

**Comparación del efecto antimicrobiano del
propóleo y el benzoato de sodio en mermelada
de mango de la Escuela Agrícola
Panamericana**

Ana Miledys Gerónimo Maríñez

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2009

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Comparación del efecto antimicrobiano del
propóleo y el benzoato de sodio en mermelada
de mango de la Escuela Agrícola
Panamericana**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Ana Miledys Gerónimo Maríñez

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2009

Comparación del efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango de la Escuela Agrícola Panamericana

Presentado por:

Ana Miledys Gerónimo Maríñez

Aprobado:

Blanca C. Valladares, M.Sc.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Carrera Agroindustria Alimentaria

Edgar Edmundo Ugarte, M.Sc.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

RESUMEN

Gerónimo, A. 2009. Comparación del efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango de la Escuela Agrícola Panamericana. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. E.A.P. Zamorano, Honduras. 24p.

El propóleo es una sustancia producida por las abejas melíferas a partir de resinas obtenidas de los árboles. Los componentes principales del propóleo son los flavonoides. Las investigaciones han demostrado que el propóleo tiene propiedades antibacterianas y antifúngicas. El objetivo de este estudio fue comparar el efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango de la Escuela Agrícola Panamericana. El diseño experimental fue Bloques Completamente al Azar (BCA) con medidas repetidas en el tiempo en los días 0, 7 y 15, con cuatro tratamientos: mermelada de mango con benzoato de sodio, mermelada de mango con propóleo al 11%, mermelada de mango con propóleo al 20% y mermelada de mango sin antimicrobiano (testigo). Se realizó un análisis sensorial con 12 panelistas para analizar cinco variables: color, olor, dulzura, sabor residual y aceptación general. Se realizaron evaluaciones de pH, Aw, color en la escala L*a*b*, °Brix y conteo de mohos y levaduras. Al analizar los resultados de las evaluaciones sensoriales los panelistas prefirieron el tratamiento con Benzoato de sodio y el tratamiento con 11% de propóleo. Al analizar los resultados del estudio microbiológico se encontró que no existe diferencia estadística significativa entre los cuatro tratamientos para el crecimiento de mohos y levaduras.

Palabras clave: flavonoides, melíferas, mohos y levaduras.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3. MATERIALES Y MÉTODOS	6
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
5. CONCLUSIONES	20
6. RECOMENDACIONES	21
7. LITERATURA CITADA	22
8. ANEXOS.....	23

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadro

1. Formulación mermelada de mango.....	7
2. Descripción de los tratamientos.....	11
3. Análisis sensorial, variable olor.....	12
4. Análisis sensorial, variable color.....	12
5. Análisis sensorial, variable dulzura.....	13
6. Análisis sensorial, variable sabor residual.....	13
7. Análisis sensorial, variable aceptación general.....	13
8. Análisis de color, variable L*.....	14
9. Análisis de color, variable a*.....	14
10. Análisis de color, variable b*.....	15
11. Análisis de pH.....	15
12. Análisis de °Brix*.....	15
13. Análisis de aw.....	16
14. Correlaciones de análisis sensorial y análisis físicos.....	16
15. Análisis microbiológico mermelada de mango antes y después de ser inoculada.....	17
16. Pendientes y Valor D.....	18
17. Análisis costo variable de 1250 g de mermelada de mango con Benzoato de sodio..	19
18. Análisis costo variable de 1250 g de mermelada de mango con Propóleo.....	19

Figura

1. Flujo de Proceso de mermeladas de mango.....	8
2. Pendiente de crecimiento microbiano a través del tiempo.....	18

Anexo

1. Formato de evaluación sensorial.....	23
---	----

1. INTRODUCCIÓN

El propóleo posee una gran variedad de propiedades medicinales, entre las cuales se pueden mencionar su capacidad cicatrizante, anestésica, antiinflamatoria, antibacteriana antimicótica y antiviral, vasoprotectora y antitumoral. El propóleo también es antioxidante. Se pueden distinguir innumerables usos para su aplicación en variadas industrias: farmacéutica (tanto en medicina humana como medicina veterinaria), agrícola y en la industria alimentaria (Hernández *et. al.* 2005).

En esta última, puede actuar como protector en material de embalaje de alimento. Permite aumentar la vida útil de productos marinos, permitiendo estabilizar estos alimentos en forma congelada, de la grasa de equino y porcino; así como para mejorar la calidad del ron y otras bebidas alcohólicas; en conservación y tratamientos post-cosecha de frutas. La calidad de los propóleos está directamente relacionada con los métodos de recolección, almacenamiento y conservación (Hernández *et. al.* 2005).

El interés en esta investigación radica en conocer las propiedades antimicrobianas del propóleo en mermelada de mango, realizar una comparación con el benzoato de sodio para así determinar si el propóleo podría sustituirlo en el procesamiento de frutas, lo que daría más valor al producto siendo presentado como natural y con ciertas bondades medicinales proporcionadas por el propóleo.

Mediante este estudio también se espera determinar las concentraciones de propóleo que funcionen mejor como agente antimicrobiano, lo que puede dar lugar a estudios posteriores.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 General

Comparar el efecto antimicrobiano del propóleo y el benzoato de sodio en mermelada de mango procesada en la Escuela Agrícola Panamericana.

