .....	14
1.2.3.6. Actividad antifúngica.....	14
<b>1.2.4. Aspecto Legales.....</b>	<b>15</b>
1.2.4.1. Norma para las confituras, jaleas y mermeladas.....	15

## **CAPITULO II**

<b>MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1. Lugar de la investigación .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2. Materiales, Equipos y reactivos.....</b>	<b>17</b>
2.2.1. <i>Material Vegetal.....</i>	17
2.2.2. <i>Conservantes .....</i>	17
2.2.3. <i>Equipos.....</i>	17
2.2.4. <i>Materiales de laboratorio y otros.....</i>	18
2.2.5. <i>Reactivos .....</i>	18
2.2.6. <i>Medios de cultivo .....</i>	18
<b>2.3. Técnicas y Métodos.....</b>	<b>19</b>
2.3.1. <i>Obtención del extracto etanólico del propóleo.....</i>	22
2.3.1.1. <i>Procesamiento del propóleo .....</i>	22
2.3.1.2. <i>Extracto etanólico de propóleos.....</i>	22
2.3.2. <i>Elaboración del dulce de higos .....</i>	22
2.3.2.1. <i>Procesamiento de los higos .....</i>	22
2.3.3. <i>Adición de conservantes .....</i>	23
2.3.4. <i>Evaluación de los conservantes.....</i>	23
2.3.4.1. <i>Selección y tamaño de la muestra .....</i>	23
2.3.4.2. <i>Esquematización de los tratamientos, repeticiones y parámetros evaluados al dulce de higo.....</i>	24
2.3.4.3. <i>Descripción de los parámetros físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales evaluados.....</i>	25

## **CAPITULO III**

<b>MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1. Extracto etanólico de propóleo (EEP).....</b>	<b>28</b>
<b>3.2. Formulación de los tratamientos.....</b>	<b>28</b>
<b>3.3. Análisis, interpretación y discusión de resultados .....</b>	<b>29</b>



3.3.1.	<i>Resultados del análisis físico y microbiológico del propóleo a ser utilizado como bioconservante</i> .....	29
3.3.2.	<i>Resultados microbiológicos de las muestras</i> .....	29
3.3.3.	<i>Resultados de los parámetros físico-químicos.</i> .....	33
3.3.3.1.	<i>Acidez total (AT)</i> .....	33
3.3.3.2.	<i>pH</i> .....	33
3.3.3.3.	<i>Sólidos solubles totales (SST)</i> .....	34
3.3.4.	<i>Resultados del análisis sensorial de las muestras</i> .....	36
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>39</b>
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>40</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Identificación taxonómica y fisiológica del cultivo de higo.....	7
<b>Tabla 2-1:</b>	Principales variedades de higos.....	7
<b>Tabla 3-1:</b>	Composición nutricional del higo.....	8
<b>Tabla 4-1:</b>	Aditivos con actividad conservante más utilizados en la UE.....	9
<b>Tabla 5-1:</b>	Código de aditivos alimentarios.....	11
<b>Tabla 6-1:</b>	Evaluación de la calidad de los propóleos.....	13
<b>Tabla 7-1:</b>	Principales compuestos del propóleos con actividad biológica.....	15
<b>Tabla 8-2:</b>	Parámetros evaluados al dulce de higos.....	24
<b>Tabla 9-2:</b>	Condiciones de incubación.....	26
<b>Tabla 10-3:</b>	Descripción de los tratamientos.....	29
<b>Tabla 11-3:</b>	Resultados del análisis físico y microbiológico del propóleo.....	29
<b>Tabla 12-3:</b>	Resultados del análisis microbiológico, a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento de las muestras.....	32
<b>Tabla 13-3:</b>	Resultados de parámetros físicos y químicos, a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento de las muestras.....	35
<b>Tabla 14-3:</b>	Resultados del análisis sensorial a los 0 días.....	36
<b>Tabla 15-3:</b>	Resultados del análisis sensorial a los 15, 30 y 45 días.....	37
<b>Tabla 16-3:</b>	Resultados del análisis sensorial a los 15, 30 y 45 días.....	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b>	Higuera ( <i>Ficus carica</i> L.).....	6
<b>Figura 2-2.</b>	Esquema de las etapas de obtención de propóleo, elaboración del dulce de higos, adición y evaluación de los conservantes .....	21
<b>Figura 3-2.</b>	Selección de las muestras .....	23
<b>Figura 4-2.</b>	Tratamientos y repeticiones .....	24
<b>Figura 5-3.</b>	Resultados del análisis microbiológico .....	32

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** Resolución 3929 de 2013 Colombia- Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos de confituras
- ANEXO B:** Formato de recolección de datos
- ANEXO C:** Formato para la evaluación del análisis sensorial
- ANEXO D:** Resultados de la apreciación de cada panelista por tratamiento en los diferentes tiempos, multiplicados por su respectivo factor
- ANEXO E:** NTE INEN-ISO 2173:2013
- ANEXO F:** NTE INEN-ISO 750:2013
- ANEXO G:** NTE INEN-ISO 389-1985
- ANEXO H:** Técnicas 3m Placas Petrifilm™
- ANEXO I:** Evidencia fotográfica

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

- Fotografía N°1:** Obtención del extracto etanólico de propóleo: a) Maceración del propóleo por ultrasonido b) Filtración c) Prueba de solubilidad d) Concentración del extracto e) Análisis microbiológico.
- Fotografía N°2:** Elaboración y adición de los conservantes al dulce de higos: a) Elaboración del dulce de higos b) Adición de los conservantes y envasado final
- Fotografía N°3:** Análisis microbiológico del dulce de higo a los 0, 15, 30, 45 y 60 días.
- Fotografía N°4:** Análisis físico-químico. a) Determinación de la acidez, b) Determinación del pH, c) Determinación de °Brix.
- Fotografía N°5:** Análisis sensorial del dulce de higo.
- Fotografía N°6:** Resultados microbiológicos. a) Contaje de mohos y levaduras, 30 días b) Contaje de mohos y levaduras, 45 días. c) Contaje de mohos y levaduras, 60 días.

## ABREVIATURAS

<b>ESPOCH</b>	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
<b>EEP</b>	Extracto etanólico de propóleo
<b>BHA</b>	Butilhidroxianisol
<b>BHT</b>	Butilhidroxianisol
<b>TBHQ</b>	Terbutilhidroxiquinona
<b>E-200</b>	Ácido sórbico
<b>E-201</b>	Sorbato sódico
<b>E-202</b>	Sorbato potásico
<b>E-203</b>	Sorbato cálcico
<b>UFC</b>	Unidades formadoras de colonias
<b>Ph</b>	Potencial de hidrógeno
<b>MI</b>	Mililitros
<b>Log</b>	Logaritmo
<b>G</b>	Gramos
<b>Mg</b>	Miligramos
<b>%</b>	Porcentaje
<b>%R</b>	Porcentaje de rendimiento
<b>°C</b>	Grados Celcius
<b>°T</b>	Temperatura
<b>INEN</b>	INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN
<b>NTE</b>	NORMAS TECNICAS ECUATORIANAS

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del propóleo como bioconservante en el dulce de higos. El estudio se llevó a cabo en los laboratorios de bromatología y microbiología aplicada de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. La obtención del propóleo se realizó por extracción con alcohol al 96%. Posteriormente se aplicó al dulce de higos en tres concentraciones: (100, 200 y 400 ppm) para ser comparados frente a dos conservantes comerciales (sorbato de potasio y benzoato de sodio a 1000 ppm) y el testigo. Se realizaron análisis sensoriales, físico-químicos y microbiológicos, cada 15 días durante 2 meses. Los resultados de los análisis se tabularon y se sometieron a un análisis de varianza de un factor ANOVA y una comparación de medias o test de Tukey con una significancia del 5% en el programa estadístico Minitab versión 16, que determinó la diferencia estadística significativa entre los tratamientos. En el análisis sensorial los panelistas detectaron el sabor residual en los tratamientos con propóleo resultando agradable. Los parámetros evaluados, pH, acidez y °Brix hasta el día 30 son similares al producto fresco. El recuento de mohos y levaduras se hizo evidente en el testigo a los 30 días de almacenamiento con un conteo de 0,7 log UFC/mL, mientras que en los demás tratamientos no existió crecimiento microbiológico a este tiempo. Esto permite concluir que el propóleo ejerce acción antimicrobiana hasta los 30 días de almacenamiento, mientras que el sorbato de potasio mantuvo su actividad conservante hasta los 60 días alargando el tiempo de vida útil del producto. Por lo que se recomienda realizar el estudio a una temperatura de almacenamiento de refrigeración para alargar la actividad bioconservante del propóleo.

**Palabras clave:** <PROPÓLEO><SORBATO DE POTASIO><BENZOATO DE SODIO><DULCE DE HIGO> <CONSERVANTE><VIDA UTIL><ANOVA [ANALYSIS OF VARIANCE]><ANÁLISIS DE ALIMENTOS><MICROBIOLOGÍA>

## SUMMARY

The present investigation has as aim to evaluate the effect of propolis as bio-preservative in the sweet of figs. The study was conducted in the Bromatology and Microbiology labs applied to the Faculty of Sciences in the Higher Polytechnic School of Chimborazo. The obtaining of propolis was made by extraction with alcohol to 96%. Afterwards, it was applied the sweet of figs in three concentrations (100,200 and 400 ppm) for being compared facing two commercial preservatives (sorbato of potassium and benzoate of sodium to 1000 ppm) and the control test. Sensorial, physical-chemical and microbiologic analyses were made, every 15 days during 2 months. The results of the analyses were tabulated and submitted to a variance analysis of a factor ANOVA and an average comparison or Tukey test with a significance of 5% in the statistical program Minitab version 16, which determined the meaningful statistical difference among the treatments. Within the sensorial analysis the panelist detected the residual flavor in the treatments with propolis resulting nice to taste. The evaluated parameters, pH, acidity and °Brix until the day are similar to the cool product. The recounting of fungi and yeast was made evident in the rest of treatments do not exist a microbiologic growth to this time. This allows concluding that propolis wields an antimicrobial action till the 30 days of storing, meanwhile the sorbate of potassium keeps its preservative activity till the 60 days extending the useful lifetime of the product. That is why is recommended to make the study to a storing temperature of refrigeration to extend the bio-preservative activity of the propolis.

**Key words:** <PROPOLIS><SORBATE OF POTASSIUM><BENZOATE DE SODIUM><SWEET OF FIGS><PRESERVANTIVE><USEFUL LIFE>  
<ANOVA [ANALYSIS OF VARIANCE]><ANALYSIS OF FOOD>  
<MICROBIOLOGY>



## INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad se incorporaron aditivos alimentarios a los productos con el fin de que resulten más apetecibles o que se conserven mejor, entre estos los conservantes que se usan principalmente para producir alimentos más seguros para el consumidor, previniendo la acción de agentes biológicos (European Food Information Council, 2004, <http://www.eufic.org>). Los procesos de fermentación, enmohecimiento, putrefacción y otras alteraciones biológicas de los alimentos pueden ser detenidos o retardados e inhibidos por los conservantes. (Cortez, 2012, <http://www.elemprendedor.ec/>).

La búsqueda de alternativas de conservación para productos alimenticios, que cubran las mismas propiedades antimicrobianas y que tenga compatibilidad con el alimento, en la actualidad es prioritaria debido a que se ha asociado a los conservadores químicos como los nitritos y nitratos, benzoatos, anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>), entre otros, con intoxicaciones, cáncer y otras enfermedades degenerativas. (Álvarez, 2006, <http://www.ciad.mx>)

La demanda de productos de V gama está en aumento, así como el interés por antimicrobianos de origen natural o bioconservantes como sustitutos de los tradicionales usados. (Ibáñez et al., 2003: p.5) Un producto de V gama que se comercializa en Ecuador es el dulce de higos el cual es un postre apetitoso de exquisito sabor y excelente aceptación por el consumidor, siendo un representante de la cultura culinaria y tradiciones del país, en su mayoría es elaborado de forma artesanal y se comercializa a pequeña escala en tiendas de abastos o en panaderías.

En la actualidad en Ecuador, pequeñas, medianas y grandes empresas intentan rescatar tradiciones culinarias del país e industrializar estos productos a gran escala dándole un valor agregado; empresas como: el Madrigal, Ecuandes, el Lojanito, la Arboleda y Conservas Guayas, elaboran dulce de higos y lo comercializan a nivel nacional en los principales supermercados.

El dulce de higo, es un producto alimenticio en el que la actividad de agua se encuentra disminuida por evaporación en el momento de cocción y por deducción, la actividad de bacterias disminuye e incluso es nula, el porcentaje de azúcar es alto y según Contardi (2008, p.7) indica que puede actuar como conservante natural, en base a esto se argumenta que es un producto que se mantiene estable por un tiempo considerable, pero al intentar comercializarlo a nivel industrial se debe buscar un conservante que alargue su tiempo de vida útil.

Las diferentes marcas en supermercados utilizan conservantes químicos como el benzoato de sodio y el sorbato de potasio reportando un tiempo de vida útil de un mes hasta un máximo de ocho meses.

La adición de conservantes como benzoato de sodio y sorbato de potasio no se aceptan fácilmente en alimentos, principalmente en frutas y hortalizas frescas cortadas, debido a las exigencias del consumidor, de productos libres de agentes químicos, ya que pueden ocasionar daño a la salud del consumidor y al medio ambiente. (Aguilar, 2011, pp.95-98).

Por lo tanto la preocupación del uso de aditivos en exceso lleva a la necesidad de reemplazarlos, y a la búsqueda de otras estrategias de conservación de alimentos, que alargue su tiempo de vida útil manteniendo todas sus características organolépticas óptimas. Una alternativa al uso de estos compuestos sintéticos son los bioconservantes, que son productos naturales con la denominación GRAS (del inglés Generally Recognized As Safe/Generalmente reconocido como seguro) (Fernandez et al., 2005: pp. 3-30)

Existen numerosos estudios que prueban la efectividad antimicrobiana de extractos etanólicos y acuosos de propóleos sobre bacterias (*Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* *Streptococcus pyogenes*. y *Staphylococcus aureus*). (Tolosa, 2002, pp. 1-19) y estudios que evalúan la actividad conservante o el efecto antimicrobiano del propóleo como: Gerónimo (2009, pp.3-30) que comparó el efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango, concluyendo que no existe diferencia estadística entre el propóleo y el benzoato de sodio al tener actividad antifúngica contra *Aspergillus* hasta los 15 días

El estudio realizado por Gutiérrez (2012, pp. 3-110), sobre el efecto del propóleo como bioconservante en el chorizo, reportó actividad antimicrobiana in vitro en los ensayos realizados hasta los 30 días presentando similar actividad que los nitritos.

El estudio de vida útil del jugo de sábila en presencia de propóleo realizado por Aguilar (2011, pp. 1-8), reportaron que tanto el testigo y los tratamientos con antimicrobianos naturales (propóleo, nisina y citridin) no presentaron cambios significativos en la estabilidad microbiológica durante los 90 días de almacenamiento a 10°C.

Por lo que se ve la factibilidad de esta investigación, evaluando el efecto del propóleo como bioconservante sobre el producto y al compararlo con conservantes químicos habituales. Al ser el propóleo una biomolécula de fuente natural que brindará protección frente a la contaminación

por microorganismos, siendo un producto muy apreciado por sus actividades biológicas, antibacterianas, antivirales, antifúngicas, antioxidantes entre otras. (Vargas et al., 2013, pp. 705-706)

## **Objetivos**

### ***Objetivos Generales***

Evaluar el efecto del propóleo como bioconservante en el dulce de higos (*Ficus carica L.*).

### ***Objetivos específicos***

1. Obtener el extracto alcohólico del propóleo y realizar un análisis físico y microbiológico del mismo.
2. Establecer las formulaciones de los conservantes químicos a utilizar, según la norma para confituras NTE INEN 2825, 2013 y para el propóleo como bioconservante según estudios realizados.
3. Evaluar parámetros sensoriales, físicos-químicos y microbiológicos a 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento del dulce de higos (*Ficus carica L.*), en presencia del bioconservante y los conservantes químicos.
4. Comparar el efecto del propóleo como bioconservante frente al sorbato de potasio y benzoato de sodio.

## CAPITULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Antecedentes de investigación

En el trabajo de grado de Alba (2008, pp. 20-35) estudiaron la factibilidad y rentabilidad de producir dulce de higo para comercializarlo en el Distrito Metropolitano de Quito” en el cual pretendió dar valor a la cultura ecuatoriana y rescatar tradiciones que han desaparecido por la influencia de culturas extranjeras. Sé empezó con un estudio de mercado para conocer las expectativas y necesidades del consumidor en el cual obtuvieron que el 83% de personas encuestadas degustan del sabor del dulce de higos una cifra alta y representativa para hacer crecer el negocio a futuro.”

En la ciudad de México Tolosa (2002, pp. 1-19), probaron la efectividad antimicrobiana de extractos etanólicos y acuoso de propóleos de diferentes localidades, realizando su estudio sobre las bacterias *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* *Streptococcus pyogenes*. y *Staphylococcus aureus*. Identificaron metabolitos como lactonas, saponinas, fenoles, triterpenos, taninos, alcaloides, flavonoides, sustancias animadas y en los extractos acuosos leucoanotocianidinas. Concluyen que la efectividad antimicrobiana de los extractos depende del solvente empleado siendo en el más efectivo los extractos etanólicos y las especies más sensibles resultó ser la *P. aeruginosa* y la *S. typhi* la más resistente.

En el trabajo de grado de Gutiérrez (2012, pp. 3-10), identifico la capacidad bioconservante de extractos etanólicos de propóleos en chorizo realizando una comparación frente a un conservante habitual como el nitrito de sodio. Aplicaron tres tratamientos de conservación, posteriormente realizaron análisis microbiológicos, físico-químicos y sensoriales durante 4 semanas realizando mediciones cada ocho días. Presentando efectos similares entre conservantes, sobre las bacterias mesófilas, psicrófilas, coliformes totales y fecales. Concluyeron que tanto como el propóleo y los nitritos presentan actividad similar, al controlar el desarrollo de microorganismos dentro de la matriz cárnica, finalmente sugieren que es posible la aplicación en productos comerciales”.

La Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, publicó el artículo científico de Aguilar (2011: pp.1-8) en cual “Evaluaron la aplicación de agentes antimicrobianos naturales en la vida útil del jugo de sábila. Al jugo se le adicionó ácido cítrico para ajustar el pH aproximadamente a

3.5 y posteriormente agregaron 3 tipos de agentes antimicrobianos con 3 concentraciones diferentes cada uno. La aplicación del tratamiento térmico (T1) y la adición de propóleos (T2, T3, T4), nisina (T5, T6 y T7) y aceite esencial (T8, T9 y T10) controlaron la contaminación microbiológica y prolongaron la vida útil del jugo de sábila hasta 90 días tanto a 10 como a 25°C”.

