



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE BIOQUÍMICO Y FARMACEÚTICO

**Calidad microbiológica y química de subproductos de frutas almacenados
en congelación**

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTOR: Chávez Sánchez, Karina Jackeline

DIRECTOR: Jácome Robles, Miriam Josefina, MSc

LOJA - ECUADOR

2013

CERTIFICACIÓN

MSc.

Miriam Josefina Jácome Robles

DIRECTORA DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de fin de titulación “Calidad microbiológica y química de subproductos de frutas almacenados en congelación” realizado por el profesional en formación Chávez Sánchez Karina Jackeline; cumple con los requisitos establecidos en las normas generales para la Graduación en la Universidad Técnica Particular de Loja, tanto en el aspecto de forma como de contenido, por lo cual me permito autorizar su presentación para los fines pertinentes.

Loja, Octubre 2013

f).....

MSc. Miriam Josefina Jácome Robles

Cl. 11011984233

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Karina Jackeline Chávez Sánchez declaro ser autora del presente trabajo de fin de titulación: Calidad microbiológica y química de subproductos de frutas almacenados en congelación, siendo la MSc. Miriam Josefina Jácome Robles directora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente, declaro conocer y aceptar la disposición del Artículo 67 del Estatuto Orgánico de La Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: "Forman parte del Patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad".

Loja, Octubre 2013

f).....
Karina Jackeline Chávez Sánchez
CI. 1103777924

DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad de vivir y regalarme una familia especial y maravillosa.

A mis padres, por su apoyo, comprensión y amor. Sus principios, valores y ejemplo; me han enseñado a luchar y a ser perseverante con esfuerzo y constancia en mi trayectoria de vida.

A mis hermanos y cada uno de mis familiares que nunca dudaron de mi capacidad, siendo un gran aporte en el logro de mis metas.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica Particular de Loja, Institución que orientó y perfiló mi profesión.

Al Departamento de Ciencias Agropecuarias y de Alimentos, a los docentes que lo conforman, quienes me dieron la apertura necesaria para el desarrollo y culminación de mi Trabajo de Fin de Titulación.

De igual manera a los docentes de la Titulación de Bioquímica y Farmacia, que con sus conocimientos guiaron mi formación académica para ser una profesional integral.

Mi especial gratitud a la MSc Miriam Jácome Robles, tutora de mi Trabajo de Fin de Titulación, que con su sabiduría y paciencia me ha orientado para culminar con éxito este trabajo de investigación.

Gracias a mis padres, por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí; a ellos debo este triunfo.

Karina Jackeline Chávez Sánchez

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA	i
CERTIFICACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ANEXOS	viii
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I.	
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
1.1 Subproducto.....	6
1.2 Usos del subproducto de frutas y vegetales.....	6
1.3 Mango.....	6
1.3.1 Generalidades.....	6
1.3.2 Subproducto de mango.....	8
1.4 Guayaba.....	9
1.4.1 Generalidades.....	9
1.4.2 Subproducto de guayaba.....	10
1.5 Métodos de conservación.....	10
1.5.1 Conservación de alimentos.....	10
1.5.2 Congelación.....	11
1.6 Calidad de las frutas.....	12
1.6.1 Calidad físico-química.....	12
1.6.2 Calidad microbiológica.....	12
CAPÍTULO II.	
2. FIN, PROPÓSITO, COMPONENTES DEL PROYECTO	15
2.1 Fin del proyecto.....	15
2.2 Propósito del proyecto.....	15
2.3 Componentes del proyecto.....	15

CAPÍTULO III.

3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1.	Control de temperatura en la cámara de congelación.....	16
3.2	Control microbiológico de la superficie regular de las perchas y paredes de la cámara de congelación.....	16
3.3	Materia prima.....	16
3.4	Análisis microbiológicos.....	17
3.5	Análisis químicos.....	18
3.5.1	Acidez titulable.....	18
3.5.2	pH.....	18
3.5.3	Sólidos solubles.....	19
3.6	Análisis estadístico.....	19

CAPÍTULO IV.

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1	Control de temperatura en la cámara de congelación.....	20
4.2	Control microbiológico de la superficie regular de las perchas y paredes de la cámara de congelación.....	21
4.3	Subproducto de mango.....	22
4.3.1	Análisis químicos.....	22
4.3.2	Análisis microbiológicos.....	23
4.4	Subproducto de guayaba.....	26
4.4.1	Análisis químicos	26
4.4.2	Análisis microbiológicos.....	27

CAPÍTULO V.

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	30
-----------	--	-----------

CAPÍTULO VI.

6.	BIBLIOGRAFÍA.....	32
-----------	--------------------------	-----------

CAPÍTULO VII.

7.	ANEXOS.....	38
-----------	--------------------	-----------

LISTA DE TABLAS

Tablas	Pág.
Tabla 1. Resultados microbiológicos de la superficie regular de las perchas y paredes de contacto de la cámara de congelación.....	21
Tabla 2. Resultados químicos del subproducto de mango.....	22
Tabla 3. Resultados microbiológicos del subproducto de mango.....	23
Tabla 4. Resultados químicos del subproducto de guayaba.....	26
Tabla 5. Resultados microbiológicos del subproducto de guayaba.....	27

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Pág.
Figura 1. Mango (<i>Mangífera indica L.</i>) variedad “hayden”.....	6
Figura 2. Guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>) variedad “pulpa rosada”.....	9
Figura 3. Temperaturas de la cámara de congelación.....	20

LISTA DE ANEXOS

Anexos	Pág.
Anexo 1. ANOVA resultados químicos y microbiológicos del subproducto de mango.....	38
Anexo 2. ANOVA resultados químicos y microbiológicos del subproducto de guayaba.....	41
Anexo 3. Procesamiento de los subproductos de mango y guayaba.....	45

RESUMEN

Se determinó la calidad química y microbiológica de los subproductos de mango (*Mangífera indica L*) durante doce semanas y guayaba (*Psidium guajava*) dieciséis semanas almacenados en congelación, mediante la aplicación de análisis microbiológicos y químicos.

En el subproducto de mango los resultados microbiológicos no muestran variación significativa ($p < 0.05$) respecto a los tiempos estudiados, y desde el inicio hasta el final revelan un contaje elevado en log UFC/g de aerobios totales, mohos y levaduras que degradaron el producto. No hay crecimiento de coliformes y *Escherichia coli* garantizando la inocuidad y calidad sanitaria del subproducto. El pH y contenido de sólidos solubles muestran variación significativa ($p < 0.05$) en los tiempos analizados, en cambio la acidez se mantiene constante. Estos resultados químicos obtenidos están dentro de lo encontrado por Ribeiro et al., (2010).

En el subproducto de guayaba los resultados de mohos y levaduras presentan variación significativa ($p < 0.05$) durante los tiempos analizados. El bajo conteo microbiológico en log UFC/g de aerobios totales, mohos y levaduras, con ausencia de crecimiento de coliformes y *Escherichia coli* aseguran la buena calidad del producto. Los valores de pH y acidez no presentan diferenciación, pero en el contenido de sólidos solubles hay una variación significativa ($p < 0.05$); estos resultados químicos obtenidos son similares a lo expuesto por Brunini et al., (2010).

Palabras clave: Subproducto, congelación, calidad, análisis químicos, análisis microbiológicos.

ABSTRACT

We determined the chemical and microbiological quality of products mango (*Mangifera indica* L) for twelve weeks and guava (*Psidium guajava*) sixteen weeks frozen-stored by the application of microbiological and chemical analysis.

In the mango byproduct microbiological results show no significant variation ($p < 0.05$) with respect to the times studied, and from the beginning to the end reveals a high count in log CFU/g of total aerobic, molds and yeasts that degraded the product. No growth of coliforms and *Escherichia coli* by ensuring the safety and sanitary quality of the product. pH and soluble solids show significant variation ($p < 0.05$) time points analyzed, however acidity remains constant. These chemical results obtained are within those found by Ribeiro et al. (2010).

In guava byproduct results molds and yeasts present significant variation ($p < 0.05$) during the time examined. The low microbiological count in log CFU/g of total aerobic, molds and yeasts, with no growth of coliforms and *Escherichia coli* ensure good product quality. pH values have no acidity and differentiation, but in the soluble solids content is a significant change ($p < 0.05$), these chemicals results obtained are similar to the above by Brunini et al. (2010)

Keywords: byproduct, freezing, quality, chemical analysis, microbiological analysis.

INTRODUCCIÓN

En la industria del procesamiento de frutas y vegetales se genera grandes cantidades de subproductos, como cáscaras, semillas, hojas, tallos y harinas de oleaginosas (Larrauri, 1999). La utilización de estos residuos como subproductos para la producción de aditivos alimentarios es de gran interés, porque se trata de productos de alto valor nutritivo; debido a que contienen azúcares, minerales, ácidos orgánicos, fibra dietaria y compuestos fenólicos con actividad antimicrobiana y antioxidante (Djilas et al., 2009).

La producción mundial de frutas tropicales que corresponde al 13% en 2005, alcanzó 58.7 millones de toneladas, de las cuales el 98% pertenece a la producción de los países de América Latina y el Caribe. El mango es una de las 15 frutas más comercializadas en estado fresco en el mundo, con una producción de 24.3 millones de toneladas (FAO, 2005). A su vez la producción mundial de guayaba es de alrededor de 1.2 millones de toneladas, la India y Pakistán aportan el 50%, México produce el 25% y el resto lo aportan otros países como Colombia, Egipto y Brasil (Yam-Tzec et al., 2010). En Ecuador las zonas de mayor cultivo de frutas tropicales como el mango y guayaba son las provincias del Guayas (90%) y el resto lo producen en Los Ríos, Manabí, El Oro (CORPEI, 2003).

Frutas como el mango genera 42.4% de subproductos en: 13.5% semillas, 11% cáscaras y el 17.9% de pulpa inutilizable; y guayaba de 10 a 15% de subproductos en cáscara y semilla (Goñi et al., 2012). Tanto los subproductos de mango y guayaba, son una fuente rica en fibra soluble e insoluble y con un alto contenido de polifenoles de 546mg/100g y 30mg/100g respectivamente (Martínez et al., 2012).

Los subproductos de la industria alimentaria, se consideran un problema serio de residuos en gran parte del mundo (Arvanitoyannis et al., 2008); por ello el aprovechamiento integral de las frutas, es un requerimiento y a la vez una demanda que deben cumplir los países que desean implementar las denominadas “tecnologías limpias” o “tecnologías sin residuos” en la agroindustria. De tal modo, todas aquellas fracciones del fruto, se puedan derivar a productos principales o secundarios para la alimentación humana. (Cerezal et al., 1995)

Las industrias procesadoras de frutas deben adquirir productos con características óptimas de calidad, siendo necesario el conocimiento de técnicas de almacenamiento y conservación para preservar las cualidades de la fruta (Ramírez et al., 2009); lo que permite extender la

vida útil del producto, sacrificando al mínimo sus características nutricionales y sensoriales iniciales. Para ello se involucran procesos industriales estrictamente controlados como el caso de la congelación (Rodríguez, 2011).