1.1.2 Específicos

- Cuantificar el crecimiento de mohos y levaduras en mermeladas con propóleo y mermeladas con benzoato de sodio, una vez abierto el producto durante 15 días.
- Comparar la aceptación de la mermelada con benzoato de sodio y las mermeladas con propóleo.
- Estimar la diferencia de costo variable entre la mermelada con benzoato de sodio y la mermelada con propóleo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 DEFINICIÓN DE PROPÓLEO

Propóleo es el producto originado de sustancias resinosas, gomosas y balsámicas, colectadas por abejas melíferas, de brotes y exudaciones de corteza, hojas y otras partes de las plantas, a las cuales las abejas agregan secreciones salivales y cera para la elaboración final del propóleo. El propóleo se compone de cera de abejas melíferas, resinas, productos balsámicos, aceites esenciales, polen y micro elementos (FAO 2003).

Según el código alimentario Argentino del año 2008 se describen las características organolépticas del propóleo de la siguiente manera:

- Aroma característico de este producto: resinoso o balsámico, según su origen botánico y/o geográfico.
- Color: Variable, según su origen botánico y/o geográfico y su concentración.
- Sabor: Variable, de suave a fuerte, amargo y picante.

2.2 COMPOSICIÓN DEL PROPÓLEO

La composición química del propóleo es bastante compleja y depende básicamente de las fuentes vegetales y de la función específica dentro de la colonia. Se compone de un 50-55% de resinas y bálsamos, 30- 40% de cera de abeja, 5-10% de aceites esenciales o volátiles, 5% de polen y 5% de materiales diversos (orgánicos y minerales) (Bedascarrasbure 2005).

En términos de acción farmacológica, los principales constituyentes del propóleo son los compuestos fenólicos. Estos se caracterizan por la presencia de al menos un grupo oxhidrilo unido directamente a un anillo aromático. En la naturaleza podemos encontrar diversos tipos de compuestos fenólicos entre los que se pueden citar los ácidos fenólicos (benzoico, cafeíco, ferúlico y cinámico) y los flavonoides (Bedascarrasbure 2005).

2.3 USOS DEL PROPÓLEO

Este producto de la colmena posee una gran variedad de usos industriales, desde la industria alimentaria, la cosmética, hasta la farmacéutica o química. Existen antecedentes del uso del propóleo en suplementos dietarios y en diferentes tipos de alimentos (FAO 2003).

La propiedad antibacteriana fue una de las primeras propiedades constatadas. Múltiples estudios bacteriológicos *in vivo* e *in vitro* confirmaron su acción bacteriostática y bactericida. Los principales responsables de esta propiedad son los flavonoides galangina y pinocembrina y derivados de los ácidos benzoico, ferúlico y cafeíco (Bedascarrasbure 2005).

Diversos trabajos han demostrado que el propóleo es una fuente natural de antioxidantes, que protegen a los aceites y lipoproteínas séricas de la oxidación. Sus propiedades antioxidantes se deben a su actividad anti radical particularmente, frente a radicales alcoxi y en menor grado, a superóxido y al efecto inhibitor sobre el ión cuproso, iniciador de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (Salamanca *et. al.* 2007).

En medicina Veterinaria se utiliza para cicatrizar heridas y en el tratamiento de diversas patologías tales como, diarreas, abscesos, quemaduras, dermatosis, mastitis y también para mejorar la ganancia en peso de terneros lactantes (Lozina 2004).

2.4 DEFINICIÓN DE MERMELADA

Las mermeladas son una mezcla de fruta y azúcar que se presentan en forma semisólida. La mezcla se hace en caliente con adición de pectina y en algunos casos se agrega ácido para ajustar el pH en el cual se forma el gel. Se pueden elaborar mermeladas a partir de una amplia variedad de frutas, pero se prefieren aquellas que presentan un buen balance entre azúcar y acidez, tales como: manzana, naranja, durazno, piña, mango, fresa, moras, guayaba, etc. (FAO 2006).

La mermelada debe cumplir con las siguientes especificaciones: °Brix: 60-65, pH: 3.0-3.5, consistencia: gel firme al volcar el envase, pero suave al untar y un color: café rojizo. No se debe usar color artificial. Para un mejor control del producto deje muestras almacenadas por varios meses, para evaluar la vida útil. La presencia de abombamiento en las tapaderas de los frascos, indica que el producto se ha descompuesto, y que no debe consumirse (FAO 2006).

La preservación de mermeladas de fruta en general, de jaleas y de mermeladas de frutas cítricas tiene relación con su alto contenido de azúcar (entre 68 y 72%) y con la acidez natural de la fruta, que previene el desarrollo microbiológico. Su consistencia depende del contenido de azúcar y de la formación del gel de pectina. La solidez de este gel está determinada por la cantidad de pectina que contiene y por su acidez, conocida como pH. En consecuencia, una buena mermelada es un producto complejo, que requiere de un buen balance entre el nivel de azúcar, la cantidad de pectina y la acidez (FAO 1998)

2.5 CRECIMIENTO DE MOHOS EN MEREMELADAS

Según Bibek (2004) los mohos son importantes en alimentos porque ellos pueden crecer en condiciones las que las bacterias no pueden hacerlo, como es un pH bajo, baja aw y

altas presiones osmóticas. Muchos tipos de mohos son encontrados en alimentos. Muchos de ellos producen micotoxinas y han sido implicados en intoxicaciones de tipo alimentaria. Finalmente muchos son usados para el procesamiento de aditivos y enzimas. Algunos de los mohos más comunes encontrados en alimentos son los siguientes: *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

El *Aspergillus niger* es un hongo que se encuentra en el grupo de los aspergilos negros, el cual se clasifica dentro de la familia moniliaceae, orden moniliales, clase hyphomicetes, filum deuteromicota. Es importante conocer las características del grupo de *aspergillus niger* para su identificación, las cuales son: cabezas conidiales de tonos negros a negro grisáceo, negro café, negro púrpura o negro carbón, son globosas, redondas o divididas formando columnas de cadenas de conidios irregulares o bien definidas. Los conidióforos son de color hialino a café, típicamente lisos o en pocas especies ligeramente granulares, de paredes robustas, quebradizas, dividiéndose longitudinalmente al ser trituradas (Sáez *et. al.* 2002).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

La extracción de la tintura de propóleo se realizó en la Planta de Procesamiento de Miel, el procesamiento de las mermeladas en la Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo (PAID), los análisis físicos y químicos en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ), el análisis sensorial en el Laboratorio para Análisis Sensoriales, la identificación de hongos en el Laboratorio de Biología, los análisis microbiológicos en el Laboratorio de Microbiología, todos éstos ubicados en la Escuela Agrícola Panamericana, ubicada en el Valle del Yeguaré, San Antonio de Oriente, km. 30 carretera a Danlí.

