



*CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO Y ANÁLISIS DE ÁCIDO ASCÓRBICO
COMO BIOCONSERVANTE PARA PRODUCTO ELABORADO A BASE DE MANGO*

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
BOGOTÁ, 2019



*CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO Y ANÁLISIS DE ÁCIDO ASCÓRBICO
COMO BIOCONSERVANTE PARA PRODUCTO ELABORADO A BASE DE MANGO*

NATALIA BOGOTÁ SÁNCHEZ

Trabajo de grado presentado como requisito
para optar el título

BACTERIÓLOGO Y LABORATORISTA CLÍNICO

Asesor Interno

CAROLINA JAIME RODRIGUEZ

Microbióloga Industrial. Especialista y MsC

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
BOGOTÁ, 2019

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE GRÁFICOS	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE ANEXOS	11
RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN.	13
OBJETIVOS.....	16
OBJETIVO GENERAL	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
1. ANTECEDENTES	17
1.1. Marco normativo de los alimentos	17
1.2. Inocuidad alimentaria y uso de bioconservantes	18
2. MARCO REFERENCIAL	22
2.1 GENERALIDADES BIOLÓGICAS	22
2.1.1 Definición	22
2.1.2 Características del mango	22
2.1.2.1. Nutricionales	23
2.1.2.2. Microbiológicas	23
2.1.2.3. Fisicoquímicas	24
2.1.3. Producción de mango en Colombia.....	24
2.1.4. Frutas empacadas	25
2.2 PROCESO DE FABRICACIÓN	26

2.2.1. Producto	26
2.2.2. Descripción del proceso	26
2.2.3. Aderezos.....	27
2.3 CONSERVACIÓN DE FRUTAS	28
2.3.1 Definición	28
2.3.2 Importancia	29
2.3.3 Métodos de conservación.....	29
2.3.3.1. Físicos	29
2.3.3.2. Químicos	30
2.3.3.3. Biológicos	31
2.4 CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN FRUTAS SIN PROCESAR	32
2.4.1. Microorganismos Indicadores.....	32
2.4.2. Microorganismos alteradores.....	32
2.4.3. Coliformes totales y <i>E. coli</i>	33
2.5 REQUISITOS PARA PERMISOS SANITARIOS	34
2.5.1 Codex Alimentarius ICMSF	34
2.5.2 INVIMA	34
2.5.3 Nivel de riesgo en salud pública	35
3. DISEÑO METODOLÓGICO.....	36
3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	36
3.2 UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA.....	37
3.2.1. Población.....	37
3.2.2. Muestra	37
3.3 HIPÓTESIS, VARIABLES E INDICADORES.....	37
3.3.1 Hipótesis.....	37

3.3.2 Variables e indicadores.....	37
4. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTO	38
4.1 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios	38
4.2 Determinación de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	38
4.3 Evaluación del tiempo de vida útil del mango sin procesar	39
4.4 Evaluación microbiológica con un bioconservante.....	39
4.5 Análisis estadístico	39
5. RESULTADOS.....	39
5.1 RESULTADO ORGANOLÉPTICO	39
5.2 RESULTADO MICROBIOLÓGICO	41
5.2.1 Muestras sin conservante.....	41
5.2.1.1. Primer muestreo sin conservante natural	42
5.2.1.2 Segundo muestreo sin conservante natural	44
5.2.1.3 Tercer muestreo sin conservante natural.....	46
5.2.2. Evaluación del bioconservante: ácido ascórbico	49
5.3 RESULTADO ESTADÍSTICO.....	52
5.4 REQUISITOS PARA LA OBTENCIÓN DE PERMISOS SANITARIOS.....	54
6. DISCUSIÓN	55
7. CONCLUSIONES	57
8. SUGERENCIAS	58
9. Referencias bibliográficas.....	59
10. ANEXOS	64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valor nutricional de 100 g de pulpa de mango fresca

Tabla 2. Características fisicoquímicas del mango

Tabla 3. Variables y definiciones

Tabla 4. Primer muestreo sin conservante natural

Tabla 5. Resultado organoléptico sin conservante natural

Tabla 6. Resultado organoléptico con conservante natural

Tabla 7. Identificación de muestras sin conservante

Tabla 8. Primer muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios.

Tabla 9. Segundo muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios.

Tabla 10. Tercer muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios.

Tabla 11. Identificación de muestras con ácido ascórbico

Tabla 12. Primer muestreo con ácido ascórbico

Tabla 13. Resumen

Tabla 14. Análisis de varianza

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Primer muestreo sin conservante natural, Análisis mesófilos aerobios.

Gráfico 2. Segundo muestreo sin conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

Gráfico 3. Tercer muestreo sin conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

Gráfico 4. Comportamiento de las muestras analizadas frente al conservante

Gráfico 5. Muestreo con conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

Gráfico 6. Muestreo con conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Muestras listas para su procesamiento

Figura 2. Colonias primer muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios.

Figura 3. Colonias segundo muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios.

Figura 4. Colonias segundo muestreo sin conservante natural en agar Mac Conkey

Figura 5. Colonias tercer muestreo sin conservante natural

Figura 6. Muestras listas para procesar con ácido ascórbico

Figura 7. Muestras con ácido ascórbico, sin presencia de UFC.

Figura 8. Colonia de la muestra 6

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de análisis microbiológico. Evaluación de conservantes

Anexo 2. Análisis microbiológico para coliformes totales

Anexo 3. Análisis microbiológico para mesófilos aerobios

Anexo 4. Concentración de ácido L- ascórbico al 2%

Anexo 5. Análisis microbiológico para coliformes totales

Anexo 6. Análisis microbiológico para mesófilos aerobios

Anexo 7. Tablas de resultados generales

CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO Y ANÁLISIS DE ÁCIDO ASCÓRBICO COMO BIOCONSERVANTE PARA PRODUCTO ELABORADO A BASE DE MANGO

RESUMEN

El trabajo de grado tiene como objetivo determinar la inocuidad de un producto alimenticio a base de mango sin procesar con aderezos, de una empresa nacional ubicada en los llanos orientales. Además, evaluar un conservante natural como alternativa para mejorar el tiempo de vida útil y obtener como resultado un alimento fresco y libre de patógenos. Se realizó una búsqueda de información científica, entre los criterios de inclusión está la normativa colombiana, control de calidad de frutas sin procesar, bioconservantes, producción del mango, métodos de conservación y control de calidad.

Se realizaron tres muestreos de 6 referencias distintas de mango empacado con sus aderezos, con el fin de conocer la inocuidad microbiológica del producto. Teniendo en cuenta el recuento de mesófilos aerobios y análisis microbiológico de Coliformes totales y *E. Coli* a los 0 días, 8 días y 15 días, mediante análisis organoléptico. Además se realizó una evaluación microbiológica exploratoria de tres referencias del producto con adición de dos concentraciones de ácido ascórbico como conservante.

Finalmente, con los resultados obtenidos se garantizó que el uso del conservante es indispensable en este producto ya que disminuye el crecimiento microbiano y se describen los posibles factores que pueden influir en el desarrollo de patógenos estableciendo acciones para mejorar el proceso de producción según las Buenas Prácticas de Manufactura para que este sea inocuo al consumidor.

Palabras clave: ácido ascórbico, mango, bioconservante, análisis microbiológico, control de calidad, frutas empacadas.

INTRODUCCIÓN.

La importancia de la inocuidad alimentaria se enfoca en medidas de seguridad durante la producción, almacenamiento y distribución del producto para evitar el crecimiento de patógenos, contaminantes físicos y químicos nocivos que pueden afectar la salud del consumidor, que provocan desde problemas gastrointestinales hasta enfermedades crónicas de largo plazo, ya sea de carácter infeccioso o tóxico. Por lo tanto, es importante mantener la inocuidad durante todo el proceso de producción, incluyendo el almacenamiento, transporte y comercialización garantizando las condiciones de calidad hasta que llega al consumidor final, teniendo como referencia las Buenas Prácticas de Manufactura descritas en el Decreto 3075 de 1997 y la resolución 2674 de 2013.¹

Existen varios factores que pueden causar el deterioro del producto final, estos pueden ser físicos, químicos y microbiológicos provocando la reducción y/o pérdida de la calidad, la contaminación por microorganismos patógenos en frutas y hortalizas que puede ocurrir durante la fabricación, el corte, recolección, el almacenamiento y el transporte, en los puntos de venta, y en el mismo empleo final.

Por lo tanto, es importante dar cumplimiento a las Buenas prácticas de Manufactura y tomar acciones correctivas y preventivas en cada proceso de la producción para detectar a tiempo una desviación de la calidad, evitando pérdidas e incluso efectos negativos a la salud del consumidor.

Los principales riesgos de contaminación durante un proceso de fabricación, pueden ser de 3 tipos:

- Biológicos: contaminación con bacterias, hongos, parásitos o virus.
- Físicos: piedras, cristales, fragmentos de metales y empaques.
- Químicos: presencia de aditivos, insecticidas, lubricantes y compuestos utilizados para la limpieza.

El Centro para la Prevención y Control de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) considera que las bacterias podrían ser la principal causa de epidemias confirmadas con pruebas de laboratorio y que las principales razones son:

- Temperaturas de almacenamiento no apropiadas.
- Higiene deficiente del personal.
- Temperaturas de procesamiento no apropiadas.
- Alimentos en contacto con superficies no limpias.
- Equipo contaminado.

Otro punto a destacar en este proceso de contaminación es la calidad del agua, puesto que incrementa la frecuencia de microorganismos patógenos como: *Escherichia coli*, especies de *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, especies de *Shigella*, así como *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis* y virus como la hepatitis entre otros.²

Las problemáticas relacionadas con los métodos de conservación van a estar ligadas según la clasificación del alimento siendo estos, alto, medio ó bajo riesgo. En la actualidad ha surgido la necesidad de buscar alternativas naturales de conservación, debido a que se ha asociado el consumo de conservantes químicos a efectos negativos para la salud. La demanda de productos frescos mínimamente tratados está aumentando, así como el interés por los agentes antimicrobianos de origen natural. En un alimento sin procesar, es posible encontrar contaminantes de tipo biológico, como toxinas producidas por bacterias, micotoxinas producidas por hongos y microorganismos alteradores presentes por una incorrecta manipulación del producto por parte del personal encargado ó deficientes en la calidad ambiental del lugar de fabricación.

Los métodos de conservación tradicionales como congelación, pasteurización, esterilización, deshidratación, se basan en la manipulación de uno o dos factores de conservación. En la actualidad, se busca la combinación de dos o más factores conocidos como tecnología de obstáculos que permiten controlar la población microbiana y mejorar el tiempo de vida útil del producto, que tiene un impacto directo

en la calidad microbiológica, sensorial y nutricional del alimento; permitiendo así un producto más fresco, con menos aditivos y listo para el consumo.³

Adicionalmente, se planteó evaluar un conservante, que beneficie de la misma manera a las diferentes presentaciones del producto para alargar el tiempo de vida útil del producto, limitar la degradación de las vitaminas y mantener la inocuidad.

Con esta investigación se busca beneficiar a los consumidores, ya que, a través de las pruebas realizadas y la conservación, se mejorará la calidad del producto evitando que microorganismos patógenos puedan multiplicarse teniendo como consecuencias problemas en la salud. Además, aportar a la mejora del sistema de gestión de la inocuidad de la empresa y el cumplimiento de las Buenas prácticas de Manufactura para lograr que los productos puedan obtener los permisos sanitarios otorgados por el Invima para la comercialización en el mercado nacional.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar el control de calidad microbiológico y de bioconservantes de productos elaborados con mango sin procesar.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar la calidad microbiológica del producto terminado del mango sin procesar, a través del ensayo de microorganismos mesófilos aerobios, Coliformes totales y *E. coli*.
- Evaluar el ácido ascórbico como conservante natural para tres (3) productos elaborados a base de mango sin procesar.
- Describir los requisitos del INVIMA para la obtención del certificado sanitario del producto a base de mango sin procesar, con el fin de dar las recomendaciones a la empresa para su obtención.