La principal causa de deterioro de los alimentos es el ataque por diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). Se calcula que más del 20% de todos los alimentos producidos en el mundo se pierden por acción de los microorganismos. Por otra parte, los alimentos alterados pueden resultar muy perjudiciales para la salud del consumidor. Es por ello, la importancia de preservar la calidad de los alimentos controlando sus factores físicos, químicos, bioquímicos y microbiológicos (Reis et al., 2006).

Con base en el pH, los alimentos se agrupan como alimentos altos en ácidos (pH por debajo de 4.6) y alimentos bajos en ácidos (pH de 4.6 o mayor) (Ray & Bhunia, 2010). Las frutas, tienen un valor $\text{pH} < 4.0$, lo que inhibe el crecimiento bacteriano, pero se desarrollan los géneros fúngicos y las bacterias acidófilas (Artés, 2000).

La Norma Técnica Colombiana ICONTEC 5468 especifica los requisitos microbiológicos de pulpas de frutas congeladas en recuentos hasta 5×10^3 a 2×10^4 UFC/g de aerobios mesófilos; 1×10^3 a 3×10^3 UFC/g de mohos y levaduras; 0 UFC/g de *E.coli*. A su vez, para evitar el deterioro en pulpa de frutas como mango y guayaba, el recuento no debe exceder 10^6 a 10^7 UFC/g de aerobios mesófilos; en mohos y levaduras $< 10^3$ UFC/g (García & Reátegui, 2002).

Para la conservación de frutas y pulpas almacenadas en congelación, durante largos periodos de tiempo, se requiere que el producto alcance una temperatura óptima de congelación entre -18°C y -20°C o más baja (Sirijariyawat & Charoenrein, 2012). En un estudio de congelación a -20°C durante dieciocho semanas en la pulpa de guayaba se presentan valores de pH 3.15 hasta 4.03, los sólidos solubles 7.17 a 9.09 °Brix y la acidez 0.4 a 0.8% (Brunini, et al 2003). Y otro estudio reporta para la congelación a -18°C durante once semanas en pulpa de mango, valores de pH de 4.31 a 4.61, los sólidos solubles de 13 a 13.82 °Brix, y la acidez de 0.4 a 0.6% (Ribeiro et al., 2010).

En la Sección Departamental “Tecnología de los Alimentos” del Departamento de Ciencias Agropecuarias y de Alimentos de la Universidad Técnica Particular de Loja, la aplicación de este proyecto, permitió determinar la calidad de los subproductos de mango y guayaba almacenados en congelación entre -16°C y -20°C , efectuando análisis químicos y

microbiológicos, cuyos resultados aportan a que las empresas agroindustriales implementen medidas de seguridad que garanticen la inocuidad y la calidad de los subproductos almacenados en congelación.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Subproducto

En la industria alimentaria se genera grandes cantidades de subproductos en todo el mundo (García & Reátegui, 2002). Los desechos o subproductos agrícolas son: cáscaras, huesos, bagazo, frutas y vegetales dañados o con problemas de madurez y calidad, los cuáles representan un problema ambiental (Fernández, 2008). Por lo cual, se está aplicando cada vez más medidas para aprovechar y valorizar los subproductos generados. Este aprovechamiento crea nuevas fuentes de riqueza que aportan una mayor rentabilidad económica al proceso industrial de partida (Sumaya et al., 2012).

1.2 Usos de subproductos de frutas y vegetales

De las materias primas en la industria alimentaria las frutas y los vegetales son los mayores residuos que generan. Los usos que se les pueden dar son (Guía de Mejores Técnicas disponibles en España, 2006):

- Elaboración de piensos para alimentación animal.
- Obtención de compuestos de alto valor añadido: los subproductos vegetales tienen valiosas sustancias como azúcares, ácidos orgánicos, proteínas, etc., que pueden ser de interés en las industrias alimentaria, farmacéutica, química y cosmética.

1.3 Mango

1.3.1 Generalidades.

Figura 1. Mango (*Mangífera indica* L.) variedad "Hayden".



Fuente: (Ajila et al., 2010)

Pertenece al reino: *Plantae*, subreino: *Magnoliopsida*, clase: *Dicotiledóneas*, división *Angiospermae*, orden: *Sapindales*, familia: *Anacardiaceae*, género: *Mangífera*, especie: *Indica* (Pinto, 1996); consta de más de 60 géneros con 500 especies de árboles, arbustos y bejucos leñosos (Correa, 1991). La *Mangífera Indica* L., es una planta tropical siempre verde, nativa del sureste de Asia. Ha sido cultivada desde hace aproximadamente 4.000 años y durante ese tiempo se ha esparcido del sureste de Asia (Rincón et al., 2008), a los climas cálidos tropicales y subtropicales tales como África y América (Barreto et al., 2008).

Las variedades de mango más comercializadas se clasifican en tres grupos: florida, india y africana (Torres, 2007). Del grupo florida se encuentran la variedad: Tommy Atkins, Haden, Kent, provenientes de regiones subtropicales, sin embargo existen otros cultivares con características potenciales y de calidad aceptable (Ramírez et al., 2010).

A su vez la determinación de la vida de anaquel está directamente ligada con el estado fisiológico o grado de madurez del mango. Factores como el pelado y cortado del fruto induce estrés en el tejido vegetal, lo que afecta los atributos sensoriales aún antes de que ocurran cambios fisicoquímicos o microbiológicos limitantes de la vida de anaquel (Salinas et al., 2010). Algunos estudios determinan que las pulpas de mango Glenn, Keitt, Kent y Palmer, se conservan bastante bien a temperatura de congelación -10°C durante 12 meses (Rivas et al., 1979).

El mango para la industria requiere de un valor mínimo de sólidos solubles de 13.5 °Brix, pH entre 3.5 y 4.0 (CODEX, 2005). Sin embargo la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2 337 señala que para pulpa de mango debe presentar un valor mínimo de sólidos solubles de 11°Brix y pH< 4.5.

El mango presenta intervalos de pH de 3.49 a 4.32 (Carrera et al., 2009), y el porcentaje de acidez titulable expresado en ácido cítrico entre 0.20 a 0.50% (NMX-F-057-S, 1980).

1.3.2 Subproducto de mango

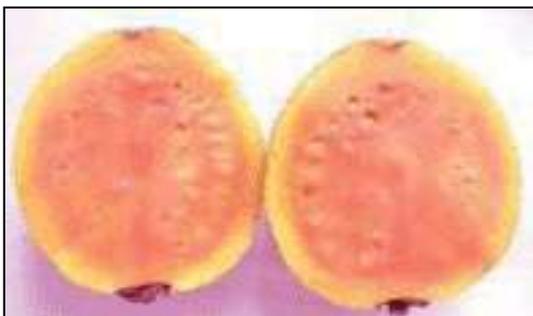
El residuo de mango común (*Mangífera indica L.*) es un material vegetal, que representa el mayor componente de los residuos agrícolas y desechos agroindustriales en el mundo. A su vez esto tiene un alto valor de aprovechamiento para la mejor utilización de los recursos y la disminución de la contaminación ambiental. Solamente en el despulpado de mango se genera de 50 a 55% de residuos, es decir aproximadamente 193.32 toneladas / semana, representados en cáscara, semillas, restos de pulpa y fibra. Este residuo comprende tres componentes: cáscara o pericarpio, bagazo y semilla, cuya materia prima es rica en carbohidratos (celulosa, hemicelulosa, y lignina) que al ser hidrolizados producen azúcares fermentables útiles para la obtención de productos de alto valor agregado, como el bioetanol (Mejía et al., 2007).

Las cáscaras y el hueso del mango se consideran desechos que pueden ser una fuente importante de compuestos bioactivos, tales como la pectina, polifenoles y manguiferina en las cáscaras, ácidos grasos poliinsaturados en el hueso y compuestos de naturaleza fenólica con actividad antioxidante y antiinflamatoria. Además se ha reportado una importante actividad antimicrobiana en extractos de huesos de mango, debido a la naturaleza de los compuestos polifenólicos que contienen (Engels et al., 2009). Es importante resaltar que la cantidad de estos nutrimentos y compuestos que le dan funcionalidad a los desechos o subproductos del mango (cáscara, pulpa, hueso) estará influenciado por diversos factores físicos, químicos y biológicos, tales como la variedad, especie, estado de madurez, factores precosecha y postcosecha (Mercadante & Rodríguez, 1998) (Mahattanatawee et al., 2006).

1.4 Guayaba

1.4.1 Generalidades

Figura 2. Guayaba (*Psidium guajava* L.) variedad de “pulpa rosada”.



Fuente: (Rodríguez, et al 2010)

La guayaba es un fruto originario de América tropical y ha sido cultivada hace 2000 años por los indígenas, por lo que actualmente se encuentra muy difundido en todo el mundo (Yam et al., 2010); taxonómicamente se clasifica en el reino: Plantae, subreino: Espermatophyta, división: Angiosperma, clase: Magnoliopsidae, orden: Myrtales, familia: Myrtaceae, género: *Psidium*, y especie: *Psidium guajava* L (Rodríguez, et al 1999). Presenta alrededor de 133 géneros y más de 3.800 especies (Joseph & Mini, 2011). Las diferentes variedades de guayaba presentan diferencias en el color de la pulpa que puede ser blanca, amarillenta, rosada o roja, se diferencian también en su tamaño, peso y forma (Gómez, 1996).

Los mayores valores de sólidos solubles totales (SST) se presentan en los estados de madurez fisiológicos de 5.15 a 9.66 °Brix, el pH 3.95 a 4.76 (Suárez et al., 2009). La acidez expresado en ácido cítrico hasta <0.40% (INEN 1 911, 2009). A nivel industrial en la pulpa de guayaba, los sólidos solubles mínimos son de 5.0 °Brix y el pH <4.5 (INEN 2 337, 2008).

Los cambios químicos, dependen del tipo de conservación y tiempo de almacenamiento, ya que por ejemplo a bajas temperaturas de congelación la guayaba puede sufrir un ligero aumento de pH con el tiempo, por la disminución de acidez, un descenso o constancia de sólidos solubles, y el aumento o disminución de humedad, que depende de la variedad y el estado climático al que la guayaba ha sido expuesta (Beaulieu & Baldwin, 2001).

1.4.2 Subproducto de guayaba

De la producción de puré de guayaba (*Psidium guajava L*) se genera gran cantidad de subproductos; alrededor del 25% del peso total de la fruta se desecha, provenientes de las diferentes etapas de producción: trituración 5%, refinación 12% y tamizado 8%. Estos subproductos se convierten en un grave problema para la industria alimentaria, debido a que se debe incurrir en gastos adicionales para su eliminación (Kong & Ismail, 2011).