3.2 MATERIALES

3.2.1 Materia Prima

Propóleo
Alcohol al 95%
Pulpa de mango
Azúcar
Pectina
Ácido cítrico
Bisulfito de sodio
Benzoato de sodio

3.2.2 Utensilios

Gabacha
Espátula
Agua destilada
Agua de peptona
Beakers y frascos de 500 ml
Magnetos agitadores
Porta y cubre objetos
Placas petri
Azul de metileno

Barras de regar y probeta
 Pipetas y tubos de ensayo
 Bolsas estériles
 Etanol al 70%
 Erlen meyer de 250, 500 y 1000 ml,
 Medio de cultivo Potatoe Dextrose Agar (PDA)
 Papel toalla, papel madera y papel aluminio.

3.2.3 Equipo

Termómetro de bolsillo, Candy Thermometer®
 Refractómetro Sper Scientific 0-80° Brix
 Estufa eléctrica Whirlpool ®
 Balanza And FS- 15 K. Capacidad 15 lb.
 Autoclave
 Cámara Labconco purifier class II biosafety cabinet
 Stomacker Tul Instrument
 Microscopio
 Incubadora Fisher scientific
 Balanza analítica Ohaus Adventurer®
 Balanza analítica Mettler ® Modelo PM 200
 Potenciómetro digital
 Colorímetro Colorflex Hunter L*a*b®.
 Medidor de Actividad de Agua AQUALAB ®. Modelo 3TE.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Procesamiento de mermeladas de mango

La formulación utilizada para este estudio es la misma que se usa en la planta de procesamiento de frutas y vegetales de la Escuela Agrícola Panamericana (ver cuadro 1).

Cuadro 1. Formulación mermelada de mango

Ingredientes	Cantidad (g)
Mango	500
Azúcar	450
Pectina	2.83
Ácido cítrico	3.48
Agente antimicrobiano	0.5
Bisulfito de sodio	0.5

Los datos fueron estimados a partir de la formulación basada en el procesamiento de 30 kg y estimada para 500 g de mermelada. La misma formulación se usó para las cuatro mermeladas o tratamientos. La variación se encontró en el agente antimicrobiano, Propóleo al 11% (T4) y 20% (T2), benzoato de sodio (T1) y sin agente antimicrobiano (T3).

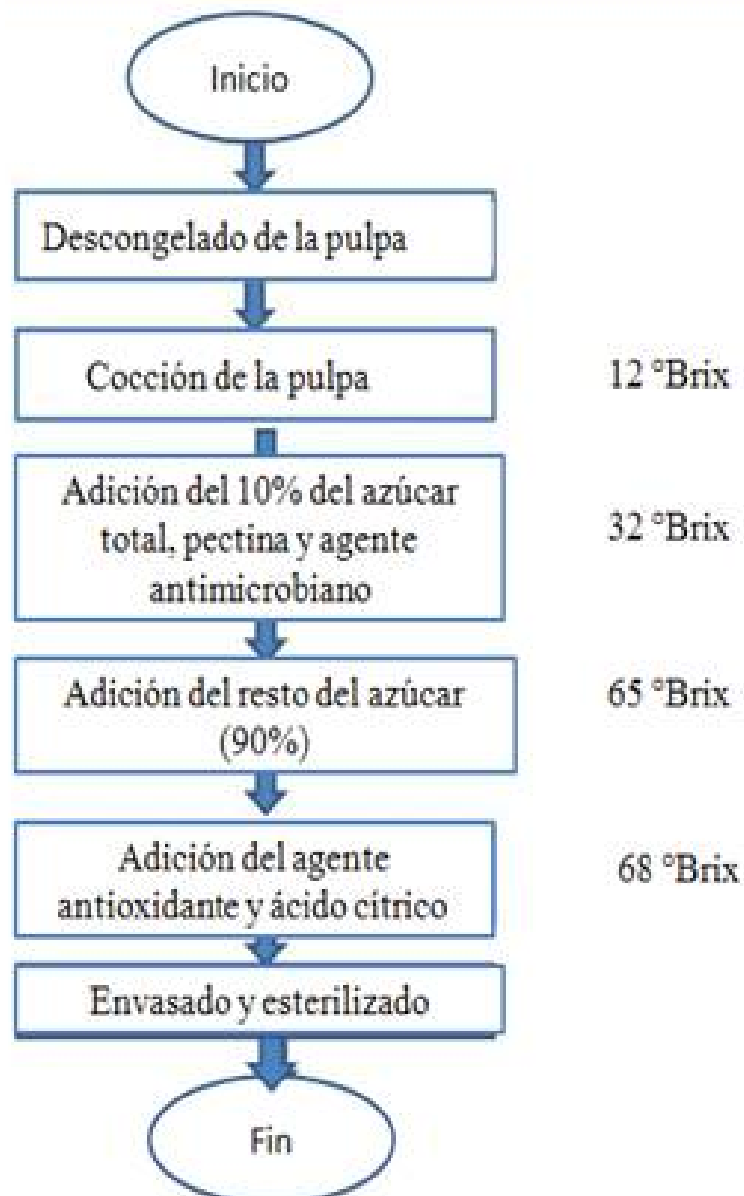


Figura 1. Flujo de Proceso de mermeladas de mango

Cada tratamiento se elaboró de acuerdo al flujo de la figura 1. Se mantuvo la temperatura de cocción entre 88-92°C y en constante agitación para que no se quemara la mezcla. Se

envasó la mezcla caliente en frascos de 200 gr y se llevó al autoclave durante 15 minutos a una temperatura de 110°C. Se le colocó a cada frasco sello de seguridad.