1. ANTECEDENTES

1.1. Marco normativo de los alimentos

El Codex lleva en funcionamiento desde 1963 con la finalidad de crear normas alimentarias internacionales normalizadas, destinadas a proteger la salud de los consumidores y asegurar la aplicación de prácticas comerciales justas. La OMS brinda asesoramiento científico independiente de índole internacional acerca de los peligros microbiológicos y químicos. Ese asesoramiento sirve de base al Codex para elaborar normas alimentarias internacionales.⁴

CODEX STAN 184-1993, Emd. 1-2005: se aplica a las variedades comerciales de mangos obtenidos de *Mangifera indica* L., de la familia Anacardiaceae, que habrán de suministrarse frescos al consumidor, después de su acondicionamiento y envasado. Esta norma categoriza el mango en secciones; calidad superior y característicos de la variedad, los de buena calidad con defectos leves y los que satisfacen los requisitos mínimos especificados en esta misma norma.⁴

CODEX STAN 1-1985, Rev. 1-1991: La presente norma se aplicará al etiquetado de todos los alimentos pre envasados que se ofrecen como tal al consumidor o para fines de hostelería, y para algunos aspectos relacionados con la presentación de los mismos.⁵

En Colombia las empresas de alimentos deben desarrollar su actividad económica regida por un marco normativo constituido por las siguientes normas vigentes:

Decreto 3075 de 1997: Expedido por el presidente de la República y por medio del cual se establecen los lineamientos y directrices que rigen el funcionamiento de establecimientos donde se fabrican y/o procesan alimentos además de todas aquellas

actividades que involucran fabricación, procesamiento, preparación, envase, distribución y transporte de alimentos. De la misma manera reglamenta la forma de fabricación y manipulación de materias primas para la producción de alimentos para consumo humano y la manera como las entidades de vigilancia y control deben ejercer su función sobre todas aquellas actividades que involucren insumos, fabricación, procesamiento, manipulación, transporte y comercialización de alimentos en el territorio nacional.⁵

Resolución 2674 de 2013: Expedido por el ministerio de salud y la protección social establece los criterios de actualización para las normas contenidas en el decreto 3075 referentes a establecer los requisitos mínimos sanitarios que deben cumplir las personas naturales y/o jurídicas que ejercen actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de materias primas y alimentos para consumo humano. También contempla actualizaciones sobre temas conducentes a la obtención y renovación de registro sanitario de alimentos según el riesgo que representa para la salud pública cada alimento o materia prima para la fabricación de alimentos.⁶

Resolución 7992 de 1991: Expedido por el ministerio de salud y la protección reglamenta la relacionado con la elaboración, conservación y comercialización de jugos, concentrados, néctares, pulpas, pulpas azucaradas y refrescos de frutas. A nivel nacional deberán cumplir con las reglamentaciones de la presente resolución y las disposiciones complementarias que en desarrollo de la misma o con fundamento en la Ley dicte el ministerio de salud.⁷

Resolución 5109 de 2005: Reglamento técnico sobre los requisitos de rotulado o etiquetado para alimentos envasados y materias primas de alimentos para consumo humano, expedido por el Ministerio de Protección Social y publicado en el Diario Oficial 46150 de enero 13 de 2006.⁸

1.2. Inocuidad alimentaria y uso de bioconservantes

Según la OMS, “Las enfermedades transmitidas por los alimentos suponen una importante carga para la salud. Millones de personas se enferman y muchas mueren por consumir alimentos insalubres. Los estados miembros, seriamente preocupados, adoptaron en el año 2000 una resolución en la cual se reconoce el papel fundamental de la inocuidad alimentaria para la salud pública. La inocuidad de los alimentos engloba acciones encaminadas a garantizar la máxima seguridad posible de los alimentos. Las políticas y actividades que persiguen dicho fin deberán de abarcar toda la cadena alimenticia, desde la producción al consumo”. Esto está establecido en el programa mundial de la granja y el mar a la mesa.⁹

Se ha determinado que cada alimento debe obtener un certificado que garantice que su producto se encuentra fuera de la posibilidad de causar un problema colectivo de salud y debe cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura descritas en el decreto 3075 de 1997 y Resolución 2674 de 2013 del Instituto de Vigilancia de Medicamentos y alimentos en Colombia.⁶

Guadalupe L y col, en el 2014 han planteado el reto de incorporar ingredientes con alto contenido nutricional proveniente de mango, para producir alimentos nutritivos con aceptación por el consumidor. Alimentos de fácil consumo con alto valor nutrimental, orientados a reemplazar las preferencias del consumidor por alimentos chatarra que contribuyen al sobrepeso y la obesidad con alimentos ricos en antioxidantes agradables al paladar y que brinden beneficios a la salud.¹⁰

El Instituto de Productos Lácteos de Asturias en el año 2015, propone que las tecnologías de conservación de alimentos deben afrontar nuevos retos, para lo cual se han de explorar metodologías alternativas. La conservación está teniendo un importante desarrollo, ya que utiliza componentes naturales que se añaden al alimento para garantizar su seguridad. Un ejemplo de innovación en bioconservación lo constituye la utilización de bacteriófagos (virus que matan bacterias) como agentes antimicrobianos para impedir el desarrollo de bacterias patógenas en los alimentos.¹¹

En la Universidad del Bío Bío, en Chile, se realizó una investigación que tuvo como objetivo establecer una panorámica del empleo del ácido ascórbico en la fortificación de

alimentos como una de las soluciones para restaurar pérdidas por el procesamiento y combatir los efectos de su carencia. A nivel mundial se ha logrado fortificar alimentos tales como bebidas lácteas, de mijo y de avena, yogures, té, agua de coco, leches maternas, papas, hongos comestibles, pulpa de frutas y jaleas.¹²

En el 2016, investigadores de la Universidad de Córdoba, evaluaron el mango de hilacha y el lactosuero por ser dos productos perecederos con gran cantidad de nutrientes. El objetivo de esta investigación fue evaluar las condiciones de secado por aspersión de un producto a base de estas materias primas tratando de obtener la máxima recuperación de vitamina C.¹³

Chiroque Mendoza David Joel es un investigador que determinó la degradación térmica de la vitamina C en la pulpa de mango y su predicción microbiológica del tiempo de vida útil mediante el modelo Gompertz, que se obtuvo con el uso de modelos matemáticos con ayuda de pruebas aceleradas por efecto de la temperatura.¹⁴

En una investigación se han desarrollado opciones de procesamiento de mango para pequeños productores del municipio de Comayagua, como un aporte que muestra la oportunidad existente de transformar la fruta de mango que se produce en el Valle del Cauca en productos procesados.¹⁵

En el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia de Cuba se estudió la influencia del procesamiento aséptico y almacenamiento de ácido ascórbico de pulpa de mango concentrada y envasada en bolsas flexibles. El procesamiento aséptico no afectó la calidad física y química del producto. El contenido de ácido ascórbico se redujo significativamente durante la obtención de la pulpa concentrada.¹⁶

Científicos de la Universidad de Córdoba desarrollaron y caracterizaron fisicoquímica, microbiológica y sensorialmente tres formulaciones de una pulpa a base de mango que incluían algún Componente Fisiológicamente Activo (CFA) como oligofructosa, Vitamina C y Calcio, a su vez se compararon frente a una pulpa control que no tenía CFA. El Calcio y la vitamina C se introdujeron a la matriz del jugo en un 20% del valor diario de referencia (VDR). El Calcio, introducido como fumarato de Calcio, fue el componente que menos se solubilizó encontrándose en una concentración promedio

de 178 mg/L en las tres formulaciones, la vitamina C y la oligofruktosa permanecieron constantes durante toda la evaluación.¹⁷

Fuente S, y Barboza C, en el 2010 realizaron una investigación con la población interesada en consumir alimentos libres de patógenos y con la menor cantidad de aditivos, con un valor nutricional elevado y que representen una alternativa en la prevención de enfermedades en la salud de quien los consume, ellos proponen la bioconservación de los alimentos a través de proteínas de origen bacteriano. De esta manera se analiza y se revisa la importancia que tiene la conservación de los alimentos y como la susceptibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos puede incrementarse aplicando el concepto de tecnologías de barreras.¹⁸

En el 2010, Diaz Sobac R y col, analizaron un modelo de gestión para la conservación de frutas y hortalizas en Córdoba, teniendo como objetivo generar una alternativa tecnológica que permita a los productores poder extender el lapso de aptitud del producto y de esta manera originar nuevas posibilidades de estrategia comercial para consumo interno y para exportación. El impacto de esta investigación prolonga la vida útil de los productos y permite explorar las economías de escala de producción en otros mercados. También garantizaron una baja contaminación ya que reducen los aditivos y conservantes químicos.²

En la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana en el 2015, una investigación utilizó tecnologías de los métodos combinados manteniendo las propiedades organolépticas en el producto final, mediante una combinación de obstáculos que aseguran la estabilidad y seguridad microbiana. Ellos establecen que las frutas y hortalizas mínimamente procesadas son en la actualidad un grupo de alimentos a los cuales se les está prestando un especial cuidado gracias a sus características nutricionales y saludables, siendo estas últimas el centro de atención de muchas investigaciones por los llamados compuestos antioxidantes.¹⁹

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 GENERALIDADES BIOLÓGICAS

2.1.1 Definición

El mango es el tercer fruto en términos de producción e importancia a nivel mundial, inmediatamente situado después del plátano y la piña tropical, y el séptimo de todos los frutos. “Gracias a su amplia distribución y el desarrollo de técnicas de control de la floración, es posible suministrar mangos a los mercados durante todo el año. Por ser un frutal permanente, su cultivo trae como beneficio colateral, la captura de anhídrido carbónico y liberación de oxígeno”.¹⁸ Además, permite la recuperación de áreas y suelos degradados, así como una cobertura vegetal al suelo.

"En términos de generación de empleo, a nivel nacional se calcula que, en el año 2012, el cultivo de mango generó 11.682 empleos, representado el 0.49% de los generados por cultivos transitorios y permanentes del país".¹⁸ La importancia de este cultivo se caracteriza por su utilización que va desde alimento de mesa, hasta su uso industrial. Sin embargo, se ha determinado que la comercialización del mango se da principalmente en municipios de centro y oriente del Tolima, porque es indispensable que se cumpla con las normas y condiciones que imponen los mercados, ya sea para consumo nacional o incluso, demanda internacional.

2.1.2 Características del mango

El mango es una fruta de la zona Intertropical de pulpa carnosa y de sabor dulce. Ésta puede ser o no fibrosa, siendo la variedad llamada "mango de hilacha" la que mayor cantidad de fibra contiene. Es una fruta normalmente de color verde en un principio, y amarillo o naranja cuando está madura, de sabor medianamente ácido cuando no ha madurado completamente es destacado por su aporte de vitamina C, su efecto laxante, diurético y muy saciante, Son ideales cuando se ve que su olor es intenso y su piel está lisa y sin manchas negras.²⁰

Las alternativas agroindustriales de presentación del mango pueden ser variadas, como: pulpa fresca, néctar, mermeladas, mango en rodajas, congelados por el proceso IQF. Para ello se requiere de equipos especializados.

2.1.2.1. Nutricionales

El conocimiento del fruto y de sus potenciales industriales ofrece un portafolio amplio e inexplorado de posibilidades agroindustriales. A continuación, se presenta una tabla de la composición del fruto:

Tabla 1. Valor nutricional de 100 g de pulpa de mango fresca

Agua	81,7 g
Energía	65 kcal
Proteína	0.51 g
Grasas	0.27 g
Carbohidratos	17.00 g
Fibra dietaria total	1,8 g
Cenizas	0,50 g
Calcio	10 mg
Hierro	0,13 mg
Magnesio	9,0 mg
Fósforo	11 mg
Potasio	156 mg
Sodio	2 mg
Zinc	0,04 mg
Cobre	0,11 mg
Manganeso	0,027 mg
Selenio	0,6 mcg
Vitamina C	27,2 mg
Tiamina	0,056 mg
Riboflavina	0,57 mg
Niacina	0,584 mg
Ácido pantoténico	0,16 mg
Vitamina B6	0,160 mg
Folato total	14 mcg

Fuente: Pereañez J.A, 2009.

Tomado de: <https://es.scribd.com/document/369549859/biblioteca-Mango-pdf>

2.1.2.2. Microbiológicas

El fruto en general, no debe contener microorganismos, toxinas microbianas, micotoxinas u otras sustancias que perjudiquen la salud del consumidor o incluso, deterioren el producto. Esto incluye, larvas, huevos de insectos, pelos, partículas metálicas o materiales extraños que favorecen el crecimiento de patógenos.

2.1.2.3. Fisicoquímicas

En un estudio realizado por Yupanqui Cristóbal y colaboradores en el 2009, éstas características han sido reportadas por rangos de variación durante el proceso de maduración.³⁴

Tabla 2.

Análisis	Resultado
Sólidos totales (%)	15,70
pH	4,65
Acidez expresado (% ácido cítrico)	0,42
Sólidos solubles (°Brix)	13,50
Índice de madurez (°Brix / % ácido cítrico)	32,143

Fuente: Yupanqui (2008)

Características fisicoquímicas del mango

Fuente: Yupanqui, 2008.

Tomado de: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2674/Soto%20Ramos.pdf>

2.1.3. Producción de mango en Colombia

En cuanto al cultivo en Colombia, se encuentra a lo largo de dieciséis departamentos, en los que se destaca Tolima como principal productor. Sin embargo, "se ha adaptado en diferentes pisos térmicos y nichos ecológicos, debido a su rusticidad. Se cultiva desde el nivel del mar hasta los 1.650 metros de altitud. Su adaptación es tal, que se ha generado el llamado mango 'criollo' o naturalizado colombiano, gracias a la

polinización cruzada que ha dado origen a más de 200 eco tipos o subpoblaciones genéticas diferenciadas".²⁰

Según el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) en el 2013, se han cultivado hasta 25.362 hectáreas de mango de las que se cosecharon 21.057 hectáreas que produjeron 261.794 toneladas de fruta. Se habla de Magdalena y Tolima como los departamentos con mayor producción siendo ésta 97.097 y 93.755 toneladas, respectivamente seguidos de Cundinamarca, Antioquia y otros.²¹

La temperatura adecuada va en un rango de 24° C hasta 32° C, si se llega a presentar una temperatura elevada, esto puede afectar la producción. Las precipitaciones ideales para el desarrollo del cultivo, varían desde 1.500 a 2.000 milímetros de lluvia durante el año. La humedad relativa adecuada debe ser menor del 75% con lo que se puede reducir la presencia de afecciones ocasionadas por hongos. Un suelo adecuado para el cultivo del mango, debe tener: profundidad mayor a 1,20 metros, con un buen drenaje, un pH de 5,5 y con texturas medias francas o franco arenosas. "Es de anotar que suelos muy ricos en materia orgánica pueden ocasionar excesivo crecimiento del árbol y dificultad para una adecuada floración".²²

2.1.4. Frutas empacadas

Una de las formas de proteger los productos del daño y contaminación tanto química como microbiológica, es el empaque. Dependiendo del material utilizado, brinda una barrera a los factores posibles de contaminación o deterioro del producto. Siendo así, se encuentran productos que necesitan un contenido disminuido de oxígeno para hacer más lentos los procesos de decoloración. Sin embargo, altos niveles de dióxido de carbono y bajos de oxígeno ocasionan problemas en productos frescos, ya que provocan un ambiente anaerobio y pudriciones del producto. En algunas frutas y hortalizas, la presencia de dióxido de carbono presenta beneficios, puesto que elimina posibles contaminaciones microbianas. La presencia de oxígeno en los empaques de las frutas acelera el deterioro en muchos de estos productos. El oxígeno puede ocasionar disminución de sabores, cambios de color, pérdidas de nutrientes y ataques microbiológicos.²³

El proceso de empaçado es uno de los más importantes, puesto que puede ser uno de los factores principales que producen contaminación. Existen diferentes formas de realizar el proceso de empaque y gran variedad de materiales, para brindar el producto en unidades convenientes para la manipulación y distribución.