En el proyecto de titulación realizado por Gerónimo (2009, pp. 3-30), comparó el efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango, con un diseño experimental de bloques con cuatro tratamientos: (T1: mermelada de mango con benzoato de sodio, T2: con propóleo al 11%, T3: con propóleo al 20% y T4: Sin antimicrobiano o testigo), realizando análisis a los 0,7 y 15 días. En el análisis sensorial de cinco variables: color, olor, dulzura, sabor residual y aceptación general obtuvieron como resultado que los panelistas prefirieron el tratamiento con benzoato de sodio y el tratamiento con 11% de propóleo. Los resultados del análisis microbiológico reportó que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos.

El artículo original de Vargas et al. (2013, pp. 705-706) en la revista Siverciencia, “Señalan que el propóleo es una resina que recolectan las abejas y que se recoge de la colmenas de la mismas, cuya resina presentan propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas, entre otras, siendo dependientes de su origen botánico, estación climática, método de extracción, composición química, edad y zona geográfica de recolección. Hacen mención a varios estudios en los cuales se demuestra el efecto de los extractos de propóleos sobre ciertas bacterias y hongos, así como patógenos de interés alimentario, además que tienen la capacidad para prevenir o retardar reacciones de oxidación por lo que concluyen que los propóleos pueden ser incorporados en matrices alimentarias”.

## **1.2. Bases Teóricas**

### ***1.2.1. Descripción del Producto***

#### ***1.2.1.1. Origen del Higo***

Su historia se remota siglos atrás, es originario del mediterráneo y según arqueólogos dicen que es una de las primeras frutas que eran almacenadas y secada por el hombre (4000 A.C.). En Grecia se utilizaron higos como la primera medalla olímpica y en países del sudeste de Asia, en Egipto, Grecia e Italia el árbol de higo fue considerado como sagrado. (Cabrera et al., 2007: pp-1-36)

El higo, no es una planta nativa de nuestro país pero presenta características de adaptación y variabilidad genética muy similares a las especies nativas. Fue introducida a Ecuador por los españoles; es decir, se trata de un frutal de 500 años de adaptación en nuestra zona Andina. (Cabrera et al., 2007: pp-1-36)

#### 1.2.1.2. Caracterización de la especie

El higo es considerado como la planta doméstica más antigua del mundo, es un arbusto de crecimiento perenne. Se trata de una especie de gran potencial industrial y quizá es una de las primeras frutas que fue secada y almacenada por la especie humana. El hábito de crecimiento típico de higo en Ecuador está ligado a la época de sequía entre los meses de junio y septiembre. (Cabrera et al., 2007: pp-1-36)

La higuera más conocida es la (*Ficus carica L.*) en la actualidad existen más 750 especies en todas las regiones cálidas.



**Figura 1-1.** Higuera (*Ficus carica L.*)  
Fuente: [www.google.com](http://www.google.com)

#### 1.2.1.3. Taxonomía y morfología

Es un árbol o arbusto caducifolio que puede llegar alcanzar una altura de hasta 20m., siempre que esté en un sitio con suelo y clima apropiado.

**Tabla 1-1:** Identificación taxonómica y fisiológica del cultivo de higo.

<b>REINO</b>	Vegetal
<b>CLASE</b>	Dicotiledóneas
<b>ORDEN</b>	Urticidas
<b>FAMILIA</b>	Moraceae
<b>GÉNERO</b>	Ficus
<b>ESPECIE</b>	<i>Ficus carica L.</i>
<b>NOMBRES COMUNES</b>	<u>En francés:</u> Fiquier; <u>en arabe:</u> kerma; <u>en inglés:</u> common fig, fig tree; <u>en italiano:</u> fico, profico; <u>en portugués:</u> figuera y <u>en español:</u> higo, brevera, brevo, cabrahigo.

**Fuente:** Tomado y adoptado de Flores, 1990; Sánchez-Monge y Parellada, 1980

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015

#### 1.2.1.4. Variedad

En la Tabla 2-1 se presentan las principales variedades de higos diferenciadas según su color o su valor en el mercado.

**Tabla 2-1:** Principales variedades de higos

<b>MIRAN o CALIMYRNA</b>	Color dorado, tierno
<b>MISSION</b>	Color Negro
<b>KADOTA o ITALIAN DATTATO</b>	Color ámbar crema, prácticamente sin semilla, piel muy fina
<b>ADRIATIC</b>	Alta productividad, muy dulce, color claro con sombras doradas
<b>VERDILLO</b>	De gran valor en el mercado por su calidad frente a otras
<b>CAMIRNA</b>	De color blanco

**Fuente:** www.arcovia.com

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015

#### 1.2.1.5. Beneficios del Higo

El higo es considerado la fruta de la mujer por su acción de prevenir los cólicos menstruales, miasmas al ser rica en estrógenos, por su evidente mejora de la textura de la piel al controlar la pérdida de colágeno y elastina además ayuda a detener la caída de cabello y regular la tensión arterial. (Cabrera et al., 2007: pp-1-36)

**Tabla 3-1:** Composición nutricional del higo

<b>COMPONENTES</b>	<b>CONTENIDO DE 153 G DE PARTE COMESTIBLE</b>	<b>VALORES DIARIOS RECOMENDADOS (BASADOS EN UNA DIETA DE 2000 CALORÍAS)</b>
<b>Calorías</b>	120	—
<b>Azúcares</b>	11 g	—
<b>Carbohidratos totales</b>	28 g	300 g
<b>Fibra dietética</b>	4 g	25 g
<b>Proteínas</b>	1 g	—

Fuente: California Rare Fruit Growers, The Packer 2000  
Realizado por: Daniela Molina, 2015

#### *1.2.1.6. Transformación agroindustrial*

Una vez recolectada el fruto es tratado con sumo cuidado para no estropear su presentación, posteriormente ingresa a un proceso de selección y lavado con el objetivo principal de eliminar impurezas. La transformación industrial consiste en cocinar la fruta en recipientes de acero inoxidable al que se le añade agua, panela y canela hasta obtener el producto final que es el dulce de higos. (Cabrera et al., 2007: pp-1-36)

#### *1.2.2. Aditivos alimentarios*

El uso de sustancias sobre productos alimenticios, posiblemente tenga sus orígenes en el Paleolítico: al exponer los alimentos al humo, favoreciendo a su conservación; Neolítico: con el desarrollo de la agricultura y ganadería el hombre se vio obligado a buscar nuevas estrategias como la utilización de sal y vinagre, con el fin de que sus productos se conserven por mayor y resulten más apetecibles además usaron azafrán y la cochinilla. Con las nuevas necesidades de la industria alimenticia en el siglo XIX, la busque de compuestos se hace sistemática. A finales de este siglo se incluye al lenguaje alimentario el término “aditivo”. (Cabrera et al., 2007: pp-1-36)

Según el Codex Alimentarius, 1995, el concepto de aditivo se refiere a “cualquier sustancia que, independientemente de su valor nutricional, se añade intencionadamente a un alimento con fines tecnológicos, en cantidades controladas”.



### 1.2.2.1. Conservantes

La actividad de los microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) son las principales causas de alteración de los alimentos siendo un factor que también limita la vida útil del mismo. El deterioro de materias primas y productos elaborados o la pérdida de la imagen de marca son problemas por la alteración microbiana, que tiene implicaciones económicas para el fabricante, distribuidor y consumidores. (Ibáñez et al., 2003: pp. 1-10). La Conferencia de Consumidores y Usuarios (CECU), señala que los conservantes se añaden a los productos alimenticios para protegerlos de alteraciones biológicas, como fermentación, enmohecimiento y putrefacción.

El uso de un conservante alimentario es regulado por organismos oficiales correspondientes, quienes autorizan su uso teniendo en cuenta que este no sea usado para enmascarar las malas condiciones de manipulación o la deficiencia tecnológica en el proceso de elaboración el cual provoca un engaño al consumidor sobre la frescura real del alimento, sino un auxiliar el en proceso de los alimentos. Los límites de cantidad que se puede añadir de un conservante y las condiciones de uso están estrictamente reglamentados en todos los países del mundo. (Ibáñez et al., 2003, pp. 1-10)

**Tabla 4-1:** Aditivos con actividad conservante más utilizados en la UE.

NOMBRE	CARACTERÍSTICA	APLICACIÓN	EFFECTOS Y LÍMITES
Ácido sórbico	Ácido graso insaturado muy poco soluble en agua y presente en algunos vegetales.	Pan envasado y bollería. Concentrados de zumos. Postres a base de leche. Quesos fundido, en lonchas, etc. Aperitivos a base de cereales.	Metabólicamente se comporta como los demás ácidos grasos, es decir, se absorbe y se utiliza como una fuente de energía. IDA: 25 mg/Kg peso
Ácido benzoico	Actividad antimicrobiana descubierta en 1875. Presente de forma natural en canela o ciruelas	Bebidas aromatizadas. Cerveza sin alcohol. Mermeladas y confituras. Salsas de tomate o pimiento.	Se absorbe rápidamente en el intestino, eliminándose también con rapidez en la orina. No tiene efectos acumulativos. IDA: 5 mg/Kg peso
Anhídrido sulfuroso	Uno de los más antiguos conservantes. Eficaz en medio ácido, contra bacterias, mohos levaduras.	Zumos de uva, mostos, vinos, sidra y vinagre. Cefalópodos y crustáceos frescos y congelados.	Destruye la tiamina (vitamina B1). El 3-8% de los enfermos de asma son sensibles a los sulfitos. IDA: 0,7 mg/Kg peso.
Nitratos y nitritos	Impide el crecimiento de microorganismos	Productos cárnicos adobados.	El nitrito se une a la hemoglobina, e impide el transporte de oxígeno.

	patógenos como <i>Clostridium botulinum</i> 11, Forma un compuesto rosa brillante con el pigmento de la carne.	Productos cárnicos embutidos.	IDA nitritos: 0,06 mg/kg peso IDA nitratos: 3,7 mg/kg peso
--	--	-------------------------------	---

**Fuente:** (Ibáñez et al, 2003)

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015

#### 1.2.2.1.1. Ácido sórbico y sorbatos

Es un ácido graso insaturado (trans-2,4-hexadienoico), muy poco soluble en agua. Su nombre procede del “serbal de cazadores”, *Sorbus aucuparia*, el cual se encuentra de forma natural en las bayas inmaduras, alrededor de 1900 fue sintetizado el ácido sórbico al cual se le da una aplicación práctica hasta 1940 al descubrir sus propiedades antimicrobianas. (Ibáñez et al., 2003, pp. 1-10)

En la actualidad, se considera el conservante más utilizado por la industria alimentaria, el cual se usa en forma de ácido o como sorbatos, al ser poco tóxico y a no conferir sabores ni aromas extraños al alimento su uso es autorizado en todo el mundo. Los sorbatos son mucho más solubles que el ácido sórbico, por lo que generalmente se utilizan en la industria alimentaria, puede utilizarse en alimentos hasta un pH 6 como máximo, aunque su eficacia es mayor cuanto menor sea el pH. (Calleja et al, 2010: pp.1-166)

- **Factores que determinan la actividad antimicrobiana de los sorbatos**

**La composición del alimento.-** La adición de sal, azúcar y otros componentes solubles reducen la concentración de sorbato en la fase acuosa. (Sofos, 1993, pp. 4-6 )

**Flora microbiana.-** El potencial del sorbato para inhibir el crecimiento y preservar el producto, puede ser afectado por el tipo y número de microorganismos. Existen microorganismos que pueden crecer en altas concentraciones de sorbato (>0.3%), mientras que otras son inhibidas con concentraciones muy bajas (<0.05%). (Sofos, 1993, pp. 4-6 )

**Actividad de agua.-** Conforme la actividad de agua ( $a_w$ ) disminuye la acción de los antimicrobianos en alimentos se ve generalmente incrementada. Estudios han reportado que el sorbato presenta un incremento de la actividad antimicrobiana al adicionar azúcar o cloruro de sodio al sustrato, por la reducción de la  $a_w$  y ya que los solutos inducen el hinchamiento celular, incrementando la sensibilidad de los microorganismos a los conservantes. (Sofos, 1993, pp. 4-6)

**pH.-** Al disminuir el pH la acción antimicrobiana se incrementa, siendo el sorbato más efectivo como conservador de productos alimenticios cuando los valores de pH son bajos (<6.5), siendo inefectivo a valores de pH 7 y sobre éste. (Sofos, 1993, pp. 4-6 )

**Tabla 5-1:** Código de aditivos alimentarios

<b>E-200</b>	Ácido sórbico
<b>E-201</b>	Sorbato sódico
<b>E-202</b>	Sorbato potásico
<b>E-203</b>	Sorbato cálcico

**Fuente:** Conferencia de Consumidores y Usuarios, 2012

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015

Los ácido sórbico y los sorbatos son eficaces contra mohos y levaduras y menos contra bacterias los principales inconvenientes es que son algo sensibles a la oxidación, al compararlos con otros conservante es relativamente más caro y suelen perder su eficacia al ser sometido a procesos de ebullición. (Calleja et al, 2010: pp.1-166)

#### *1.2.2.1.1. Ácido benzoico*

El ácido benzoico se descubrió en la resina benjuí, o “incienso de Java” alrededor del siglo XVII, pero no estudiado hasta mediados del siglo XVIII. Scheele al estudiar y aislar el ácido, lo llamó ácido benzoico. (Ibáñez et al., 2003, pp.1-10)

Se encuentra de forma natural en la canela, ciruelas y grosella, pudiendo ser el contenido de ácido benzoico en estas frutas incluso superiores al que se podría utilizar legalmente al emplearse como aditivo. (Ibáñez et al., 2003, pp.1-10)

Es un conservante activo en medio ácido, por debajo de pH 5, y en algunas especies solamente por debajo de pH 4. Tiene acción contra bacterias, mohos y levaduras, en especial contra levaduras. En concentraciones de 0,01% puede llegar a inhibir el crecimiento de algunas especies, pero por lo general son necesarias en concentraciones superiores. Su mecanismo de acción es la inhibición del metabolismo del acetato y la fosforilación oxidativa. El principal inconveniente es que presenta cierta toxicidad, por lo que su uso va disminuyendo y es solamente en productos de consumo ocasional. Es eliminado en la orina en forma de ácido hipúrico, conjugado con glicina. (Cortez, 2012, <http://www.elemprendedor.ec/>)

### **1.2.3. Propóleo**

El propóleo son reconocidos como GRAS (del inglés *Generally Recognized As Safe*), es una sustancia natural muy adhesivo, formado por resinas recolectadas por las abejas (*Apis mellifera*), a partir de secreciones de flores y brotes de las hojas. En las colmenas el propóleos mantiene libre de bacterias y hongos patógenos; es muy apreciado por su actividad biológica, antibacteriana, antiviral, antifúngica, anticancerígena, antioxidante, cicatrizante, inmunoestimulante, anestésica, analgésica y fitoinhibidora, entre otras. Estas características se relacionan con su composición química, origen botánico, época de recolección y la especie de abeja recolectora. (Vargas et al., 2013, pp. 705-706)

#### **1.2.3.1. Origen botánico del propóleo**

Se ha identificado más de 300 compuestos químicos, en los que se hallan polifenoles, ácidos fenólicos y sus ésteres, terpenoides, cetonas, aldehídos, aminoácidos, esteroides, alcoholes y compuestos inorgánicos. (Vargas et al., 2013, pp. 705-706)

La calidad de los propóleos está ligada a su origen botánico y geográfico, debido a que la flora influye en sus propiedades físicas como color, sabor, textura y punto de fusión. (Vargas et al., 2013, pp. 705-706)

#### **1.2.3.2. Caracterización fisicoquímica y organoléptica del propóleo**

Debido al contenido de aceite esenciales suele ser el propóleo un componente aromático, el color (de amarillo claro a castaño oscuro) va diferir según el origen botánico, época de recolección y edad, el sabor (amargo, ligeramente picante o insípido), a temperatura de 45 a 250°C adquiere una consistencia blanda, maleable y muy pegajosa, a diferencia de una temperatura por debajo de 15°C se vuelve una sustancia compacta y endeble. Según la Norma Salvadoreña, 2003 su punto de fusión es a 100°C. El etanol, propilenglicol, aceite y agua son los disolventes más utilizados para su extracción comercial. Los solventes más utilizados para su extracción con fines comerciales o investigativos, son el agua o alcohol ya que los componentes antioxidantes y antimicrobianos presentes en el propóleo son solubles en estos. (Bonvehi et al., 2011, pp. 1387-1395)

### 1.2.3.3. Calidad de propóleo

Las propiedades biológicas de los propóleos son dependientes de su composición química la cuales pueden ser aprovechadas por la industria alimentaria, cosmética o química. El propóleo para que sea considerado de calidad óptima debe estar libre de residuos tóxicos, es decir con un bajo contenido de cera, materiales insolubles y/o cenizas; ser de origen botánico y tener una actividad biológica comprobada. (Vargas et al., 2013, pp. 705-706)

**Tabla 6-1:** Evaluación de la calidad de los propóleos

<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>	<b>CONSIDERACIONES</b>
Aroma Color Sabor Consistencia Aspecto	Inodoro, resinoso suave, aromático o balsámico Amarillo, café, verde, rojo y gris, y sus tonalidades Picante, dulce, amargo e insípido Muy blanda, blanda dura, poco dura pegajosa y porosa Homogéneo o heterogéneo
<b>CARÁCTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS</b>	
Extracto seco Índice de oxidación Compuestos fenólicos (mg AG/MI) Flavonoides Espectrograma UV-VIS Metales pesados: plomo y arsénico Residuos de plaguicidas y antibióticos Humedad Cenizas Cera Impurezas mecánicas Índice de yodo Solubilidad en etanol	Mínimo 10% Máximo 22 segundos Mínimo 0.25-5% Mínimo 0.25-0.5% Máximo de absorción entre 270 y 315 nm Máximo 2mg·kg <sup>-1</sup> y 1mg·kg <sup>-1</sup> , respectivamente Ausente Máximo 8% Máximo 5% Máximo 30% 25-30% Mínimo 35% 30-35%
<b>CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICAS</b>	
Bacterias mesófilas (UFC/g) Coliformes fecales (UFC/g) Coliformes totales (UFC/g) <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) Hongos (UFC/g)	<10.000 0 <100 100 1-1000

**Fuente:** Norma Rusa (1977), Norma Cubana (1991), Norma Salvadoreña (2003) y Norma Argentina (2004)

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015

### 1.2.3.4. Actividad antioxidante

Al llevarse a cabo la distribución y preparación de los alimentos en gran parte los cambios que afectan la calidad nutricional, seguridad, color, olor, sabor, y textura es consecuentemente por la

oxidación de los lípidos, por consiguiente, en la industria alimentaria se utilizan antioxidantes sintéticos con el fin de conseguir la integridad del alimento y prevenir el deterioro oxidativo entre los más habitualmente empleados tenemos al butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y terbutilhidroxiquinona (TBHQ). (Schmidt-Hebbel, 1990, pp. 28-29)

Los antioxidantes naturales son una alternativa actualmente para las industrias agroalimentaria para enfrentar los problemas derivados a la estabilidad de los alimentos. El propóleo se considera una fuente natural antioxidante debido a su composición química, su propiedad antiradical y su efecto inhibidor de iones metálicos. (Vargas, y otros, 2013, pp. 705-706).

