



**Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en
vegetales de IV Gama (mínimamente procesados)**

Dávila Vilañez, Josselyn Daniela y Gómez Ramos, Alison Gabriela

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura


Carrera de Ingeniería en Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniería en Agropecuaria

Dra. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee. Ph.D.

22 de febrero del 2023

Reporte de verificación de contenido



CERTIFICADO DE ANÁLISIS
iagguiter

CORRECIÓN_TESIS_DAVILA_GOMEZ (1)

5%

Similitud

Tesis entre tesis
+ 1% similitud entre tesis
+ 4% similitud en el documento

Nombre del documento: CORRECIÓN_TESIS_DAVILA_GOMEZ (1).pdf

Id de documento: 1205348673

Fecha de creación original: 1 jul 2018

Depositar: RICDY GERMÁN ENRIQUE JARAMILLO

Fecha de depósito: 18/02/2018


Fecha de alta: 18/02/2018

Fecha de la verificación: 18/02/2018

Número de páginas: 13.633

Número de palabras: 16.200

Distribución de las similitud en el documento:



Fuentes principales detectadas

Nº	Descripciones	Similitud	Citaciones	Datos adicionales
1	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	2%		Palabras similares: 16 (21% palabras)
2	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	2%		Palabras similares: 26 (21% palabras)
3	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
4	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
5	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)

Fuentes con similitud fortuita

Nº	Descripciones	Similitud	Citaciones	Datos adicionales
1	www.rebelde.org	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
2	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
3	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
4	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
5	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)

Fuentes ignoradas Estas fuentes han sido ignoradas debido a la baja similitud o al número de citas.

Nº	Descripciones	Similitud	Citaciones	Datos adicionales
1	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	2%		Palabras similares: 26 (21% palabras)
2	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	2%		Palabras similares: 26 (21% palabras)
3	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
4	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
5	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)
6	Epub: Epubs de tesis de la biblioteca de la Universidad de la Sabana	< 1%		Palabras similares: 11 (11% palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitud detectada) Estas fuentes han sido citadas en el documento sin similitud detectada.



Sánchez Llaguno, Sungey Naynee Ph.D.
C.C. 1205348673



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA
AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO
DOMINGO

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de integración curricular: "Estudio de las características fisicoquímicas y compuestos contaminantes del aceite de semilla de guanábana (*Annona muricata*) considerando distintos estados fisiológicos y métodos de extracción" fue realizado por las señoritas Dávila Vilañez Josselyn Daniela y Gómez Ramos Alison Gabriela; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 22 de febrero del 2023



Sánchez Llaguno, Sungey Naynee Ph.D.

C.C. 1205348673



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Responsabilidad de Autoría

Nosotras, Dávila Vilañez Josselyn Daniela y Gómez Ramos Alison Gabriela, con cédulas de ciudadanía N° 1726415035 y N° 0502886245, declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: "Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en vegetales de IV Gama (mínimamente procesados)" es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo, 22 de febrero del 2023

Dávila Vilañez Josselyn Daniela.

C.C.: 1726415035

Gómez Ramos Alison Gabriela

C.C.: 0502886245



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Autorización de Publicación

Nosotros Dávila Villañez Josselyn Daniela y Gómez Ramos Allison Gabriela, con cédulas de ciudadanía N° 1726415035 y N° 0502886245, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Título: "Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en vegetales de IV Gama (minimamente procesados)"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Santo Domingo, 22 de febrero del 2023

Dávila Villañez Josselyn Daniela.

C.C.: 1726415035

Gómez Ramos Allison Gabriela

C.C.: 0502886245

Dedicatoria

A Dios quien ha sido mi guía y fortaleza en lo largo de este camino.

A mi madre Elizabeth V., mi abuelita Rosa M., y mi segunda madre Rossana C., quienes con su amor, paciencia y dedicación me han permitido alcanzar una meta más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de trabajo, perseverancia, esfuerzo y valentía.

A mi querido compañero de vida Leonardo P., quien ha estado en las buenas y en las malas durante este proceso académico, apoyándome incondicionalmente.

A mi querido hijo Axel, quien ha llegado a mi vida para motivarme aún más en la culminación de este proceso académico.

A mi tía Maritza V., por su cariño y apoyo incondicional, por estar conmigo en todo momento.

A mis hermanos Alejandro y Sebastián y a toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y acompañándome en todas las metas y sueños por seguir.

Dani

Este trabajo está dedicado a Dios por la vida y el amor que me demuestra todos los días.

Con todo el cariño, a mis padres Rodrigo y Jenny, que me han brindado el ejemplo del esfuerzo y la dedicación a lo largo de mi vida, de igual manera a mis hermanos Rodrigo y Darío que me han apoyado incondicionalmente para que pueda llegar a este momento importante en mi formación profesional.

A mi querida abuelita Isabel que con su amor me ha demostrado que en la vida se pueden lograr grandes cosas, y a toda mi familia que me ha ayudado en cada paso.

A mi gran compañero de vida Jonathan, quien ha sido fundamental en este proceso, me ha brindado amor, apoyo, motivación y sobre todo siempre ha creído en mí.

Ali

Agradecimiento

Agradezco a Dios quien ha sido mi principal guía durante este camino, a mi abuelita Rosa quien con sus sabios consejos me enseñó a seguir adelante y nunca rendirme, a mi madre Ely que siempre creyó en mí dándome todos los ánimos para continuar, a mi segunda mamá que me apoyo incondicionalmente, a mis tías y hermanos que siempre han estado en cualquier circunstancia de la vida muchas gracias.

Agradezco a mi pequeña familia Leonardo y Axel, que se han convertido en mi principal motivación para seguir adelante.

Mis sinceros agradecimientos a mi tutora Ph.D. Sungey Sánchez por permitirme realizar esta investigación, y al Ph.D. Juan Neira por la colaboración en este trabajo.

Agradezco a mis amigos y compañeros quienes me han dejado grandes enseñanzas de vida, tanto en lo profesional como en lo personal, en especial a Angie, Anita, Yarito, Jonathan, Carol, Jessica, quienes me brindaron su sincera amistad, ánimos y consejos cuando más lo necesitaba para poder culminar con este proceso gracias.

Agradezco a Alison Gómez compañera de tesis, por toda la dedicación y esfuerzo que ha demostrado en este trabajo gracias.

Dani

Agradezco a Dios, por guiarme y acompañarme en todo el camino.

A mis padres Rodrigo y Jenny que con su formación han sabido orientarme para lograr mis objetivos, siempre dando mi mejor esfuerzo, tratando de ser mejor persona todos los días, en cada etapa de mi vida.

A mis hermanos Rodrigo y Darío que, en todo momento, han demostrado ser los mejores amigos que la vida me dio, ayudándome en todo.

Le agradezco a mi querida abuelita Isabel, que con su calidez me llena de ánimos para continuar superándome. A mi abuelito Francisco, quién me brindó su ejemplo de dedicación, aunque tuvo que marcharse muy pronto. A toda mi familia les agradezco de corazón.

Gracias a mi principal apoyo al final de este camino, Jonathan, quien ha sido fundamental para mantener la motivación, con su amor me ha impulsado a cumplir mis propósitos.

Mis sinceros agradecimientos a mi tutora Ph.D. Sungey Sánchez por la realización de este trabajo, y a Ph.D. Juan Neira por la asesoría brindada.

A mis amigos, en especial a Nicole que, aunque a la distancia siempre me ha apoyado, a Susana y Jessica quienes me acompañaron desde el principio de esta aventura y a todos mis amigos del “combato” quienes me brindaron su amistad y me enseñaron que la buena compañía hace la vida más agradable. A mi compañera de trabajo Daniela por toda la paciencia y dedicación. Muchas gracias.

Ali

Índice de contenido

Carátula	1
Reporte de verificación de contenido	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimiento	8
Índice de contenido.....	10
Índice de tablas.....	15
Índice de figuras.....	17
Resumen	18
Abstract.....	19
Capítulo I	20
Introducción	20
Objetivos.....	21
Objetivo general	21
Objetivos específicos	21
Hipótesis	22
Hipótesis para el factor (vegetales)	22
Hipótesis para el factor (concentraciones de nisina)	22

Capítulo II	23
Revisión de literatura	23
Alimentos de IV gama.....	23
Importancia	23
Desperdicio de alimentos.....	24
Seguridad alimentaria	24
Conservación de alimentos de iv gama.....	25
Desinfección	25
Modo de acción de los ácidos cítricos.....	26
Bacterias acido lácticas.....	26
Bacteriocinas	26
Nisina.....	27
Importancia	28
Estructura.....	28
Características físicas y químicas	29
Mecanismo de acción antimicrobiana de nisina	29
Toxicidad e ingesta diaria admisible (ida).....	30
Aplicación y uso de la nisina en alimentos	30
Capítulo III	32
Metodología	32

Ubicación del área de investigación	32
Ubicación política	32
Ubicación geográfica.....	32
Ubicación ecológica	33
Diseño experimental	33
Factores de experimento.....	33
Tratamiento a comparar	34
Tipo de diseño	34
Repeticiones	35
Análisis estadístico	35
Esquema del análisis de varianza	35
Análisis funcional	35
Variables evaluadas.....	36
Materiales de las variables evaluadas.....	36
Metodología de las variables evaluadas.....	38
Análisis físico químicos de las muestras con la aplicación del bioconservante.....	39
Análisis microbiológico de las muestras de apio, espinaca y zanahoria	42
Capítulo IV	44
Resultados.....	44
Análisis de varianza para la variable de ph	44

Análisis de varianza para la variable de acidez	45
Análisis de varianza para la variable de humedad	46
Análisis de varianza para la variable de materia seca	47
Análisis de varianza para la variable de ceniza	48
Resultados de la evaluación en la eficacia de la nisina, como bioconservante considerando alimentos de cuarta gama de tres vegetales diferente: espinaca, apio y zanahoria. (factor a) tukey $\leq 0,05$	49
Resultados de la evaluación en la eficacia de la nisina, como bioconservante considerando distintas concentraciones que son: 0, 100, 200, 300 ppm. (factor b) tukey $\leq 0,05$	51
Resultados de la evaluación en la eficacia de la nisina, como bioconservante considerando alimentos de cuarta gama de tres vegetales diferentes, bajo la influencia de diferentes concentraciones (interacción a*b) tukey $\leq 0,05$	54
Gráficos de superficie para las variables físico-químicas.	58
Resultados microbiológicos.....	67
Capítulo V	69
Discusión	69
Pruebas físico químicas de los vegetales de cuarta gama	69
Con respecto al ph.....	69
Con respecto a la acidez.....	70
Con respecto a la humedad y materia seca	72

Con respecto a ceniza	73
Con respecto a los parámetros microbiológicos	74
Capítulo VI	76
Conclusiones	76
Recomendaciones	78
Capítulo VII	79
Bibliografía	79

Índice de tablas

Tabla 1. Bacteriocidas a partir de bacterias ácido lácticas	27
Tabla 2. Características de la nisina	29
Tabla 3. Detalle de las características edafoclimáticas del lugar de investigación	33
Tabla 4. Factores y niveles a probar en el estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de IV Gama	33
Tabla 5. Tratamientos a comparar en el estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en vegetales de IV gama.....	34
Tabla 6. Esquema del análisis de varianza del estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en vegetales de IV gama.....	35
Tabla 7. Materiales para la realización de los diferentes procesos en productos vegetales de (IV gama) para la aplicación del bioconservante nisina.	36
Tabla 8. Análisis de varianza para la variable de pH.....	44
Tabla 9. Análisis de varianza para la variable de acidez.....	45
Tabla 10. Análisis de varianza para la variable de humedad	46
Tabla 11. Análisis de varianza para la variable de materia seca.....	47
Tabla 12. Análisis de varianza para la variable de ceniza	48
Tabla 13. Análisis de significancia Tukey $\leq 0,05$ en el factor A.....	49
Tabla 14. Análisis de significancia Tukey $\leq 0,05$ en el factor B	51
Tabla 15. Análisis de significancia de Tukey $\leq 0,05$ (interacción A*B)	54
Tabla 16. Varianza Total explicada.....	63

Tabla 17. Matriz de correlaciones	64
Tabla 18. Recuento de UFC/g de aerobios mesófilos, mohos y levaduras	67
Tabla 19. Recuento de UFC/g de E. coli, Enterobacterias y Coliformes.....	67

Índice de figuras

Figura 1. Representación de la nisina A como péptido maduro activo.....	28
Figura 2. Mapa del lugar de investigación	32
Figura 3. Análisis de significancia Tukey en el factor A	49
Figura 4. Análisis de significancia Tukey $\leq 0,05$ en el factor B	52
Figura 5. Análisis de significancia de Tukey $\leq 0,05$ (interacción A*B).....	55
Figura 6. Gráfico de superficie para pH.....	58
Figura 7. Gráfico de superficie para acidez	59
Figura 8. Gráfico de superficie para humedad.....	60
Figura 9. Gráfico de superficie para materia seca	61
Figura 10. Gráfico de superficie para ceniza	62
Figura 11. Gráfico de sedimentación de las variables	63
Figura 12. Gráfico de dos componentes en espacio rotado.....	65
Figura 13. Gráfico de tres componentes en espacio rota (Componente1: pH; Componente 2: Acidez; Componente 3:.....	65
Figura 14. Dendrograma	66

Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo, estudiar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en vegetales de IV Gama, (mínimamente procesados). El trabajo fue llevado a cabo en el laboratorio de Bromatología ubicado en la Universidad de Las Fuerzas Armadas - ESPE extensión Santo Domingo. Para esto, los vegetales de IV Gama evaluados fueron apio, espinaca y zanahoria, desinfectados con ácido cítrico previamente a la aplicación nisina en diferentes concentraciones de: 0, 100, 200 y 300 ppm. El experimento se realizó bajo un ANOVA con modelo D.B.C.A, de 12 tratamientos y tres repeticiones, conformando 36 unidades experimentales. Las variables evaluadas fueron físicas-químicas (pH, acidez, humedad, ceniza y materia seca) y parámetros microbiológicos (UFC/ml en mohos y levaduras, aerobios, enterobacterias, coliformes y *Escherichia coli*) para determinar la calidad final del producto bajo el efecto del bioconservante. Los mejores resultados arrojaron los tratamientos: Espinaca + 300 ppm, Zanahoria + 100 ppm y Apio + 100 ppm basado en análisis de calidad, posteriormente se realizó análisis microbiológicos, UFC en mohos y levaduras, aerobios, enterobacterias, coliformes y *Escherichia coli*, una vez valorado microbiológicamente se llevó a cabo los análisis físico-químicos como: variables de pH, acidez titulable, humedad y ceniza, para determinar la calidad final del producto bajo el efecto de bioconservantes.

Palabras clave: nisina, alimento, análisis físico-químico, microbiológico.

Abstract

The objective of this research was to study the effect of different concentrations of nisin as a biopreservative in IV range vegetables (minimally processed). The work was carried out in the Bromatology laboratory located at the Universidad de Las Fuerzas Armadas - ESPE Santo Domingo extension. The fresh-cut vegetables evaluated were celery, spinach and carrots, disinfected with citric acid prior to the application of nisin at different concentrations of 0, 100, 200 and 300 ppm. The experiment was carried out under an ANOVA with a D.B.C.A. model, with 12 treatments and three replications, forming 36 experimental units. The variables evaluated were physical-chemical (pH, acidity, humidity, ash and dry matter) and microbiological parameters (CFU/ml in molds and yeasts, aerobes, enterobacteria, coliforms and *Escherichia coli*) to determine the final quality of the product under the effect of the biopreservative. The best results were obtained with the treatments: Spinach + 300 ppm, Carrot + 100 ppm and Celery + 100 ppm based on quality analysis, subsequently microbiological analysis was performed, CFU in molds and yeasts, aerobes, enterobacteria, coliforms and *Escherichia coli*, once microbiologically valued, physicochemical analysis was carried out such as: pH variables, titratable acidity, moisture and ash, to determine the final quality of the product under the effect of biopreservatives.