3.3.2 Extracción de tinturas de propóleo

Para la extracción de la tintura de propóleo al 11% de concentración se mezclaron 10 g de propóleo mecánicamente limpio, 24 ml de agua destilada y 56 ml de etanol al 95%. La mezcla se dejó en reposo, agitando una vez al día, durante siete días. Cumplido el período de los siete días se filtró.

Para la extracción de la tintura de propóleo al 20% de concentración se mezclaron 20 g de propóleo mecánicamente limpio, 24 ml de agua destilada y 56 ml de etanol al 95%. La mezcla se dejó en reposo, agitando una vez al día, durante siete días. Cumplido el período de los siete días se filtró.

3.3.3 Medición de °Brix

Este parámetro fue medido a lo largo de todo el proceso. Se tomó el dato final de producción de las mermeladas para ser analizado estadísticamente. Para este parámetro se utilizó un refractómetro Sper Scientific 0-80° Brix. Se encendió el aparato y se cubrió la hendidura de las muestras. Luego de tomar el dato se lavó con agua destilada entre cada muestra tomada. Se tomaron las lecturas de tres repeticiones para cada tratamiento.

3.3.4 Análisis de pH

El análisis de pH se realizó según el método AOAC 962.19. Los datos fueron tomados el día de elaboración de las mermeladas de mango. Se diluyeron 10 gr de la muestra en 100 ml de agua, posteriormente se analizó con el potenciómetro digital. Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento.

3.3.5 Análisis de color

La evaluación instrumental de color se realizó el día de elaboración de las mermeladas de mango utilizando un ColorFlex Hunter L*a*b (Modelo 45/0) según ASTM 1500. Para cada uno de los tratamientos se realizaron tres repeticiones. En este equipo los resultados se presentan en una escala de triple estímulo (L*a* b), donde el eje L* mide claridad de 0-100 (0 = negro y 100 = blanco), a* (negativo = verde, positivo= rojo), y b (negativo = azul, positivo = amarillo). Cada lectura obtenida dio un valor para cada eje, obteniendo así las diferencias de las muestras en coloración, claridad y color.

3.3.6 Análisis de aw

El análisis de actividad de agua se realizó el día de la preparación de las mermeladas. Para el análisis de aw se utilizó el AQUALAB ®. Modelo 3TE. Los datos fueron tomados según el método AOAC 978.18b. Se encendió el equipo y se llenó el recipiente de la muestra a analizar, se esperó el tiempo hasta tomar el dato de Aw. Se hicieron tres repeticiones para cada tratamiento.

3.3.7 Análisis sensorial de las mermeladas de mango

Un panel de 12 miembros no entrenados evaluaron las propiedades de color, olor, dulzura, sabor residual y aceptación general para las mermeladas de mango. Estos panelistas fueron seleccionados de la población de Zamorano, quienes están en contacto con este tipo de productos.

Para la evaluación sensorial se sirvieron muestras en vasos de 3 oz para café, acompañados de una cuchara, servilleta, un vaso con agua y galleta de soda. Se evaluó en escala hedónica del 1 al 5 (1= Me gusta mucho, 2= me gusta, 3= ni me gusta ni me disgusta, 4= me disgusta poco, 5= me disgusta mucho) el día de la apertura del frasco.

Para analizar los resultados del análisis sensorial se realizó un ANDEVA en el programa estadístico SAS ® con una significancia del 5% y una separación de medias Tukey.

3.3.8 Aislamiento, reproducción y crecimiento del hongo *Aspergillus*

Para determinar que microorganismos crecen en la mermelada de mango, se expuso una placa Petri con mermelada de mango sin preservante al ambiente. Las colonias que se desarrollaron en la placa fueron analizadas con el microscopio, donde se logró identificar al *Aspergillus* como el principal hongo que se reprodujo en la mermelada de mango.

Para cuantificar el crecimiento del hongo y reproducirlo hasta obtener un cultivo limpio, se cultivó en medio líquido elaborado con 100 gr de papa, 5 gr de dextrosa y 500 ml de agua. ¹ El hongo se resembró cada 48 horas y se identificó cumplido dicho tiempo en el microscopio.

3.3.9 Análisis microbiológico a través del tiempo

Las muestras se inocularon con 10 g del medio de cultivo líquido donde se reprodujo el hongo en 90 g de cada mermelada en su respectivo frasco.

El análisis microbiológico realizado a cada tratamiento fue el conteo de mohos y levaduras en medio de cultivo de PDA. Las siembras se realizaron en los días 0, 7 y 15 después de destapado el producto.

La técnica utilizada para la siembra de microorganismos fue el regado. Se realizaron diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} . Para el conteo en el día 0, mientras que para los días 7 y 15 se utilizaron diluciones mayores, 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . Se depositó 0.1 ml de la muestra en el plato Petri, una vez seco el medio. El cultivo se regó en toda la superficie de la placa hasta que estuvo prácticamente seco. Las placas se dejaron en incubación por 48 horas a 25 °C. Se sembraron dos placas para cada dilución.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y separación de medias con el sistema estadístico SAS®, con un nivel de significancia del 5%, y separación de medias Tukey para las características físicas y químicas y análisis sensorial.