Se ha demostrado en varios estudios su actividad antioxidante, Da silva et al. (2006, pp. 431-435), concluyeron que por su alto contenido de flavonoides los extractos etanólicos brasileños tiene alta actividad antioxidante en sus ensayos in vitro.

#### *1.2.3.5. Actividad antimicrobiana*

A finales de la década de los 40 las propiedades antimicrobianas del propóleos ya han sido estudiadas. En los ensayos in vitro de Varga et al. (2013, pp. 705-706) concluyen que los extractos de propóleo son más eficaces frente a un gran número de bacterias Gram positivas, pero con limitada actividad sobre Gram negativas, siendo activo para numerosos microorganismos.

(Choi et al., 2006, pp. 756-761), recolectaron propóleo de algunas regiones de Corea y estudiaron la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos del mismo, de lo cual obtuvieron como resultados que tienen alta actividad sobre *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. typhimurium* y *C. albicans*. Otras investigaciones atribuye la reducción in vitro en el número de microorganismos (*S. aureus*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *S. typhimurium* y *C. albicans*), al contenido de compuestos fenólicos como los flavonoides. (Vargas, y otros, 2013, pp. 705-706).

#### *1.2.3.6. Actividad antifúngica*

La contaminación por hongos constituye un serio problema a la industria alimentaria durante el procesamiento, así como en el manejo final del producto. Los conservantes químicos más habituales en los alimentos son el (benzoato de sodio, sorbato de potasio y sus mezclas); el propóleo en los últimos años se ha considerado un antifúngico natural pudiendo ser una alternativa al uso de estos productos químicos para en el deterioro de los alimentos por hongos. (Schmidt-Hebbel, 1990, pp. 28-29)

El estudio de Koc et al. (2007, pp.57-61) reportan que el propóleo posee actividad antifúngica significativa sobre levaduras aisladas de jugos de frutas, concluyendo que para ser considerado como un conservante natural para alimentos, es merecedor de estudios más profundos.

A escala mundial las propiedades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas del propóleo han sido descritas por varios autores (Ver Tabla N°7); sin embargo, se considera que existen un limitado número de publicaciones sobre el uso de propóleos como conservante natural sobre alimentos. (Vargas et al., 2013, pp. 705-706).

**Tabla 7-1:** Principales compuestos del propóleos con actividad biológica

Bioactividad	Compuesto	Denominación IUPAC	Número CAS	Referencias
Antioxidante	Acetina	5,7-dihidroxi-2-(4-metoxifenil) croman-4-uno	480-44-4	Bedascarrasbure <i>et al.</i> , 2004; Velazquez <i>et al.</i> , 2007; Yang <i>et al.</i> , 2011; Valencia <i>et al.</i> , 2012.
	Ácido cafeico	(E)-3-(3,4-dihidroxifenil)- ácido 2-propenoico	331-39-5	
	Ácido cinámico	(E)-3-fenil-ácido propil 2-enoico	140-10-3	
	Ácido ferúlico	(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) ácido propil-2-enoico	537-98-4	
	Ácido sinapínico	(E)-3-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil) ácido propil-2-enoico	530-59-6	
	Ácido p-cumárico	(E)-3-(4-hidroxifenil)- ácido 2-propenoico	501-98-4	
	Apigenina	5,7-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-croman-4-uno	520-36-5	
	Artepillin C	(E)-3-[4-hidroxi-3,5-bis(3-metil-2-butenil) fenil] ácido propenoico	72944-19-5	
	Éster fenético del ácido cafeico (CAPE)	(E)-3-(3,4-dihidroxifenil)- ácido 2-propenoico, 2-éster fenético	104594-70-9	
	Galangina	3,5,7-trihidroxi-2-fenilcroman-4-uno	548-83-4	
Antimicrobiana	Ácido cafeico	(E)-3-(3,4-dihidroxifenil)- ácido 2-propenoico	331-39-5	Takaisi and Schilcher, 1994; Mirzoeva <i>et al.</i> , 1997; Velazquez <i>et al.</i> , 2007; Ahn <i>et al.</i> , 2009.
	Ácido p-cumárico	(E)-3-(4-hidroxifenil)- ácido 2-propenoico	501-98-4	
	Crisina	5,7-dihidroxi-2-fenilcroman-4-uno	480-40-0	
	Éster fenético del ácido cafeico (CAPE)	(E)-3-(3,4-dihidroxifenil)- ácido2-propenoico, 2-éster fenil	104594-70-9	
	Galangina	3,5,7-trihidroxi-2-fenilcroman-4-uno	548-83-4	
	Naringenina	(2S)-5,7-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-2,3-dihidrocroman-4-uno	10236-47-29	
	Pinobanksina	(2R,3R)-3,5,7-trihidroxi-2-fenil-2,3-dihidrocroman-4-uno	548-82-3	
	Pinobanksina-3-acetato	[(2R,3R)-5,7-dihidroxi-4-oxo-2-fenil-2,3-dihidrocroman-3-yl] acetato	52117-69-8	
	Pinocembrina	(2S)-5,7-dihidroxi-2-fenil-2,3-dihidrocroman-4-uno	480-39-7	
	Quercetina	2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxicroman-4-uno	117-39-5	
Antifúngica	Ácido cafeico	(E)-3-(3,4-dihidroxifenil)- ácido 2-propenoico	331-39-5	Bedascarrasbure <i>et al.</i> , 2004; Chaillou y Nazareno, 2009.
	Ácido ferúlico	(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) ácido propil-2-enoico	537-98-4	
	Ácido p-cumárico	(E)-3-(4-hidroxifenil)- ácido 2-propenoico	501-98-4	
	Galangina	3,5,7-trihidroxi-2-fenilcroman-4-uno	548-83-4	
	Pinocembrina	(2S)-5,7-dihidroxi-2-fenil-2,3-dihidrocroman-4-uno	480-39-7	

Fuente: Vargas, Torrescano & Sánchez, 2013

## 1.2.4. Aspecto Legales

### 1.2.4.1. Norma para las confituras, jaleas y mermeladas

La norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2825-2013, es una modificación a la (versión en español) de la Norma Internacional CODEX STAN 296-2009 (Norma para las confituras, jaleas mermeladas).

El dulce de higos, al ser un producto preparado con fruta entera o en trozos, mezclada con productos alimentarios que confiere su sabor dulce con la adición de agua y de consistencia adecuada se define como “**confitura**” según NTE INEN 2825-2013

La (NTE INEN 2825, 2013), establece los factores esenciales de composición y calidad, los aditivos alimentarios permitidos, contaminantes e higiene del producto.

- **Criterios microbiológicos**

La norma NTE INEN 2825-2013, refiere que los productos deberá ajustarse a los criterios microbiológicos establecidos de conformidad con los Principios para el Establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos a los Alimentos (CAC/GL 21-1997).

En el Diario Oficial del 4 de octubre de 2013, el Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia publicó en el Reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con la (Resolución 3929, 2013, pp. 1-45), en la que establece los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos para confituras. (Ver anexo A).



## CAPITULO II

### MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de la investigación

La presente investigación se llevó acabo en los Laboratorios de Microbiología Aplicada y Bromatología de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.2. Materiales, Equipos y reactivos

##### 2.2.1. *Material Vegetal*

La materia prima para la realización del dulce de higos fue seleccionada de acuerdo a su estado de maduración, color, tamaño y sin lesiones mecánicas.

- Higo (*Ficus carica L.*): Fue adquirido en la ciudad de Salcedo, provincia de Cotopaxi.
- Panela: Fue adquirido en la ciudad de Salcedo, provincia de Cotopaxi.
- Canela: Fue adquirido en la ciudad de Salcedo, provincia de Cotopaxi.

##### 2.2.2. *Conservantes*

- Propóleo: Fue adquirido en la ciudad de Salcedo, provincia de Cotopaxi.
- Benzoato de sodio
- Sorbato de Potasio

##### 2.2.3. *Equipos*

- Autoclave
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- Cámara digital
- Estufa a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- pH-metro, con precisión de al menos 0,06 unidades de pH

- Refractómetro
- Refrigeradora
- Reverbero
- Rotavapor R110 BUCHI

#### ***2.2.4. Materiales de laboratorio y otros***

- Agitador
- Bureta de capacidad de 50 mL
- Espátula
- Fundas estériles claras 23\*14 cm, 2 oz
- Matraz aforado
- Matraz erlenmeyer
- Piceta
- Pinza para bureta
- Pipeta de 25 mL
- Pipeta automática de 1000 uL
- Probeta
- Soporte universal
- Termómetro
- Vaso de precipitación
- Vasos de precipitación de 100 mL y 250 mL

#### ***2.2.5. Reactivos***

- Agua destilada
- Agua peptona al 0,1%
- Hidróxido de sodio NaOH=0,1 mol/L
- Solución buffer, de pH conocido

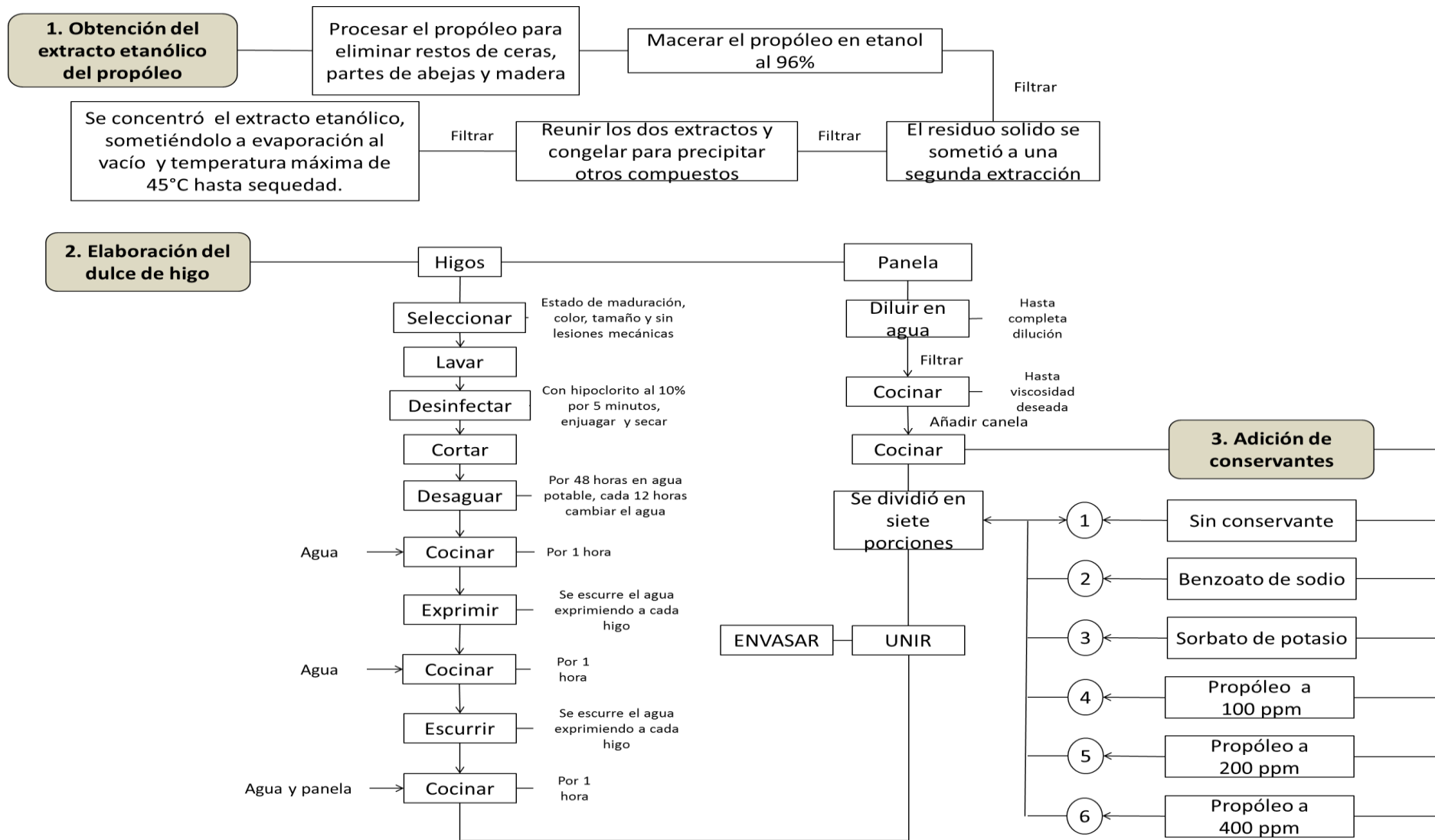
#### ***2.2.6. Medios de cultivo***

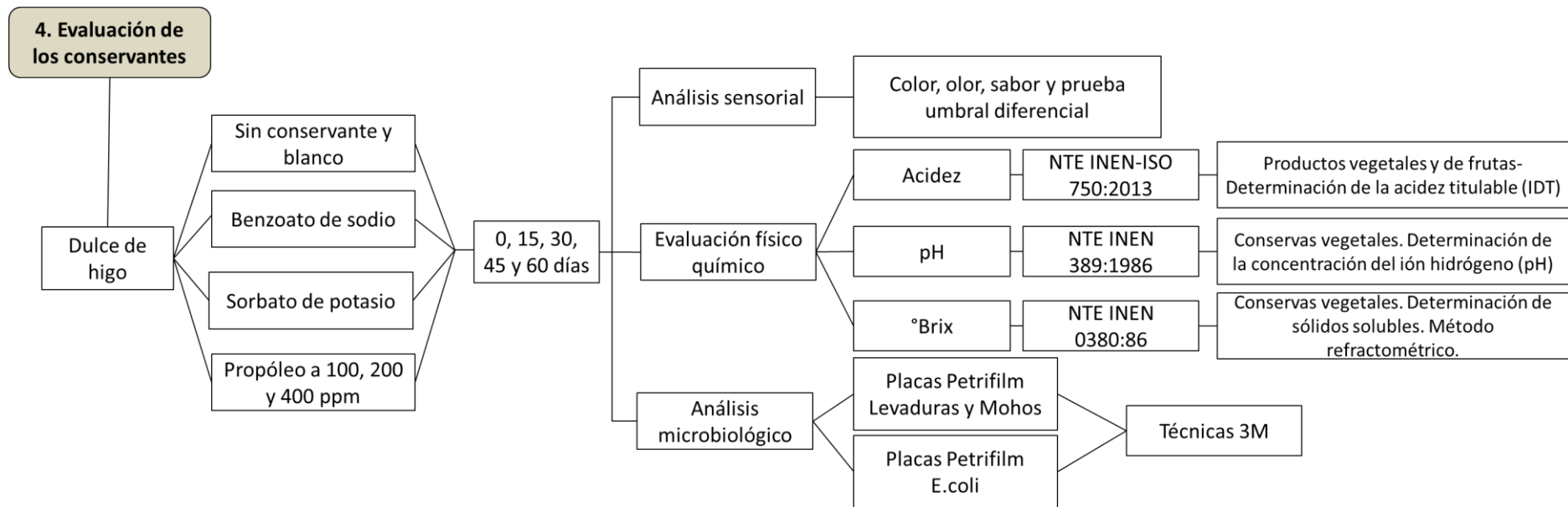
- 3M Placas Petrifilm™ para E. coli y Coliformes Totales
- 3M Placas Petrifilm™ para Levaduras y Mohos

### 2.3. Técnicas y Métodos

La evaluación del efecto bioconservante del propóleo se realizó en cuatro etapas, en la primera se obtuvo el extracto etanólico del propóleo y su respectivo análisis físico y microbiológico (recuento de *E. coli*, Coliformes totales, mohos y levaduras), la segunda etapa consistió en la elaboración del dulce de higos gracias al apoyo y colaboración de la microempresa “Las delicias de los Reyes”; seguido la adición de los conservantes químicos (benzoato de sodio y sorbato de potasio) y el bioconservante (propóleo a 100ppm, 200ppm y 400 ppm); finalmente la última etapa consistió en evaluar los parámetros físicos-químicos (análisis sensorial, pH, acidez, °Brix) y microbiológico (*E. coli*, mohos y levaduras), a los 0, 15, 30, 45 y 60 días, en la figura 2-2, se presenta la esquematización de las diferentes etapas. El anexo A indica los requisitos físico-químicos y microbiológicos para confituras según la resolución 3929 de la Republica de Colombia.

La Figura 2-2, esquematiza las etapas de obtención de propóleo, elaboración del dulce de higos, adición y evaluación de los conservantes.





**Figura 2-2.** Esquema de las etapas de obtención de propóleo, elaboración del dulce de higos, adición y evaluación de los conservantes.

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015

### **2.3.1. Obtención del extracto etanólico del propóleo**

#### *2.3.1.1. Procesamiento del propóleo*

Para procesar el propóleo se mezcló con agua caliente para separarlo de la cera, se lo secó en estufa a <math>45^{\circ}\text{C}</math>, posteriormente se lo disuelve en etanol al 96% para eliminar los restos de cera, abejas, madera u partículas existentes, se filtró y el residuo sólido una vez seco, se procedió a triturarlo y conservarlo en refrigeración hasta posterior utilización.

#### *2.3.1.2. Extracto etanólico de propóleos*

Se pesaron 60g de propóleo el cual se transfirió a un recipiente adecuado para macerar con 180 mL de etanol al 96% se sometió a un pre-tratamiento con ultrasonido de baja frecuencia por 2 horas para incrementar la eficiencia, reducir el tiempo de extracción además de disminuir el riesgo de degradación térmica al realizarse está a  $25^{\circ}\text{C}$ , fue dejado en reposo y posteriormente se filtró al vacío; el residuo sólido se sometió a una segunda extracción en las mismas proporciones que la primera, el nuevo filtrado obtenido se unió al anterior y se lo llevo a congelación por 24 horas, se repitió este proceso hasta no observar la precipitación de ceras. Una vez filtrado el extracto se sometió a un proceso de rota evaporación al vacío a  $45^{\circ}\text{C}$ , hasta completa sequedad. El extracto final concentrado fue envasado en recipientes de color ámbar y refrigerados hasta posterior utilización.