Key words: nisin, food, physical-chemical analysis, microbiological

Capítulo I

Introducción

Los vegetales y frutas mínimamente procesados en fresco (MPF), a los cuales también se los conoce como cuarta gama (IV gama), hacen referencia a los productos que contienen un proceso de post cosecha mínimo, así como: lavado, troceado o pelado, los mismos no deben contener ningún tipo de preservante químico ya que la manera de preservarlos es manteniendo una cadena de frío, en donde se garantiza un alimento saludable. Estos alimentos han mostrado un alza significativa en los últimos años. Lo que obedece a que se presentan como una alternativa atractiva al consumo de productos frescos, por su presentación práctica y su larga vida útil, pues mantienen sus características nutricionales intactas (Prefaur, 2014).

La nisina es un bioconservante con un potencial natural que ha sido usado en diferentes matrices alimentarias, se sabe que en esta industria una de las obligaciones más importantes es garantizar la inocuidad de los productos para el consumo de la población, por ello es necesario el uso de conservantes. La nisina es un péptido antimicrobiano producido por cepas de *Lactococcus lactis*, aprobada por la OMS como única bacteriocina para ser usada como conservante. Es efectiva para eliminar microorganismos patógenos y producir una biopreservación del alimento, debido a que no altera sus características sensoriales (Cano D. , Gómez, Oviedo, & Ríos, 2015).

La presente investigación tiene como finalidad realizar un aporte a la industria alimenticia respecto a los productos de cuarta gama, lo importante es conocer las propiedades que se confiere con la nisina al producto para que se produzca esta conservación de los alimentos, determinando cual es el mejor tratamiento para este proceso, tratando con esto de evitar el porcentaje de desperdicio alimenticio, aumentando la vida útil de los productos.

Objetivos

Objetivo General

Estudiar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante aplicado en vegetales de IV Gama.

Objetivos Específicos

- Evaluar la eficacia del nicina, como bioconservante considerando alimentos de cuarta gama de tres vegetales diferente: Espinaca, Apio y Zanahoria.
- Valorar diferentes concentraciones de nisina en alimentos de IV Gama, para determinar el tiempo de conservación.
- Realizar análisis físico químicos y microbiológicos a los diferentes tratamientos para determinar la efectividad de la aplicación.

Hipótesis

Hipótesis para el Factor (Vegetales)

Ho: El tipo de vegetal no influye en la conservación cuando se aplica la nisina

Ha: El tipo de vegetal influye en la conservación cuando se aplica la nisina

Hipótesis para el Factor (Concentraciones de nisina)

Ho: La aplicación de nisina en diferentes concentraciones no influye en la conservación de los vegetales.

Ha: La aplicación de nisina en diferentes concentraciones influye en la conservación de los vegetales.

Capítulo II

Revisión de literatura

Alimentos de IV Gama

El concepto se basa en la necesidad y conveniencia de los consumidores, lo que quiere decir que estos productos originalmente están tratados de forma exigua, por ende, se producen cambios poco notables en sus características nutritivas y organolépticas.

Se han desarrollado por la satisfacción de la industria que ha cambiado sobremanera en los años recientes, debido a que se necesitan los alimentos vivos acondicionados para su consumo íntegro y directo, estos métodos físicos los cuales pueden incluir despedunculado, deshojado, desvainado, dessemillado, deshuesado, pelado, partido, cortado, rallado u otros; deben responder a técnicas sostenibles que mantienen los alimentos en refrigeración y generalmente envasados en atmósfera modificada, en una película plástica que mantiene las propiedades sensoriales del producto original y con calidad garantizada (Artés, 2018).

Importancia

Últimamente la demanda ha crecido en los comedores institucionales, empresas, cadenas de establecimientos de comidas preparadas, en los restaurantes, presentan menor demanda que para el consumo doméstico. Se ha incrementado la tendencia del uso de vegetales para mejorar la salud con diferentes dietas que crean nuevos hábitos familiares, es decir sacar provecho de todo el tiempo libre, usando menor tiempo para la preparación de la comida y su simplificación, debido a que la mujer juega un rol importante en el mundo laboral, hecho que ha ido evolucionando con el tiempo y su incorporación representa facilitar las acciones del diario vivir (Artés, 2018). También influyen factores demográficos como el progresivo envejecimiento de la población y el aumento de personas que viven solas.

Desperdicio de alimentos

Los compradores eligen las frutas y verduras según el aspecto y tacto, las expectativas del consumidor también determinarán su percepción de la calidad de los alimentos; lo que puede ser inaceptable para un consumidor, puede ser perfectamente aceptable a otro. Los comerciantes constantemente revisan para tirar productos dañados o demasiado maduros. El impacto que produce este problema posee grandes magnitudes, la pérdida y el desperdicio también se traducen en hambruna, malgasto de insumos, tierra, agua, energía y otros recursos utilizados para crecer, procesar y manipular el producto, potenciando la emisión de gases de efecto invernadero que contribuyen al calentamiento global, se pierden 1300 millones de toneladas de comida producida para el consumo humano, un tercio del total (FAO, 2021). Por todo esto, las investigaciones que favorecen la conservación de los productos, incluyendo una mejor presentación, aportan un grano de arena para combatir un grave problema.

Seguridad alimentaria

Algunos alimentos pueden presentar inconvenientes para el consumidor, podrían albergar patógenos peligrosos o ser contaminados con algún producto químico. Lavar, desinfectar, pelar o trocear ayuda a eliminar algunos de estos peligros. Las investigaciones industriales que están relacionadas al procesado mínimo en fresco de hortalizas tratan de optimizar las técnicas de desinfección, conservación y distribución, haciéndolas cada vez menos severas para el producto y más respetuosas con el medio ambiente. Esta industria desea satisfacer la demanda de productos cada vez más inocuos, frescos, naturales y fáciles de consumir (FAO, 2021).

Conservación de Alimentos de IV Gama

El mejoramiento de la base tecnológica, renovación de líneas de procesado e implantación de técnicas alternativas o emergentes, aportan en la conservación de los productos que optimizan la calidad, reduzcan pérdidas, ofrezcan más seguridad al producto y prolongan su vida comercial. Actualmente, por la investigación y desarrollo se permiten entre 7 hasta 10 días, dependiendo de la distancia a los mercados y el tipo de producto. En cuanto a este proceso, tiene como base principal que los alimentos permanezcan frescos, que reciban tratamientos físicos, refrigeración y normalmente sean envasado en atmósfera modificada, con algún coadyuvante específico, como desinfección con Cl u otra alternativa y/o acidificación del agua de lavado, el uso de N₂ o de CO₂ (para la generación activa de la atmósfera inicial), la utilización de eliminadores de etileno o de recubrimientos comestibles (Diezma, 2016).

Desinfección

Los vegetales están expuestos a contaminarse con microorganismos como bacterias patógenas, que son peligrosas para los consumidores. La desinfección se puede realizar con diferentes agentes, como cloro o acidificación del medio para el lavado. El término desinfección se refiere a la destrucción de microorganismos, mediante procedimientos físicos o químicos aplicados para que se reduzca el número de microorganismos que pueden causar problemas. El ácido cítrico es el principal ácido orgánico en frutas (C₆H₈O₇), tales como arándanos, higos, fresas, etc. Según investigaciones, la aplicación de ácido cítrico en concentraciones del 2 % al 5 %, provoca una reducción de 1-3 log en bacterias de carácter patógeno como *Escherichia coli*. (Tola, 2016).

Modo de acción de los ácidos cítricos

Los ácidos orgánicos (acético, ascórbico, cítrico, fórmico, láctico, propiónico, peracético) son utilizados en tratamientos de desinfección en concentraciones de 0.05 a 2.5%, el uso de estos ácidos aporta disminuyendo la carga microbiana. El efecto antimicrobiano de estos, es por su forma no disociada, que depende del pH, y tiene más importancia que la disminución del pH en el exterior de la célula que estos produzcan. La forma disociada es un anión, es polar y por lo tanto no traspasa la membrana plasmática de los microorganismos; por el contrario, su forma no disociada, si atraviesa la membrana. Una vez en el interior de la bacteria, el ácido puede disociarse y entonces afecta directamente al pH intracelular microbiano (Salgado , Hernández, & Suárez , 2020).

Bacterias ácido lácticas

Estas bacterias han sido importantes dentro de la conservación de alimentos y también en el valor de los productos, por las propiedades metabólicas en el aporte al sabor, olor, textura, presencia nutricional, características sensoriales de los alimentos. Este grupo está compuesto de un número de géneros incluyendo Lactococcus, Lactobacillus, Enterococcus, Streptococcus, Leuconostoc, y Pediococcus. Son bacterias relacionadas que producen ácido láctico como principal metabolito, producto de fermentación, son capaces de hidrolizar péptidos de leche. La unión de aminoácidos libres en leche es escasa, entonces el crecimiento de estas bacterias depende del transporte de aminoácidos y péptidos específicos junto a la producción de proteinasas peptidasas (Parra, 2010).

Bacteriocinas

Las bacterias ácido lácticas pueden producir un conjunto de moléculas que poseen propiedades antimicrobianas como son ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas utilizadas como biopreservadoras en varios productos incluyendo lácteos, con

el objetivo de evitar la proliferación de agentes patógenos; por ello es generalmente aceptado por consumidores como algo natural (Parra, 2010). Entre las moléculas producidas por estos microorganismos que presentan actividad antimicrobiana se encuentran, (tabla 1).

Tabla 1. Bacteriocidas a partir de bacterias ácido lácticas

Bacteriocinas	Bacteria ácido láctica
Lactococcina	Lactococcus lactis
Lactacina	Lactobaciollus johnsonii
Mesenterocina	Leuconostoc mesenteroides
Curvaticina	Lactobacillus curvatus
Sakacina	Lactobacillus sake
Pediocina	Pediococcus acidilactici
Piscicolina	Carnobacterium piscicola
Nisina	Lactococcus lactis
Lacticina	Lactococcus lactis
Carnonicina	Carnobacterium piscicola
Variacina	Micrococcus varians
Leucocina	Leuconostoc gelidum

Fuente: (Parra, 2010).

Nisina

La nisina es el péptido antimicrobiano producido por *Lactococcus lactis*. Es la única bacteriocina que ha sido legalmente aprobada como segura para su uso en alimentos y bebida. En 1969, una comisión conjunta entre la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS)

reconocieron a la nisina como un conservante de alimentos biológico seguro y legal (Ardisana & Romero, 2020).

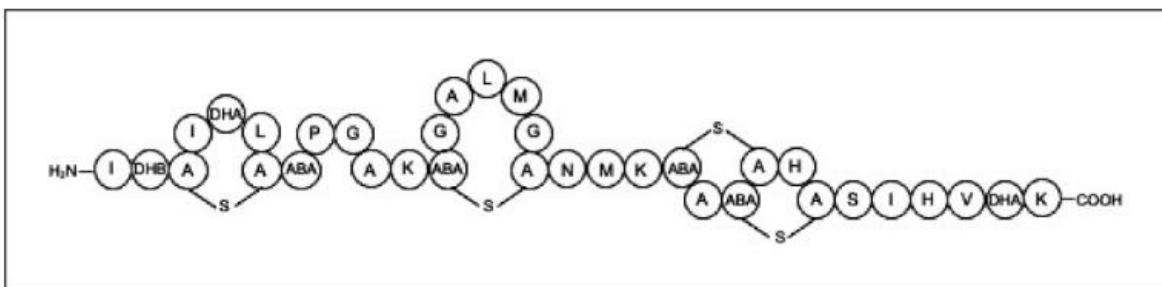
Importancia

La nisina es un lantibiótico catiónico termoestable que pertenece a la bacteriocina clase I según los criterios de clasificación de Klaenhammer, tiene actividad antimicrobiana contra muchas especies de bacterias Gram positivas, pero no las bacterias Gram negativas, debido a su barrera de membrana externa. Normalmente, el productor de nisina tiene inmunidad a su propia nisina producida pero no a otros antibióticos. Aunque es una proteína, no es digerida por todas las enzimas digestivas de proteínas. (Campos, 2007).

Estructura

La nisina es un péptido de 34 aminoácidos que contiene en su estructura cuatro aminoácidos poco comunes: deshidroalanina, deshidrobutirina, lantionina y β -metil-lantionina. Su síntesis, al igual que la de otras bacteriocinas, ocurre a nivel ribosomal, y luego es sujeta a modificaciones post traduccionales que conllevan a su activación. En la figura 1 se observa que el péptido presenta los aminoácidos inusuales: ABA (ácido aminobutírico), DHA, DHB, ALA-S-ALA, ABA-S-ALA (Batista, Muñoz, & Yasky, 2022)

Figura 1. Representación de la nisina A como péptido maduro activo.



Fuente: (Batista, Muñoz, & Yasky, 2022).

Características físicas y químicas

Tabla 2. Características de la nisina

Característica	Descripción
Formula	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$
Peso	3.354,07 g/mol
Descripción	Polvo de color crema a blanco oscuro, micronizado y secado por pulverización, mezclado con cloruro sódico micronizado.
Solubilidad:	Alta solubilidad en agua y en la mayoría de solventes orgánicos.
Humedad:	No superior al 3% (w/w).
Valor de pH:	En suspensión de agua al 10% 3.10 a 3.60.
Temp. de almacenamiento	2-8° C

Fuente: (Campos, 2007).

Mecanismo de acción antimicrobiana de nisina

Para su actividad letal, la nisina no requiere una membrana receptora en su célula diana. Esto es diferente a la actividad de destruir de muchas bacteriocinas como la colicina que necesitan membrana receptora. Hay dos pasos principales para que la nisina elimine las células sensibles.

Paso a través de la pared celular.

Para pasar a través de la pared celular, la nisina generalmente interactúa (a través de interacciones hidrofóbicas o electrostáticas) con componentes aniónicos en la pared celular de células sensibles como diferentes ácidos, polisacáridos ácidos o fosfolípidos.

Desestabilización de funciones debido a la formación de poros.

La nisina se une al transportador principal de las subunidades de peptidoglicano partiendo en el citoplasma hasta la pared celular, interponiéndose así con la síntesis correcta de la pared celular, lo que a su vez produce la formación de un poro transmembranal que da paso a la salida de aminoácidos, sales y ATP, un proceso que provoca la muerte celular (Cano , Gómez, & Oviedo , 2019).

Toxicidad e Ingesta Diaria Admisible (IDA)

Una de las propiedades de la nisina es poseer baja toxicidad, por lo que en los últimos años se ha demostrado con historia de inocuidad en más de 50 países como agente de control microbiano. En 1969 se produjo el uso internacional de la nisina por expertos en aditivos conjuntamente con la FAO y OMS con una ingesta diaria admisible de 33.000 unidades/Kg de peso corporal. El Codex Alimentarius contiene a la nisina como la única bacteriocina dentro de los aditivos alimentarios, que se ha aprobado para la elaboración de productos lácticos, productos líquidos a base de huevo, entre otros. Recientemente, el uso de nisina fue aprobado para la conservación de frutas, vegetales y productos cárnicos, lo que sugiere que su empleo se sigue ampliando en la industria de alimentos (Cano , Gómez, & Oviedo , 2019).

Aplicación y uso de la nisina en alimentos

Es soluble en ambientes acuosos y más estable en condiciones ácidas. Se ha utilizado en una amplia variedad de productos alimenticios, solo o en combinación con otros

conservantes, directo (o convertido en solución primero con agua hervida). Los niveles de dosificación sugeridos, son rangos de 10 a 500 mg por kilogramo o litro de alimento. Esto forma parte de una guía, puesto que cualquier dosis va a depender del tipo de alimento, de las condiciones de elaboración, de la carga microbiológica y de la vida útil del producto. La nisina puede aplicarse para inhibir el crecimiento de las esporas de *Clostridium botulinum* (la causa del botulismo) y la formación de toxinas en los quesos procesados pasteurizados, en la preservación de frutas, verduras o carnes en niveles que no superen las buenas prácticas de fabricación. La buena práctica de fabricación actual en este caso es la cantidad del ingrediente que ofrece un máximo de 250 p.p.m. de nisina en el producto terminado. En niveles normales de uso, no afecta el color, olor o sabor del producto terminado (Profood, 2014).

