

**VALORACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA NISINA CONTRA LA
SUPERVIVENCIA DE MESÓFILOS AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y
FECALES EN HARINA DE PLÁTANO**

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

BACTERIÓLOGA

MARY LUZ MARTÍNEZ PATERNINA

ELIANA MARÍA SANTOS COAVAS

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA

MONTERÍA

2016

**VALORACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA NISINA CONTRA LA
SUPERVIVENCIA DE MESÓFILOS AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y
FECALES EN HARINA DE PLÁTANO**

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

BACTERIÓLOGA

MARY LUZ MARTÍNEZ PATERNINA

ELIANA MARÍA SANTOS COAVAS

DIRECTORA

LINDA MARÍA CHAMS CHAMS

CODIRECTOR

CRISTIAN CAMILO HERNADEZ BEDOYA

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA

MONTERÍA

2016

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

DEDICATORIA

Dedicamos este logro a:

A **DIOS** por iluminar nuestro camino en cada paso que damos y por acompañarnos durante nuestra formación profesional, llenándonos de sabiduría, fortaleza, inmenso amor y fidelidad en todo momento.

A nuestros **PADRES** y **HERMANOS**, que son la motivación en nuestras vidas para fijarnos y cumplir metas, gracias por brindarnos cariño, comprensión y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a:

A **DIOS**, por ser guía desde el principio hasta el final de nuestro proceso académico.

Nuestros **PADRES, HERMANOS y DEMÁS FAMILIARES**, por creer en nosotros siempre y ser soporte en momentos de dificultad.

Nuestros **AMIGOS**, por sus consejos y motivación constante.

A **LINDA CHAMS y CRISTIAN HERNÁNDEZ**, por su disposición, confianza y apoyo brindado.

A **WILLIAM HOYOS y GUSTAVO QUINTERO**, por su paciencia y gran colaboración.

A todos los **DOCENTES**, quienes con sus valiosos aportes contribuyeron a nuestra formación profesional.

A **JORGE ARRIETA y LILETH YANEZ**, por ofrecer siempre su colaboración.

A la **UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**, por brindarnos todos los medios para nuestro aprendizaje y formación profesional.

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN	11
2. ABSTRACT.....	13
3. INTRODUCCIÓN	15
4. OBJETIVOS	20
4.1 Objetivo general.....	20
4.2 Objetivos específicos	20
5. MARCO TEÓRICO.....	21
5.1 CONSERVANTES.....	21
5.2 BACTERIOCINAS.....	21
5.2.1 Clases de bacteriocinas	24
5.2.2 Nisina.....	26

5.3 EL PLÁTANO	29
5.3.1 Taxonomía del plátano.....	29
5.3.2 Características y definición del plátano	29
5.3.3 Variedades de plátano.....	30
5.3.4 Composición química y nutricional del plátano	31
5.3.5 Composición nutricional del plátano por cada 100 g de pulpa.....	32
5.3.6 El plátano en la agroindustria alimentaria	33
5.4 GENERALIDADES DE LAS HARINAS.....	34
5.4.1 Características organolépticas.....	35
5.5 HARINA DE PLÁTANO	35
5.5.1 Beneficios de la harina de plátano	36
5.6 ALIMENTO FUNCIONAL	38
5.6.1 Beneficios de los alimentos funcionales	39
5.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS	40

5.7.1 Mesófilos aerobios	41
5.7.2 Coliformes	42
5.8 PANORAMA DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETA)	43
6. METODOLOGÍA.....	46
6.1 MATERIALES Y MÉTODOS	46
6.1.1 Tipo de estudio.....	46
6.1.2 Población y muestra.....	46
6.1.3 Criterios de inclusión	46
6.2 LOCALIZACIÓN.....	47
6.3 PROCEDIMIENTO	47
6.3.1 Selección de la materia prima.....	47
6.3.2 Elaboración de la harina de plátano.....	47
6.4 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LA HARINA DE PLÁTANO	49

6.5 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO	50
6.6 VALORACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA NISINA FRENTE A LA SUPERVIVENCIA DE MESÓFILOS, COLIFORMES TOTALES Y FECALES EN HARINA DE PLÁTANO.....	51
6.7 DISEÑO EXPERIMENTAL	51
6.8 VARIABLES E INDICADORES.....	52
6.8.1 Variables Independientes	52
6.8.2 Variables Dependientes	52
6.9 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	53
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
7.1 PROCESO DE ELABORACION DE LA HARINA DE PLÁTANO	54
7.2 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO ESTUDIADA.....	54
7.2.1 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO.	54
7.2.2 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO.	56

7.3.1 Valoración del efecto antimicrobiano de la nisina contra la supervivencia de Mesófilos aerobios.....	59
8.3.2 Valoración del efecto antimicrobiano de la nisina contra la supervivencia de coliformes totales.....	65
7.3.3 Valoración del efecto de la nisina contra la supervivencia de coliformes fecales.....	70
8. CONCLUSIONES	76
9. RECOMENDACIONES.....	77
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química plátano en su estado verde y maduro	32
Tabla 2. Composición química de la harina de plátano.	36
Tabla 3. Parámetros a determinar en análisis bromatológico y métodos.	50
Tabla 4. Caracterización bromatológica de la harina de plátano estudiada.	55
Tabla 5. Caracterización microbiológica de la harina de plátano estudiada.	57
Tabla 6. Mejor forma de secado: Coliformes totales y fecales	59
Tabla 7. Efecto de la nisina sobre el crecimiento de Mesófilos aerobios en la harina de plátano.	61
Tabla 8. Efecto de la nisina sobre el crecimiento de Coliformes totales en harina de plátano.	67
Tabla 9. Efecto de a nisina sobre el crecimiento de Coliformes fecales en harina de plátano. ..	73

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Harina de plátano secada al aire libre y en el laboratorio que cumplen con los parámetros microbiológicos de calidad establecidos en la Resolución colombiana 11488/84. ... 56
- Figura 2.** Mesófilos aerobios. Mejor tratamiento de Secado en Laboratorio Vs Aire libre..... 58
- Figura 3.** Comportamiento de mesófilos aerobios en harina de plátano secada al aire libre..... 60
- Figura 4.** Comportamiento de Mesófilos aerobios en la harina de plátano secada en el laboratorio. 64
- Figura 5.** Mesófilos aerobios en harina de plátano secada en el laboratorio. Mejor tratamiento (con nisina adicionada por inmersión/ 24 hrs) Vs Control (SN). 64
- Figura 6.** Comportamiento de Coliformes totales en harina de plátano secada al aire libre. 66
- Figura 7.** Comportamiento de Coliformes totales en harina de plátano secada en el laboratorio. 66
- Figura 8.** Comportamiento de Coliformes fecales en harina de plátano secada al aire libre. 72
- Figura 9.** Comportamiento de Coliformes fecales en harina de plátano secada en el laboratorio. 72

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Esquema de elaboración de harina de plátano	90
Anexo 2. Esquema de determinación de Mesófilos aerobios (Recuento en placa)	91
Anexo 3. Esquema de determinación de Coliformes totales y fecales (NMP).....	92
Anexo 4. Esquema de determinación de Coliformes totales y fecales (NMP).....	93

1. RESUMEN

Como alternativa para el aprovechamiento de los excedentes generados del cultivo de plátano, se realizó una investigación cuyo objetivo principal fue valorar el efecto antimicrobiano de la nisina contra la supervivencia de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales los cuales pueden afectar la calidad y conservación de la harina de plátano elaborada de manera artesanal, de tal forma que la nisina en conjunto con unas buenas prácticas de manufactura garanticen la obtención de un alimento inocuo, seguro, nutritivo y con grandes beneficios para la salud. El estudio fue de tipo experimental y analítico donde la población objeto de estudio fue la harina de plátano elaborada según la metodología descrita por García y Ramírez con algunas modificaciones anteriormente estandarizadas, la muestra correspondió a 20 unidades muestrales de 100g de harina de plátano. A cada muestra de harina se le determinó la carga microbiana inicial (harina sin nisina), según la metodología descrita en el manual de técnicas de análisis para el control de calidad de alimentos para consumo humano (INVIMA) y según lo reglamentado por el Ministerio de Salud Colombiano en la Resolución No. 11488 del 1984. Posteriormente a las harinas de plátano con y sin nisina, secadas al aire libre y en el laboratorio, se les determinó mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales, luego de 24 y 48 horas de incubación, según lo reglamentado en la resolución anteriormente mencionada. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de $2 \times 2 \times 6$ y 3 repeticiones para un total de 20 unidades

experimentales donde los factores que intervinieron fueron: las condiciones de secado (aire libre y laboratorio), modo de adición de la nisina a la harina (por inmersión y directa) y los tiempos de incubación (24 y 48 horas). Los resultados fueron analizados a través del software estadístico Graph Pad Prism 6. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), aplicando la prueba de Shapiro-Wilk, para determinar si los datos eran de tipo paramétricos. Posterior a esto, se aplicó la Prueba t de Student, para determinar diferencias significativas cuando los datos eran paramétricos, y el test U Mann Whitney y test de Kruskal-Wallis cuando los datos eran no paramétricos. Es importante destacar que la nisina adicionada por inmersión tuvo un efecto significativo contra la supervivencia de los microorganismos en estudio hasta las 24 horas de incubación, sin embargo mostró una mayor efectividad sobre coliformes fecales al inhibir el crecimiento de estos a las 48 horas de incubación.

Palabras claves: Nisina, harina de plátano, excedentes, conservación, mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales.

2. ABSTRACT

As an alternative to the use of surpluses generated from banana cultivation, an investigation was conducted whose main objective was to evaluate the antimicrobial effect of nisin against the survival of aerobic, total and fecal coliforms, which may affect the quality and conservation of the Banana meal made in a handmade way, in such a way that nisin, together with good manufacturing practices, guarantee a safe, nutritious and safe food with great health benefits. The study was of an experimental and analytical type, where the study population was plantain flour elaborated according to the methodology described by Garcia and Ramírez with some modifications previously standardized, the sample corresponded to 20 sample units of 100g of banana meal. The initial microbial load (flour without nisin) was determined in each sample of flour according to the methodology described in the manual of analysis techniques for food quality control (INVIMA) and as regulated by the Ministry of Food Colombian Health in Resolution No. 11488 of 1984. Subsequently to the banana meal with and without nisin, dried outdoors and in the laboratory, were determined aerobic, total and fecal coliform mesophiles, after 24 and 48 hours of incubation , As regulated in the aforementioned resolution. A completely randomized design (DCA) with factorial arrangement of 2x2x6 and 3 replicates was used for a total of 20 experimental units where the factors involved were: drying conditions (free air and laboratory), mode of addition of nisin to The flour (by dipping and direct) and the incubation times (24 and 48 hours). The results were analyzed using the Graph Pad Prism 6

statistical software. An analysis of variance (ANOVA) was performed, applying the Shapiro-Wilk test, to determine if the data were of the parametric type. Subsequently, the Student's t test was applied to determine significant differences when the data were parametric, and the U Mann Whitney test and the Kruskal-Wallis test when the data were non-parametric. It is important to note that the nisin added by immersion had a significant effect against the survival of the microorganisms under study until the 24 hours of incubation, nevertheless showed a greater effectiveness on fecal coliforms by inhibiting the growth of these to the 48 hours of incubation.

Key words: Nisin, banana meal, surplus, conservation, aerobic mesophiles, total coliforms and fecal coliforms.

3. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la FAO (2014), las pérdidas y desperdicios de alimentos impactan la sostenibilidad de los sistemas alimentarios, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria. Entre los impactos negativos de este fenómeno, la FAO menciona la reducción de la disponibilidad local y mundial de alimentos, lo que genera un impacto negativo en la salud y la nutrición de las personas.

En Colombia, la oferta disponible de alimentos para consumo humano es de 28 millones de toneladas al año (FAO, 2014). Sin embargo, no toda la comida destinada al consumo humano se aprovecha. A lo largo de la cadena alimentaria se generan pérdidas y desperdicios de alimentos. Esto obedece a diversas razones, desde plagas, decisiones de producción, cambio climático, carencia de logística y tecnología, deficiencias en infraestructura y capacidad, hasta malos canales de distribución y cadenas de mercado, malos hábitos de consumo y falta de coordinación estratégica entre los sectores privado y público (Departamento Nacional de Planeación DNP, 2016). El cultivo de plátano en Colombia no es ajeno a esta situación pues en la cadena productiva del plátano gran parte del fruto es desperdiciado en cada temporada de cosecha. En primer lugar, son desperdiciados debido al daño o deterioro de la fruta durante la operación de cosecha, así como durante el manejo, poscosecha y almacenamiento; por otro lado se producen pérdidas cuando la producción supera la demanda real y por último son eliminados del mercado

cuando en su distribución algunos plátanos no cumplen con el tamaño estándar comercial establecido (Huang, 2013). Ahora bien, cuando el fruto no cumple con los criterios de calidad para su exportación como son tamaño y peso, se presenta una sobre producción del mismo, provocando saturaciones en el mercado nacional y por ende pérdidas post cosechas por su vida útil relativamente corta al no contar con medios y condiciones de almacenamiento adecuado (Alduvín, Duarte, & Quintana, 2006).

La problemática anterior, en los últimos años ha planteado la necesidad de buscar alternativas de industrialización que garanticen por un lado el aprovechamiento de este rubro y al mismo tiempo prolongue su vida útil (Alduvín, Duarte, & Quintana, 2006). Una alternativa para lograrlo es mediante la implementación de algunas técnicas de transformación del fruto como lo es la harina de plátano (Corporación Colombia Internacional, 2000).

En este caso es importante resaltar que el consumo de plátano el cual es la base fundamental de esta harina es recomendable en casos de artritis, gota o úlceras, pues ayuda a neutralizar y a disolver los ácidos retenidos en el cuerpo, principalmente el úrico, el fosfórico y el sulfúrico. (Canto y Castillo, 2011). La pulpa de plátano posee una excelente fuente de potasio el cual beneficia a los músculos, ya que ayuda a mantener su buen funcionamiento y evita los espasmos musculares, ayuda a disminuir la presión arterial y también reduce el riesgo de accidentes cerebrovasculares. Contiene vitaminas A, B₆, C y D, dando beneficios especialmente a los huesos y músculos del cuerpo humano y ayudando a mejorar el humor en personas con depresión y síndrome pre-menstrual. La fibra natural de los plátanos también puede contribuir a los muchos

beneficios para la salud como intestinos sanos, salud cardiovascular, protección contra golpes, protección de úlcera, mejorar la presión arterial, puede aumentar el estado de ánimo, aumentar la energía y ayuda a reducir la retención de líquido (Kumar y Bhowmik, 2012).

La harina de plátano posee muchas características que la hacen atractiva desde el punto de vista nutricional y funcional, ya que en ella se conserva gran parte de los componentes del plátano, destacándose los minerales como potasio calcio y fósforo y vitamina tales como la A y del complejo B (Rodríguez y Pérez, 2015). Algunos autores afirman que este alimento es un ingrediente potencial en la elaboración de productos con carbohidratos de bajo índice glucémico al determinar en ésta un alto contenido de almidón resistente y fibra (Juárez et al 2006). Estos dos componentes aportan muchos beneficios para la salud por sus efectos fisiológicos en el organismo como disminución del tiempo de tránsito intestinal, reducción de glucosa en sangre y consecuentemente, la cantidad del nivel de colesterol (Soto, 2010).

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que esta agro-transformación del plátano al igual que otras, está concentrada en actividades artesanales o ancestrales y de pequeñas agroindustrias; donde el producto es elaborado mediante diversas técnicas y equipos rudimentarios y sin controles de proceso, obteniendo, en su gran mayoría, productos de baja calidad y de corta vida útil, pero de gran aceptación y consumo (Flores, 2013). A esto se le suma que todos los alimentos son sistemas complejos de gran riqueza nutritiva y por tanto sensible al ataque y posterior desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). En todos ellos hay siempre una determinada carga microbiana, la cual debe ser controlada al punto de que no

sobrepase ciertos límites establecido por las respectivas normas que rigen dicho alimento, y a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo. Por otra parte, existen microorganismos patógenos que producen enfermedades y cuya presencia es por tanto indeseable y hace extraordinariamente peligroso su consumo (Serna y López, 2010).

Este hecho ha generado que hoy día, los aditivos alimentarios jueguen un papel fundamental en la industria alimentaria a la hora de mantener las cualidades y características que exigen los consumidores, haciendo que los alimentos continúen siendo seguros, nutritivos y apetecibles en su proceso desde el "campo a la mesa"(The European Food Information Council, 2006).

La nisina es un aditivo ampliamente utilizado en la industria alimentos que actúa como conservante, inhibiendo la reproducción de microorganismos de descomposición como las bacterias de putrefacción del ácido láctico, lo cual hace que se prolongue la duración y se mantenga la calidad del producto. Esta, se ha venido utilizando cada vez más como intervención primaria para desactivar o inhibir la proliferación de microorganismos patógenos de los alimentos como *Listeria*, *Estafilococos* y *Micobacterias*, así como las bacterias productoras de esporas *Bacillus* y *Clostridium*, lo que contribuye a aumentar la inocuidad de los alimentos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/ Organización Mundial de la Salud - FAO/OMS, 2015).