### **2.3.2. Elaboración del dulce de higos**

#### *2.3.2.1. Procesamiento de los higos*

Se seleccionó 110 higos los más homogéneos posible según su estado de madurez, el color, tamaño y que no presente lesiones mecánicas, se los lavo con agua potable para la eliminación de residuos sólidos como tierra u otros, se desinfectó con una solución de hipoclorito al 10% por 5 minutos, se enjuagó y se los dejó secar al ambiente, una vez secos se cortó los higos por su parte inferior hasta la mitad en 4, se continuó con el desaguado que consiste en dejar en reposo los higos en agua por 48 horas realizando un cambio de agua cada 12 horas al eliminar esta agua se procedió a cocinarlos por 1 hora con una nueva porción de agua, una vez transcurrido el tiempo y enfriado se escurre el agua y se exprimió a cada higo procediendo a cocinarlos nuevamente siguiendo el mismo proceso anterior, una vez escurridos se realizó una tercera cocción durante 1 hora, con 6 L de agua y 8 lb de panela (previamente disuelta).

### 2.3.2.2. Elaboración del dulce

Se diluyo 26 lb de panela en 13 L de agua hasta completa disolución y se cocinó hasta la viscosidad deseada.

### 2.3.3. Adición de conservantes

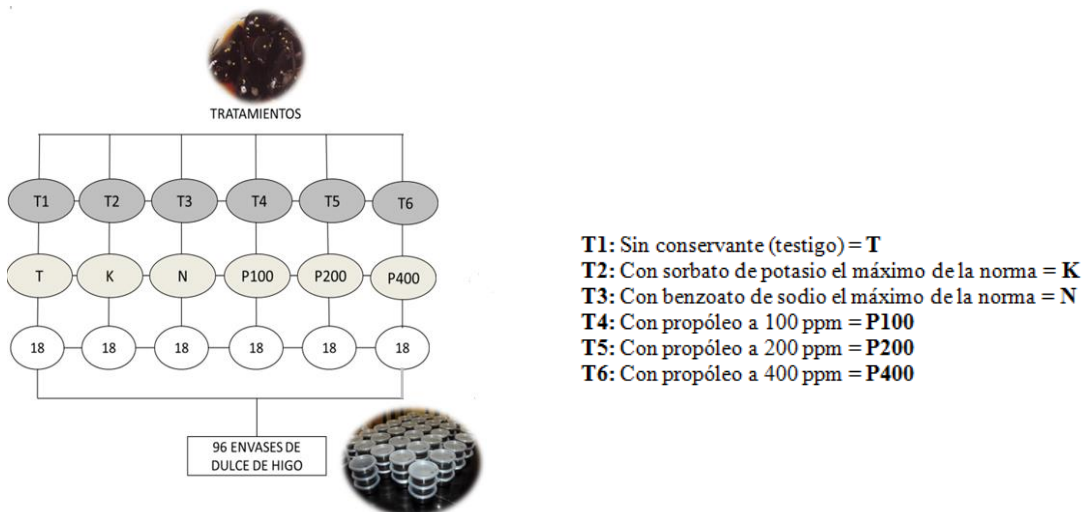
Al dulce obtenido en el punto 2.3.2.2 se le dividió en siete porciones de 2,5L cada una, se procedió a la adición de los conservantes de la siguiente forma: 1-T (sin conservante), 2-K (con sorbato de potasio), 3-N (con benzoato de sodio), 4-P100 (con propóleo a 100 ppm), 5-P200 (con propóleo a 200 ppm), 6-P400 (con propóleo a 400 ppm), 7-A (blanco con 100 ppm de alcohol); se procedió a unir en un recipiente adecuado cada porción con 15 higos del punto 2.3.2.1 y se cocinó por 10 minutos más a temperatura inferior a  $<50^{\circ}\text{C}$ ; una vez enfriado se continuó con el proceso de envasado colocando 3 higos por tarrina.

### 2.3.4. Evaluación de los conservantes

A continuación se detalla en figuras y cuadros la selección de la muestra, los tratamientos, el número de repeticiones, los parámetros y periodo de tiempo evaluados.

#### 2.3.4.1. Selección y tamaño de la muestra

La figura 3-2. Indica la selección de la muestras para el posterior análisis de parámetros físico-químicos y microbiológicos a diferentes tiempos.



**Figura 3-2.** Selección de las muestras

Realizado por: Daniela Molina, 2015

2.3.4.2. Esquematización de los tratamientos, repeticiones y parámetros evaluados al dulce de higo



**Figura 4-2.** Tratamientos y repeticiones  
Realizado por: Daniela Molina, 2015

**Tabla 8-2.** Parámetros evaluados al dulce de higos

PARÁMETROS	MUESTRAS	ENSAYOS	MEDICIONES (días)	OBSERVACIONES
FÍSICO-QUÍMICOS	1	Acidez pH °Brix	0,15,30,45 y 60	
MICROBIOLÓGICOS	2	Levaduras y mohos E.coli	0, 15,30,45 y 60 0	Dilución 10 <sup>-1</sup>
SENSORIAL	3	Color	0, 15	
		Olor		
		Sabor Prueba umbral diferencial	0,15,30	

- T:** Sin conservante o testigo
- T1:** Con sorbato de potasio al máximo de la norma
- T2:** Con benzoato de sodio al máximo de la norma
- T3:** Con propóleo a 100 ppm
- T4:** Con propóleo a 200 ppm
- T5:** Con propóleo a 400 ppm

Realizado por: Daniela Molina, 2015



### 2.3.4.3. Descripción de los parámetros físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales evaluados.

#### ▪ **Acidez total**

La acidez se determinó en base a la norma NTE-INEN 750:2013 Productos vegetales y de frutas – Determinación de la acidez titulable (IDT).

Para la preparación de la muestra, se pesaron 25 g con aproximación de 0,01g, lo cual se diluyó con agua en un matraz aforado de 250 mL.

En el procedimiento de la determinación de la acidez titulable se utilizó el método potenciométrico en el cual se transfirió, por medio de una pipeta 25 mL de la muestra diluida a un vaso de precipitación, se procedió a la titulación con agitación constante y añadiendo rápidamente desde la bureta, la solución de hidróxido de sodio hasta que el pH sea de  $7 \pm 0,2$  y a continuación, se agregó lentamente hasta que el pH sea de  $8,1 \pm 0,2$ . (Ver anexo F)

Los resultados de la acidez titulable, se expresó en milimoles de  $H^+$  por 100 g de producto, lo que está dado por lo siguiente:

$$\frac{250}{m} \times V_1 \times c \times \frac{100}{V_0}$$

Donde:

m es la masa, en gramos, de la muestra de ensayo;

$V_0$  es el volumen, en mililitros, de la porción de ensayo;

$V_1$  es el volumen, en mililitros, de la solución de hidróxido de sodio utilizada para la determinación;

c es la concentración exacta, en moles por litro, de la solución de hidróxido de sodio.

Reportar los resultados con un decimal

#### ▪ **pH**

El pH se determinó en base a la norma NTE-INEN 389:1985-12 Conservas vegetales y de frutas–Determinación de la concentración del ion hidrógeno (pH). (Ver anexo G)

Para la preparación de la muestra se homogenizo convenientemente con agitación, se pesó 5 g de la muestra y se añadió 50 mL de agua destilada (recientemente hervida y enfriada) y agitar suavemente, finalmente se determino es pH introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que este no tope las paredes del recipiente.

### ▪ **Sólidos solubles**

La determinación de sólidos solubles se realizó en base a la NTE-INEN-ISO 2173:2013 Productos vegetales y de frutas- Método refractométrico (IDT).

Se mezcló bien la muestra, y se colocó una pequeña cantidad (2 o 3 gotas es suficiente) en el prisma fijo del refractómetro y se ajusta inmediatamente el prisma móvil, iluminar adecuadamente el campo de visión, llevar la línea que divide las partes claras y oscuras de la superficie en el campo de visión hasta el cruce de las líneas diagonales. Leer el valor del índice de refracción o la fracción de masa de sacarosa o °Brix. (Ver anexo E)

### ▪ **Análisis microbiológico**

Los análisis microbiológicos se realizaron en placas Petrifilm™ mediante las técnicas de uso de 3M™ para mohos y levaduras y *E. coli* y coliformes totales según AOAC método oficial 991.14;

Se preparó una dilución del dulce de higo en las fundas estériles, se pesó aproximadamente 10 g de muestra y se añadió 90 mL de agua destilada estéril, se mezcló para su correcta homogenización y se continuo con la inoculación colocando la placa Petrifilm™ en una superficie plana, se levantó el film superior y se colocó con la pipeta automática 1 mL de la dilución, se deja caer el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire y se colocó el aplicador para mohos y levaduras o el de *E. coli* y coliforme totales sobre la placa ejerciendo una presión para dispersar la muestra sobre el área circular, finalmente se retiró el aplicador y se esperó un minuto aproximadamente para que se solidifique el gel.

**Tabla 9-2:** Condiciones de incubación

<b>MICROORGANISMO</b>	<b>TEMPERATURA</b>	<b>TIEMPO DE INCUBACIÓN</b>
Mohos y levaduras	25°C ± 1°C	3-5 días
Coliformes	35°C ± 1°C	24 horas
<i>E. coli</i>	35°C ± 1°C	48 horas

Realizado por: Daniela Molina, 2015

### ▪ **Análisis sensorial**

Se evaluaron parámetro como color, olor, sabor en el día 0 y se realizó una determinación de umbral diferencial mediante una prueba de puntuación con ayuda de una escala ponderada a los 15,30 y 45 días.

La prueba de degustación consistió en una escala hedónica verbal que costaba de las siguientes opciones:

Al día 0 el panel lo conformaron 15 evaluadores semi-entrenados, se analizaron 3 muestras por cada tratamiento (T1: Con sorbato de potasio; T2: Con benzoato de sodio; T3: Con propóleo al 100 ppm; T4: Con propóleo al 200 ppm; T5: Con propóleo al 400 ppm), colocadas al azar con diferentes códigos, los cuales identificaron el color, sabor y olor de cada muestra, indicando si existe: (*ninguna, ligera, moderada, grande y extrema*) diferencia con T: Sin conservante o (testigo).

A los 15,30 y 45 días se realizó la prueba umbral de diferenciación que consistió en la degustación de los tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5); con 12 panelistas semi-entrenados, los cuales señalaron si existe: (*ninguna, ligera, moderada, grande y extrema*) diferencia frente al sabor de T; posteriormente se tabuló mediante una prueba de puntuación con escala ponderada. En el Anexo C se presenta el formato para la evaluación del análisis sensorial.

#### ▪ **Análisis estadístico**

Como herramienta de análisis se utilizó el programa estadístico Minitab versión 16, los datos se sometió a un análisis de varianza de un factor (ANOVA) con una significancia del 5% y cuando existió diferencia estadística se utilizó el test de comparación de medias o test de Tukey al 95% de confianza.

## CAPITULO III

### MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. Extracto etanólico de propóleo (EEP)

Se realizó una extracción etanólica partiendo de 60g de propóleo crudo en 180 mL de alcohol al 96% obteniendo un porcentaje de rendimiento de:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{cantidad obtenida}}{\text{cantidad total}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{18,0465\text{g}}{60\text{g}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = 30,07$$

Se realizó EEP ya que según Gutiérrez (2012, pp. 17-20), los propoleos obtenidos por extracción etanólica presenta mayor actividad antimicrobiana en comparación con otras técnicas como extracción acuosa y de volátiles, además que los EEP presentan mayor cantidad de compuestos volátiles, recupera más compuestos activos, ya que toma los que se recoje en un extraccion acuosa y por compuestos volátiles.

#### 3.2. Formulación de los tratamientos

Los tratamientos para este estudio se representan en la Tabla 10-3, que describe las concentraciones de conservantes químicos, (benzoato de sodio y sorbato de potasio) y bioconservante (propóleo), añadidas al dulce de higo.

La concentración de los conservantes químicos añadidos al dulce de higo se realizó en base a la dosis máxima permisible por la NTE INEN 2825 (Norma Tecnicas Ecuatorianas, 2013, p. 6) para confituras, jaleas y mermeladas. La concentración de propóleo a añadir se establecio en base a los estudios realizados por Gutiérrez, (2012, pp. 17-20) en la evaluación del efecto del propóleo en chorizo; Aguilar et al.,(2011, pp. 1-8) que realizaron estudios de vida útil del jugo de sábila en presencia de propóleo, citracidin y nisina; y de Gerónimo (2009, pp.1-30) que comparó el efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango.

**Tabla 10-3:** Descripción de los tratamientos

TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN	CONCENTRACIÓN EN ppm
T	Sin conservante	---
T1	Sorbato de potasio:	1000
T2	Benzoato de sodio:	1000
T3	Propóleo:	100
T4	Propóleo:	200
T5	Propóleo:	400

Realizado por: Daniela Molina, 2015

### 3.3. Análisis, interpretación y discusión de resultados

#### 3.3.1. Resultados del análisis físico y microbiológico del propóleo a ser utilizado como bioconservante

En la Tabla 11-3, se representa los resultados del análisis físico y microbiológico del propóleo, los mismos que no afectaron al dulce de higo ya que su color y apariencia son similares, en cuanto al olor característico del propóleo solo se pudo apreciar en la incorporación del mismo al producto el cual se desvaneció rápidamente.

En cuanto al análisis microbiológico no existió crecimiento de *E. coli*, coliformes totales, mohos y levaduras, por tanto, se deduce que el manejo y procesamiento de este producto garantizo su calidad sanitaria y no constituye una fuente de contaminación microbiana para el dulce de higo.

**Tabla 11-3:** Resultados del análisis físico y microbiológico del propóleo

Apariencia	Líquido oscuro
Color	Marrón oscuro
Olor	Característico
Solubilidad al agua	Insoluble
<i>E. coli</i> y Coliformes Totales	0,00±0,00 logUFC/mL
Mohos y levaduras	0,00±0,00 logUFC/mL

Realizado por: Daniela Molina, 2015

#### 3.3.2. Resultados microbiológicos de las muestras

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental ya que influye en su conservación y vida de anaquel, las normas en materia de alimentos generalmente establecen dicha calidad, en términos de microorganismo indicadores: de manejo o de eficiencia del proceso (coliformes

totales, mohos y levaduras); y de contaminación fecal (coliformes fecales y *E. coli*). (Pierson et al., 2001, p. 13)

Por lo consiguiente se realizó el análisis de coliformes totales, *E. coli*, mohos y levaduras, a los 0 días de almacenamiento en todas las muestras, las cuales no presentaron crecimiento de estos microorganismos. Este recuento inicial se encuentra por debajo del límite de requisitos microbiológicos, según la guía de buenas prácticas para alimentos de IV Gama, al no existir una norma técnica ecuatoriana específica para dulce de higos, ni otra que se pueda tomar como referencia. Este recuento inicial bajo, junto a otras consideraciones (procesamiento, técnicas de almacenamiento, etc.), contribuyen a mantener las cualidades del producto. (Leiva et al., 2012, pp. 19-35)

Considerando la alta concentración de azúcares en el producto (59 °Brix) se realizó el recuento a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de mohos y levaduras, ya que los azúcares al ser fácilmente fermentables hacen al producto un medio propicio para su crecimiento. (Leiva et al., 2012, pp. 19-35)

Por lo tanto, el crecimiento de mohos y levaduras se hizo evidente en el testigo a los 30 días de almacenamiento con un contaje de (0,7 log UFC/mL) al no contener ningún tipo de conservante. Mientras que en los demás tratamientos no hubo crecimiento microbiológico, evidenciándose el efecto de los conservantes añadidos. (Ver Tabla N° 12-3).

En un estudio de comparación del efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango se realizaron análisis microbiológico a los 0, 7 y 15 días, reportando actividad antifúngica de los dos conservantes contra *Aspergillus* hasta los 15 días, concluyendo que no existe diferencia estadística entre el propóleo y el benzoato de sodio en este periodo de tiempo (Gerónimo, 2009, pp.3-30).

Los estudios realizados por Gutiérrez (2012, pp. 3-110), sobre el efecto del propóleo como bioconservante en el chorizo, reporto actividad antimicrobiana in vitro en los ensayos realizados hasta los 30 días presentando similar actividad que los nitritos. El estudio de vida útil del jugo de sábila en presencia de propóleo realizado por Aguilar et al. (2011, pp:1-8), reportaron que tanto el testigo y los tratamientos con antimicrobianos naturales (propóleo, nisina y citridin) no presentaron cambios significativos en la estabilidad microbiológica durante los 90 días de almacenamiento a 10°C.

Al tomar como referencia estos estudios, la actividad antifúngica en este proyecto concuerda con los diferentes autores, ya que Gerónimo y Gutiérrez reportaron actividad antifungica y

antimicrobiana a los 15 y 30 días, respectivamente, pero al disminuir la temperatura de almacenamiento como en el estudio de Aguilar, se puede lograr un tiempo de vida útil del producto hasta los 90 días. (Gerónimo, 2009; Gutiérrez, 2012; Aguilar 2011)

En cuanto al día 45 de almacenamiento ya se presentaron diferencia significativa entre tratamientos, prevaleciendo su función conservante los tratamientos T1 y T2 (conservantes comerciales), al no presentar crecimiento microbiológico. A diferencia de T3 que presentó un crecimiento de (2,67 log UFC/mL) que se encuentra fuera del límite permisible para confituras según la Resolución 3929 de 2013-Colombia siendo el límite máximo permisible 1,30 (log UFC/mL), mientras que los tratamientos T4 y T5 el recuento fue de (1,46 y 0,79 log UFC/mL, respectivamente), encontrándose aún en los límites de aceptación de calidad de confituras según las misma norma.

En los 60 días de almacenamiento de las muestras, el mejor tratamiento fue T1 que no presentó crecimiento microbiano, al ser uno de los conservantes químicos más utilizados por su efectividad frente a mohos y levaduras, además de que algunos estudios reportan que la actividad microbiana del sorbato aumenta al adicionar azúcar al producto, por lo que explica que haya conservado el dulce de higos mejor que los otros tratamientos. (Sofos, 1993, p. 10). En cuanto al testigo y los tratamientos T2, T3, T4 y T5 presentaron valores de crecimiento de mohos y levaduras fuera de los rangos permisibles de aceptación de calidad, según la Resolución 3929 de 2013 de Colombia para confituras. En la Figura 5-3, se observa que el crecimiento de mohos y levaduras, en los tratamientos T3, T4 y T5 a los 60 días de almacenamiento fue superior a los otros tratamientos incluyendo al testigo.

Entre los factores que influyen las propiedades antimicrobianas del propóleo se encuentra la temperatura idónea de almacenamiento <15 °C según Jurgens (2008, p. 30) además indica que la humedad excesiva en el propóleo favorece el desarrollo de algunas especies de mohos y levaduras en la superficie del mismo, lo que se manifiesta por la presencia de capas blancas y verdosas, pudiendo producir fermentaciones que a su vez generan productos no deseados, y toxinas perjudiciales para la salud.