Para el estudio microbiológico se aplicó una prueba T para demostrar que no existió diferencia significativa en los tratamientos antes y después de inocularse. El crecimiento del hongo a través del tiempo se analizó con un diseño BCA con medidas repetidas en el tiempo en los días 0, 7 y 15.

3.4.1 Elaboración de tratamientos

Los tratamientos para este estudio (cuadro 2) incluyeron el procesamiento de la pulpa sin preservante (testigo), el procesamiento de la pulpa con benzoato de sodio y el procesamiento de la pulpa sustituyendo el benzoato de sodio por propóleo a una concentración del 11% y 20%

Cuadro 2. Descripción de los tratamientos

Tratamientos	Descripción
T1	Agente antimicrobiano: Benzoato de sodio
T2	Agente antimicrobiano: Propóleo 20%
T3	Sin agente antimicrobiano
T4	Agente antimicrobiano: Propóleo 11%

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS SENSORIAL

Luego del análisis sensorial los datos fueron analizados en el programa estadístico SAS®, donde se obtuvieron los siguientes resultados:

Cuadro 3. Análisis sensorial, variable olor

Tratamiento	Media ± D.E
Benzoato de sodio	2.38 ^a ± 0.80
Propóleo 20%	2.55 ^a ± 1.08
Sin agente antimicrobiano	2.66 ^a ± 0.75
Propóleo 11%	2.47 ^a ± 0.84

a-b-c Medias con letras iguales en la misma columna son estadísticamente iguales (P>0.05).

D.E. Desviación Estándar

Los panelistas no encontraron ninguna diferencia significativa en el olor entre los tratamientos, a pesar de que los tratamientos con propóleo podían presentar olores por las resinas de los árboles y el alcohol de la dilución que lo conforman según la literatura (ver cuadro 3).

Cuadro 4. Análisis sensorial, variable color

Tratamiento	Media ± D.E
Benzoato de sodio	1.55 ^b ± 0.77
Propóleo 20%	2.97 ^a ± 0.87
Sin agente antimicrobiano	3.19 ^a ± 0.74
Propóleo 11%	1.58 ^b ± 0.87

a-b-c Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

El tratamiento de propóleo al 11% y el de benzoato de sodio fueron los tratamientos que los panelistas aceptaron con mejor color (ver cuadro 4). El tratamiento de mayor concentración de propóleo (20%) no les gustó a los panelistas en el mismo nivel que el de

11%, esto es causado porque tiene mayor cantidad de resinas que dan un color más oscuro al propóleo y por tanto a la mermelada. El tratamiento sin preservante resultó en la misma media estadística que el de propóleo al 20%.

Cuadro 5. Análisis sensorial, variable dulzura

Tratamiento	Media ± D.E
Benzoato de sodio	1.80 ^b ± 0.78
Propóleo 20%	2.61 ^a ± 1.20
Sin agente antimicrobiano	2.41 ^a ± 0.64
Propóleo 11%	1.66 ^b ± 1.02

a-b-c Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

La dulzura en el tratamiento de benzoato de sodio y el tratamiento con 11% de propóleo fueron los más aceptados por el consumidor. El sabor amargo que proporciona el propóleo influyó en la aceptación del consumidor para el tratamiento de 20% de propóleo (ver cuadro 5).

Cuadro 6. Análisis sensorial, variable sabor residual

Tratamiento	Media ± D.E
Benzoato de sodio	1.58 ^b ± 1.03
Propóleo 20%	3.07 ^a ± 1.23
Sin agente antimicrobiano	2.55 ^b ± 0.69
Propóleo 11%	1.66 ^{ab} ± 1.01

a-b-c Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

Los panelistas detectaron sabor residual en todos los tratamientos (ver cuadro 6). Los tratamientos con mayor sabor residual fueron el de 20% de propóleo y 11% de propóleo.

Cuadro 7. Análisis sensorial, variable aceptación general

Tratamiento	Media ± D.E
Benzoato de sodio	1.58 ^c ± 0.50
Propóleo 20%	3.02 ^a ± 0.90
Sin agente antimicrobiano	2.55 ^b ± 0.69
Propóleo 11%	1.66 ^c ± 0.47

a-b-c Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).D.E.

Desviación Estándar

En aceptación general los tratamientos más aceptados por los panelistas fueron el de benzoato de sodio y propóleo al 11%. Seguidos por el tratamiento sin preservante; el tratamiento menos aceptado fue el de propóleo al 20% (ver cuadro 7).

4.2 ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS

Se analizaron estadísticamente los datos de los análisis físicos y químicos y se obtuvieron las medias presentadas en los siguientes cuadros.

Cuadro 8. Análisis de color, variable L*

Tratamiento	Media \pm D.E
Benzoato de sodio	31.98 ^a \pm 0.68
Propóleo 20%	27.57 ^b \pm 0.72
Sin agente antimicrobiano	25.45 ^c \pm 0.63
Propóleo 11%	32.17 ^a \pm 0.68

a-b-c Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

Para la variable L* los tratamientos con benzoato de sodio y propóleo al 11% resultaron ser más claros. El tratamiento sin preservante resultó ser el más oscuros. En el análisis sensorial los panelistas expresaron que este tratamiento les era desagradable (ver cuadro 8). Esto pudo ser causado porque la mezcla sufrió mayor calentamiento durante la cocción.