Existe una tendencia en la explotación y utilización de subproductos de guayaba en el desarrollo de ingredientes funcionales para la industria alimentaria (Schieber et al., 2001) (Amin & Mukhrizah, 2006).

La guayaba y sus derivados como la piel, pulpa y semillas contienen polifenoles y flavonoides; los cuales son metabolitos secundarios de las plantas con actividad antioxidante beneficiosa para la salud humana. Por esta razón, el consumo de esta fruta puede jugar un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con la generación de radicales libres; como por ejemplo, el síndrome metabólico (Marquina et al., 2008).

También el uso de las semillas de la guayaba, tiene potencial para la elaboración de pectinas y aceites. A nivel industrial se produce pulpas, puré, néctar, mermeladas, jaleas y dulce (Yam et al., 2010).

1.5 Métodos de Conservación

1.5.1 Conservación de Alimentos

La conservación de alimentos es el conjunto de tratamientos que prolonga la vida útil de aquellos, manteniendo sus atributos de calidad, incluyendo color, textura, sabor y especialmente valor nutritivo. La calidad de los alimentos se encuentra afectada por factores físicos, químicos, bioquímicos, microbiológicos y el control de dichos factores, en especial el microbiológico es esencial para la preservación de los alimentos (Rodríguez, 2011).

Se utilizan diversas técnicas para evitar descomposición del alimento, entre las que destacan, técnicas de conservación por frío: incluye refrigeración y congelación; técnicas de conservación por calor: secado natural, secado artificial (deshidratación), cocción, esterilización, pasteurización, irradiación, apertización (enlatados); técnicas de conservación que utilizan métodos químicos tal es el caso de la adición de aditivos; y las técnicas de conservación por métodos bioquímicos, como la fermentación (Kuklinski , 2003).

La técnica de conservación aplicada en este proyecto, es la congelación.

1.5.2 Congelación

La congelación somete al producto a una aplicación drástica de frío, hasta alcanzar temperaturas de -20°C o más baja, cuya temperatura deberá mantenerse durante almacenamiento. Esta técnica genera una disminución de la actividad de agua (a_w), lo cual evita el desarrollo microbiano, limita la acción de las mayorías de reacciones químicas y enzimáticas, permitiendo un aumento de la vida útil del alimento (Ray & Bhunia, 2010). La congelación debe realizarse de forma rápida para evitar la ruptura de las membranas celulares. Al congelar un alimento el agua que contiene forma cristales, que tiene lugar en dos etapas: nucleación (cristales de agua pequeños y redondeados); y crecimiento de los núcleos (cristales grandes y puntiagudos) (Kuklinski, 2003). Cabe recalcar que el proceso de congelación, no elimina los microorganismos, genera resistencia, y no destruye toxinas. Es probable que algunos mohos, levaduras, y aerobios psicrófilos se multipliquen con lentitud hasta -10°C , por estar expuestos a pH bajo (por la concentración de iones) y poca a_w (por la concentración de solutos), tanto en el interior como exterior de las células (Ray & Bhunia, 2010). Debido al alto contenido de agua de muchos tipos de frutas, estos son los más difíciles de todos los productos alimenticios a congelar, sin provocar cambios en la apariencia, textura, sabor y color del producto congelado y descongelado (Sirijariyawat & Charoenrein, 2012). Las frutas como el mango y guayaba, cuenta con una actividad del agua cercana a 0.99 y actúa como facilitador de las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas encargadas de la senescencia del fruto (Ríos et al., 2007).

En la descongelación se debe efectuar de la forma más rápida posible, porque al descongelar, la a_w aumenta y todas las reacciones de alteración se aceleran (Kuklinski, 2003). De no realizar de la manera más adecuada, particularmente en el caso de las frutas

se produce un exudado importante, indeseable, que provoca un cambio en la textura de las mismas. Para las frutas se recomienda una descongelación lenta, a una temperatura de 4 a 6°C (Muñoz, 1985).

1.6 Calidad de las frutas

Según la Norma Internacional ISO 9000, la calidad es el conjunto de propiedades y características de un producto que le confiere la aptitud para satisfacer necesidades de los usuarios.

La calidad de productos hortofrutícolas frescos, es una combinación de características, atributos y propiedades físicas, químicas, microbiológicas y organolépticas que le dan al producto su valor como alimento. La importancia relativa de cada componente de la calidad depende del producto y cómo se utiliza; sumándose requisitos tales como obtención favorable con el medio ambiente, inocuidad y salubridad (Bruhn, 2007).

1.6.1 Calidad físico- química de las frutas

Los indicadores físicos-químicos son considerados determinantes para la calidad y el control adecuado, que garantice las características óptimas de las frutas. Los indicadores que se usan conjuntamente son: firmeza, color, sólidos solubles, acidez, pH, humedad, actividad de agua, colorimetría, índice de almidón entre otros (Brezmes, 2001).

1.6.2 Calidad microbiológica de las frutas

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental porque influye en su conservación y vida de anaquel y sobre todo porque los microorganismos presentes en ellos, pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos o ETA's (en inglés se denominan "foodborne illness" o FBI) (Pierson & Smoot, 2001).

Las frutas se encuentran expuestas a contaminación por microorganismos antes, durante y después de su cosecha. La naturaleza y abundancia de la flora contaminante (bacterias,

virus, hongos, parásitos) es muy variable entre los diferentes tipos de frutas y sus derivados como el caso de los subproductos (Gil et al., 2010), principalmente formada por levaduras, hongos y en menor grado por bacterias; esto se debe a los bajos valores del pH de las frutas, como consecuencia de los ácidos que poseen (Muller, 1981).

A temperatura de -20°C, los microorganismos no se desarrollan en alimentos congelados; en lugar de ello las células microbianas mueren durante el periodo de congelación. Sin embargo ciertas células de aerobios psicrófilos, mohos y levaduras logran sobrevivir, porque se mantienen en un periodo de latencia y pueden multiplicarse en los comestibles descongelados. Ya que la descongelación lenta facilita la proliferación de los microorganismos sobrevivientes, cuyas células pueden germinar y desarrollarse. Además las enzimas liberadas por las células microbianas muertas pueden reducir la calidad y aceptación del producto (Ray & Bhunia, 2010).

Los principales microorganismos indicadores en alimentos son (Pierson & Smoot, 2001):

- Indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso: aerobios mesófilos o aerobios totales, mohos y levaduras y coliformes totales.
 - Indicadores de contaminación fecal: coliformes fecales, *Escherichia coli*.
-
- Aerobios totales: se considera a todas las bacterias mohos y levaduras capaces de crecer en presencia de oxígeno (Pierson & Smoot, 2001). De acuerdo al nivel óptimo de temperatura en este estudio se tomó en cuenta a los mesófilos cuyo intervalo de crecimiento es de 20 a 45°C con temperaturas óptimas entre 30 y 40°C. También se presentan los psicrófilos, crecen a temperaturas de -0°C y a temperatura mesófila; los más encontrados en frutas como el mango y guayaba son los mohos de los géneros *Penicillium*, *Monilia*, *Cladosporium*, *Mycoderma* y levaduras del género *Torula* (Barreiro & Sandoval, 2006).
 - Mohos y levaduras: por su crecimiento lento y su baja competitividad, se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable. Estas condiciones son bajos niveles de pH, baja humedad, alto contenido en sales o carbohidratos, temperatura de congelación a -20°C. Ocasionan problemas a través de la síntesis de metabolitos tóxicos (micotoxinas) y alteran sustratos no favorables permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas; a su vez causan malos olores, sabores y la decoloración de las

superficies de alimentos, como de las frutas (Pierson & Smoot, 2001). Se desarrollan en un intervalo de pH entre 2 a 8.5, aunque la mayoría crece mejor a pH ácido (Camacho et al., 2009). Los hongos presentan cuatro filum: *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* y *Chytridiomycota*; las levaduras pertenecen al filum *Ascomycota* y algunas a los *Basidiomicetes* (Prats, 2005).

- Coliformes totales/ *E.coli*: estas bacterias son bacilos cortos, gramnegativos, anaerobios facultativos. Incluye los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Durante mucho tiempo se consideraron evidencia de contaminación fecal, pero se ha demostrado que muchos de ellos pueden vivir e incluso crecer en el suelo, el agua y otros ambientes (Pierson & Smoot, 2001). El crecimiento para *E.coli* de acuerdo al pH entre 4.4 a 9.0 y la temperatura de 7 a 45°C, además su presencia en alimentos causa cuatro síndromes clínicos que pueden resultar de la infección por cepas patogénicas: infección de vías urinarias, sepsis, meningitis y enfermedad diarreica (Romero, 2007).

2. FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO

2.1 Fin del proyecto

Contribuir a la valoración de los subproductos agroindustriales para promover su uso en la alimentación humana.

2.2 Propósito del proyecto

Conocer la calidad microbiológica y química de subproductos de mango y guayaba almacenados en congelación.

2.3 Componentes del proyecto

Monitoreo de los análisis microbiológicos (aerobios totales, mohos y levaduras, coliformes y *E.coli*) y químicos (pH, sólidos solubles, acidez) indicadores de degradación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Control de temperatura en la cámara de congelación

Con la ayuda de una termocupla marca Dickson Data Loggers S/N10153004, se monitoreó la temperatura de la cámara de congelación industrial marca termoglobal trifásica una vez por semana, durante dieciséis semanas.

3.2 Control microbiológico de la superficie regular de las perchas y paredes de la cámara de congelación

Se efectuó a las cero y dieciséis semanas el recuento de coliformes y *E.coli*, aerobios totales, mohos y levaduras de la superficie regular de las perchas y paredes de la cámara de congelación con el método del hisopo; el cual consiste en frotar con un hisopo estéril previamente humedecido en una solución diluyente el área determinada en el muestreo de superficies, ya sea regulares, lisas, pulidas o irregulares. Los resultados se expresaron en UFC/cm² (Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, 2007).

3.3 Materia prima

Se trabajó con subproductos de mango (corteza y pulpa) y subproductos de guayaba (pulpa y semilla) provenientes de la Empresa Agroficial (Guayaquil-Ecuador), transportados a temperatura de congelación de -7°C. Luego se muestreó los subproductos de mango (8 cajas) y guayaba (14 cajas), para ello se aplicó el método de cuarteo en cada una de las cajas, el cual consiste en dividir la muestra en cuatro partes iguales. Posteriormente en cada caja se raspó la muestra de todos sus lados e inmediatamente se aplicó el método aleatorio con reposición en la que se vuelve a poner toda la muestra en la población a fin de que el subproducto sea lo más homogéneo posible.