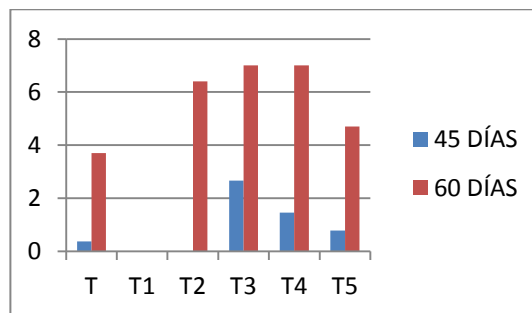
En referencia a lo anterior, se deduce que los tratamientos T3, T4 y T5 que contenían propóleo a diferentes concentraciones, perdieron su actividad bioconservante, debido que el almacenamiento del dulce de higos fue a temperatura ambiente superiores a lo recomendado por Jurgens y por otra parte en el (anexo D, fotografía N° 5, literal c) se puede observar la presencia de capas blancas y verdosas coincidiendo con lo indicado por Jurgens al existir un exceso de humedad en el dulce de higos. (Jurgens 2008, p. 30).

**Tabla 12-3:** Resultados del análisis microbiológico, a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento de las muestras.

ENSAYOS	<i>E. coli</i> y coliformes totales (logUFC/mL) Límite max. permisible 1,30 logUFC/mL según Resolución 3929 de 2011-Colombia	MOHOS Y LEVADURAS (logUFC/mL) Límite max. permisible 1,30 logUFC/mL según Resolución 3929 de 2013-Colombia				
	0	0	15	30	45	60
Días Tratamientos						
T	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,7±0,00 <sub>a</sub>	0,38±0,60 <sub>bc</sub>	3,7±2,96 <sub>b</sub>
T1	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>c</sub>	0,00±0,00 <sub>c</sub>
T2	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00 ±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>c</sub>	6,4±1,18 <sub>ab</sub>
T3	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	2,67±0,12 <sub>a</sub>	7,0±0,0 <sub>a</sub>
T4	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	1,46±1,23 <sub>b</sub>	7,0±0,0 <sub>a</sub>
T5	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,00±0,00 <sub>a</sub>	0,79±0,64 <sub>bc</sub>	4,7±1,7 <sub>ab</sub>

T: Sin conservante (testigo); T1: Con sorbato de potasio; T2: Con benzoato de sodio; T3: Con propóleo al 100 ppm; T4: Con propóleo al 200 ppm; T5: Con propóleo al 400 ppm.  
Las medias que no comparten una letra en la misma columna son significativamente diferentes. (p<0,05).

Realizado por: Daniela Molina, 2015



**Figura 5-3.** Resultados del análisis microbiológico

Realizado por: Daniela Molina 2015



### **3.3.3. Resultados de los parámetros físico-químicos.**

En la Tabla 13-3 se representa los resultados de los parámetros físicos-químicos (Acidez, pH, y solidos totales), evaluados a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento de todas las muestras.

#### **3.3.3.1. Acidez total (AT)**

Los valores de AT expresados en % de ácido cítrico, se muestran en la Tabla 13-3. Comparando en el mismo día de almacenamiento entre tratamientos se observa en el día 0 de almacenamiento que el tratamiento T1 ( $0,158 \pm 0,011$  %ac.), presenta diferencias significativa con los demás tratamientos, mientras que con el testigo T ( $0,144 \pm 0,013$  %ac.) no existe diferencia significativa, a los 60 días el tratamiento T2 ( $0,144 \pm 0,013$  %ac), presenta diferencias significativa con los todos los tratamientos incluyendo el testigo. De acuerdo con Jurgens (2008, p. 30), los conservantes químicos son ácidos, por lo que podría explicar esta diferenciación ya que se trata de los conservantes químicos (benzoato de sodio y sorbato de potasio).

Considerando que la vida útil de los productos de dulce de higo que actualmente son comercializados en el país, es de 30 días en refrigeración cuando no ha recibido un tratamiento térmico (esterilización comercial), se procede a analizar los resultados a través del tiempo, comparando los datos del producto fresco (0 días), con los datos a los 30 días de almacenamiento, tiempo en el cual los resultados microbiológicos indican que todas las muestras presentan menores recuentos que la norma.

En cuanto al % de acidez por tratamiento a través del tiempo, el testigo T y el tratamiento T1 y T2, no presentan diferencia significativa con el producto fresco a los 30 días, tampoco a los 45 y 60, por otra parte los tratamientos T3, T4 y T5, presentaron diferencia estadística ligera a los 0 días, y un aumento progresivo de la acidez en los tres tratamientos a partir de los 15 días de almacenamiento.

#### **3.3.3.2. pH**

El tratamiento T1 y T2 presento diferencia estadística a los 30 y 45 días entre tratamientos, los tratamientos restantes no referenciaron diferencia significativa a los 0, 15, 30, 45 y 60 días entre tratamientos y el testigo, por otra parte existió una disminución del pH progresiva a través del tiempo para todos los tratamientos y el testigo, teniendo como promedio de todas las muestras de 6,32-5,37.

### 3.3.3.3. *Sólidos solubles totales (SST)*

Los valores obtenidos para los STT expresados en °Brix, en la Tabla 13-3, se observa diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos a lo largo del almacenamiento y entre sí, comparados con la muestra fresca; el tratamiento T2 presentó una disminución de STT a los 60 días a comparación de los demás tratamientos. Al ser una sal el benzoato de sodio pudo haberse atribuido a la disminución de STT. En los estudios realizados por Rodríguez (2009, pp.12-13) señala que la medida de los sólidos solubles, refleja influencia neta de los efectos contrarios de los materiales disueltos más pesados que el agua (azúcar, ácidos, sales, etc) y de los más ligeros (alcoholes, etc).

A los 60 días existe diferencia significativa entre todos los tratamientos lo cual se atribuye al tipo de microorganismos presentes, a la acidez del medio y a la presencia de otras sustancias como resinas en el caso del propóleo. Como lo señalan diferentes autores.

Comparando la evolución de este parámetro por tratamiento entre los días de almacenamiento (0, 15, 30, 45 y 60 días); el testigo presenta una disminución a partir de los 30 días, el tratamiento T1 y T2 presentaron una disminución progresiva a través del tiempo y los tratamientos T3, T4 y T5 no presentan diferencia significativa entre el día 0 y a los 60 días, a pesar de que las resinas contenidas en estos tratamientos pudieron haber influenciado en los sólidos totales. Como lo señala Gerónimo (2009, pp.3-30) también en sus estudios.

**Tabla 13-3:** Resultados de parámetros físicos y químicos, a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento de las muestras.

ENSAYOS	ACIDEZ (% ácido cítrico) Min. 0,5 % ácido cítrico según Resolución 3929 de 2013-Colombia					pH (ion hidrogeno) 4,5 pH según Resolución 3929 de 2013-Colombia					SÓLIDOS TOTALES (°Brix) Min. 35 - Max 59 °Brix según Resolución 3929 de 2013-Colombia				
	Días Tratamientos	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60	0	15	30	45
<b>T</b>	0,144± 0,013 <sub>ab1</sub>	0,158± 0,011 <sub>a1</sub>	0,155± 0,011 <sub>b1</sub>	0,158± 0,010 <sub>b1</sub>	0,154± 0,014 <sub>bc1</sub>	6,37± 0,05 <sub>a1</sub>	6,08± 0,04 <sub>b2</sub>	6,03± 0,05 <sub>b2</sub>	5,60± 0,06 <sub>a3</sub>	5,30± 0,06 <sub>a4</sub>	59,87± 0,62 <sub>a1</sub>	58,97± 0,87 <sub>a1</sub>	58,82± 0,37 <sub>a12</sub>	57,83± 0,76 <sub>a2</sub>	57,83± 0,27 <sub>a2</sub>
<b>T1</b>	0,158± 0,011 <sub>a1</sub>	0,153± 0,014 <sub>a1</sub>	0,158± 0,011 <sub>b1</sub>	0,172± 0,014 <sub>ab1</sub>	0,172± 0,014 <sub>b1</sub>	6,30± 0,06 <sub>a1</sub>	6,20± 0,00 <sub>a2</sub>	6,10± 0,00 <sub>a3</sub>	5,60± 0,00 <sub>a4</sub>	5,28± 0,08 <sub>a5</sub>	59,47± 0,43 <sub>ab1</sub>	58,70± 0,55 <sub>a2</sub>	58,73± 0,27 <sub>a2</sub>	58,30± 0,11 <sub>a2</sub>	58,30± 0,11 <sub>a2</sub>
<b>T2</b>	0,135± 0,000 <sub>b1</sub>	0,144± 0,014 <sub>a1</sub>	0,149± 0,015 <sub>b1</sub>	0,148± 0,011 <sub>ab1</sub>	0,144± 0,013 <sub>c1</sub>	6,27± 0,05 <sub>a1</sub>	6,10± 0,00 <sub>b2</sub>	6,00± 0,00 <sub>bc3</sub>	5,53± 0,05 <sub>ab4</sub>	5,27± 0,08 <sub>a5</sub>	57,61± 0,68 <sub>cd1</sub>	56,03± 0,08 <sub>b2</sub>	55,57± 0,15 <sub>d23</sub>	55,03± 0,66 <sub>c23</sub>	54,87± 0,16 <sub>b23</sub>
<b>T3</b>	0,131± 0,011 <sub>b1</sub>	0,158± 0,011 <sub>a2</sub>	0,158± 0,020 <sub>b2</sub>	0,165± 0,012 <sub>ab2</sub>	0,162± 0,011 <sub>bc2</sub>	6,37± 0,05 <sub>a1</sub>	6,08± 0,04 <sub>b2</sub>	6,02± 0,04 <sub>b2</sub>	5,53± 0,05 <sub>ab3</sub>	5,25± 0,05 <sub>a4</sub>	58,50± 0,52 <sub>bc1</sub>	59,00± 0,49 <sub>a1</sub>	57,87± 0,43 <sub>b1</sub>	58,57± 0,37 <sub>a1</sub>	58,27± 0,10 <sub>a1</sub>
<b>T4</b>	0,131± 0,011 <sub>b1</sub>	0,154± 0,014 <sub>a12</sub>	0,167± 0,010 <sub>b12</sub>	0,168± 0,011 <sub>ab12</sub>	0,162± 0,001 <sub>bc12</sub>	6,30± 0,09 <sub>ab1</sub>	6,07± 0,05 <sub>b2</sub>	6,00± 0,00 <sub>bc2</sub>	5,50± 0,00 <sub>b3</sub>	5,28± 0,08 <sub>a4</sub>	57,30± 0,84 <sub>d1</sub>	56,80± 0,55 <sub>b1</sub>	56,37± 0,51 <sub>c1</sub>	56,83± 0,43 <sub>b1</sub>	55,33± 0,52 <sub>b2</sub>
<b>T5</b>	0,126± 0,014 <sub>b2</sub>	0,154± 0,014 <sub>a1</sub>	0,158± 0,020 <sub>b1</sub>	0,168± 0,011 <sub>ab1</sub>	0,162± 0,017 <sub>bc1</sub>	6,28± 0,08 <sub>a1</sub>	6,05± 0,05 <sub>b2</sub>	6,00± 0,00 <sub>bc2</sub>	5,53± 0,05 <sub>ab3</sub>	5,23± 0,05 <sub>a4</sub>	58,67± 0,45 <sub>bc1</sub>	58,10± 0,11 <sub>a2</sub>	57,83± 0,37 <sub>b2</sub>	57,80± 0,31 <sub>a2</sub>	57,73± 0,30 <sub>a2</sub>

T: Sin conservante (testigo); T1: Con sorbato de potasio; T2: Con benzoato de sodio; T3: Con propóleo al 100 ppm; T4: Con propóleo al 200 ppm; T5: Con propóleo al 400 ppm.

(a,b,c): Las medias que no comparten una letra en la misma columna son significativamente diferentes. (p<0,05)

(1,2,3): Las medias que no comparten una letra en la misma fila son significativamente diferentes. (p<0,05).

Realizado por: Daniela Molina, 2015

### 3.3.4. Resultados del análisis sensorial de las muestras

Los 5 tratamientos de dulce de higo (T1: Con sorbato de potasio; T2: Con benzoato de sodio; T3: Con propóleo al 100 ppm; T4: Con propóleo al 200 ppm; T5: Con propóleo al 400 ppm), fueron evaluadas frente a T: sin conservante o testigo, para determinar si existe diferencia significativa sensorial entre las muestras.

La Tabla 14-3, muestra el análisis sensorial de los tratamientos a los 0 días, en el cual los panelistas no encontraron diferencia significativa entre los tratamientos en cuanto a color y olor, mientras que en el parámetro sabor se puede encontrar una ligera y moderada diferencia de los tratamientos T3, T4 y T5; refirieron los panelistas que existe diferencia pero el sabor sigue siendo agradable.

El sabor amargo que proporciona el propóleo o las resinas presentes, influyó en la aceptación del consumidor, lo que concuerda con los estudios realizados por Gerónimo (2009, pp.11-14) que comparó las acción antimicrobiana del benzoato de sodio y propóleo en mermelada de mango.

**Tabla 14-3:** Resultados del análisis sensorial a los 0 días

Parámetro Tratamientos	0 DÍAS																		
	OLOR					COLOR					SABOR								
	T	T1	T2	T3	T4	T5	T	T1	T2	T3	T4	T5	T	T1	T2	T3	T4	T5	
<b>Ninguna</b>	Característico	X	x	x	X	x	Café oscuro	X	x	x	x	X	Dulce característico	X	x				
<b>Ligera</b>																x	x		
<b>Moderada</b>																			x
<b>Grande</b>																			
<b>Extrema</b>																			

T: Sin conservante (testigo); T1: Con sorbato de potasio; T2: Con benzoato de sodio; T3: Con propóleo al 100 ppm; T4: Con propóleo al 200 ppm; T5: Con propóleo al 400 ppm.

Realizado por: Daniela Molina, 2015

La Tabla 15-3, representa los resultados de la prueba umbral de diferenciación realizada a los 0, 15, 30 y 45 días, para determinar cuan diferente son las muestras con respecto al testigo; esta diferencia puede ser positiva (percepción igual o mejor que el testigo) y negativa (percepción menos agradable que el testigo), por lo que se consideró la sumatoria de las respuestas *ninguna*,

*ligera, modera, grande y extrema* previa la multiplicación por los factores: si es una respuesta positiva (0, 1, 2, 3 y 4) y si es una respuesta negativa (0, -1, -2, -3 y -4), respectivamente.

**Tabla 15-3:** Resultados del análisis sensorial a los 15, 30 y 45 días.

Tratamientos	Días	Diferencia									
		0		15		30		45		FACTOR	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
T1	Ninguna	8	-	1	-	-	-	-	-	3	0
	Ligera	-	-	7	-	3	2	4	-	2	1
	Moderada	-	-	-	-	3	-	1	-	1	-1
	Grande	-	-	-	-	1	-	-	-	-1	-2
	Extrema	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-3
T2	Ninguna	8	-	1	-	-	-	-	-	3	0
	Ligera	-	-	7	-	2	-	2	-	2	1
	Moderada	-	-	-	-	6	-	5	-	1	-1
	Grande	-	-	-	-	-	-	1	-	-1	-2
	Extrema	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-3
T3	Ninguna	2	-	2	-	-	-	-	-	3	0
	Ligera	6	-	2	-	2	2	-	2	2	1
	Moderada	-	-	4	-	1	2	2	2	1	-1
	Grande	-	-	1	-	1	-	-	2	-1	-2
	Extrema	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-3
T4	Ninguna	1	-	1	-	-	-	-	-	3	0
	Ligera	6	-	4	-	3	1	2	2	2	1
	Moderada	1	-	2	-	2	2	2	2	1	-1
	Grande	-	-	1	-	-	-	-	-	-1	-2
	Extrema	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-3
T5	Ninguna	1	-	1	-	2	-	2	-	3	0
	Ligera	4	-	3	-	1	3	-	-	2	1
	Moderada	3	-	2	-	2	-	1	3	1	-1
	Grande	-	-	2	-	-	-	-	-	-1	-2
	Extrema	-	-	-	-	-	-	-	2	0	-3

T1: Con sorbato de potasio; T2: Con benzoato de sodio; T3: Con propóleo al 100 ppm; T4: Con propóleo al 200 ppm; T5: Con propóleo al 400 ppm

Realizado por: Daniela Molina, 2015

El anexo D indica los resultados de la apreciación de cada panelista por tratamiento en los diferentes tiempos, multiplicados por su respectivo factor. En la Tabla 16-3, se observa el resultado total de cada tratamiento al restar a la sumatoria su puntuación negativa, en donde, al día 0 los tratamientos T3, T4 y T5 presentaron diferencia positiva frente a T y los demás tratamientos, diferencia atribuida a la presencia del propóleo lo que concuerda con los estudios realizados por (Gerónimo, 2009, pp.11-14)

A los 15 días, todos los tratamientos presentaron diferencia frente al testigo, en este punto se debe considerar que la evaluación frente al testigo se lo realizó al mismo tiempo de almacenamiento que los demás tratamientos por lo que al no contener ningún agente

conservante las características sensoriales del testigo no va ser igual que al día 0 por lo que la diferencia va ser evidente; los tratamientos con propóleo presentan los valores más altos, presentando una diferencia frente al testigo pero positiva; al día 30 y 45 de almacenamiento se puede observar que los tratamiento T3, T4 y T5 presenta el menor puntaje con respecto a los demás tratamientos, pudiendo deducir que el sabor amargo y la presencia de resinas del propóleo influyo a este tiempo. El análisis sensorial a los 60 días no se realizó, debido a que se observó crecimiento macroscópico en las muestras, referenciando no ser inocuo para el consumo. Estos resultados se correlacionan con el análisis microbiológico ya que a partir de los 30 días la actividad conservante de propóleo disminuyó, afectando de igual forma las características sensoriales del producto.

Para determinar el umbral de diferencia entre tratamientos, se sumó en la Tabla 16-3, los totales a través del tiempo, obteniendo como resultado que el tratamiento T2 con ( 36 puntos) presenta menor diferenciación, seguido del tratamiento T1 con (22 puntos) lo que concuerda con los resultados microbiológicos obtenidos en esta investigación, ya que al ser conservantes comerciales mantiene la actividad antimicrobiana y características organolépticas hasta los 45 días siendo estos los de mayor aceptación al igual que el estudio de Gerónimo (2009, pp.11-14); los tratamientos T3, T4 y T5 con (13, 18 y 20 puntos respectivamente), son diferentes al testigo debido a la adición de propóleo, cabe recalcar que esta diferencia se acentúa a partir de los 30 días, debido a la pérdida de la propiedades del propóleo por razones anteriormente ya expuestas.