Internacionalmente la nisina es reconocida como un agente antimicrobiano bien definido para los alimentos, de baja toxicidad y con una larga trayectoria de uso inocuo, su utilidad actualmente está aprobado en una amplia variedad de productos alimentarios, como quesos y productos de quesos, postres lácteos, conservas de hortalizas y sopas y productos de panadería en diversos países del mundo. La nisina es eficaz contra las bacterias Gram positivas y también se ha demostrado su eficacia contra bacterias Gram negativas cuando se aplica con el sistema de la tecnología de barreras (aplicación simultánea de varios procesos u obstáculos) en pro de la inocuidad y conservación de los alimentos (FAO/OMS, 2015); también existen estudios donde ha mostrado buena efectividad contra microorganismos aerobios y coliformes totales en quesos elaborado a partir de leche pasteurizada (López, 2010). Su estabilidad es óptima con un pH 3; el proceso de cocción, especialmente con un pH elevado o neutro, puede dar lugar a una descomposición considerable de la nisina (FAO/OMS, 2015).

En este estudio se evaluó el efecto antimicrobiano de la nisina contra el crecimiento y la supervivencia de microorganismos deterioradores y patógenos como mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en harina de plátano, se planteó que la nisina es un antimicrobiano de baja toxicidad que puede responder a la necesidad de mejorar la calidad microbiológica de la harina de plátano y favorecer la comercialización de un producto de excelente calidad; aprovechando así las grandes propiedades nutricionales y funcionales de este alimento, las cuales pueden contribuir a la prevención de enfermedades crónicas como diabetes, hipercolesterolemia, cáncer de colon y por tanto mejorar la seguridad alimentaria del país..

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Valorar el efecto antimicrobiano de la nisina contra la supervivencia de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en harina de plátano.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar bromatológica y microbiológicamente la harina de plátano.
- Determinar la carga microbiana de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en harina de plátano elaborada en diferentes condiciones (secada al aire libre y en el laboratorio).
- Evaluar la efectividad antimicrobiana de la nisina adicionada en diferentes etapas de elaboración de la harina de plátano (por inmersión y directa) contra la supervivencia de los microorganismos en estudio.
- Establecer si la nisina es un agente inhibidor del crecimiento de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en harina de plátano.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 CONSERVANTES

Es una sustancia o mezcla de sustancias, distintas a la materia prima básica de un producto, que se encuentra en éste como resultado de cualquier fase de su producción, tratamiento, almacenamiento o envasado. A aquellos conservantes que se añaden a un producto concretamente para evitar que se alteren o contaminen, se les han dado la denominación de conservantes químicos. Los conservantes pueden inhibir a los microorganismos por dañar su membrana celular, o por obstaculizar la actividad de sus enzimas o sus mecanismos genéticos (Ávila y Fonseca, 2008). La velocidad de deterioro microbiológico no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la composición química del producto y del tipo de carga microbiana inicial. Los antimicrobianos son compuestos químicos añadidos o presentes en los alimentos que retardan el crecimiento microbiano o inactivan a los microorganismos y por lo tanto detienen el deterioro de la calidad y mantienen la seguridad del alimento (Rodríguez, 2011).

5.2 BACTERIOCINAS

Las bacterias ácido lácticas han sido utilizadas por muchos años como conservantes en la industria de alimentos, ya que promueven la producción de sustancias antimicrobianas como el

ácido láctico, el etanol, el dióxido de carbono, el benzoato y sustancias proteicas denominadas bacteriocinas. Estas últimas se han utilizado como bioconservantes en alimentos desde la década de los 80's, ya que contribuyen favorablemente en la preservación de éstos por su capacidad para inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos o alterantes presentes en las materias primas, y que podrían convertirse en la flora predominante de algunos productos fermentados. El desarrollo de estos microorganismos ácido lácticos, y la ausencia de patógenos o alterantes, contribuyen favorablemente en la preservación de los alimentos permitiendo reducir el uso de conservantes químicos y suavizar los tratamientos a los que se someten los alimentos procesados, sin que esto afecte su calidad y seguridad.

En los últimos 30 años, tanto la comunidad científica como el sector industrial, han presentado un creciente interés en las bacteriocinas. Se han desarrollado diversas investigaciones en torno a su detección, producción, purificación, forma de acción, caracterización bioquímica, propiedades bactericidas, microorganismos inhibidos o sensibles y aplicación con éxito en la bioconservación de alimentos (Agudelo et al., 2015).

Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos producidos por un gran número de bacterias, incluyendo las bacterias del grupo ácido lácticas (BAL). Normalmente actúan contra microorganismos no deseados, estrechamente relacionados o responsables del deterioro de alimentos y causantes de enfermedades. Por esta razón, se utilizan en varias aplicaciones, como la biopreservación, la extensión de la vida útil, la acción antimicrobiana clínica y para el control de fermentaciones (Marcos et al., 2013). El término “bacteriocinas” fue propuesto por primera

vez por Jacob y colaboradores en 1953 para referirse a las sustancias proteicas con actividad antimicrobiana de origen bacteriano; luego, en 1976 Tagg y colaboradores las definieron como un grupo de sustancias antimicrobianas de origen bacteriano, caracterizadas por poseer un componente proteico biológicamente activo y por ejercer un modo de acción bactericida. No obstante, se tienen reportes que la primera bacteriocina fue identificada por Gratia en 1925, como una proteína antimicrobiana producida por *Escherichia coli* (Agudelo et al., 2015).

Las bacteriocinas comprenden un grupo grande y diverso de proteínas o péptidos antimicrobianos sintetizados ribosómicamente, algunos de los cuales presentan modificaciones post-traduccionales, que tienen un efecto bacteriocida o bacteriostático en otras bacterias, ya sean de la misma especie (espectro estrecho) o de otros géneros (espectro amplio). La célula productora sintetiza una molécula que la inmuniza contra la propia bacteriocina. La producción ocurre de forma natural durante la fase logarítmica del desarrollo bacteriano o al final de la misma, guardando relación directa con la biomasa producida. Estos péptidos son producidos por varias especies bacterianas, donde son de particular interés para la industria alimentaria las que provienen de Bacterias Ácido Lácticas (BAL) que tienen el estatus de Qualified Presumption of Safety (QPS), ya que estos microorganismos son considerados como seguros para la salud, gracias a que sus metabolitos han sido consumidos en alimentos fermentados por innumerables generaciones sin que se detectaran efectos adversos en la población. Dentro de este grupo, se ha estudiado especialmente el género *Lactobacillus*, por su capacidad para la bioconservación de los alimentos (Agudelo et al., 2015).

La síntesis de las bacteriocinas se produce, generalmente, cuando las bacterias que las sintetizan se encuentran en situaciones de estrés. Como es habitual en las rutas metabólicas de los microorganismos, la síntesis de las bacteriocinas también depende del ecosistema, pH, potencial de óxido-reducción, cantidad de nutrientes, fase de crecimiento, temperatura y oxígeno disponible. Así mismo, son inactivadas por enzimas como la tripsina y la pepsina, las cuales al encontrarse en el tracto digestivo no permiten que las bacteriocinas alteren la microbiota existente en él (Marcos et al., 2013). Existen numerosas bacteriocinas producidas por las BAL, cada una tiene espectros de inhibición particulares, característica que es aprovechada en la industria de los alimentos para utilizarlas en diversas aplicaciones. Algunas se utilizan en procesos que requieren la inhibición del crecimiento de bacterias indeseables específicas, estrechamente relacionadas al productor de la bacteriocina, y en otros casos se aplican para inhibir el crecimiento de microorganismos degradadores de alimentos o de patógenos como *Staphylococcus* y *Listeria*, respectivamente. Las bacteriocinas pueden ser empleadas en alimentos mediante la adición del microorganismo productor, o una preparación de éstas, como una barrera adicional cuando se pretende la preservación por métodos combinados (Agudelo et al., 2015).

5.2.1 Clases de bacteriocinas

Muchas de las bacteriocinas de las bacterias ácido lácticas, son moléculas catiónicas, hidrofóbicas o anfifílicas, compuestas de 20 a 60 aminoácidos. Estas bacteriocinas son clasificadas comúnmente en 3 clases: La clase I, incluye a péptidos pequeños (< 5 kDa), activos

a nivel de membrana, que contienen aminoácidos inusuales como lantionina (Lan), α -metillantionina (MeLan), deshidroalanina y deshidrobutirina, formados en modificaciones post-traduccionales. Estas bacteriocinas son llamadas lantibióticos y se dividen en dos subgrupos atendiendo a su estructura y modo de acción. Los lantibióticos de tipo A se caracterizan por ser péptidos flexibles y cargados positivamente, que actúan a nivel de membrana. A este tipo pertenece la nisina, la más estudiada de todas las bacteriocinas producidas por las bacterias lácticas. Los lantibióticos de tipo B, tienen una estructura secundaria más rígida, son péptidos globulares que actúan inhibiendo algunas de las reacciones enzimáticas de la célula Diana, (Soto, 2014). La clase II de las bacteriocinas, también llamadas no lantibióticos, son péptidos con un peso molecular menor a 10 kDa, son estables al calor y contienen 21 aminoácidos regulares que no sufren modificaciones postraduccionales, se divide en 3 subgrupos: clase IIa, IIb y IIc. En la clase IIa se encuentran péptidos como la pediocina que contienen una secuencia consenso –Tyr Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys- y es uno de los grupos que abarca más atención por su actividad anti-*Listeria*. La clase IIb incluye bacteriocinas que requieren un sistema de dos péptidos diferentes para ejercer actividad antimicrobiana. La clase IIc contiene los péptidos restantes de esta clase y corresponden a bacteriocinas secretadas por el sistema sec-dependiente (Pérez, 2012). Y la clase III, denominadas bacteriolincinas, incluye péptidos cuyo peso molecular es mayor a 30 kDa y son termolábiles, por lo que tienen menos interés para tecnologías alimentarias. Su mecanismo de acción es distinto en comparación con el resto de las bacteriocinas, y se basa en la catálisis e hidrólisis de la pared celular de las células sensibles, (Soto, 2014).

En cuanto a los mecanismos de inhibición utilizados por las bacteriocinas, la formación de poros en la membrana citoplásmica de células sensibles parece ser un mecanismo de acción común, presentado por las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas. La estructura de estos péptidos, α -helice o β -laminar, formaría dos caras, una hidrofílica y otra hidrofóbica creando oligómeros que atravesarían la membrana formando poros, en los que el lado apolar de la molécula se situaría próxima a los lípidos de la membrana, y el lado polar miraría al centro del poro. Como consecuencia se observa, en general, una pérdida de iones K, ATP y, en algunos casos aminoácidos y moléculas pequeñas. La pérdida de estas sustancias origina a su vez una pérdida del potencial de membrana, consumo de las reservas energéticas celulares, descenso en la síntesis de ADN, ARN y proteínas, originando finalmente la muerte celular, (Vásquez, Suárez y Zapata, 2009).

5.2.2 Nisina

Es un péptido lantibiótico cargado positivamente, capaz de unirse a membranas citoplasmáticas. La nisina contiene 34 residuos de aminoácidos y tiene un peso molecular de 3,4 kD, presenta un pH ácido óptimo de 2 a 5, por lo que es estable en condiciones ácidas, se produce por algunas cepas de *Lactococcus lactis*. Se han estudiado dos grupos de nisina, A y Z, diferenciadas por el aminoácido del residuo 27, el grupo A contiene Histidina, mientras que el B tiene Asparagina, sin embargo no presentan diferencias en su poder antimicrobiano, (Soto, 2014). El modo de acción de la nisina es una unión inicial a la membrana bacteriana por atracción electrostática entre los lípidos cargados negativamente y la carga positiva localizada,

fundamentalmente, en uno de los extremos de la bacteriocina (extremo C-terminal de la nisina). A continuación se produce una inserción de las bacteriocinas en la bicapa lipídica por su extremo N-terminal, esto origina una desestabilización y permeabilización de la membrana citoplasmática que da origen a la formación de poros transitorios o canales iónicos, que causan la disipación o reducción de la fuerza motriz de la célula (pérdida de iones) debido a la interacción con los lípidos aniónicos que constituyen la pared celular de todos los microorganismos Gram positivos; estos iones son necesarios para la producción de energía y síntesis de proteínas o ácidos nucleicos en la bacteria, sin los cuales eventualmente muere, (Pérez, 2012). También se ha encontrado que bacterias Gram negativas, que usualmente son insensibles a la acción de la nisina, pueden ser sensibilizadas mediante la adición de agentes quelantes que afectan la integridad de la membrana externa, y permiten el acceso de la bacteriocina a la membrana citoplasmática (Agudelo et al., 2015).

La nisina es un antibacteriano ampliamente utilizado como conservador de alimentos, debido a su potente actividad bactericida contra una gran variedad de bacterias que deterioran los alimentos, principalmente Grampositivas como *Listera monocytogenes*, *Clostridium botulinum* y *Bacillus cereus*. (Soto, 2014). Aunque se dice que la nisina no tiene actividad contra bacterias gram negativa, existen estudios donde esta ha mostrado buena efectividad contra microorganismos aerobios y coliformes totales en quesos elaborado a partir de leche pasteurizada (López, 2010).

Algunas ventajas que presenta la nisina son (Pérez, 2012):

- Al ser de naturaleza proteica, es inactivada fácilmente por enzimas proteolíticas del tracto gastrointestinal, entre las que conviene citar las de origen pancreático (tripsina y alfa-quimiotripsina) y gástrico (pepsina) característica que hace de estos metabolitos bacterianos, sustancias seguras para ser incluidas como biopreservantes de los alimentos, puesto que serían inactivadas durante su paso por el tracto gastrointestinal sin ser absorbidos como compuestos activos y sin causar, por tanto, los riesgos relacionados con el uso de antibióticos (Vásquez et al, 2009).
- Marcada termorresistencia, lo que le permite conservar su actividad antimicrobiana.
- Amplio espectro antimicrobiano frente a diversas bacterias Gram positivas patógenas o deterioradoras y algunas Gram negativas.
- Por ser la más caracterizada, es de fácil manipulación genética y la única comercial.
- No presenta toxicidad su ingestión, ni contribuye con olor, color o sabor al producto alimenticio.

Pese al reporte de aplicación de la nisina como bioconservante para alimentos, fue hasta 1968 que una comisión conjunta de la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación - FAO y la Organización Mundial de la Salud – OMS, aceptó su empleo, indicando que la dosis aceptable podría ser superior a los 0,125 mg/Kg, (Agudelo et al., 2015). Es la única bacteriocina incluida en la lista positiva de aditivos alimentarios, Codex Alimentarius; en su norma estándar para quesos, la nisina puede ser usada a una concentración de 12,5 mg/kg, en

tanto que para productos cárnicos, aves de corral y de caza, en productos tratados térmicamente enteros o en piezas, se permite hasta 25 mg/kg, y para embutidos se tiene establecido un máximo 7 mg/kg, (Comisión del Codex Alimentarius, 2015)

5.3 EL PLÁTANO

5.3.1 Taxonomía del plátano

Los plátanos son plantas comprendidas dentro de las Monocotiledóneas. Pertenecen a la familia botánica Musáceae y ésta al orden Scitamineae. La familia Musáceas está constituida por los géneros *Musa* y *Ensete*. En esta sección, las especies silvestre *Musa acuminata* y *Musa balbisiana* son las más importantes porque por hibridación y poliploidía dieron origen a los plátanos cultivados (Vásquez, Romero y Figueroa, 2005). El método moderno de clasificación de los plátanos comestibles fue ideado por Simmonds y Shepherd (1955) quienes tomaron en cuenta que estos frutos se originaron de dos especies silvestres como *M.acuminata colla* (genoma A) y *M. balbisiana colla* (genoma B).

5.3.2 Características y definición del plátano

El plátano, “posee una fruta de producción asexual directa, con un fruto largo encorvado, blanco, que se da en forma de racimo” (Componente de Agronegocios-Programa MIDAS, 2009), la fruta es generalmente cilíndrica con tres ángulos pronunciados, se consume en diversos estados de madurez y de ello depende su sabor entre otras características (Herrera,

2011). La planta es una herbácea perenne gigante, con rizoma corto y tallo aparente, que resulta de la unión de las vainas foliares, cónico y de 3,5-7,5 m de altura, terminado en una corona de hojas (Componente de Agronegocios-Programa MIDAS, 2009). Según el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC, 1976) se define por plátano todos los frutos procedentes de cualquier variedad del género *Musa* (NTC 1190).

