



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICAS EN LA COMPOTA DE JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius*.

**Tesis presentada como requisito para optar por el título de Ingeniera
Agroindustrial**

Autor: Cristina Maricela Suarez Cabrera

Director: Dra. Lucía Cumandá Yépez Vásquez, MSc

Ibarra- Ecuador

2016

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS

AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICAS EN LA COMPOTA DE JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius*.

Tesis revisada por los Miembros del Tribunal, por lo cual se autoriza su
presentación como requisito parcial para obtener el Título de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

APROBADA:

Dra. Lucía Yépez Vásquez, MSc.

DIRECTORA DE TESIS



Ing. Rosario Espín

MIEMBRO TRIBUNAL



Ing. Holguer Pineda

MIEMBRO TRIBUNAL



Ing. Nicolás Pinto

MIEMBRO TRIBUNAL



Ibarra-Ecuador

2016



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE BIBLIOTECA
UNIVERSITARIA**

**AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA
UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en forma digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
Cédula de identidad:	100356404-2		
Apellidos y nombres:	Suárez Cabrera Cristina Maricela		
Dirección:	13 de Abril y Azuay 1-27		
Email:	Crissuarez061906@yahoo.es		
Teléfono fijo:	062546719	Teléfono móvil:	0995631 684
DATOS DE LA OBRA			
Título:	“Evaluación del crecimiento de bacterias probióticas en compota de jícama <i>smallanthus sonchifolius</i>”		
Autora:	Cristina Maricela Suárez		
Fecha:	7 de junio del 2016		
Programa:	Pregrado		
Título por el que opta:	Ingeniera agroindustrial		
Asesor / director:	Dra. Lucía Cumandá Yépez Vásquez, MSc		

2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Yo, **Cristina Maricela Suárez Cabrera**, con cédula de identidad número **100356404-2**, en calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo en la biblioteca de la universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior, artículo 144.

3. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 26 días del mes de julio del 2016

AUTORA:



Suárez Cabrera Cristina Maricela

C.I. 100356404-2



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE GRADO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Yo, **Suárez Cabrera Cristina Maricela**, con cédula de identidad Nro. **1003564042**, manifiesto mi voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la ley de propiedad intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6 en calidad de autor de la obra o trabajo denominado: **EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICAS EN LA COMPOTA DE JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius***, que ha sido desarrollado para optar por el título de **INGENIERA AGROINDUSTRIAL** en la Universidad Técnica del Norte, quedando la universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada.

En concordancia suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 26 días del mes de julio de 2016

Srta. Cristina Maricela Suárez Cabrera

DEDICATORIA

Dedico mi tesis con mucho cariño a mi hija quien con su sonrisa y amor ha sido mi inspiración para culminar mi profesión.

A mis padres por ser mi apoyo en todos los momentos difíciles, brindándome su amor, paciencia y comprensión.

A mi familia y amigos que más me han influenciado en mi vida guiándome con sus consejos e incentivándome a continuar.

Cristina Maricela Suárez Cabrera

AGRADECIMIENTO

Primeramente gracias a mi padre celestial Dios por permitirme llegar hasta donde he llegado, por bendecirme con este sueño anhelado.

A mi hija por haber comprendido a tan corta edad que tenía que culminar mi profesión en lugar de jugar y disfrutar tiempo con ella.

A mis padres quienes han sido el pilar fundamental, apoyándome e incentivándome alcanzar mi objetivo.

A mi Directora de tesis Dra. Lucia Yépez por brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia en un marco de confianza, afecto y amistad.

A mis asesores Ing. Rosario Espín, Ing. Holguer Pineda y Ing. Nicolás Pinto por la colaboración prestada para la finalización de este proyecto de grado.

Cristina Maricela Suárez Cabrera

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Problema	1
1.2. Justificación	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. Hipótesis	3
1.4.1. Hipótesis nula	3
1.4.2. Hipótesis alternativa	3
CAPÍTULO II	4
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Jícama	4
2.1.1. Clasificación botánica.....	5
2.1.2. Nombres comunes.....	5
2.1.3. Descripción botánica.....	6
2.1.4. Propiedades fisicoquímicas.....	6
2.1.5. Madurez fisiológica	7
2.2. Compota.....	8
2.2.1. Elaboración de compota.....	8
2.3. Prebióticos	10
2.3.1. Tipos de prebióticos.....	11
2.3.1.1. Inulina	11
2.3.1.1.1. Compuestos derivados de la inulina	13

2.3.1.1.2.	Usos de la inulina como ingrediente	14
2.3.1.1.3.	La inulina y sus beneficios a la salud	15
2.3.1.2.	Galactosacárido.....	17
2.3.1.3.	Fructooligosacáridos	17
2.3.1.4.	Lactulosa y lactinol	17
2.3.2.	Evaluación del efecto prebiótico.....	17
2.3.3.	Aspectos saludables de los prebióticos	18
2.4.	Alimentos con presencia de prebióticos	18
2.4.1.	Criterios para que un alimento sea considerado prebiótico	19
2.4.2.	La jícama como fuente de prebióticos	19
2.4.3.	Fermentación funcionalidad como efecto prebiótico.....	20
2.4.4.	Mecanismos de acción de los prebióticos.....	22
2.4.4.1.	Formas de acción	22
2.4.5.	pH del tracto intestinal	23
2.5.	Probióticos	23
2.5.1.	Especies probióticas.....	24
2.5.1.1.	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	24
2.5.1.1.1.	Condiciones de crecimiento.....	25
2.5.1.2.	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	26
2.5.1.2.1.	Condiciones de crecimiento (ver ficha técnica Anexo)	27
2.5.1.3.	Condiciones anaeróbicas.....	27
2.6.	Biomasa	28
2.6.1.	Métodos para determinar biomasa	28
2.6.1.1.	Métodos gravimétricos (Peso seco)	28
2.6.1.2.	Métodos espectrofotómetros.....	29

2.6.1.3.	Métodos microscópicos de recuento celular en cámaras	29
2.6.1.4.	Método microscópico mediante epifluorescencia.....	31
2.6.1.5.	Método de siembra.....	31
CAPÍTULO III.....		33
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1.	Caracterización del área de estudio	33
3.1.1.	Ubicación del experimento	33
3.2.	Materiales, equipos e insumos	33
3.2.1.	Materia prima.....	33
3.2.2.	Cepas.....	34
3.2.3.	Equipos	34
3.2.4.	Insumos y reactivos	34
3.3.	Diseño experimental	34
3.3.1.	Factores y niveles de estudio	34
3.3.1.1.	Factores y niveles en estudio	35
3.3.2.	Tratamientos	35
3.3.3.	Modelo del diseño experimental.....	37
3.3.3.1.	Características del experimento	37
3.3.3.2.	Características de la unidad experimental	37
3.3.3.3.	Análisis estadístico	38
3.4.	Variables evaluadas	38
3.5.	Métodos	38
3.5.1.	Madurez fisiológica	38
3.5.1.1.	Toma de muestras	39
3.5.2.	Elaboración de la compota de jícama	39

3.5.2.1.	Diagrama de flujo de la elaboración de la compota.....	41
3.5.3.	Propiedades físico-químicas y microbiológicas de la compota de jícama.....	41
3.5.3.1.	Determinación de humedad	42
3.5.3.2.	Determinación de sólidos totales	42
3.5.3.3.	Determinación de contenido de grasa, proteína y fibra cruda, inulina	42
3.5.3.4.	Medición pH y actividad antioxidante.....	42
3.5.3.5.	Determinación de azúcares reductores y totales	42
3.5.3.6.	Análisis microbiológicos	42
3.5.4.	Supervivencia de bacterias <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Bifidobacterium bifidum</i> en compota de jícama	43
3.5.4.1.	Revitalización de bacterias	43
3.5.4.2.	Cultivo de bacterias en la compota de jícama.....	48
3.5.4.3.	Determinación de biomasa de <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Bifidobacterium bifidum</i> mediante la cámara de Neubauer.....	51
CAPÍTULO IV		52
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	52
4.1.	Madurez fisiológica de la jícama	52
4.2.	Propiedades físico-químicos y microbiológicos de la compota de jícama.....	53
4.3.	Supervivencia de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	55
4.3.1.	Curvas de crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	59
4.3.1.1.	Tiempo de supervivencia del mejor tratamiento.....	61
4.4.	Supervivencia de las <i>Bifidobacterium bifidum</i> en 130 horas.....	62
4.4.1.	Curvas de crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i>	66

4.4.2.	Tiempo de supervivencia en el mejor tratamiento para <i>Bifidobacterium bifidum</i>	68
4.5.	Cantidad de biomasa.....	69
CAPÍTULO V.....		72
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	72
5.1.	Conclusiones.....	72
5.2.	Recomendaciones.....	73
BIBLIOGRAFÍA.....		74
ANEXOS.....		79
	Anexo 1. Fotografías del proceso de elaboración de la compota de jícama.....	80
	anexo 2. Fotografías de cultivo de cepas.....	85
	anexo 3. Balance de materiales de la compota con jícama de 8 meses.....	89
	Anexo 4. Curvas de crecimiento.....	90
	anexo 5. Fichas técnicas.....	93
	anexo 6. Análisis de laboratorio de la compota de jícama.....	97
	anexo 7. Normas INEN.....	103

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de carbohidratos de la raíz de jícama	7
Tabla 2. Efecto del soleado sobre la composición relativa de las raíces de jícama.	7
Tabla 3. Características de una compota.....	10
Tabla 4. Propiedades funcionales de la inulina y derivados	14
Tabla 5. Contenido de fructanos en diferentes plantas	19
Tabla 6. Ubicación del experimento	33
Tabla 7. Combinación factorial para evaluar el crecimiento de <i>Lactobacillus acidophillus</i> en la compota de jícama.....	35
Tabla 8. Combinación factorial para evaluar el crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i> en la compota de jícama	36
Tabla 9. Esquema del ADEVA (Análisis de varianza).....	38
Tabla 10. Formulación de la compota de jícama	40
Tabla 11. Análisis de la jícama con tres estados de madurez.	52
Tabla 12. Análisis fisicoquímicos de la compota de jícama a diferentes estados de madurez	53
Tabla 13. Análisis microbiológicos de compota con jícama a tres estados de madurez	55
Tabla 14. Crecimiento de <i>Lactobacillus acidophillus</i> en compota de jícama en un tiempo de 130 horas.....	56
Tabla 15. Análisis de varianza para el crecimiento de <i>Lactobacillus acidophillus</i> a pH y madurez diferente en un tiempo de 130 horas.....	56
Tabla 16. Pruebas de Tukey de significancia para tratamientos y testigo	58
Tabla 17. Prueba de significación. Diferencia mínima significativa para el factor madurez de cosecha.	58

Tabla 18. Prueba de significación. Diferencia mínima significativa para el factor pH.	59
Tabla 19. Datos para evaluar el crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i> en la compota de jícama	62
Tabla 20. Análisis de varianza del crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i> a tres estados de madurez y 3 niveles de pH diferente a las 130 horas.....	63
Tabla 21. Pruebas de significación de <i>Bifidobacterium bifidum</i> para tratamientos.	65
Tabla 22. Pruebas de significación de <i>Bifidobacterium bifidum</i> para el factor madurez.	66
Tabla 23. Pruebas de significación de <i>Bifidobacterium bifidum</i> para el factor pH.	66
Tabla 24. Cantidad de biomasa de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en diferentes tiempos	69
Tabla 25. Cantidad de biomasa de <i>Bifidobacterium bifidum</i> en diferentes tiempos	70

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Interacción de los factores (A x B) madurez y pH en la variable recuento de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	57
Gráfico 2. Curva de crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en un medio de compota de jícama a pH: 3, 3.5, 4.5 y estados de madurez de cosecha: 6 meses, 8 meses, 12 meses.	60
Gráfico 3. Tiempo de supervivencia del mejor tratamiento.....	61
Gráfico 4. Interacción de los factores (A x B) madurez y pH en la variable recuento de <i>Bifidobacterium bifidum</i>	64

Gráfico 5. Curva de crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i> en un medio de compota de jícama a pH: 3, 3.5, 4.5 y estados de madurez de cosecha: 6 meses, 8 meses, 12 meses.	67
Gráfico 6. Tiempo de supervivencia del mejor tratamiento.....	68
Gráfico 7. Crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i> en medio de compota de jícama a una madurez de 12 meses y pH: 3,0; 3,5: 4,5.....	90
Gráfico 8. Crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i> en medio de compota de jícama a una madurez de 6 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5: 4,5. ...	90
Gráfico 9. Crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i> en medio de compota de jícama a una madurez de 8 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5: 4,5. ...	91
Gráfico 10. Crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en medio de compota de jícama a una madurez de 6 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5: 4,5. ...	91
Gráfico 11. Curva de crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en medio de compota de jícama a una madurez de 12 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5: 4,0.	92
Gráfico 12. Curvas de crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en medio de compota de jícama a una madurez de 8 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5: 4,5.	92

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Estructura química de la inulina.....	13
Ilustración 2. Partes de la cámara de Neubauer	31

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Raíz de Jícama.....	5
Fotografía 2. Sacar la cepa del contenedor	44
Fotografía 3. Etiquetado de las cajas petry	44

Fotografía 4. Liberación del fluido hidratante	45
Fotografía 5. Facilitar el flujo del fluido al pellet en posición vertical.....	45
Fotografía 6. Homogenización del líquido hidratante con el pellet.....	46
Fotografía 7. Siembra en forma de estría.....	46
Fotografía 8. Incubación	47
Fotografía 9. Recolección de bacterias benéficas	47
Fotografía 10. Ajustando los pH.	49
Fotografía 11. Esterilización de las compotas	49
Fotografía 12. Inoculación de microorganismos.....	50
Fotografía 13. Incubación de los tratamientos	50
Fotografía 14. Compota con microorganismos benéficos.....	50
Fotografía 15. Preparación de diluciones.....	51
Fotografía 16. Lavado de la jícama.....	80
Fotografía 17. Selección.....	80
Fotografía 18. Pesado.....	80
Fotografía 19. Escaldado de las jícamas	81
Fotografía 20. Pesado de aditivos	81
Fotografía 21. Adicción de agua destilada.....	81
Fotografía 22. Mezcla de agua destilada y aditivos	82
Fotografía 23. Pelado de la jícama.....	82
Fotografía 24. Jícama pelada.....	82
Fotografía 25. Troceado	83
Fotografía 26. Licuado	83
Fotografía 27. Cocción de la pulpa de jícama.....	83
Fotografía 28. Medición del pH.....	84

Fotografía 29. Medición de sólidos totales	84
Fotografía 30. Compota de jícama	84
Fotografía 31. Cepa pura.....	85
Fotografía 32. Medios preparados para <i>Bifidobacterium bifidum</i>	85
Fotografía 33. Incubando las compotas inoculadas	85
Fotografía 34. Cámara de Neubauer	86
Fotografía 35. Activación de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	86
Fotografía 36. Crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	86
Fotografía 37. Crecimiento de <i>Bifidobacterium bifidum</i>	87
Fotografía 38. Añadiendo microorganismos en la cámara de Neubauer	87
Fotografía 39. Observar en el microscopio con ayuda de la cámara de Neubauer	87
Fotografía 40. Vista en la cámara de Neubauer de <i>Bifidobacterium bifidum</i>	88
Fotografía 41. Vista en la cámara de Neubauer de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ...	88

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICAS EN LA COMPOTA DE JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius*.