El empaque debe brindar la información útil sobre el producto, es importante, que contenga el nombre del producto, marca, tamaño, grado, variedad peso neto, información nutritiva, recetas y otro tipo de información que sea útil y dirigida a los consumidores.

2.2 PROCESO DE FABRICACIÓN DEL PRODUCTO

2.2.1. Descripción

Palo de mango S.A.S, es una empresa del llano que tiene como producto principal mango de forma innovadora, éste se caracteriza por ser picado en cubos pequeños y empaçado en una bolsa con cierre hermético de 150 gramos. Adicional y lo que lo hace único en el mercado es la adición de aderezos, de esta forma se conocen tres sabores como base (maracuyá agridulce, frutos rojos chilly y tradicional), sin embargo, está disponible la opción de adicionar en el sabor tradicional y frutos rojos chilly, leche condensada.

2.2.2. Descripción del proceso

- **Proceso compra materia prima:** Se compra el fruto al proveedor en el San Isidro (La galería – centro de Villavicencio) y este es transportado hasta las instalaciones en un costal.
- **Proceso de limpieza:** La fruta sin pelar se pone en agua potable en un estanque y se sumerge en hipoclorito de sodio al 0.5%.
- **Proceso de pelado:** Con un pelador de acero, limpio y desinfectado se pasa por la materia hasta quitar la cáscara y se ponen en recipiente plástico.
- **Proceso de rayado:** Con un tajador de alimentos de acero y acrílico, se frota hasta obtener un producto en tajadas redondas y posteriormente se ponen en un recipiente plástico.

- **Proceso de corte:** Con un cuchillo cacha plástica y de acero el filo, se cortan trozos con una medida casi uniforme, luego se pasa a recipiente plástico.
- **Proceso de empaque:** Se reciben en un recipiente plástico los trozos de mango y se procede con la selección, se prepara el empaque en una materia de aluminio y se pone en una gramera donde se introduce 150 g de fruta.
- **Formulación de aderezos:**
 - **Sal y pimienta:** se agregan 5 g de sal, se agita el producto y se procede a la adición de 2 g de pimienta, nuevamente se agita y se sella el empaque.
 - **Frutos rojos chilly:** Mezcla de fresas y moras con un toque picante. Se agrega de esta mezcla 30 g al producto previamente empacado, se agita y se sella el empaque
 - **Maracuyá agridulce:** Se agregan 30 g de la mezcla de maracuyá al producto previamente empacado, se agita y se sella el empaque.

Una vez pesado y empacado el mango fresco picado y con la adición de sus respectivos aderezos, se procede con la refrigeración.

- **Refrigeración a 4°C:** Desde que el mango es picado, se mantiene a 4°C en un refrigerador común, es retirado de esta área para la adición de los aderezos y luego de este paso, de nuevo es llevado a la refrigeración hasta que el producto llega al consumidor.
- **Transporte del producto terminado:** Con el fin de mantener la temperatura adecuada, se utilizan neveras de icopor y pilas de hielo congelado. Este tipo de transporte es para un tiempo no mayor de 2 horas.

2.2.3. Aderezos

El producto consta de tres sabores base: Tradicional, maracuyá agridulce y frutos rojos chilly. Estos se componen de aderezos tales como:

- **Maracuyá agridulce:** Pulpa de maracuyá, vinagre de frutas, zumo de limón, azúcar, agua infusionada de jengibre, jarabe básico, colorante amarillo en gel y goma xantana.
- **Frutos rojos chilly:** Fresas, moras, zumo de limón, agua, jarabe básico, ají en polvo o pimienta de cayena.
- **Tradicional:** Mezcla de sal, limón y tajín aproximadamente 5 gramos.
- **Maracuyá agridulce con leche condensada:** Mezcla de maracuyá 15 gramos y leche condensada 7 gramos.
- **Frutos rojos chilly con leche condensada:** Mezcla de frutos rojos 15 gramos y leche condensada 7 gramos.

Después de aplicar los aderezos excepto la leche se cierra el empaque con un sello zipper y se mantiene en cadena de frío de 4°C. Cabe destacar que todos los procesos se llevan a cabo con gorro, guantes de nitrilo y tapabocas.

2.3 CONSERVACIÓN DE FRUTAS

2.3.1 Definición

Un conservante es una sustancia que sirve como aditivo alimentario, este puede ser natural o artificial, y la finalidad de su utilización es reducir el deterioro del producto causado por la presencia de microorganismos. Según la resolución número 4125 de 1991, y el artículo 1o, "Los conservantes son sustancias o mezclas de sustancias que impiden o retardan el proceso biológico de alteración, producido en los alimentos por los microorganismos o las enzimas". "Las sustancias conservantes deben ser inocuas y no deben emplearse para encubrir deficiencias sanitarias de las materias primas, ni malas prácticas de manufactura y, además, cumplirán con las especificaciones del

Codex Alimentarius, del Food Chemical Codex o de las Farmacopeas vigentes en Colombia".²⁴

2.3.2 Importancia

Los conservantes se añaden a los alimentos para prevenir el deterioro causado por bacterias, mohos, hongos y levaduras. Estos permiten que el producto se pueda mantener fresco durante un periodo más prolongado, adicional, se han utilizado para retardar o prevenir cambios en el color, sabor o textura.

"Estos desempeñan un papel importante en el complejo abastecimiento de alimentos que hoy en día consume la población mundial. Nunca antes, ha existido una variedad tan amplia de alimentos o subproductos industrializados, en cuanto a su disponibilidad en supermercados, tiendas alimenticias especializadas y cuando se come fuera de casa. Mientras que una proporción cada vez menor de la población se dedica a la producción primaria de alimentos, los consumidores exigen que haya alimentos más variados y fáciles de preparar, y que sean seguros, nutritivos y económicos".¹¹

Los ingredientes de acción conservadora se utilizan en niveles relativamente bajos para asegurar la estabilidad del producto y su eficacia durante la vida útil del producto. Cuando la cantidad de conservantes se reduce a un número limitado de moléculas, la estabilidad a largo plazo de productos ya no se puede garantizar. Esto podría conducir a tener plazos más cortos de caducidad, lo que llevaría a un aumento del gasto por parte del consumidor de su producto favorito, y un aumento potencial de reacciones adversas debido a la contaminación microbiana.

2.3.3 Métodos de conservación

Son todos aquellos procesos o procedimientos que se aplican a los alimentos con el objeto de prolongar su vida útil. Se clasifican en:

2.3.3.1. Físicos

- **Temperaturas:** Método que conserva los alimentos gracias al descenso de la temperatura. Este proceso reduce la velocidad de las reacciones químicas y

disminuye la actividad de los microorganismos. La temperatura de refrigeración doméstica recomendada es de 0° a 8°C y la temperatura industrial es de 0° a 5°C.

- **Deshidratación:** Consiste en eliminar la mayor concentración posible de agua presente en un producto. El deshidratado a baja temperatura conserva la gran mayoría de los alimentos con las mismas vitaminas y minerales, nutrientes y enzimas que su equivalente fresco, y con sabores más concentrados.
- **Pasteurización:** Esta técnica es muy usada en los productos lácteos, como la leche y el queso. Consiste en eliminar los microorganismos de los alimentos llevándolos a temperaturas de 80° durante 30 minutos y enfriándose rápidamente.
- **Esterilización comercial:** Es el proceso mediante el cual los alimentos llenados y cerrados herméticamente en latas u otro tipo de envases similares se someten a tratamiento térmico a alta temperatura durante el tiempo suficiente para reducir la población de microorganismos y reducir el riesgo de desarrollo de toxinas.
- **Liofilización:** Es una técnica de deshidratación por frío, un proceso común en la industria alimentaria conocido como deshidrocongelación el cual tiene la virtud de mantener al máximo las propiedades organolépticas de los alimentos. Este método se realiza al vacío.
- **Envasado al vacío:** Es un método de conservación que consiste en la extracción del aire que rodea al alimento. Para ello se introduce en bolsas de plástico adecuadas y se extrae la mayor cantidad de aire posible. Puede ser congelado o refrigerado.²⁵

2.3.3.2. Químicos

- **Salazón y curado:** Es un proceso de conservación basado en la adición de sal en cantidad más o menos abundante. La sal capta el agua del alimento deshidratándolo y privando de este elemento vital a los microorganismos.
- **Ahumado:** Es una técnica de conservación alimenticia que consiste en someter alimentos a una fuente de humo proveniente de fuegos realizados de maderas de poco nivel de resina.
- **Aplicación de aditivos:** se añaden a los productos alimentarios en su producción, preparación, envasado o almacenamiento para hacerlos más

seguros, nutritivos y apetecibles, sin que les afecten las condiciones ambientales. Su uso está estrictamente regulado.

- **Desinfección química:** Busca la seguridad alimentaria eliminando o inactivando agentes patógenos impidiendo su crecimiento y desarrollo en los alimentos, generalmente es usado en industrias donde el alimento es desinfectado usando cloro, yodo, amonio cuaternario, soluciones ácidas o alcalinas o con generador de ozono.
- **Acidificación:** Es un método basado en la reducción del pH del alimento que impide el desarrollo de los microorganismos. Se lleva a cabo añadiendo al alimento sustancias ácidas como el vinagre. Este método de conservación previene la proliferación de bacterias y contribuye a mantener la calidad deseada del producto.
- **Atmósferas modificadas y controladas:** Consiste en empacar los productos alimenticios en materiales con barrera a la difusión de los gases, en los cuales el ambiente gaseoso ha sido modificado para disminuir el grado de respiración, reducir el crecimiento microbiano y retrasar el deterioro enzimático con el propósito de alargar la vida útil del producto.²⁵

2.3.3.3. Biológicos

Dentro de esta metodología, se encuentra la conservación por fermentación, implicando directamente microorganismos tales como levaduras, bacterias y mohos para realizar transformaciones de materia orgánica catalizadas por enzimas.

Muchas bacterias tienen actividad bactericida frente a bacterias Gram-positivas patógenas o toxicogénicas, tales como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* o *Staphylococcus aureus*. Algunas bacteriocinas también pueden inhibir a bacterias Gram-negativas, especialmente cuando se combinan con otros agentes antimicrobianos.³

2.4 CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN FRUTAS SIN PROCESAR

2.4.1. Microorganismos Indicadores

Una forma de hacer seguimiento a la calidad microbiológica de los alimentos es la determinación de la presencia de ciertos microorganismos indicadores tales como:

- **Indicadores de tiempo de vida útil:** mesófilos aerobios, psicrófilos y termófilos.
- **Indicadores de contaminación ambiental:** Mohos y levaduras
- **Indicadores de condiciones de manejo:** mesófilos aerobios, hongos y levaduras, coliformes totales.
- **Indicadores de contaminación fecal:** *E. coli*, coliformes fecales y enterococos.

2.4.2. Microorganismos alteradores

Estos se caracterizan por alterar las características organolépticas y fisicoquímicas de los alimentos produciendo un deterioro en el producto y una patología o intoxicación en el consumidor. Estos pueden ser levaduras, mohos, *Salmonella*, *E. coli*, *Bacillus*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio*, entre otros.²²

- **Microorganismos amilolíticos:** Utilizan enzimas reductoras para producir azúcares simples. Dentro de estos se identifican bacterias como *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, y *Streptomyces sp.*
- **Microorganismos proteolíticos:** Constituyen un grupo muy heterogéneo, en el cual podemos encontrar especies de los géneros, *Clostridium sp.*, *Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Streptococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Mucor sp.*, entre otros. La hidrólisis de la proteína por los microorganismos en los alimentos puede producir una variedad de alteraciones tanto en el olor como en el sabor y textura. Las enzimas proteolíticas, sobre todo las de bacterias psicrotróficas de la leche, generalmente permanecen activas tras ser sometidos a tratamientos térmicos, reduciendo la calidad de los productos tratados térmicamente.

- **Microorganismos celulolíticos:** Entre los microorganismos degradadores de celulosa incluyen hongos y bacterias, aerobios y anaerobios destacándose, *Trichoderma reesei*, *Fusarium solani*, *Sporotrix sp.*, *Alternaria sp.*, *Geotrichum sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Mucor sp.*, *Aspergillus sp.* Las bacterias celulolíticas más abundantes y conocidas son *Microbispora bispora*, *Corynebacterium*, *Vibrio sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacteroides sp.*, *Clostridium cellulovorans*, entre otros.
- **Microorganismos pectinolíticos:** Se refiere a aquellos que degradan la pectina. Incluyen, pero no está limitado a, bacterias de los géneros *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* y diversas levaduras, hongos, protozoarios y nemátodos.
- **Microorganismos alteradores del mango:** Dentro de los microorganismos más comunes del mango, se encuentra: *Xanthomonas sp.* provocando como síntoma la mancha negra, *Pseudomonas syringae*, ocasionando necrosis de las yemas apicales y la pudrición del mango es debido a la *Erwinia carotovora*.²²

2.4.3. Coliformes totales y *E. coli*

Los coliformes totales son bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos no esporulados, lactosa positiva que poseen la enzima B-galactosidasa, es importante puesto que es indicador de contaminación de agua y alimentos ya que su origen es principalmente fecal, debido a esto, mientras más cantidad de UFC se aíslan, mayor es la gravedad de contaminación en el producto a consumir.

La *Escherichia coli* son bacilos Gram negativos no esporulados, móviles o inmóviles, aerobios o anaerobios facultativos, son de rápido crecimiento y se encuentran en suelo, agua, vegetales y animales. Éste microorganismo es un indicador importante en los alimentos, puesto que garantiza la sanidad durante los procesos a los que sea expuesto el producto.²⁶

2.5 REQUISITOS PARA PERMISOS SANITARIOS

2.5.1 Codex Alimentarius ICMSF

Las normas del Codex buscan garantizar que los alimentos sean saludables y puedan llegar al consumidor sin problema alguno. Este se encarga de establecer los alimentos que pueden utilizar aditivos o conservantes y las dosis, la inocuidad que debe tener el alimento y las buenas prácticas de fabricación.