Cuadro 9. Análisis de color, variable a*

Tratamiento	Media \pm D.E
Benzoato de sodio	7.58 ^d \pm 0.11
Propóleo 20%	10.44 ^a \pm 0.17
Sin agente antimicrobiano	7.20 ^c \pm 0.11
Propóleo 11%	8.55 ^b \pm 0.36

a-b-c-d Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

Para la variable a* el tratamiento más rojo fue el propóleo al 20%. Esto se debe a la mayor concentración de resinas. Seguido por el propóleo al 11% y el benzoato de sodio. El tratamiento menos rojo fue el que no tenía agente antimicrobiano (ver cuadro 9).

Cuadro 10. Análisis de color, variable b*

Tratamiento	Media \pm D.E
Benzoato de sodio	44.57 ^a \pm 0.97
Propóleo 20%	40.43 ^b \pm 0.23
Sin agente antimicrobiano	38.93 ^c \pm 0.67
Propóleo 11%	45.95 ^a \pm 0.76

a-b-c-d Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

En la variable b* los tratamientos más amarillos fueron los que tenían propóleo como agente antimicrobiano, seguidos por el tratamiento con benzoato de sodio y el tratamiento sin preservante (ver cuadro 10).

Cuadro 11. Análisis de pH

Tratamiento	Media \pm D.E
Benzoato de sodio	3.34 ^b \pm 0.01
Propóleo 20%	3.32 ^b \pm 0.02
Sin agente antimicrobiano	3.35 ^b \pm 0.01
Propóleo 11%	3.56 ^a \pm 0.02

a-b-c-d Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

El tratamiento con benzoato de sodio, tratamiento sin preservante y el tratamiento con propóleo al 20% no presentaron diferencia significativa en el pH. El tratamiento con propóleo al 11% fue el de mayor pH. Esto se debe a la baja concentración de propóleo, resultando en el producto menos ácido (ver cuadro 11).

Cuadro 12. Análisis de °Brix*

Tratamiento	Media \pm D.E
Benzoato de sodio	66.45 ^a \pm 2.24
Propóleo 20%	67.55 ^a \pm 1.65
Sin agente antimicrobiano	64.00 ^b \pm 0.32
Propóleo 11%	67.68 ^a \pm 0.97

a-b-c-d Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

El tratamiento sin preservante presentó menor °Brix. No hubo diferencia para esta variable en los demás tratamientos, a pesar de que las resinas contenidas en los tratamientos con propóleo pudieron influenciar en los sólidos totales (ver cuadro 12).

Cuadro 13. Análisis de aw

Tratamiento	Media ± D.E
Benzoato de sodio	0.84 ^b ±0.05
Propóleo 20%	0.84 ^b ±0.07
Sin agente antimicrobiano	0.87 ^a ±0.03
Propóleo 11%	0.84 ^b ±0.05

a-b-c Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).

D.E. Desviación Estándar

Los tratamientos con benzoato de sodio, propóleo al 20% y propóleo al 11% no presentaron diferencia entre ellos en aw. El tratamiento diferente fue el tratamiento sin preservante, presentó mayor actividad de agua lo que debió ser más propicio para el crecimiento microbiano (ver cuadro 13).

Cuadro 14. Correlaciones de análisis sensorial y análisis físicos

Variables	Correlación
Color y L*	0.99
Color y a*	0.94
Color y b*	0.98
°Brix y dulzura	0.96
pH y Aceptación general	0.60

Las correlaciones demostraron que si existió una relación alta positiva entre color y luminosidad (L*). Esto significa que a mayor valor de luminosidad (L*) los panelistas percibieron un color más claro, A mayor valor rojo (a*) los panelistas calificaron mejor las mermeladas, más cercano a “me gusta mucho”. A mayor valor de amarillo (b*) los panelistas percibieron colores más amarillos en las mermeladas. A mayor °Brix los panelistas encontraron mayor dulzura en las mermeladas. El pH tuvo una relación positiva pero baja con la aceptación general (ver cuadro 14).

4.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

4.3.1 Crecimiento del hongo *Aspergillus*

El hongo presentó un crecimiento en curva recta. A las 24 horas el conteo fue de 6.77 ufc/ml (expresado en logaritmo) y a las 48 horas se 7.73 ufc/ml (expresado en logaritmo). Este fue el conteo previo a la inoculación de las mermeladas de mango.

Cuadro 15. Análisis microbiológico mermelada de mango antes y después de ser inoculada

Tratamiento	Sin inocular	Media ± D.E.		
		Día 0	Día 7	Día 15
Benzoato sodio	3.65 ^a ±0.26	2.98 ^{(x)a} ±0.18	3.81 ^{(x)a} ±0.72	4.11 ^{(x)a} ±0.29
Propóleo 20%	3.73 ^a ±0.05	3.35 ^{(x)a} ±0.13	4.41 ^{(x)a} ±0.04	4.56 ^{(x)a} ±0.02
Sin preservante	3.98 ^a ±0.12	3.43 ^{(x)a} ±0.04	4.48 ^{(x)a} ±0.12	4.23 ^{(x)a} ±0.12
Propóleo 10%	3.75 ^a ±0.21	3.47 ^{(x)a} ±0.13	4.45 ^{(x)a} ±0.15	4.33 ^{(x)a} ±0.31

x-y Medias con letras iguales en la misma fila son estadísticamente iguales por fecha (P>0.05).

a-b Medias con letras iguales en la misma columna son estadísticamente iguales por tratamiento (P>0.05).