Autor: Cristina Maricela Suarez Cabrera

Directora: Dra. Lucía Yépez Vásquez, MSc.

RESUMEN

La jícama es un tubérculo que almacena carbohidratos en forma de fructooligosacáridos, considerados estimulantes del crecimiento de bacterias probióticas, a diferencia de otros tubérculos que almacenan carbohidratos en forma de almidón. En esta investigación se planteó el uso de la jícama en la elaboración de una compota que sirvió como materia prima, para evaluar el crecimiento de bacterias probióticas, determinar la cantidad de biomasa y su supervivencia en pH similar al del tracto gastrointestinal. Se aplicó un Diseño Completamente al Azar (D.C.A.) con arreglo factorial (A x B) + 1 con tres repeticiones, obteniéndose así 9 tratamientos y 27 unidades experimentales con un peso de 100 gramos cada una. Como análisis funcional se empleó la prueba de Tukey al 5% para tratamientos, DMS al 5% para factores (pH y madurez de 6, 8 y 12 meses). Las variables evaluadas fueron; cantidad de biomasa, curvas de crecimiento y recuento de microorganismos.

La investigación se inició con la determinación de las edades fisiológicas de la jícama con la que se elaboró la compota y se realizó una caracterización fisicoquímica con la finalidad de conocer la cantidad de inulina presente en la materia prima. Finalizada la investigación se evidenció que en la compota elaborada con jícama de ocho meses, las bacterias probióticas sobreviven y en 72 horas tienen un apreciable incremento de la población, siendo el mejor tratamiento T6 con un valor de biomasa de $9,41 \times 10^7$ ufc/g para *Lactobacillus acidophilus* y $9,30 \times 10^7$ ufc/g para *Bifidobacterium bifidum*; por lo que se concluye que la jícama es un alimento prebiótico por su contenido de inulina y se acepta la hipótesis alternativa planteada, ya que el estado de madurez y el pH si influyen en el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*.

Palabras claves:

Inulina, fructooligosacáridos, prebióticos, curvas, crecimiento

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PROBIÓTICAS EN LA COMPOTA DE JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius*.

Autor: Cristina Maricela Suarez Cabrera

Director: Dra. Lucía Yépez Vásquez, MSc.

SUMMARY

“Jicama” is a tuber that stores carbohydrates as “fructooligosaccharides”, considered stimulating growth of probiotic bacteria, unlike other tubers that store carbohydrates as starch. In this research, I am using “Jicama” to make compote, which I used as the main ingredient to evaluate the growth of probiotic bacteria, determine the amount of biomass and survival in gastrointestinal tract similar to the pH. I applied a Completely Random Design (C.R.D.) factorial arrangement (A x B) + 1 with three replications, thus, I got 9 treatments and 27 experimental units weighing 100 grams each. As functional analysis Tukey test was used for treatments 5%, 5% for DMS factors (pH and maturity of 6, 8 and 12 months).

The variables were evaluated; amount of biomass, growth curves and enumeration of microorganisms. Previously the physiological age of “Jicama” with the compote was developed and physicochemical characterization was performed in order to determine the amount of inulin present in the raw material was determined. After the investigation showed that the compote made with eight months old “Jicama”, the probiotic bacteria survive and within 72 hours and I has a significant increase in population, being the best treatment T6 with a value of biomass $9,41 \times 10^7$ ufc /g for “*Lactobacillus Acidophilus*” and for $9,30 \times 10^7$ ufc / g for “*Bifidobacterium bifidum*”; therefore it is concluded that “Jicama” is a prebiotic food due to its content in inulin and the alternative hypothesis is accepted, since the state of maturity and the pH do influence the growth of “*Lactobacillus Acidophilus*” and *Bifidobacterium bifidum*”.

Keywords:

Inulin, fructooligosaccharides , prebiotic , curves, growth.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. PROBLEMA

La jícama es un tubérculo que forma parte de la dieta de las poblaciones originarias de México, la forma de consumo de este tubérculo es generalmente en estado natural, pero actualmente se ha perdido la tradición de consumo de alimentos nutritivos, dando más valor a comidas con alto contenido de grasa.

La jícama es considerada un alimento prebiótico, pero el escaso conocimiento de las propiedades funcionales y beneficios nutricionales en tubérculos andinos, ha provocado el no aprovechamiento de la misma que antiguamente constituía componente importante en la alimentación de pueblos nativos. Sobre este tubérculo se ha generado y difundido muy poca información, en comparación con otros productos.

Los probióticos son bacterias que sobreviven en el tracto gastrointestinal y favorecen al equilibrio de la microflora intestinal, la deficiencia de probióticos en la flora intestinal de infantes, podría provocar dolores de estómago, diarrea, estreñimiento, gases, náuseas, tratamiento y prevención de alergias (Fuentes, Figueroa, Carcelén, & Arbaiza, 2012).

1.2. JUSTIFICACIÓN

La jícama tiene la capacidad de modificar la flora intestinal debido a los prebióticos que contiene este tubérculo, los cuales son constituyentes funcionales, debido a que representan un sustrato preferencial para bacterias benéficas como los *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, inhibiendo bacterias patógenas. El consumo de fructooligosacáridos ayuda a mejorar la absorción del calcio y disminuye el riesgo de padecer enfermedades a nivel del colon, reducción de colonización por *Helicobacter pylori*, reducción de diarreas por Rotavirus en infantes. Se ha afirmado recientemente que la administración de *Bifidobacterias* favorece el aumento de peso y mejora la función intestinal anómala en los bebés prematuros.

Actualmente en México existe un programa de alimentación para menores en etapa escolar implementado por el gobierno, en el cual se ha incluido la jícama como fruta. En Ecuador se está implementando por parte del gobierno programas tanto nutricionales como medicinales para cumplir con el Artículo 281 de la Constitución del Ecuador del 2008, relacionado con la Seguridad Alimentaria (Manzano, Estupiñan, & Poveda, 2012)

Al investigar las propiedades y características nutricionales que contiene la jícama se valoriza e incentiva el desarrollo posterior de nuevos productos, ya que a diferencia de otros tubérculos que almacenan energía en forma de almidón, la jícama almacena en forma de fructooligosacáridos, reconocidos como prebióticos.

Es importante evaluar el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* en la compota de jícama para demostrar la existencia de prebióticos y fundamentar científicamente que es un alimento funcional, potenciando el interés para investigarlo más profundamente e incentivar al consumo del mismo.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el crecimiento de bacterias probióticas en la compota de jícama (*Smallanthus sonchifolius*).

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir la madurez fisiológica de la jícama.
- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la compota de jícama.
- Evaluar la supervivencia de las bacterias *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* en la compota de jícama.

1.4. HIPÓTESIS

1.4.1. HIPÓTESIS NULA

Ho: El estado de madurez y el pH no influyen en las propiedades prebióticas de la jícama.

1.4.2. HIPÓTESIS ALTERNATIVA

Hi: El estado de madurez y el pH influyen en las propiedades prebióticas de la jícama.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. JÍCAMA

Según Seminario, Rea et al., (2006) afirman que la jícama es originaria de los Andes, además difundida por Perú y distribuida por los Incas y otras tribus más antiguas hasta Venezuela y el norte Argentino; llega a México por el intercambio comercial que existía entre los Incas y los pueblos costeros del pacífico sur con los pueblos de américa central como los Mayas y los Aztecas.

Es un cultivo tropical, susceptible al frío, tolerante a la sequía, sensible a la foto período, se desarrolla hasta los 3500 msnm de altitud, las temperaturas óptimas de cultivo están entre 18 y 25°C y los suelos deben ser ligeros o arenosos. La parte importante de la jícama es la raíz tuberosa y se cosecha entre 150 a 190 días aproximadamente 5-6 meses, influidos por la variedad (Arnao, Seminario, Cisneros, & Trabucco, 2011).

Sostiene Seminario, Valderrama & Manrique (2003) que la jícama puede producir hasta 100 t/ha, por su facilidad de siembra y amplia adaptabilidad, desde el nivel del mar hasta los 3.500 metros de altitud, hacen de esta planta un cultivo potencialmente valioso desde el punto de vista comercial.

Esta propiedad ha convertido a la jícama en un recurso prometedor para la elaboración de productos dietéticos e ideal para personas diabéticas, ya que los azúcares que contiene están almacenados en forma de inulina, polímero de la fructosa o levulosa: un “azúcar” con características especiales, que siendo más dulce que la glucosa, no provoca problemas en los diabéticos, por no elevar la

glucosa sanguínea. Además, un posible uso potencial de esta especie es el forrajero; como alimento para ganado con los tallos y las hojas, que contienen entre 11 % y 17 % de proteína (FAO, 1990).



Fotografía 1. Raíz de Jícama

2.1.1. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

TRONCO:	Eucariotas
DIVISIÓN:	Embriofita
SUPERCLASE:	Angiospermas
CLASE:	Dicotiledóneas
ORDEN:	Asterales
FAMILIA:	Compuestas
GÉNERO:	Smallanthus
ESPECIE:	Sonchifolia

NOMBRE CIENTÍFICO: *Smallanthus sonchifolia* (Merino, 2004).

2.1.2. NOMBRES COMUNES

Quechua: yacón, llakuma, yacuma.

Español: yacón, jacón, llacón, llamón, arboloco, puhe, jícama

Inglés: yacón, yacón strawberry, jíquima.

Francés: poir de terre Cochet.

Alemán: erdbirne.

Italiano: Polimnia

(INIAP, 1993-2003).

2.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Clavijo & Pérez (2012) describe a la jícama como una planta herbácea de tallo de hasta 1 a 2,5 de alto, consta de un solo tallo principal, a veces ramificado desde la base, otras veces solo con ramas pequeñas en la parte superior. Y en el caso de provenir de propágulo o semilla vegetativa, consta de varios tallos. Los tallos son cilíndricos, pilosos y huecos, de color verde a purpura. La jícama tiene dos tipos de raíces: fibrosas y reservantes, las raíces fibrosas son muy delgadas y la función es fijar la planta al suelo y permitir la absorción de agua y nutrientes. Las raíces son engrosadas, fusiformes u ovaladas, de color blanco, crema o purpura (Rob, 2009).

Las raíces al inicio del crecimiento son rectas, poco ramificadas y con picos agudos, luego comienzan aumentar en largo y diámetro llegando a obtener finalmente una forma elipsoidal o esférica, su raíz es gruesa hasta 10 cm de ancho. Estas raíces pueden variar en tamaño, forma y sabor su cáscara varía de color canela a marrón. La pulpa puede ser de color blanco, amarillo, morado, naranja y algunas veces con puntos de color fucsia, en el tubérculo se encuentra la parte comestible de la planta. Se ha determinado el peso de la raíz oscila entre 200 y 500 g y su rendimiento por planta puede llegar a ser de 2 a 3 kg por planta (Clavijo & Pérez, 2012).

2.1.4. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

“A diferencia de otras raíces y tubérculos que almacenan sus carbohidratos en forma de almidón, la jícama los conserva principalmente en forma de fructooligosacáridos y azúcares tipo inulina” (Campos, Cotrina, & Romero, 2013).

Tabla 1. Contenido de carbohidratos de la raíz de jícama

CARBOHIDRATOS	(%)
CARBOHIDRATOS TOTALES	85.55
ALMIDÓN	0.83
AZÚCARES TOTALES	21.77
INULINA	13.50
AZÚCARES REDUCTORES	12.78

Fuente: (Merino, 2014)

Según Marinque, Párraga, & Hermann (2005) mencionan que: “La concentración de azúcares en la raíz de jícama es por lo general entre de 8 a 12 o Brix”.

Tabla 2. Efecto del soleado sobre la composición relativa de las raíces de jícama.