Capítulo III

Metodología

Ubicación del área de investigación

Ubicación Política

País : Ecuador

Provincia : Santo Domingo de los Tsáchilas

Cantón : Santo Domingo

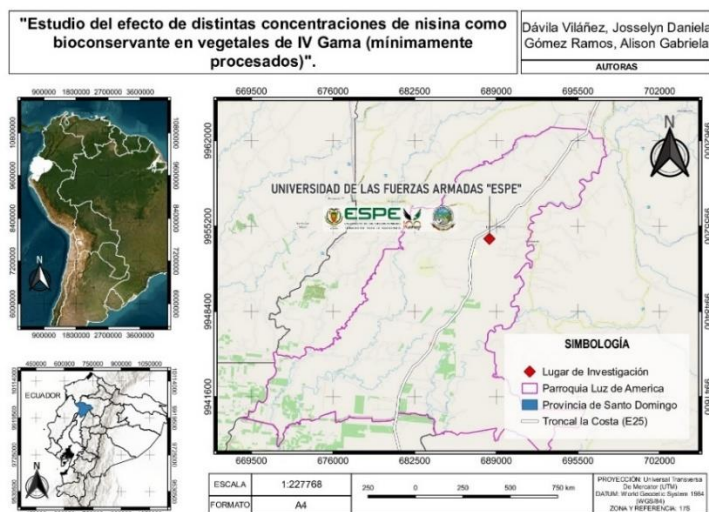
Parroquia : Luz de América

Ubicación Geográfica

La presente investigación se la realizó en la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”, que se encuentra ubicada la provincia de Santo Domingo, en la parroquia Luz de América en el km 24 margen izquierdo en dirección Santo Domingo- Quevedo.

Área de investigación

Figura 2. Mapa del lugar de investigación



Fuente: Elaboración Propia

Ubicación Ecológica

Tabla 3. Detalle de las características edafoclimáticas del lugar de investigación

Factor	Descripción
Zona de vida:	Bosque húmedo tropical (bh-T)
Altitud:	224 msnm
Temperatura:	24,6 ° C
Precipitación:	260 mm/año
Humedad relativa:	85%
Heliofanía	680 horas luz/año
Suelo:	Franco arenoso

Fuente: Estación Meteorológica Puerto Ila, Vía Quevedo km 34

Diseño experimental

Factores de experimento

Tabla 4. Factores y niveles a probar en el estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de IV Gama

Factores	Niveles
Tipo de fruta (A)	a0: Espinaca a1: Zanahoria a2: Apio
Concentraciones de nisina (B)	b0: 0 ppm b1: 100 ppm b2: 200 ppm b3: 300 ppm

Fuente: Elaboración propia

Tratamiento a comparar**Tabla 5.** Tratamientos a comparar en el estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en vegetales de IV gama

N° Tratamientos	Tratamiento (interacciones)	Descripción
T1	a0b0	Espinaca + 0 ppm
T2	a1b0	Zanahoria + 0 ppm
T3	a2b0	Apio + 0 ppm
T4	a0b1	Espinaca + 100 ppm
T5	a1b1	Zanahoria + 100 ppm
T6	a2b1	Apio + 100 ppm
T7	a0b2	Espinaca + 200 ppm
T8	a1b2	Zanahoria + 200 ppm
T9	a2b2	Apio + 200 ppm
T10	a0b3	Espinaca + 300 ppm
T11	a1b3	Zanahoria + 300 ppm
T12	a2b3	Apio + 300 ppm

Fuente: Elaboración propia

Tipo de diseño

Se utilizó un diseño ANOVA bifactorial A x B. Diseño de bloques completamente al azar (D.B.C.A), donde el factor A corresponde a Tipo de vegetal utilizado y el factor B a las distintas concentraciones de nisina.

Repeticiones

Los 12 tratamientos incluyeron 3 repeticiones por cada tratamiento dando un total de 36 unidades experimentales.

Análisis estadístico

Esquema del análisis de varianza

Tabla 6. Esquema del análisis de varianza del estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en vegetales de IV gama.

Fuentes de Variación		Grados de Libertad
Tipo de vegetal (A)	a-1	2
Concentración (B)	b-1	3
Vegetal x concentración	(a-1)(b-1)	6
Repeticiones	r-1	2
Error experimental	(t-1)(r-1)	22
Total	rt-1	35

Fuente: Elaboración propia.

Análisis funcional

Para el análisis estadístico de los resultados en la investigación, se aplicó la prueba de significancia Tukey ($p < 0,05$) para resultados con varianzas significativas.

VARIABLES EVALUADAS

Materiales de las variables evaluadas

Tabla 7. Materiales para la realización de los diferentes procesos en productos vegetales de (IV gama) para la aplicación del bioconservante nisina.

Proceso	Insumos	Equipos	Material/Reactivos
Preparación de Nisina	Cocineta	Balanza analítica	Nisina
	Pinzas		Vegetales (apio, zanahoria, espinaca)
	Vasos de precipitación		Ácido cítrico
	Aspersores		Agua destilada
	Vasitos pequeños desechables		
	Fundas ziploc		
Obtención del pH	Magneto	Potenciómetro	Agua destilada
	Vaso de precipitación	Cocineta	Muestra de vegetales de IV gama
	Cocineta	Agitador	
	Papel filtro		
	Embudos		
Obtención de Acidez Titulable	Matraz Erlenmeyer	Agitador	Hidróxido de sodio (Na OH) al 0.1% N
	Magneto		Muestra de vegetales de

Proceso	Insumos	Equipos	Material/Reactivos
			IV gama
	Soporte universal		
	Bureta de 50 ml		
		Estufa	
		programada a	Muestra de vegetales de
	Papel aluminio	60° C durante	IV gama
		24 horas	
Obtención de Humedad		Balanza	
	Pinzas	analítica	
	Guantes de calor	Desecador	
		Mufla	
	Crisoles	adaptada a	Muestra seca de
		600°C	vegetales de IV gama
	Pinza	Desecador	
Obtención de Ceniza		Balanza	
	Cocineta	analítica	
	Guantes de calor		
	Tabla de madera		
		Cámara de	
	Pinzas	flujo laminar	Agua peptona
			Petrifilm para Mohos y
Obtención de Recuento	Balanza analítica	Vórtex	levaduras
de UFC	Alcohol		Petrifilm para aerobios
	Pipeta		
	Micropipetas	Incubadora	Petrifilm para entero
			bacterias

Proceso	Insumos	Equipos	Material/Reactivos
	Vasos de precipitación de 500 ml y de 200ml	Autoclave	Petrifilm para <i>Escherichia coli</i>
	Mechero de alcohol		Petrifilm para coliformes
	Toallas de manos		
	Fosforera		
	Mandil, guantes, cofia, y mascarilla.		

Nota: Esta tabla detalla los materiales para la realización de los diferentes procesos en productos vegetales de (IV gama) para la aplicación del bioconservante nisina. Cada uno de los materiales y equipos utilizados fueron desinfectados y esterilizados en la cámara de flujo, llevando una asepsia rigurosa previo al contacto con las muestras vegetales.

Metodología de las variables evaluadas

Obtención de la materia prima a ser evaluada.

Los vegetales: zanahoria, espinaca y apio fueron obtenidos de un supermercado en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, para ser estudiados en los laboratorios de las instalaciones de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”

Preparación de las muestras vegetales para la aplicación del bioconservante nisina.

Los vegetales utilizados para los tratamientos fueron tratados con un proceso de lavado y desinfección para la eliminación de impurezas como tierra, ramas, o basuras. Para la desinfección de las muestras vegetales se utilizó una solución de 10 gr de ácido cítrico

disueltos en 1 L de agua purificada. Dicha solución fue realizada individualmente para cada grupo de vegetales (zanahoria, apio y espinaca).

Las muestras de vegetales una vez troceadas, rebanadas y picadas fueron sumergidas en cada una de las soluciones desinfectantes por un periodo de 5 minutos, para la espinaca y 10 minutos, para la zanahoria y el apio.

Pasado el periodo de desinfección, las muestras vegetales fueron retiradas de la solución con una asepsia estricta y colocadas en toallas esterilizadas con el objetivo de que pierdan el exceso de agua y sequen al ambiente. Para los respectivos tratamientos y repeticiones se utilizaron muestras de 100 gr de cada grupo de vegetales.

Aplicación del bioconservante.

Posterior a la esterilización de los materiales y recipientes, se realizó la mezcla de las muestras pesadas del bioconservante con 25 ml de agua purificada, esta solución fue colocada en un atomizador para su posterior aplicación en cada muestra vegetal, según el tratamiento y grupo vegetal. Dichas muestras fueron colocadas en fundas zyploc para evitar contaminaciones.

Los vegetales de IV gama fueron llevados a refrigeración, posterior la aspersion del bioestimulante, mantenidos a una temperatura de 4°C, por un periodo de 7 días, tiempo en el cual los productos de IV gama pueden conservarse en buen estado.

Análisis físico químicos de las muestras con la aplicación del bioconservante

Se determinaron las características físico químicas de las muestras de apio, espinaca y zanahoria luego del periodo de 7 días de haber aplicado el bioconservante nisina. A continuación, se detallan las variables evaluadas.

pH.

Los grupos de vegetales de IV gama fueron triturados por individual en el mortero, y se tomó una muestra de 25 gr de vegetal de cada tratamiento que fue colocada en un matraz Erlenmeyer con 50 ml de agua destilada a temperatura media, se mezcló la muestra hasta formar un agregado homogéneo, para posterior ser colocadas a baño maría durante 30 minutos.

Posterior al periodo del baño maría se dejó enfriar el contenido, que luego fue vertido en un vaso de precipitación y aforado con 100 ml de agua destilada hervida y enfriada. Esta mezcla fue filtrada con papel para tamizar.

De la anterior solución filtrada, fueron tomados 25 ml para determinar el pH, introduciendo los electrodos del potenciómetro y su lectura correspondiente.

Acidez titulable.

Fueron tomados otros 25 ml de la solución filtrada, dicha muestra fue titulada con una solución de hidróxido de sodio al 0,1% hasta obtener los siguientes valores de pH: 6, 7; 8,3 y el valor de 8,1 fue determinado mediante interpolación.

Para determinar la acidez titulable se utilizó el siguiente cálculo.

$$A = \frac{(V_1 N_1 M) 10}{V_2}$$

Donde:

A= g de ácido en 1000 ml de la muestra

V₁ = cantidad de NaOH en ml usados para la titulación.

N₁ = normalidad de la solución de NaOH

M= peso molecular del ácido

V₂= volumen de la alícuota tomada para el análisis de 8,1

Humedad.

Se tomaron 100 g de muestra de los vegetales de cada tratamiento, que fueron colocadas en la estufa a una temperatura de 70°C durante 48 horas. Después de este periodo las muestras fueron retiradas y dejadas en reposo por media hora para ser enfriadas y determinar su peso.

Para determinar la humedad se utilizó el siguiente cálculo.

$$\%H = \frac{(W_2 - W_1)}{W_0} * 100$$

Donde:

W_0 = Peso de la Muestra (gr.)

W_1 = Peso del envase más la muestra después del secado.

W_2 = Peso del envase más la muestra antes del secado

%MS = 100 – HT

HT= Humedad Total.

MS= Materia Seca

Ceniza.

Como paso previo a la determinación de ceniza, los crisoles, donde serían colocadas las muestras de vegetales IV gama, fueron lavados, secados y colocados en la estufa a 100 °C durante 30 minutos, para después ser retirados y enfriados en el desecado.

Se tomó 2 g de muestra de los vegetales de cada tratamiento, que fueron colocados en los crisoles previamente tratados, éstos últimos fueron llevados a la mufla a 600 °C ± 2 °C durante 3 horas hasta obtener las cenizas sin partículas de carbón.

Posterior al periodo dentro de la mufla, se retiraron los crisoles y fueron colocados a enfriar en el desecado para la posterior toma de datos.

Para determinar la ceniza se utilizó el siguiente cálculo.

$$C = \frac{(W_2 - W_1) * 100}{W_0}$$

Donde:

W_0 = Peso de la muestra (g)

W_1 = Peso de crisol vacío.

W_2 = Peso del crisol más la muestra calcinada.

Análisis microbiológico de las muestras de apio, espinaca y zanahoria

Con el fin de saber la cantidad microbiológica en el respectivo ensayo se realizó un recuento de UFC/ml, para aerobios mesófilos, para Mohos – levaduras, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* y Coliformes.

Preparación de la muestra.

Luego de esterilizar los materiales y equipos, se realizó la preparación de agua de peptona al 5%, colocando 9 ml de esta preparación en los tubos de ensayo, obteniendo al final un lote de 9 disoluciones y fue preparado un lote de las mismas (9 disoluciones) para cada variable microbiológica (aerobios mesófilos, mohos-levaduras, enterobacterias, *E. coli* y enterobacterias) evaluada en cada tratamiento.

En el primer tubo de ensayo o disolución madre (10^{-1}) fue agregado 1gr de muestra de vegetal de IV gama y fue llevado al vórtex para homogenizar la mezcla. Una vez estable, se extrajo una cantidad del contenido con la pipeta y fue colocada en el segundo tubo de ensayo (disolución 10^{-2}), realizando el mismo proceso de homogenización, extracción de muestra y colocación el siguiente tubo de ensayo, hasta llegar a la disolución 10^{-9} . Extrayendo el material, para el análisis microbiológico, de esta última disolución para ser colocados en los respectivos Petrifilm de hongos y levaduras, aerobios, enterobacterias, coliformes y *Escherichia coli*.

Finalmente fueron llevados incubación los Petrifilm de aerobios, enterobacterias, coliformes y *Escherichia coli* por un periodo de 48 horas a una temperatura de 48° C y los Petrifilm de hongos y levaduras fueron incubados durante 72 horas a temperatura ambiente 25°C.

El número de microorganismo se calculó mediante la siguiente fórmula

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{n * f}{v}$$

Donde:

n = número de colonia por placa

f = factor de dilución

v = volumen inoculado en la placa

Capítulo IV

Resultados

Análisis de varianza para la variable de pH

Tabla 8. Análisis de varianza para la variable de pH

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	17,1335	2	8,56673	192,24	0,0000
B: Factor B	7,54589	3	2,5153	56,45	0,0000
C: Réplica	0,180272	2	0,0901361	2,02	0,1562
Interacciones					
AB	11,2105	6	1,86841	41,93	0,0000
Residuos	0,980361	22	0,0445619		
Total (corregido)	37,0504	35			

En la tabla 8 se evidencia diferencia significativa en el factor A que corresponde al tipo de vegetal, en el factor B que corresponde a la dosis de nisina y a la influencia entre el factor A*B. Mientras que en la réplica no se encontró diferencia significativa.

Análisis de varianza para la variable de acidez

Tabla 9. Análisis de varianza para la variable de acidez

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	0,161967	2	0,0809833	8,23	0,0021
B: Factor B	0,156753	3	0,052251	5,31	0,0066
C: Réplica	0,0034168	2	0,0017084	0,17	0,8417
Interacciones					
AB	0,394191	6	0,0656985	6,68	0,0004
Residuos	0,216386	22	0,00983573		
Total (corregido)	0,932714	35			

En la tabla 9, se observa la diferencia significativa en el factor A que corresponde al tipo de vegetal, en el factor B que corresponde a la dosis de nisina y a la influencia entre el factor A*B. Mientras que en la réplica no se encontró diferencia significativa.