**Tabla 16-3:** Resultados del análisis sensorial a los 15, 30 y 45 días

Días / Tratamientos	0	15	30	45	TOTALES
T1	0	7	10	5	22
T2	0	7	14	15	36
T3	6	14	1	-8	13
T4	8	12	-2	0	18
T5	10	13	2	-5	20

T1: Con sorbato de potasio; T2: Con benzoato de sodio; T3: Con propóleo al 100 ppm; T4: Con propóleo al 200 ppm; T5: Con propóleo al 400 ppm; T7: Con alcohol al 100 ppm (blanco).

Realizado por: Daniela Molina, 2015

## CONCLUSIONES

Se obtuvo el extracto etanólico de propóleo con un 30,07% de rendimiento. El análisis físico y microbiológico del propóleo, indicó que su olor y color es característico, no afectando a las propiedades organolépticas del dulce de higo, y en cuanto al análisis microbiológico no existió crecimiento de *E. coli*, coliformes totales, mohos y levaduras, por lo que se considera que el manejo y procesamiento de este producto garantizó su calidad sanitaria y no constituye una fuente de contaminación microbiana para el dulce de higo.

Se compararon dos conservantes químicos (benzoato de sodio y sorbato de potasio) a la dosis máxima permisible de 1000 ppm, por la norma técnica para confituras, jaleas y mermeladas; frente al propóleo a 100 ppm, 200 ppm y 400 ppm, para evaluar el efecto conservante sobre el dulce de higos.

Con base en el análisis sensorial, los tratamientos que contenían propóleo influenciaron en el sabor del dulce de higo pronunciándose más a partir de los 30 días, a pesar de esto no fue desagradable, los tratamientos con sorbato de potasio y benzoato de sodio fueron los más aceptados por los panelistas.

Los parámetros evaluados, pH, acidez y °Brix hasta el día 30 son similares al producto fresco, el tratamiento T2 influyó en la acidez y los sólidos solubles del producto a los 60 días al ser una sal del ácido benzoico y el propóleo pese a las resinas que contiene no influyó en el contenido de ST y la acidez aumentó ligeramente a través del tiempo.

Tanto los tratamientos con conservantes comerciales y los de propóleo ejercen un efecto conservante hasta los 30 días sobre el producto, lo que se correlacionó con el análisis sensorial.

## **RECOMENDACIONES**

- Profundizar el estudio del propóleo como conservante frente a bacterias.
- Realizar nuevos estudios del propóleo como agente antimicrobiano en productos que sean susceptibles a crecimientos de otros microorganismos.
- Realizar el estudio a temperatura de refrigeración durante el almacenamiento.
- Evaluar el tiempo del efecto conservante del propóleo, una vez abierto el producto.
- En futuras investigaciones, realizar el análisis sensorial con panelistas entrenados para obtener resultados con mayor confiabilidad.



## BIBLIOGRAFÍA

**AGUILAR, Diana; et al. Moo:**"Vida util del jugo de sábila (Aloe vera MILL), en presencia de propóleo, citracidin y nisina". *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*. [en línea], 2011, (México) volumen (12), pp.1-8. [Consulta: 22 de Marzo 2015.] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81318808015>>

**ALBA, A.** *Elaboración y comercialización de dulce de higos*. (Tesis Pregrado) (Ingeniería comercial) [en línea] Universidad de la Americas, Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas Quito-Ecuador. 2008. pp. 20-35 [Consulta: 13 de Mayo 2015.] Disponible en: <<http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/1222>>

**ALENCAR, S. M., et al.** "Chemical composition and biological activity of a new type Brazilian propolis". *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 113, (2007), (Brasil) pp. 278-283

**ÁLVAREZ, P.** "Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas". *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*. [en línea], 2006, (Brasil) Volumen (7), pp. 55-58 [Consulta: 7 de Marzo 2015], Disponible en: <[http://www.ciad.mx/dtaov/XI\\_22CYTED/images/files\\_pdf/brasil/olga.pdf](http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf)>

**BONVEHI, J. & GUTIÉRREZ, A.** "Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain)." *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2011, vol. 88, no 9 (2011), pp. 1387-1395.

**CABRERA, C.; et al.** "El higo (*Ficus carica L.*)" *Manual de Producción, Uso y Aprovechamiento*. SENACYT. (2007). (Quito, Ecuador) pp. 1-36.

**CALLEJA, CARLOS; et al.** "Nuevas tecnologías en la conservación y transformación de los alimentos" *Univesidad de Burgos*. [en línea], 2010, (Madrid), pp. 1-166 [Consulta: 8 de Mayo 2015], Disponible en:

<[http://www.institutomas Pascualsanz.com/descargas/formacion/publi/Libro\\_Conserva\\_Transforma\\_Alimentos.pdf](http://www.institutomas Pascualsanz.com/descargas/formacion/publi/Libro_Conserva_Transforma_Alimentos.pdf)>

**CECU. 2012.** Aditivos Alimentarios: Los números E de las etiquetas. *Conferencia de Consumidores y Usuarios*. 2012.

**CHOI, Y. M., et al.** "Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea". *LWT-Food Science and Technology*, 2006, (Korea), vol. 39, no 7, p. 756-761.

**CODEX ALIMENTARIUS. 1995.** Norma general para los aditivos alimentarios. *CODEX STAN 192-1995*. 1995.

**CONTARDI, Clara.** "Manual de conservas caseras", *INTA-Mendoza*. [en línea], 2008, Lujan de Cuyo, Argentina : s.n., pp. 2-57. Disponible en: <[http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-10\\_\\_manual\\_de\\_conservas\\_caseras.pdf](http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-10__manual_de_conservas_caseras.pdf)>

**CORTEZ, PATRICIA.** "Los agentes conservantes en los alimentos." *El emprendedor.ec*. [en línea], (2012). Ecuador p.1 [Consulta: 15 de Abril 2015], Disponible en: <<http://www.elemprendedor.ec/>>.

**DA SILVA, Joaquim Fernando Mendes, et al.** Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 2006, vol. 99, no 3, pp. 431-435.

**EUFIIC. 2004.** "European Food Information Council". *Conservantes para aumentar la seguridad y la duración de los alimentos*. [en línea] 2004, (Madrid) [Consultado: 24 de Marzo 2015.]. Disponibles en: <<http://www.eufic.org/jarticle/es/artid/conservantes-seguridad-duracion-alimentos/>>.

**FERNANDEZ, J, et al.**, Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Sci.* 69 (3) (2005) pp. 371-380.

**GERÓNIMO, Ana.** *Comparación del efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango.* (Proyecto de titulación) (Ingeniería en Agroindustrias Alimentarias). [en línea] Zamorano, Honduras : s.n., 2009. pp. 3-30. [Consulta: 13 de Mayo 2015.] Disponible en:<<http://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/275>>

**GUTIÉRREZ, Carolina.** *Evaluación del efecto de propoleos como biopreservante en chorizo.* (Tesis de postgrado) (Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos). [en línea] Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia. 2012 pp. 3-110 [Consulta: 18 de Mayo 2015.] Disponible en:< [www.bdigital.unal.edu.co/8695/1/carolinagutierrezcortes.2012.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/8695/1/carolinagutierrezcortes.2012.pdf) >

**IBÁÑEZ, Francisco, et al. Aurora.** *Aditivos alimentarios.* (Tesis pregrado) (Nutrición y Bromatología). [en línea] Universidad Pública de Navarra, España : s.n., 2003. pp. 1-10 [Consulta: 18 de Mayo 2015.] Disponible en: <[http://www.nutricion.org/publicaciones/revista\\_agosto\\_03/funcionales/aditivos.pdf](http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/funcionales/aditivos.pdf)>

**JURGENS, C. 2008.** "Factores que influyen en la producción y almacenamiento del propóleo." *Vida Apícola.* [en línea] [Consulta: 25 de Septiembre de 2015.] ], Disponible en: <<http://www.vidaapicola.com/tecnica/manejo/almacenado.html>>.

**KOC, Ayse Nedret, et al.** Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology and Biotechnology*, 2007, vol. 45, no 1, p. 57-61.

**LEIVA, María, et al.** *Manual de Buenas Prácticas de Manufactura Sector Dulces y Confituras.* [en línea] 2ª ed. Buenos Aires, Argentina : s.n., 2012. pp.19-35. [Consulta: 25 de Septiembre de 2015.] Disponible en: <[http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/publicaciones/calidad/BPM/BPM\\_Dulces\\_Confituras.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/publicaciones/calidad/BPM/BPM_Dulces_Confituras.pdf)>

**NORMA NSO 65.19.02:03.** Calidad del Propóleo Crudo. San Salvador, El salvador : s.n., 2003.

**NTE INEN 2825. 2013.** Norma técnica ecuatoriana. *Norma para las confituras, jaleas y mermeladas (CODEX STAN 296-2009,MOD)*. Quito, Ecuador : s.n., 2013.

**NTE INEN 389.** Norma técnica ecuatoriana. *Conservas vegetales Determinación de la concentración del ion Hidrógeno (ph)*. Quito, Ecuador : s.n., 1985-12.

**NTE INEN-ISO 750-2013.** Norma técnica ecuatoriana. *Productos vegetales y de frutas- Determinación de la acidez titulable (IDT)*. Quito, Ecuador : s.n., 2013

**NTE INEN-ISO 2173-2013.** Norma técnica ecuatoriana. *Productos vegetales y de frutas- Determinación de sólidos solubles- Método refractométrico (IDT)*. Quito, Ecuador : s.n., 2013

**PETRIFILM 3M.** Guía de Interpretación de Levaduras y Mohos. *Microbiology Products Laboratoires 3M Santé*. 2015.

**PETRIFILM 3M.** Guía de Interpretación de E. coli y Coliformes totales. *Microbiology Products Laboratoires 3M Santé*. 2015.

**RESOLUCIÓN 3929.** Reglamento técnico para frutas. *Ministerio de salud y protección social*. Colombia. 2013.

**PIERSON M. & SMOOT L.** "Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria". *Food Microbiology*. Fundamentals and Frontiers. 2nd ed. Doyle M. Beuchat L. & Montville T. (Eds.) ASM Press. (2001). (USA), pp. 71-87.

**PRIETO, L, et al.** "Information search behaviour, understanding and use of nutrition labeling by residents of Madrid Spain". *Public Health*. s.n., (2013) (Madrid), p. 1. [Consultado: 2 de Junio 2015.]. Disponibles en: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25731130>>.

**SCHMIDT-HEBBEL, HERMANN.** "Avance en: Aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos". *Aplicaciones y comentarios de orden químico y tecnológicas*. [en línea], 1990 Santiago-Chile : s.n., pp. 12-29. [Consulta: 25 de Julio 2015.] Disponible en: <<http://www.repositorio.uchile.cl/handle/2250/121409>>

**SOFOS, A.** Evaluación antimicrobiana del sorbato de potasio a diferentes pH, aw y tipo de soluto. España : s.n., 1993. p. 10

**TOLOSA, L.; & CAÑIZARES, E.** "Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche.", *Ars Pharmaceutica*, [en línea], 2002, México 43: 1-2, pp. 37-55. [Consulta: 19 de Junio 2015.] Disponible en: <<http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/233.pdf>>

**VARGAS, R., et al.** "El propóleos: Conservador potencial para la industria alimentaria.", *Interciencia* [en línea], 2013, (México) vol 38, No.10, pp. 705-706. [Consulta: 22 de Junio 2015.] Disponible en: <[http://www.interciencia.org/v38\\_10/705.pdf](http://www.interciencia.org/v38_10/705.pdf)>

## ANEXOS

**ANEXO A:** Resolución 3929 de 2013 Colombia- Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos de confituras

### RESOLUCIÓN 3929 DE 2013

(octubre 2)

Diario Oficial No. 48.933 de 4 de octubre de 2013

### MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL

Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de estos que se procesen, empaquen, transporten, importen y comercialicen en el territorio nacional.

#### 3. Confituras

TABLA NÚMERO 22

#### Requisitos fisicoquímicos de confituras

Parámetro	Mínimo	Máximo
Sólidos solubles por lectura refractométrica a 20°C	35	59
pH a 20°C	4.5	
% de acidez (como ácido cítrico)	0.5	-

Las confituras deben elaborarse de tal manera que la cantidad de fruta utilizada como ingrediente en el producto terminado no sea inferior al 35%.

Parágrafo. Para las confituras no se admite el uso de almidones.

6.11.3 **Requisitos microbiológicos de las jaleas, mermeladas y confituras:** estos productos deben presentar las características microbiológicas, contenidas en la siguiente tabla:

TABLA NÚMERO 23

#### Requisitos microbiológicos para jaleas, mermeladas, confituras

Requisitos	Parámetro			
	n	M	M	C
Recuento de mohos y levaduras ufc/ g	5	20	50	1

Donde:

n = número de unidades a examinar.

m = índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = número máximo de muestras permisibles con resultado entre m y M.

< = léase menor de.

**ANEXO B:** Formato de recolección de datos

**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**  
**REGISTRO DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO**

**TEMA:** "Evaluación del efecto del propóleo como bioconservante en el dulce de higos  
(*Ficus carica L.*)"

**NOMBRE DEL RESPONSABLE:** \_\_\_\_\_ **FECHA:** \_\_\_\_\_  
**NOMBRE DEL TÉCNICO:** \_\_\_\_\_ **HORA:** \_\_\_\_\_

TESTIGO	T							
	T							
	T							
SORBATO DE POTASIO	K							
	K							
	K							
BENZOATO DE SODIO	N							
	N							
	N							
PROPÓLEO (100 ppm)	P100							
	P100							
	P100							
PROPÓLEO (200 ppm)	P200							
	P200							
	P200							
PROPÓLEO (400 ppm)	P400							
	P400							
	P400							

**ANEXO C:** Formato para la evaluación del análisis sensorial



**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**  
**ANÁLISIS SENSORIAL**


**TEMA:** "Evaluación del efecto del propóleo como bioconservante en el dulce de higos (*Ficus carica L.*)"

<b>FECHA:</b>	<b>CATADOR:</b>		
<b>INSTRUCCIONES:</b> Debe determinar el grado de diferencia que aprecie entre la muestra control y las demás muestras, Si no detecta ninguna marque con una X en la línea ninguna pero si aprecia alguna diferencia indíquela en la línea correspondiente. Puede probar la muestra control tantas veces como desee. Indique en la casilla la muestra ensayada.			
<b>DIFERENCIA CONTROL</b>	<b>REF.</b>	<b>REF.</b>	<b>REF.</b>
Ninguna			
Ligera			
Moderada			
Grande			
Extrema			

Observaciones:

¿Indique cuál fue la muestra que le agradó/desagrado y porque?

.....  
.....  
.....  
.....

Muchas gracias ¡¡¡ 



**ANEXO D:** Resultados de la apreciación de cada panelista por tratamiento en los diferentes tiempos, multiplicados por su respectivo factor

		0		15		30		45	
		+	-	+	-	+	-	+	-
<b>T2</b>	Ninguna	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ligera			7	0	3	-2	4	-1
	Moderada			0	0	6	0	2	0
	Grande			0	0	3	0	0	0
	Extrema			0	0	0	0	0	0
		0	0	7	0	12	-2	6	-1
<b>T3</b>	Ninguna	0		0	0	0	0	0	0
	Ligera			7	0	2	0	2	0
	Moderada			0	0	12	0	10	0
	Grande			0	0	0	0	3	0
	Extrema			0	0	0	0	0	0
		0	0	7	0	14	0	15	0
<b>T4</b>	Ninguna	0		0	0	0	0	0	0
	Ligera	6		2	0	2	-2	0	-2
	Moderada			8	0	2	-4	4	-4
	Grande			4	0	3	0	0	-6
	Extrema			0	0	0	0	0	0
		6	0	14	0	7	-6	4	-12
<b>T5</b>	Ninguna	0		0	0	0	0	0	0
	Ligera	6		4	0	1	-3	2	-2
	Moderada	2		4	0	4	-4	4	-4
	Grande			4	0	0	0	0	0
	Extrema			0	0	0	0	0	0
		8	0	12	0	5	-7	6	-6
<b>T6</b>	Ninguna	0		0	0	0	0	0	0
	Ligera	4		3	0	1	-3	0	-3
	Moderada	6		4	0	4	0	2	-4
	Grande			6	0	0	0	0	0
	Extrema			0	0	0	0	0	0
		10	0	13	0	5	-3	2	-7

Realizado por: Daniela Molina, 2015



Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN-ISO 2173:2013**

---

NÚMERO DE REFERENCIA ISO 2173:2003 (E)

**PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN  
DE SÓLIDOS SOLUBLES – MÉTODO REFRACTOMÉTRICO  
(IDT)**

**Primera Edición.**

FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTS — DETERMINATION OF SOLUBLE SOLIDS — REFRACTOMETRIC METHOD

Second edition

---

DESCRIPTORES: Productos agrícolas, productos alimenticios, productos vegetales y de frutas, ensayos, determinación del contenido,  
sólidos solubles  
ICS: 67.080.01

**5.1.1 Refractómetro que indica la fracción de masa de sacarosa**, por medio de la escala graduada en 0,10%.

Este refractómetro se ajustará de manera que a  $20\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$  se registre una fracción de masa de sólidos solubles (sacarosa) de cero para el agua destilada.

**5.2 Medios para hacer circular el agua**, para mantener la temperatura de los prismas del refractómetro (5.1.1 o 5.1.2) constante dentro de  $\pm 0,5\text{ °C}$ , alrededor de  $20\text{ °C}$ , que es la temperatura de referencia (ver 8.1).

**5.3 Vaso de precipitación**, de capacidad de 250 ml.

## 6 Muestreo

Es importante que el laboratorio reciba una muestra que sea verdaderamente representativa y que no haya sido dañada o modificada durante el transporte o el almacenamiento.

## 7 Procedimiento

### 7.1 Preparación de la solución de ensayo

#### 7.1.1 Productos líquidos claros

Mezclar bien la muestra de laboratorio y utilizarla directamente para la determinación.

#### 7.1.2 Productos semi-esposos (purés, etc.)

Mezclar bien la muestra de laboratorio. Presionar una parte de la muestra a través de una gasa doblada en cuatro, rechazando las primeras gotas de líquido y reservando el resto del líquido para la determinación.

#### 7.1.3 Productos espesos (mermeladas, jaleas, etc.)

Pesar en el vaso de precipitación tarado (5.3), con precisión de 0,01 g, una cantidad adecuada (hasta 40 g) de la muestra de laboratorio y añadir 100 ml a 150 ml de agua. Calentar el contenido del vaso de precipitación a ebullición y dejar hervir suavemente durante 2 min a 3 min, agitando con una varilla de vidrio. Enfriar el contenido y mezclar bien.