	Datos de cosecha	Días de soleado		
		2	4	6
Raíces	100	75.2	66.7	61.7
Agua	87.3	60.8	52.2	47.6
Materia seca	12.7	14.7	14.4	14.0
Azúcares Totales	11	12.7	12.5	12.0
Fructooligosacáridos	7	7.1	6.0	5.4
Fructosa	1.3	2.5	2.9	3.5
Glucosa	0.3	0.5	0.5	0.7
Sacarosa	2.1	2.6	3.0	2.4

Fuente: (Marinque, Párraga, & Hermann, 2005)

2.1.5. MADUREZ FISIOLÓGICA

La madurez fisiológica inicia antes de que termine el crecimiento celular y finaliza en algunos casos, cuando el fruto tiene las semillas en disposición de producir nuevas plantas. La evolución de esta solo se complementa adecuadamente cuando el fruto se encuentra en la planta (Hardenburg, 2010).

Angón, Santos, & Hernández (2006) sostienen que cuando la fruta se encuentra fisiológicamente en su máximo estado de: crecimiento, desarrollo y todas sus partes especialmente la semilla está formada, madura y apta para su reproducción, este es el estado que se conoce como madurez fisiológica”.

2.2. COMPOTA

La compota es un producto procesado, pastoso de poca cocción tiene un gran aporte energético de vitaminas, proteínas y esenciales está dirigido para la alimentación infantil ayudando al crecimiento de los niños; en ciertos países se prohíbe la adición de conservantes, saborizantes, ni colorantes.

Según Ortiz, (2003) deduce que la compota es un producto preparado con un ingrediente fruta mezclado con un edulcorante, carbohidrato con o sin agua elaborado para adquirir una consistencia adecuada. Es un alimento asociado generalmente para bebés ya que por su consistencia viscosa no requiere masticación para su consumo, lo que lo hace un producto apropiado para menores.

2.2.1. ELABORACIÓN DE COMPOTA

Recepción: Es hacer un control rápido de la calidad, tamaño, grado de madurez visual, apariencia externa si tiene cortes o heridas, textura, grado de limpieza de todo lo que se recibe, además se controla su procedencia y la cantidad de producto entrante.

Selección: Proceso que descalifica aquellas frutas que poseen en su estructura imperfecciones que puedan afectar la producción proveniente de golpes o con cierto grado de fermentación. Dependiendo el tipo de fruta, varían las características de selección.

Limpieza: Eliminación de la suciedad que está en la corteza del producto y se usa el método inmersión de agua, sumergiendo el producto en agua para eliminar impurezas.

Desinfección: Desinfectar mediante la mezcla de hipoclorito de sodio y agua esto garantiza que se pueda eliminar la flora bacteriana patógena que puede alterar la calidad del producto final, esto proporciona pérdidas económicas y problemas jurídicos.

Picado: Trocear la fruta en pedazos pequeños, pudiendo extraer la cáscara y pérdida del pedúnculo, entre más pequeños sean los trozos menor tiempo de cocción se requerirá.

Escaldado: Consiste en un tratamiento térmico y su duración depende del tipo de la fruta que se trabaje. Es una pre cocción pero más rápida. Tiene con finalidad fijar el color de la fruta, pues los pigmentos quedan atrapados en los tejidos y elimina enzimas que van a deteriorar la calidad del producto; además elimina el oxígeno presente en la fruta por ello evita el pardeamiento pues se inactivan la enzima (coloración oscura).El tiempo del escaldado dura 8 a 10 minutos, se debe tener cuidado de la fruta para impedir que se pierda sus características organolépticas y no servirá para producir (Suárez, 2005).

Pelado: Retirar completamente la cáscara y realizar mediante el método de pelado manual, para ello se usa un cuchillo de acero inoxidable, entre más cocción la pulpa se retirará más fácilmente de la concha.

Licudo: Obtención de la pulpa de la fruta por medio de una licuadora en raciones para no forzar, al total de la pulpa obtenida se le agrega el 10% de agua para facilitar su licuado.

Cocción: Esta consiste en la mezcla del azúcar, fécula de arroz y la pulpa (la mitad del total de azúcar más el ácido cítrico), es la operación más importante pues garantiza las características normales de la compota. El tiempo de cocción depende del tipo y variedad de fruta. Una cocción excesiva produce coloraciones oscuras pues los azúcares se caramelizan.

Adición de aditivos: Empezado el proceso se haya reducido un porcentaje de agua considerable, se procede a la adicción de la otra mitad de azúcar y la cantidad de azúcar se calcula de acuerdo al total de la fruta.

Envasado: Control de la temperatura de 85 °C se debe dejar un vacío para que el llenado sea el adecuado, los frascos deben estar previamente lavados, esterilizados. Para garantizar el vacío en el sellado se vierte en una olla con agua

caliente, el vapor producido hará que se extraiga todo el oxígeno presente entre el espacio de la boca del frasco hasta donde se encuentra el producto.

Enfriamiento: Es un método rápido y efectivo de pre-enfriamiento consiste en la realización por inmersión, inundación o aspersión con agua fría a una temperatura de 1°C, sin importar la temperatura inicial (Hardenburg, 2010).

Etiquetado: Se identifica el producto con una marca y demás especificaciones requeridas.

Conservación: Almacenaje en un lugar fresco, limpio y seco, con suficiente ventilación a fin de garantizar la conservación del producto por más tiempo.

Tabla 3. Características de una compota

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MAXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Solidos Totales	g/100g	15	–	INEN 14
Vit C	mg/100g	30	–	INEN 384
Ph		–	4,5	INEN 389
Sal (Nacl)	mg/100g	–	–	INEN 51
Vacio	Kpa	60	–	INEN 392
Contenido calórico	J/ 100g	–	420	–
Fructosa	1.3	2.5	2.9	3.5
Glucosa	0.3	0.5	0.5	0.7
Sacarosa	2.1	2.6	3.0	2.4

Fuente: Norma INEN 2009 1995 10

2.3. PREBIÓTICOS

Según Campos et al., (2013) concluyeron que un prebiótico es un azúcar no digerible e inerte para el humano, que al ser ingerido sirve como alimento para favorecer el crecimiento diferencial en el intestino de bacterias probióticas y que forman parte de algunos alimentos en mayor o menor cantidad.

Los prebióticos son ingredientes no digeribles de la dieta, que benefician al consumidor por estimular selectivamente al crecimiento o la actividad de

microorganismos específicos de la microflora intestinal como *Lactobacillus acidophilus* y *bifidobacterium bifidum*.

Los trabajos pioneros sobre prebióticos se realizaron en Japón y se enfocaron en la identificación de algunos componentes de la leche materna que favorecían al crecimiento de bifidobacterias, considerando a estos microorganismos como deseables para mantener la salud en infantes. En este trabajo se determinó que algunos oligosacáridos poseen esta actividad prebiótica y sirvió como punto de partida para futuras investigaciones en las que se buscaron varios substratos selectivos para bifidobacterias (Escalante, 2001).

Según Campos et al., (2013) establecen que el valor calórico de la inulina tiende a ubicarse en promedio en 1.6 – 2.71 kcal/g especialmente por la metabolización de los ácidos grasos de cadenas corta que se producen a partir de ellos durante el proceso fermentativo que sufren los fructanos en el colon. El índice glicémico de la inulina que se estima es de cero.

El colon humano constituye un complejo ecosistema que comprende hasta 50 especies diferentes de bacterias que constituyen una flora mayoritariamente anaeróbica estricta acompañada por cantidades menores de flora facultativa, cuya actividad y cantidad se ve afectada por la fisiología gastrointestinal y por los substratos de fermentación con los que estas dispongan (Manzano, Estupiñan, & Poveda, 2012).

2.3.1. TIPOS DE PREBIÓTICOS

2.3.1.1. Inulina

Webber & Zimmerman (2014) menciona que la inulina es un carbohidrato que reserva energía en más de 36000 especies de plantas, aisladas por primera vez en 1804 y es un prebiótico con alto rendimiento y peso molecular, además posee la capacidad de modular la microbiota de animales y seres humanos, se las consideran como fibras fermentables, solubles y no viscosas que puede cambiar la

composición de la microbiota hacia los *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*.

La inulina es un fructano polidisperso que consiste de cadenas lineales de unidades fructosilunidas por un enlace y con un residuo de glucosa al final de la cadena. Su estructura es bastante heterogénea respecto a la longitud de la cadena de la molécula, ya que presenta de 3 a 60 residuos, lo que le caracteriza de oligosacárido o polisacárido (Madrigal & Sangronis, 2007).

La inulina se usa en industria alimentaria como sustitutos del azúcar y de grasa, aportan textura, estabilizan la formación de espuma o mejoran las cualidades organolépticas de una amplia gama de productos: leches fermentadas, mermeladas, helados, galletas, pan, leches para lactantes, entre otros. La inulina posee un sabor neutral suave, es moderadamente soluble en agua, otorga cuerpo y palatividad (Olagnero et al., 2007).

Olagnero et al., (2007) estima que la dosis máxima permitida para adicionar un alimento formulado con inulina es para dosis simple hasta 10 g/día y en dosis múltiples hasta 20 g/día. En dosis mayores a las permitidas puede inducir intolerancia luego de su consumo, como efectos osmóticos (diarrea), ruidos intestinales y flatulencia como consecuencia del proceso de fermentación.

Olagnero et al., (2007) afirma que tanto la inulina que por lo general contiene pequeñas traza de sales y minerales ($\leq 0.2\%$), como los fructanos en general se encuentran ampliamente presentes en la dieta de mayoría de la población mundial al punto que la ingesta suele ser de varios gramos diarios. Por lo que se recomienda al menos una ingesta de 8 g de oligofructanos en la dieta de modo que múltiples funcionalidades nutricionales sean de ayuda en los organismos y no se presenten problemas de intolerancia.

Según Aguavil, (2012) deduce que el valor calórico de la inulina tiende a ubicarse en promedio en 1.6 – 2.71 kcal/g especialmente por la metabolización de los ácidos grasos de cadenas corta que se producen a partir de ellos, durante el proceso fermentativo que sufren los fructanos en el colon. El índice glicémico de

la inulina que se estima es de cero. El colon humano constituye un complejo ecosistema que comprende hasta 50 especies diferentes de bacterias que constituyen una flora mayoritariamente anaeróbica estricta acompañada por cantidades menores de flora facultativa, cuya actividad y cantidad se ve afectada por la fisiología gastrointestinal y por los sustratos de fermentación con los que estas dispongan.

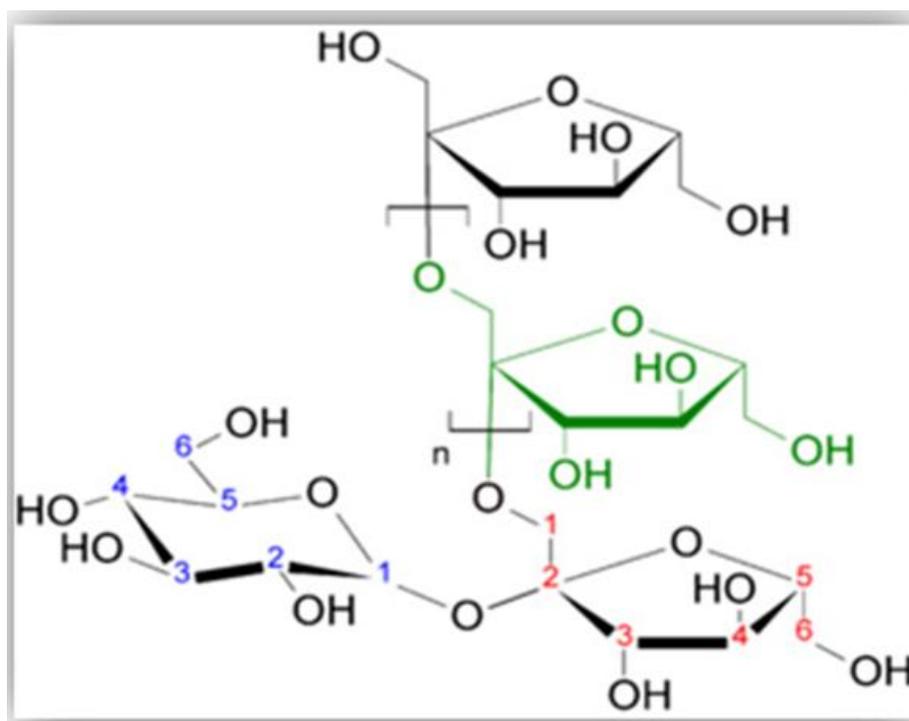


Ilustración 1. Estructura química de la inulina

Fuente: (Corzo, Alonso, Azpiro, Calvo, Cirici, Leis, 2015).

2.3.1.1.1. Compuestos derivados de la inulina

Los fructanos ampliamente investigados buscando dar un mayor uso de la inulina, la oligofructosa y los fructooligosacáridos o FOS, se caracterizan por sus enlaces de tipo β -(2→1) entre las unidades de fructosa, con un grado de polimerización que varía entre 2 y 60 unidades, y se les considera carbohidratos de cadena corta o de nivel de polimerización. Dependiendo de su origen (vegetal o microbiano), los fructanos pueden ser lineales, ramificados o cíclicos, tanto la inulina, como la oligofructosa y los fructooligosacáridos o FOS presentan una estructura polimérica predominantemente lineal (Madrigal & Sangronis, 2007).

Corzo et al. (2015) considera que la inulina es el compuesto con el mayor rango y promedio, estas son las diferencias que radican en el grado de polimerización. Los FOS y la oligofruktosa son muy similares, pero con diferencias estructurales asociadas a sus diferentes orígenes (hidrólisis enzimática de inulina para la oligofruktosa y transfructosilación de sacarosa para los fructooligosacáridos).