En el caso de la muestra a tratar, según el Codex Stan 192-1995, pertenece al subgrupo 04.1.2.4 de Frutas en conserva: Producto completamente conservado en el que la fruta fresca se ha limpiado y envasado en latas o frascos con zumo (jugo) natural o jarabe azucarado (incluido el jarabe edulcorado artificialmente). Comprende los productos elaborados en bolsas de envasado al vacío. En cuanto al conservante, el Codex Stan 156-1987 establece que los valores máximos permitidos de ácido ascórbico equivalen a 1g por cada kilogramo que presente el producto.⁴

2.5.2 INVIMA

Es un establecimiento público del orden nacional, de carácter científico y tecnológico, con personería jurídica, autonomía administrativa y patrimonio independiente, perteneciente al sistema de salud, adscrito al Ministerio de la Protección Social y con sujeción a las disposiciones que regulan su funcionamiento. (Decreto 1290 de 1994). Su objetivo principal es la ejecución de las políticas en materia de vigilancia sanitaria y de control de calidad de los productos objeto de su competencia. En cuanto a alimentos se rige al permiso sanitario (Decreto 4444 de 2005) y registro sanitario (Decreto 3075 de 1997). Resolución 2674 de 2013 y Resolución 719 de 2015.²⁷

Según el artículo 41 - Decreto 2075 de 1997, Todo producto que se expenda directamente al consumidor con nombre y marca tiene obligatoriedad del registro sanitario. Los productos que no requieren de registro sanitario, según el artículo 41 decreto 3075 de 1997 son:

1. Productos naturales no sometidos a transformación como frutas, granos, hortalizas, verduras, productos apícolas.

2. Origen animal (crudos, refrigerados, congelados) sin proceso de transformación.
3. Materias primas para utilización exclusiva por la industria y el sector gastronómico, como precursores de alimentos terminados.⁵

2.5.3 Nivel de riesgo en salud pública

La normatividad vigente, indica que los alimentos deben tener un registro sanitario, permiso sanitario o notificación sanitaria expedido por el INVIMA.

Los requisitos para solicitar los documentos son establecidos por autoridades nacionales que regula la materia en Colombia: Ministerio de Salud y Protección Social y el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, mediante una norma general y normativas específicas que aplican para cierto tipo de productos. A partir del año 2012, se expidió el Decreto-Ley 019, el cual establece en el artículo 126 que los alimentos que se fabriquen, envasen o importen para su comercialización en el territorio nacional requerirán de notificación sanitaria, permiso sanitario o registro sanitario según el riesgo de estos productos en la salud pública.⁶

En la resolución 719 del 2015 se clasificaron los alimentos según el tipo de riesgo, de la siguiente manera:

- Alimento de mayor riesgo en la salud pública: Los alimentos que pueden contener microorganismos patógenos y favorecer la formación de toxinas o el crecimiento de microorganismos patógenos y alimentos que pueden contener productos químicos nocivos.
- Alimento de riesgo medio en la salud pública: Los alimentos que pueden contener microorganismos patógenos, pero normalmente no favorecen su crecimiento debido a las características del alimento o alimentos que son poco probables que contengan microorganismos patógenos debido al tipo de alimento o procesamiento del mismo, pero que pueden apoyar la formación de toxinas o el crecimiento de microorganismos patógenos.
- Alimento de menor riesgo en la salud pública: Los alimentos que tienen poca probabilidad de contener microorganismos patógenos y normalmente no

favorecen su crecimiento debido a las características de los mismos y los alimentos que probablemente no contienen productos químicos nocivos.

Asimismo, la Resolución 2674 estableció que, dependiendo del tipo de riesgo, los productos alimenticios requieren de registro sanitario, permiso sanitario o notificación sanitaria, con sus correspondientes vigencias.⁶

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Este trabajo es de investigación experimental aplicada, puesto que se centra en determinar las características microbiológicas asociadas a microorganismos indicadores de tiempo de vida útil y control higiénico, donde se analizarán los recuentos de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y *E. coli* según lo descrito en los procedimientos de la International Standard Organization ISO 4833-1:2013: Método horizontal para el recuento de Microorganismos. Parte I: Recuento de colonias a 30°C mediante la técnica de siembra en profundidad y las NTC 17025: Validación secundaria del método de número más probable y recuento en placa profunda para coliformes totales y fecales en muestras de alimentos.²⁸

Adicionalmente, se realizó una investigación exploratoria del producto con la finalidad de identificar el conservante natural adecuado para el producto, para esto se evaluaron los ensayos con dos concentraciones diferentes de un conservante naturales que no altera las características organolépticas del producto y prolongue el tiempo de vida útil bajo condiciones de refrigeración a 4°C y describir las acciones correctivas para eliminar el riesgo de contaminación por microorganismos patógenos identificando dónde se encuentra la contaminación que permite un crecimiento probablemente patógeno.

3.2 UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. Población

Productos de mango fabricados bajo condiciones higiénicas en la planta de producción ubicada en Villavicencio – Meta.

3.2.2. Muestra

El producto consta de tres sabores base: Tradicional, maracuyá agridulce y frutos rojos chilly con sus respectivos aderezos y estos se procesaron por duplicado, para un total de 6 muestras para el análisis microbiológico de mesófilos aerobios y coliformes totales.

Para la evaluación del conservante ácido ascórbico se usaron 3 referencias del producto con dos concentraciones diferentes (0,08 g y 0, 12 g)

3.3 HIPÓTESIS, VARIABLES E INDICADORES

3.3.1 Hipótesis

Los métodos de conservación actuales en el mango sin procesar mantienen la inocuidad microbiológica en los productos fabricados y el uso de un conservante natural a una concentración de 0.08 g y 0.12 g, prolongará el tiempo de vida útil entre 8 y 10 días bajo condiciones de refrigeración.

3.3.2 Variables e Indicadores

Tabla 3. *Variables y definiciones*

VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADORES
Independiente	Productos elaborados a base de mango sin procesar.	Tres sabores base del producto: Tradicional, maracuyá agridulce y frutos rojos chilly con sus respectivos aderezos. Para un total de 8 muestras.

Dependiente	<ul style="list-style-type: none"> • Tiempo de vida útil del producto • Inocuidad microbiológica para los productos analizados • Evaluación del conservante en dos concentraciones diferentes 	Días
		UFC/g
		UFC/g

Fuente: Autor, 2019

4. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTO

4.1 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios

El recuento en placa de bacterias mesófilas aerobias es el método cuantitativo para determinar una fracción de flora microbiana capaz de crecer y producir colonias en un medio de cultivo sólido tras realizar diluciones decimales de la muestra inicial y posteriormente ser llevadas a incubación aerobia a 30°C por un tiempo de 48 a 72 horas. Luego, se realiza un cálculo del número de unidades formadoras de colonias por mililitro de la muestra, contando las colonias obtenidas en placas que contienen menos de 300 UFC. Método horizontal para el recuento de Microorganismos. Parte I: Recuento de colonias a 30°C mediante la técnica de siembra en profundidad. Procedimiento según International Standard Organization ISO 4833-1:2013.²⁸

4.2 Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*

Este método se basa en la técnica de aislamiento por agotamiento de un inóculo de la muestra en un medio sólido, con el fin de obtener un número de UFC reducido distribuido en la placa incubada a 37°C por un tiempo de 24 a 48 horas para observar y hacer un análisis de las características macroscópicas de la colonia obtenida. Método horizontal para el recuento de Microorganismos. Parte II: Recuento de colonias a 30°C mediante la técnica de siembra en superficie. Procedimiento según International Standard Organization ISO 4833-2:2013.²⁹

4.3 Evaluación del tiempo de vida útil del mango sin procesar

La forma de efectuar este seguimiento fue por medio de la determinación de coliformes totales y *E. coli*, con tres lotes diferentes se hizo muestreo de cada muestra manejando los tiempos 0 días, 8 días y 15 días, determinando la durabilidad del producto mantenido a 4°C durante estos días. Adicional, fue indispensable mantener un control organoléptico.

4.4 Evaluación microbiológica con un bioconservante

Este seguimiento fue realizado con las mismas técnicas y tiempos mencionados anteriormente, pero con la adición del ácido ascórbico a un 0.08g y 0.12g de concentración por goteo y sembrado en cabina de flujo laminar evitando contaminación ambiental. Las concentraciones se determinaron con lo máximo permitido de ácido ascórbico por el Invima, descrito en la Resolución 4126 de 1991.²⁹

4.5 Análisis Estadístico

Todos los datos obtenidos durante el periodo de estudio se registraron y se creó un formato especialmente diseñado para resaltar las variables requeridas, de esta forma, se realizó el análisis para determinar los resultados que tienen un cambio estadísticamente significativo con respecto a la muestra inicial utilizando estadística descriptiva para los análisis microbiológicos. Se aplicó una prueba de ANOVA de un factor para evaluar el producto elaborado a base de mango sin conservante y otro con conservante natural. Se realizó el análisis mediante Excel 2010.

5. RESULTADOS

5.1 RESULTADO ORGANOLÉPTICO

Las muestras fueron analizadas para determinar una diferencia significativa con y sin conservante teniendo en cuenta su olor, sabor, textura y color cada vez que se iban a procesar.

Tabla 4. Resultado organoléptico sin conservante natural

<u>TIEMPO: 0 DÍAS</u>	TRADICIONAL	MARACUYÁ AGRIDULCE	FRUTOS ROJOS CHILLY
SABOR	Salado con un toque ácido	Ácido en una misma proporción que el dulce	Muy dulce ligeramente ácido
OLOR	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, dulce
TEXTURA	Blando	Blando	Blando
COLOR	Amarillo verdoso	Amarillo intenso	Amarillo rojizo
<u>TIEMPO: 8 DÍAS</u>	TRADICIONAL	MARACUYÁ AGRIDULCE	FRUTOS ROJOS CHILLY
SABOR	Salado con un toque ácido	Ácido en una misma proporción que el dulce	Muy dulce ligeramente ácido
OLOR	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, dulce
TEXTURA	Blando	Blando	Blando
COLOR	Amarillo verdoso	Amarillo intenso	Amarillo rojizo
<u>TIEMPO: 15 DÍAS</u>	TRADICIONAL	MARACUYÁ AGRIDULCE	FRUTOS ROJOS CHILLY
SABOR	Salado con un toque ácido	Ácido	Ácido
OLOR	Fresco, frutal, cítrico	Fermentado, agrio	Fermentado
TEXTURA	Blando	Blando	Blando
COLOR	Amarillo verdoso	Amarillo intenso	Amarillo rojizo

Fuente: Autor, 2019

Tabla 5. Resultado organoléptico con conservante natural

<u>TIEMPO: 0 DÍAS</u>	TRADICIONAL	MARACUYÁ AGRIDULCE	FRUTOS ROJOS CHILLY
SABOR	Salado con un toque ácido	Ácido en una misma proporción que el dulce	Muy dulce ligeramente ácido
OLOR	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, dulce

TEXTURA	Blando	Blando	Blando
COLOR	Amarillo verdoso	Amarillo intenso	Amarillo rojizo
<u>TIEMPO: 8 DÍAS</u>	TRADICIONAL	MARACUYÁ AGRIDULCE	FRUTOS ROJOS CHILLY
SABOR	Salado con un toque ácido	Ácido en una misma proporción que el dulce	Muy dulce ligeramente ácido
OLOR	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, dulce
TEXTURA	Blando	Blando	Blando
COLOR	Amarillo verdoso	Amarillo intenso	Amarillo rojizo
<u>TIEMPO: 15 DÍAS</u>	TRADICIONAL	MARACUYÁ AGRIDULCE	FRUTOS ROJOS CHILLY
SABOR	Salado con un toque ácido	Ácido en una misma proporción que el dulce	Muy dulce ligeramente ácido
OLOR	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, cítrico	Fresco, frutal, dulce
TEXTURA	Blando	Blando	Blando
COLOR	Amarillo verdoso	Amarillo intenso	Amarillo rojizo

Fuente: Autor, 2019

5.2 RESULTADO MICROBIOLÓGICO

5.2.1 Muestras sin conservante

En el momento de realizar los muestreos en la cabina de flujo laminar, la temperatura ambiental fue de 21°C; las muestras permanecieron en cuarto frío a 4°C. Las cajas con agar nutritivo y agar Mac Conkey, fueron manejadas con total asepsia, para evitar crecimientos de patógenos que pudieran contaminar y alterar los resultados. Cada muestra fue marcada correctamente siguiendo con esa marcación en cada muestreo realizado (Tabla 6).

Tabla 6. *Identificación de muestras sin conservante*

Número de muestra	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6

Característica	Tradicional	Maracuyá agridulce	Frutos rojos chilly	Tradicional	Maracuyá agridulce	Frutos rojos chilly
----------------	-------------	-----------------------	------------------------	-------------	-----------------------	------------------------

Fuente: Autor, 2019

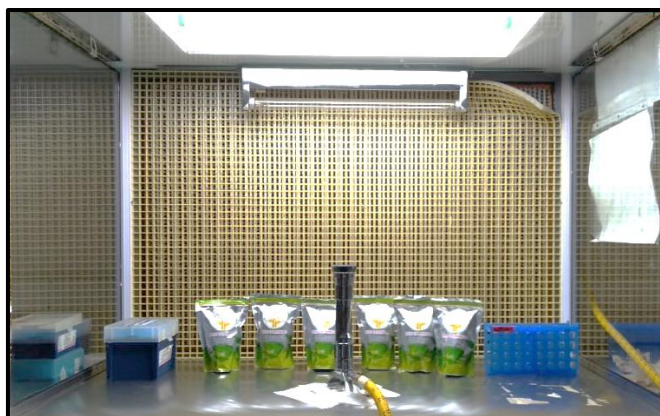


Figura 1. Muestras listas para su procesamiento

Fuente: Autor, 2018

5.2.1.1. Primer muestreo sin conservante natural

Las muestras fueron enviadas en nevera de icopor con pilas de hielo el día 22 de febrero 2018. El empaque de las muestras 3 y 6, presentan signos de fermentación a los 5 días de traer las muestras y adicionalmente la muestra 5 presentaba un olor agrio después de los 6 días del primer muestreo. Los resultados muestran que el crecimiento microbiano pasados los 8 días, es bastante alto en comparación al crecimiento del primer día. Cabe aclarar que las muestras presentaron fermentación antes de empezar el primer muestreo correspondiente al día 0, esto puede deberse a cambios inapropiados de temperatura o a contaminación ambiental. (Gráfico 1).