Se utilizó una muestra representativa de 5 kilogramos y se dividió en fundas estériles según los días de control, dos para cada día. Seguidamente se almacenaron en la cámara de

congelación, durante doce semanas para subproducto de mango y dieciséis semanas para subproducto de guayaba.

Antes de aplicar los análisis químicos y microbiológicos se descongeló los subproductos a temperatura de refrigeración de 5°C por 24 horas (Muñoz, 1985).

3.4 Análisis microbiológicos

La esterilización del material se la realizó con el autoclave digital marca Yamato SM32 a 121°C por 15 minutos y la siembra microbiológica se efectuó en la cámara de flujo laminar clase II marca ESCO serial 2005-11883. Inicialmente se pesó en la balanza Metter Toledo PJ4000 10 ± 0.1 gramos de muestra y se prepararon las diluciones: para subproducto de mango desde la dilución 10^{-1} hasta 10^{-4} y en subproducto de guayaba solamente la dilución 10^{-1} . En todas las diluciones incluido el blanco se sembró por duplicado.

De las suspensiones diluidas se añade 1ml en cada placa petrifilm™. Las placas se incuban y se realiza el conteo (AOAC, 2005). Para mohos y levaduras se usó la incubadora Imperial III marca Lab-line 310 y para aerobios totales, coliformes y *E.coli*, la incubadora Boekel Scientific marca 133730. Finalmente con el contador de colonias Quebec se realiza el recuento microbiológico, expresando los resultados en log UFC/g.

A continuación se describe el tipo de placa petrifilm™ utilizado:

Placa petrifilm™ para aerobios totales: las colonias son de color rojo a rojizo-café. La incubación es 35°C por 48 horas. Rango de conteo de 30 a 300 colonias (AOAC, 2005).

Placa petrifilm™ para mohos y levaduras: las levaduras aparecen en color azul-verde o blanco y forma pequeñas colonias definidas. Las colonias de mohos son de color azul, negro, amarillo o verde, sus colonias son grandes y difusos. La incubación es 25°C de 3 a 5 días. Rango de conteo de 15 a 150 colonias (AOAC, 2005).

Placa petrifilm™ para coliformes y *E.coli*: la *E.coli* son colonias azules con burbuja de gas, y los coliformes son colonias rojas con burbuja de gas. La incubación es 35°C por 24 horas. Rango de conteo de 15 a 150 colonias (AOAC, 2005).

3.5 Análisis químicos

3.5.1 Acidez titulable

Detecta el porcentaje de acidez mediante la neutralización de los iones H⁺ con una solución básica, el hidróxido de sodio 0.1N. (AOAC, 2005). Se utilizó 10 ± 0.1 gramos de muestra diluidos en 50 ml de agua destilada enfriada y neutralizada agregando 3 gotas de fenolftaleína para titular con la solución estándar NaOH 0.1N. La acidez se expresó en porcentaje de ácido cítrico mediante la siguiente fórmula (INEN 381-12, 1985):

$$A \% = \frac{V \times N \times \text{meq.} \times 100}{W_m}$$

Donde:

A %= porcentaje de acidez

V= gasto de NaOH en ml

N= Normalidad del agente titulante

meq.= mili equivalentes del ácido cítrico (0.064)

W_m= peso de la muestra

3.5.2 pH

Se basa en la actividad de los iones hidrógeno presentes en la solución (AOAC, 2005). La determinación de pH se realizó con un pH-metro digital Mettler Toledo S20 SevenEasy™ previamente calibrado con buffers pH 4.01 y 7.00. Se pesó 10 ± 0.1 gramos de la muestra diluidos en 100ml de agua destilada, en esa solución se introdujo el pH-metro y se leyó las correspondientes medidas a temperatura ambiente de 25°C (INEN 389-12, 1985).

3.5.3 Sólidos solubles

Este método se basa en la relación que existe entre el índice de refracción y el porcentaje de sólidos solubles (% en peso de azúcares expresados en sacarosa en g/100g) de una muestra, midiendo esto en un prisma refractométrico (AOAC, 2005). Para determinar el contenido de sólidos solubles de la muestra se utilizó el refractómetro digital Mettler Toledo 30PX colocando de 1 a 2 gotas del zumo de la muestra sobre la celda de dicho equipo, para leer el valor en la escala de 0 a 85 °Brix a 20°C. El resultado se expresó como °Brix (INEN 380-12, 1985).

3.6 Análisis estadístico

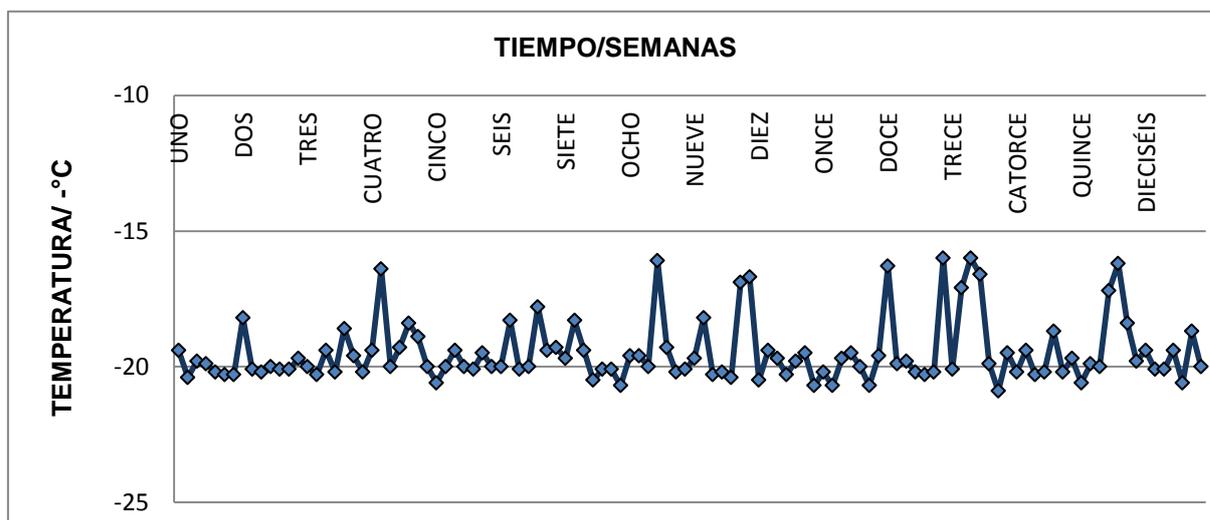
Los datos se reportaron como media \pm desviación estándar de dos repeticiones. Se utilizó el software estadístico Minitab 16 aplicando un análisis de varianza ANOVA unidireccional. Y para comprobar si hubo o no diferencia significativa de los resultados respecto al tiempo de análisis, se aplicó el test Tukey ($p < 0.05$), para probar las hipótesis:

- a. **Hipótesis nula:** no hay diferencia significativa en los análisis químicos y microbiológicos a los diferentes tiempos de congelación para los subproductos de mango y guayaba.
- b. **Hipótesis alterna:** hay diferencia significativa en los análisis químicos y microbiológicos a los diferentes tiempos de congelación para los subproductos de mango y guayaba.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Control de temperatura en la cámara de congelación

Figura 3. Temperaturas de la cámara congelación



En la cámara de congelación se reporta temperaturas entre -16°C a -20°C durante las dieciséis semanas de monitoreo (Figura 3). Estos resultados mantienen la poca variación encontrada en los análisis químicos de los subproductos de mango y guayaba respecto al tiempo de almacenamiento en congelación. A su vez estos datos son similares según Telis et al. (2007) que reportan en pulpas de mango y papaya almacenado en congelación temperaturas entre -10°C a -20°C .

El control de la temperatura de la cámara de congelación permite mantener la calidad química y microbiológica de los subproductos almacenados en congelación. Según Sirijariyawat & Charoenrein (2012) en la conservación de frutas y pulpas, durante largos períodos de tiempo el producto debe alcanzar una temperatura de congelación entre -18°C a -20°C o más baja para preservar la calidad del producto y prolongar su vida útil. Aunque Karel & Lund (2003) exponen que si no hay una buena calidad química y microbiológica del alimento desde el inicio se acelera el proceso degradativo y no es factible conservarlo en congelación.

4.2 Control microbiológico de la superficie regular de las perchas y paredes de la cámara de congelación

En la Tabla 1 se presenta los valores de los análisis microbiológicos de la superficie regular de las perchas y paredes de contacto de la cámara de congelación.

Tabla 1: Resultados microbiológicos de la superficie regular de las perchas y paredes de contacto de la cámara de congelación

Muestra	Tiempo/semanas	Coliformes y <i>E. coli</i> (UFC/100cm ²)	Aerobios totales (UFC/100cm ²)	Mohos y levaduras (UFC/100cm ²)
Superficie regular perchas y paredes	cero	<10	<10	<10
	dieciséis	<10	<10	<10

<10., ausencia de Unidades Formadoras de Colonias sobre centímetros elevado al cuadrado (UFC/ cm²)

El control microbiológico de la superficie regular de las perchas y paredes de contacto de la cámara de congelación con el subproducto de mango y guayaba a las cero y dieciséis semanas es <10 UFC/100cm² de coliformes y *E.coli*, aerobios totales, mohos y levaduras (Tabla 1). Según European Standard (1993) si el número de microorganismos es <10 UFC/cm², significa ausencia de UFC/cm², lo que representa para el control de superficies un nivel de riesgo bajo, siendo las condiciones de las superficies excelente y libre de contaminaciones microbiológicas.

Las superficies regulares de perchas y paredes de contacto de la cámara de congelación al ser de acero inoxidable, según Boyd et al. (2001) disminuye la proliferación microbiana porque la superficie regular de ese material es generalmente lisa, resiste a golpes, es fácil de desinfectar impidiendo acumulación de bacterias. Además Ray & Bhunia (2010) mencionan que en condiciones de temperatura -20°C o más baja causa la muerte de microorganismos ya que impide y detiene su proliferación. Esto se relaciona con la ausencia de crecimiento de los resultados microbiológicos encontrados en la superficie de perchas y paredes de la cámara de congelación.

4.3 Subproducto de mango

4.3.1 Análisis químicos

En la Tabla 2 se presenta los valores de los análisis químicos de los subproductos de mango almacenados en congelación.