Análisis de varianza para la variable de humedad

Tabla 10. Análisis de varianza para la variable de humedad

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	218,179	2	109,09	411,31	0,0000
B: Factor B	42,5176	3	14,1725	53,44	0,0000
C: Réplica	0,00883889	2	0,00441944	0,02	0,9835
Interacciones					
AB	46,3315	6	7,72192	29,11	0,0000
Residuos	5,83496	22	0,265226		
Total (corregido)	312,872	35			

En la tabla 10, se evidencia la diferencia significativa en el factor A que correspondiente al tipo de vegetal, en el factor B que corresponde a la dosis de nisina y a la influencia que se da en factor A*B, determinando que en la réplica no se encontró diferencia significativa.

Análisis de varianza para la variable de materia seca

Tabla 11. Análisis de varianza para la variable de materia seca

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	218,301	2	109,151	411,54	0,0000
B: Factor B	42,5156	3	14,1719	53,43	0,0000
C: Réplica	0,00886667	2	0,00443333	0,02	0,9834
Interacciones					
AB	46,2952	6	7,71587	29,09	0,0000
Residuos	5,83493	2	0,265224		
Total (corregido)	312,956	5			

En la tabla 11, se evidencia diferencia significativa en el factor A que corresponde al tipo de vegetal, en el factor B que correspondiente a la dosis de nisina y a la influencia entre el factor A*B. Mientras que en la réplica no se encontró diferencia significativa.

Análisis de varianza para la variable de ceniza

Tabla 12. Análisis de varianza para la variable de ceniza

Fuente	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Factor A	2154,25	2	1077,13	97,69	0,0000
B: Factor B	111,613	3	37,2043	3,37	0,0366
C: Réplica	331,601	2	165,801	15,04	0,0001
Interacciones					
AB	105,565	6	17,5941	1,60	0,1955
Residuos	242,581	2	11,0264		
Total (corregido)	2945,61	5			

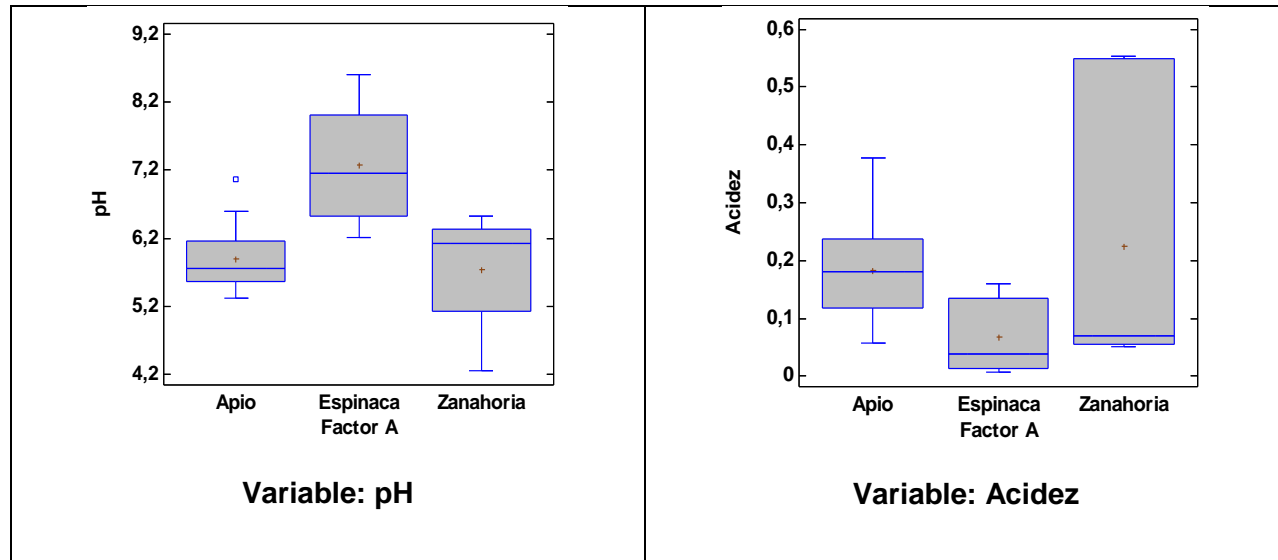
En la tabla 12, se puede observar que existe diferencia significativa en el factor A que corresponde al tipo de vegetal, en el factor B que corresponde a la dosis de nisina, al igual que en la réplica, sin embargo, en la interacción A*B no se encontró diferencia significativa.

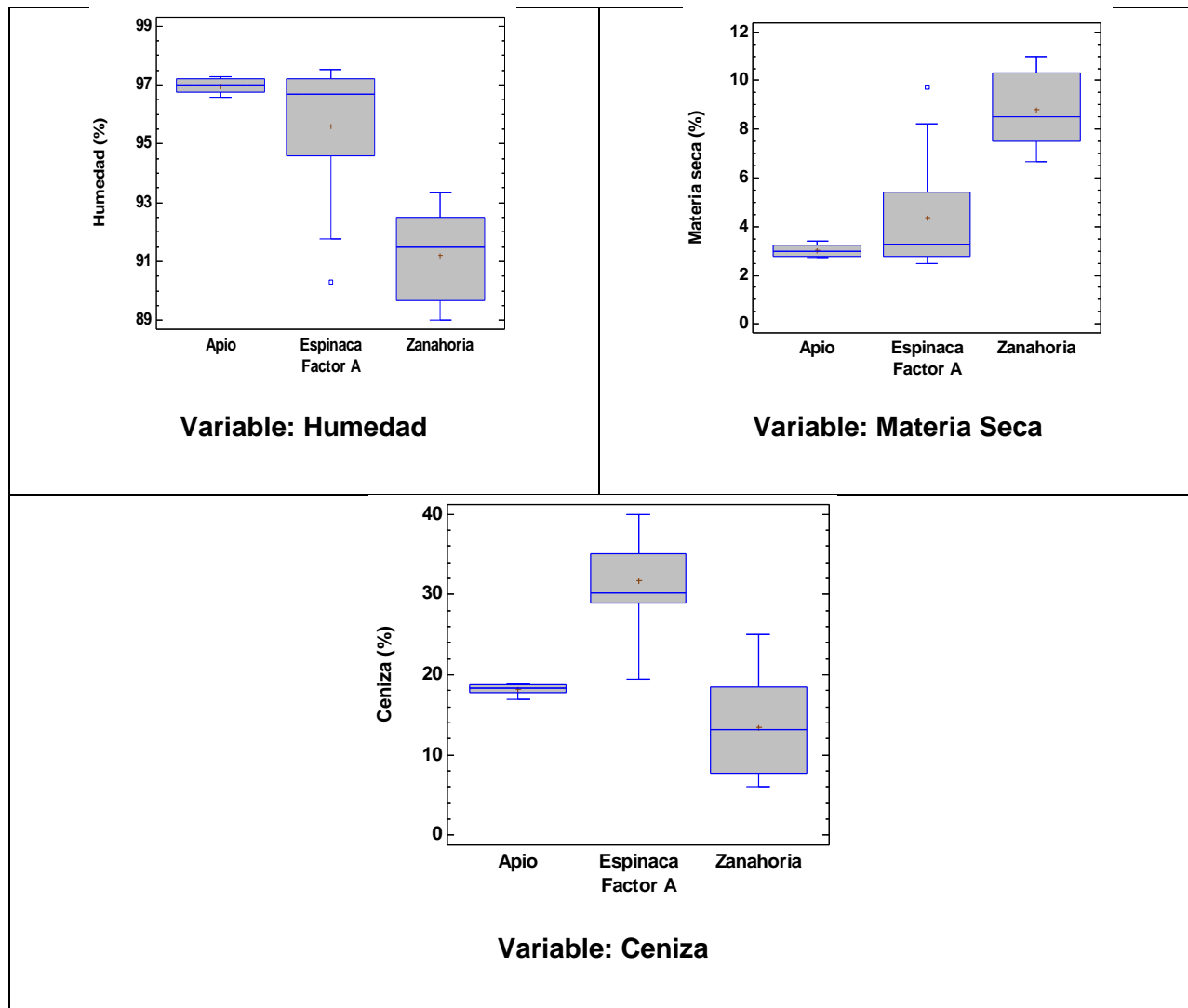
Resultados de la evaluación en la eficacia de la nisina, como bioconservante considerando alimentos de cuarta gama de tres vegetales diferente: Espinaca, Apio y Zanahoria. (factor A) Tukey $\leq 0,05$.

Tabla 13. Análisis de significancia Tukey $\leq 0,05$ en el factor A

Factor A	pH	Acidez	Humedad	Materia seca	Ceniza
Espinaca	7,28 B	0,07 A	95,61 B	4,39 B	31,69 C
Zanahoria	5,74 A	0,23 B	91,21 A	8,79 C	13,44 A
Apio	5,90 A	0,18 B	96,97 B	3,02 A	18,15 B

Figura 3. Análisis de significancia Tukey $\leq 0,05$ en el factor A





Los resultados de Tukey ($p \leq 0,05$) en cuanto al tipo de vegetal (figura 5), muestran que: en pH, se forman dos grupos independientes, el valor más alto se encontró en espinaca con 7,28 (grupo B), mientras que los valores bajos fueron: zanahoria con 5,74 y apio con 5,90 (grupo A).

En acidez se encontraron dos grupos independientes, el valor más alto fue zanahoria con 0,23 y apio con 0,18 (grupo B), mientras que el valor bajo fue espinaca con 0,07 (grupo A).

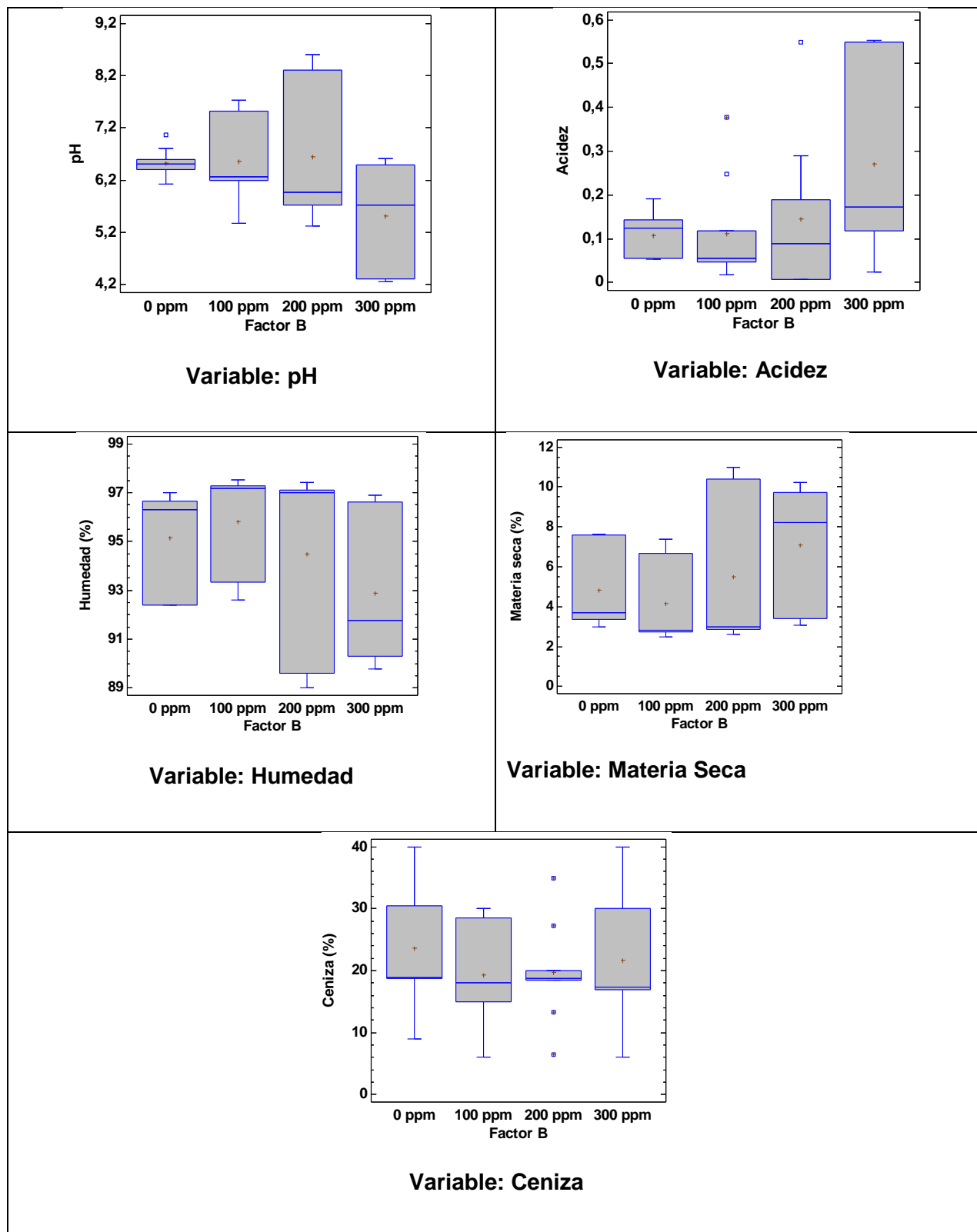
En cuanto a humedad se encontraron dos grupos: el valor más alto fue apio con 96,97 y espinaca con 95,61 (grupo B), y el valor bajo fue zanahoria con 91,21 (grupo A). Referente a materia seca se encontró diferencia significativa, el valor más alto que corresponde a zanahoria con 8,79 (grupo C), seguido de espinaca con 4,39 (grupo B), mientras que el valor bajo fue apio con 3,02 (grupo A).

Finalmente, en ceniza el valor más alto se encontró en espinaca con 31,69 (grupo C), luego apio con 18,15 (grupo B) y el valor bajo se encontró en zanahoria con 13,44 (grupo A).

Resultados de la evaluación en la eficacia de la nisina, como bioconservante considerando distintas concentraciones que son: 0, 100, 200, 300 ppm. (factor B)
Tukey $\leq 0,05$.

Tabla 14. Análisis de significancia Tukey $\leq 0,05$ en el factor B

Factor B	pH	Acidez	Humedad	Materia seca	Ceniza
0 ppm	6,51 B	0,11 A	95,16 BC	4,84 AB	23,68 B
100 ppm	6,55 B	0,11 A	95,83 C	4,17 A	19,27 A
200 ppm	6,64 B	0,15 AB	94,50 B	5,50 B	19,68 AB
300 ppm	5,52 A	0,27 B	92,90 A	7,10 C	21,72 AB

Figura 4. Análisis de significancia Tukey $\leq 0,05$ en el factor B

Los resultados de Tukey $\leq 0,05$ para el factor B (figura 4), correspondiente a las distintas concentraciones de nisina determinan que: en pH, se forman dos grupos independientes, el valor más alto se encontró en la dosis de 200 ppm con 6,64, luego la de 100 ppm con 6,55, después la de 0 ppm con 6,51 (grupo B), mientras que el menor valor se halló en la dosis de 300 ppm con 5,52 (grupo A).

Para acidez se encontraron dos grupos independientes, el valor más alto fue la dosis de 300 ppm con 0,27 (grupo B), le sigue la concentración de 200 ppm que tiene su valor cercano a los dos grupos con 0,15 (grupo AB), mientras que la dosis de 0 ppm y la de 100 ppm comparten el valor más bajo con 0,11 (grupo A).

En humedad se encontró diferencia significativa: el valor más alto fue la dosis de 100 ppm con 95,83 (grupo C), luego se encuentra la dosis de 200 ppm con 94,50 (grupo B), después el valor de 0 ppm se aproxima a los dos grupos con 95,16 (grupo BC), y el resultado más bajo se halló en la dosis de 300 ppm con 92,90 (grupo A).