En cuanto al tiempo de 15 días, no fue posible realizar el proceso a tiempo por falta de recursos y porque no cumplía las condiciones organolépticas.

Tabla 7. Primer muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios. Valores Promedio de los

recuentos						
Tiempo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
0 días	2,01	5,03	5,03	2,35	3,69	6,04
8 días	8,05	6,38	9,06	4,36	5,03	7,72

Fuente: Autor, 2019

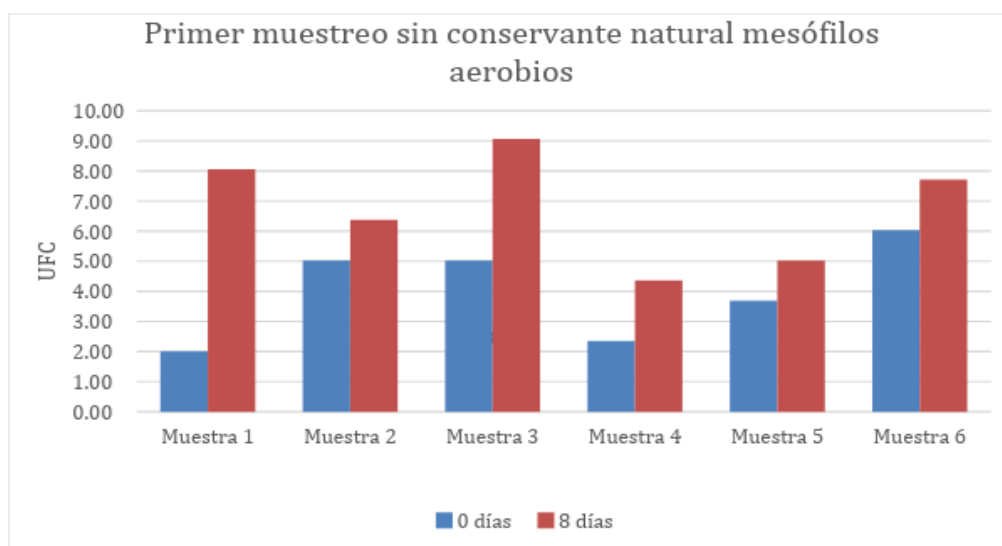


Gráfico 1. Primer muestreo sin conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

Fuente: Autor, 2019

Los crecimientos del agar nutritivo, macroscópicamente se ven colonias blancas, de diferentes tamaños y con un aspecto cremoso (Figura 2).

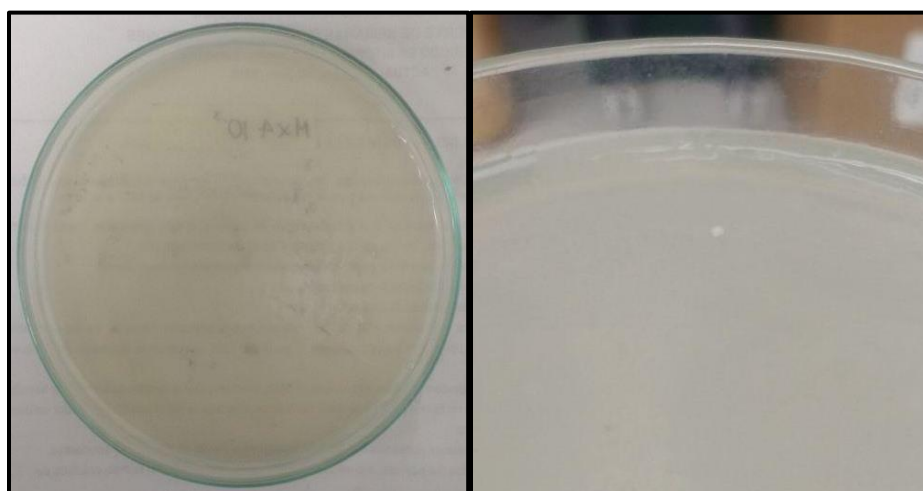


Figura 2. Imagen de la izquierda corresponde a la primera siembra de la muestra 4 con dilución 10^{-3} donde se puede evidenciar un crecimiento negativo. La imagen de la derecha, corresponde al crecimiento de una UFC en la segunda siembra de la misma muestra.

Fuente: Autor, 2018

5.2.1.2 Segundo muestreo sin conservante natural

Las muestras fueron enviadas en nevera de icopor con pilas de hielo el día 19 de abril del 2018 e inmediatamente fueron llevadas al cuarto frío. La muestra 5 y 6 sigue presentando fermentación pasados 6 días.

En el día 0, se evidencia la presencia de UFC que van aumentando en todas las muestras con el pasar de los días. La muestra 4 y 1, correspondientes a la presentación tradicional tienen una inconcordancia, puesto que pertenecen al mismo lote, pero la muestra 1 presenta valores de UFC aumentados en comparación con la muestra 4. Esto puede deberse a una diferente manipulación o contaminación cruzada por parte de la materia prima. (Gráfico 2)

Tabla 8. Segundo muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios. Valores Promedio de los recuentos						
Tiempo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
0 días	6,38	6,38	5,03	2,35	4,36	4,70
8 días	8,39	7,38	6,38	7,72	5,70	8,39
15 días	9,06	9,73	9,40	11,74	11,07	12,42

Fuente: Autor, 2019

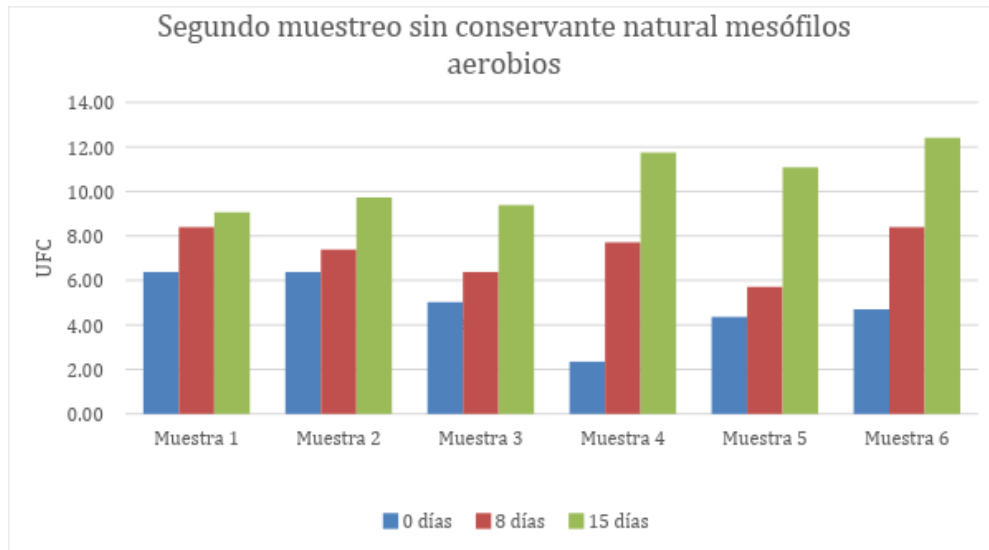


Gráfico 2. Segundo muestreo sin conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

Fuente: Autor, 2019

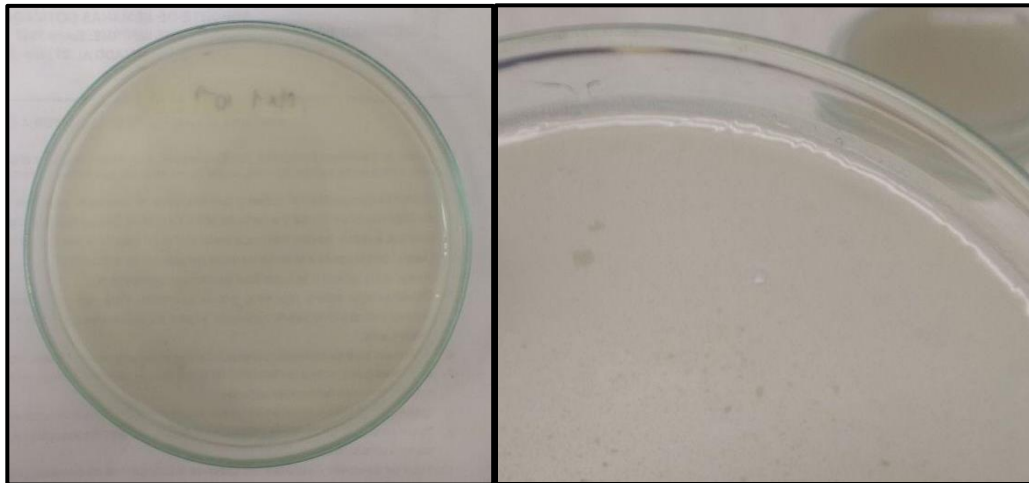


Figura 3. Imagen de la izquierda corresponde a la primera siembra de la muestra 5 con dilución 10^{-3} donde se puede evidenciar un crecimiento negativo en el agar nutritivo. La imagen de la derecha, corresponde al crecimiento de una UFC en la segunda siembra de la misma muestra.

Fuente: Autor, 2018

El crecimiento de las colonias en el agar Mac Conkey se caracterizan por ser grandes, rosadas y cremosas (Figura 4).

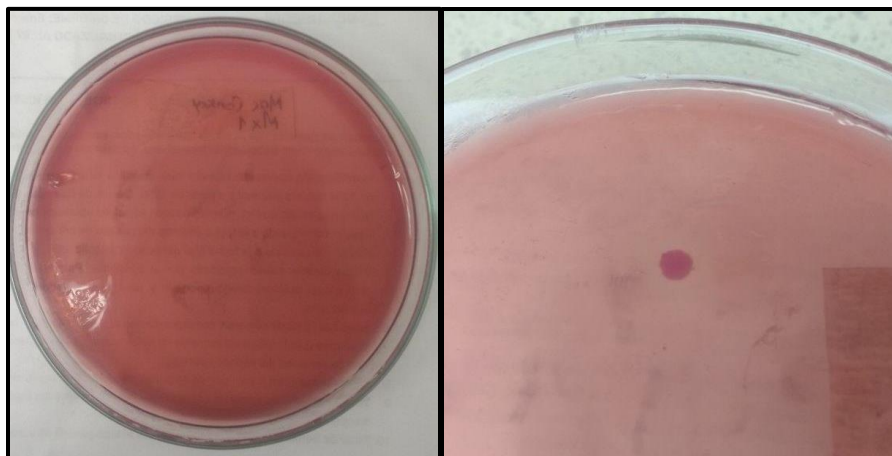


Figura 4. Imagen de la izquierda corresponde a la primera siembra de la muestra 1 donde se puede evidenciar ausencia de las UFC en el agar Mac Conkey. La imagen de la derecha, corresponde al crecimiento de una UFC en la segunda siembra de la muestra dos.

Fuente: Autor, 2018

5.2.1.3 Tercer muestreo sin conservante natural

Las muestras fueron enviadas en nevera de icopor con pilas de hielo el día 13 de septiembre 2018 e inmediatamente fueron llevadas al cuarto frío. La muestra 5 y 6 sigue presentando fermentación pasados 10 días y la muestra 4 presenta un olor fuertemente agrio.

Este gráfico pertenece al último muestreo sin conservante, aquí se encuentra una misma inconcordancia que en el gráfico 2. Correlacionando con los resultados organolépticos, concuerda que en las muestras 5 y 6 haya presencia de microorganismos contaminantes del producto que alteran estas propiedades y en especial en estas presentaciones el rápido deterioro lo ocasiona la fermentación de los ingredientes. (Gráfico 3)

Tabla 9. Tercer muestreo sin conservante natural mesófilos aerobios. Valores Promedio de

los recuentos						
Tiempo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
0 días	6,04	5,03	2,35	1,34	4,70	3,69
8 días	7,72	8,39	5,70	4,70	6,04	6,71
15 días	8,72	9,40	8,05	7,05	8,39	11,07