Tabla 2: Resultados químicos del subproducto de mango

Muestra	Tiempo/semanas	pH	% Acidez en ácido cítrico	Sólidos solubles (°Brix)
Subproducto Mango	cero	4.38 ± 0.01 ^a	0.33 ± 0.00 ^a	12.4 ± 0.28 ^a
	cuatro	4.31 ± 0.01 ^b	0.34 ± 0.01 ^a	14.8 ± 0.57 ^b
	ocho	4.13 ± 0.01 ^c	0.35 ± 0.00 ^a	15.1 ± 0.71 ^b
	doce	4.28 ± 0.00 ^d	0.34 ± 0.01 ^a	14.2 ± 0.21 ^b

±., media de la desviación estándar de dos repeticiones
valores seguidos por la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes (p<0.05) de acuerdo con los rangos del test Tukey

El tiempo de almacenamiento en congelación afectó significativamente (p<0.05) el pH de los subproductos de mango y sus valores reflejados en la (Tabla 2) son similares a lo que reportan Ribeiro et al. (2010) para pulpa de mango congelado a -18°C durante once semanas con variación del pH en los tiempos de su análisis, debido al grado de madurez que posee esta fruta. En su estudio al inicio presentó 4.41, a las cuatro semanas 4.31, a las ocho semanas 4.43 y a la once semanas 4.61. Sin embargo Moreno et al. (2010) aduce que sin variación elevadamente significativa de pH en las frutas ocasiona que los contenidos de minerales junto con los ácidos orgánicos actúan como soluciones tampón evitando los cambios de pH en la fruta.

Los valores del porcentaje de acidez expresado en ácido cítrico encontrado en los subproductos de mango almacenados en congelación durante las doce semanas no presentan variación significativa (p<0.05) (Tabla 2). Estos resultados están dentro de lo que reportan Ribeiro et al. (2010) para la pulpa de mango congelado a -18°C durante once semanas que muestra valores de acidez titulable expresado como ácido cítrico al inicio 0.19% a la cuatro semanas 0.21%, a las ocho semanas 0.38% y las once semanas 0.18%.

Los resultados de sólidos solubles de los subproductos de mango durante las doce semanas presentan variación significativa ($p < 0.05$) respecto al tiempo en congelación (Tabla 1). Estos valores se asemeja a lo que exponen Ribeiro et al. (2010) en pulpa de mango congelado a -18°C que indica al inicio 15.9°Brix , a la cuatro semanas 13.8°Brix , a las ocho semanas 14.9°Brix y a las once semanas 14.5°Brix .

En este estudio a las ocho semanas el incremento de 15.1°Brix puede ocurrir porque Ribeiro et al. (2010) menciona que en el mango mientras más bajo es el pH, hay más contenido de ácidos orgánicos que produce el ascenso de sólidos solubles durante el proceso de congelación.

Es importante recalcar que la variación de sólidos solubles como citan Carrera et al. (2009), se debe a una alteración de la estructura de la pared celular y el rompimiento de carbohidratos complejos en azúcar simple o a expensas del almidón presente en el fruto.

4.3.2 Análisis microbiológicos

En la Tabla 3 se presenta los valores de los análisis microbiológicos de los subproductos de mango almacenados en congelación.

Tabla 3: Resultados microbiológicos del subproducto de mango

Muestra	Tiempo/semanas	Coliformes y <i>E.coli</i> UFC/g	Aerobios totales log UFC/g	Mohos y levaduras log UFC/g
Subproducto Mango	cero	$<10 \pm 0.00^a$	6.10 ± 0.18^a	3.95 ± 0.12^a
	cuatro	—	6.05 ± 0.31^a	3.96 ± 0.10^a
	ocho	—	6.26 ± 0.06^a	4.01 ± 0.03^a
	doce	$<10 \pm 0.00^a$	6.04 ± 0.10^a	3.97 ± 0.01^a

$<10.$, ausencia de unidades formadoras de colonias sobre gramo (UFC/g)
 —., valor no realizado
 $\pm.$, media de la desviación estándar de dos repeticiones
 valores seguidos por la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) de acuerdo con los rangos del test Tukey

En las doce semanas los resultados de aerobios totales en subproducto de mango almacenado en congelación, no muestran variación significativa ($p < 0.05$) y su conteo presenta una elevada carga microbiana (Tabla 3).

Gil et al. (2010), señalan que valores elevados de aerobios totales pueden deberse a un manejo inadecuado o un grado avanzado de madurez en las frutas por el incremento de los sólidos solubles que favorece la contaminación microbiológica pero no patógena para el consumidor promedio. El subproducto de mango inicialmente ya presenta una carga microbiana elevada, por lo que la congelación no elimina los microorganismos como lo explica Ray & Bhunia (2010) los aerobios psicrófilos se multiplican con lentitud hasta -10°C por estar expuestos a pH bajo y poca actividad de agua durante la congelación y las células que sobreviven a este período, pueden multiplicarse en los comestibles descongelados. Según Forsythe (2000) cuanto mayor sea la carga bacteriana inicial del alimento, más breve será su vida útil o de almacenamiento debido al aumento de las actividades microbianas.

García & Reátegui (2002) establecieron los niveles de deterioro para pulpas de frutas cuando el recuento de aerobia mesófila es 1.0×10^6 a 1.0×10^7 UFC/g, ya que es una prueba para conocer las condiciones de salubridad de los alimentos, tasas superiores de 10^6 a 10^7 gérmenes/g suele ser indicio de la descomposición. Como se observa la carga elevada de aerobios totales en el subproducto de mango indican que están en un nivel de deterioro y se recomienda aplicar otros tratamientos como la pasteurización para su utilización en la alimentación humana.

Los resultados de mohos y levaduras en subproducto de mango almacenado en congelación no varían significativamente ($p < 0.05$) en los tiempos analizados y muestra un recuento elevado de estos microorganismos (Tabla 3). Estos resultados elevados de mohos y levaduras exhibidos desde el inicio hasta el final en subproducto de mango, según Do Amaral-Santos et al. (2008) pueden atribuirse al alto contenido de hidratos de carbono que se encuentran comúnmente en pulpas de fruta, además del carácter ácido que tienen.

García & Reátegui (2002) establecen que el deterioro de las pulpas de frutas está asociado generalmente con este tipo de microorganismos, el pH y la actividad de agua reducida, limitan el crecimiento de gran número de bacterias, principalmente patógenas. Para Pierson & Smoot (2001) los mohos y levaduras se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable. Estas condiciones son bajos niveles de pH, alto contenido en sales o carbohidratos, baja temperatura de almacenamiento, ya que levaduras como *Schizosaccharomyces* se han encontrado en frutas tropicales dentro de las cuales se encuentra el mango.

Nguyen-the & Carlin (1994) indican que el daño microbiano de frutas puede ocurrir más rápidamente, por los altos niveles de azúcares encontrados en la mayoría de las frutas.

Cabe reiterar que el proceso de congelación en frutas no elimina los microorganismos y no destruye toxinas (Oruña et al., 1997). Ciertos mohos, levaduras, y bacterias psicrófilas se reproducen lentamente hasta -10°C , por lo que están expuestos a pH bajo y poca a_w , tanto en el interior como exterior de las células (Ray & Bhunia, 2010).

Franco & Landgraf (2003) mencionan que altos recuentos de mohos y levaduras en alimentos frescos y congelados representan una degradación en el aspecto que puede conducir al rechazo del producto, incluyendo un riesgo para la salud pública, debido a la posible producción de micotoxinas por varias especies de mohos.

La ausencia de coliformes y *E.coli* en los subproductos de mango almacenados en congelación a las cero y doce semanas (Tabla 3) aseguran la calidad sanitaria del producto. Según Medina & Pagano (2003) sin presencia de coliformes fecales y *Escherichia coli*, es sinónimo de una manipulación adecuada del producto desde su cosecha, proceso de despulpado (subproducto de la fruta) hasta la obtención de la pulpa. A su vez Do Amaral-Santos et al. (2008) resaltan que el bajo valor de pH que presentan las pulpas de frutas, puede ser un factor limitante para el crecimiento de coliformes fecales y *E.coli*, manteniendo las tasas de contaminación bacteriana en niveles bajos o ausentes. Estas bacterias estudiadas no se reproducen ni se multiplican durante temperaturas de congelación entre -16°C y -20°C . Romero (2007) indica que los parámetros de crecimiento para *E.coli* de acuerdo al pH están entre 4.4 a 9.0 y la temperatura de crecimiento 7 a 45°C , con una actividad de agua 0.95 a 0.99.

El proceso de congelación mantiene los conteos microbiológicos obtenidos en subproducto de mango. Estos resultados de aerobios totales, mohos y levaduras exceden el límite permitido de requisitos microbiológicos para pulpas de fruta congeladas, mientras que la ausencia de coliformes y *E.coli* cumple con lo especificado por la norma. (INCONTEC 5468, 2007)

4.4 Subproducto de guayaba

4.4.1 Análisis químicos

En la Tabla 4 se presenta los valores de los análisis químicos de los subproductos de guayaba almacenados en congelación.

Tabla 4: Resultados químicos del subproducto de guayaba

Muestra	Tiempo/semanas	pH	% Acidez en ácido cítrico	Sólidos solubles (°Brix)
Subproducto Guayaba	cero	4.07 ± 0.00 ^a	0.39 ± 0.00 ^a	7.9 ± 0.00 ^a
	cuatro	4.06 ± 0.00 ^a	0.38 ± 0.01 ^a	7.6 ± 0.00 ^a
	ocho	4.06 ± 0.01 ^a	0.37 ± 0.01 ^a	6.9 ± 0.07 ^a
	doce	4.04 ± 0.01 ^a	0.37 ± 0.01 ^a	6.7 ± 0.07 ^a
	dieciséis	4.05 ± 0.01 ^a	0.36 ± 0.01 ^a	6.0 ± 0.07 ^b

±., media de la desviación estándar de dos repeticiones
valores seguidos por la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes (p<0.05) de acuerdo con los rangos del test Tukey

Los resultados de pH en subproducto de guayaba durante las dieciséis semanas de almacenamiento en congelación, no muestran variación significativa (p<0.05) (Tabla 4). En este estudio los valores de pH son cercanos a los que reportan Ribeiro et al. (2010) en pulpa de guayaba almacenado a -18°C durante once semanas, el pH presentó al inicio 3.81 y al final 4.02. De la misma forma Brunini et al. (2003) en un estudio realizado en pulpa de guayaba del cultivar “Paluma” almacenado a -20°C durante dieciocho semanas, obtiene un pH al inicio de 3.15 y al final de 4.03.

Medina & Pagano (2003) citan que la relevancia del pH se relaciona con la capacidad amortiguadora del conjunto de ácidos orgánicos predominantes en el sistema biológico, asociada a la presencia de sales, proteínas y otros compuestos coloidales que permiten al sistema biológico conservar el pH, aun cuando haya pequeñas variaciones en la cantidad de ácidos o bases presentes.

Los valores de acidez expresado como ácido cítrico en subproducto de guayaba no presentan variación significativa (p<0.05) durante las dieciséis semanas de almacenamiento en congelación (Tabla 4).