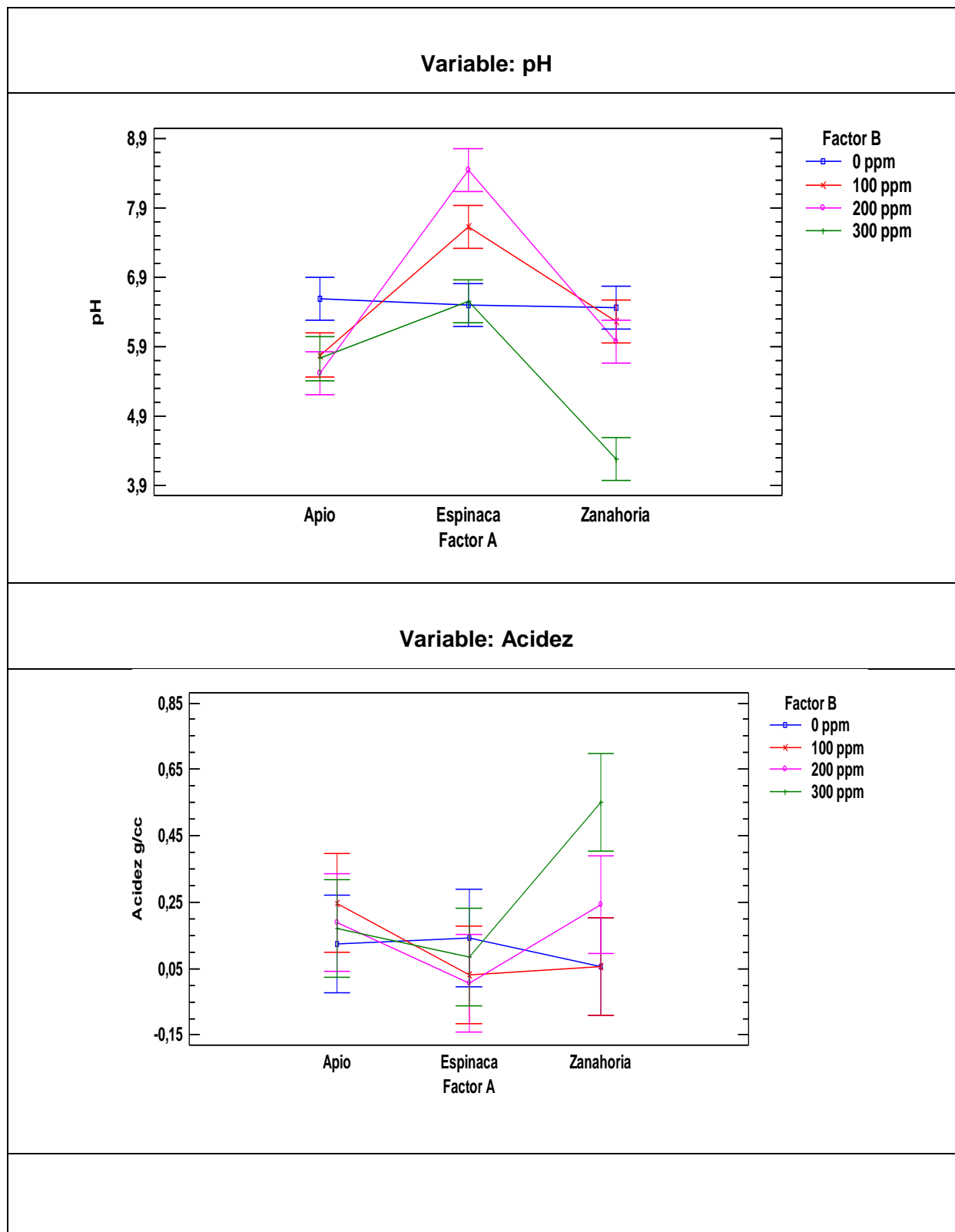
Referente a materia seca se encontró diferencia significativa con el valor más alto que fue la dosis de 300 ppm con 7,10 (grupo C), luego la dosis de 200 ppm con 5,50 (grupo B), después el valor de 0 ppm se aproxima a los dos grupos con 95,16 (grupo AB), y el valor bajo se halló en la dosis de 100 ppm con 4,17 (grupo A).

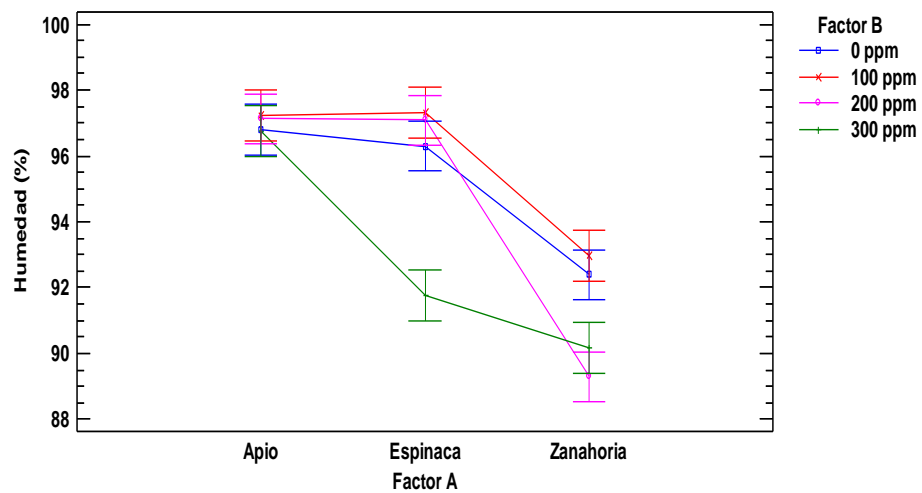
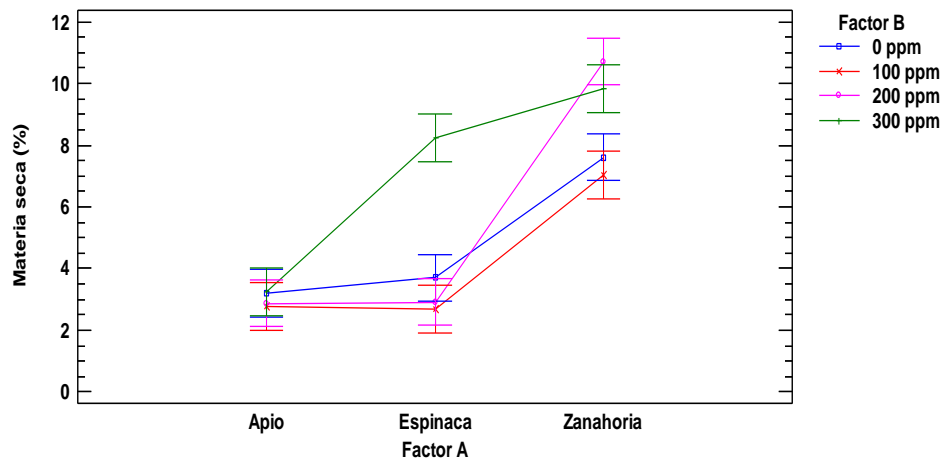
Finalmente, en ceniza se forman dos grupos independientes, el valor más alto se encontró en la dosis de 0 ppm con 23,68 (grupo B), le siguen la dosis de 300 ppm y 200 ppm con 21,72 y 19,68 respectivamente que se aproximan a los dos grupos (grupo AB), y por último el valor más bajo fue la dosis de 100 ppm con 19,27 (grupo A).

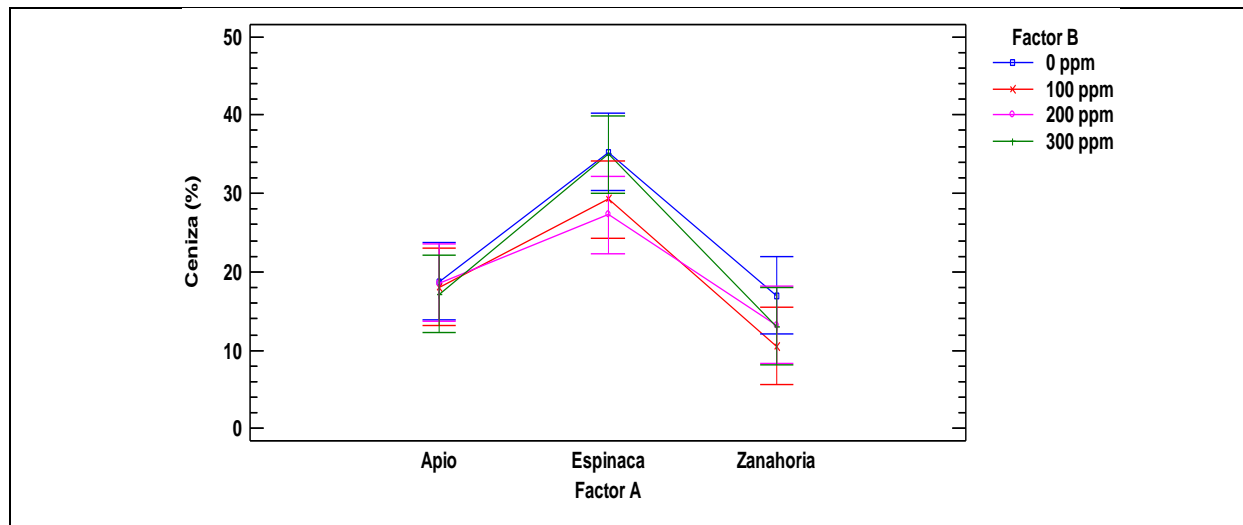
Resultados de la evaluación en la eficacia de la nisina, como bioconservante considerando alimentos de cuarta gama de tres vegetales diferentes, bajo la influencia de diferentes concentraciones (interacción A*B) Tukey $\leq 0,05$.

Tabla 15. Análisis de significancia de Tukey $\leq 0,05$ (interacción A*B)

	A*B	pH	Acidez	Humedad	Materia seca	Ceniza
Espinaca	0 ppm	6,50 D	0,14 A	96,30 C	3,70 A	35,25 C
Espinaca	100 ppm	7,62 E	0,03 A	97,31 C	2,69 A	29,25 C
Espinaca	200 ppm	8,45 F	0,01 A	97,08 C	2,92 A	27,25 BC
Espinaca	300 ppm	6,55 D	0,09 A	91,77 B	8,23 B	35,00 C
Zanahoria	0 ppm	6,46 D	0,05 A	92,39 B	7,61 B	17,00 A
Zanahoria	100 ppm	6,26 CD	0,05 A	92,96 B	7,04 B	10,50 A
Zanahoria	200 ppm	5,97 BC	0,24 A	89,29 A	10,70 C	13,25 A
Zanahoria	300 ppm	4,29 A	0,55 B	90,18 A	9,82 C	13,00 A
Apio	0 ppm	6,60 D	0,12 A	96,79 C	3,20 A	18,80 AB
Apio	100 ppm	5,78 BC	0,25 A	97,22 C	2,77 A	18,07 AB
Apio	200 ppm	5,52 B	0,19 A	97,12 C	2,87 A	18,55 AB
Apio	300 ppm	5,73 BC	0,17 A	96,75 C	3,24 A	17,17 A

Figura 5. Análisis de significancia de Tukey $\leq 0,05$ (interacción A*B)

Variable: Humedad**Variable: Materia Seca****Variable: Ceniza**



Los resultados de Tukey ($p \leq 0,05$) en cuanto a la influencia de los vegetales sometido a cuatro dosis de nisina (interacción A*B), (figura 5), muestran que: en pH el valor más alto se encontró en espinaca con aplicación de 200 ppm de nisina, con un valor de 8,45 (grupo F), seguido de espinaca con 100 ppm de nisina y un valor de 7,62 (grupo E), mientras que el pH bajo se encontró en zanahoria con dosis de 300 ppm equivalente a 4,29 (grupo A).

La acidez corresponde a dos grupos independientes, el valor más alto se encontró en zanahoria de 300 ppm con un valor de 0,55 (grupo B), luego se determinó apio con 100 ppm correspondiente a un valor de 0,25 (grupo A), sin embargo, el valor de las demás interacciones se aproxima a este resultado debido a que forman parte del grupo A, siendo el promedio más bajo el de espinaca con 200 ppm equivalente a 0,01.

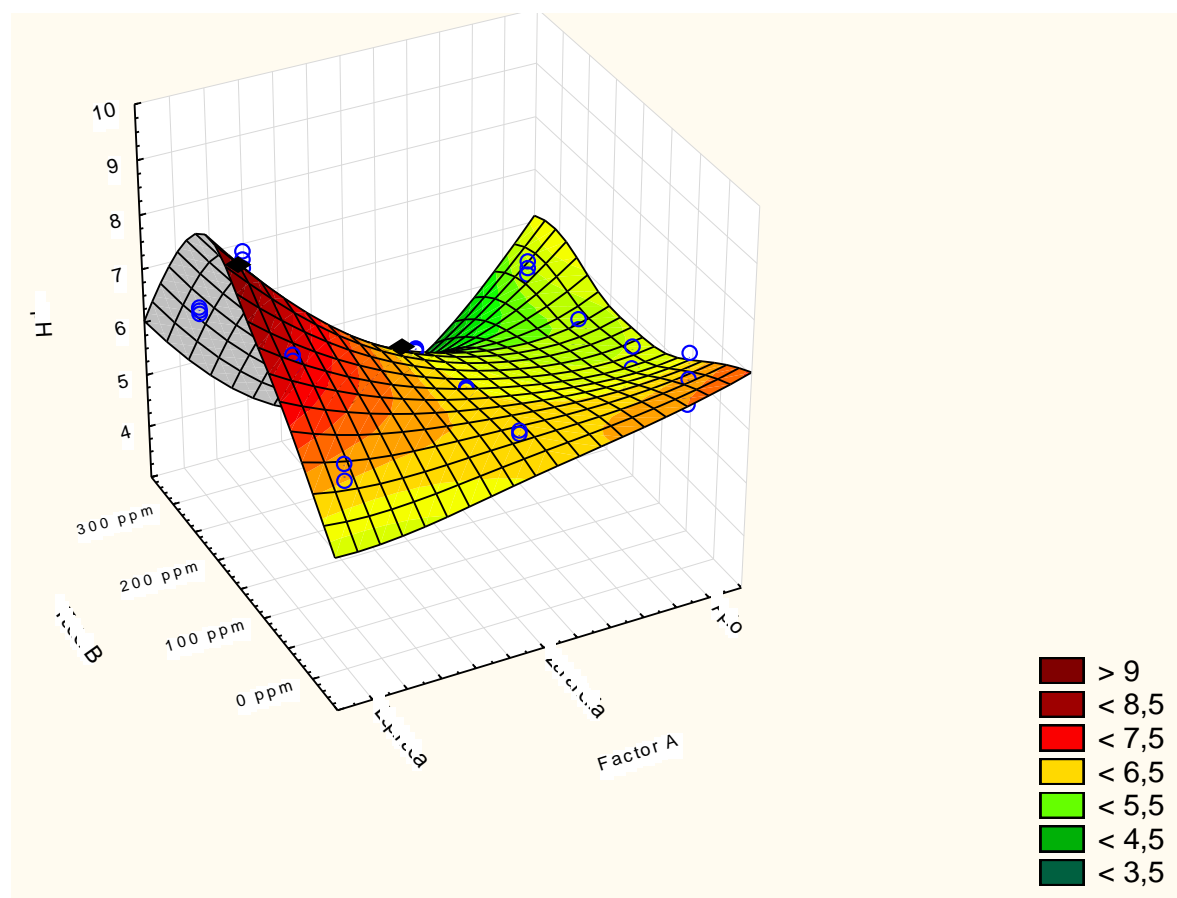
Para humedad, se halló el valor más alto en espinaca de 100 ppm con un valor de 97,31 (grupo C), le sigue el apio de 100 ppm con 97,22 (grupo C), mientras que el valor bajo fue zanahoria de 200 ppm con un valor de 89,29 (grupo A).

Referente a materia seca el valor más alto fue: zanahoria con 200 ppm que dio un valor de 10,70 (grupo C), continúa zanahoria de 300 ppm con un valor de 9,82 (grupo C), mientras que el valor bajo fue espinaca de 100 ppm equivalente a 2,69 (grupo A).