5.3.3 Variedades de plátano

El cultivo de plátano en Colombia se desarrolla en todo el territorio nacional, desde el nivel del mar hasta 2000 m.s.n.m., por lo que es considerado como de gran importancia socioeconómica como generador de empleo en el sector rural. Existen más de 30 variedades de musáceas de cocción (plátano) cultivadas en todas las zonas agroecológicas del país, los principales centros productivos de plátano se concentran en la región andina que contribuye con el 50% de la producción nacional, y en menor volumen en las regiones Caribe, Pacífico y Orinoquia (Galeano y Aguirre, 2012). Las variedades más cultivadas a nivel nacional son el dominico hartón, el dominico, el hartón, el pelipita y el cachaco o popocho y su distribución geográfica depende de las condiciones agroecológicas a las cuales se adaptan las distintas variedades. Así, el plátano hartón se cultiva en las zonas cálidas ubicadas entre 0 y 1.000 msnm, como en los Llanos Orientales y en la Costa Atlántica, esta variedad es la de mayor aceptación en los mercados nacional e internacional; el dominico hartón se cultiva en las regiones ubicadas entre los 1.000 y 1.600 msnm, principalmente en la zona central cafetera; Dominico en las zonas ubicadas entre los 1.200 hasta los 2.000 msnm. El plátano cachaco se cultiva principalmente en

las regiones donde se producen los plátanos dominico hartón y dominico y el plátano pelipita en los Llanos Orientales. Por lo general, estas dos últimas variedades se orientan al consumo de cada región. De las variedades cultivadas comercialmente en el país, los plátanos hartón y dominico hartón presentan el mayor potencial para el procesamiento, debido a que el clima cálido en el cual se producen favorece el desprendimiento de la cáscara, labor que resulta bastante dispendiosa al procesar el producto (Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural, 2005 y Corporación Colombia Internacional, 2000). En general el plátano se desarrolla en los climas denominados como medio y cálido, cuyas temperaturas varían entre 18 a 22 °C y 22 a 38 °C, son los mejores para el cultivo de los clones más conocidos. La precipitación requerida es de 1800 a 3600 mm al año bien distribuidos. Requiere luminosidad solar alta y vientos moderados, ya que vientos muy frecuentes ocasionan rompimientos de hojas y volcamiento de las plantas. En cuanto a los suelos óptimos para el desarrollo del cultivo están aquellos con buen drenaje, profundos, con buen contenido de materia orgánica, con textura franca, buena fertilidad y pH de 6.5 a 7.0 (Camayo, 2015).

5.3.4 Composición química y nutricional del plátano

La composición química del plátano va a depender del estado de madurez en el cual se encuentre la fruta. En estado verde o maduro, el plátano presenta un 67-75% de humedad, 1% de proteína, 0.3-0.5% de lípidos, 20-30% de carbohidratos totales, 0.5% de fibra total y 1% de cenizas (Tabla 1). Alcanza aproximadamente un contenido energético de 4Kcal/g (Chávez y col., 1992; Tobin y Muller, 1998).

Tabla 1. Composición química plátano en su estado verde y maduro

Tipo plátano	Componentes (g)					
	Agua	Azúcares	Almidón	Fibra dietaría	Proteína	Grasa
Plátano de postre (maduro)	75.1	20.9	2.3	3.1	1.2	0.3
Plátano de cocción (verde)	67.5	5.7	23.7	2.3	1.1	0.3

Fuente: (Holland et al., 1991)

5.3.5 Composición nutricional del plátano por cada 100 g de pulpa

El almidón es el carbohidrato predominante en el fruto verde, mientras que en estado maduro presenta mayor contenido de azúcares invertidos. A medida que la fruta madura, el polisacárido se hidroliza por la acción de las amilasas y mediante otros sistemas enzimático se sintetiza sacarosa y fructosa que se encuentran cuando llega la maduración, razón por la cual el plátano maduro es más dulce que el verde (Baudi, 1993). La fibra en la pulpa del fruto tiene bajas concentraciones y no cambian su concentración durante la maduración. El ácido predominante del plátano es málico y en menor proporción cítrico y oxálico cuyos niveles se incrementan pasando del estado verde con 0.7 % a 1.5 % en estado maduro (Cayón et al, 2000). La pulpa del plátano como muchos frutos es susceptible al pardeamiento cuando se expone al oxígeno, fenómeno relacionado con niveles de antioxidantes (polifenoles); el pardeamiento enzimático en los tejidos ha sido atribuido a la actividad de la polifenol oxidasa (PFO) responsable del

desarrollo de un color café por oxidación de los mismos (García, Giraldo, Hurtado y Mendivil 2006).

5.3.6 El plátano en la agroindustria alimentaria

En la industria del plátano, el 40% de los frutos se desperdicia en cada temporada de cosecha. El fenómeno de los residuos del plátano pasa a lo largo de toda la cadena de suministro, desde la producción agrícola hasta el consumo final. En primer lugar, los plátanos se desperdician debido a los daños o el deterioro de la fruta durante la operación de cosecha, así como durante el manejo poscosecha y almacenamiento; por otro lado se producen pérdidas cuando la producción supera la demanda real y por último son eliminados del mercado cuando en su distribución algunos plátanos no cumplen con el tamaño estándar comercial establecido (Huang, 2013). De los 96 millones de toneladas métricas de plátano producido, aproximadamente el 20% del desperdicio se debe a razones tales como el tamaño de la fruta, daños del fruto durante la cosecha y el transporte, y una cierta parte se pierde por el mal almacenamiento del fruto. Más de la mitad de estos desperdicios son plátanos verdes los cuales son ricos en almidón resistente, (Huang, 2013). Los métodos para hacer uso de los residuos o excedentes del plátano son limitados, la forma más común es utilizar como fertilizantes para plantas ya que es rico en fósforo y potasio, y ayuda en el crecimiento de las plantas. Otra forma de utilizar los residuos de banano es convertirlos como biocombustible para la generación de energía alternativa la cual es una estrategia sostenible para el mantenimiento de la integridad del medio ambiente. Una tercera manera de utilizar los excedentes del plátano es como

alimento para animales, así como para la “elaboración de productos procesados tales como snacks, con destino a la fabricación de almidones, harinas, hojuelas y cereales; igualmente, para la producción de almidones y harinas” (Huang, 2013).

5.4 GENERALIDADES DE LAS HARINAS

La diversificación de usos de harinas distintas a la del trigo para panificación se ha desarrollado recientemente con el fin de reducir costos. Además, la elaboración de harinas permite conservar materias primas, los productos resultantes pueden ser conservados por varios meses. Las harinas son alimentos ricos en carbohidratos cuya función principal es proporcionar la energía que necesita el organismo para su funcionamiento y para que pueda llevar a cabo todas las actividades diarias. Las harinas forman parte del grupo de alimentos energéticos y ocupan un papel importante en el contexto de una alimentación bien balanceada, siendo su aporte alrededor del 55 % del total de las calorías que una persona debe consumir (Jiménez, 2012).

Dentro del grupo de las harinas se encuentran los tubérculos, como la papa, la arracacha y la yuca, los plátanos, los cereales, como el trigo, la avena, la cebada, el centeno, maíz y el arroz, y las leguminosas como frijol, garbanzo y lentejas; que poseen una importante cantidad de carbohidratos, además de proteínas (Zuleta, 2004).

5.4.1 Características organolépticas

Las harinas deben ser suaves al tacto; al cogerla con la mano debe tener “Cuerpo” pero sin formar conglomerado, pues esto nos indicará que es una harina con bastante humedad. No debe tener mohos, ni estar rancia, ya que esto indicaría que son harinas viejas o que están mal conservadas (Jiménez, 2012). Si una harina tiene un sabor amargo, suele ser de semillas adventicias, y si tiene sabor dulce, puede contener harina de trigo germinado (Jiménez, 2012). Una buena harina debe ser: color marfil o crema, libre de mohos, sin olores anormales, debe ser suave al tacto y por último no tener acidez, amargo o dulzón.

Por lo tanto, las condiciones generales para tener una harina normal son:

- Estar en perfectas condiciones (color, sabor, olor)
- Proceder de materias primas que no estén: Alteradas, adulteradas y contaminadas.
- Estar exenta de; Gérmenes patógenos, toxinas y microorganismos perjudiciales (bacterias, mohos). No sobre pasar límites de plagas.

5.5 HARINA DE PLÁTANO

La harina de plátano presenta características químicas y físicas distintas a la del trigo, tal como una alta concentración de almidón; por lo que puede ser una buena fuente de energía en la alimentación y aprovechada a nivel mundial. El uso de la tecnología de panificación para el uso de la harina de plátano puede tener el sentido muy ambicioso, ya que se ha demostrado que el

almidón de plátano es poco digerible por el estómago por su alto contenido de fibra y almidón resistente (Juárez et. al, 2006). La harina de Plátano es un producto 100% natural, elaborado a base de plátano orgánico, un polvo de color blanco parduzco, de fácil digestión y susceptible a la humedad, tiene fácil cocción (90° C en 8 minutos).

Tabla 2. Composición química de la harina de plátano.

Composición nutricional de harina de plátano verde			
Parámetro	g%	Parámetro	g%
Humedad	9.45	Fibra cruda	1.65
Proteína	3.32	Ceniza	2.10
Lípidos	2.45	Carbohidratos	81.03

Fuente: Soto, 2010.

5.5.1 Beneficios de la harina de plátano

La harina de plátano es un producto importante de considerar para ser industrializado, con el fin de utilizarse en la producción de concentrado animal y otros productos que se podrían desarrollar para consumo humano. La harina de plátano es uno de los alimentos más equilibrados, ya que contiene todos los grupos de vitaminas y nutrientes, es muy rica en

hidratos de carbono y sales minerales, como: calcio orgánico, potasio, fósforo, hierro, cobre, flúor, yodo y magnesio. También posee muchas vitaminas, como la Vitamina A, del complejo B, como la tiamina, riboflavina, pirodoxina y ciancobalamina y, vitamina C. Su gran riqueza en vitamina C, combinada con la del fósforo, resulta ideal para el fortalecimiento de la mente (Jiménez, 2012).

Es importante destacar que el plátano verde, el cual constituye la base de ésta harina, tiene un alto contenido de almidón, denominado almidón resistente definido como la suma de almidones y productos de degradación del almidón que no se absorben en el intestino delgado de individuos sanos. Los almidones resistentes no son digeridos en el intestino delgado y la ingesta ha permitido establecer algunas implicaciones fisiológicas estimulando el crecimiento de cierta microbiota del intestino grueso que genera biomasa y produce ácidos grasos de cadena corta como el butirato, que reducen el pH, éste a su vez estimula la producción de mucus y facilita el tránsito intestinal (Jiménez, 2012).

García Suárez (2001), elaboró harina precocida con plátano macho verde para preparar alimentos para bebé, galletas, panes, pastas y bebidas refrescantes además de utilizarse como materia prima para producir jarabe de glucosa y fibra, y de ese modo diversificar el consumo del fruto para contribuir a mejorar la calidad nutricional de la población. Concluyó que una fracción de este almidón es resistente, como ya se había mencionado su principal característica es que no es degradada por las enzimas digestivas del hombre y junto con la fibra soluble del fruto, contribuyen a bajar los niveles de colesterol e índice glicémico (cantidad de glucosa en la sangre

después de la comida), previniendo el riesgo de diabetes y enfermedades cardiovasculares, además de mejorar el tránsito intestinal y reducir el riesgo de enfermedades del Colon (Jiménez, 2012).

Juárez et al (2006) estudiaron la digestibilidad de un pan elaborado con harina de plátano al 100%, ellos concluyeron que este producto podría ser recomendado en dietas especiales (por ejemplo personas con diabetes y obesidad), debido a que produjo una respuesta glucemia in vitro y presento altos contenidos de almidón resistente y fibra. La harina de plátano verde sería de interés como una posible fuente de importancia para la alimentación, debido a que esta harina puede presentar atractivas características químicas y funcionales (Pacheco et al, 1998; Wahiszewski et al, 2003; Juárez et al, 2006).

5.6 ALIMENTO FUNCIONAL

El concepto de alimento funcional, fue propuesto por primero vez en Japón en la década de los 80 refiriéndose a aquellos alimentos procesados los cuales contiene ingredientes que además de cumplir su función nutricional tienen un efecto benéfico en las funciones fisiológicas del organismo humano (Jiménez, 2012). Debido a que los alimentos funcionales representan un concepto más que un conjunto bien definido de productos alimenticios, 1999 en el Documento de Consenso del proyecto de la Unión Europea referido a la Acción Concertada sobre Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa (FUFOSE) propuso lo siguiente:

“Un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto benéfico sobre uno o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de tal modo que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reduce el riesgo de enfermedades, o ambas cosas. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos, y se deben demostrar sus efectos en las cantidades normalmente se consumen en la dieta. No se trata de comprimidos ni capsulas, sino los alimentos que forman parte de un régimen normal”.

5.6.1 Beneficios de los alimentos funcionales

Muchas de las enfermedades crónicas están estrechamente relacionadas con la dieta alimenticia. Se ha observado que el consumo de alimentos con alto contenido de grasa saturada, baja en carbohidratos complejos y con pocos micronutrientes, combinada con una vida sedentaria, está directamente relacionado con un aumento en la incidencia de enfermedades como la obesidad, hipertensión, problemas cardiovasculares, osteoporosis y cáncer. Todas estas enfermedades causan incapacidad en las personas y aumentan los costos de los servicios de salud pública. Es por esto que se ha incrementado la necesidad de producir alimentos para la prevención y control tanto de la “deficiencia” como de “excesos” y el concepto de alimento funcional, asociado a los desarrollos tecnológicos tiene mucho que aportar (Jiménez, 2012).

5.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

De acuerdo con el decreto 3075 (1997) se considera como alimento Todo producto natural o artificial, elaborado o no, que ingerido aporta al organismo humano los nutrientes y la energía necesarios para el desarrollo de los procesos biológicos. Quedan incluidas en la presente definición las bebidas no alcohólicas, y aquellas sustancias con que se sazonan algunos comestibles y que se conocen con el nombre genérico de especia.

Ahora bien, los alimentos son sistemas complejos de gran riqueza nutritiva y por tanto sensible al ataque y posterior desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). En todos ellos hay siempre una determinada carga microbiana, la cual debe ser controlada al punto de que no sobrepase ciertos límites establecido por las respectivas normas que rigen dicho alimento, y a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo. Por otra parte, existen microorganismos patógenos que producen enfermedades y cuya presencia es por tanto indeseable y hace extraordinariamente peligroso su consumo. El análisis microbiológico se realiza entonces con vistas a identificar y cuantificar los microorganismos presentes en un producto así como también constituye una poderosa herramienta en la determinación de la calidad higiénica sanitaria de un proceso de elaboración de alimentos, lo que permite identificar aquellas etapas del proceso que puedan favorecer la contaminación del producto (Serna y López, 2010).

El análisis microbiológico en la industria de los alimentos constituye una herramienta básica para el control de la materia prima, procesos, productos y manipuladores, ya que permite establecer el grado de contaminación biológica de estos, por esta razón el control microbiológico es parte fundamental en la industria de alimentos (Alonzo L. y Poveda J. 2008).

Los principales objetivos del análisis microbiológico son:

1. Asegurar que el alimento cumpla con las normas estatutarias.
2. Que se ajuste a normas internas establecidas por la empresa que lo procesa y las exigidas por el comprador.
3. Que las materias primas que llegan a la planta para ser procesadas cumplan las normas exigidas.
4. Que se mantenga el control del proceso y la higiene de la línea de fabricación.

Los microorganismos utilizados en la industria de alimentos para la de determinación de la calidad e inocuidad de los mismos son:

5.7.1 Mesófilos aerobios

Este grupo de microorganismos crecen a una temperatura óptima de 20 a 45°C, siendo la mínima de 15 a 20°C, y la máxima de casi 45°C. La mayoría de los microorganismos pertenecen a esta categoría, casi todos los agentes patógenos humanos son mesófilos, como es de esperar, pues la temperatura corporal humana es, casi de forma constante, de 37°C (Prescott, 2004). Es el grupo más grande de indicadores de calidad de los alimentos.

El número de microorganismos mesófilos aerobios encontrados en un alimento ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad más comúnmente utilizado; esta determinación permite obtener información sobre la alteración incipiente de los alimentos, su probable vida útil, la descongelación incontrolada de los alimentos o los fallos en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración (Alonso y Poveda, 2008).

A este tipo de microorganismos se les encuentra en alimentos almacenados a temperatura ambiente o en alimentos refrigerados cuando se ha roto la cadena de frío. Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario (Buñay y Peralta, 2015). Un recuento bajo de mesófilos aerobios no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de microbiota patógena (ICMSF, 2000; Prescott et al., 1999).

5.7.2 Coliformes

Este grupo de microorganismos comprende varios géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, capaces de fermentar la lactosa, están ampliamente difundidos en la naturaleza, agua y suelo. También son habitantes normales del tracto gastrointestinal del hombre y animales de sangre caliente. Las bacterias coliformes son capaces de fermentar la lactosa a 35°C con producción de gas. Dentro de los coliformes totales se pueden distinguir dos tipos, por un lado están los coliformes fecales (CF), que provienen del tracto intestinal de animales de sangre caliente y que

serían los mejores indicadores de riesgo de afecciones humanas, y por otro lado existe otro grupo de coliformes que son residentes naturales en el suelo y agua (Madigan et al., 2004; Perdomo et al, 2001). Su presencia en alimentos representa mala calidad higiénica en el proceso, falta de higiene en los manipuladores o recontaminación después del proceso. Estas si bien no son generalmente patógenas, son indicadores de presencia de microorganismos potencialmente patógenos y por lo tanto son un índice de deficiencia sanitaria (Perdomo et al, 2001).