Estos resultados de acidez son similares a lo que exponen Brunini et al. (2003) en pulpa de guayaba del cultivar “Paluma” almacenado a -20°C durante dieciocho semanas, con valores al inicio 0.40% y al final 0.41%. A su vez Ribeiro et al. (2010) en pulpa de guayaba almacenado a -18°C durante once semanas, presenta una acidez al inicio 0.47% y al final 0.38%.

Los sólidos solubles del subproducto de guayaba presentan variación significativa ($p < 0.05$), durante las dieciséis semanas de almacenamiento en congelación (Tabla 3). Los resultados de este estudio se asemejan según lo que reportan Ribeiro et al. (2010) en pulpa de guayaba almacenado a -18°C con valores al inicio 8.7 °Brix y al final 7.4 °Brix durante once semanas de análisis. También se parece a lo expuesto por Brunini et al. (2003) en pulpa de guayaba del cultivar “Paluma” almacenado a -20°C, que revela al inicio 9.0 °Brix y al final 7.1 °Brix durante las dieciocho semanas de su análisis.

4.4.2 Análisis microbiológicos

En la Tabla 5 se presenta los valores de los análisis microbiológicos de los subproductos de guayaba almacenados en congelación.

Tabla 5: Resultados microbiológicos del subproducto de guayaba

Muestra	Tiempo/semanas	Coliformes y <i>E.coli</i> UFC/g	Aerobios totales log UFC/g	Mohos y levaduras log UFC/g
Subproducto Guayaba	cero	$<10 \pm 0.00^a$	2.20 ± 0.04^a	2.09 ± 0.07^a
	cuatro	—	2.16 ± 0.02^a	1.95 ± 0.07^a
	ocho	—	2.25 ± 0.03^a	1.93 ± 0.04^a
	doce	—	2.27 ± 0.10^a	1.90 ± 1.08^a
	dieciséis	$<10 \pm 0.00^a$	2.17 ± 0.18^a	1.65 ± 0.07^b

<10., ausencia de unidades formadoras de colonias sobre gramo (UFC/g)
 —., valor no realizado
 ±., media de la desviación estándar de dos repeticiones
 valores seguidos por la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) de acuerdo con los rangos del test Tukey

El subproducto de guayaba almacenado en congelación exhibe bajos recuentos de aerobios totales y no presenta variación significativa ($p < 0.05$) durante las dieciséis semanas de análisis (Tabla 5).

La escasa presencia de aerobios refleja el buen estado de conservación del subproducto de guayaba, ya que Franco & Landgraf (2003) estiman que un bajo recuento de aerobios se considera normal y no significativo en alimentos frescos y congelados.

García & Reátegui (2002) obtienen en pulpa de guayaba valores bajos $<10^3$ UFC/g de aerobios mesófilos, impidiendo la senescencia del fruto, alteraciones físicas, químicas y organolépticas. A su vez Ray & Bhunia (2010) mencionan que al mantener un bajo nivel de humedad y actividad de agua durante el proceso de congelación, impide que se acumule humedad en la superficie de los alimentos y así reduce la proliferación bacteriana. Debido a esto se presentan valores bajos de aerobios totales en subproducto de guayaba almacenado en congelación.

Se reporta un conteo bajo de mohos y levaduras en el subproducto de guayaba, con variación significativa ($p<0.05$) durante las dieciséis semanas de almacenamiento en congelación (Tabla 5). El descenso de crecimiento en mohos y levaduras presentado en el subproducto de guayaba se produce ya que Medina & Pagano (2003) aducen que en pulpa de guayaba, el bajo valor de pH, la presencia de ácidos orgánicos y la baja cantidad de sólidos solubles totales son factores intrínsecos que restringen el crecimiento de las poblaciones microbianas.

Reis et al. (2006) atribuyen que los reportes de recuentos bajos en mohos y levaduras encontrados en las frutas y sus derivados, indica que las condiciones de procesamiento y almacenamiento son las adecuadas para conservar el producto con respecto a la calidad microbiológica.

Ray & Bhunia (2010) aducen que las condiciones de conservación de alimentos por congelación evita o reduce la proliferación de microorganismos por la inhibición de reacciones enzimáticas, recalando que no mata a las células microbianas, ya que cuando la temperatura de un alimento desciende por debajo de -2°C baja lo suficiente, como para que una gran parte del agua se congele y se detiene la proliferación de la mayoría de los microorganismos debido a la baja disponibilidad de actividad de agua, bajo pH y reducción del porcentaje de humedad.

Los resultados encontrados durante el almacenamiento en congelación del subproducto de guayaba a las cero y dieciséis semanas presenta <10 UFC/g de coliformes y *E.coli*, que significa ausencia de crecimiento de estas bacterias. (Tabla 4).

Pierson & Smoot (2001) consideran que la ausencia de coliformes totales y *Escherichia coli*, son un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como de calidad sanitaria en agua, vegetales y diversos productos alimenticios procesados.

Medina & Pagano (2003) indican que la ausencia de *E.coli* no presenta contaminación fecal y conteos bajos del límite permitido de coliformes totales, estiman una correcta manipulación del producto desde su cosecha en el campo hasta su salida de la planta procesadora.

La congelación mantiene los recuentos microbiológicos bajos encontrados en el subproducto de guayaba y cumplen con el rango óptimo de calidad de pulpas de frutas congeladas. (INCONTEC 5468, 2007)

CONCLUSIONES

- El control microbiológico de la superficie regular de las perchas y paredes de contacto con la muestra de subproducto en la cámara de congelación reporta ausencia de contaminantes microbiológicos.
- Las temperaturas en la cámara de congelación se mantienen entre -16°C a -20°C durante las dieciséis semanas de monitoreo.
- Los subproductos de mango almacenados en congelación desde el inicio, no presentan óptimos resultados microbiológicos y químicos contribuyendo a la degradación del producto.
- Los subproductos de guayaba almacenados en congelación mantienen óptimos resultados microbiológicos y químicos que aseguran la buena calidad del producto.

RECOMENDACIONES

- Se debe homogenizar completamente la muestra durante el proceso de muestreo de los subproductos de mango y guayaba para realizar los análisis microbiológicos y químicos que garanticen resultados claros y precisos de estos análisis.
- Los análisis microbiológicos siempre se deben efectuar en la cámara de flujo laminar clase II para evitar una contaminación externa del subproducto.

BIBLIOGRAFÍA

- Amin, I. & Mukhrizah, O. (2006). Antioxidant capacity of methanolic and water extracts prepared from food-processing byproducts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (5), 778-784.
- Ajila, C. M., Jaganmoham-Rao, L., Prasada-Rao, U. J. (2010). Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera Indica L.* peel extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3406-4311.
- AOAC. (2005). *Official methods of analysis of AOAC international* (16th Ed.). Washington, D.C: Association of Official analytical Chemists.
- Artés, F. (2000). Productos vegetales procesados en fresco. En M. Lamúa (Ed.), *Aplicación del frío a los alimentos* (pp. 127-14): Editorial Mundi Prensa.
- Arvanitoyannis, I. S. & Varzakas, T. H. (2008). Vegetable Waste Treatmet: comparison and Critical Presentation of Methodologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 205-247.
- Barreiro, J. A. & Sandoval, A. J. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Caracas-Venezuela: Editorial Equinoccio.
- Barreto J.C., Trevisan M.T., Hull W. E., Erben G, de Brito E. S, Pfundstein B, Wurtele G, Spiegelhalder B, Owen R. W. (2008). Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangífera indica L.*). *J Agric Food Chem*, 56 (14), 599-610.
- Beaulieu, J. & Baldwin, E. (2001). Flavor and aroma of fresh-cut fruits and vegetables. En O. Lamikanra (Ed.), *Fresh cut fruits and vegetables*. Washington, D.C: Sci. Technol. Market. Technomics Publishing.
- Boyd, R. D., Cole, D., Rowe, D., Verran, J., Paul, A. J., West, R. H. (2001). Cleanability of soiled stainless Steel as studied by anatomic forcé microscopy and time of flight secondary ion mass spectrometry. *Journal of Food Protection*, 64, 87-93
- Brezmes, J. (2001). *Diseño de una nariz electrónica para la determinación no destructiva del grado de la maduración de la fruta*. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Catalunya, Catalunya, España.
- Bruhn, C.M. (2007). Aspectos de calidad y seguridad alimentaria de interés para el consumidor. En A. Kader (Ed.), *Tecnología postcosecha de productos hortofrutícolas* (3^a Ed, pp. 37-44). Oakland California-USA: División of Agriculture and Natural Resources.
- Brunini, M. A., De Oliveira, A. L., Barbosa-Varanda, D. (2003). Avaliação Da Qualidade de Polpa de Goiaba 'Paluma' Armazenada a -20°C. *Rev Bras Frutic Jaboticabal*, 25 (3), 394-396.

- Camacho, A., Giles, M., Ortigón, A., Palao, M., Serrano, B., Velázquez, O. (2009). *Técnicas para el análisis microbiológico del alimento* (2ª Ed.). México: Facultad de Química, UNAM.
- Carrera A., Del Valle, M., Gil R. (2008). Algunas características físicas y químicas de frutos de cinco variedades de mango en condiciones de sabana del estado de Monagas. *Agronomía Tropical*, 58 (1), 27-30.
- Carrera, A., Gil, R., Mark, D. (2009). Comportamiento postcosecha de cinco cultivares de mango tratados con CO₂ y almacenados bajo condiciones naturales, en la Estación Experimental de INIA Caripe, estado Monagas. *Revista UDO Agrícola*, 9 (1), 51-59.
- Cerezal, P., Larrauri, J. A., Piñera, R. M. (1995). Influencia de factores en el aprovechamiento de subproductos de la industria de frutas y vegetales en Cuba. *Rev. Alimentaria*, 33 (268), 101-106.
- CORPEI. (2003). *Mango: Perfil del Producto. Ecuador*. Disponible en: <http://www.corpei.org/inde.asp?LN=SP>
- CODEX. (2005). Reglamento Técnico Centroamericano. Alimentos y bebidas procesados. Néctares de frutas. Especificaciones. RTCA 67.04. 48:8.
- Correa, M. (1991). Riqueza química del mango. *Revista Universidad EAFIT*, 27 (83), 77-82.
- Djilas, S., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G. (2009). By-Products of Fruits Processing as a Source of Phytochemicals. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 15 (4), 191-202.
- Do Amaral-Santos, C. A., Santos-Coelho, A. F., Carreiro S. C. (2008). Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos Campinas*, 28 (4), 913-915.
- Engels, C., Knodler, M., Zhao, Y., Carle, R., Ganzle, M., Schieber, A. (2009). Antimicrobial activity of gallotannins isolated from mango (*Mangifera indica* L) kernels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57 (17), 7712-7718.
- European Standard. (1993). CENT/TC 243/W G2. Disponible en: http://www.ispch.cl/lab_amb/doc/microbiologia_alimentos/PRT-077.
- FAO. (2005). Tropical Fruits. Disponible en: <http://www.fao.org>
- Fernández, J. M. (2008). Generación de subproductos de la industria agroalimentaria: situación y alternativas para su aprovechamiento y revalorización. *Especial Alimentaria*, 39-42.
- Forsythe, S. J. (2000). Flora microbiana de los alimentos. En S. Forsythe (Ed.), *Alimentos Seguros: microbiología* (pp. 95-135). Zaragoza-España: Editorial Acibria S. A.
- Franco, B. D. & Landgraf, M. (2003). *Microbiología de alimentos* (2ª Ed.). São Paulo: Editora Atheneu.