D.E. Desviación Estándar

Una vez inoculados los tratamientos no presentaron aumento de *Aspergillus*; los tratamientos presentaron los mismos conteos de antes de ser inoculados. Para demostrar que no hubo diferencia antes y después de ser inoculados los tratamientos se realizó una T Student en el programa estadístico SAS®, donde se obtuvo una probabilidad de 0.08. Esta probabilidad nos dice que no hubo diferencia estadística de las medias de los tratamientos antes y después de ser inoculados, lo que significa que el hongo murió en cuanto llegó a las mermeladas. Las posibles causas que impidieron el desarrollo y crecimiento del *Aspergillus* fueron las características de este tipo de producto: baja Aw, alto pH y la alta concentración de sólidos.

Se realizó una separación un análisis de medidas repetidas en el tiempo para determinar el crecimiento de los microorganismos que estaban en la mermelada antes de ser inoculados. Analizando la probabilidad se encontró que el tiempo había influenciado en el crecimiento de los microorganismos, pero la separación de medias no mostró diferencia estadística significativa (ver cuadro 15).

Para demostrar que el crecimiento en cada uno de los tratamientos fue el mismo sin importar cuanto fue la carga inicial de contaminación, se graficaron los resultados (ver gráfica 1), se obtuvo la pendiente para transformar a valor D (ver cuadro 16) y así comprobar que el crecimiento en todos los tratamientos fue el mismo y que no hubo diferencia en los diferentes agentes antimicrobianos aplicados.

El ANDEVA presentó una probabilidad de 0.26, esto demostró que no existió diferencia estadísticamente significativa en el crecimiento de microorganismos con los diferentes agentes antimicrobianos aplicados.

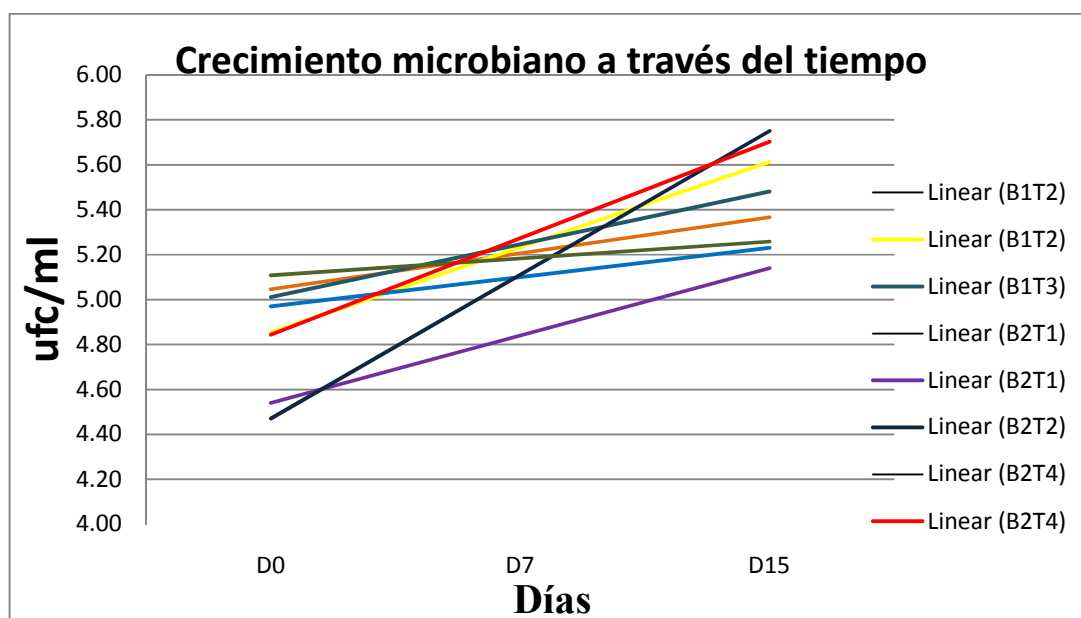


Figura 2. Pendiente de crecimiento microbiano a través del tiempo

Cuadro 16. Pendientes y Valor D

	TRT	Pendiente	Valos D
Rep 1	TRT1	4.553	0.220
	TRT2	4.473	0.224
	TRT3	4.776	0.209
	TRT4	4.840	0.207
Rep 2	TRT1	4.240	0.236
	TRT2	3.830	0.261
	TRT3	5.033	0.199
	TRT4	4.413	0.227

4.4 ANÁLISIS DE COSTOS VARIABLES

Los precios para el análisis de costo variable se obtuvieron en la Planta Hortofrutícola de la Escuela Agrícola Panamericana. De esta manera se realizó una comparación entre producir mermeladas con benzoato de sodio y propóleo como agente antimicrobiano (observar cuadros 17 y 18).

Cuadro 17. Análisis costo variable en lempiras de 1250 g de mermelada de mango con Benzoato de sodio

Ingrediente	Cantidad (g)	Precio por g (L)	Total (L)
Mango	1000.00	0.028	28.00
Benzoato de sodio	1.00	0.029	0.03
Ácido cítrico	6.96	0.031	0.21
Pectina	5.66	0.290	1.61
Azúcar	900.00	0.016	14.40
Bisulfito de sodio	1.00	0.190	0.19
Total			44.43

Tasa de cambio 1US\$= L 19.02

Se determinó que no existe una gran diferencia de costos en producir las mermeladas con benzoato de sodio o con propóleo. Si la producción fuera de una mayor escala entonces si podría observarse una diferencia, resultando más económico producir las mermeladas con Propóleo como agente antimicrobiano.