5.8 PANORAMA DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETA)

Según la organización mundial de la salud (OMS), las ETA abarcan un amplio espectro de dolencias y constituyen un problema de salud pública creciente en todo el mundo. La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquier etapa del proceso que va de la producción al consumo de alimentos (“de la granja al tenedor”) y puede deberse a la contaminación ambiental, ya sea del agua, la tierra o el aire. Las dificultades económicas que enfrentan los países del tercer mundo conllevan un deterioro de las condiciones socioeconómicas en las poblaciones de bajo ingreso y de las que habitan en las áreas rurales, promoviendo un creciente movimiento migratorio hacia los centros urbanos. Situación que Colombia ha tenido que sufrir desde hace unas décadas, donde la situación de violencia y pobreza aumenta cada vez más la incidencia de etas. La limitada oferta de trabajo de las grandes ciudades como Bogotá, Cali, Medellín, Barranquilla entre otras, junto a la falta de

capacitación calificada y las necesidades de supervivencia, llevan a algunas poblaciones a buscar alternativas para obtención de ingresos, una de las cuales es el comercio informal, incluida la venta de alimentos. Dicha actividad es característica del estilo de vida en la mayoría de los países de Latinoamérica y constituye un factor socioeconómico importante. A pesar de las ventajas conocidas del comercio informal de alimentos, durante su elaboración coloquial, los alimentos son preparados por personas con poca capacitación en la correcta manipulación de los alimentos y por lo general lo hacen en condiciones precarias de higiene (Muriel, 2008).

Las ETA afectan principalmente a la población de escasos recursos económicos, a niños, mujeres embarazadas y ancianos. Las eta constituyen el problema de salud pública más extendido en el mundo, la región latinoamericana experimentó al menos 6.000 brotes de diversos tipos de enfermedades de origen alimentario entre 1993 y 2002 según las cifras ofrecidas por la organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación (FAO) y la organización mundial de la salud (OMS). Estos brotes, junto a un número mayor de casos aislados de enfermedades provocadas por los alimentos o el agua, causaron en la región unas 57.000 muertes en 2004 (subdirección de vigilancia y análisis del riesgo en salud pública (SVCSP) – instituto nacional de salud (INS), 2010).

En Colombia en la semana epidemiológica 43 de 2016, se notificaron al SIVIGILA 384 casos de eta, 289 de esta semana, 95 de semanas anteriores notificados de manera tardía; para la misma semana del 2015 se notificaron 171 casos. A la fecha han ingresado al SIVIGILA 7 707 casos de enfermedades transmitidas por alimentos; se confirmaron por clínica 4.607 casos, se

relacionaron a algún agente etiológico 1.673 y están en estudio 1.427 para su clasificación final. Por procedencia Bogotá, Antioquia, Arauca, Nariño, Boyacá, Chocó, Barranquilla y Cesar registran el 73,0 % de los casos. El 51,5 % de los casos de enfermedades transmitidas por alimentos se registró en el sexo masculino; el 18,8 % de los casos se registraron en el grupo de 10 a 14 años (SVCSP-INS, 2016).

6. METODOLOGÍA

6.1 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.1 Tipo de estudio

Experimental y analítico.

6.1.2 Población y muestra

La población objeto de estudio fue la harina de plátano elaborada en el Laboratorio de Investigación del Programa de Bacteriología de la Facultad Ciencias de la Salud, Sede Central de la Universidad de Córdoba- Colombia. La muestra correspondió a 20 unidades muestrales de 100g de harina obtenida de los plátanos seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión establecidos.

6.1.3 Criterios de inclusión

- Plátanos en estado verde, definida por la Norma Técnica Colombiana 1190.
- Plátanos provenientes de cultivos libre de plagas y/o enfermedades que pudieran afectar la calidad del producto final.
- Plátanos pertenecientes a la variedad Hartón (Musa AAB Simmonds).

6.2 LOCALIZACIÓN

La investigación fue realizada en el laboratorio de Análisis de Alimentos, en la sede de Berástegui de la Universidad de Córdoba, Colombia, a 8° 31 de longitud norte y 75° 58 de latitud oeste del meridiano de Greenwich, con una temperatura promedio de 29°C, humedad relativa 86% y 20 m.s.n.m., y en el laboratorio de Microbiología del Programa de Bacteriología de la Facultad Ciencias de la Salud, Sede Central de la Universidad de Córdoba, Montería, Colombia, a 8°45' de latitud norte y 75°53' de longitud oeste con una altitud de 18 metros sobre el nivel del mar y temperatura promedio de 28°C (Instituto Geográfico Agustín Codazzi).

6.3 PROCEDIMIENTO

6.3.1 Selección de la materia prima

Para la selección de los plátanos se tuvieron en cuenta los criterios de inclusión anteriormente mencionados.

6.3.2 Elaboración de la harina de plátano

Para la obtención de la harina de plátano se utilizó la metodología descrita por (García y Ramírez, 2012) con algunas modificaciones anteriormente estandarizadas, en la cual se realizó el siguiente tratamiento químico, para así conservar las características físicas del producto:

- Metabisulfito 0.01% + ácido cítrico 0.5% (tratamiento químico T1)

- Solución de nisina al 1% (tratamiento microbiológico T2)

Para cada ensayo se tomaron 15 plátanos de acuerdo a los criterios de inclusión anteriormente establecidos y se lavaron con abundante agua, luego con la ayuda de un cuchillo y un rebanador manual, previamente esterilizado, se pelaron y cortaron rodajas de aproximadamente 0.3 cm de espesor respectivamente, que caían en un recipiente de aluminio igualmente esterilizado; seguidamente se pesaron dos cantidades iguales de rodajas de 300g y dos de 500g, posteriormente se sumergieron por separadas en la primera solución (T1) durante 5 minutos. Trascurrido este tiempo se retiraron de dicha solución y se colocaron sobre una malla de plástico hasta su escurrimiento; inmediatamente se sometió una parte de las rodajas (solo las de 300g) a un tratamiento con nisina (T2), luego se distribuyó cada cantidad de rodajas (300g y 500g) por separado sobre unas bandejas de aluminio y/o vidrio diseñadas para el secado de las mismas; este secado se llevó a cabo en 72 horas mediante dos formas (aire libre y laboratorio). Una vez secadas las rodajas se molieron con un molino esterilizado marca “CORONA” y se tamizó la harina a un tamaño de partícula de 0.05 cm y por último tanto la harina con tratamiento con nisina y sin éste se almacenaron en bolsas herméticas hasta su uso posterior en la investigación.

Los tratamientos realizados a la harina de plátano fueron:

Harina de plátano con nisina adicionada por inmersión n solución: Luego de escurrimiento de las rodajas se tomaron cada una de las porciones de rodajas de 300g y se sumergieron por

separado en una solución de nisina al 1% (tratamiento con nisina) durante 20 minutos y se siguió con el protocolo establecido por García y Ramírez, 2012 para la elaboración de la harina de plátano.

Harina de plátano con nisina adicionada directamente en la harina: Una vez elaborada la harina de plátano sin tratamiento con nisina se pesaron 100g de ésta y se le adicionó directamente a la harina 25mg de nisina por cada kg (Pérez, 2012) y se mezcló por 10 minutos para asegurar una distribución uniforme de la nisina.

Secado al aire libre: Luego de que se distribuyeron las rodajas en las bandejas, tanto las rodajas sometidas o no al tratamiento con nisina se secarán al aire libre protegidas con una caja elaborada con malla de plástico diseñadas de tal forma que se asegure el paso del aire y la luz solar pero disminuya el riesgo de contaminación física.

Secado en el laboratorio: Luego de que se distribuyeron las rodajas en las bandejas, tanto las sometidas o no al tratamiento con nisina se dejaron secar en el laboratorio en un lugar controlado disminuyendo así la contaminación de las rodajas.

Para el control se utilizó harina de plátano sin ningún tratamiento microbiológico.

6.4 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LA HARINA DE PLÁTANO

Una vez elaborada la harina de plátano se le realizó un análisis bromatológico para determinar su composición química y nutricional, de la siguiente manera:

Tabla 3. Parámetros a determinar en análisis bromatológico y métodos.

Parámetro a determinar	Método
Humedad	Estufa (AOAC 977.11)
Proteínas	Kjeldahl (AOAC 955.04)
Grasas	Método de Soxhlet (AOAC 920.39)
Carbohidratos	Diferencia de los demás componentes
Cenizas	Calcinación en Mufla (AOAC 942.05)
Fibra	Digestión in vitro (ácido-base) (AOAC 962.09)

AOAC, 1987.

Todos los procedimientos que se utilizaron para este análisis son metodologías normalizadas de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC). La determinación del contenido de carbohidrato total se realizó por diferencia de los demás componentes. El análisis bromatológico se le realizó a la harina de plátano control sin ningún tratamiento con nisina.

6.5 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO

A la harina de plátano elaborada se le realizó la determinación del número de microorganismos mesófilos aerobios, utilizando el método de recuento en placa; para el caso de coliformes totales y fecales, se utilizó la técnica de número más probable (NMP), teniendo en cuenta lo establecido en el manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de

alimentos para consumo humano y según lo reglamentado por el Ministerio de Salud Colombiano en la Resolución No. 11488 de 1984. Este recuento se utilizó como referencia y se comparó con los recuentos de harina de plátano con y sin nisina, para así determinar si hubo disminución de la carga microbiana inicial.

6.6 VALORACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA NISINA FRENTE A LA SUPERVIVENCIA DE MESÓFILOS, COLIFORMES TOTALES Y FECALES EN HARINA DE PLÁTANO.

La harina de plátano con y sin nisina, secada al aire libre y en el laboratorio fueron almacenadas en bolsas herméticas a temperatura ambiente, transcurridas 24 y 48 horas se evaluó el crecimiento de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales según la metodología descrita en el manual de técnicas de análisis para el control de calidad de alimentos para consumo humano (INVIMA) y según lo reglamentado por el Ministerio de Salud Colombiano en la Resolución No. 11488 de 1984.

6.7 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 2x2x6 y 3 repeticiones para un total de 20 unidades experimentales, donde intervienen los siguientes factores: condiciones de secado al elaborar la harina (aire libre o laboratorio); el modo adición a la nisina a la harina al sumergir las tajadas de plátano en la solución acuosa de nisina o

adicionando directamente está en la harina ya terminada y los tiempos de incubación, 24 y 48 horas. De lo anterior se obtuvieron las siguientes variables:

- Harina de plátano sin nisina secada al aire libre.
- Harina de plátano con nisina adicionada por inmersión secada al aire libre.
- Harina de plátano con nisina adicionada directamente en la harina secada al aire libre.
- Harina de plátano sin nisina secada en el laboratorio.
- Harina de plátano con nisina adicionada por inmersión secada en el laboratorio.
- Harina de plátano con nisina adicionada directamente en la harina secada en el laboratorio.

6.8 VARIABLES E INDICADORES

6.8.1 Variables Independientes

Condiciones de secado (aire libre y laboratorio), tipos de tratamiento (harina de plátano con nisina y sin nisina), y tiempos de incubación para crecimiento de microorganismos (24 y 48 horas).

6.8.2 Variables Dependientes

Crecimiento de mesófilos, coliformes totales y fecales.

6.9 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los resultados fueron analizados a través del software estadístico GraphPad Prism 6 y presentados en un documento con el análisis y la interpretación de los mismos. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), aplicando la prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los datos eran de tipo paramétricos. Posterior a esto, se aplicó la Prueba t de Student, para establecer si existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio para el caso de datos paramétricos, así mismo se utilizó el test U Mann Whitney y test de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas cuando los datos eran no paramétricos.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 PROCESO DE ELABORACION DE LA HARINA DE PLÁTANO

Se elaboró la harina de plátano de color blanco parduzco con un tamaño de partículas de 0.05cm; en su elaboración las rodajas fueron sometidas a dos formas de secado, al aire libre mediante la luz solar simulando el proceso de elaboración que se realiza de forma artesanal y ancestral y a temperatura ambiente del Laboratorio en un lugar controlado y restringido dispuesto para tal fin, simulando el proceso de elaboración semi-industrial de la harina de plátano; con el fin de establecer diferencias entre los distintas formas de secado con base a la caracterización microbiológica de la harina de plátano elaborada.

7.2 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO ESTUDIADA

7.2.1 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO.

En la tabla 4 se observan los valores obtenidos del análisis bromatológico realizado a la harina de plátano estudiada, en ella se puede notar un alto porcentaje de humedad (14.77%) la cual contribuye al detrimento de las condiciones de calidad y conservación del producto, facilitando así el ataque de bacterias, mohos y levaduras; cabe destacar que este valor puede ser atribuible

a la metodología implementada para la obtención de la harina. Este resultado concuerdan con lo hallado por Alduvín, Duarte, y Quintana (2006) en un estudio donde la humedad promedio de 20 muestras de harina de plátano analizadas fue de 13.3% con una desviación estándar de 1.4.

Los valores encontrados en este estudio en cuanto a proteínas, cenizas y fibras son similares a los reportados por Ayala, Rivas, y Zambrana (2003) los cuales encontraron valores de 3.94%, 2.63% y 1.60% respectivamente. Para el caso del porcentaje de humedad estos autores contrastan con lo hallado en este estudio, ya que establecen un valor de 3.8%. Así mismo otras investigaciones llevadas a cabo en harina de plátano (Umaña, Lopera y Gallardo, 2013) reportan un valor de humedad de 8,28%. En cuanto al contenido de grasas y carbohidratos Soto (2010), reportó valores más altos a los encontrados en este estudio, siendo de 2.45% y 81.03% respectivamente.

Tabla 4. Caracterización bromatológica de la harina de plátano estudiada.

Parámetro	%g/g	Parámetro	%g/g
Humedad Bh	14.77	Grasa Bh	1.23
Cenizas Bh	2.20	Fibra Bh	1.47
Proteínas Bh	3.55	Carbohidratos	76.78

Laboratorios de análisis de alimentos de la Universidad de Córdoba según el método de la AOAC. Bh: Base húmeda

7.2.2 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA HARINA DE PLÁTANO.

Las 20 muestras de harina de plátano previamente elaborada en el Laboratorio de Investigación del Programa de Bacteriología, fueron evaluadas para la determinación de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales. Las muestras de harina de plátano elaboradas no cumplen con lo establecido en la normatividad colombiana (Resolución No. 11488 de 1984) con respecto a la carga microbiana (Figura 1).

El 95% de las muestras analizadas secadas al aire libre y el 90% de las muestras secadas en el laboratorio superan los recuentos permitidos para mesófilos aerobios. Se aisló coliformes totales en el 90% y el 65% de las muestras secadas al aire libre y en el laboratorio respectivamente. En cuanto a coliformes fecales se detectó un 95% de estos en ambas muestras.

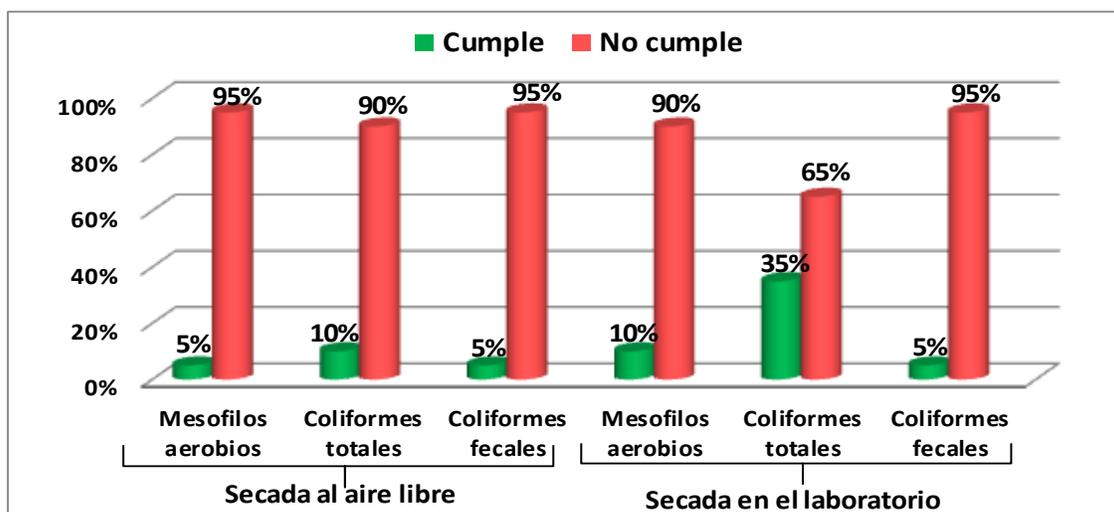


Figura 1. Harina de plátano secada al aire libre y en el laboratorio que cumplen con los parámetros microbiológicos de calidad establecidos en la Resolución colombiana

11488/84.

En la tabla 5 se pueden observar los recuentos mínimos y máximos obtenidos de las harinas de plátano previamente elaboradas y los límites microbiológicos establecidos por la Resolución 11488 de 1984 para harinas crudas según la legislación colombiana.

Tabla 5. Caracterización microbiológica de la harina de plátano estudiada.