- García, R. & Reátegui, M. (2002). Conservación de pulpa de *Mauritia flexuosa* L. "Aguaje" con aplicación de métodos de factores combinados. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 2 (1), 59–68.
- Gil, A., Morón de Salim, A., Gaeserte, Y. (2010). Calidad microbiológica en frutas de conchas comestibles expandidas en mercados populares de los municipios Valencia y San Diego, estado Carabobo, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 30, 24-28.
- Gómez, R. (1996). Producción y calidad de frutos de diez variedades de guayaba (*Psidium guajava* L) para consumo natural e industrial. En R. Cortés (Ed.), *El manejo agronómico de la guayaba y su agroindustria*. Barbosa: Corpoica.
- Guía de Mejores Técnicas disponibles en España (GMTD). Sector de los transformadores vegetales. (2006). Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas. (2007). R.M. N° 461/MINSA.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación INCONTEC 5468. (2007). Zumos (jugos), Néctares, Purés (pulpas) y concentrados de Frutas.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 1 911. (2009). Frutas Frescas. Guayaba. Requisitos.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 381-12. (1985). Conservas Vegetales Determinación de Acidez Titulable método potenciométrico de referencia.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 389-12. (1985). Conservas Vegetales. Determinación de la Concentración del Ion Hidrógeno (pH).
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 380-12. (1985). Conservas Vegetales. Determinación de Sólidos Solubles. Método Refractométrico.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 2 337. (2008). Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos.
- Joseph, B. & Mini-Priya, R. (2011). Review on Nutritional, Medicinal and Pharmacological Properties of Guava (*Psidium Guajava* Linn). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2 (1), 53-69.
- Karel, M. & Lund, D. B. (2003). *Physical Principles of Food Preservation*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Kong, K.W. & Ismail, A. (2011). Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of by-products from *Psidium guajava* L fruits produced during puree production industry. *Food and Bioproducts Processing*, 89 (1), 53-61.
- Kuklinski, C. (2003). *Nutrición y Bromatología*. Barcelona-España: Ediciones Omega.

- Laguado, N., Briceño, O., Rojo, R., Marín, M., Esparza, D., Moreno, L. A., Mora, J., y Ferrer, H. (1995). Efecto de la fertilización y del estado de madurez sobre la calidad de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 12 (4), 437-449
- Larrauri, J. A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends of Food Science Technology*, 10 (1), 3-8.
- Mahattanatawee, K., Manthey J. A., Luzio, G., Stephen, T., Talcott, S.T., Goodner, K., Baldwi, E. A. (2006). Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 7355-7363.
- Marquina, V., Araujo, L., Ruíz, J., Rodríguez-Malaver, A., Vit, P. (2008). Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58 (1), 98-102.
- Marín, M., Abreu de Vargas, A., Sosa, L., Castro de Rincón, C. (1993). Variación de las características químicas de los frutos de guayaba (*Psidium guajava* L) en una plantación comercial del Municipio Mara del estado Zulia. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 10 (3), 297-310.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135, 1520-1526.
- Medina, M. & Pagano, F. (2003). Caracterización de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L) tipo "Criolla Roja". *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 20, 72-86.
- Mejía, Giraldo, L. F., Martínez, Correa, H. A., Betancourt, Gutiérrez, J. E., Castrillón, Castaño, C. E. (2007). Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangífera indica* L) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia*, 3 (6), 41-62.
- Mercadante, A. Z. & Rodríguez-Amaya, D. B. (1998). Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46 (1), 128-130.
- Moreno, A., León, D. F., Giraldo, G. A., Ríos, E. (2010). Análisis del perfil de Compuestos Volátiles del Mango (*Mangífera indica* L. Var. *Tommy Atkins*) tratado por métodos combinados. *Revista Colombiana de Química*. 39 (1), 61-72.
- Muñoz J. (1985). *Refrigeración y congelación de alimentos vegetales*. Madrid: Fundación Española de la Nutrición.
- Muller, G. (1981). *Microbiología de los alimentos vegetales*. Zaragoza-España: Editorial Acribia
- Norma Internacional ISO 9000. (2000). Sistemas de la gestión de la calidad. Conceptos y vocabulario.
- Norma Mexicana NMX-F-057-S. (1980). Néctar de Mango. Dirección General de Normas.

- Nguyen-the, C. & Carlin, F. (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34 (4), 371-401.
- Oruña, M. J., González, M. J., López, J., Simal, J. (1997). Effects of freezing on the pigment content in green beans and Padrón peppers. *Lebensmittel Utersuchung und Forschung A*, 205, 148-152.
- Pierson, M. & Smoot, L. (2001). Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. En M. Doyle, L. Beuchat & T. Montville (Eds.), *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. (2ª Ed, pp. 71-87). USA: ASM Press.
- Pinto, A. (1996). Genética e melhoramento da mangueira-Sinopse. En J. A São, J. Martins, I. Souza, O. B. Morais, Vitoria da Conquista. Bahía, Manga (Eds.), *Tecnología da produção e mercado*. (pp. 16-31), Do Sudoeste da Bahia: Universidade Estadual
- Prats, G. (2005). *Microbiología clínica*. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana.
- Ray, B. & Bhunia, A. 2010. Control de microorganismos en alimentos a bajas temperaturas. En B. Ray & A. Bhunia (Eds.), *Fundamentos de Microbiología de los Alimentos* (4ª Ed, pp. 269–272). México: Editorial Mc Graw Hill.
- Reis, R. C., Ramos, A. M., Regazzi, A. J., Minim, V. P. R., Stringueta, P. C. (2006). Almacenamiento de mango secado: Análisis fisicoquímico, microbiológico, color y sensorial. *Ciencia Tecnología Alimentaria*, 5 (3), 214-225.
- Rincón, A., Montilla, E., Valverde, L. (2008). Evaluación de dieciséis cultivares de mango (*Mangífera Indica L*) en los llanos venezolanos. *Agricultura Andina*, 15, 3-14.
- Ribeiro, C. T., Polo, S. F., Brunini, M. A. (2010). Qualidade de Polpa de Goiaba, Manga E de Suco de Cajú, Laranja e Uva Congelados e Armazenados a -18°C. *Nucleus*, 7 (1), 285-294.
- Ríos, E., Giraldo, A., Duque, A. (2007). Predicción de la Actividad de Agua en Frutas Tropicales. *Revista de Investigaciones- Universidad del Quindío*, 17, 27-32.
- Rivas, N., Figueroa Y. M. (1979). Conservación de las pulpas de mangos Glenn, Keitt, Kent y Palmer, mediante congelación. *Agronomía Tropical*, 29 (4), 327-339.
- Rodríguez, E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*, 7 (1), 153-170.
- Rodríguez, N., Valdés, J., Rodríguez, J., Velásquez, J., Rivero, D., Martínez, F., González, G., Sourd, D., González, L., Cañizares, J. (2010). Genetic resources and breeding of guava (*Psidium guajava L.*) in Cuba. *Biotechnol Apl*, 27 (3), 238-241.
- Rodríguez, G., Del Valle- Mark, P., Silva-Acuña, R. (1999). Fluctuación poblacional y aplicación del análisis de sendero a la época del incremento de *Anastrepha striata* Schiner (Diptera: Tephritidae) afectando a *Psidium guajava L.* en el Estado Monagas, Venezuela. *Bol. Entomol. Venezuela*, 14 (1), 63-76.

- Romero, P. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana* (3ª Ed.). México: Editorial Médica Panamericana.
- Salinas-Hernández, R. M., Pirovani, M. E., Gardea-Béjar A., González-Aguilar, G. A. (2010). Cambios fisicoquímicos y sensoriales limitantes de la vida de anaquel de mango fresco cortado. *Rev. Fitotec. Mex*, 33 (3), 215-223.
- Schieber, A., Stintzing, F.C., Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12 (11), 401-413.
- Sirijariyawat, A. & Charoenrein, S. (2012). Freezing characteristics and texture variation after freezing and thawing of four fruit types. *Songklanakarin Journal of Science and Thecnology*, 34 (5), 517-523.
- Suárez, J., Pérez De Camacaro, M., Giménez, A. (2009). Efecto de la temperatura y estado de madurez sobre la calidad postcosecha de la fruta de guayaba (*Psidium guajava L*) procedente de Mercabar, estado Lara, Venezuela. *Revista UDO Agrícola*, 9 (1), 60-69.
- Sumaya-Martínez, M. T., Sánchez-Herrera, L. M., Torres-García, G., García-Paredes, D. (2012). Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 16 (30), 826-833
- Telis, V. R., Telis-Romero, J., Sobral, P. J., Gabas A. L. (2007). Freezing Point and Thermal Conductivity of Tropical Fruit Pulps: Mango and Papaya. *International Journal of Food Properties*, 10 (1), 73-84.
- Torres, J. 2007. Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango (*Mangífera indica L*), Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Yam-Tzec, J., Villaseñor-Perea, C., Romantchik-Kriuchkova, E., Soto-Escobar, M., & Peña-Peralta, M. (2010). Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava L.*) y sus principales características en la postcosecha. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 19 (4), 74-82.

ANEXOS

Anexo 1.