2.3.1.1.2. Usos de la inulina como ingrediente

La inulina y sus derivados ofrecen múltiples usos como ingredientes en la formulación de productos (Tabla 4). La inulina tiene propiedades similares a las del almidón, mientras que la oligofruktosa presenta propiedades más parecidas a la sacarosa, además mejora la aceptabilidad de yogures elaborados con leche descremada, impartándole mayor cremosidad, también actúa como agente espesante, retiene el agua y estabiliza geles. Los geles se pueden formar por efecto mecánico o térmico. La capacidad de formar gel es determinante en su uso como sustituto de grasas en productos lácteos, untables, aderezos, salsas y otros en los que las propiedades funcionales que otorgan las grasas son indispensables para lograr los efectos sensoriales deseados por los consumidores (Corzo et al., 2015).

Tabla 4. Propiedades funcionales de la inulina y derivados

Aplicación	Funcionalidad
Productos lácteos	Cuerpo y palatabilidad, capacidad de formar gel, emulsificantes, sustituto de azúcar y grasas, sinergismo con edulcorantes.
Postres congelados	Textura, depresión en el punto de congelación, sustituto de azúcares y grasas, sinergismo con endulcorantes.
Productos untables	Estabilidad de emulsiones, textura y capacidad de ser untado, sustitutos de grasas
Productos horneados	Disminución de a_w sustituto de azúcares
Cereales de desayuno	Crujencia, capacidad de expansión

Preparación frutas(no ácidas)	con	Cuerpo y palatabilidad, capacidad de formar gel, estabilidad de emulsión, sustitutos de azúcares y grasas, sinergismo con endulcorantes.
Productos cárnicos		Textura, estabilidad de emulsión y sustituto de grasas
Chocolate		Sustituto de azúcares, humectante
Aderezos ensaladas	de	Cuerpo y palatabilidad, sustituto de grasas.

Fuente: (Madrigal & Sangronis, 2007)

2.3.1.1.3. La inulina y sus beneficios a la salud

Según Álvarez et al., (2014) concluyen que el uso de la inulina o sus derivados aporta beneficios a la salud, el primero de ellos es su función de fibra dietética, con los efectos fisiológicos atribuibles a este tipo de compuestos como; la disminución de los niveles lipídicos y glucosa en sangre y la acción laxante. Otro beneficio es la capacidad de la inulina de modular la flora intestinal, esto se debe a su efecto prebiótico. Para incrementar el número de bacterias beneficiosas en el colon se necesitan diariamente 4 g de inulina o de sus compuestos relacionados.

Madrigal & Sangronis, (2007) sostiene que la inulina y derivados tienen un aporte calórico reducido (máximo de 1,5 kcal/g), atribuibles a la resistencia a la digestión, posterior hidrólisis y fermentación por la flora intestinal selectiva del intestino grueso. Solo los ácidos grasos de cadena corta obtenidos como producto metabólico de la actividad bacteriana en el intestino grueso contribuyen a proveer energía al individuo. Por su efecto hipoglicemiante, la inulina se recomienda en la dieta de individuos con diabetes.

Investigaciones con ratas y humanos indican un incremento de la absorción de calcio y otros minerales cuando se usa inulina y sus derivados en la dieta, con consecuencias positivas en el contenido y densidad de los huesos. En adolescentes, la dosis necesaria para observar esos resultados fue 8 g/día de

inulina durante 8 semanas. También se demostró el efecto positivo de la inulina y sus derivados en la absorción de magnesio (Campos et al., 2013).

Con respecto al cáncer, se demostró que la administración de prebióticos (inulina y oligofruktosa) disminuye el crecimiento de cáncer de colon en ratas. El mecanismo aún no está claro, pero los resultados parecen señalar como responsable a la acción combinada de dos factores: el aumento de los ácidos grasos de cadena corta (producto de la fermentación de los prebióticos) y la disminución de la proliferación de las enzimas envueltas en la patogénesis del cáncer. Se observó la inhibición del cáncer mamario en ratas y la dieta fue suplementada con inulina. También ha sido reportado un efecto antimelanoma por el consumo de inulina. Estos efectos positivos en la salud han originado que se recomiende la inulina como factor adyuvante en las terapias de cáncer (Escalante, 2001)

La inulina junto con otro carbohidrato no digerible, el galactooligosacárido, logra cumplir una función muy importante en el mejoramiento de las formulaciones alimenticias infantiles. La leche materna contiene una mezcla compleja de carbohidratos no digeribles que cumplen con la función de prebiótico, lo cual justifica la adición de oligosacáridos a fórmulas lácteas que se administran a los niños. Existen otras funciones promisorias de la inulina que aún están en estudio, entre ellas el aumento a la resistencia a infecciones intestinales, atenuación de enfermedades inflamatorias del intestino, estimulación del sistema inmune, con la consecuente resistencia a las infecciones (Madrigal & Sangronis, 2007).

No obstante, es importante considerar que estudios en seres humanos han demostrado que dosis mayores a 30 g/día de inulina y oligofruktosa ocasionan efectos gastrointestinales adversos. Es importante destacar que tanto la inulina como sus derivados fueron aceptados como ingredientes GRAS (generalmente reconocido como seguro) por el FDA desde 1992, lo cual indica que pueden usarse sin restricciones en formulaciones alimenticias incluso en las destinadas para infantes. Los importantes beneficios de la inulina y derivados han sido ampliamente explotados en el mercado e incluso utilizados para alegaciones

contundentes en las campañas de mercadeo. Un reporte señala la necesidad de una regulación internacional que estandarice las condiciones bajo las cuales se pueden usar las alegaciones en nutrición y salud, ya que existen algunas que aún no han sido sólidamente comprobadas a nivel científico (FAO, 2011).

2.3.1.2. Galactosacárido

Pertenece a la serie rafinosa y están formados por moléculas de galactosa. Los más frecuentes en el mundo son la rafinosa, estaquiosa y verbascosa de 3-5 galactosas respectivamente. Se encuentran presentes principalmente en las legumbres y leche de vaca (Corzo et al., 2015).

2.3.1.3. Fructooligosacáridos

Los fructooligosacáridos no son digeridos en el intestino delgado y son rápidas y completamente fermentables por la microflora humana intestinal a ácidos grasos de cadena corta. La capacidad de estos de favorecer el crecimiento de las bifidobacterias ha sido demostrada en varios modelos distintos al intestino humano. Se encuentran disponibles comercialmente en Japón, Estados Unidos, Europa y recientemente México (Escalante, 2001).

2.3.1.4. Lactulosa y lactinol

La lactulosa y Lactinol son derivados sintéticos de la lactosa, y han sido empleados en el tratamiento de constipación crónica y encefalopatía hepática. Ambos disacáridos no son absorbidos en el intestino delgado y son fermentados rápidamente por la microflora humana al disminuir las poblaciones de *Bacteroides*, *Clostridium*, *coliformes* y *Eubacterium*, e incrementando el número de *bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Streptococcus* (Urías, Silvas, & López, 2004).

2.3.2. EVALUACIÓN DEL EFECTO PREBIÓTICO

Se ha desarrollado un gran número de modelos para evaluar la fermentación o biodegradabilidad intestinal de los prebióticos previamente caracterizados (origen, fuente, pureza, composición química). Para estudiar la biodegradación de

compuestos con potencial prebiótico, es muy útil la utilización de cultivos in vitro que pueden alcanzar cierto grado de complejidad. El modelo más simple, y ampliamente utilizado en el contexto de los primeros estudios con prebióticos, consiste en evaluar el comportamiento, como inóculo, de cultivos simples definidos (cepa única) generalmente perteneciente a los géneros *Lactobacillus* y *bifidobacterium* en presencia del sustrato (Corzo et al., 2015).

2.3.3. ASPECTOS SALUDABLES DE LOS PREBIÓTICOS

El principal sustrato para las bacterias anaeróbicas del colon son los carbohidratos de la dieta que escapan a la digestión en el tracto gastrointestinal alto. En estudios in vitro se ha comprobado que la presencia de inulina y otros fructooligosacáridos en colon produce, como resultado final de la fermentación bacteriana, cantidades importantes de hidrógeno, metano, dióxido de carbono, lactato e incremento de la biomasa bacteriana. El aumento de la concentración de lactato y acetato disminuye el pH intraluminal, inhibiendo el crecimiento de *E. coli*, *Clostridium* y otras bacterias patógenas pertenecientes a los géneros *Lísteria*, *Shigella*, o *Salmonella*; pero a su vez incrementa el recuento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* (Manzano et al., 2012).

2.4. ALIMENTOS CON PRESENCIA DE PREBIÓTICOS

Alcachofas: contienen inulina, un prebiótico natural

Legumbres, patata y boniato: poseen rafinosa y estaquiosa.

Puerro: poseen derivados de inulina y fructooligosacáridos

Avena y cebada: poseen inulina

Jícama: Contiene inulina (Arnao et al., 2011).

Tabla 5. Contenido de fructanos en diferentes plantas

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FRUCTANO	PORCENTAJE
<i>Cichorium intybus</i>	Achicoria	Inulina	16-20
<i>Helianthus tuberosus</i>	Topinambur	Inulina	15-20
<i>Dahlia ssp</i>	Dahlia	Inulina	14
<i>Smallanthus sonchifolius</i>	Yacón	Fructooligosacáridos	9-12
<i>Allium sativum</i>	Ajo	Inulina	9-11
<i>Allium cepa</i>	Cebolla	Inulina	2-6
<i>Asparagus officinalis</i>	Espárrago	Inulina	2-3
<i>Triticum spp</i>	Trigo	Inulina	1-6
<i>Musa spp</i>	Plátano	Inulina	0.3-0.7

Fuente: (Campos et al., 2013)

2.4.1. CRITERIOS PARA QUE UN ALIMENTO SEA CONSIDERADO PREBIÓTICO

No debe ser hidrolizado o absorbido en la parte alta del tracto digestivo.

Debe ser fermentado selectivamente por una o un número limitado de bacterias benéficas del colon, por ejemplo bifidobacterias y lactobacilos

Debe ser capaz de alterar la microflora colónica tornándola saludable, por ejemplo reduciendo el número de organismos putrefactivos e incrementando las especies sacarolíticas (Millone, Olagnero, & Santana, 2010).

2.4.2. LA JÍCAMA COMO FUENTE DE PREBIÓTICOS

El yacón o más conocido en el medio como jícama, es reconocido por su poder medicinal, debido a la presencia de polímeros de fructosa e inulina, lo que resulta ser ideal para diabéticos, debido a su metabolismo que disminuye considerablemente el contenido de los triglicéridos además de que la jícama posee un sabor semejante al de las frutas como el melón con pulpa levemente clara, crocante y acuosa (Corzo et al., 2015).

Campos et al., (2013) mencionan que la raíz tiene aproximadamente entre 10 y 17% de materia seca, de la cual la mayoría son hidratos de carbono, de estos el 50 - 70% son FOS y el resto son azúcares simples: glucosa, fructosa y sacarosa.

Por su configuración química los fructanos no pueden ser hidrolizados por las enzimas digestivas, pero son fermentados en su totalidad por las bacterias del tracto gastrointestinal; es por esta razón que este tipo de compuestos se comportan como fibra alimentaria funcional (Bamforth, 2007).

Los Fructooligosacáridos de la jícama se caracterizan por su elevada capacidad de retención de agua, estabilidad a temperaturas altas y de refrigeración. Este alimento posee además bajo índice glucémico y propiedades hipoglucemiantes. Estas características físico-químicas relevantes convierten a la jícama en un recurso natural para la obtención de FOS y en un ingrediente funcional para la formulación y elaboración de productos alimenticios con beneficios para la salud (Valdez, Margalef, & Gómez, 2013).

2.4.3. FERMENTACIÓN FUNCIONALIDAD COMO EFECTO PREBIÓTICO

Los oligofructosacáridos pueden clasificarse como carbohidratos altamente fermentables. Los principales sustratos fermentativos para el crecimiento bacteriano antes descrito son los carbohidratos. De éstos solo entre 10 a 60 g por día logran llegar al colon siendo la gran mayoría de estos fructanos (2 a 8 g por día). La ingesta diaria de 15 g se transforma y empiezan un proceso fermentativo en la flora dominante del colon que es provocada especialmente por bacterias lácticas y *Bifidobacterias*, a diferencia de los *clostridia*, *bacteroides* y *coliformes* que no pueden metabolizar en esta forma a los fructanos si son de cadena corta. (Palou & Serra, 2000).

Los fructanos dada su composición química (enlaces β (2 \rightarrow 1)) no son degradados a nivel de estómago ni del intestino delgado siendo resistente a la acción de las enzimas del mismo y de las pancreáticas. Las *Bifidobacterias* poseen β -fructofuranosidasa capaz de hidrolizar los enlaces β (2 \rightarrow 1) y α (1 \rightarrow 2) que los permite aprovechar directamente los fructanos, lo que indica una alta especificidad de las bifidobacterias por este sustrato. De hecho se ha determinado que las *Bifidobacterium* prefieren a los fructanos por sobre la glucosa como sustratos fermentativos. (Corzo et al., 2015).

Valdez, et al (2013) deduce que la fermentación trae como consecuencia una disminución en el pH, debido a los productos generados (ácidos carboxílicos, lactato y acetato), esta disminución es provocada al fermentarse los fructanos presentes en los alimentos y darse una intensa generación de ácidos carboxílicos de cadena corta, causando alta tasa de mortalidad de patógenos intestinales sensibles a la acidificación disminuyendo paralelamente sus posibilidades de colonización y translocación sin embargo una sobre acidificación debida a altas concentraciones de ácidos orgánicos ocasionaría una vinculación con una inducción de lesiones a la mucosa intestinal comprometiendo su función de barrera.

Las bifidobacterias constituyen hasta un 25% de la flora del colon, durante su competencia al fermentar los fructanos contribuyen a la disminución y hasta anulación de cepas patogénicas que son sensibles al medio ácido entre las que se encuentran *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sp.* y *Clostridium difficile*. (Mayorga, Bustamante, Gutiérrez, Barranco, & Azaola, 2010).