Parámetro Microbiológico		Harina de Plátano secada al aire libre		Harina de Plátano secada en el laboratorio		Límites microbiológicos según resolución 11488/84		
		N	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	M	M
Recuento Mesófilos	de	3	65.000	9.920.000	38.000	8.320.000	200.000	300.000
			UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g		
NMP Coliformes Totales	de	3	19-1.100	>1.100	9.1-21	460->1.100	43	150
NMP Coliformes Fecales	de	3	<3-53	290->1.100	<3-160	460->1.100	<3	-----

En cuanto a las formas de secado de las rodajas y la posterior elaboración de la harina de plátano estudiada se muestra una diferencia significativa en el recuento de mesófilos aerobios (Figura 2), y por ende un crecimiento inferior en la harina de plátano secada en el laboratorio (3.533.800 UFC/g) en comparación con la harina secada al aire libre (6.127.350 UFC/g), esto se puede deber al grado de contaminación al cual es expuesta esta última harina. Para el caso de los coliformes totales y fecales no se muestra una diferencia significativa entre ambas formas de secado (tabla 6).

Estos resultados difieren con lo reportado por López y Carvajal (2012), en un estudio donde los recuentos de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en harina de banano estuvieron por debajo de los límites permisibles que contempla la norma colombiana (Resolución 11488/84) tanto en los análisis que se realizaron el día de la obtención del producto como en la determinación que se hizo el día 90. Esta diferencia probablemente se debe al grado de industrialización con que fue elaborada la harina y a las temperaturas que se utilizaron para el secado de las rodajas, ya que como se mencionó anteriormente la harina de plátano utilizado para este estudio no fue sometida a ningún tratamiento de secado puesto que fue elaborada de forma artesanal.

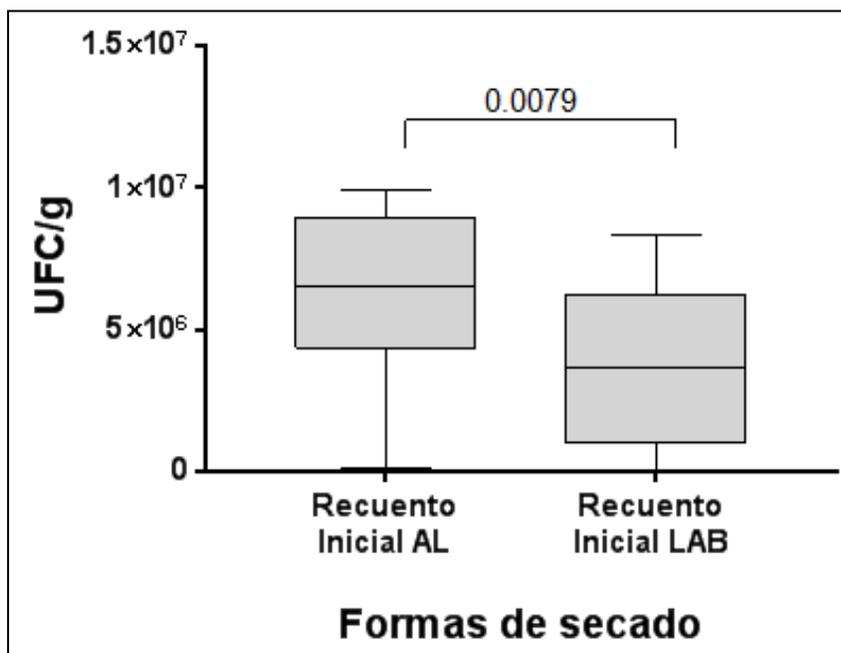


Figura 2. Mesófilos aerobios. Mejor forma de Secado Laboratorio Vs Aire libre.

AL: Aire Libre, LAB: Laboratorio

Tabla 6. Mejor forma de secado: Coliformes totales y fecales

Recuento inicial	Parámetro	Media/ ± DES		P valor
		Aire libre	Laboratorio	
0 Horas	Coliformes totales	2097 ± 767,5	1642 ±1085	0,1847
	Coliformes fecales	1610 ± 1108	1039 ± 1072	0,1205

DES ±: desviación estándar.

7.3 VALORACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA NISINA CONTRA LA SUPERVIVENCIA DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y FECALES EN HARINA DE PLÁTANO.

7.3.1 Valoración del efecto antimicrobiano de la nisina contra la supervivencia de Mesófilos aerobios.

El crecimiento de microorganismos mesófilos aerobios de la harina secada al aire libre y en el laboratorio se evidencia en las figura 3 y 4 respectivamente.

En ambas graficas se observa que los recuentos de mesófilos aerobios a las 24 horas de incubación son mayores que a las 48 horas de incubación, este fenómeno puede deberse a la baja actividad de agua que posee este alimento en el cual los microorganismos agotan

rápidamente el agua disponible para su proliferación a tal punto que se ven obligados a reducir su metabolismo y por ende su crecimiento y desarrollo exponencial.

La figura 3 refleja el comportamiento de mesófilos aerobios en la harina de plátano secada al aire libre durante las 24 y 48 horas de incubación, en la cual no se evidencian diferencia significativa entre los recuentos de las harinas de plátano con y sin los tratamientos con nisina, lo que indica que el efecto de la misma no fue efectivo contra la supervivencia de microorganismos mesófilos aerobios. Lo anterior se puede demostrar estadísticamente al observar los p valores de la tabla 7. Posiblemente este comportamiento obedece a la elevada carga microbiana que posee esta harina en la cual la nisina no alcanza a abarcar en su totalidad e inhibir el crecimiento de los microorganismos.

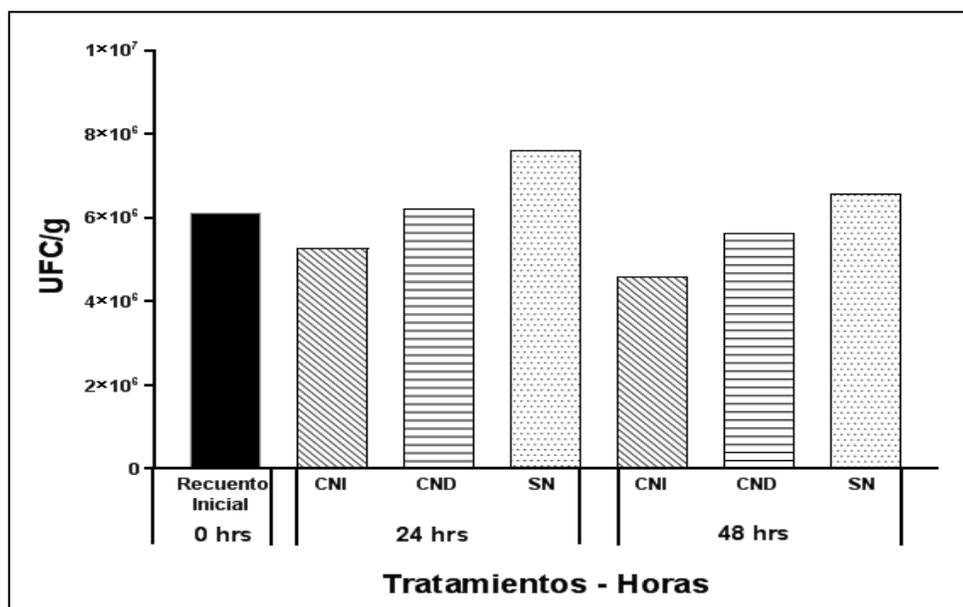


Figura 3. Comportamiento de mesófilos aerobios en harina de plátano secada al aire libre. CNI: Con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicionada directamente, SN: Sin nisina

Lo discutido anteriormente difiere con lo hallado por Castro et al. (2009) y Romero y Estrada (2011) los cuales demostraron la efectividad de la nisina para inhibir el crecimiento de mesófilos aerobios en queso blanco elaborado con leche cruda y en filetes de carne de cerdo respectivamente.

Tabla 7. Efecto de la nisina sobre el crecimiento de Mesófilos aerobios en la harina de plátano.

Secado	Tiempo de incubación	Media/ ± DES				P valor
		Recuento inicial	SN	CNI	CND	
Aire libre	0 Horas	6127350 ± 3194283	7624400 ± 5030737	5267400 ± 3668556	6213500 ± 4521961	0,3554
		NA	7624400 ± 5030737	5267400 ± 3668556	6213500 ± 4521961	0,2488
	24 Horas	NA	7624400 ± 5030737	5267400 ± 3668556	NA	0,0986
		NA	7624400 ± 5030737	NA	6213500 ± 4521961	0,3568
	48 Horas	NA	NA	5267400 ± 3668556	6213500 ± 4521961	0,4719
		6127350 ± 3194283	6560800 ± 5054735	4601000 ± 3670663	5641800 ± 4262932	0,4746
		NA	6560800 ± 5054735	4601000 ± 3670663	5641800 ± 4262932	0,3712
		NA	6560800 ± 5054735	4601000 ± 3670663	NA	0,1687
	0 Horas	NA	6560800 ± 5054735	NA	5641800 ± 4262932	0,5379
		NA	NA	4601000 ± 3670663	5641800 ± 4262932	0,4132
3533800		4333300	1983600	2977650	0,0335	

		± 2632229	± 2660759	± 2011917	± 2737873		
		NA	4333300	1983600	2977650	0,0156	
			± 2660759	± 2011917	± 2737873		
		NA	4333300	1983600	NA	0,0032	
			± 2660759	± 2011917			
Laboratorio	24 Horas	NA	4333300		2977650		
			± 2660759	NA	± 2737873	0,1206	
		NA	NA	1983600	2977650		
				± 2011917	± 2737873	0,1986	
			3533800	3723100	2247850	2814600	
			± 2632229	± 3233407	± 2086278	± 2422694	0,2692
			NA	3723100	2247850	2814600	
				± 3233407	± 2086278	± 2422694	0,2094
		48H	NA	3723100	2247850	NA	
				± 3233407	± 2086278		0,0946
		NA	3723100	NA	2814600		
			± 3233407		± 2422694	0,3210	
		NA	NA	2247850	2814600		
				± 2086278	± 2422694	0,4328	

SN: Sin nisina, CNI: Con nisina por inmersión, CND: Con nisina directa en la harina, DES
 \pm : Desviación estándar, NA: No aplica.

Por el contrario, en la harina de plátano secada en el laboratorio (figura 4 y 5) se muestra claramente que la nisina adicionada por inmersión (CNI) durante las 24 horas de incubación, presentó una disminución del recuento de microorganismos mesófilos aerobios (1.983.600 UFC/g) y una significativa reducción con respecto al recuento inicial (3.533.800 UFC/g) y al recuento de la harina sin nisina (4.333.300 UFC/g), manifestándose solo hasta este periodo la efectividad de la misma como agente inhibidor de dichos microorganismos ya que para las 48

horas de incubación la diferencia con el recuento inicial y el control (SN) no fue estadísticamente significativa (tabla 7). Este comportamiento puede deberse al deterioro de la nisina con respecto a la carga microbiana ya que probablemente para este entonces los microorganismos la han agotado. Pese a todo esto se puede demostrar que a una menor carga microbiana la nisina puede ejercer un efecto inhibitor significativo contra la supervivencia de mesófilos aerobios.

Resultados similares han sido reportados por Chams (2013) en un estudio en el que se muestra que la población de mesófilos aerobios fue significativamente menor a lo largo del periodo de almacenamiento en los quesos adicionados con nisina, confirmando así el efecto antimicrobiano de la misma sobre la población de mesófilos. Así mismo, investigaciones realizadas por Guzmán et al (2014) en carne de cerdo han mostrado que la nisina a una concentración del 2% incorporada en películas comestibles de colágeno reduce favorablemente el crecimiento de microorganismos mesófilos aerobios ya que las muestras de carne sin película tuvieron mayor UFC/g de mesófilos aerobios que aquellas que si tenían película con nisina en el tercer día. Por otra parte, las muestras de carne con película con concentraciones al 0% de nisina, fueron las muestras que mayor UFC/g presentaron en los primeros dos días, debiéndose a que la película sin nisina no es una barrera eficiente para la inhibición de estos microorganismos.

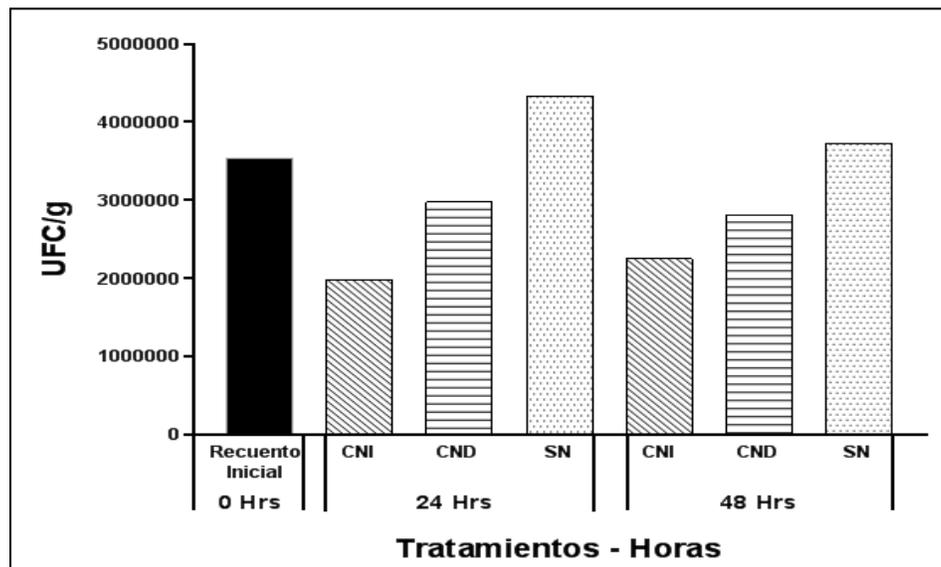


Figura 5. Comportamiento de Mesófilos aerobios en la harina de plátano secada en el laboratorio, CNI: Con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicionada directa, SN: Sin nisina.

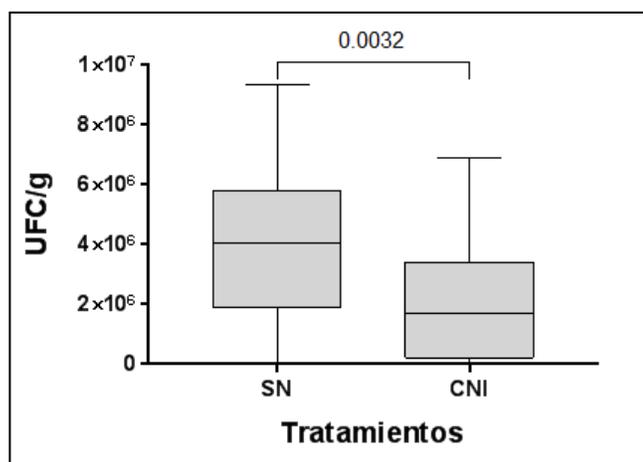


Figura 4. Mesófilos aerobios en harina de plátano secada en el laboratorio. Mejor tratamiento (con nisina adicionada por inmersión/ 24 hrs) Vs Control (SN).

Para el caso de la efectividad del modo de aplicación de la nisina a la harina de plátano y la inhibición del crecimiento de los microorganismos mesófilos aerobios se observa que estadísticamente no hay una diferencia significativa entre los modos de aplicación de la nisina (por inmersión y directa), por lo que se deduce que para la inhibición de dichos microorganismos resulta igual adicionar la nisina por inmersión como directamente a la harina (tabla 7).

8.3.2 Valoración del efecto antimicrobiano de la nisina contra la supervivencia de coliformes totales.

En las gráficas 6 y 7, se muestra el comportamiento de coliformes totales en harina de plátano secada al aire libre y en el laboratorio, evaluados a las 0, 24 y 48 horas después de adicionar la nisina por inmersión y directa en la harina.

Gráficamente, al observar los recuentos a partir de las 24 horas de ambas harinas con nisina adicionada por inmersión, se evidencian recuentos para la harina secada al aire libre de 1237 (NMP/g) y para la harina secada en el laboratorio de 798,8 (NMP/g), al comparar este recuento con el obtenido en las harinas sin nisina (2162 y 1927 NMP/g) respectivamente, con el recuento inicial de (2097 y 1642 NMP/g) para ambos casos se nota una diferencia significativa ($P < 0.05$), presentado una notable disminución de coliformes. Lo descrito anteriormente se puede comprobar estadísticamente teniendo en cuenta la media y la desviación estándar para cada tratamiento con sus respectivos P valores en la tabla 8, destacando que la mejor combinación de los factores evaluados es la que incluye la nisina adicionada por inmersión a las 24 horas,

presentando diferencias significativas ($P < 0.05$) con el resto de las interacciones, demostrando la efectividad de la nisina como agente inhibidor para este tipo de microorganismos.