En ceniza se halló el valor más alto correspondiente a la espinaca de 0 ppm con 35,25 (grupo C), le sigue espinaca de 300 ppm con 35,00 (grupo C), mientras que el valor bajo se halló en zanahoria de 100 ppm con 10,50 (grupo A).

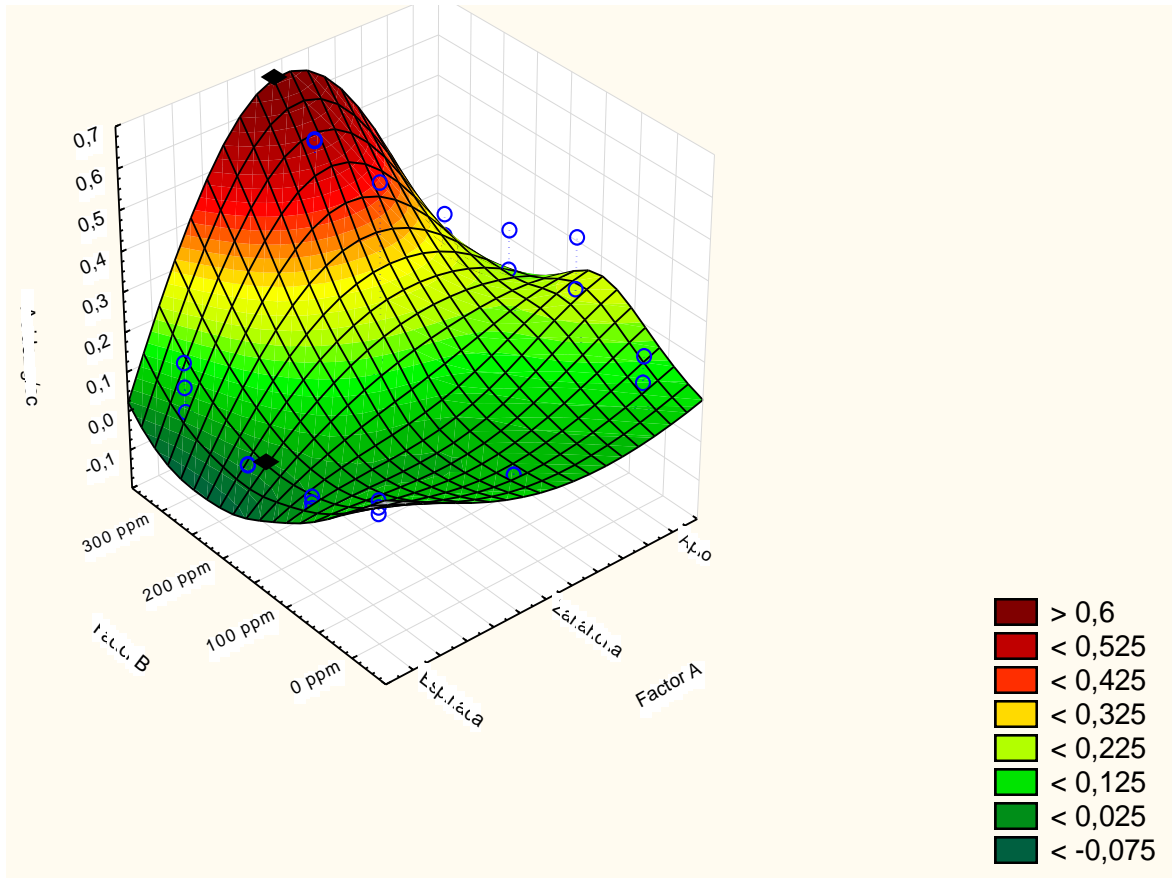
Gráficos de superficie para las variables físico-químicas.

Figura 6. Gráfico de superficie para pH



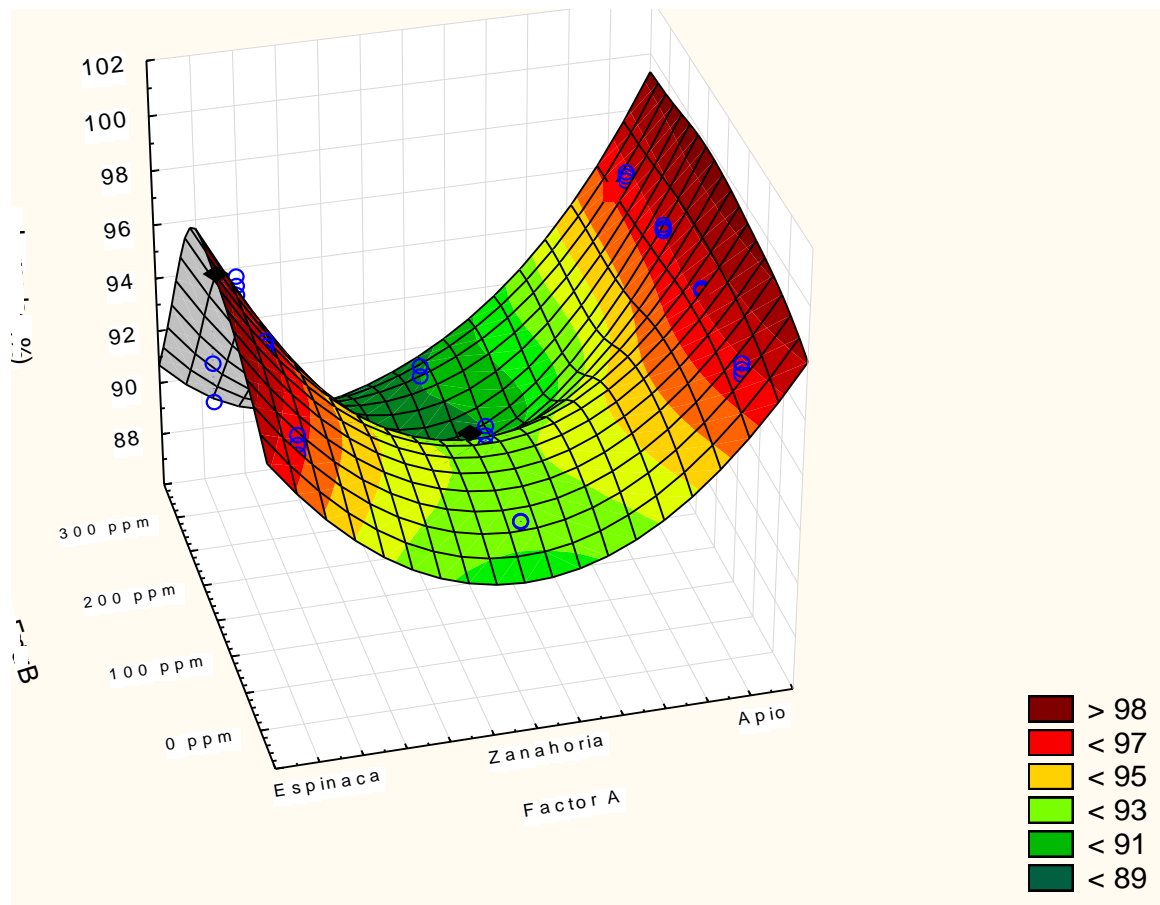
En la figura 6, se muestra el gráfico de superficie de la variable de pH, en donde los valores más altos están representados con un color rojo intenso en la parte superior, allí se destacó la espinaca de 200 ppm, mientras que los valores bajos están representados con el color verde en la parte central que coincide con la ubicación de la zanahoria de 300 ppm.

Figura 7. Gráfico de superficie para acidez



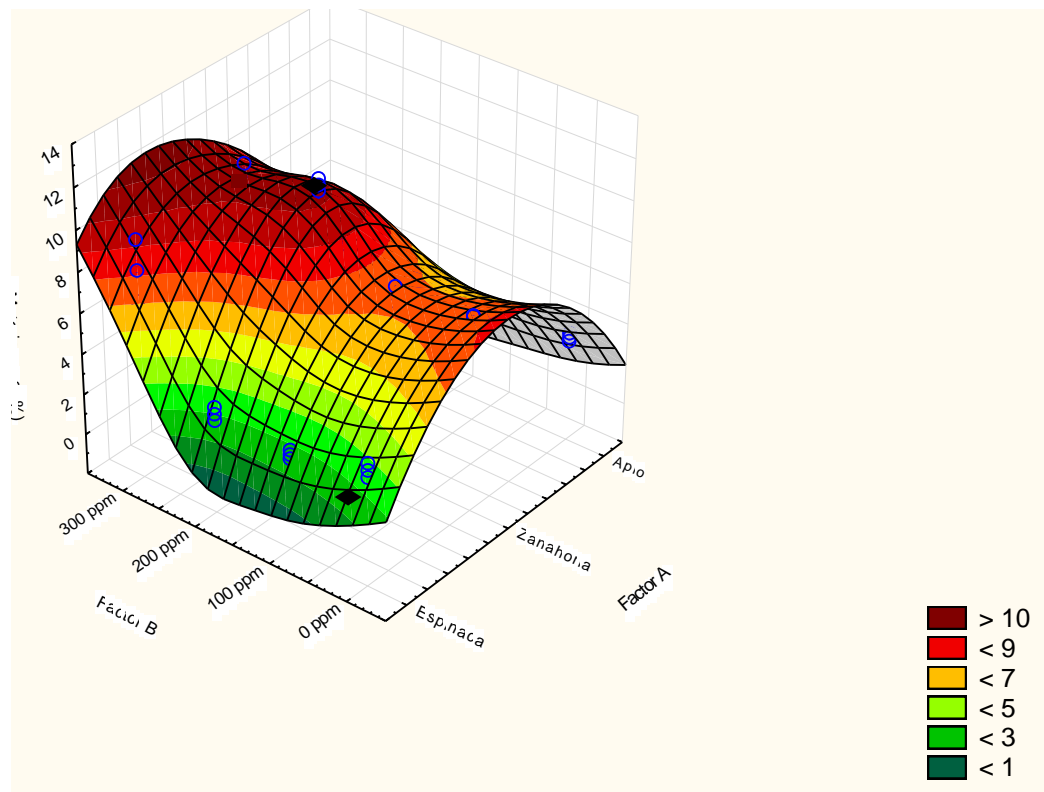
En la figura 7, se muestra en la parte superior con un color rojo intenso el valor más alto que corresponde a la zanahoria con dosis de 300 ppm, mientras que los valores bajos se encuentran en la parte inferior representados con el color verde, destacando la espinaca con dosis de 200 ppm.

Figura 8. Gráfico de superficie para humedad



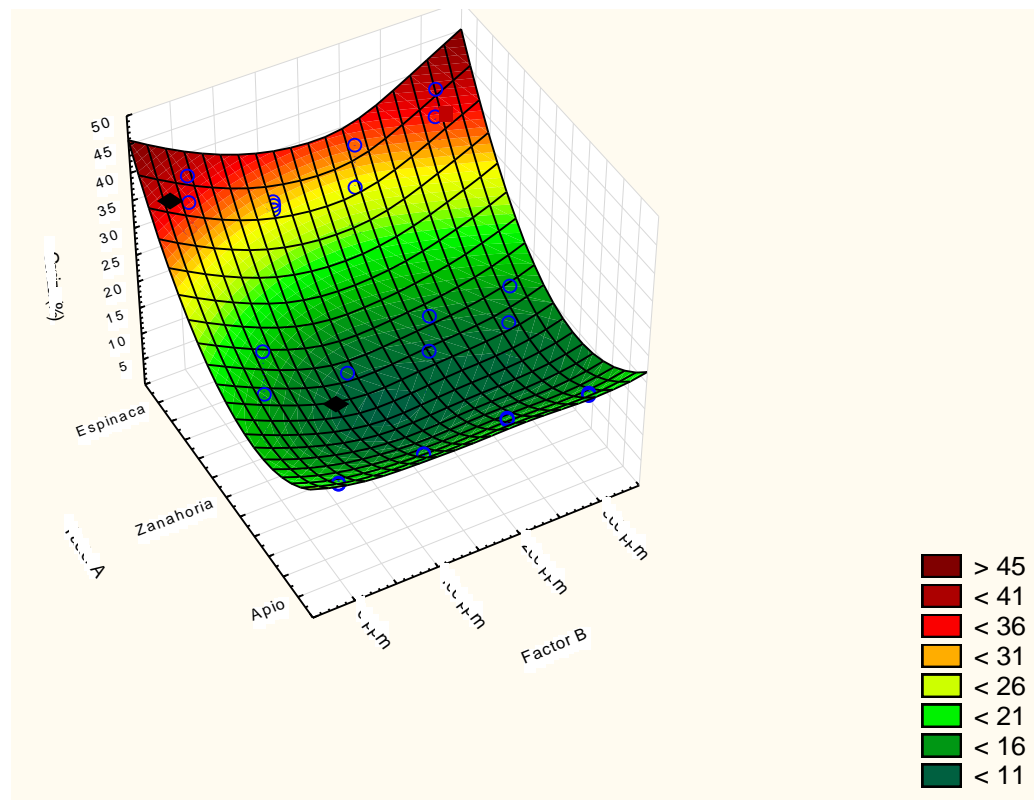
En la figura 8, se puede observar el gráfico de superficie donde en la parte superior derecha se encuentran representados los valores altos con el color rojo más intenso, en donde destaca la ubicación de la espinaca de 100 ppm, mientras que de color verde en la zona central se encuentran los valores más bajos, equivalentes a la zanahoria con dosis de 200 ppm.

Figura 9. Gráfico de superficie para materia seca



En la figura 5, se encuentra el gráfico de superficie referente a la variable de materia seca, en donde los valores más altos están representados en la zona central con color rojo, allí destaca la zanahoria con dosis de 200 ppm, mientras que la ubicación de la espinaca con dosis de 100 ppm es el valor más bajo y se encuentra representado con color verde en la zona inferior.

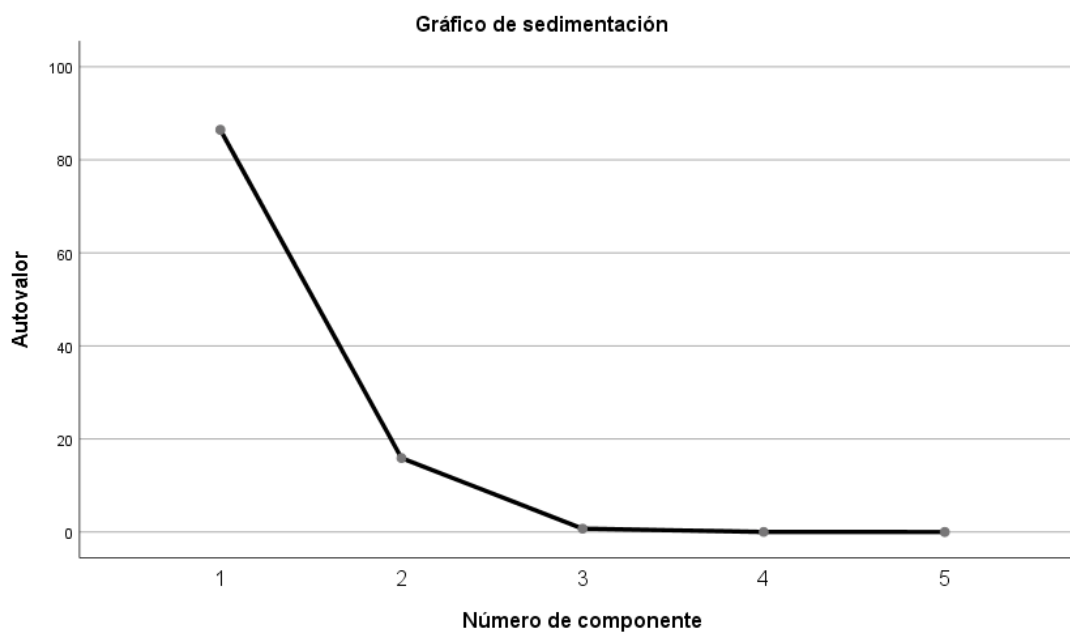
Figura 10. Gráfico de superficie para ceniza



En la figura 10, se puede observar el gráfico de superficie para la variable ceniza, en donde los valores más altos se encuentran representados por un color rojo intenso en la parte superior y corresponden a la ubicación de la espinaca con 0 ppm, mientras que el valor más bajo está representado por el color verde oscuro en donde está ubicada la zanahoria de 100 ppm en la zona central.