Fuente: Autor, 2019

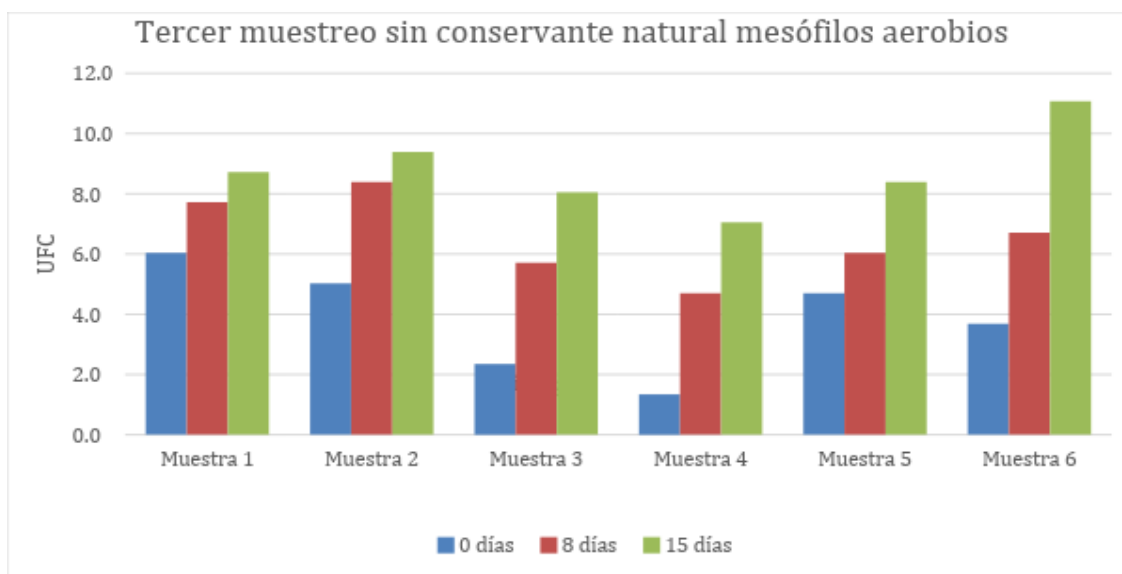


Gráfico 3. Tercer muestreo sin conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

er muestreo sin conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

Fuente: Autor, 2019

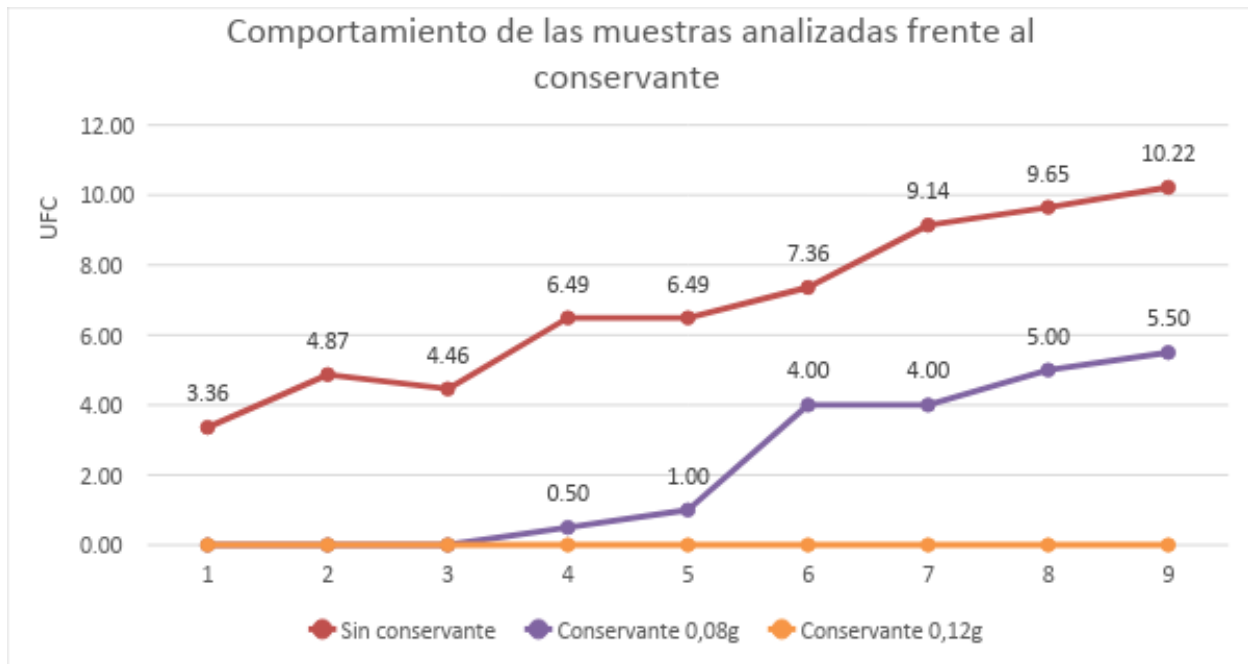


Figura 5. Imagen de la izquierda corresponde a la tercera siembra de la muestra 4 donde se puede evidenciar la presencia de las UFC en el agar Mac Conkey. La imagen de la derecha, corresponde al crecimiento de UFC en la tercera siembra de la muestra 6.

Fuente: Autor, 2018

Teniendo en cuenta que como base se trabajan con 3 muestras principales, según cada conteo de microorganismos obtenido por muestra, se promedió utilizando la fórmula establecida por la ISO 7218 del 2007 con la finalidad de diferenciar las muestras con ácido ascórbico en las dos concentraciones y sin ácido ascórbico. (Gráfico 4)

Gráfico 4. Comportamiento de las muestras analizadas frente al conservante



Fuente: Autor, 2019

Este gráfico denota las tres muestras principales agrupadas según la cantidad de UFC que se presentaron en los días estudiados y su comportamiento con respecto al conservante. Todas las muestras que no tenían conservante, presentaron un crecimiento microbiano progresivo desde el día 0 y aumentando las UFC hasta los 15 días, evidenciando un constante deterioro de los productos por contaminación.

Con la concentración de ácido ascórbico de 0.08 g, el día 0 tuvo un gran cambio evidenciado por el nulo crecimiento de las UFC. Sin embargo, este crecimiento fue aumentando, en el día 8 se tienen UFC en todas las muestras, en este caso resalta frutos rojos chilly debido a que más colonias presenta en los tiempos 8 y 15 días, esto se debe a una rápida fermentación de los ingredientes permitiendo que la muestra sea

un ambiente perfecto para diferentes microorganismos. La concentración 0.08g de ácido ascórbico presenta un resultado relativamente bueno comparando con los resultados obtenidos durante los muestreos sin conservante, hay un crecimiento, pero no tan significativo. En el caso de las muestras con concentración de 0.12g de ácido ascórbico, se obtuvo lo esperado, puesto que no hubo crecimiento de UFC durante el periodo analizado, garantizando que el producto tiene una larga viabilidad con esta concentración.

5.2.2. Evaluación del bioconservante: ácido ascórbico

Las muestras fueron procesadas con dos concentraciones diferentes de ácido ascórbico siendo estas 0,12g y 0.08g en cada una. En el momento de realizar los muestreos en la cabina de flujo laminar, la temperatura ambiental fue de 21°C; las muestras permanecieron en cuarto frío a 4°C desde que llegaron hasta que se realizó el último muestreo. Las cajas con agar nutritivo y agar Mac Conkey, fueron manejadas con total asepsia y cumpliendo las Buenas prácticas de Laboratorio, para evitar crecimientos patógenos que puedan contaminar y alterar los resultados. Cada muestra fue marcada correctamente siguiendo con esa marcación en cada muestreo realizado siendo así:

Tabla 10. Identificación de muestras con ácido ascórbico		
Concentraciones	Número de muestra	Característica
0.12g	Muestra 1	Tradicional
	Muestra 2	Maracuyá agridulce
	Muestra 3	Frutos rojos chilly
0.08g	Muestra 4	Tradicional
	Muestra 5	Maracuyá agridulce

	Muestra 6	Frutos rojos chilly
--	------------------	---------------------

Fuente: Autor, 2019



Figura 6. Imagen correspondiente al total de las muestras listas para procesar con la adición del conservante natural.

Fuente: Autor, 2019

Las muestras fueron enviadas en nevera de icopor con pilas de hielo el día 7 de febrero del 2019 e inmediatamente fueron llevadas al cuarto frío. Las muestras no presentan ninguna inconformidad y se procede a pesar en balanza analítica lo que corresponde a cada muestra del ácido ascórbico, se procede con los muestreos que se venían manejando y se obtienen los resultados (Tabla 11).

Tiempo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
0 días	0	0	0	0	0	0
8 días	0	0	0	0,5	1	4
15 días	0	0	0	3	4	5,5

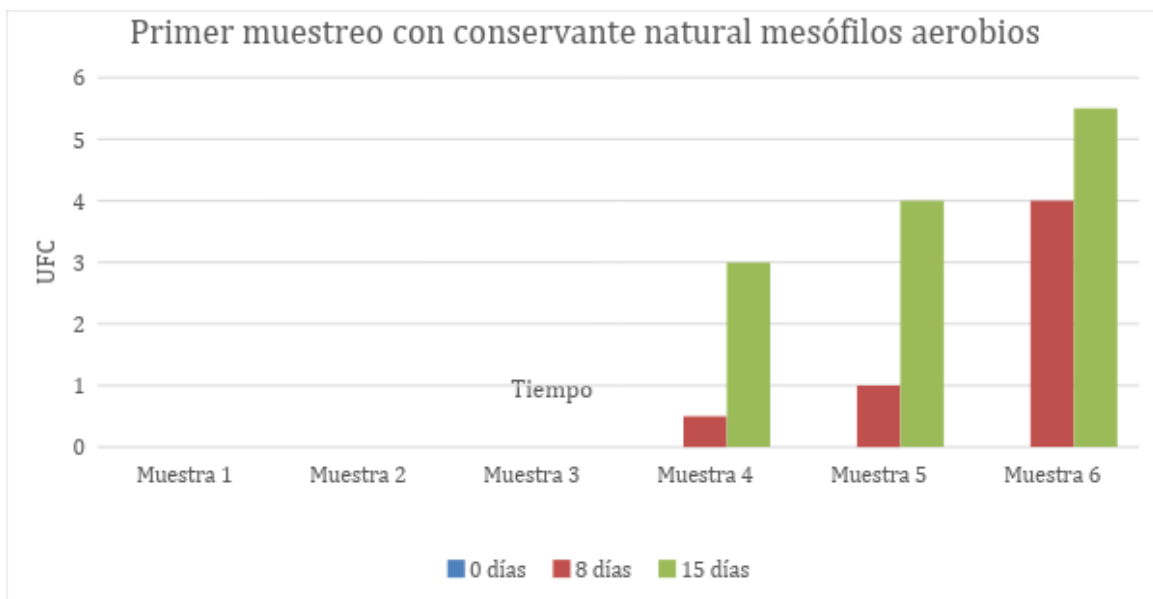


Gráfico 6. Muestreo con conservante natural. Análisis mesófilos aerobios.

Fuente: Autor, 2019

Como se puede evidenciar, las concentraciones tuvieron un gran impacto en la reducción y la ausencia de UFC determinando un buen comportamiento de las diferentes presentaciones del producto. Sin embargo, la muestra 6 en un tiempo de 15 días con la concentración 0,08 g de ácido ascórbico, presentó la más alta presencia de microorganismos.

Teniendo en cuenta que lo que se requiere es tener un producto libre de microorganismos para prolongar la vida útil de éste, la concentración con 0.12 g de ácido ascórbico es la que tiene un buen comportamiento para la conservación por un tiempo no mayor a 15 días de éste producto en todas sus presentaciones, manteniendo éstas en una temperatura de 4°C.

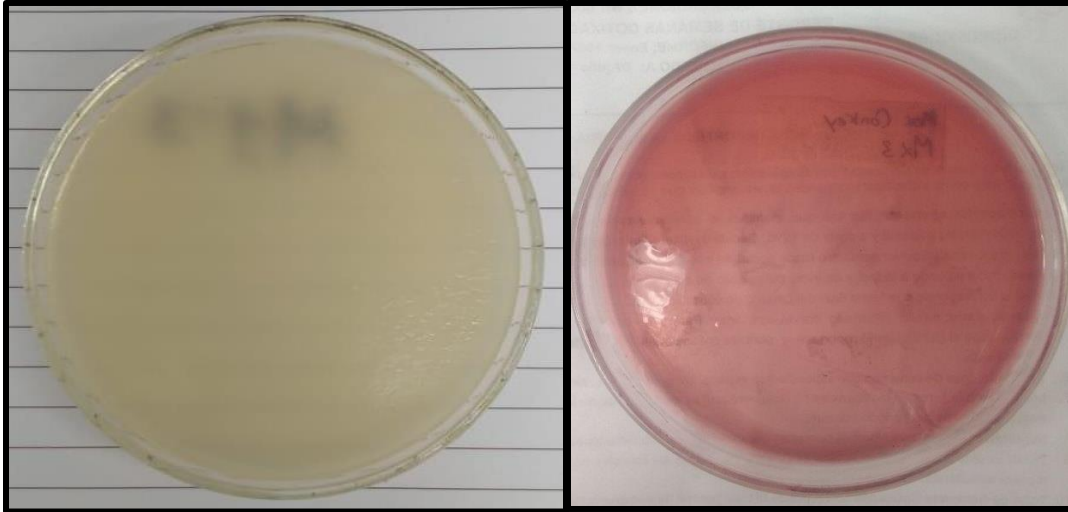


Figura 7. Imagen correspondiente a la parte 1 donde todas las muestras no presentaron UFC en ninguno de los medios.

Fuente: Autor, 2019

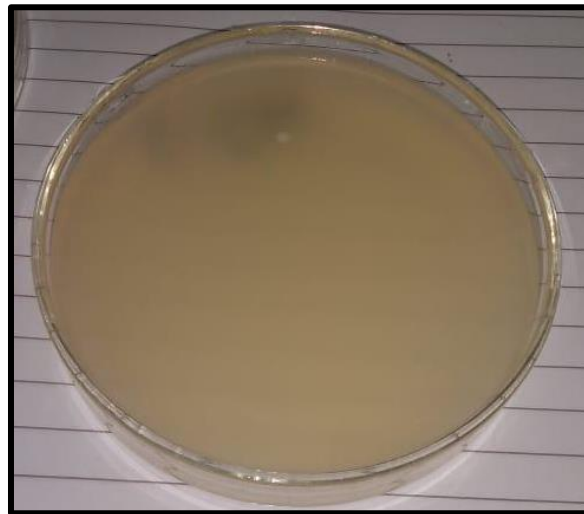


Figura 8. Imagen correspondiente a la parte 3 donde la muestra 6 presentó UFC en el medio nutritivo; éstas son cremosas blancas y de diferentes tamaños.

Fuente: Autor, 2019

5.3 RESULTADO ESTADÍSTICO

Utilizando estadística aplicada, se analizaron los datos obtenidos del muestreo con ácido ascórbico con ayuda de un ANOVA, teniendo en cuenta que la variable dependiente son las UFC y la independiente son los días en que se realizaron los

muestreos, se busca comprobar si el uso del conservante produce resultados que son estadísticamente significativos en el crecimiento microbiano, e interpretar si los datos difieren significativamente en cuanto a sus medias y varianzas.

Tabla 12. Resumen

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Sin conservante	9	62,04	6,89	5,84
Conservante 0,08g	9	20,00	2,22	5,51
Conservante 0,12g	9	0,00	0,00	0,00

Fuente: Autor, 2019

En la tabla 12, la sección de cuenta, indica el número de datos por cada uno de los grupos, estos corresponden a las muestras 1, 2 y 3 en los días 0, 8 y 15. La suma es el total de UFC por grupo obtenido después de realizar la fórmula establecida por la ISO 7218 del 2007 donde se expresan los resultados totales de UFC teniendo en cuenta el factor de dilución y las placas seleccionadas.