Después de 20 min, pesar con una precisión de 0,01 g, luego filtrar a través de un filtro de pliegues o un embudo Büchner en un recipiente seco. Reservar el filtrado para la determinación.

#### 7.1.4 Productos congelados

Después de la descongelación de la muestra si es necesario eliminar, piedras, pepitas y semillas con paredes duras, mezclar el producto con el líquido formado durante el proceso de descongelación y proceder como se describe en 7.1.2 o 7.1.3, según sea apropiado.

#### 7.1.5 Productos secos

Cortar una parte de la muestra de laboratorio en trozos pequeños. Retirar, si es necesario, piedras, pepitas y paredes de la cavidad de semillas duras, y mezclar cuidadosamente. Luego pesar en un vaso de precipitación tarado, con precisión de 0,01 g, 10 g a 20 g de la muestra. Añadir 5 a 10 veces la masa de agua y colocar en un baño de agua hirviendo durante 30 minutos, agitando de vez en cuando con una varilla de vidrio. Si es necesario, prolongar el tiempo de calentamiento hasta obtener una mezcla homogénea. Enfriar el contenido del vaso de precipitación y mezclar bien.

Después de 20 min, pesar con una precisión de 0,01 g, luego filtrar en un recipiente seco. Reservar el filtrado para la determinación.



Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN-ISO 750:2013**

---

NÚMERO DE REFERENCIA ISO 750:1998 (E)

**PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN  
DE LA ACIDEZ TITULABLE (IDT)**

**Primera Edición**

FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTS — DETERMINATION OF TITRATABLE ACIDITY

First Edition

---

DESCRIPTORES: productos agrícolas, productos alimenticios, productos vegetales, productos vegetales y de frutas, análisis, determinación, acidez.  
ICS: 67.080.01

USO EXCLUSIVO DANIELA MOLINA  
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN

**4.6 Bureta**, de capacidad de 50 ml.

**4.7 Condensador de reflujo.**

**4.8 Balanza analítica**, capaz de pesar con una aproximación de 0,01 g.

**4.9 pH-metro**, con una precisión de al menos 0,05 unidades de pH.

**4.10 Baño de agua**

## 5. Muestreo

Es importante que el laboratorio reciba una muestra que sea verdaderamente representativa y que no haya sido dañada o modificada durante el transporte o el almacenamiento.

El muestreo no es parte del método especificado en esta Norma Nacional. Como no existe una Norma Nacional específica sobre productos a base de frutas y vegetales, se recomienda que las partes interesadas lleguen a un acuerdo sobre el tema.

## 6. Preparación de la muestra de ensayo

### 6.1 Productos líquidos

Productos líquidos incluidos productos fácilmente separables (por ejemplo jugos, jarabes de frutas enlatadas, líquidos de pickles, salmueras, líquidos de productos fermentados).

Tomar parte de la muestra de laboratorio previamente mezclada y filtrar con algodón, filtro de papel o tela. Transferir, por medio de la pipeta (4.2), 25 ml de filtrado (ver nota) en el matraz aforado (4.4). Diluir con agua hasta la marca y mezclar bien.

Es necesario remover el dióxido de carbono de los líquidos de productos carbonatados por agitación bajo presión reducida de 3 min a 4 min.

**NOTA** También es posible tomar una muestra de la masa, pesar con aproximación de 0,01 g, por lo menos 25 g de la muestra de laboratorio.

### 6.2 Otros productos

Retirar cualquier tallo, piedras, semillas duras, si es posible pepitas (después de la descongelación en el caso de productos congelados o ultracongelados. Mezclar la muestra completamente.

Permitir que los productos congelados y ultra congelados se descongelen en un recipiente cerrado y agregar el líquido que se haya formado durante este proceso a los productos antes de la mezcla o combinación.

En el caso de productos secos o deshidratados, cortar una parte de la muestra de laboratorio en pedazos pequeños.

Homogeneizar el producto o moler en un mortero (4.1).

Pesar, con aproximación de 0,01 g, por lo menos 25 g de la muestra de laboratorio y transferir al matraz erlenmeyer (4.3) con 50 ml de agua caliente. Mezclar bien hasta homogeneizar.

Acoplar el condensador de reflujo (4.7) en el matraz erlenmeyer y calentar el contenido en un baño de agua hirviendo durante 30 min.

Enfriar, transferir cuantitativamente el contenido del matraz erlenmeyer a un matraz aforado (4.4) y diluir hasta la marca con agua. Mezclar bien y filtrar.



## 7. Procedimiento

NOTA Si es necesario comprobar si el requisito de repetitividad (cláusula 9) se cumple, llevar a cabo dos determinaciones de acuerdo con 7.1.2 y 7.1.3, o 7.2.1 y 7.2.2.

### 7.1 Método potenciométrico (Método de referencia)

#### 7.1.1 Calibración del pH – metro.

Comprobar que el pH – metro (4.9) esté funcionando correctamente utilizando las soluciones buffer (3.2).

#### 7.1.2 Porción de ensayo

Transferir, por medio de una pipeta (4.2), 25 ml, 50 ml o 100 ml de la muestra de ensayo diluida (ver cláusula 6), según la acidez esperada, en el vaso de precipitación con un agitador (4.5).

#### 7.1.3 Determinación

Encender el agitador y añadir rápidamente desde la bureta (4.6), la solución de hidróxido de sodio (3.1) hasta que el pH sea de  $7 \pm 0,2$ . A continuación, agregar lentamente hasta que el pH sea de  $8,1 \pm 0,2$ .

### 7.2 Método utilizando un indicador de color (Método de rutina)

#### 7.2.1 Porción de ensayo

Transferir, por medio de una pipeta (4.2), 25 ml, 50 ml o 100 ml de la muestra de ensayo diluida (ver cláusula 6), según la acidez esperada, en el vaso de precipitación con un agitador (4.5).

#### 7.2.2 Determinación

Añadir 0,25 ml a 0,5 ml de solución de fenolftaleína (3.3) y, con agitación, titular, usando la bureta (4.6), con la solución de hidróxido de sodio (3.1) hasta un color rosado, que persista por 30 s.

## 8. Expresión de los resultados

### 8.1 Método de cálculo en volumen para muestras tomadas de laboratorio

La acidez titulable, expresada en milimoles de  $H^+$  por 100 ml de producto, teniendo en cuenta la dilución efectuada en la cláusula 6, esta dado por lo siguiente:

$$\frac{250}{V} \times V_1 \times c \times \frac{100}{V_0} = \frac{1000V_1c}{V_0}$$

Donde

$V$  es el volumen, en mililitros, de la muestra de ensayo, por ejemplo 25 ml;

$V_0$  es el volumen, en mililitros, de la porción de ensayo (7.1.2 o 7.2.1);

$V_1$  es el volumen, en mililitros, de la solución de hidróxido de sodio (3.1) utilizada para la determinación (7.1.3 o 7.2.2);

$c$  es la concentración exacta, en moles por litro, de la solución de hidróxido de sodio (3.1).

Reportar el resultado con un decimal.

### 8.2 Método de cálculo en masa para muestras tomadas de laboratorio

La acidez titulable, expresada en milimoles de  $H^+$  por 100 g de producto, teniendo en cuenta la dilución efectuada en la cláusula 6, esta dado por lo siguiente:

USO EXCLUSIVO DANIELA MOLINA  
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN

$$\frac{250}{m} \times V_1 \times c \times \frac{100}{V_0}$$

Donde

$V_0$ ,  $V_1$  y  $c$  tienen el mismo significado como en 8.1;

$m$  es la masa, en gramos, de la muestra de ensayo (ver 6.1 y su nota, o 6.2).

Reportar el resultado con un decimal.

### 8.3 Otros métodos de expresión

También es posible expresar la acidez titulable convencionalmente en gramos de ácido por 100 g, o por 100 ml de producto, según el caso, multiplicando la fórmula (8.1 o 8.2) por un factor apropiado al ácido (véase la Tabla 1).

Tabla 1

Ácido	Factor
Ácido málico	0,067
Ácido oxálico	0,045
Ácido cítrico monohidratado	0,070
Ácido tartárico	0,075
Ácido sulfúrico	0,049
Ácido acético	0,060
Ácido láctico	0,090
Ácido cítrico	0,064

### 9. Repetibilidad

La diferencia absoluta entre dos resultados de ensayo individual independientes, operador utilizando el mismo método e idéntico material de ensayo en el mismo laboratorio, por el mismo operario, usando el mismo equipo y en un breve intervalo de tiempo, será en no más del 5% de los casos mayor que 2% de la media aritmética de los dos resultados.

### 10. Informe de ensayo

El informe del ensayo deberá especificar:

- toda la información necesaria para la identificación completa de la muestra;
- el método de muestreo utilizado; si se conoce;
- el método de ensayo utilizado junto con la referencia a esta Norma Nacional;
- todos los detalles operativos no especificados en esta norma, o considerados como opcionales, junto con detalles de cualquier incidente que pueda haber influido en el resultado del ensayo (s);
- el resultado de lo(s) ensayo(s) obtenido(s),
- si la repetibilidad se ha comprobado, citar el resultado final obtenido.

Norma Ecuatoriana	<p align="center"><b>CONSERVAS VEGETALES</b>  <b>DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION DEL ION</b>  <b>HIDRÓGENO (pH)</b></p>	<p align="center"><b>INEN 389</b>                      Primera Revisión                      1985-12</p>
<p align="center"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece el método potenciométrico para determinar la concentración del ion hidrógeno (pH) en conservas vegetales.</p> <p align="center"><b>2. INSTRUMENTAL</b></p> <p>2.1 Potenciómetro, con electrodos de vidrio.</p> <p>2.2 Vaso de precipitación de 250 cm<sup>3</sup>.</p> <p>2.3 Agitador.</p> <p align="center"><b>3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA</b></p> <p>3.1 Si la muestra es líquida, homogeneizarla convenientemente mediante agitación.</p> <p>3.2 Si la muestra corresponde a productos densos o heterogéneos, homogeneizarla con ayuda de una pequeña cantidad de agua (recientemente hervida y enfriada) y mediante agitación.</p> <p align="center"><b>4. PROCEDIMIENTO</b></p> <p>4.1 Efectuar la determinación por duplicado sobre la misma muestra preparada.</p> <p>4.2 Comprobar el correcto funcionamiento del potenciómetro.</p> <p>4.3 Colocar en el vaso de precipitación aproximadamente 10 g ó 10 cm<sup>3</sup> de la muestra preparada, añadir 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada (recientemente hervida y enfriada) y agitar suavemente,</p> <p>4.4 Si existen partículas en suspensión, dejar en reposo el recipiente para que el líquido se decante.</p> <p>4.5 Determinar el pH introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que éstos no toquen las paredes del recipiente ni las partículas sólidas, en caso de que existan.</p> <p align="right"><i>(Continúa)</i></p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN, Casilla 3999 – Baquerizo 454 – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción





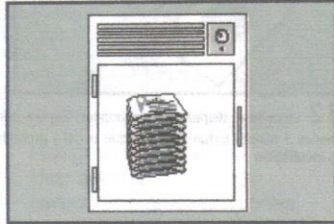
INEN 389	<p>CONCEPTOS VEGETALES</p> <p>PETROLOGÍA DE LA CONCENTRACION DEL ION</p> <p><b>5. ERRORES DE METODO</b></p>	Norma Ecuatoriana
<p>5.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,1 unidades de pH; en caso contrario, debe repetirse la determinación.</p> <p><b>6. INFORME DE RESULTADOS</b></p> <p>6.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.</p> <p>6.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.</p> <p>6.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.</p> <p style="text-align: right;"><b>(Continúa)</b></p>		

# 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup>

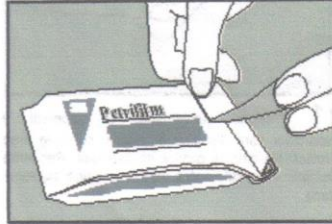
## Recomendaciones de uso para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

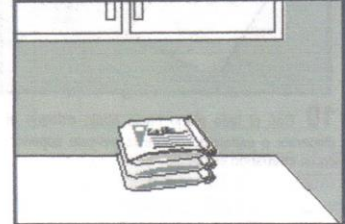
### ALMACENAMIENTO



**1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq$  a 8°C (46°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de expiración. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se temperen a la temperatura del lugar de trabajo antes de abrirlos.



**2** Para cerrar un paquete abierto, doble el envoltorio y colóquelo una cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto alteración de las placas.

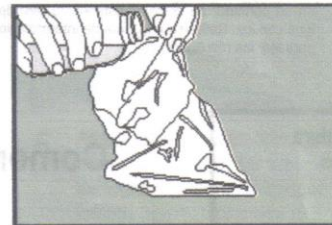


**3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperaturas  $\leq$  a 25°C (77°F) y una humedad relativa  $\leq$  50%. **No refrigere los paquetes que ya han sido abiertos.** Utilice las placas Petrifilm<sup>MR</sup> máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelo en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelo en congelación, para usar las placas saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde en las mismas condiciones antes descritas.

### PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

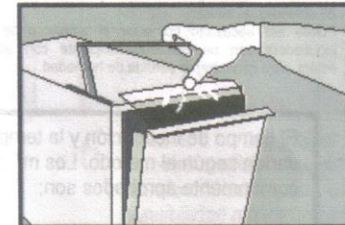


**4** Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual.



**5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal peptonada (método ISO 6887), Buffer de agua de peptona ( método ISO 6579), solución salina (0.85 a 0.90%), caldo **letheen libre** de bisulfato o agua destilada.

No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.



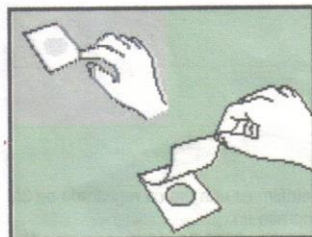
**6** Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:

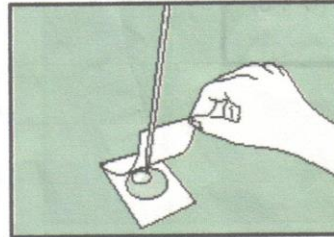
Para productos ácidos: use solución 1N de Na OH

Para productos básicos: use solución 1N de HCl

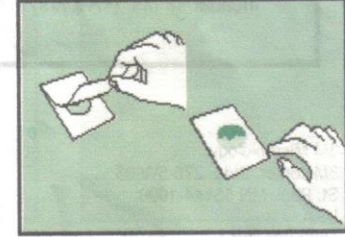
### INOCULACIÓN



**7** Coloque la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



**8** Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.



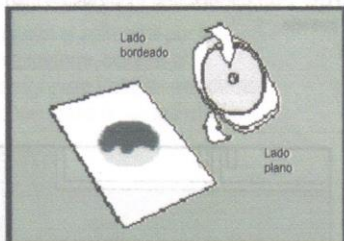
**9** Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.



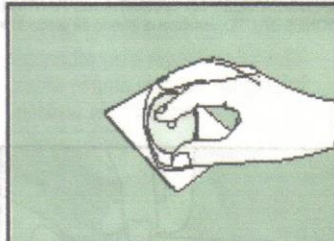
# 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup>

## para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

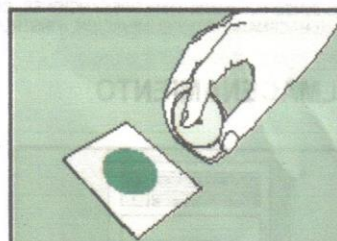
Recomendaciones de uso



**10** Con el lado plano hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.

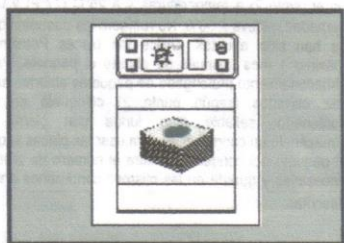


**11** Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir el inóculo sobre la área circular. No gire, ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir el inóculo antes de inocular una siguiente placa.



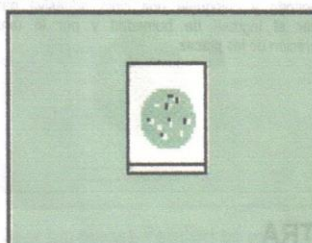
**12** Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

### INCUBACIÓN

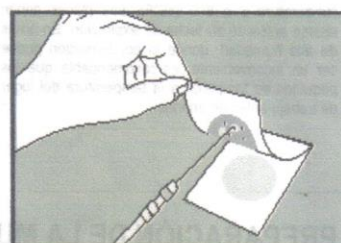


**13** Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### INTERPRETACIÓN



**14** Las placas Petrifilm<sup>MR</sup> pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de Interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos comúnmente aprobados son:

- **AOAC método oficial 991.14**

Para Coliformes:  
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

Para *E. coli*:  
Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

- **AOAC método oficial 998.08**

Para *E. coli* (carnes aves y mariscos)  
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

- **NMK método 147.1993**

Para Coliformes:  
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 37°C (+/- 1°C)

Para *E. coli*:  
Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

### Comentarios Adicionales:

Si tiene preguntas llame al 1-651-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted

3M Microbiology  
3M center, Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1800-228-3957  
[microbiology@mmm.com](mailto:microbiology@mmm.com)  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

Petrifilm es una marca registrada de 3M  
Impreso en:  
Revisión: 2003-04  
Referencia: 70-2008-81053

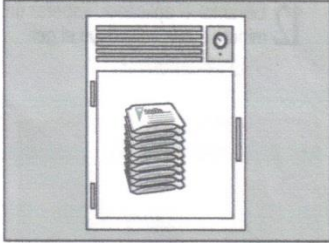
© 3M

# 3M™ Petrifilm™ Levaduras y Mohos

Instrucciones  
de uso



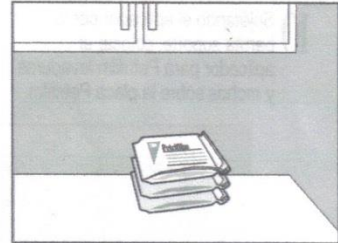
## Almacenamiento



1 Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

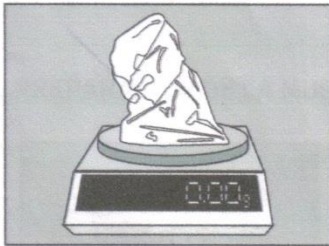


2 Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

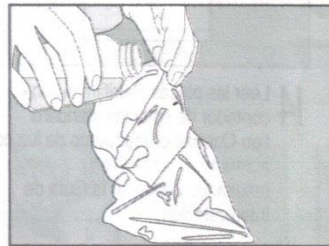


3 Mantener las bolsas cerradas de nuevo a  $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a  $<50\%$  HR. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm en 1 mes desde su apertura.