Tabla 16. Varianza Total explicada

Puro		Total	% de varianza	% acumulado	Total
pH	1	86,446	83,879	83,879	86,446
Acidez	2	15,887	15,416	99,295	15,887
Humedad	3	0,717	0,696	99,991	0,717
Materia seca	4	0,01	0,009	100	
Cenizas	5	5,84E-06	5,67E-06	100	

Figura 11. Gráfico de sedimentación de las variables

En la figura 11, se observa la varianza total expresada en un gráfico de sedimentación, en donde el valor más representativo es el componente uno, que corresponde al pH, con 83.87 presentando mayor incidencia entre las variables, seguido del componente dos que representa a la acidez, con 15,41 de varianza, mientras que las demás variables no presentan mayor influencia.

Tabla 17. Matriz de correlaciones

		pH	Acidez	Humedad	Materia seca	Cenizas
	pH	1	-0,771	0,422	-0,422	0,497
	Acidez	-0,771	1	-0,474	0,474	-0,341
Correlación	Humedad	0,422	-0,474	1	-1	0,306
	Materia seca	-0,422	0,474	-1	1	-0,306
	Cenizas	0,497	-0,341	0,306	-0,306	1
	pH		0	0,005	0,005	0,001
	Acidez		0	0,002	0,002	0,021
Sig. (unilateral)	Humedad		0,005	0,002	0	0,035
	Materia seca		0,005	0,002	0	0,035
	Cenizas		0,001	0,021	0,035	0,035

Figura 12. Gráfico de dos componentes en espacio rotado

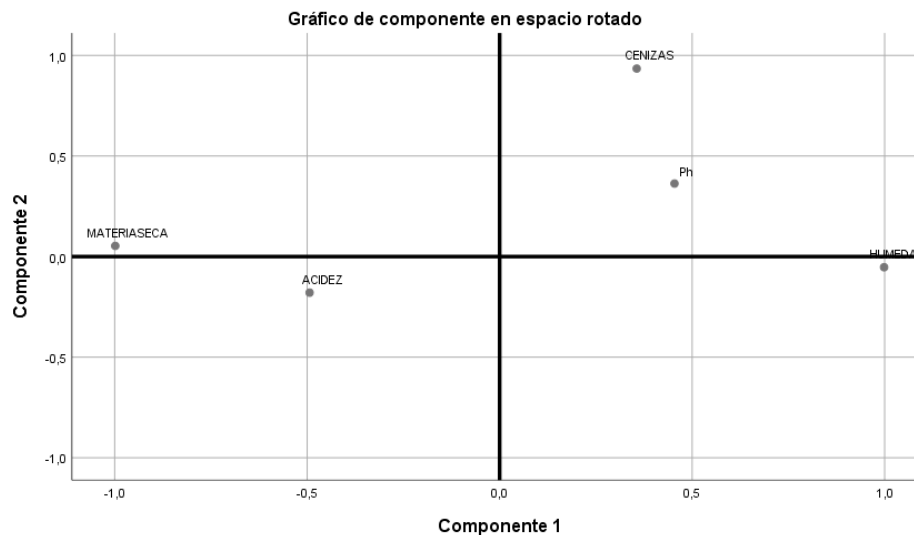
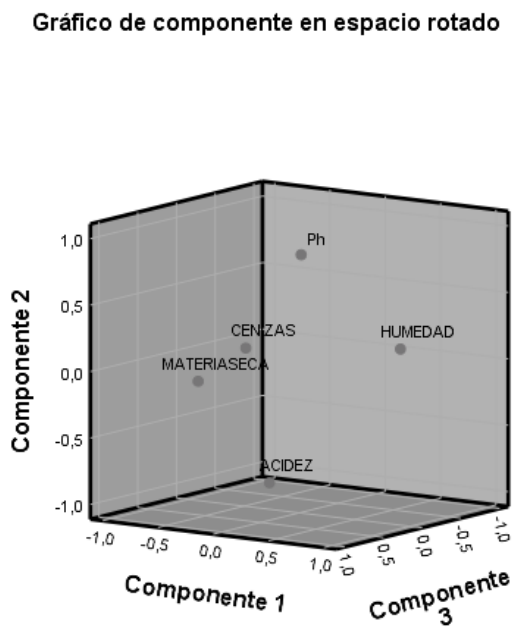
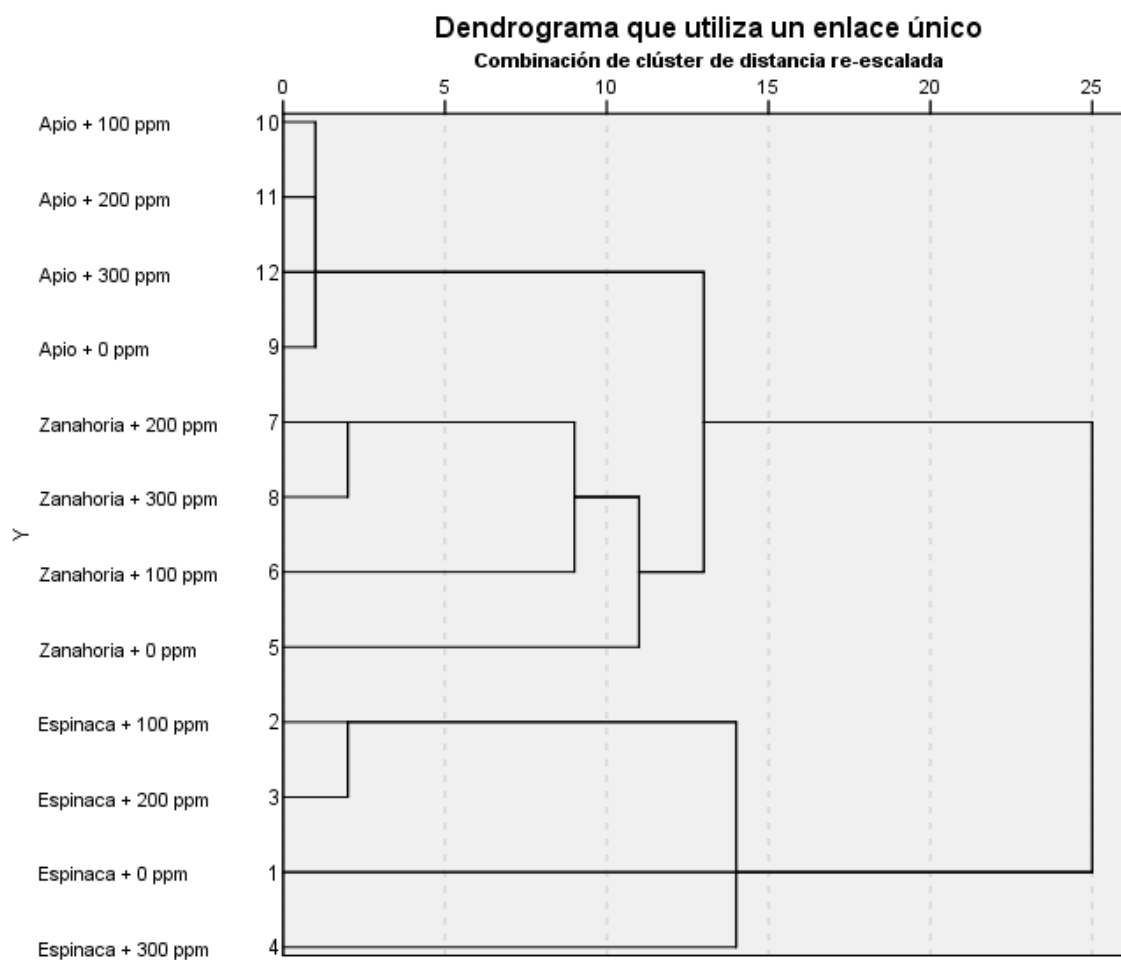


Figura 13. Gráfico de tres componentes en espacio rota (Componente1: pH; Componente 2: Acidez; Componente 3:



En la figura 12 y 13, se puede apreciar los gráficos de componente en espacio rotado, es decir que se expresa la relación que tienen las variables entre sí, en donde se observa que el pH tiene una relación negativa con la acidez, explicado de otra manera si el pH sube, la acidez tiende a bajar, y viceversa; igualmente se aprecia la relación negativa que existe entre humedad y materia seca.

Figura 14. Dendrograma



En la figura 14, se puede observar la relación que existe entre los tratamientos, es decir que se forman grupos entre los valores más cercanos; entonces se observan tres principales grupos formados: Apio de 0, 100, 200, 300 ppm; Zanahoria de 200, 300 ppm y Espinaca de 100, 200 ppm.

Resultados microbiológicos

Tabla 18. Recuento de UFC/g de aerobios mesófilos, mohos y levaduras

Parámetros microbiológicos		T0	T1	T2	T3
Aerobios mesófilos 10^{-9} (UFC/g)	Apio	3×10^{-8}	1×10^{-9}	3×10^{-8}	2×10^{-8}
	Espinaca	3×10^{-8}	4×10^{-9}	4×10^{-8}	2×10^{-9}
	Zanahoria	3×10^{-8}	1×10^{-9}	1×10^{-8}	2×10^{-8}
Mohos y Levaduras 10^{-9} (UFC/g)	Apio	4×10^{-9}	Ausencia	1×10^{-9}	Ausencia
	Espinaca	3×10^{-8}	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Zanahoria	2×10^{-10}	Ausencia	Ausencia	Ausencia

En la tabla 18, se puede apreciar en el parámetro microbiológico de aerobios mesófilos 10^{-9} (UFC/g), que, sí existe presencia en todos los tratamientos, en el tratamiento T0 hubo un recuento alto en toda el área de crecimiento, mientras que en los demás tratamientos el recuento fue bajo y fácil de contar, también se puede apreciar en la tabla 18. El recuento de mohos y levaduras 10^{-9} (UFC/g), en el tratamiento T0 hubo una incidencia significativa de los microorganismos, mientras que en los demás tratamientos hubo bajo recuento y ausencia de los mismo.

Tabla 19. Recuento de UFC/g de *E. coli*, Enterobacterias y Coliformes del tratamiento con mejor características.

Parámetros microbiológicos	Apio 300 ppm
<i>Escherichia coli</i> 10^{-2} (UFC/g)	Ausencia
Enterobacterias 10^{-2} (UFC/g)	Ausencia
Coliformes 10^{-2} (UFC/g)	Ausencia

En la tabla 19. se puede apreciar los resultados respecto a los parámetros microbiológicos de *Escherichia coli*, Enterobacterias y Coliformes, donde no fue detectado ninguno de estos microorganismos en las placas estudiadas.

Capítulo V

Discusión

Pruebas físico químicas de los vegetales de cuarta gama

Con respecto al pH

El valor de pH en espinaca fue 7,28, considerado alto con respecto a apio y zanahoria con 5,74 y 5,90 respectivamente. Esto se debe a la composición nutricional que posee cada uno de estos vegetales, la espinaca como lo explica (Huaraca, 2010), contiene un total de 60 mg de calcio y 120 mg de sodio por 100 gr, la zanahoria está conformada por 41 mg de calcio y 77 mg de sodio por 100 gr (FEN, 2018), y el apio tiene 35,8 mg de calcio 81,9 mg de sodio por 100 gr, como se observa, los valores de estos minerales que aportan un matiz alcalino son mayores en espinaca.

En un estudio realizado sobre la calidad de espinaca se encuentran valores entre 6,3 – 7,2 como lo explica (Vaca, 2013), es decir que el promedio de los valores se encuentra dentro de este rango, mientras que los resultados de apio y zanahoria son más bajos. La zanahoria, por un lado, en evaluación de calidad mantuvo valores de pH que oscilaban entre 4,64 y 6,92 (Bastidas & Valencia , 2015) y el apio presenta un rango de 5,3 – 6,2 (Martelo, Cortés, & Restrepo , Redalyc., 2011), esto explica que entre las investigaciones que se realizan para comprobar la calidad de estos alimentos, los valores de pH se encuentran dentro de rangos normales.

En las distintas concentraciones de nisina, se encuentra diferencia significativa siendo el pH mayor, el promedio de la dosis de 100 ppm con 6,55; mientras que el pH más bajo es el promedio de la concentración de 300 ppm con 5,52 según (Campos, 2007), señala que la nisina es una sustancia acida estable en soluciones de pH, la variación del pH de los productos que son tratados con nisina dependerá notablemente de la concentración

de nisina y el pH de los vegetales a mayor concentración (ppm) de nisina el pH de los vegetales tratados tiende a disminuir.

La influencia entre los dos factores, en espinaca con dosis de 100 y 200 ppm sobrepasa el rango establecido en otras investigaciones con 7,62 y 8,45 respectivamente, aunque en dosis de 0 y 300 ppm se mantiene el rango de pH con 6,50 y 6,55, lo que probablemente evidencia que una mayor dosis en espinaca mantiene el pH.

Por otro lado, la zanahoria permanece dentro de los valores encontrados, las dosis de 0 a 200, con un promedio de 5,97 a 6,46, sin embargo, a concentraciones de 300 ppm se observa una disminución del pH con un valor de 4,29.

El apio también permanece dentro del valor moderado, las concentraciones de 100, 200 y 300 ppm con 5,78 5,52 y 5,73, mientras que la dosis de 0 ppm ya no se encuentra dentro de este rango con 6,60; en este vegetal las dosis de nisina no modifican su pH.

Con respecto a la acidez

Dentro de esta variable se encuentra la espinaca con una acidez de 0,07; que es el valor más bajo en comparación con la zanahoria con 0,23 y apio con 0.18. El rango sugerido para la espinaca se puede tomar de (Vaca, 2013), en donde se presenta un valor de 0.09-0.20. Como se observa el resultado no coincide con este rango. Para la zanahoria se determina que la acidez titulable es de 0,017 y 0,279 (Bastidas & Valencia , 2015) y el resultado obtenido si se encuentra dentro del rango determinado. El apio presenta valores de 0,24 – 0.28 (Martelo, Cortés, & Suárez, Scielo, 2011) y los datos obtenidos no se encuentran dentro de estos límites.

En las dosis aplicadas se encontró diferencia significativa ya que los valores más altos se presentaron en la concentración de 300 ppm con 0,27 y los valores más bajos se encontraron en la dosis de 0 y 100 ppm con 0,11.

Tomando en cuenta la influencia que presentan los factores de acuerdo a esta variable, se observa que en espinaca la dosis de 0 y 300 ppm con 0.14 y 0.09, se encuentran dentro del rango encontrado, mientras que las dosis de 100 y 200 no se encuentran dentro de los valores investigados, lo que sugiere que al igual que en el pH, una mayor dosis de nisina mantiene los valores de acidez.

La zanahoria por otro lado, demuestra su influencia con las dosis en 0, 100 y 200, con 0,05, 0,05, 0.24, respectivamente, porque se encuentran dentro de los valores determinados, aunque la dosis de 300 sobrepasa esos límites con 0,55, lo que sugiere que una mayor dosis aumentaría la acidez, mientras que las dosis menores mantienen el nivel de acidez sugerido.

En los datos de apio la única dosis que se encuentra dentro del rango determinado es la de 100 ppm con 0,25; es decir que la aplicación de nisina con otras dosis disminuye la acidez sugerida.