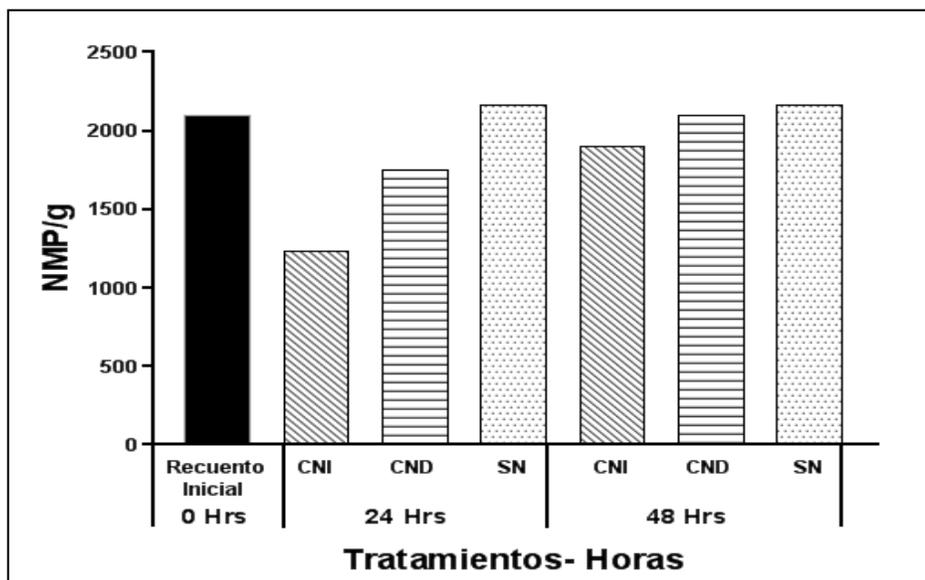


Figura 6. Comportamiento de Coliformes totales en harina de plátano secada al aire libre. CNI: Con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicionada directa, SN: Sin nisina.

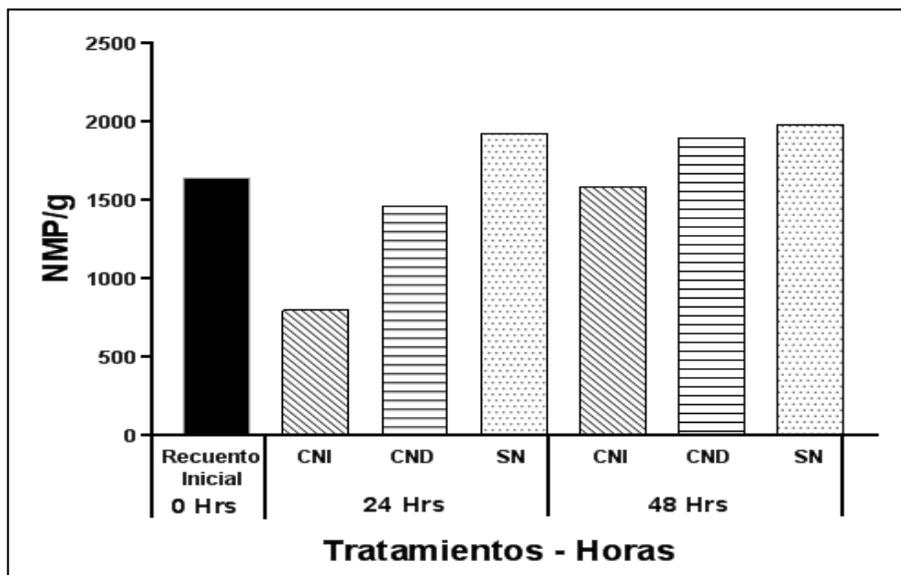


Figura 7. Comportamiento de Coliformes totales en harina de plátano secada en el laboratorio. CNI: Con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicionada directa, SN: Sin nisina.

Tabla 8. Efecto de la nisina sobre el crecimiento de Coliformes totales en harina de plátano.

Secado	Tiempo de incubación	Media/ \pm DES				P valor
		Recuento inicial	SN	CNI	CND	
Aire libre	0 Horas	2097	2162	1237	1748	0,0076
		$\pm 767,5$	$\pm 732,9$	± 1040	$\pm 959,6$	
	24 Horas	NA	2162	1237	1748	0,0137
			$\pm 732,9$	± 1040	$\pm 959,6$	
		NA	2162	1237	NA	0,0032
			$\pm 732,9$	± 1040		
	48 Horas	NA	2162	NA	1748	0,1274
			$\pm 732,9$		$\pm 959,6$	
		NA	NA	1237	1748	0,1462
				± 1040	$\pm 959,6$	
		2097	2162	1902	2097	0,4806
		$\pm 767,5$	$\pm 732,9$	$\pm 831,5$	$\pm 767,5$	
0 Horas	NA	2162	1902	2097	0,3195	
		$\pm 732,9$	$\pm 831,5$	$\pm 767,5$		
	NA	2162	1902	NA	0,2351	
		$\pm 732,9$	$\pm 831,5$			
24 Horas	NA	2162	NA	2097	1	
		$\pm 732,9$		$\pm 767,5$		
	NA	NA	1902	2097	0,4352	
			$\pm 831,5$	$\pm 767,5$		
0 Horas	1642	1927	798,8	1466	0,0167	
	± 1085	± 971	± 1002	± 1018		
	NA	1927	798,8	1466	0,0076	
		± 971	± 1002	± 1018		
	24 Horas	NA	1927	798,8	NA	0,0034
			± 971	± 1002		
0 Horas	NA	1927	NA	1466	0,1370	
		± 971		± 1018		

Laboratorio	NA	NA	798,8 ± 1002	1466 ± 1018	0,0419
	1642 ± 1085	1978 ± 892,3	1584 ± 1142	1892 ± 926,1	0,6123
48Horas	NA	1978 ± 892,3	1584 ± 1142	1892 ± 926,1	0,5079
	NA	1978 ± 892,3	1584 ± 1142	NA	0,3275
	NA	1978 ± 892,3	NA	1892 ± 926,1	0,8299
	NA	NA	1584 ± 1142	1892 ± 926,1	0,3664
	NA	NA	1584 ± 1142	1892 ± 926,1	0,3664
	NA	NA	1584 ± 1142	1892 ± 926,1	0,3664

SN: Sin nisina, CNI: Con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicionada directa, DES ±: desviación estándar, NA: No aplica.

Cabe destacar que la mejor manera de adicionar la nisina es por inmersión mostrando una considerable reducción en el crecimiento de los microorganismos a las 24 horas (1237 y 798,8 NMP/g) respectivamente, en cambio al adicionarla directamente en ambas harinas la carga microbiana no disminuyo significativamente (1748 y 1466 NMP/g) resultando poco efectiva, posiblemente esto se deba a que al adicionarla por inmersión ésta es absorbida de manera homogénea por las tajadas de plátano, lo que no ocurre al adicionarla directamente en la harina.

Moreno (2012), también demostró que el uso de una solución de ácido láctico y nisina que se utilizó como medio de inmersión de la carne de pollo, contribuyó a reducir la carga microbiana de coliformes totales y tardar el tiempo de desarrollo de estos microorganismos dando un efecto positivo debido a las condiciones del medio a las cuales fueron sometidas las muestras,

específicamente por la variación del pH efecto provocado por el uso de ácido láctico y temperatura de almacenamiento con la presencia de nisina.

Respecto al tiempo, el que resulto significativo ($P < 0.05$) fue el de las 24 horas después de adicionada la nisina en ambas harinas, probablemente esto se deba a lo mencionado para el caso de mesófilos donde se evidenció el mismo comportamiento, refiriendo que el crecimiento de los microorganismos es mayor a las 48 horas y la mayor parte de la nisina ya se ha gastado, por ende no se logra inhibir esta carga microbiana tan alta. Al comparar estos recuentos con el recuento inicial y el de la harina sin nisina, no se encuentran diferencias significativas para ninguna de las harinas.

Aun evidenciándose este tipo de comportamiento, en ésta investigación se demuestra que la nisina resulto efectiva para inhibir el crecimiento de coliformes totales, mostrando diferencias significativas a las 24 horas de ser adicionada por inmersión. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Guzmán et al., (2014), donde comprobaron que las muestras de carne recubiertas con películas e incorporación de nisina a diferentes concentraciones tuvieron óptimos resultados en la inhibición de coliformes totales, en comparación con las muestras que no estaban recubiertas por la película, ya que en cada uno de los días de muestreo, los recuentos de coliformes totales era mucho mayor en las muestras de carne sin película que aquellas recubiertas con película y nisina. Dentro de las muestras de carnes con recubrimiento, las que tenían película con concentración de nisina al 2% tuvieron resultados altamente significativos ya que la inhibición de coliformes totales fue total.

Contrario a lo discutido, Villarroel (2006) valoró la efectividad de tres tratamientos post-pasteurización aplicados sobre salchichas tipo hot dog. Los tratamientos fueron: nisina, ácido láctico, nisina más ácido láctico y un testigo (sin antimicrobianos), al momento de evaluar los conteos de coliformes totales, los tratamientos aplicados sobre la salchichas hot dog, fueron estadísticamente iguales ($P > 0.05$), demostrando la ineffectividad de la nisina frente a estos microorganismos.

Por otro lado, López (2010), al igual que en ésta investigación demostró la efectividad de la nisina, prolongando el tiempo de vida útil en queso fresco, utilizando cuatro diferentes concentraciones de nisina, ésta se añadió en quesos elaborados con leche cruda y leche pasteurizada, donde se analizaron mesófilos aerobios y coliformes totales los cuales disminuyeron un 99.2% y 98.5% respectivamente al añadir 0.5gr de nisina por Kg de queso elaborado con leche pasteurizada prolongando la vida útil del queso aproximadamente 4 días adicionales.

7.3.3 Valoración del efecto de la nisina contra la supervivencia de coliformes fecales

En las gráficas 8 y 9, se muestra el comportamiento de coliformes fecales en harina de plátano secada al aire libre y en el laboratorio, evaluados a las 0, 24 y 48 horas después de adicionar la nisina por inmersión y directa en la harina.

Gráficamente, se evidencia que en cuanto a la harina secada al aire libre, la nisina resulto efectiva a las 24 horas de ser adicionada de ambas maneras tanto por inmersión (452,1 NMP/g) como directa (977,5 NMP/g) mostrando una notoria reducción de coliformes fecales al compararla con los recuentos de las harina sin nisina (2033 NMP/g) y con el recuento inicial (1610 NMP/g), encontrándose una diferencia significativa ($P < 0.05$); en cambio a las 48 horas de adicionada la nisina sólo se presenta una diferencia significativa al adicionarla por inmersión (405,2 NMP/g). En cuanto a la harina secada en el laboratorio solo, la nisina adicionada por inmersión resulto efectiva dando recuentos a las 24 horas de 68,47 (NMP/g) y de 341,4 (NMP/g) a las 48 horas, mostrando una diferencia significativa ($P < 0.05$) al compararlo con la harina sin nisina (1074 NMP/g) y con el recuento inicial (1039 NMP/g). Lo descrito anteriormente se puede comprobar estadísticamente teniendo en cuenta la media y la desviación estándar para cada tratamiento con sus respectivos P valores en la tabla 9.

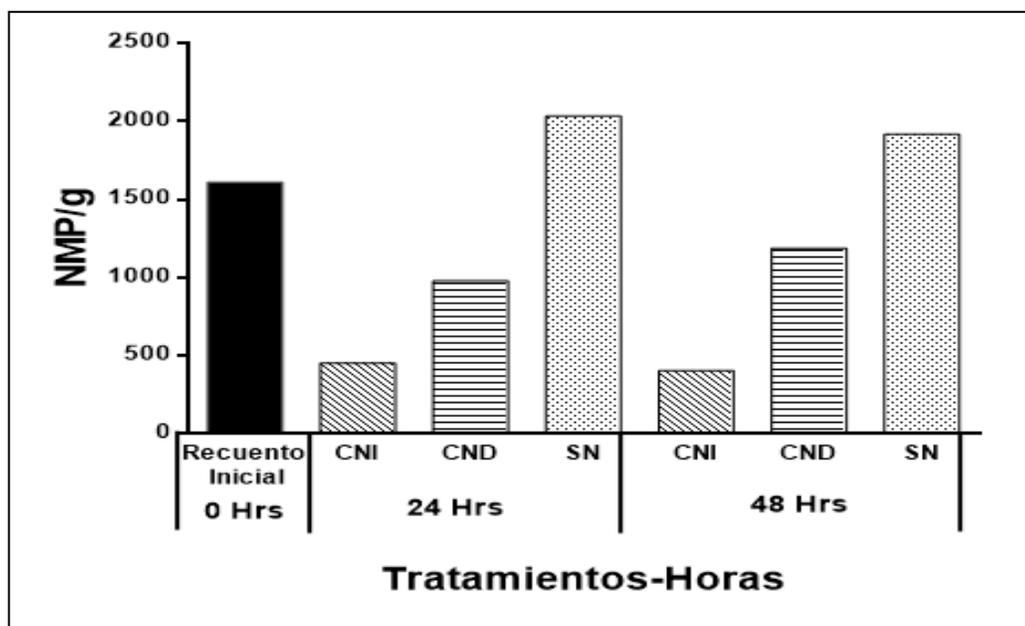


Figura 9. Comportamiento de Coliformes fecales en harina de plátano secada al aire libre.
CNI: con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicionada directa, SN: Sin nisina.

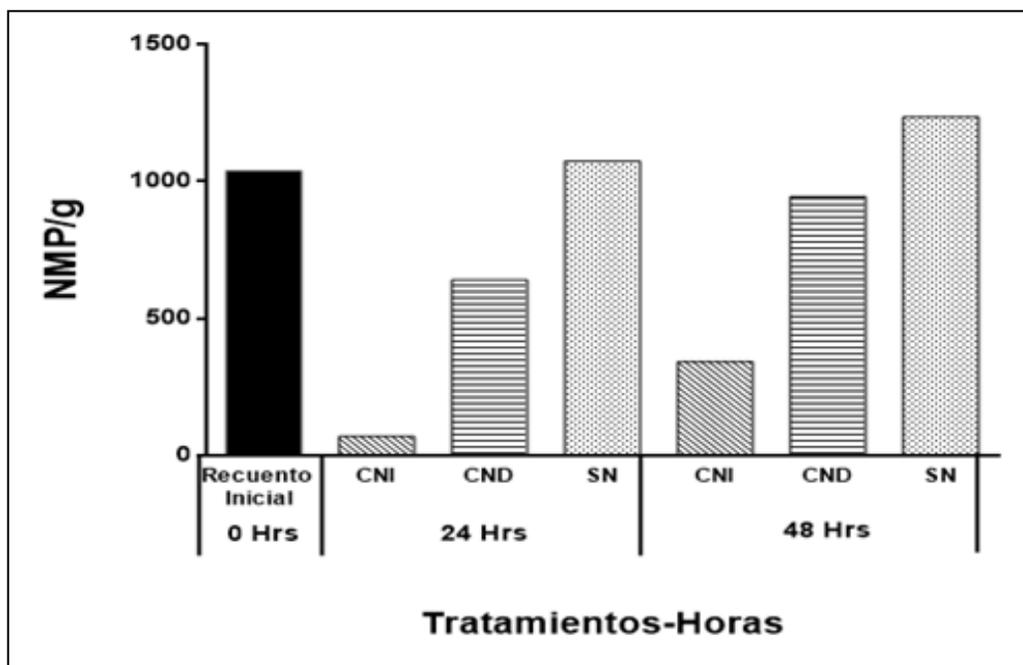


Figura 8. Comportamiento de Coliformes fecales en harina de plátano secada en el laboratorio.
CNI: Con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicionada directa, SN: sin nisina.

Tabla 9. Efecto de a nisina sobre el crecimiento de Coliformes fecales en harina de plátano.

Secado	Tiempo de incubación	Media/ ± DES					
		Recuento inicial	SN	CNI	CND	P valor	
Aire libre	0 Horas	1610	2033	452,1	977,5	0	
		± 1108	± 793,1	± 743,0	± 929		
	24 Horas	NA	2033	452,1	977,5	0	
			± 793,1	± 743,0	± 929		
		NA	2033	452,1	NA	0	
			± 793,1	± 743,0			
		NA	2033		977,5	0,0010	
		NA	± 793,1	NA	± 929		
	NA	NA	452,1	977,5	0,0278		
		NA	± 743,0	± 929			
	0 Horas	0 Horas	1610	1917	405,2	1189	0
			± 1108	± 898,8	± 635,1	± 1147	
48 Horas		NA	1917	405,2	1189	0,0002	
			± 898,8	± 635,1	± 1147		
		NA	1917	405,2	NA	0	
			± 898,8	± 635,1			
		NA	1917	NA	1189	0,0553	
			± 898,8		± 1147		
NA		NA	405,2	1189	0,0253		
		NA	± 635,1	± 1147			
24 Horas	0 Horas	1039	1074	68,47	640,0	0,0005	
		± 1072	± 1136	± 123,4	± 866,4		
	24 Horas	NA	1074	68,47	640,0	0,0007	
			± 1136	± 123,4	± 866,4		
NA	1074	68,47	NA	0,0002			
	± 1136	± 123,4					

Laboratorio	NA	1074 ± 1136	NA	640,0 ± 866,4	0,2504
	NA	NA	68,47 ± 123,4	640,0 ± 866,4	0,0048
	1039 ± 1072	1235 ± 1125	341,4 ± 591,0	943,9 ± 1042	0,0593
	NA	1235 ± 1125	341,4 ± 591,0	943,9 ± 1042	0,0358
	NA	1235 ± 1125	341,4 ± 591,0	NA	0,0137
	NA	1235 ± 1125	NA	943,9 ± 1042	0,4520
	NA	NA	341,4 ± 591,0	943,9 ± 1042	0,0694
	NA	NA	NA	NA	

SN: Sin nisina, CNI: Con nisina adicionada por inmersión, CND: Con nisina adicioada directa, DES ±: Desviación estándar, NA: No aplica.