Tabla 13. ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	222,83	2	111,41	29,44	0,00	3,40
Dentro de los grupos	90,81	24	3,78			
Total	313,64	26				

Fuente: Autor, 2019

En la tabla 13, se muestra el resultado del procedimiento con los tres valores. Teniendo en cuenta que el valor numérico del resultado de los cálculos efectuados (f) es mayor al valor crítico para f (Fc), existe diferencia estadísticamente significativa entre el crecimiento de UFC con los tres diferentes grupos aplicados (Sin conservante, conservante 0,08g y conservante 0,12g).

Como interpretación, se tiene que existen diferencias significativas de los tres grupos [F(2,24)=29,44, p<0] y esto se atribuye a las diferentes cantidades de UFC obtenidas

donde, el grupo al que no se le agregó conservante tiene el promedio más alto en comparación a los grupos donde se agregó una concentración de ácido ascórbico.

5.4 REQUISITOS PARA LA OBTENCIÓN DE PERMISOS SANITARIOS

Para expedir el registro, permiso o notificación sanitaria, los requisitos son los siguientes:

- Formulario debidamente diligenciado y firmado.
- Ficha técnica del producto (concepto sanitario tarifa 4051).
- Expedido por el INVIMA ley 1122 de 2007.
- Certificado de existencia y representación legal y/o registro mercantil.
- Recibo de pago (original) tarifa cód. 4046.

Para la elaboración de la ficha técnica, es imprescindible datos como:

- Nombre del producto: Indicar la verdadera naturaleza del producto siendo específico acorde a lo establecido en la resolución 510905
- Composición: Cualitativa o cuantitativa (Enriquecidos, fortificados, bebidas energizantes, en 100 gramos de producto).
- Otros: proceso de elaboración, presentaciones comerciales, material de empaque, tipo de conservación, vida útil y firma.⁵

6. DISCUSIÓN

El presente estudio describe la calidad microbiológica de un producto a base de mango sin conservante y con ácido ascórbico como conservante, con el fin de analizar las diferencias y determinar si con el conservante es más saludable y prolonga la vida del producto evitando que éste presente riesgo al consumidor en un determinado tiempo. Se proponen dos concentraciones siendo 0,12 g la máxima permitida en el producto y 0,08g la concentración propuesta. El ácido ascórbico se considera bioconservante porque es más saludable, protege el alimento por medio de compuestos de fuerte estructuración y tiene menos duración que los químicos, no tienen efectos negativos en tanto no se consuman en exceso.¹⁸

Según B.B Tuero y colaboradores en el 2015, el ácido ascórbico o vitamina C, es hidrosoluble, participando en reacciones de oxidación celular haciendo de ésta, un componente antioxidante, ayuda a la formación de colágeno, colabora con la conversión del ácido fólico y la absorción del hierro en el intestino, participa en reacciones neurológicas, en el sistema leucocitario y previene infecciones respiratorias. Sin embargo, el hombre es dependiente de fuentes exógenas para obtener esta vitamina, porque carecen de la última enzima en la biosíntesis del ácido ascórbico a partir de la glucosa.¹⁹ Teniendo en cuenta estos hallazgos, es importante resaltar que, con la adición de esta vitamina esencial al producto, no sólo se obtienen beneficios comerciales, también muchos beneficios saludables para el consumidor.

Dentro de los resultados de este estudio, se identificó que, con la adición de este conservante, se presenta una disminución estadísticamente significativa del crecimiento microbiano y a su vez, se obtiene un periodo alargado de vida útil del producto, datos que concuerdan con investigaciones publicadas anteriormente.¹¹

Aunque el ácido ascórbico y los sorbatos, tienen popularidad como antimicrobicos, esta investigación ha demostrado que también presentan una amplia actividad antimicrobiana que se extiende a muchas especies bacterianas que participan en la alteración de frutas, verduras, hortalizas, carnes e incluso pescados frescos.³⁰ Los resultados muestran que la actividad microbiana de este conservante efectivamente es

amplia, aspecto que se puede evidenciar en este estudio ya que evita que coliformes y mesófilos aerobios puedan crecer en el producto como sucedió antes de agregar las concentraciones de ácido ascórbico.

En el estudio realizado por Fuente S. y Barboza C. en el 2010, determinaron que, en productos a base de frutas y hortalizas empacadas, la forma más común de contaminación cruzada es durante la manipulación del producto, seguido por el proceso de empaque y por último en el proceso de sellado, puesto que, se permite el ingreso de microorganismos encontrados en el ambiente.³¹

Este estudio se puede relacionar con la presencia de microorganismos encontrados desde el primer muestreo realizado, teniendo en cuenta que las muestras no estuvieron a una temperatura adecuada ni se evidencian métodos para evitar patógenos del ambiente, siendo un error que puede corregirse para evitar al máximo la contaminación del producto, implementando las normas de Buenas Prácticas de Manufactura e Invima.

Los resultados de la calidad microbiológica durante el estudio, permite definir que no sólo hubo contaminación por el medio ambiente, también pueden verse implicados factores como:

- **Materia prima:** La utilización de materias primas altamente contaminadas, en la mayoría de los casos, origina un producto final contaminado. El grado de contaminación de las materias primas depende principalmente del origen; así aquellas que son de origen sintético contienen relativamente pocos microorganismos, mientras que las sustancias naturales están frecuentemente muy contaminadas. Incluso el agua utilizada en la fabricación del producto es posiblemente el origen más frecuente de contaminación.
- **Equipo de fabricación:** El producto se puede contaminar fácilmente por microorganismos que se acumulan como consecuencia de una limpieza deficiente o inadecuada de los equipos e instalaciones donde se procesa el mango.

- Personal: Los procesos realizados durante la fabricación y envasado del producto requieren la intervención de operarios, lo que supone un riesgo microbiológico importante debido a que los operarios deben estar debidamente capacitados en hábitos de higiene personal y manipulación de alimentos, dándole prioridad a las Buenas Prácticas de Manufactura.³¹

7. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio describen la calidad microbiológica antes y después de agregar ácido ascórbico, obteniendo un resultado positivo del conservante, ya que no afecta la salud de los consumidores, y que, por el contrario, aporta vitamina C por ser una vitamina esencial y dependiente de exógenos para ser metabolizada en el cuerpo humano.

El conservante estudiado ejerce una máxima limitación del recuento de UFC del producto. Es importante realizar un control de calidad interno para garantizar que este método es el adecuado ó incluso, si se necesita de otro método de conservación para complementar la inocuidad. Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se ha demostrado que el ácido ascórbico utilizado en una concentración guiada por el Invima, carece de toxicidad y efectos secundarios, por lo que se recomienda que la empresa del estudio, fabrique el producto adicionando como único conservante el ácido ascórbico a una concentración de 0,12g, dado su óptimo funcionamiento.

Por otro lado, es indispensable resaltar que con el ANOVA se pudo comprobar estadísticamente que el ácido ascórbico aporta una mejoría significativa en el producto, evitando crecimiento de microorganismos que evidencian contaminación y que son patógenos produciendo un riesgo en el consumidor. Para esto, también fue indispensable seguir cada norma establecida por la NTC, el Codex Alimentarius y el INVIMA, que son guías prácticas e importantes en la elaboración de este tipo de productos e investigaciones.

Finalmente fue posible clasificar el producto según el Codex Alimentarius y de esta forma, conocer cuál es el proceso que se requiere para adquirir el permiso sanitario.

8. SUGERENCIAS

Un punto muy importante a resaltar, es la realización del análisis físico-químico, puesto que de esta forma se pueden determinar factores importantes, tales como: madurez de la fruta, acidez, valor nutricional, y lo más importante, asegurar que efectivamente este producto es apto para consumir.

Por otro lado, es imprescindible realizar una visita a la planta donde procesan el producto para determinar márgenes de error al momento de su producción, esto debido a que es la parte más importante para garantizar que el producto es libre de patógenos, determinando que el agua y la materia prima es inocua, que la manipulación de los alimentos la hacen con manos limpias y usan las barreras de bioseguridad adecuadas.

En cuanto a la empresa, es importante verificar el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura, mediante auditorías internas y documentar todo el proceso de fabricación en la empresa, proceder con la elaboración de fichas técnicas de cada referencia del producto para tener de manera detallada toda la información al consumidor y garantizar confianza y seguridad en el manejo y consumo, siguiendo las Normas Técnicas Colombianas y sus especificaciones de los reglamentos técnicos.

Realizar controles microbiológicos al producto durante el proceso y al terminar, obteniendo controles microbiológicos internos de ambientes y superficies, e higiene del personal.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INVIMA. Resoluciones en alimentos. [Internet]. 1991. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: https://www.invima.gov.co/resoluciones-en-alimentos/resolucion_4125_1991.pdf/download.html
2. Díaz Sobac R. Inocuidad microbiológica de fruta frescas y mínimamente procesadas. [Internet]. 2009. [Citado en septiembre 04 2018]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/11358129909487594?needAccess=true>
3. Rodríguez Saucedo E. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. [Internet]. 2011. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/461/46116742014.pdf>
4. CODEX ALIMENTARIUS. [Internet]. 1991. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: https://books.google.com.co/books?id=FcmmpqhgA80C&pg=PA137&lpg=PA137&dq=codex+alimentarius+conservantes&source=bl&ots=WIRS97cYwV&sig=_PNb=onepage&q=codex%20alimentarius%20conservantes&f.html
5. INVIMA. Decreto 3075 de 1997. [Internet]. 2013. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/images/pdf/normatividad/alimentos/decretos/resoluciones/2013/3075.pdf>
6. INVIMA. Resolución 2674 de 2013. [Internet]. 2013. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/images/pdf/normatividad/alimentos/resoluciones/resoluciones/2013/2674.pdf>

7. INVIMA. Resolución 7992 de 1991. [Internet]. 2013. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en:
<https://www.invima.gov.co/images/pdf/normatividad/alimentos/resoluciones/resoluciones/2013/7992.pdf>
8. INVIMA. Resolución 5109 de 2005. [Internet]. 2013. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en:
<https://www.invima.gov.co/images/pdf/normatividad/alimentos/resoluciones/resoluciones/2013/5109.pdf>
9. OMS. Inocuidad de los alimentos. [Internet]. 2018. [Citado en marzo 30 2018]. Disponible en: http://www.who.int/topics/food_safety/es/
10. CIATEJ. Introducción a la tecnología del mango [Internet]. 2014. [Citado en abril 2019]. Disponible en:
<https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/388/1/Libro%20Mango.pdf>
11. Suarez Diéguez T. La importancia de los aditivos alimentarios en los alimentos industrializados. [Internet]. 2016. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en:
<https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icsa/n4/e5.html>
12. Comportamiento de la vitamina C en un producto a base de lactosuero y pulpa de mango variedad Magdalena River (Mangífera Indica /.) durante el secado por aspersion [Internet]. 2016. [Citado en abril 2019]. Disponible en:
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182016000200008&script=sci_arttext&tlng=e
13. Desarrollo de pulpa de mango común tratada enzimáticamente y adicionada con calcio, oligofructosa y vitamina C. [Internet]. 2017. [Citado en abril 2019]. Disponible en:
<http://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/123456789/457/684-1282-1-PB.pdf?sequence=1>
14. Rodríguez Saucedo E. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. [Internet]. 2011. [Citado en marzo 30 2018]. Disponible en: <http://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-19articulosPDF/14->

USO%20DE%20AGENTES%20ANTIMICROBIANOS%20%20NATURALES%20EN%20OLA%20%20CONSERVACION_Elvia%20Rguez.pdf.

15. Opciones de procesamiento de mango para los pequeños productores del municipio de Comayagua [Internet]. 2014. [Citado en abril 2019]. Disponible en: <https://tzibalnaah.unah.edu.hn/handle/123456789/6456>

16. Conservación de pulpa de mango concentrada envasada asépticamente en bolsas [Internet]. 2018. [Citado en abril 2019]. Disponible en: <http://revcitecal.iiiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/505/474>

17. Desarrollo de pulpa de mango común tratada enzimáticamente y adicionada con calcio, oligofructosa y vitamina C. [Internet]. 2017. [Citado en abril 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/123456789/457/684-1282-1-PB.pdf?sequence=1>

18. Florez Estrada Julio C. Evaluación de un fertilizante foliar orgánico y uno químico aplicados en dos etapas de desarrollo en la producción de mago. [Internet]. 2014. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <http://biblio3.url.edu.gt/Tesario/2014/06/02/Flores-Julio.pdf>

19. Desarrollo de nuevos bioconservantes aplicables a productos lácteos [Internet]. 2015. [Citado en abril 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Pilar_Garcia4/publication/39402607_Desarrollo_de_nuevos_bioconservantes_aplicables_a_productos_lacteos/links/02e7e5358bca896137000000/Desarrollo-de-nuevos-bioconservantes-aplicables-a-productos-lacteos.pdf

20. Corporación Colombiana de Investigaciones Agropecuarias, Corpoica. Modelo tecnológico para el cultivo de mano en el valle alto magdalena en el departamento del Tolima. [Internet]. 2014. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_264_MP_Mango.pdf

21. DANE. El cultivo del mango, mangifera indica, y su comportamiento frente a las condiciones ambientales y de manejo. [Internet]. 2015. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en:

https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos31_ene_2015.pdf

22. Arias Maria Laura y compañía. Calidad microbiológica y valor nutricional de frutas frescas que se vende en puestos callejeros. [Internet]. 2013. [Citado en septiembre 04 2018]. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v13n1-2/art4.pdf>

23. Rengifo Carmen E. Elaboración de un producto con alta concentración de azúcar a base de mango. [Internet]. 2019. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/1674/1/2009-41T-20.pdf>

24. INVIMA. Resoluciones en alimentos. [Internet]. 1991. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: https://www.invima.gov.co/resoluciones-en-alimentos/resolucion_4125_1991.pdf/download.html

25. Chemical Safety Facts. Conservadores. [Internet]. 2018. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <https://www.chemicalsafetyfacts.org/es/conservantes>

26. INVIMA. Conservación de alimentos. [Internet]. 2017. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: https://www.invima.gov.co/images/pdf/informate/Plantas_Beneficio/memorias/Manejo-Conservacion-de-frio-a-lo-largo-de-la-cadena-y-otras-tecnicas-de-conservacion.pdf