Cuadro 18. Análisis costo variable en lempiras de 1250 g de mermelada de mango con Propóleo

Ingrediente	Cantidad (g)	Precio por g (L)	Total (L)
Mango	1000	0.028	28.00
Benzoato de sodio	1.00	0.015	0.02
Ácido cítrico	6.96	0.031	0.21
Pectina	5.66	0.290	1.61
Azúcar	900.00	0.016	14.4
Bisulfito de sodio	1.00	0.190	0.19
Total			44.42

Tasa de cambio 1US\$= L 19.02

5. CONCLUSIONES

- Los tratamientos con benzoato de sodio y propóleo al 11% fueron los de color más claro y más amarillo. Los tratamientos con propóleo al 20% y sin preservante fueron las mermeladas más oscuras.
- Los panelistas detectaron sabor residual en los tratamientos con propóleo, debido a la cantidad de resinas presente en esta sustancia. El mayor sabor residual fue encontrado en el tratamiento con propóleo al 20%.
- El tratamiento de 11 % de propóleo y el de benzoato de sodio fueron los más aceptados por los panelistas en dulzura y aceptación general.
- No se encontró diferencia significativa entre el propóleo y el benzoato de sodio como agente antimicrobiano.
- Es preferible usar propóleo al 11% que propóleo al 20% como agente antimicrobiano por la aceptación de los panelistas.
- Producir mermeladas con propóleo tiene el mismo costo variable que con benzoato de sodio.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar nuevos estudios del propóleo como agente antimicrobiano en productos que no presenten las barreras pH, Aw, alto °Brix; sino que sean productos donde su principal barrera sea el agente antimicrobiano añadido.
- Determinar variaciones del crecimiento de mohos con concentraciones de propóleo más bajas o más altas.
- Evaluar el efecto antimicrobiano del propóleo durante un tiempo mayor después de abierto el producto.
- Utilizar un panel entrenado para más precisión en el análisis sensorial.
- Analizar la necesidad del uso de agente antimicrobiano en la planta Hortofrutícola de la Escuela Agrícola Panamericana.

7. LITERATURA CITADA

Bedascarrasbure, E. 2005. Propiedades del Propóleo. En línea. Disponible en: <http://www.sada.org.ar/Articulos/Tecnicos/propoleos.htm>

Bibek, R. 2004. Mohos. En línea. Consultado el 01 de julio del 2009. Disponible en: [http://books.google.hk/books?id=zYPFZby2wtcC&printsec=frontcover&dq=fundamental+f](http://books.google.hk/books?id=zYPFZby2wtcC&printsec=frontcover&dq=fundamental+food+microbiology#v=onepage&q=&f=false)
[ood+microbiology#v=onepage&q=&f=false](http://books.google.hk/books?id=zYPFZby2wtcC&printsec=frontcover&dq=fundamental+f)

FAO. 1998. Mermelada de frutas. En Línea. Consultado el 18 de agosto del 2009. Disponible en: http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/new_else/x5691s/x5691s02.htm

FAO. 2003. Definición Propóleo. En línea. Consultado el 07 de septiembre del 2009. Disponible en: <http://faolex.fao.org/docs/pdf/els49789.pdf>

FAO. 2006. Elaboración de mermelada. En línea. Consultado el 07 de septiembre del 2009. Disponible en: <http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ae620s/Pprocesados/FRU14.HTM>

Hernández S. M., Lazo S. C¹, Junod M. J., Arancibia M. J., Flores S. R., Valencia A. E. y Valenzuela V. 2005. En línea. Consultado el 12 de septiembre del 2009. Disponible en: [http://www.alanrevista.org/ediciones/2005-4/caracteristicas_organolepticas_fisico-](http://www.alanrevista.org/ediciones/2005-4/caracteristicas_organolepticas_fisico-quimicas_propoleos.asp)
[quimicas_propoleos.asp](http://www.alanrevista.org/ediciones/2005-4/caracteristicas_organolepticas_fisico-quimicas_propoleos.asp)

Lozina, L. 2004. Usos del propoleo. En línea. Consultado el 07 de septiembre del 2009. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/4-Veterinaria/V-021.pdf>

Sáez, A.; Flores, L.; Cadavid, A.; 2002. *Aspergillus niger*. En línea. Consultado el 14 de septiembre del 2009. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/215/21512804.pdf>

Salamanca, G. Grosso, Ivonne L. Correa Carvajal y Judith Principal: 2007. En línea. Consultado el 12 de septiembre del 2009. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt2502/arti/salamanca.htm

8. ANEXOS

Anexo 1. Formato de evaluación sensorial

Hoja de evaluación

Nombre: _____ Fecha _____

Instrucciones: Encierre en un círculo el número adecuado según su evaluación de las muestras 381, 679, 512 y 425 basado en su gusto sobre los atributos presentados. En la escala, 1= extremadamente agradable, 2= agradable, 3= ni me gusta ni me disgusta, 4= desagradable y 5= extremadamente desagradable. Utilice el agua y galleta de soda proporcionadas antes de analizar cada muestra. Analice cada muestra siguiendo el orden de izquierda a derecha.

Muestra 381

Color	1	2	3	4	5
Olor	1	2	3	4	5
Dulzura	1	2	3	4	5
Sabor residual	1	2	3	4	5
Aceptación General	1	2	3	4	5

Muestra 679

Color	1	2	3	4	5
Olor	1	2	3	4	5
Dulzura	1	2	3	4	5
Sabor residual	1	2	3	4	5
Aceptación General	1	2	3	4	5

Muestra 512

Color	1	2	3	4	5
Olor	1	2	3	4	5
Dulzura	1	2	3	4	5
Sabor residual	1	2	3	4	5
Aceptación General	1	2	3	4	5

Muestra 425

Color	1	2	3	4	5
Olor	1	2	3	4	5
Dulzura	1	2	3	4	5
Sabor residual	1	2	3	4	5
Aceptación General	1	2	3	4	5