Resultados químicos y microbiológicos del subproducto de mango

- ANÁLISIS QUÍMICOS

ANOVA unidireccional: pH vs. Semanas

Semanas	pH	RESID1	AJUSTES1
0	4.38	0.005	4.38
0	4.37	-0.005	4.38
4	4.30	-0.005	4.31
4	4.31	0.005	4.31
8	4.12	-0.005	4.13
8	4.13	0.005	4.13
12	4.28	0	4.28
12	4.28	0	4.28

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	3	0.0667375	0.0222458	593.22	0.000
Error	4	0.0001500	0.0000375		
Total	7	0.0668875			

S = 0.006124 R-cuad. = 99.78% R-cuad.(ajustado) = 99.61%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
0	2	4.38000	A
4	2	4.31000	B
12	2	4.28000	C
8	2	4.13000	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Acidez (% expresado en ácido cítrico) vs. Semanas

Semanas	Acidez(% ácido cítrico)	RESID1	AJUSTES1
0	0.33	0	0.33
0	0.33	0	0.33
4	0.34	0.005	0.34
4	0.33	-0.005	0.34
8	0.35	0	0.35
8	0.35	0	0.35
12	0.34	0.005	0.34
12	0.33	-0.005	0.34

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	3	0.0004500	0.0001500	6.00	0.058
Error	4	0.0001000	0.0000250		
Total	7	0.0005500			

S = 0.005 R-cuad. = 81.82% R-cuad.(ajustado) = 68.18%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
8	2	0.350000	A
12	2	0.340000	A
4	2	0.340000	A
0	2	0.330000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Sólidos solubles (°Brix) vs. Semanas

Semanas	Sólidos solubles(°Brix)	RESID1	AJUSTES1
0	12.6	0.2	12.4
0	12.2	-0.2	12.4
4	14.4	-0.4	14.8
4	15.2	0.4	14.8
8	15.6	0.5	15.1
8	14.6	-0.5	15.1
12	14.0	-0.2	14.2
12	14.3	0.2	14.2

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	3	8.764	2.921	12.37	0.017
Error	4	0.945	0.236		
Total	7	9.709			

S = 0.4861 R-cuad. = 90.27% R-cuad.(ajustado) = 82.97%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
8	2	15.1000	A
4	2	14.8000	A
12	2	14.2000	A
0	2	12.4000	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

ANOVA unidireccional: Aerobios totales log UFC/g vs. Semanas

Semanas	Aerobios totales UFC/g	Aerobios totales log UFC/g	RESID1	AJUSTES1
0	930000	5.96848	-0.128413	6.10
0	1680000	6.22531	0.128413	6.10
4	680000	5.83251	-0.221976	6.05
4	1890000	6.27646	0.221976	6.05
8	2010000	6.30320	0.038943	6.26
8	1680000	6.22531	-0.038943	6.26
12	930000	5.96848	-0.071053	6.04
12	1290000	6.11059	0.071053	6.04

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	3	0.0639	0.0213	0.59	0.654
Error	4	0.1447	0.0362		
Total	7	0.2086			

S = 0.1902 R-cuad. = 30.64% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
8	2	6.26	A
0	2	6.10	A
4	2	6.05	A
12	2	6.04	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Mohos y levaduras log UFC/g vs. Semanas

Semanas	Mohos y levaduras UFC/g	Mohos y levaduras log UFC/g	RESID1	AJUSTES1
0	7400	3.86923	-0.0820960	3.95
0	10800	4.03342	0.0820960	3.95
4	7800	3.89209	-0.0686446	3.96
4	10700	4.02938	0.0686446	3.96
8	9800	3.99123	-0.0231002	4.01
8	10900	4.03743	0.0231002	4.01
12	9200	3.96379	0.0071989	3.97
12	8900	3.94939	-0.0071989	3.97

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	3	0.00515	0.00172	0.29	0.834
Error	4	0.02407	0.00602		
Total	7	0.02923			

S = 0.07758 R-cuad. = 17.63% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
8	2	4.01	A
4	2	3.96	A
12	2	3.97	A
0	2	3.95	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 2.

Resultados químicos y microbiológicos del subproducto de guayaba

- ANÁLISIS QUÍMICOS

ANOVA unidireccional: pH vs. Semanas

Semanas	pH	RESID1	AJUSTES1
0	4.07	0.000	4.07
0	4.07	0.000	4.07
4	4.06	0.000	4.06
4	4.06	0.000	4.06
8	4.06	0.005	4.06
8	4.05	-0.005	4.06
12	4.05	0.010	4.04
12	4.03	-0.010	4.04
16	4.04	0.005	4.05
16	4.05	-0.005	4.05

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	4	0.0008600	0.0002150	3.07	0.125
Error	5	0.0003500	0.0000700		
Total	9	0.0012100			

S = 0.008367 R-cuad. = 71.07% R-cuad.(ajustado) = 47.93%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
0	2	4.070000	A
4	2	4.060000	A
8	2	4.060000	A
16	2	4.050000	A
12	2	4.040000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Acidez (% expresado en ácido cítrico) vs. Semanas

Semanas	Acidez(% ácido cítrico)	RESID1	AJUSTES1
0	0.39	0.000	0.39
0	0.39	0.000	0.39
4	0.37	0.005	0.38
4	0.38	-0.005	0.38
8	0.38	0.010	0.37
8	0.36	0.010	0.37
12	0.38	0.010	0.37
12	0.36	-0.010	0.37
16	0.36	0.005	0.36
16	0.35	-0.005	0.36

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	4	0.001260	0.000315	3.15	0.120
Error	5	0.000500	0.000100		
Total	9	0.001760			

S = 0.01 R-cuad. = 71.59% R-cuad.(ajustado) = 48.86%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
0	2	0.390000	A
4	2	0.380000	A
8	2	0.370000	A
16	2	0.370000	A
12	2	0.360000	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Sólidos solubles (°Brix) vs. Semanas

Semanas	Sólidos solubles(°Brix)	RESID1	AJUSTES1
0	7.9	0.00	7.9
0	7.9	0.00	7.9
4	7.6	0.00	7.6
4	7.6	0.00	7.6
8	6.9	0.05	6.9
8	6.8	-0.05	6.9
12	6.7	0.05	6.7
12	6.6	-0.05	6.7
16	6.0	0.00	6.0
16	6.0	0.00	6.0

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	4	4.63000	1.15750	578.75	0.000
Error	5	0.01000	0.00200		
Total	9	4.64000			

S = 0.04472 R-cuad. = 99.78% R-cuad. (ajustado) = 99.61%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
0	2	7.9000	A
4	2	7.6000	A
8	2	6.9000	A
12	2	6.7000	A
16	2	6.0000	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

ANOVA unidireccional: Aerobios totales log UFC/g vs. Semanas

Semanas	Aerobios totales UFC/g	Aerobios totales log UFC/g	RESID1	AJUSTES 1
0	150	2.17609	-0.027179	2.20
0	170	2.23045	0.027179	2.20
4	140	2.14613	-0.014982	2.16
4	150	2.17609	0.014982	2.16
8	170	2.23045	-0.024152	2.25
8	190	2.27875	0.024152	2.25
12	220	2.34242	0.069151	2.27
12	160	2.20412	-0.069151	2.27
16	110	2.04139	-0.129819	2.17
16	200	2.30103	0.129819	2.17

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	4	0.01979	0.00495	0.53	0.719
Error	5	0.04636	0.00927		
Total	9	0.06616			

S = 0.09629 R-cuad. = 29.92% R-cuad. (ajustado) = 0.00%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
12	2	2.27	A
8	2	2.25	A
0	2	2.20	A
16	2	2.17	A
4	2	2.16	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA unidireccional: Mohos y Levaduras log UFC/g vs. Semanas

Semanas	Mohos y Levaduras UFC/g	Mohos y Levaduras log UFC/g	RESID1	AJUSTES1
0	110	2.04139	-0.0523677	2.09
0	140	2.14613	0.0523677	2.09
4	80	1.90309	-0.0484550	1.95
4	100	2.00000	0.0484550	1.95
8	90	1.95424	0.0255763	1.93
8	80	1.90309	-0.0255763	1.93
12	70	1.84510	-0.0545722	1.90
12	90	1.95424	0.0545722	1.90
16	40	1.60206	-0.0484550	1.65
16	50	1.69897	0.0484550	1.65

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Semanas	4	0.20630	0.05157	11.65	0.010
Error	5	0.02214	0.00443		
Total	9	0.22844			

S = 0.06654 R-cuad. = 90.31% R-cuad. (ajustado) = 82.55%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Semanas	N	Media	Agrupación
0	2	2.09	A
4	2	1.95	A
8	2	1.93	A
12	2	1.90	A
16	2	1.65	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 3. Procesamiento de los Subproductos Mango y Guayaba

1. Recepción y Muestreo de los Subproductos

Subproducto mango



Subproducto guayaba



2. Distribución y almacenamiento de los subproductos

Subproductos de mango



Subproductos de guayaba



Almacenamiento de los subproductos en la cámara de congelación entre -16°C y -20°C



Procesamiento de los Subproductos Mango y Guayaba

3. Control de Temperatura (Termocupla) en la Cámara de Congelación



Termocupla Dickson Data Loggers



Termocupla dentro del congelador junto a las muestras

4. Análisis microbiológicos en los subproductos de mango y guayaba



Siembra microbiológica en Cámara Flujo Laminar clase II

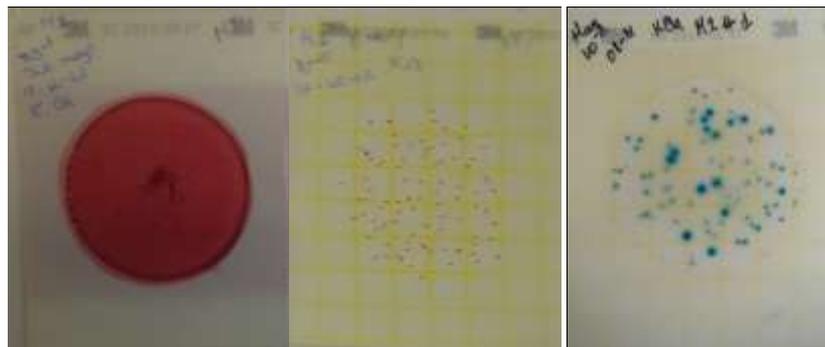


Incubación placas Petrifilm^{3M} 35°C Aerobios 48h. *E.Coli*/Coliformes 24h.



Incubación placas Petrifilm^{3M} 30°C Mohos y Levaduras 3-5 días.

Resultados microbiológicos subproducto mango

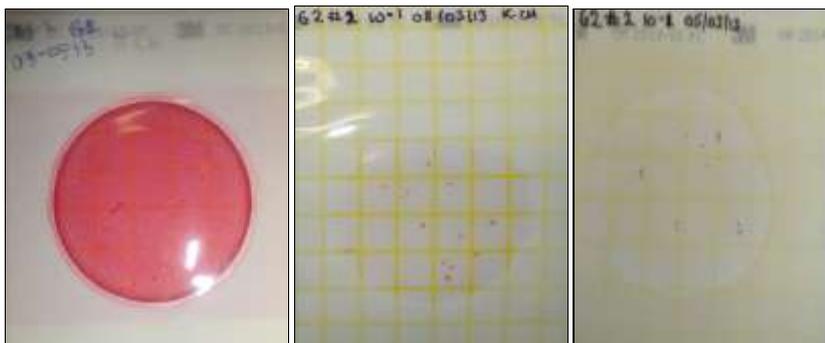


E.Coli/Coliformes

Aerobios

Mohos y Levaduras

Resultados microbiológicos subproducto guayaba



5. Análisis Químicos en los subproductos de mango y guayaba



Determinación de acidez



Determinación de Sólidos solubles (°Brix)



Determinación de pH