27. MinSalud. Resolución 719 de 2015 [Internet]. 2015. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-0719-de-2015.pdf>

28. International Standard Organization ISO 4833-1:2013. [Internet]. [Citado en septiembre 04 2018]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_II_I.pdf

29. International Standard Organization ISO 4833-2:2013. [Internet]. [Citado en septiembre 04 2018]. Disponible en: https://www.invima.gov.co/resoluciones-en-alimentos/resolucion_4126_1991.pdf/download.html
30. Comportamiento de la vitamina C en un producto a base de lactosuero y pulpa de mango variedad Magdalena River (Mangífera Indica /.) durante el secado por aspersion [Internet]. 2016. [Citado en abril 2019]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182016000200008&script=sci_arttext&tlng=e
31. Ingeniería Agrícola. Empaque para vegetales y frutas frescas [Internet]. 2002. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/empaques.htm>
32. Marsili Nilda R. Desarrollo de nuevos métodos analíticos basados en técnicas espectroscópicas. Resolución de problemas relacionados con aditivos alimentarios y muestras ambientales. [Internet]. 2006. [Citado en septiembre 05 2018]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/handle/11185/49>
33. Yupanqui Cristobal. [Internet]. 2008. Influencia de la sacarosa y glucosa en la deshidratación osmótica del mango (Manguifera indica L.) Tesis Facultad de Ingeniera En Ciencias Agrarias Especialidad de Industrias Alimentarias UNCP. Satipo – Perú.
34. Desarrollo de pulpa de mango común tratada enzimáticamente y adicionada con calcio, oligofructosa y vitamina C. [Internet]. 2017. [Citado en abril 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/123456789/457/684-1282-1-PB.pdf?sequence=1>

10. ANEXOS

PROTOCOLO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EVALUACIÓN DE CONSERVANTES

Se evaluarán 3 productos a dos concentraciones de Acido L-ascorbico (0,12g, 0,08g)

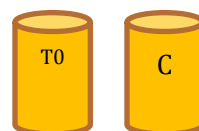
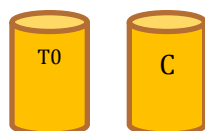
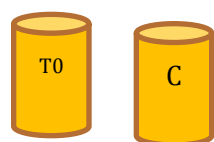
- Producto 1: Mango + Sal+ Pajin (mezcla de chile, limon)
- Producto 2: Mango + aderezo de maracuyá
- Producto 3: Mango + aderezo de frutos rojos

ENSAYO 1: CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO L-ASCÓRBICO 0,12g

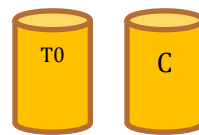
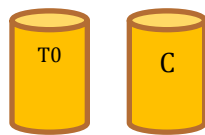
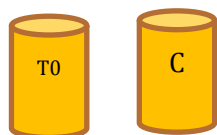
PRODUCTO 1

PRODUCTO 2

PRODUCTO 3



Muestras para
Análisis
microbiológico al
T0, T8 Y T15



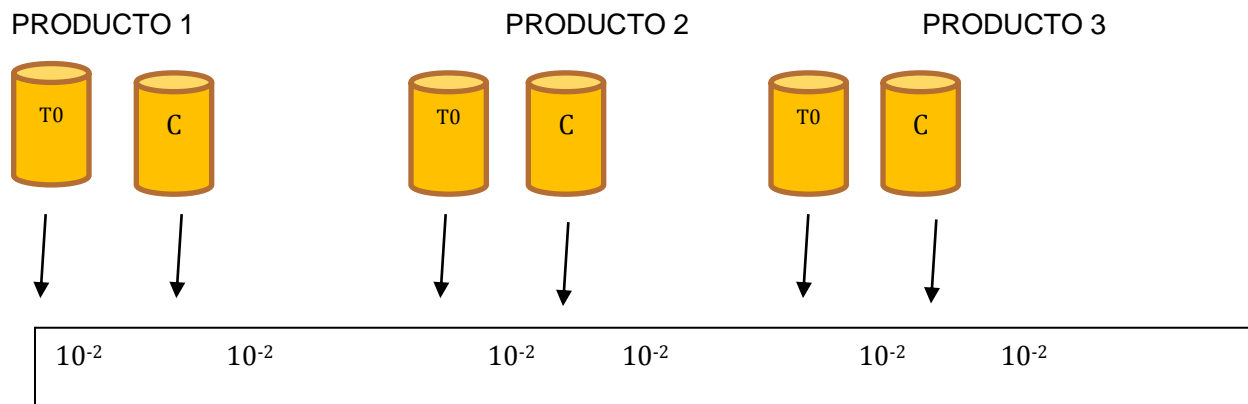
Muestras para
Análisis
FISICOQUIMICO
Y
ORGANOLEPTIC
al T0 T8 Y T15

C: Control

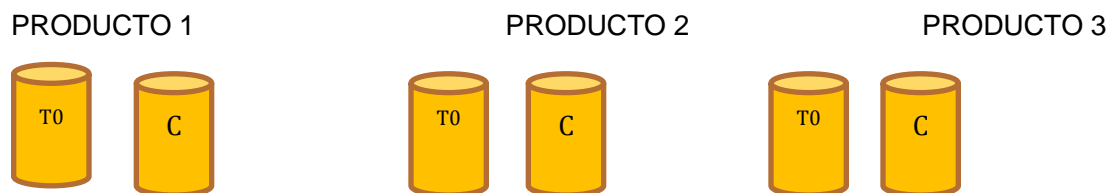
Preparar una solución de ácido L ascórbico al 0,12% y agregar 5 ml al producto por goteo.

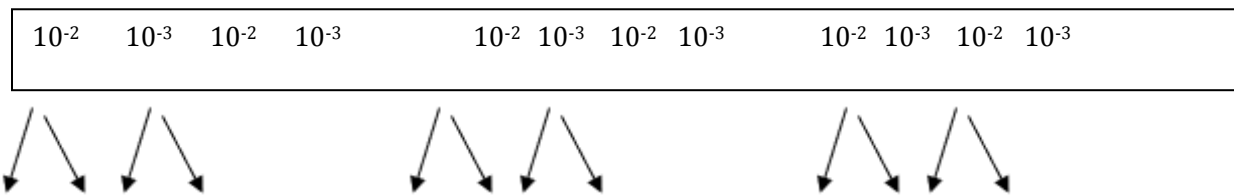
Se realizará el control microbiológico al tiempo cero (T0), 8 DIAS Y 15 DIAS. Realizar diluciones seriadas hasta 10^{-2} y 10^{-3} y sembrar en profundidad para mesófilos aerobios en agar Plate Count. Realizar siembra en superficie en agar Mac Conkey para identificación de Coliformes totales y *E. coli*. Incubar Todas las cajas a 35° C POR 24-48 HRS

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA COLIFORMES TOTALES



ANALISIS MICROBIOLÓGICO PARA MESÓFILOS AEROBIOS.



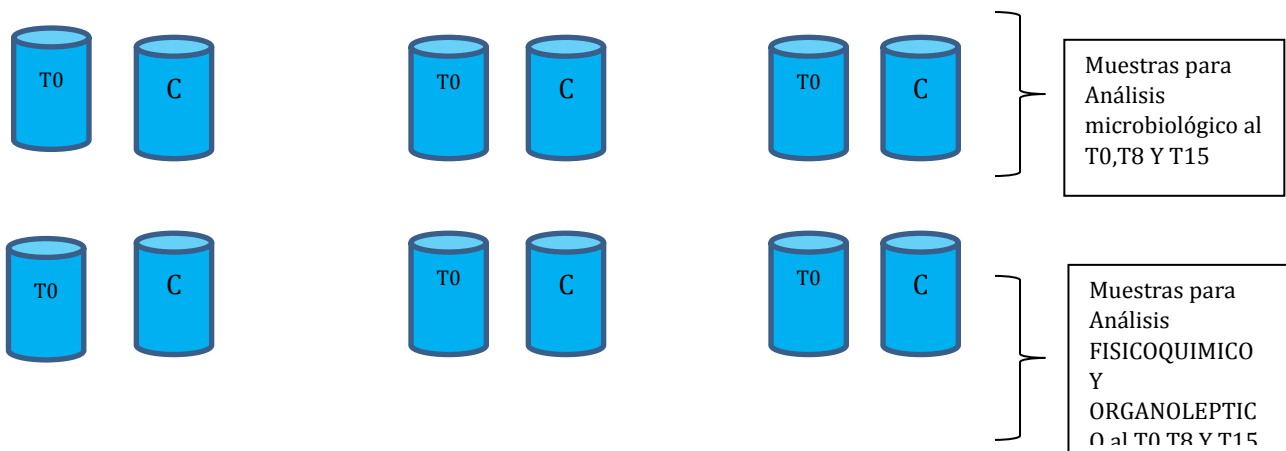


ENSAYO 2 : CONCENTRACION DE ACIDO L-ASCÓRBICO AL 0,08%

PRODUCTO 1

PRODUCTO 2

PRODUCTO 3



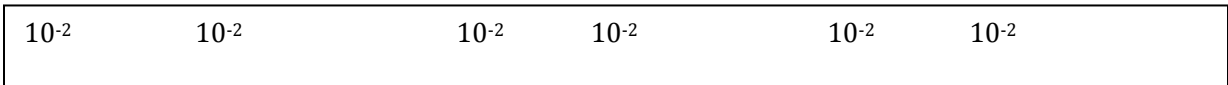
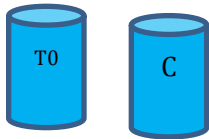
C: Control

Preparar una solución de ácido L ascórbico con 0,08g y agregar 5 ml al producto por goteo.

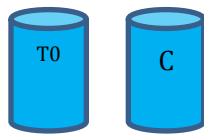
Se realizará el control, microbiológico al tiempo cero (T0), 8 DIAS Y 15 DIAS. Realizar diluciones seriadas hasta 10^{-2} y 10^{-3} y sembrar en profundidad para mesófilos aerobios en agar Plate Count. Realizar siembra en superficie en agar Mac Conkey para identificación de Coliformes totales y *E. coli*. Incubar Todas las cajas a 35° C POR 24-48 HRS.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA COLIFORMES TOTALES

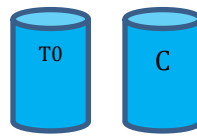
PRODUCTO 1



PRODUCTO 2

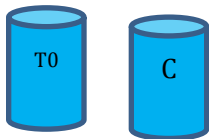


PRODUCTO 3

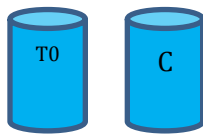


ANALISIS MICROBIOLÓGICO PARA MESOFILOS AEROBIOS.

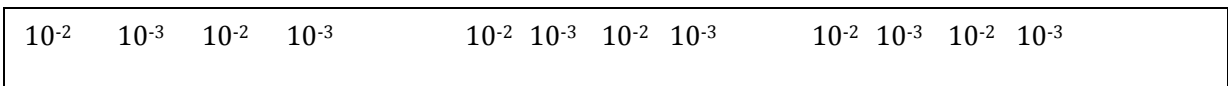
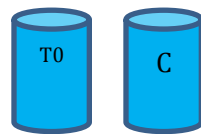
PRODUCTO 1



PRODUCTO 2



PRODUCTO 3



TABLAS DE RESULTADOS GENERALES

Tabla 15.

Primer muestreo sin conservante natural

TIEMPO: 0 DÍAS	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴
	4 UFC 2 UFC	9 UFC 6 UFC	10 UFC 5 UFC	5 UFC 2 UFC	7 UFC 4 UFC	11 UFC 7UFC
TIEMPO: 8 DÍAS	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴
	15 UFC 9 UFC	11 UFC 8 UFC	17UFC 10UFC	8 UFC 5 UFC	9 UFC 6 UFC	15 UFC 8 UFC

Tabla 16.

Segundo muestreo sin conservante natural

TIEMPO: 0 DÍAS	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Crecimiento, colonias rosa	Ausencia	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Ausencia
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴
	12 UFC 7 UFC	11 UFC 8 UFC	9 UFC 6 UFC	5 UFC 2 UFC	8 UFC 5 UFC	10 UFC 4 UFC
TIEMPO: 8 DÍAS	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Ausencia
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴
	16 UFC 9 UFC	15 UFC 7 UFC	13 UFC 6 UFC	15 UFC 8 UFC	12 UFC 5 UFC	16 UFC 9 UFC
TIEMPO: 15 DÍAS	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	10 ⁻³ 10 ⁻⁴

	16 UFC 11 UFC	17 UFC 12 UFC	15 UFC 13UFC	19 UFC16UFC	18 UFC15 UFC	20 UFC 17UFC
--	---------------	---------------	--------------	-------------	--------------	--------------

Tabla 17.

Tercer muestreo sin conservante natural

<u>TIEMPO: 0</u> <u>DÍAS</u>	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 11 UFC 7 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 9 UFC 6 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 5 UFC 2 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 4 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 8 UFC 6 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 9 UFC 4 UFC
<u>TIEMPO: 8</u> <u>DÍAS</u>	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 15 UFC 10UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 16 UFC 9 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 11 UFC 6 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 UFC 4 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 12 UFC 6 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 13 UFC 7 UFC
<u>TIEMPO: 15</u> <u>DÍAS</u>	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Ausencia	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa	Crecimiento, colonias rosa
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 16 UFC 10 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 16 UFC 12 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 14 UFC 10 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 12 UFC 9 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 15 UFC 10 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 18 UFC 15 UFC

Tabla 18.

Muestreo con conservante natural

<u>TIEMPO: 0</u> <u>DÍAS</u>	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
Mac Conkey	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Nutritivo	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC

<u>TIEMPO: 8</u> <u>DÍAS</u>	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
<i>Mac Conkey</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Nutritivo</i>	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 1 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 2 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 5 UFC 3 UFC
<u>TIEMPO: 15</u> <u>DÍAS</u>	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
<i>Mac Conkey</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Nutritivo</i>	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 0 UFC 0 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 4 UFC 2 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 6 UFC 2 UFC	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 7 UFC 4 UFC