Estas variaciones pueden tratarse al tipo de almacenamiento, como lo explica (Martelo, Cortés, & Suárez, Scielo, 2011), esta investigación acerca del apio mínimamente procesado, se basa en el monitoreo de algunos factores, entre ellos el almacenamiento al vacío y sin vacío en 9 días de prueba, en donde el producto sin vacío presenta deshidratación, y también la movilización de reservas orgánicas para la obtención de energía necesaria y de esta forma mantener la actividad metabólica, igualmente asociado con las degradaciones de los carbohidratos y la senescencia del producto, lo que provocó diferencias significativas en los valores de acidez. En el presente estudio se almacenó sin vacío en 8 días de prueba y se pudo observar un cambio en la estructura del producto a comparación de la inicial.

Con respecto a la humedad y materia seca

Los alimentos tienen la relación de humedad y materia seca, el porcentaje de humedad es el agua que puede ser libre o ligada, la primera es aquella que se extrae fácilmente, mientras que la ligada es aquella que está adsorbida sobre sus paredes o en su interior, por lo que no ejerce presión de vapor y no se elimina por evaporación completamente, luego la materia seca es el material que queda después de la remoción del contenido de agua.

En este estudio se determinó el porcentaje de humedad y la materia seca es su restante, entonces se observa que la espinaca generó un porcentaje humedad de 95,61, la zanahoria es el valor más bajo 91,21 y el apio el más alto con 96,97.

Otros estudios demuestran que el porcentaje de humedad de la espinaca se encuentra en 95,34 (Vaca, 2013), lo que es acertado de acuerdo al promedio de los valores obtenidos. El contenido de agua en el apio es de 95,8 según (Cano, Gómez, & Oviedo, 2019), mientras que el de zanahoria es de 90,70 (Bastidas & Valencia, 2015), en donde los valores son muy cercanos a los investigados.

El estudio aplicado determina que mientras mayor es la concentración de nisina, menor es el porcentaje de humedad porque la dosis de 0 ppm tiene 95,16, mientras que la de 300 ppm contiene 92,90.

Al revisar la influencia que existe entre los dos factores, la espinaca presenta valores que no se asemejan a los investigados, la dosis de 0, 100, 200 tienen un porcentaje de humedad mayor con 96,30; 97,31 y 97,08, por otro lado, la dosis de 300 es menor con 91,77, para que mantenga su porcentaje de humedad no se debería aplicar nisina, ya que 0 ppm es el dato que más se acerca al rango investigado.

En la zanahoria todas las dosis están relativamente cerca del valor referente, en 0, 100, 200 y 300 ppm con 92,39; 92,95; 89,29 y 90,18; aunque ninguno coincide con este rango, el dato más cercano se encuentra en la dosis de 300 ppm.

El apio tiene el porcentaje de humedad más próximo al de otros autores en la dosis de 300 ppm con 96,75; esto sugiere que mantiene un porcentaje de humedad si la dosis de nisina es mayor.

Como se mencionó con anterioridad en la investigación realizada de apio (Martelo, Cortés, & Suárez, Scielo, 2011) el almacenamiento sin vacío puede provocar una tendencia a la deshidratación, por la diferencia de potencial químico, y por los otros fenómenos que aportan la consecutiva senescencia del producto, por ello puede existir diferencias en los valores con esta variable.

Con respecto a ceniza

Los valores de ceniza son mayores en espinaca con 31,6; en comparación con zanahoria y apio con 13,44; 18,15 respectivamente, estos resultados indican el porcentaje de materia inorgánica presente, sin embargo, otros autores presentan menor valor de ceniza como (Puente, 2019), de un estudio realizado en espinaca con un total de 14.69. El mismo caso se presenta en apio, puesto que el valor de ceniza propuesto es 10 según (Ministerio de Salud Pública, 2009). En zanahoria se presenta un estudio en donde el rango es 7,62 y 8,75 (Hernández & Blanco , 2015), pero de igual manera no coincide con los valores obtenidos de ceniza.

En cuanto a las concentraciones presenta diferencia porque en el tratamiento testigo (0 ppm) el porcentaje es mayor con 23,68; mientras que las otras concentraciones se mantienen en un rango de 19,27 a 21,72.

En espinaca aparentemente la aplicación de nisina disminuye el porcentaje de ceniza, con dosis de 200 ppm presenta 27,25, mientras que con 0 ppm 35,25.

El contenido de ceniza en la zanahoria también disminuye su porcentaje con la aplicación de nisina porque en 0 ppm tiene 17,0, pero la dosis que se acerca a otras investigaciones es la de 200 ppm con 10,70.

El apio presenta el mismo patrón debido a que la dosis de 0 ppm contiene un porcentaje de cenizas de 18,80, mientras que con la aplicación de nisina a 300 ppm contiene 17,17; que es el menor porcentaje.

Con respecto a los parámetros microbiológicos

Los valores encontrados de UFC/g de aerobios (fueron notables colonias fácilmente cuantificables) para cada una de las concentraciones de nisina, esto no significa que no haya tenido efecto, sino más bien son el resultado de la presencia de las Bacterias ácido lácticas que conforman la nisina lo que según (Cano , Gómez, & Oviedo , 2019) nos indican, que dichas bacterias están presentes e inhiben el efecto de otros microorganismos que son perjudiciales para salud, sin embargo se obtuvieron buenos resultados en espinaca+300ppm y Apio 100+ppm con un recuento significativamente menor UFC/ml 3×10^{-8} a diferencia de los demás tratamientos, en donde concordamos con los resultados de (Castro, 2009), el cual recalcan que a un bajo recuento de UFC/ml $< 3 \times 10^{-8}$ tiene efecto sobre la población bacteriana total permitiendo obtener una vida útil prolongada, ya que el efecto combinado de la refrigeración con la bacteriocina, evita el crecimiento microbiano excesivo, tal es el caso de mohos y levaduras que en concentración de 100 a 300 ppm existió una ausencia total, mientras en el tratamiento (T0) donde la aplicación de nisina fue nula se observó presencia de aerobios mesófilos, mohos y levaduras (colonias incontables), esto a causa de que no contaba con las cualidades del bioconservante.

Recuento de UFC/g de E. coli, Enterobacterias y Coliforme que fue analizado a partir del tratamiento con mejores características físicas visibles donde no se detectó presencia de ninguno de los microorganismos ya mencionados, (Marquéz & García, 2007), mencionan que la nisina a distintas concentraciones inhibe los agentes microbiológicos presentes como microfloras contaminantes en los productos.

Capítulo VI

Conclusiones

Para el factor A (tipo de vegetal)

Se concluye que a pesar de que la espinaca posee más estabilidad por su pH de 7,28 debido a su composición de calcio y sodio en comparación con los otros vegetales, la zanahoria se encuentra dentro del rango para los parámetros de calidad investigados, siendo el caso, un pH de 5,90, en acidez se mantuvo en 0,23, en humedad se aproxima en porcentaje con 91,21, si bien es cierto este variable no coincide con el parámetro investigado, pero esto puede tratarse al tipo de almacenamiento sin vacío que provoca una tendencia a la deshidratación, por último en ceniza es el valor que más se aproxima al rango determinado con 13,44, por lo tanto, se acepta la hipótesis en donde se explica que el tipo de vegetal si influye en la conservación con aplicación de nisina.

Para el factor B (concentración de nisina)

Se concluye que, de acuerdo a la evaluación de los parámetros de calidad, las dosis que presentaron mejores resultados para la conservación en los tres vegetales estudiados fueron las de 100 y 300 ppm.

De igual manera debido a los análisis microbiológicos que presentaron las propiedades antimicrobianas de la nisina que en concentración de 100 y 300 ppm existió una ausencia total o mínima de dichas bacterias evidenciando que están presentes las bacterias ácido lácticas y que inhiben el efecto de otros microorganismos que son perjudiciales para salud así como: E. coli, Enterobacterias y Coliforme, mientras que el tratamiento (T0) en donde no se agregó el bioconservante se observó presencia de aerobios mesófilos, mohos y levaduras (colonias incontables), esto a causa de que no contaba con

las cualidades del bioconservante, por lo que se acepta la hipótesis en donde indica que la concentración de nisina si influye en la conservación de los vegetales.

Interacción A*B

Se concluye que los mejores tratamientos mantienen los rangos de calidad propuestos en las dos variable más influyentes de este estudio de acuerdo al gráfico de sedimentación que son pH y acidez; siendo así el tratamiento de Espinaca + 300 ppm que presenta un pH de 6,55 lo que apunta una buena estabilidad, en acidez se mantuvo dentro del rango estudiado con 0,09, mientras que el tratamiento de Zanahoria + 100 ppm, presentó un pH de 6,26 y una acidez de 0,05 coincidiendo con los valores investigados. Finalmente, el tratamiento de Apio + 100 ppm, mantiene un pH de 5,78 y una acidez de 0,25 que se encuentra dentro de los rangos indagados, igualmente se determinan estos tratamientos con las pruebas microbiológicas evaluadas en donde actuó de manera significativa la nisina en los tratamientos de Apio+100 y Espinaca+300 puesto que esta bacteria ácido láctica a un pH óptimo en los vegetales es eficiente, también tiene efecto sobre la población bacteriana total permitiendo obtener una vida útil prolongada, ya que el efecto combinado de la refrigeración con el bioconservante, evita el crecimiento microbiano excesivo en los vegetales.

Recomendaciones

En los productos de IV Gama o mínimamente procesados se recomienda el uso de la zanahoria, debido a que por los diferentes análisis mantienen sus características en cuanto a la conservación, esto basado en investigaciones sobre parámetros de calidad.

La aplicación de nisina en dosis de 100 y 300 ppm es más recomendable en la conservación de los productos de IV Gama, debido a que estas concentraciones presentaron mejores resultados en los análisis físico químicos y microbiológicos.

Se recomienda realizar el proceso de desinfección de los vegetales en dosis sugeridas en la presenta investigación, para que así no influya en los análisis microbiológicos y los resultados sean reales.

Es recomendable realizar pruebas de almacenamiento para que las características físicas y químicas de los vegetales no se vean afectadas por la atmósfera que los contiene.

Por último, se recomienda realizar una investigación en donde se determine la vida útil de los vegetales sin bioconservante y determinar la vida útil del producto con el bioconservante, ya que el mismo muestra una vida útil más larga disminuyendo su oxidación y crecimiento microbiano.

Capítulo VII

Bibliografía

- Ardisana , E., & Romero, E. (2020). Efecto de la nisina sobre la conservación del helado tipo italiano. Obtenido de Redalyc: <https://www.redalyc.org/pdf/5826/582663826013.pdf>
- Artés, F. (febrero de 2018). Las industrias de IV gama. Generalidades Hortalizas mínimamente procesadas . Obtenido de Universidad Politécnica de Valencia:
<https://www.bibliotecahorticultura.com/wp-content/uploads/2018/08/ART%C3%89S-CALERO-Francisco.-Febrero-2018.-Las-industrias-de-IV-gama.-Generalidades.-Hortalizas-m%C3%ADnimamente-procesadas-TC.pdf>
- Bastidas, R., & Valencia , S. (2015). Redalyc. Obtenido de ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE SANITIZANTES EN LA CALIDAD DE ZANAHORIA (Daucus carota L.) de IV GAMA: <https://www.redalyc.org/pdf/813/81343176023.pdf>
- Batista , A., Muñoz , R., & Yasky, S. (2022). Evaluación teórica de la exposición dietaria a la bacteriocina nisina como conservante natural. Obtenido de Scielo:
https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182022000500494&script=sci_arttext#:~:text=La%20nisina%20es%20un%20p%C3%A9ptido,y%20%CE%B2%2Dmetil%2DIantionina.
- Campos, J. (2007). Antimicrobiano natural producido por fermentación de cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. . Obtenido de RAFF: <https://raff.com.mx/pdf/NS.pdf>
- Cano , D., Gómez, A., & Oviedo , V. (Nviembre de 2019). Nisina como conservante de alimentos. Obtenido de
https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/12939/1/CanoDaniela_2015_NisinaConservanteAlimentos.pdf

- Cano, D., Gómez, A., Oviedo, V., & Ríos, A. (2015). Nisina como conservante de alimentos: revisión sistemática de la literatura. HECHOS MICROBIOLÓGICOS, 1-2.
- Diezma, B. (diciembre de 2016). CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS DE IV GAMA .
Obtenido de Universidad Politécnica de Madrid:
https://oa.upm.es/45649/1/INVE_MEM_2016_248062.pdf
- FAO. (Enero de 2021). El Año Internacional de las Frutas y Verduras 2021. Obtenido de FAO:
<https://www.fao.org/3/cb2395en/cb2395en.pdf>
- FEN. (2018). Obtenido de <https://www.fen.org.es/MercadoAlimentosFEN/pdfs/zanahoria.pdf>
- Hernández , R., & Blanco , D. (2015). Scielo. Obtenido de Evaluación de polvos de zanahoria obtenidos por deshidratación por aire forzado a diferentes temperaturas:
https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292015000400010#:~:text=Contenido%20de%20cenizas%3A%20los%20valores,%25%20y%208%2C75%25
- Huaraca, P. (marzo de 2010). UNIVERSIDAD TECNOLÒGICA EQUINOCCIAL . Obtenido de ESTUDIO INVESTIGATIVO DE LA ESPINACA, CULTIVO,PRODUCCIÒN, EXPLOTACIÒN, ANÀLISIS DE SUS PROPIEDADESNUTRICIONALES, Y CREACIÒN DE NUEVAS RECETAS CULINARIAS:
http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11563/1/41700_1.pdf
- Marqu ez, J., & García, C. (2007). Efecto de la isina sobre la microflora patógena del queso blanco artesanal tipo"telita" elaborado en una quesera de Upata, Estado Bolívar, Venezuela. Rev. Soc. Ven. Microbiol., 108-111.

- Martelo, Y., Cortés, M., & Restrepo, D. (2011). Redalyc. Obtenido de Dinámica de impregnación al vacío en apio (*Apium graveolens* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.): <https://www.redalyc.org/pdf/693/69322446017.pdf>
- Martelo, Y., Cortés, M., & Suárez, H. (2011). Scielo. Obtenido de DESARROLLO DE APIO MINIMAMENTE PROCESADO FORTIFICADO CON VITAMINA E, UTILIZANDO LA INGENIERIA DE MATRICES: <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v78n165/a03v78n165.pdf>
- Ministerio de Salud Pública. (2009). Obtenido de RESOLUCIÓN NÚMERO 4241: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Resolucion-4241-de-1991.pdf>
- Parra, R. (Junio de 2010). Bacterias Ácido Lácticas: Papeel funcional en los alimentos . Obtenido de Scielo: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>
- Prefaur, J. (Diciembre de 2014). IV Gama, una industria alimentaria en crecimiento. Obtenido de ODEPA: <https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2014/12/AgroindustrialIVGama.pdf>
- Profood. (2014). Nisina. Obtenido de [https://www.profoodinternational.com/Nisin%20\(Niprosin\)%20technical%20bulletin%20assembly%202014.pdf](https://www.profoodinternational.com/Nisin%20(Niprosin)%20technical%20bulletin%20assembly%202014.pdf)
- Puente, K. (2019). Aprovechamiento de los residuos de espinaca (*Espinacea Oleracea* L.) mediante tratamiento térmico para la obtención de fibra dietética, en el Distrito de Palcamayo – Tarma. Obtenido de UNCP: https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/5566/T010_70239790_Tn.pdf?sequence=1

Salgado , I., Hernández, G., & Suárez , Y. (2020). Eficacia de métodos de desinfección y los efectos sobre las propiedades. Obtenido de Scielo:

<https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v11n2/2007-0934-remexca-11-02-327.pdf>

Tola, J. (2016). Aplicación de ácidos orgánicos en lechugas frescas, como. Obtenido de UNIVERSIDAD DEL AZUAY:

<https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5789/1/12109.pdf>

Vaca, V. (2013). UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. Obtenido de “Estudio de la aplicación de aceites esenciales de canela y clavo de olor para optimizar la calidad microbiológica y sensorial de cuatro tipos de hortalizas: espinaca :

<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8418/1/AL%20529.pdf>