A diferencia de lo encontrado en coliformes totales, en éste caso la nisina fue efectiva tanto a las 24 como a las 48 horas resultando más potente al adicionarla por inmersión en la harina, demostrando la efectividad de la nisina como agente inhibidor para este tipo de microorganismos.

Estos resultados son contrarios a los reportados por García y Marqués (2007) donde evaluaron que los recuentos de coliformes totales y *Escherichia coli* (serotipos O118 y O8) determinados en las muestras de queso “telita” sin nisina no mostraron variación alguna al compararlos con los encontrados en las muestras de queso “telita” suplementadas con las dos concentraciones de

nisina ensayadas, debido al espectro antimicrobiano de la nisina, el cual es considerado estrecho al no inhibir flora gramnegativa (coliformes y *E. coli*), mohos y levaduras.

Arteaga et al., (2015), estudiaron el efecto de una película de nisina en la vida útil del queso costeño, donde valoraron la supervivencia y crecimiento de coliformes fecales presentando una disminución a lo largo del tiempo, pero hubo un incremento inesperado el día 10.

Resultados similares a los encontrados en ésta investigación fueron reportados por Rodríguez et al., (2005) donde al utilizar cultivos de *Lactococcus* productores de nisina y pediocina encontraron un efecto inhibitorio de *Escherichia coli* (O57:H7) en quesos durante la maduración. De igual manera Gómez et al., (2013) evaluaron el efecto de diferentes antimicrobianos naturales (nisina y lactatos) sobre la estabilidad de hamburguesas de carne de res. Destacando que las hamburguesas adicionadas con antimicrobianos presentaron menor incremento en el crecimiento de coliformes fecales en comparación al testigo a lo largo del tiempo de estudio evidenciando mayor control del crecimiento de *Escherichia coli* ($P < 0.05$) con el tratamiento de nisina, después de ocho días en refrigeración; Con el empleo de la nisina también se logró controlar el crecimiento de las bacterias contaminantes naturales de la carne en comparación a los demás tratamientos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio donde la nisina resulto efectiva contra la supervivencia de coliformes totales y fecales.

8. CONCLUSIONES

Mediante el desarrollo de la investigación se puede concluir que:

- La harina de plátano con nisina adicionada por inmersión presentó el mayor efecto contra la supervivencia de los microorganismos.
- El incremento de la efectividad de la nisina adicionada por inmersión en la reducción de la supervivencia de los microorganismos se evidenció en los coliformes fecales (NMP/g) tanto en la harina de plátano secada al aire libre como en el laboratorio.
- La efectividad de la nisina contra coliformes totales se logró hasta las 24 horas de incubación cuando está se adicionaba por inmersión, tanto en la harina de plátano secada al aire libre como en el laboratorio.
- La combinación del modo de aplicación de la nisina (inmersión), el tiempo de incubación (24 horas) y forma de secado de las rodajas para la posterior elaboración de la harina de plátano fue el factor primordial que tuvo efecto sobre la supervivencia de mesófilos aerobios.

9. RECOMENDACIONES

- Evaluar la capacidad de inhibición de la nisina en harina de plátano de origen industrial.
- Realizar un estudio de la vida útil de la harina de plátano con y sin los tratamientos con nisina.
- Evaluar la capacidad de la nisina sobre *Bacillus cereus*.
- Evaluar el efecto de la nisina conjuntamente con otras sustancias inhibitorias sobre el crecimiento de mohos y levaduras, ya que estos microorganismos también afectan a este tipo de alimentos.
- Desarrollar campañas de capacitación, que brinde información sobre la importancia de la aplicación de buenas prácticas de manufactura en la elaboración, almacenamiento y manipulación de la harina de plátano, los cuales son elementos fundamentales para su calidad e inocuidad.
- Dar a conocer los resultados de este proyecto a empresas destinadas a los procesos agroindustriales para que implemente esta tecnología novedosa y atractiva, que no solo garantiza la calidad del producto, sino que además contribuye al mejoramiento de la seguridad alimentaria del país.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agudelo, N., Torres, M., Alvarez, C. y Vélez, L. (2015). Bacteriocinas producidas por Bacterias Acido Lácticas y su Aplicación en la Industria de Alimentos. *Revista Alimentos Hoy*, [online] 23(36), pp.186-205. Recuperado de: <http://www.alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/viewFile/356/306> [Revisado 13 Mar. 2016].
- Alduvín, F., Duarte, M., y Quintana, J. (2006). *Elaboración de harina de plátano de la variedad "Cuerno"* (Ingeniero en alimentos). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-LEÓN, Facultad de ciencias química, Ingeniería de alimentos.
- Alonzo L. Poveda J. (2008). *Estudio Comparativo En Técnicas De Recuento Rápido En El Mercado Y Placas Petrifilmtm 3MTM Para El Análisis De Alimentos* (Tesis de Pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- Arteaga, M., Espitia, R., Ramírez, E., Hernández, C., Chams, L., Espitia, D. and Martínez, W. (2015). Estudio del efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso Costeño. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, [online] 6(1), pp.036-056. Disponible en <https://sites.google.com/site/1rvcta> [Acceso 7 Nov. 2016].
- Associaton of Official Analitical Chemists (AOAC). (1997). *Official Methods*. Washington. Recuperado de: http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC/Publications/Journal_Of_AOAC/AOAC_Member/Publications/Journal_of_AOAC/The_Journal_of_AOAC.aspx.

Ávila, G. y Fonseca, M. (2008). *Calidad Microbiológica de jugos preparados en hogares de Bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca* (Tesis de Pregrado). Universidad Javeriana, Colombia.

Baudi, D. (1993). *Química de los alimentos* 3° Edición, Ed. Alambra, Madrid, España pp.79-93.

Buñay, N. y Peralta, F. (2015). *Determinación del recuento de aerobios mesófilos en leche cruda que ingresa a industrias lacto Ochoa - Fernández CIA. Ltda* (Tesis de Pregrado). Universidad De Cuenca. Ecuador.

Camayo, J. (2015). *Estado actual del mejoramiento genético del plátano y el banano*. (Especialización). Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).Colombia.

Canto, B., & Castillo, G. (2011). Un mil usos: el plátano. *La ciencia y el hombre*, 24(1).

Castro, A. (2002). *Sobrevivência de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas, bactérias lácticas e Listeria monocytogenes em salsichas submetidas a tratamento com nisina* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Cayón, D.G., Giraldo, G.A., y Arcila, M.I. (2000). *Fisiología de la maduración en poscosecha y agroindustria del plátano en el Eje Cafetero de Colombia*. Corpoica, Comité de Cafeteros, Universidad del Quindío, ASPLAT, Colciencias, Fudesco, Armenia (Colombia). pp. 27-37.

Comisión del Codex Alimentarius, (2015). *Uso de la nisina (sin 234) en la categoría de alimentos 08.3.2 en general, y específicamente en los productos regulados por las normas correspondientes sobre productos*. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del codex sobre aditivos alimentarios. [Online] Roma, Italia: Vialle delle Terme di Caracalla, p.5. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh->

proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-711-48%252FWD%252Ffa48_08s.pdf [Accessed 9 Oct. 2016].

Componente de Agronegocios-Programa MIDAS. (2009). Situación Actual y Perspectivas del Mercado del Plátano (pp. 1-16). Bogotá. Recuperado de http://www.ard.org.co/midas/departamentos/agricultores-y-cadenas-de-valor/pdf/Mercado_Situacion_Actual_y_Perspectivas_PLATANO.pdf.

Corporación Colombiana Internacional (2000). *Sistema de Inteligencia de Mercados SIM*. Perfil de producto No.1. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural, pp.1-12.

Colombia. Ministerio de Salud. Resolución N°11488 de 1984. Por la cual se dictan normas en lo referente a procesamiento, composición, requisitos y comercialización de los alimentos infantiles, de los alimentos o bebidas enriquecidos y de los alimentos o bebidas de uso dietético. Bogotá; 1984. [Citado junio de 2011]. Disponible en: http://web.invima.gov.co/portal/documents/portal/documents/root//resolucion_11488_1984.pdf.

Chams, L. (2013). Evaluación del Efecto Antimicrobiano de Películas Comestibles Adicionadas con Nisina sobre la Supervivencia de *Staphylococcus aureus* en Queso Costeño (Tesis de Maestría). Universidad de Córdoba, Colombia.

Chávez M. M, Hermanadas M. y Roldan J.A. 1992. Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Comisión Nacional de Alimentos Del Instituto Nacional de Nutrición.

Decreto 3075. (1997). Publicado en Diciembre de 2011. Recuperado de: https://www.invima.gov.co/index.php?option=com_content&view=article&id=484:decreto-3075-1997&catid=96:decretos-alimentos&Itemid=2139.

FAO (2014). *Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe*. Santiago de Chile: Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i3942s.pdf>.

FINAGRO. (2014). *Perspectiva del sector agropecuario Colombiano*. Bogotá. Recuperado de <https://www.finagro.com.co/sites/default/files/Perspectivas%20Agropecuarias-v5.pdf>.

Flores, W. (2013). *Manual Técnico para el Procesamiento Tradicional del Plátano*. San José, Costa Rica. Recuperado de http://www.musalac.org/proyectos/fontagro_plat/guiasTecnicasFONTAGRO/ManualTecnicoProcesamientoTradicionalPlatano.pdf.

Galeano, F., y Aguirre, J. (2012). Caracterización física del fruto en variedades de plátano cultivadas en la zona cafetera de Colombia. *Acta Agronómica*, 60(2), 176-182. Recuperado de http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/27847/28115.

García, C. y Marqués, J. (2007). Efecto de la nisina sobre la microflora patógena del queso blanco artesanal tipo “telita” elaborado en una quesera de Upata, Estado Bolívar, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 27, pp.108-111.

García, C.L., Giraldo, G.A., Hurtado, H.T., y Mendiivil, C.O. (2006). Cinética enzimática de la polifenol oxidasa del banano gros Michel en diferentes estados de maduración. *Vitae* vol.13 no.2 Medellín.

García, M. y Ramírez, L. (2012). Potencial del plátano macho verde para la elaboración de botanas saludables. *Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo*, [online] 3(5), pp.20-30.

Gómez, L., Ponce, E., Freitas, R., Rubio, M. 2013. Efecto de antimicrobianos naturales sobre la estabilidad físico-química, microbiológica y sensorial de hamburguesas de res mantenidas en refrigeración. *Revista Mexicana Ciencias Pecuarias* 4(3), pp.255-270.

Guzmán, L., Acevedo, D., Romero, L. and Estrada, J. (2014). Elaboración de una Película Comestible a Base de Colágeno Incorporado con Nisina como Agente Antimicrobiano. *Información Tecnológica*, 26(3), pp.17-24.

Herrera Vinueza, J. (2011). Influencia de las harinas de Trigo, Plátano y Haba en la elaboración de Galletas Integrales (Tesis Pregrado). Universidad Técnica del Norte. Ecuador.

Holland, B., Welch, A., Unwin, I., Buss, D., Paul, A. y Southgate, D. (1991). McCance and widdowson's *The Composition of Foods Fifth revised and expanded edition*. London: The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and food.

Huang, Y. (2013). Impact of Banana (*Musa acuminata*) ripening on resistant and non-resistant starch using hot air and microwave drying (Master of Science). McGill University, Department of Bioresource Engineering.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) I. *Microorganismos de los Alimentos: Análisis microbiológico en la gestión de la seguridad alimentaria*. Editorial Acribia. (2004); Zaragoza (España):367p.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), (1976). *Plátanos Clasificación*. NTC 1190. [Online] Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, pp.1-4. Disponible en: <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC1190.pdf> [Accessed 17 Oct. 2016].

Instituto geográfico Agustín Codazzi Colombia. (2009). http://www.igac.gov.co:8080/igac_web/contenidos/home.jsp.

Instituto Nacional de Salud. (2016). Boletín epidemiológico nacional <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Paginas/default.aspx> [12 03 2016].

Jiménez, E. (2012). *Elaboración de Harina de 3 Variedades de Plátano verde (musa spp) y su uso como Materia Prima para la Panificación* (Tesis de Pregrado). Universidad de Córdoba, Colombia.

Juarez, E. Agama E. Sayago, S. Rodríguez, S. y Bellos, L. (2006). Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. *Plant Food for Human Nutrition*. 61(3): 131-137.

Kumar, K. S., & Bhowmik, D. (2012). Traditional and medicinal uses of banana. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(3).

López, O. (2010). *Aplicación de nisina para para incrementar el tiempo de vida útil en queso fresco en el centro de adiestramiento lechero (CAL) en el 2010* (Trabajo de grado). Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.

Madigan, M. Martinko, J. Parker, J. (2004). *Brok, Biología de los microorganismos*. Décima Edición. Editorial pearson education, S.A. Madrid Pg. 927 – 929.

Marcos, E., Castillo, F.A., Dimitrov, S.T., Gombossy de Melo, B.D., De Souza, R.P. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 32: 134-142.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio Agrocadenas Colombia. (2005). *La Cadena del Plátano en Colombia, una mirada global de su estructura Dinámica*. Bogotá.

Moreno Rocha, C. (2012). *Estudio del Efecto Combinado de Nisina y Ácido Láctico en la Vida Útil de Carne de Pollo*. Pregrado. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.

Muriel M. (2008). *Estimación de la incidencia de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en Colombia en la década 1996 – 2006*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogota D.C.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/ Organización Mundial de la Salud. (2015). *Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del codex sobre aditivos alimentarios* (p. 2). China: FAO/OMS.

Organización Mundial de la Salud (OMS). Enfermedades de transmisión alimentaria, temas de salud. Consultado el: 11/03/2016. Publicado en: http://www.who.int/topics/foodborne_diseases/es/.

Organización Mundial de la Salud (OMS). Inocuidad de los alimentos. Consultado el: 05/03/2016. Publicado en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>.

Organización Panamericana de la salud/ Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS) Guáiveta y la Investigación de Brotes de Toxi-Infecciones Alimentarias. Programa de Salud Pública Veterinaria. Consultado el: 11/03/2016. Publicado en: <https://www.assal.gov.ar/assa/userfiles/file/guia%20veta.pdf>.

Ortega, J., Negrete, J. y Alvis, A. (2004). *Alternativa agroindustrial para el aprovechamiento de los excedentes de la producción de plátano en el Departamento de Córdoba*. Bogotá: Guadalupe Ltda.

Pacheco, D. Seguera, B. y Herrera, I. (1998). Plant Starches and oils. Their influence on digestion in rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. pp 77, 38.

Perdomo, H. Casanova, O. y Ciganda V. (2001). Contaminación de agua subterránea con nitrato y coliformes en el litoral sudeste de Uruguay. *Agrociencia*. Vol 5. N°1. Pg: 10-22.

Pérez, A. (2012). *Susceptibilidad a nisina de cepas de Leuconostoc spp. Aisladas de una planta procesadora de Salchichas y la asociación con su genotipo*. Pregrado. Universidad Autónoma de Querétaro, México.

Prescott, Harley y Klein, (2004). *Microbiología*, Quinta Edición, Editorial Mc Graw-Hill-Interamericana, España.

Prescott, L. Harley y J. Klein, D. (1999). *Microbiología*. Cuarta Edición. Mac Graw Hill Pg. 129.

Rodríguez, E.; Calzada, J.; Arqués, J., Rodríguez, J.; Nuñez, M.; Medina, M. (2005). Antimicrobial activity of pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in cheese. *Int. Dairy J.* 15: 51-57.

Rodríguez, E. (2011). *Uso de Agentes Antimicrobianos Naturales en la Conservación de Frutas y Hortalizas*. *Ra Ximhai*, 7 (1) ,153-170.

Rodríguez, P., y Pérez, E. (2015). Effect of thermal treatment on content of amino acids of two clones of banana flours. *Revista ION*, 28(1), 55-62.

Serna, L. and Lopez, S. (2010). *Actualización del manual del laboratorio de análisis de alimentos del programa de tecnología química de la Universidad Tecnológica de Pereira*. (Pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.

Simmonds, N.W. y Shepherd, K. (1955). Taxonomy and origins of cultivated bananas. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 55: 302-312.

Soto, K. (2014). *Desarrollo y caracterización de Nanofibras Electroestiradas de Proteína de Amaranto y Pululano cargadas con dos Bacteriocinas: nisina A y pediocina PA-I*(Maestría).Universidad Autónoma de Querétaro, México.

Soto, V. (2010). Cuantificación de almidón total y de almidón resistente en harina de plátano verde (*Musa cavendishii*) y banana verde (*Musa paradisíaca*). *Revista Boliviana De Química*, 27(2), 94-93.