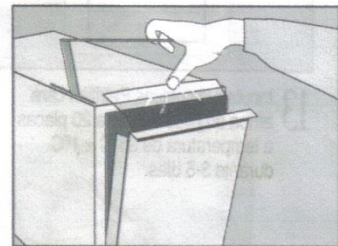
## Preparación



4 Preparar una dilución del producto alimenticio a **1:10** o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac®, bolsa Stomacher, botella de dilución, o cualquier otro contenedor estéril apropiado.

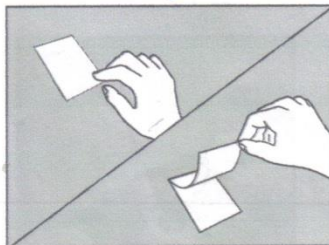


5 Añadir una cantidad adecuada de diluyente. Pueden ser los métodos standard de tampón fosfato, **agua peptonada al 0,1 %**, triptona sal, agua destilada, solución salina fosfato tamponada o tampón de Butterfield. No utilizar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.

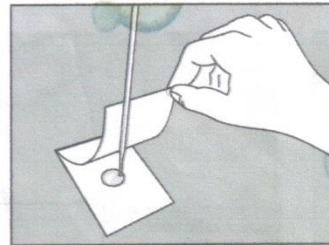


6 Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales. Si se requiere una sensibilidad mayor con productos lácteos o zumos consultar el folleto para Petrifilm en productos lácteos y zumos.

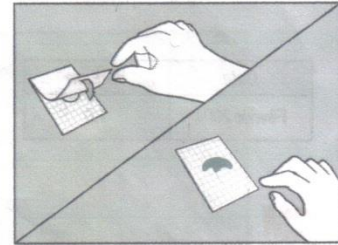
## Inoculación



7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.

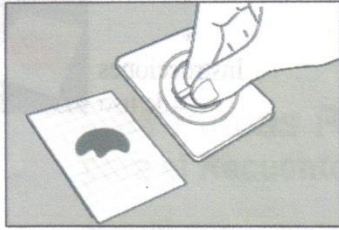


8 Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm **colocar 1 ml.** de muestra en el centro del film inferior.

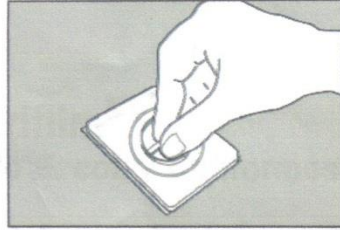


9 Dejar caer el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire.

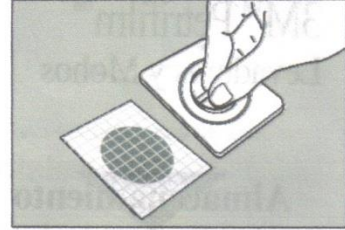




**10** Sujetando el aplicador por la barra soporte, colocar el aplicador para Petrifilm levaduras y mohos sobre la placa Petrifilm.

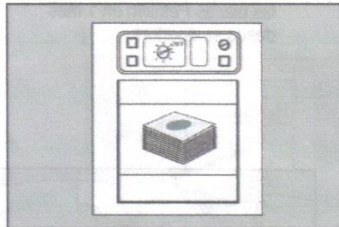


**11** Ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



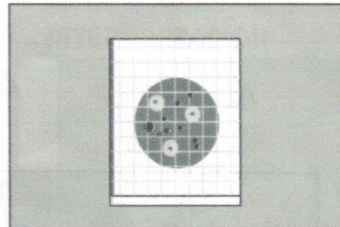
**12** Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.

### Incubación



**13** Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas a temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 3-5 días.

### Interpretación



**14** Leer las placas Petrifilm en un contador de colonias standard tipo Quebec o una fuente de luz con aumento. Para leer los resultados consultar la Guía de Interpretación.

### Comentarios adicionales

- los pasos 9 y 10 son únicos para las placas Petrifilm levaduras y Mohos.
- Nota: recordar inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.

Date	Version
Février 2004	1.0

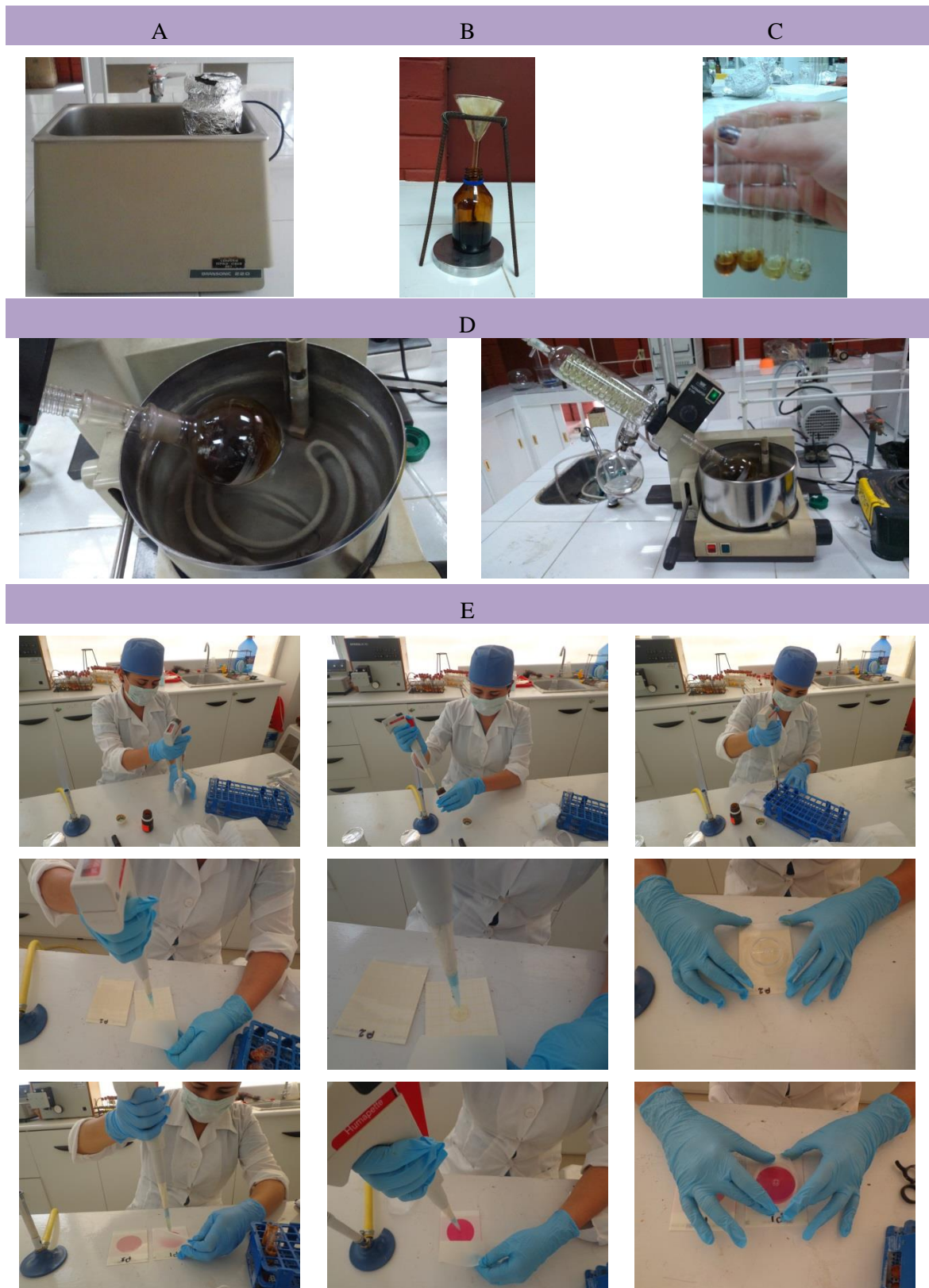


**Microbiology Products**  
**Laboratoires 3M Santé**

Boulevard de l'Oise  
F - 95029 Cergy Pontoise Cedex  
Tél. 01 30 31 85 77

For Europe, please contact :  
Laboratoires 3M Santé  
Tél. : (33) 1 30 31 85 71  
Fax : (33) 1 30 31 85 78

## ANEXO I: Evidencia fotográfica



**Fotografía N°1:**

Obtención del extracto etanólico de propóleo: a) Maceración del propóleo por ultrasonido b) Filtración c) Prueba de solubilidad d) Concentración del extracto e) Análisis microbiológico

Realizado por: Daniela Molina, 2015



A

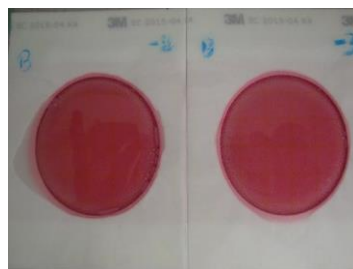
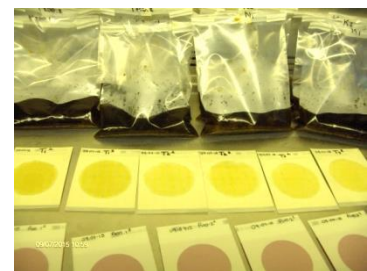


B



**Fotografía N°2:** Elaboración y adición de los conservantes al dulce de higos: a) Elaboración del dulce de higos b) Adición de los conservantes y envasado final.

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015



**Fotografía N°3:** Análisis microbiológico del dulce de higo a los 0, 15, 30, 45 y 60 días.

**Realizado por:** Daniela Molina, 2015

A



B



C



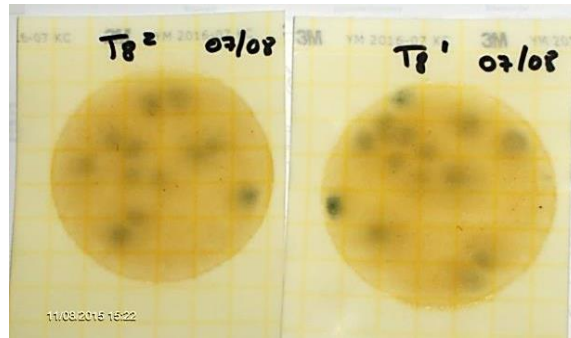
**Fotografía N°4:** Análisis físico-químico. a) Determinación de la acidez, b) Determinación del pH, c) Determinación de °Brix.  
**Realizado por:** Daniela Molina, 2015



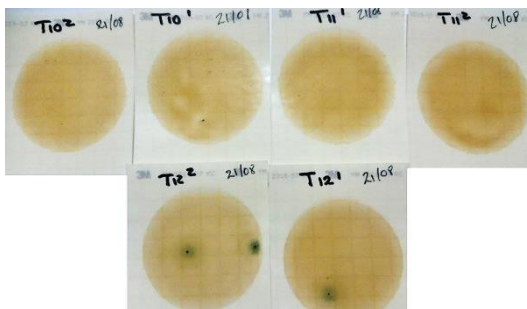
**Fotografía N°5:** Análisis sensorial del dulce de higo.  
**Realizado por:** Daniela Molina, 2015



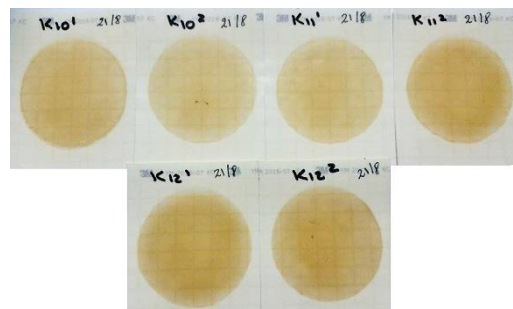
A



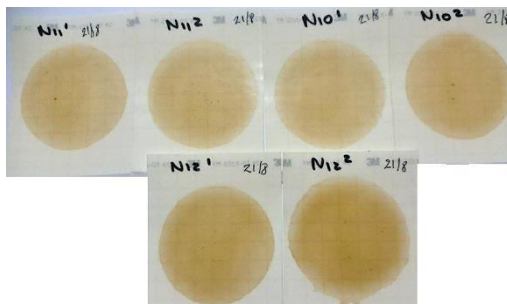
B



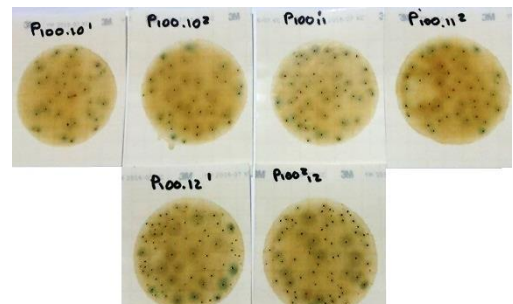
T= TESTIGO



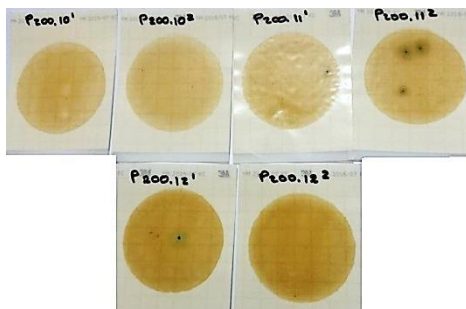
T1=Con sorbato de potasio



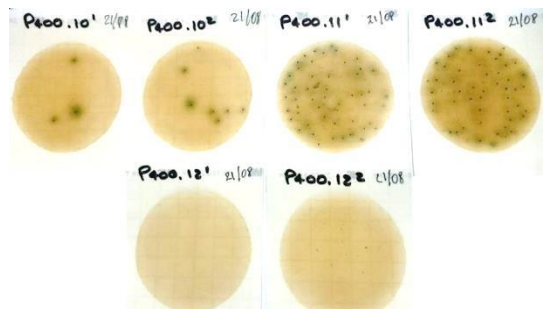
T2=Con benzoato de sodio



T3= Con propóleo a 100 ppm



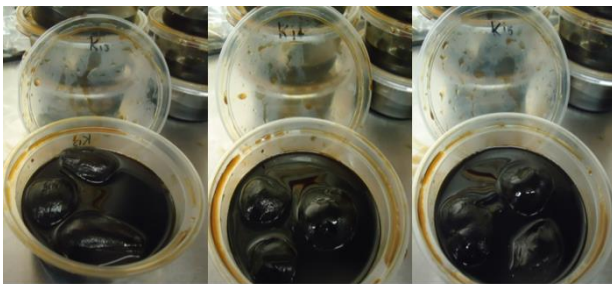
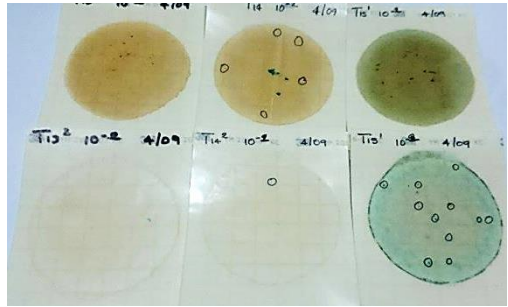
T4=Con propóleo a 200 ppm



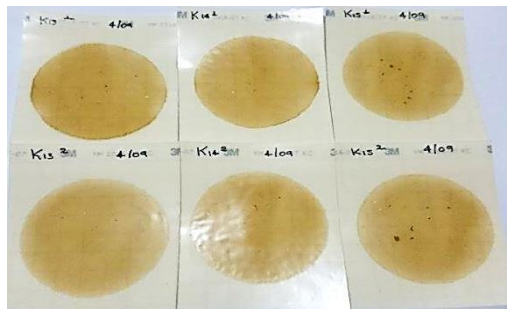
T5= Con propóleo a 400 ppm



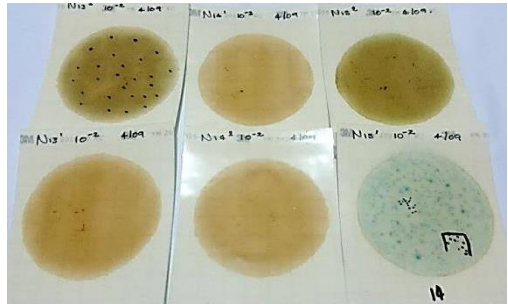
T= Testigo sin conservante



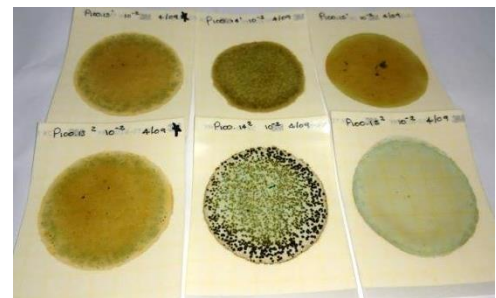
T1= Con sorbato de potasio

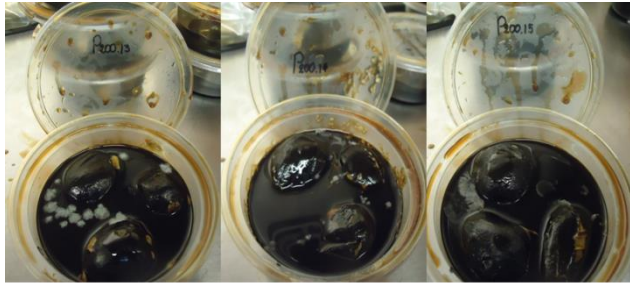


T2= Con sorbato de sodio

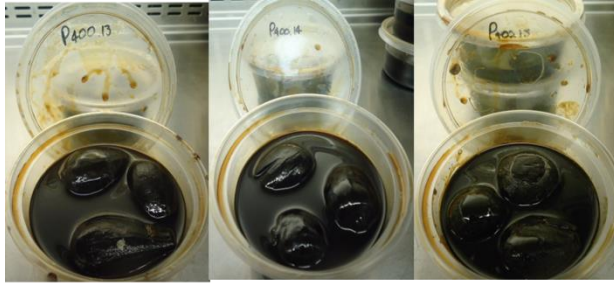
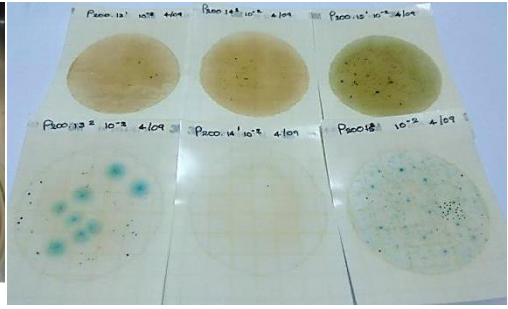


T3= Con propóleo a 100 ppm





T4= Con propóleo a 200 ppm



T5= Con propóleo a 400 ppm



**Fotografía N6:** Resultados microbiológicos. a) Contaje de mohos y levaduras, 30 días  
 b) Contaje de mohos y levaduras, 45 días. c) Contaje de mohos y levaduras, 60 días.  
**Realizado por:** Daniela Molina, 2015