El butirato producido en la fermentación está asociado por ejemplo con la producción de mucinas, que son complejos de glicoproteínas que componen el gel que recubre el epitelio gastrointestinal. El proceso fermentativo y sus productos pueden ser relacionados entonces con un efecto beneficioso importante. Uno de los componentes funcionales de los alimentos es la fibra dietética la cual según acuerdos internacionales pueden definirse como: “aquellas de las plantas o bien carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y a la absorción en el intestino delgado humano y que experimentan un fermentación parcial o total en el intestino grueso; incluyéndose en esta definición polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas” La fermentación de los fructanos tanto la inulina como los oligofructanos deben ser clasificados como fibra dietética (Bamforth, 2007).

La prevención y reducción de los patógenos se da debido también a la producción de Bacteriocinas y otros agentes antimicrobianos, la competencia por sitio de adhesión en las mucosas, la competencia por nutrientes y la producción de inhibidores como lactato y acetato. Es importante en grupos de riesgo como inmunodeprimidos o ancianos; de los cuales, es este último grupo donde las poblaciones de *Bifidobacterium* suelen ser más reducidas (Mayorga et al., 2010).

Existen autores que indican cómo están constituidos los productos de la fermentación como en el caso de Merino (2004) el cual indica:

Los productos de la fermentación están constituidos por un 55% de ácidos grasos volátiles de cadena corta (ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico), 10% de gases (CO₂, CH₄, H₂) y un 35% de biomasa bacteriana para un valor energético total de 1.0 a 1.5 Kcal/gr. la mayor parte de los ácidos grasos producidos son ampliamente absorbidos en la sangre desde donde son distribuidos al hígado y a los tejidos periféricos induciendo cambios en el metabolismo de las grasas y de la glucosa. Estudios recientes indican que algunas de estas moléculas también cumplen papeles importantes como moduladores de vías metabólicas primordiales.

2.4.4. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PREBIÓTICOS

Algunos ácidos excretados por los microorganismos de los probióticos bajan el pH intestinal por debajo del nivel que toleran los patógenos.

Capacidad de secreción por parte de los lactobacilos y bacterias bífidas de bacteriosinas que tienen amplio espectro de actividad como lactocinas, helveticinas, lactacinas, curvacinas, nicinas y bifidocinas (Aguavil, 2012).

2.4.4.1. Formas de acción

- Disociación del ácido liberando H para el medio
- Modulación de la microflora intestinal

- Incremento del número de microorganismos benéficos: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Bacillus*.
- Reducción del número de microorganismos indeseables: *Salmonella sp.* *E. coli*, *Clostridium*, *Staphilococcus*. (Zavala, 2014).

2.4.5. pH DEL TRACTO INTESTINAL

Tracto intestinal o también llamado tracto digestivo parte importante del sistema inmune, el pH de este, va desde 1 a 4 y es el adecuado para no dejar sobrevivir a las bacterias patógenas, pero sin embargo si se detecta pH de 4, 5 (Escalante, 2001).

En el estómago, el pH varía de 1,5 a 2,0 en condiciones de ayuno desde 8,0 a 9,0 en el intestino delgado en condiciones de saciedad por tanto, los *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* tienen la capacidad de sobrevivir a condiciones estresantes del estómago a pH 2,0 a pH 9,0 (Lalanne, Rivera, Farrera, & Hernández, 2014).

El pH al inicio de tracto suele ser más bajo que al final debido a la mayor producción de ácidos orgánicos derivados de la fermentación por lo que las bacterias del tracto inicial del colon tienen más nutrientes que aquellas que crecen al final. Esto hace pensar que la fermentación se da primordialmente en el colon inicial o cercano.

2.5. PROBIÓTICOS

Instituto Pasteur a comienzos del siglo pasado, afirmó que la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles. Adolfo Escalante (2010).

El término probiótico es una palabra relativamente nueva que significa “a favor de la vida” y actualmente, se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales. Es importante que los probióticos permanezcan vivos durante su tránsito por el trato gastrointestinal, esto favorece el equilibrio de la microflora (Bamforth, 2007).

Lalanne et al., (2014) afirma que las bacterias Gram negativas del colon logran sintetizar toda una serie de enzimas del intestino sacarolíticas que metabolizan a los oligofruetosacáridos los cuales son fermentados anaerómicamente especialmente si su grado de subdivisión es bajo. La cinética de fermentación está ligada entonces al grado de polimerización ya que aquellas moléculas de más de 10 monómeros son fermentadas en el doble tiempo que aquellas de menor tamaño.

Durante los últimos 30 años los prebióticos han suscitado un gran interés entre investigadores de ámbitos tan variados como la nutrición, la biomedicina y la industria de alimentos. A lo largo de todos estos años se han propuesto diferentes definiciones, tratando de reflejar todas las propiedades que puede presentar los prebióticos (Corzo et al., 2015).

2.5.1. ESPECIES PROBIÓTICAS

2.5.1.1. *Lactobacillus acidophilus*

Es un género *Lactobacillus acidophilus* se caracteriza por presenta células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco- bacilos coryneformes. Las colonias de *Lactobacillus* en medios solidos son pequeñas (2-5mm), convexas, suaves, con márgenes enteros, opacas y sin pigmentos. Solo en algunos casos presenta coloración amarillenta o rojiza. Algunas especies forman colonias muy rugosas (Aguavil, 2012).

Los *Lactobacillus* crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 -4,5. La mayoría de las cepas de *Lactobacillus acidophilus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento optimo se alcanza bajo condiciones microaerofilicas o anaerobias. La mayor parte de los Lactobacilos son mesofilos (30-40°C), con un límite superior de 40 °C. Aunque su rango de temperaturas para el crecimiento oscila entre 2 y 53 °C. Los miembros de este género transforman la glucosa y las hexosas aldehídicas similares, los carbohidratos que producen estos azúcares simples y los alcoholes polihidroxílicos en ácido láctico por homofermentación o en ácido láctico y otros productos finales adicionales como

ácido acético, etanol, dióxido de carbono, ácido fórmico y ácido succínico. (Schoster, Kokotovic, Pedersen, Dal, & Guardabassi, 2013)

No reduce los nitratos pero en esta reacción puede ocurrir en algunos casos, cuando el pH está por encima de 6,0. Los *Lactobacillus* no licúan la gelatina ni digieren, aunque muchas cepas producen pequeñas cantidades de nitrógeno soluble. Tampoco produce Indol ni fulfidrico. Son catalasas negativas, pero algunas cepas producen la enzima pseudocatalasa que contiene más cepas producen la enzima pseudocatalasa que contiene más cepas producen la enzima pseudocatalasa que descompone el peróxido de hidrógeno. Son citocromo negativos, por la ausencia de porfirinas (Aguavil, 2012).

Según Lalanne et al., (2014) *Lactobacillus acidophilus* es una bacteria positiva dominante en el intestino delgado, donde se produce la mayor parte de la digestión mientras que las *Bifidobacterium bifidum* reside en el intestino grueso donde se procesan los desechos para evaluarlos. El *Lactobacillus acidophilus* absorbe la lactosa y la metaboliza formando ácido láctico. Durante la digestión, también ayuda en la producción de niacina, ácido fólico y vitamina B6 (piridoxina).

La producción de ácido láctico hace que su ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias patógenas. Algunas especies de *Lactobacillus* son usadas industrialmente la producción de yogur. (Olagnero et al., 2007).

2.5.1.1.1. Condiciones de crecimiento

- **pH**

Los Lactobacilos crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 - 4,5 y con uno óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2. Su crecimiento cesa cuando el pH alcanza valores desde 4 hasta 3,6 en dependencia de especies y cepas y disminuye notablemente en medios neutros o ligeramente alcalinos. Los Lactobacilos son capaces de disminuir el pH del sustrato donde se encuentran por debajo del valor 4,0 mediante la formación de ácido láctico. De esta forma evitan o al menos disminuyen considerablemente el crecimiento de casi todos los otros

microorganismos competidores, exceptuando el de otras bacterias lácticas y el de las levaduras (Bustamante et al., 2010).

- **Temperatura**

La mayor parte de los *Lactobacillus* son mesófilos (30-40 °C), con un límite superior de 40 ° C siendo su temperatura óptima a los 37°C (Lalanne et al., 2014).

- **Atmosfera**

La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerófilas o anaeróbicas y se conoce que un incremento de la concentración de CO₂ (de aproximadamente 5% o hasta el 10%) puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos (Lalanne et al., 2014).

- **Medio**

Lactobacilli MRS Agar/ Broth

2.5.1.2. *Bifidobacterium bifidum*

Las Bifidobacterias son habitantes naturales del tracto gastrointestinal (TGI) que representa del 3 al 10 % en la microflora del adulto y el 90% en los infantes alimentados con leche materna. Durante la producción de probióticos o alimentos funcionales con bifidobacterias, la viabilidad de las bacterias se ve afectada por la acidez del medio de cultivo. Durante el tránsito en el tracto gastrointestinal, las Bifidobacterias deben sobrevivir a las condiciones extremas de acidez en el estómago. La familia *Bifidobacterium* consiste de bastones pleomórficos que se encuentran solos o en cadenas pluricelulares o grupos. Estos microorganismos no forman cápsulas, ni esporas, no son móviles ni filamentosos (Mayorga et al., 2010).

Las especies de *Bifidobacterium* son bacilos gram positivos, anaerobios, ramificados o pleomórficos que pueden aislarse de diversos materiales tales como; heces humanas y animales, aguas negras y la cavidad bucal. Su hábitat principal en los seres humanos es el intestino grueso, donde es uno de los grupos más importantes de bacterias intestinales normales, llegando a alcanzar una

concentración de 10⁹ a 10¹¹ por gramo de heces en adultos sanos (Fuentes et al., 2012)

Cuando la composición de la flora normal es afectada por factores internos o externos: tratamiento antimicrobiano o antineoplástico, pueden ser superados en crecimiento por las *Enterobacteriaceae*, *pseudomonas* o levaduras. Este crecimiento excesivo puede ser responsable de la diarrea crónica y otros trastornos intestinales y digestivos. Dada su baja patogenicidad, cada vez es más frecuente el uso de bifidobacterias y lactobacilos como probióticos para mejorar la composición de la flora intestinal en el caso de trastornos.

Además, se ha debatido el uso de probióticos en la mejora de determinados trastornos o síndromes extraintestinales, como: vaginitis, la infección de *Helicobacter pylori* y la fibrosis cística. Se ha afirmado recientemente que la administración de Bifidobacterias favorece el aumento de peso y mejora la función intestinal anómala en los bebés prematuros. Se han diseñado varios medios para el aislamiento electivo o selectivo de bifidobacterias. Dado que el género está formado por más de 25 especies conocidas, con una heterogeneidad considerable en la resistencia a los agentes microbianos y otros inhibidores, es difícil diseñar un solo medio con una buena selectividad y que a la vez mantenga una buena recuperación de organismos. (Mayorga et al., 2010).

2.5.1.2.1. Condiciones de crecimiento (ver ficha técnica Anexo 5)

Temperatura: 37 ° C

Ambiente: mezcla de gas anaeróbico, el 80% de N₂

10% de CO₂

10% de H₂

2.5.1.3. Condiciones anaeróbicas

Las condiciones anaerobias para la transferencia pueden obtenerse por cualquiera de los siguientes:

El uso de una cámara de gas anaeróbico o colocación de tubos de ensayo bajo un sistema de gasificación cánula conectada a gas anaeróbico.

Las condiciones anaerobias para la incubación se pueden obtener por cualquiera de los siguientes:

Tapones de rosca flojos en tubos de ensayo en cámara anaeróbica,

Tapones de rosca flojos en tubos de ensayo en un gas anaeróbico paquete activado, o el uso de tapones de caucho butilo estériles en tubos de ensayo de manera que se conserva un espacio de cabeza de gas anaeróbico (Bamforth, 2007).

2.6. BIOMASA

Es un término general que se refiere a los microorganismos presentes en un sistema y a la vez es una cantidad de células presentes en una muestra. Se trata de una variable clara para establecer tasas de producción, de consumo de nutrientes y el cálculo de los balances, además de cualquier proceso biológico. Para determinar la biomasa es necesario calcular el número de células en una determinada muestra, esto es importante en ciertos casos; por ejemplo, para determinar la inocuidad de muchos alimentos o drogas se requiere cuantificar los microorganismos en esos productos. Los métodos para estimar el número de microorganismos pueden medir la cantidad de células, la masa celular o actividad celular (Schoster et al., 2013).

2.6.1. MÉTODOS PARA DETERMINAR BIOMASA

2.6.1.1. Métodos gravimétricos (Peso seco)

La cantidad total de biomasa presente en la muestra puede medirse en términos de Peso Seco por unidad de volumen, ya sea como sólido en suspensión total (SST) o sólidos en suspensión volátiles (SSV). Las células se separan del líquido bien por centrifugación o por filtración. Se expresa en g.m.s/ml (Cañedo & Ames, 2004).

2.6.1.2. Métodos espectrofotómetros

Es la existencia de una relación directa entre el número de microorganismos presentes en una muestra y su valor de turbidez. Tras la determinación de la turbidez de la suspensión celular mediante espectrofotometría, el resultado se expresa en unidades de absorbancia. Sin embargo, antes de utilizar la turbidez como método de recuento, hay que realizar una recta de calibrado que reaccione medidas directas (microscopias, por recuento en placa o peso seco) con las indirectas de la turbidez. Esta recta contiene datos sobre el número de células, permitiendo la estimación de tal parámetro a partir de una sola medida de la turbidez. Son métodos rápidos, pero de baja sensibilidad y que presentan problemas de calibración (tipo de cultivo, medio de cultivo) y de interferencias con partículas (Pérez, Rodríguez, Suarez, 2014).