Subdirección de vigilancia y análisis del riesgo en Salud Pública (SVCSP) – Instituto Nacional de Salud (INS), (2010). *Informe Epidemiológico Nacional 2009* (pp. 242-250). Bogotá: Instituto Nacional de Salud (INS).

The European Food Information Council. (2006). Aditivos alimentarios. Recuperado de <http://www.eufic.org/article/es/expid/basics-aditivos-alimentarios/>

Tobin, G. y Muller, H.G. (1988). *Nutrición y ciencia de los alimentos*. Primera edición. Editorial Acribia, S.A.

Umaña, J., Lopera, S., y Gallardo, C. (2013). Caracterización de harinas alternativas de origen vegetal con potencial aplicación en la formulación de alimentos libres de gluten. *Alimentos Hoy*, 22(29), 33-46.

Vásquez, R., Romero, A., y Figueroa, J. (2005). Paquete tecnológico para el cultivo del plátano (pp. 8-12). Colima: Gobernación de Colima. Recuperado de <http://www.siac.org.mx/tecnos/9001.pdf>.

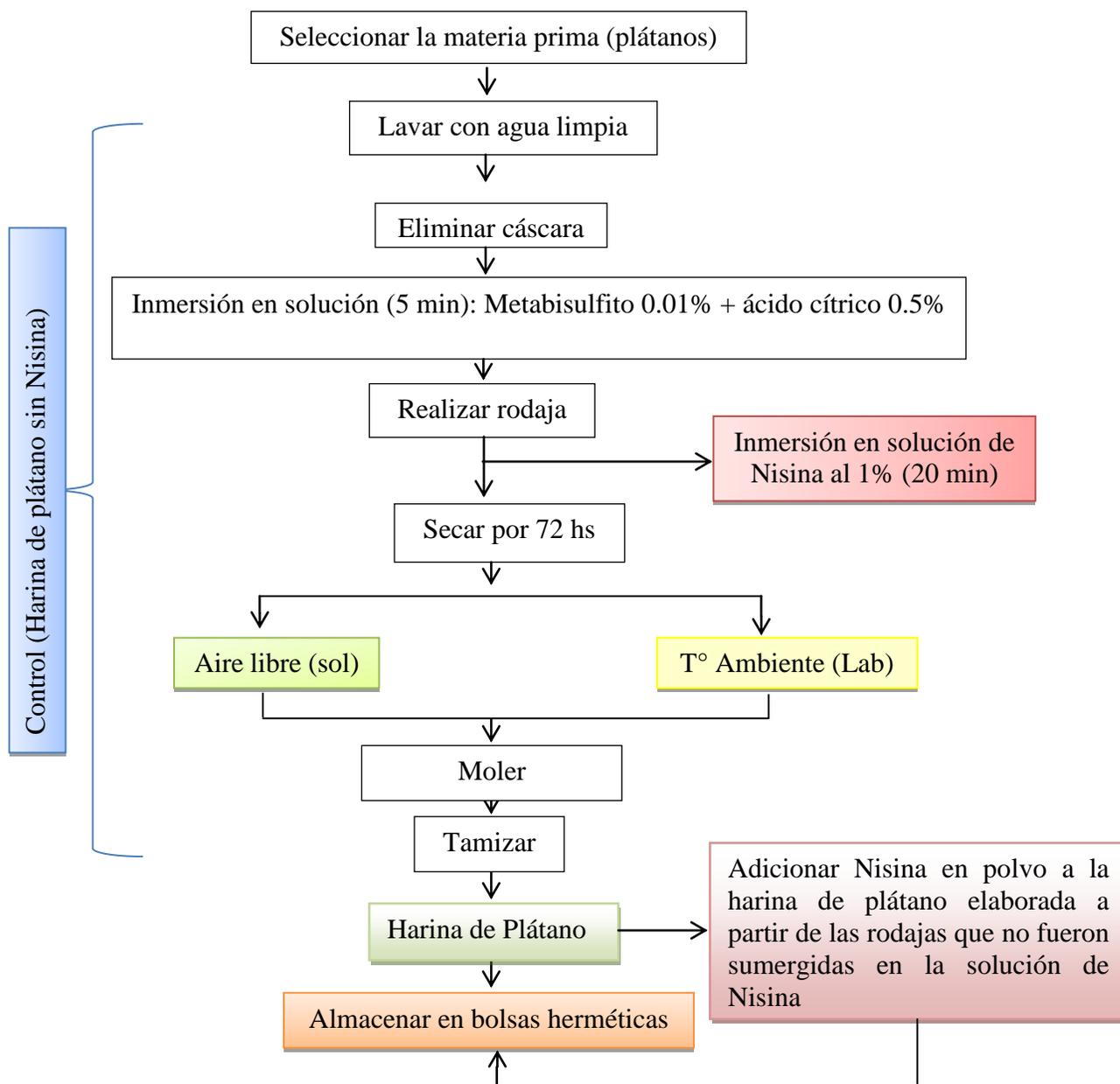
Vásquez, S., Suárez, H. y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena Nutrición*, [online] Vol. 36(Nº1), pp.64-71. Recuperado en: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v36n1/art07.pdf> [Acceso 29 Mar. 2016].

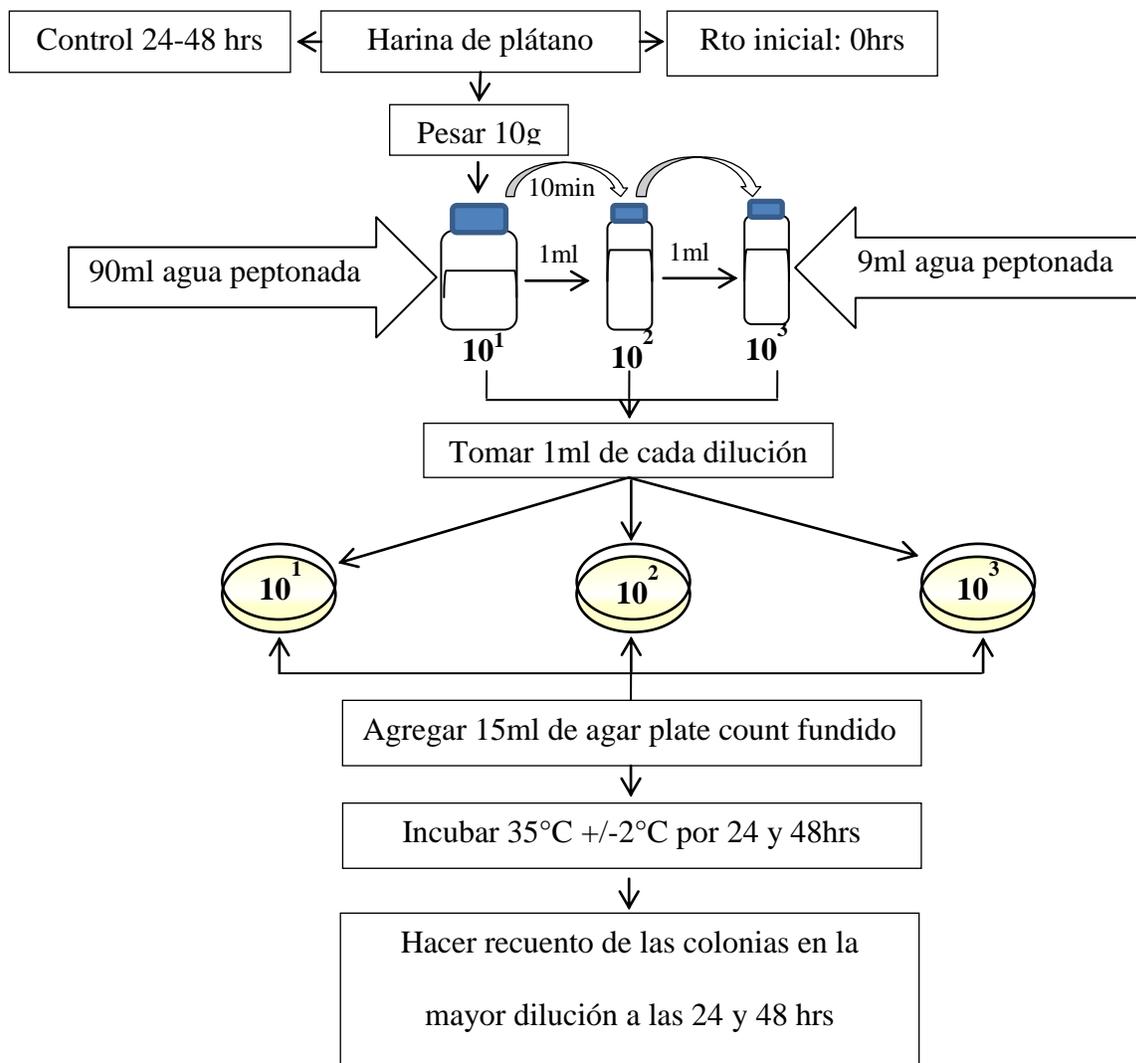
Villarreal Morales, P. (2006). Evaluación de tres tratamientos postpasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano. Pregrado. Ingeniera en Agroindustria en el Grado Académico de Licenciatura. Honduras.

Waliszewski K.N. Aparicio M.A: Bello L.A. y Monroy J.A. (2003). Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers* 52: 237-242.

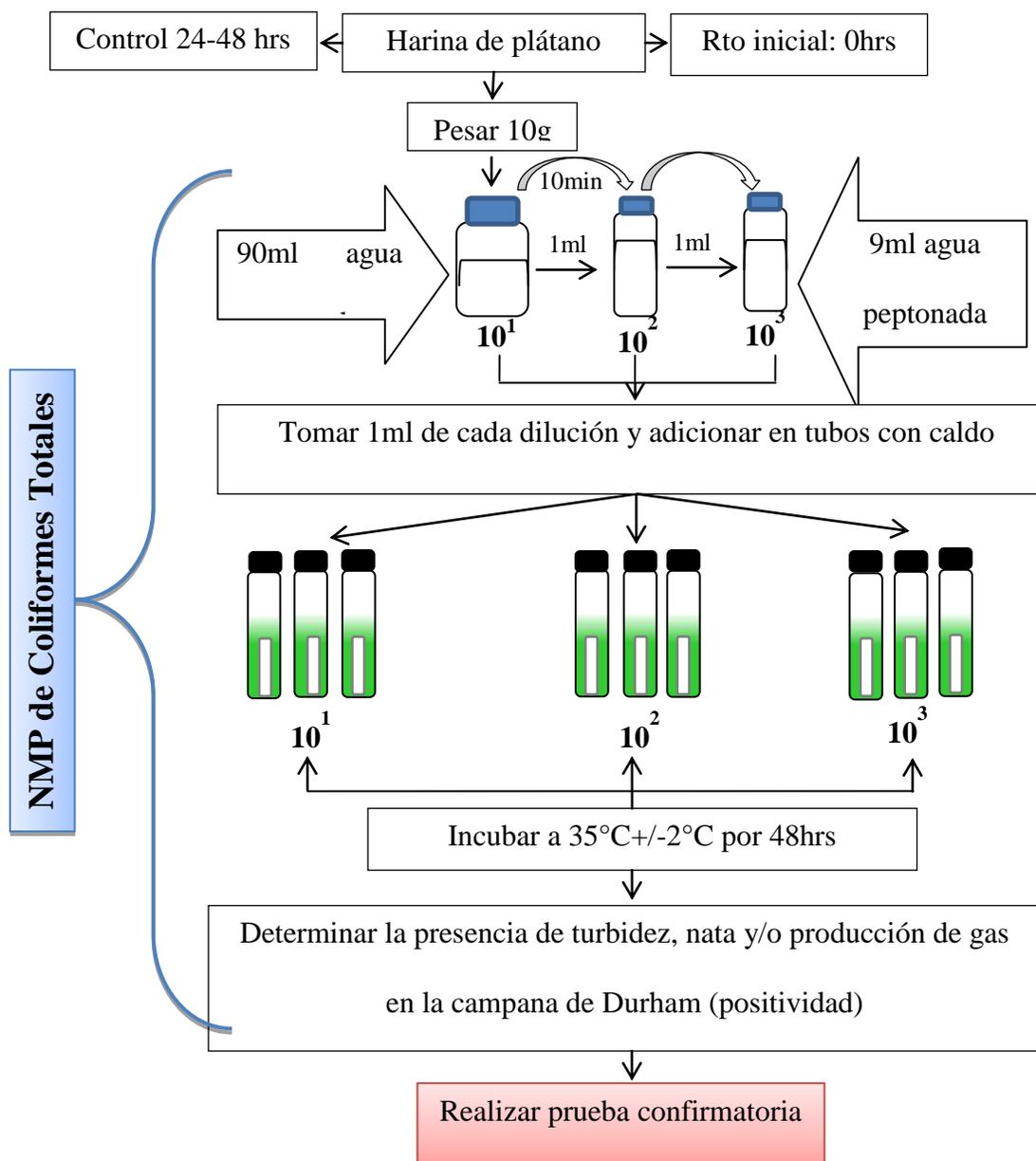
ANEXOS

Anexo 1. Esquema de elaboración de harina de plátano



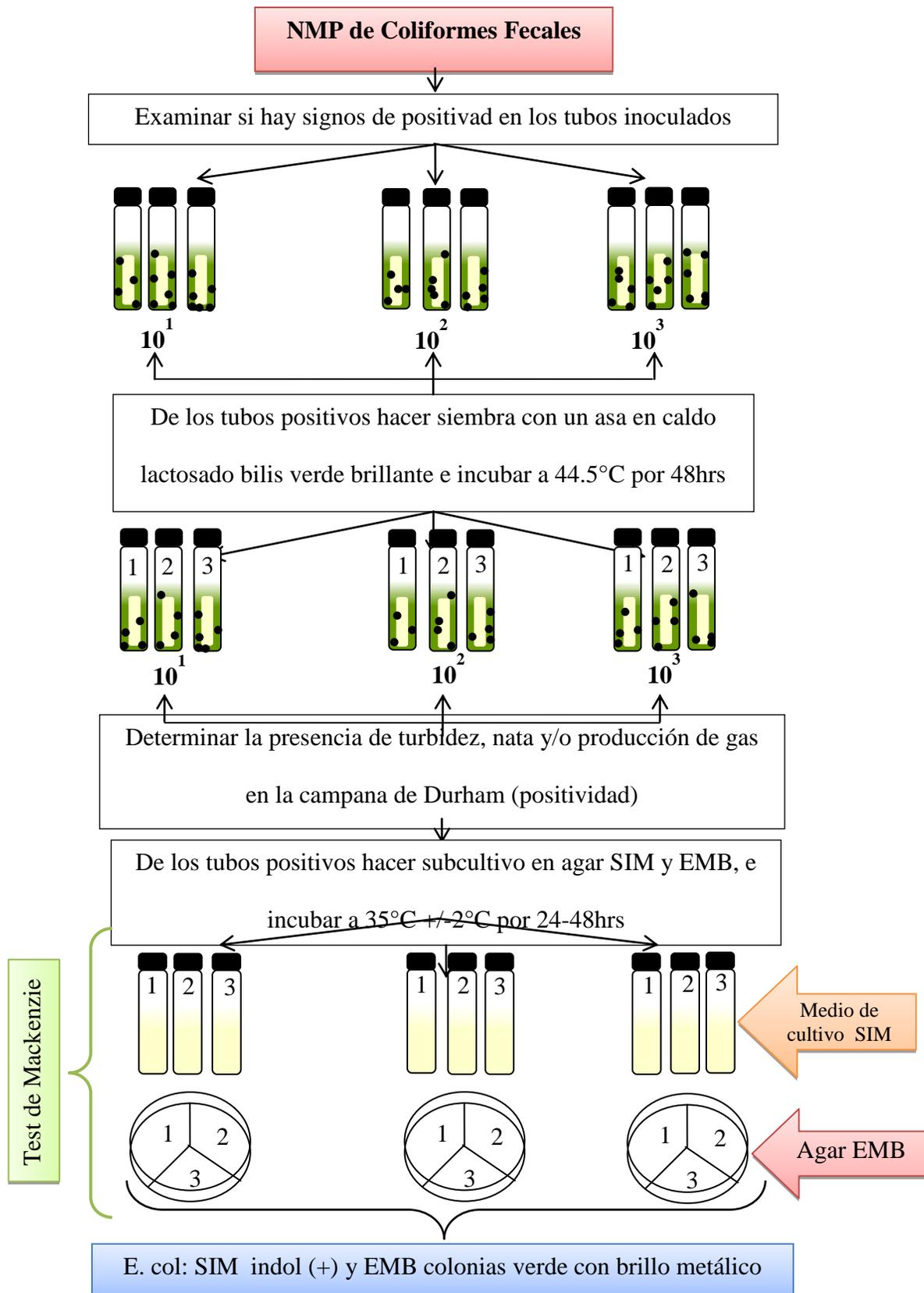
Anexo 2. Esquema de determinación de Mesófilos aerobios (Recuento en placa)

Anexo 3. Esquema de determinación de Coliformes totales y fecales (NMP)



NMP: Número Más Probable

Anexo 4. Esquema de determinación de Coliformes totales y fecales (NMP)



EMB: Eosina Azul de Metileno