2.6.1.3. Métodos microscópicos de recuento celular en cámaras

Actualmente, hay contador de células automáticos y manuales de acuerdo para el fin, es decir los automáticos permiten contar alta densidad celular es un método rápido y eficaz además hay contadores electrónicos y contadores cuya técnica consiste en teñir los núcleos de las células por fluorescencia.

Existen diversos tipos de cámaras para el recuento de microorganismos tales como la cámara de Neubauer, Thoma, Buker, Ttirk, Fuchs-Rosenthal, Mal assez, Petroff H ttrser, etc. El recuento de microorganismos se realiza en la cuadrícula central de la cámara y se multiplica por la profundidad, obteniéndose el número de microorganismos por unidad de volumen (número de células/ml) (Cañedo & Ames, 2004).

• Cámara de Neubauer

La cámara de Neubauer es un contador de células manual y se utiliza para calcular la concentración de las mismas, es decir facilita el contaje adaptada al microscopio de campo claro o al de contraste de fases. Se trata de un portaobjetos con una depresión en el centro, en el fondo de la cual se ha marcado con la ayuda de un diamante una cuadrilla como la que se ve en la Ilustración 2.

Permite contar en un rango de concentraciones entre 250 000 a 2,5 millones de células por mililitro, sin embargo este método de conteo tiene un error de hasta 20-30 % que puede ser debido a error del pipeteo, a que la muestra que introduzcamos en la cámara no sea representativa o a que el volumen que introduzcamos no sea el adecuado. A pesar de esto sigue siendo el método más utilizado a nivel mundial porque es un método económico y sencillo. (Cañedo & Ames, 2004).

Cardona, Berdugo, & Cadavid, (2008) establece que; “Es un cuadrado de 3 x 3 mm, con una separación entre dos líneas consecutivas de 0.25 mm. Así el área sombreada y marcada L corresponde a 1 mm de cuadrado. La depresión central del cubreobjetos este dista de la superficie marcada de 0.1 milímetro, y el volumen comprendido entre la superficie L y el cubreobjetos es de 0.1 mm cubico, es decir 0.1 micro litro”.

Si contamos las cuatro áreas sombreadas (L) observando un total de x células entre las cuatro áreas, la concentración en la suspensión celular será; concentración en la suspensión (células/ml)=10000(x/4). Y a continuación se presenta el siguiente ejemplo. (Cañedo & Ames, 2004).

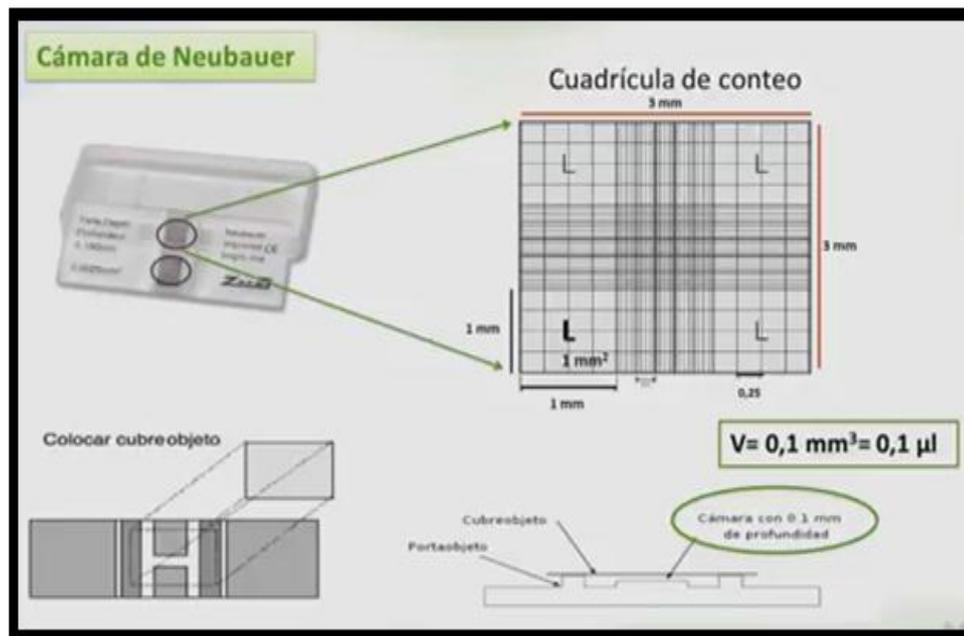


Ilustración 2. Partes de la cámara de Neubauer (Cardona et al., 2008).

2.6.1.4. Método microscópico mediante epifluorescencia

Es considerado como uno de los mejores métodos para la estimación de biomasa, la epifluorescencia es un agente fluorocromo a la adición de un anticuerpo marcado con fluorescencia (inmunofluorescencia) o a una autofluorescencia natural debido a la existencia de algún componente celular autofluorescente. (Cardona et al., 2008)

Según Henao, Comba, Alvarado, Santamaría, (2015) la epifluorescencia consiste en la tinción de las bacterias con un agente y posterior recuento mediante microscopía óptica con iluminación de epifluorescencia. Los sustratos fluorescentes o fluorocromos que se utilizan para observación directa de bacterias que se clasifican en dos grupos. Este método es simple y rápido y su reproducibilidad está cuestionada y necesita un equipamiento relativamente caro.

2.6.1.5. Método de siembra

El recuento de microorganismos viables se fundamenta en la capacidad de dichas células viables de desarrollar una colonia visible en un medio de cultivo apropiado. En los recuentos en placa por vertido, un volumen de 0.1 – 1ml de la

suspensión microbiología se mezcla con el medio de cultivo fundido y parcialmente enfriado en una caja petry (Socorro, G., Manzano, H., Flores, M. 2014).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se realizó en los laboratorios de análisis físico-químicos y microbiológicos de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Técnica del Norte.

3.1.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

Tabla 6. Ubicación del experimento

Provincia:	Imbabura
Cantón:	Ibarra
Lugar:	Unidades Edu-productivas, Universidad Técnica del Norte
Calles:	Ulpiano de la Torre y Obispo Jesús Yerovi (Colegio Universitario)
Altitud:	2220 msnm
Precipitación:	623 mm
Temperatura anual media:	18°C
Humedad relativa promedio:	73%

Fuente: (Centro de Monitoreo del Clima de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra PUCESI., 2016)

3.2. MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS

3.2.1. MATERIA PRIMA

- Compota de jícama

3.2.2. CEPAS

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Bifidobacterium bifidum*

3.2.3. EQUIPOS

- Congeladora
- Balanza analítica
- Autoclave
- Incubadora de anaerobios
- pH metro
- Microscopio
- Cámara de Neubauer

3.2.4. INSUMOS Y MATERIALES

- Medios de cultivo
- Reactivos
- Materiales de laboratorio

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se evaluó el crecimiento de bacterias probióticas en la compota de jícama, empleando como factores, tres estados de madurez: jícama en floración (6 meses), dos meses después de la floración (8 meses), seis meses después de la floración (12 meses) y tres concentraciones diferentes de pH (3,0; 3,5; 4,5) por lo cual se establecieron los niveles en el diseño experimental.

3.3.1. FACTORES Y NIVELES DE ESTUDIO

El estudio se realizó con los siguientes factores y niveles, a su vez con su respectivo testigo.

3.3.1.1. Factores y niveles en estudio

Factor A: Madurez

Niveles:

M1: Compota elaborada con jícama de (6 meses) en floración

M2: Compota elaborada con jícama de (8 meses) dos meses después de la floración.

M3: Compota elaborada con jícama de (12 meses) seis meses después de la floración.

Factor B: pH

Niveles:

pH1: 3,0

pH2: 3,5

pH3: 4,5

Testigo: Compota de plátano

3.3.2. TRATAMIENTOS

Para lo cual, se inoculó las bacterias en los medios de cultivo formuladas de acuerdo a los factores y niveles de estudio, como se indica en las tablas 7 y 8.

Tabla 7. Combinación factorial para evaluar el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en la compota de jícama.

<i>Lactobacillus acidophilus</i>		
Tratamientos	Combinaciones	Especificaciones
T1	A1B1	Compota de jícama (maduración 1) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 3
T2	A1B2	Compota de jícama (maduración 1) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 3,5

T3	A1B3	Compota de jícama (maduración 1) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 4,5
T4	A2B1	Compota de jícama (maduración 2) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 3
T5	A2B2	Compota de jícama (maduración 2)+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 3,5
T6	A2B3	Compota de jícama (maduración 2)+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 4,5
T7	A3B1	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 3
T8	A3B2	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 3,5
T9	A3B3	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> pH 4,5

Tabla 8. Combinación factorial para evaluar el crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* en la compota de jícama

<i>Bifidobacterium bifidum</i>		
Tratamientos	Combinaciones	Especificaciones
T1	A1B1	Compota de jícama (madurez 2) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 3
T2	A1B2	Compota de jícama (madurez 2) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 3,5
T3	A1B3	Compota de jícama (madurez 2) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 4,5
T4	A2B1	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 3

T5	A2B2	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 3,5
T6	A2B3	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 4,5
T7	A3B1	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 3
T8	A3B2	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 3,5
T9	A3B3	Compota de jícama (madurez 3) + <i>Bifidobacterium bifidum</i> pH 4,5

3.3.3. MODELO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con arreglo factorial (AxB)+1, en el cual se evaluaron 9 tratamientos y 3 repeticiones; donde A1, A2 y A3 son los estados de madurez de la jícama; B1, B2, B3 son los diferentes pH semejando al del estómago humano, frente a un testigo para cada una de las bacterias: *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*.

3.3.3.1. Características del experimento

Número de tratamientos: 9

Número unidades experimentales: 27

3.3.3.2. Características de la unidad experimental

Para la unidad experimental se utilizaron muestras de 100 g de compota elaborada con jícama, obteniendo un total de 2700 g.

3.3.3.3. Análisis estadístico

Tabla 9. Esquema del ADEVA (Análisis de varianza)

F de V	GL
Total	27
Tratamientos	8
A	2
B	2
AxB	2
Testigo vs otros	1
Error experimental	19

3.4. Variables evaluadas

- Recuento de microorganismos
- Curvas de crecimiento
- Determinación de biomasa.

3.5. MÉTODOS

En el experimento se utilizó tres compotas elaboradas cada una con jícama en diferente estado de madurez, en las cuales previamente se caracterizó las propiedades fisicoquímicas fibra, grasa, pH, cenizas, carbohidratos totales, actividad antioxidante, sólidos solubles, humedad, azúcares reductores y totales, acidez e inulina. A cada una se ajustó a diferentes pH y se inoculó bacterias probióticas a los niveles preestablecidos para la experimentación.

3.5.1. MADUREZ FISIOLÓGICA

La madurez fisiológica se determinó mediante la evaluación del contenido de sólidos totales (ST) y el pH con la finalidad de identificar el estado de madurez de la jícama en el cual se presentan las mejores propiedades prebióticas para el crecimiento de bacterias probióticas.

3.5.1.1. Toma de muestras

Se tomó una muestra al azar de 10 jícamas (*Smallanthus sonchifolius*) libres de defectos, plagas o enfermedades que pudieran afectar al tubérculo, de distintos lugares del lote seleccionado y se evaluó sólidos totales y pH

3.5.2. ELABORACIÓN DE LA COMPOTA DE JÍCAMA

Recepción: Las jícamas tuvieron un control de la procedencia.

Selección: En la selección se procedió a descartar aquellos que en su estructura presentaron imperfecciones como: golpes, cortes, plagas o jícamas con cierto grado de fermentación.

Lavado: Su finalidad fue eliminar impurezas de la corteza del tubérculo, tales como: barro, insectos, entre otros.

Desinfección: Se preparó la mezcla de 10% hipoclorito de sodio y agua, y se desinfectó la jícama para garantizar la eliminación de la flora bacteriana patógena, que pueda alterar la calidad del producto final.

Control de calidad: Se realizó análisis de sólidos totales y pH a las jícamas en los tres estados de madurez.

Escaldado: Se utilizó la técnica del blanqueado descrito por Pérez, (2011). Que consistió en someter a la jícama a tratamiento térmico por 5 min a 80 °C.

Pelado: Esta operación se realizó por el método de pelado manual y se sumergió en una solución de ácido cítrico con agua para evitar el pardeamiento.

Licuada: La pulpa del tubérculo se obtiene por medio de licuado y se le agrega una solución de ácido ascórbico con agua destilada para facilitar su licuado e impedir su pardeamiento.

Cocción: Esta operación garantizó la conservación de las características de la compota. El tiempo de cocción dependió de la concentración.

Adición de aditivos: Se añadió aditivos restringiéndose a la normativa NTE INEN 2 337: 2008. La cantidad suficiente para elevar la acidez mínima es 0,5 en

alimentos como ácido cítrico y el pH será inferior a 4,5 determinados según la norma (NTE INEN 389)

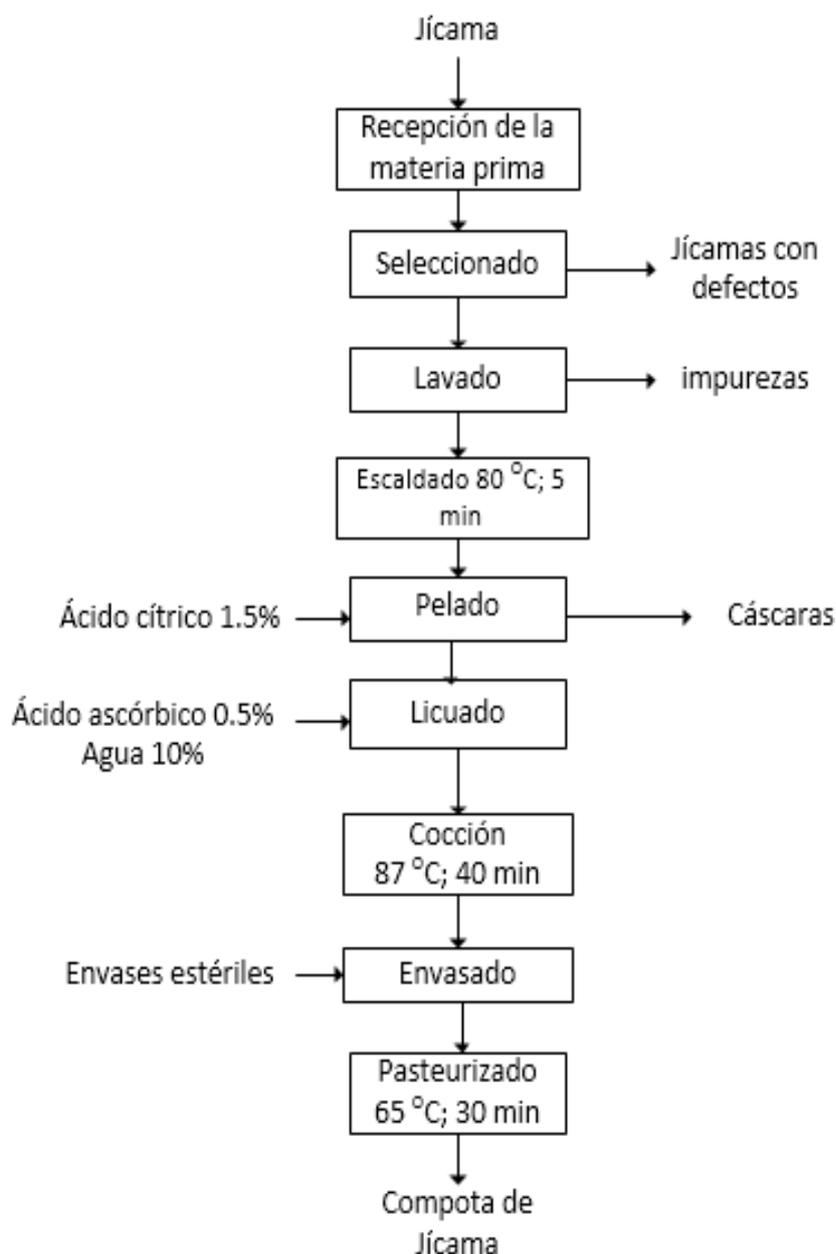
Envasado: El envase se llenó a una temperatura de 85 °C, dejando un vacío para que sea adecuado, los frascos previamente fueron lavados y esterilizados. Seguidamente se realizó el exhausting.

Enfriado: En este proceso se utilizó el método de circulación de agua referido según Hardenburg, (2010) para inhibir crecimiento bacteriano.

Tabla 10. Formulación de la compota de jícama

Puré de jícama	83%
Agua destilada	15%
Ácido cítrico	1,5%
Ácido ascórbico	0,5 %

3.5.2.1. Diagrama de flujo de la elaboración de la compota



3.5.3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LA COMPOTA DE JÍCAMA

Se realizó los siguientes análisis a la materia prima compota elaborada con jícama a cada una de las edades; en floración (6 meses), dos meses después de la floración (8 meses), seis meses después de la floración (12 meses):

3.5.3.1. Determinación de humedad

La determinación de humedad se realizó aplicando el método AOAC 925. 10 con la finalidad de determinar la cantidad de agua que posee la jícama utilizando una estufa de secado.

3.5.3.2. Determinación de sólidos totales

Se utilizó un refractómetro, equipo que sirve para medir con precisión el índice de refracción y se aplicó el método AOAC 932.14C.

3.5.3.3. Determinación de contenido de grasa, proteína y fibra cruda, inulina

Se realizó la extracción total de la materia grasa por hidrólisis ácida- SOXHLET mediante el método AOAC 920. 85, además se determinó la fibra cruda mediante el método de gravimetría AOAC 932. 14 C y la cantidad de inulina mediante cromatografía de gas capilar.

3.5.3.4. Medición pH y actividad antioxidante

Para la medición del pH se utilizó el método AOAC 981. 12, mientras que para la actividad antioxidante se determinó con el método de reducción de la absorbancia, la capacidad de los antioxidantes en la muestra para proteger la proteína del daño oxidativo.

3.5.3.5. Determinación de azúcares reductores y totales

Se utilizó el método que se basa en el procedimiento de Lane-Eynon, se realizó mediante la reducción del cobre por monosacáridos reductores.

3.5.3.6. Análisis microbiológicos

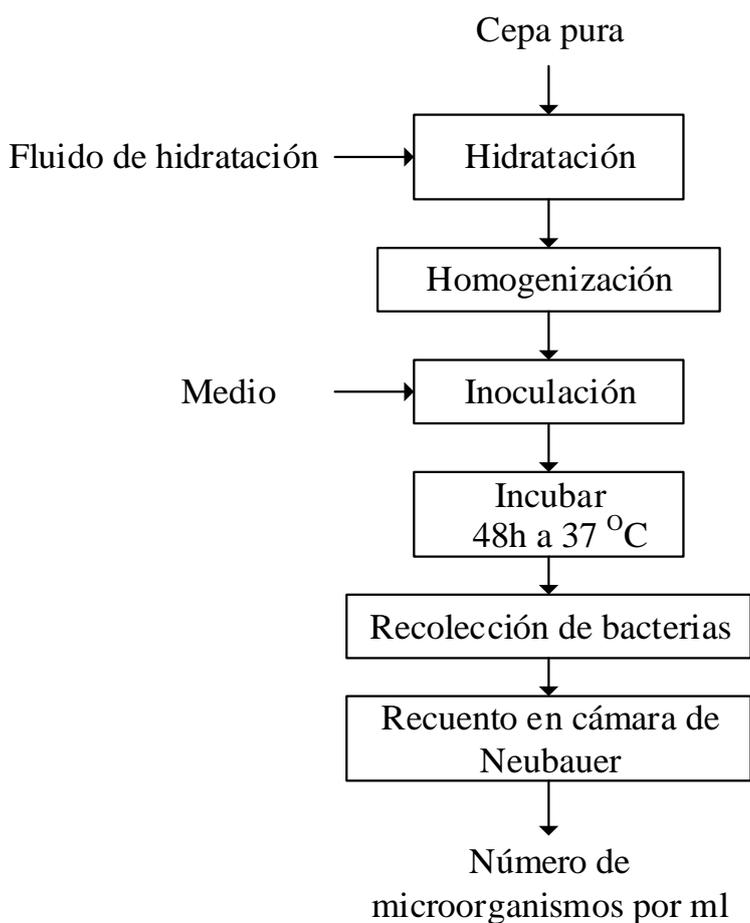
Se realizaron análisis de recuento en placa mediante el método AOAC 989.10, y para mohos y levaduras AOAC 997.02 a cada una de las compotas.

3.5.4. SUPERVIVENCIA DE BACTERIAS *Lactobacillus acidophilus* Y *Bifidobacterium bifidum* EN COMPOTA DE JÍCAMA

La supervivencia de las bacterias probióticas se determinó mediante el método de cultivo en placa, realizando cultivos de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 y *Bifidobacterium bifidum* ATCC 11863 en las compotas elaboradas previamente y se tomó muestras cada 24 horas hasta las 130 horas para medir la población microbiana.

3.5.4.1. Revitalización de bacterias

Para la activación de las bacterias se aplicó el método sugerido en la ficha técnica para cada cepa: *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, según el siguiente proceso.



Procedimiento:

El sobre (KWIK-STIK) que contiene la cepa pura se adapta a la temperatura ambiente, posteriormente se cortó y abrió el mismo



Fotografía 2. Sacar la cepa del contenedor

Abrir el sobre en la parte superior donde se encuentre la etiqueta y añadir a la placa de cultivo primario o registro de control de calidad. Tomar precaución de no desmontar el dispositivo para impedir contaminación.



Fotografía 3. Etiquetado de las cajas petry

Presionar en la parte superior del contenedor de la cepa (Kwik-stik) para liberar el fluido hidratante.



Fotografía 4. Liberación del fluido hidratante



Fotografía 5. Facilitar el flujo del fluido al pellet en posición vertical

Permitir que el fluido se deslice a la parte inferior para que se hidrate el sedimento y homogenizar.



Fotografía 6. Homogenización del líquido hidratante con el pellet

El hisopo con el material hidratado se trasladó al medio de cultivo.

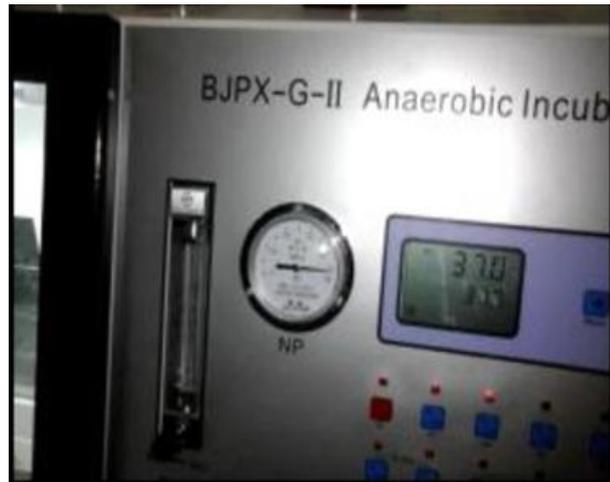
Con el hisopo se inoculó en la placa de cultivo primario en forma de estría para facilitar el aislamiento de colonias.

Teniendo cuidado al eliminar (KWIK-STIK) contenedor de la cepa para impedir el riesgo de contaminación biológico.



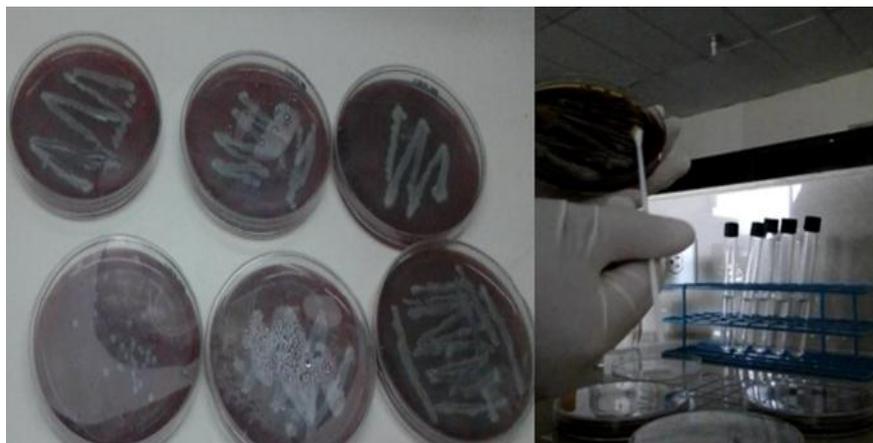
Fotografía 7. Siembra en forma de estría

Se incubó las placas primarias inoculadas a temperatura de 37°C por un tiempo de 48 horas para *Lactobacillus acidophilus* y de 48 a 72 horas para *Bifidobacterium bifidum*.



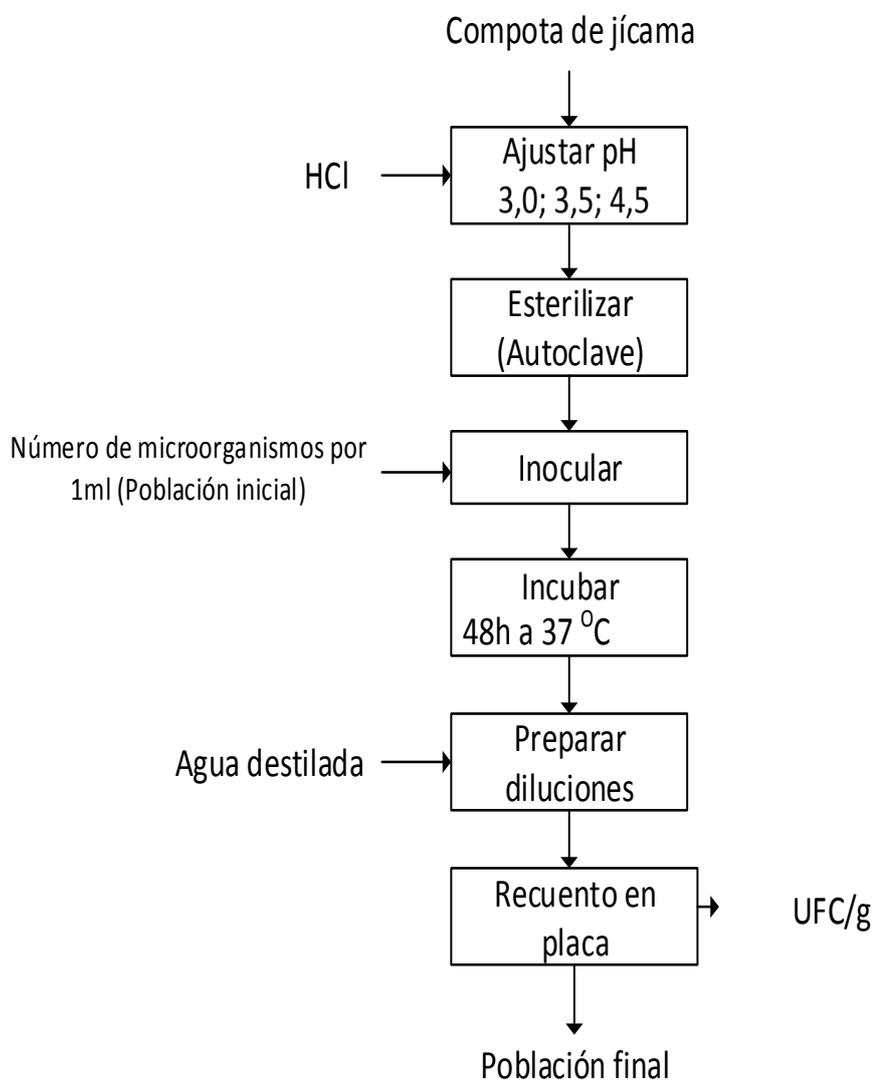
Fotografía 8. Incubación

Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la recolección de bacterias.



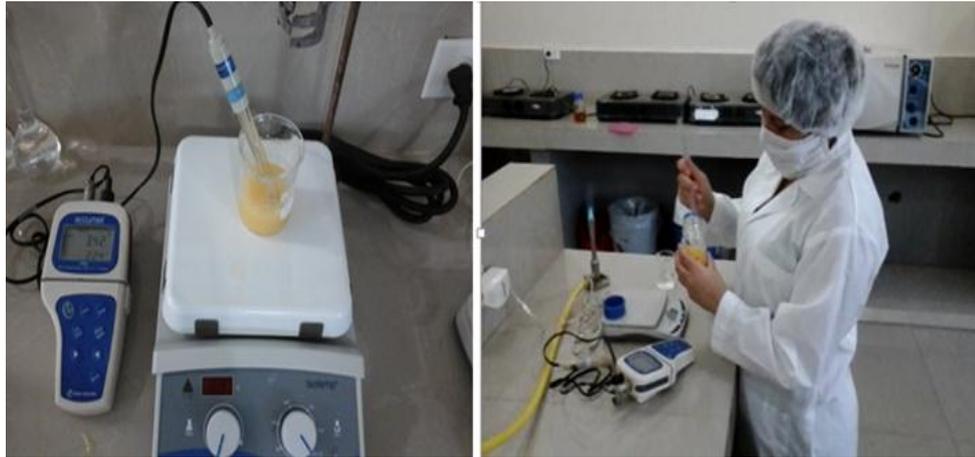
Fotografía 9. Recolección de bacterias benéficas

3.5.4.2. Cultivo de bacterias en la compota de jícama



Procedimiento:

Se ajustó el pH de la compota con ácido clorhídrico hasta 3,0; 3,5; 4,5 definidos para la evaluación de la supervivencia de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*.



Fotografía 10. Ajustando los pH.

Se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121 °C a una atmosfera de presión para eliminar posibles microorganismos contaminantes.



Fotografía 11. Esterilización de las compotas

Compota de jícama fue inoculada 1 ml de microorganismos equivalente a $5,50 \times 10^6$ ufc para *Bifidobacterium bifidum* y $6,0 \times 10^6$ ufc para *Lactobacillus acidophilus* mediante la técnica de sembrado por vertido.



Fotografía 12. Inoculación de microorganismos

Se incubó cada uno de los tratamientos, a una temperatura de 37 °C en la cámara de anaerobios



Fotografía 13. Incubación de los tratamientos

Una vez terminado el tiempo respectivo 24, 48, 72, 96, 130 horas de incubación, se procedió a sacar los frascos que contienen los tratamientos, con el crecimiento de los microorganismos probióticos.



Fotografía 14. Compota con microorganismos benéficos

Tomando 10 g de cada tratamiento y diluyendo a 100 ml, se realizó la primera dilución de 10^{-1} , la cual se agita por 30 segundos para homogenizar y a partir de esta se traspasa 1 ml al tubo de 9 ml de agua destilada y se obtuvo dilución de 10^{-2} así secuencialmente hasta dilución 10^{-5} , luego se realizó la siembra de cada una de las diluciones en cajas petry con medio selectivo y se incubó para realizar recuento en placa de los microorganismos probióticos.



Fotografía 15. Preparación de diluciones

Con los datos obtenidos se grafican curvas de crecimiento de las bacterias en estudio para cada tratamiento.

3.5.4.3. Determinación de biomasa de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* mediante la cámara de Neubauer

Se utilizó cultivos de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 y *Bifidobacterium bifidum* ATCC 11863 (Bacterias probióticas), las cuales se inocularon en compota de jícama previamente elaborada tomando en cuenta los estados de madurez y pH diferentes; a las 72 horas, donde se logra el mayor crecimiento se tomaron muestras y se realizaron diluciones hasta llegar a 10^{-4} , de ésta dilución se tomaron 10 ul y se realizó el recuento en cámara de Neubauer para posteriormente determinar la biomasa de cada cepa mediante el cálculo correspondiente aplicando la siguiente fórmula de determinación de biomasa.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} \times 10.000}{\text{número de cuadros} \times \text{dilución}}$$

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. MADUREZ FISIOLÓGICA DE LA JÍCAMA

Para establecer la madurez fisiológica de la jícama se analizó la cantidad de sólidos solubles y el pH de los tubérculos de jícama en estados de madurez diferentes. (Tabla 11).

Tabla 11. Análisis de la jícama con tres estados de madurez.

Madurez de la Jícama	pH	°Brix
6 Meses(En floración)	6,06	10
8 Meses(Dos meses luego de la floración)	6,25	11,13
12 Meses(Seis meses luego de la floración)	6,99	12

El Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, (2003) establece que la madurez de la jícama a los 8 meses de cosecha, es la que presenta mayor cantidad de fructooligosacáridos (FOS) y un porcentaje de 11,88 sólidos solubles (°Brix), por lo que se encuentra en condiciones para ser utilizada ya sea en la agroindustria o para consumo directo. Con respecto al pH la jícama de seis meses presenta el pH más bajo y la de doce meses el más alto, sin embargo la jícama de ocho meses tiene un pH de 6,25 que permite mantener la jícama en condiciones adecuadas para su utilización.

Según Seminario et al., (2003) afirma que las propiedades cambian según la variedad y lugar de cultivo. En Cajamarca, la cosecha se realiza entre los 7.5 y 12 meses después de la siembra, también adiciona que a la edad de; 6 meses (en

floración) tiene 6,43 de pH, 8 meses (dos meses después de la floración) tiene 6,61 de pH y la de 12 meses (seis meses después de la floración) tiene 6,60 de pH; lo que concuerda con los datos de la tabla 11.

4.2. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA COMPOTA DE JÍCAMA

Tras realizar los análisis de la compota de jícama en tres estados de madurez se tienen los siguientes resultados.

Tabla 12. Análisis fisicoquímicos de la compota de jícama.

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados			Método de ensayo
		M1	M2	M3	
Humedad	g/100g	75,15	75,45	74,57	AOAC 925.10
Azúcares Reductores Libres	g/100g	5,78	6,92	9,01	AOAC 932.14C
°Brix	—	24	24	24	AOAC 932.14C
pH	—	4,5	4,5	4,5	AOAC 981.12
Proteína Bruta	g/100g	3,40	3,49	4,0	AOAC 920.87
Extracto Etéreo	g/100g	2,70	3,20	2,72	AOAC 920.85
Cenizas	g/100g	1,0	0,77	1,18	AOAC 923.03
Fibra Bruta	g/100g	0,95	0,60	0,96	AOAC 932.14C
Carbohidratos totales	g/100g	17,40	17,10	17,53	Cálculo
Calorías	Kcal/100g	110,06	111,14	110,60	Cálculo
Actividad antioxidante	uMTrolox/g	30,03	27,25	24,07	DPPH
Acidez	mg/100g	0,89	0,89	0,89	AOAC 954.07
Inulina	%	1,58	2,57	1,85	HPLC

M1: Compota elaborada con jícama de (6 meses) en floración.

M2: Compota elaborada con jícama de (8 meses) dos meses después de la floración.

M3: Compota elaborada con jícama de (12 meses) seis meses después de la floración.

En la tabla 12 se observa los resultados de los análisis fisicoquímicos en los tres estados de madurez: 6 meses, 8 meses, 12 meses, de los cuales se hace más énfasis en el porcentaje de inulina ya que son condicionantes para el crecimiento de los *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*.

Según Álvarez et al., (2014) deduce que: “La inulina es un prebiótico de alto peso molecular, es de larga cadena y además índice en el crecimiento de las bifidobacterias y Lactobacilos”. En la investigación la compota elaborada con jícama de ocho meses contiene 2,57 % de inulina mientras que la de 12 meses presenta 1,85 % de inulina y 1,58 % a los 6 meses.

Según Aguavil, (2012) Las bacterias probióticas carecen de la habilidad de sobrevivir a condiciones extremas de acidez y a concentraciones de sales biliares encontradas en el tracto gastrointestinal, sin embargo la acidez en la compota de jícama es baja y aun así se evidencia crecimiento de microorganismos benéficos.

A la edad de 8 meses los carbohidratos disminuyen y el porcentaje de inulina se incrementa por lo que se concuerda con Arnao et al., (2011) mencionando que: Un alimento funcional presenta menor cantidad de carbohidratos y mayor cantidad de fructoligosacáridos, los mismos que contiene inulina.

Tabla 13. Análisis microbiológicos de compota de jícama en tres estados de madurez

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado			Método de ensayo	INEN	
		6 meses	8 meses	12 meses		m	c
Recuento estándar en placa	UFC/g	110	<10	130	AOAC 989	1	<10
Recuento de mohos	UPM/g	<10	<10	<10	AOAC 997.02	1	<10
Recuento de Levaduras	UPL/g	<10	<10	<10		1	<10

m: Nivel de aceptación

c: Número de unidades permitidas

Según la Norma NTE INEN 2 337 2008 (Jugos, pulpas concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales) el producto debe cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en recuento total como nivel de aceptación <10 y como número mínimo de unidades analizadas 1. Concordando con los resultados obtenidos en la investigación, la compota de ocho meses cumple con los parámetros permitidos para recuento total, mohos y levaduras presentando valores menores a diez.

4.3. SUPERVIVENCIA DE *Lactobacillus acidophilus*

Para evaluar la supervivencia del *Lactobacillus acidophilus* se cultivaron las bacterias, utilizando como medio las compotas elaboradas con jícama en tres estados de madurez (en floración 6 meses, dos meses después de la floración 8 meses, seis meses después de la floración 12 meses) a tres pH de 3,0; 3,5; 4,5.

Tabla 14. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en compota de jícama en un tiempo de 130 horas

Tratamientos	Repeticiones			Sumatoria	Media	Log ufc/ml
	I	II	III			
T1	1,87 x 10 ⁷	1,67 x10 ⁷	1,67 x10 ⁷	5,51 x10 ⁷	1,84 x 10 ⁷	7,26
T2	2,20 x10 ⁷	2,50 x10 ⁷	2,65x10 ⁷	7,35x10 ⁷	2,45 x 10 ⁷	7,39
T3	2,90 x10 ⁷	3,00 x10 ⁷	3,26x10 ⁷	9,16 x10 ⁷	3,05 x 10 ⁷	7,48
T4	6,40 x10 ⁷	6,35 x10 ⁷	6,35x10 ⁷	1,91 x10 ⁸	6,37 x 10 ⁷	7,80
T5	7,60x10 ⁷	7,45 x10 ⁷	7,15x10 ⁷	2,22 x10 ⁸	7,40 x 10 ⁷	7,87
T6	8,68 x10 ⁷	8,79 x10 ⁷	8,68 x10 ⁷	2,61 x10 ⁸	8,72 x 10 ⁷	7,94
T7	3,99 x10 ⁷	3,89 x10 ⁷	3,88 x10 ⁷	1,18x10 ⁷	3,92 x 10 ⁷	7,59
T8	4,85 x10 ⁷	4,83 x10 ⁷	4,83x10 ⁷	1,45 x10 ⁸	4,84 x 10 ⁷	7,68
T9	5,50 x 10 ⁷	5,45x10 ⁷	5,42x10 ⁷	1,64 x10 ⁸	5,46 x 10 ⁷	7,74
Testigo	1,20 x10 ⁷	1,21 x10 ⁷	1,22 x10 ⁷	3,63 x10 ⁷	1,21 x 10 ⁷	7,08
Sumatoria	3,49 x 10 ⁸	3,52 x10 ⁸	3,63 x10 ⁸	1,06 x10 ⁸	3,55 x 10 ⁷	8,60

Tabla 15. Análisis de varianza para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* a pH y madurez diferente en un tiempo de 130 horas

F.V.	G.L	S.C	C.M	F.Cal.	Signif.	F.T 5%	F.T 1%
Total	29	1,66 x10 ¹⁶					
Tratamientos	9	1,66 x10 ¹⁶	1,84 x10 ¹⁵	1,06 x10 ³	**	2,39	3,46
F A	2	2,63 x10 ¹⁶	1,31x10 ¹⁶	7,59x10 ³	**	3,49	5,85
F B	2	6,38 x10 ¹⁴	6,38x10 ¹⁴	3,69 x10 ²	**	3,49	5,85
(A x B)	4	2,10 x10 ¹⁶	5,24 x10 ¹⁵	3,03 x10 ³	**	2,87	4,43
factores vs testigo	1	2,93 x10 ³²	2,93x10 ³²	1,69 x10 ²⁰	**	4,35	8,10
Error	20	3,46x10 ¹³	1,73 x10 ¹²				

A: Madurez

B: pH

CV: 2,9079%

NS: No significativo ni al 1% ni al 5% de error para la prueba de Fisher

*: Significativo al 5% de error para la prueba de Fisher

** : Significativo al 1% de error para la prueba Fisher

De acuerdo a la tabla 14, el análisis de varianza muestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos con un error del 1%, es decir la madurez y el pH influyeron en el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*.

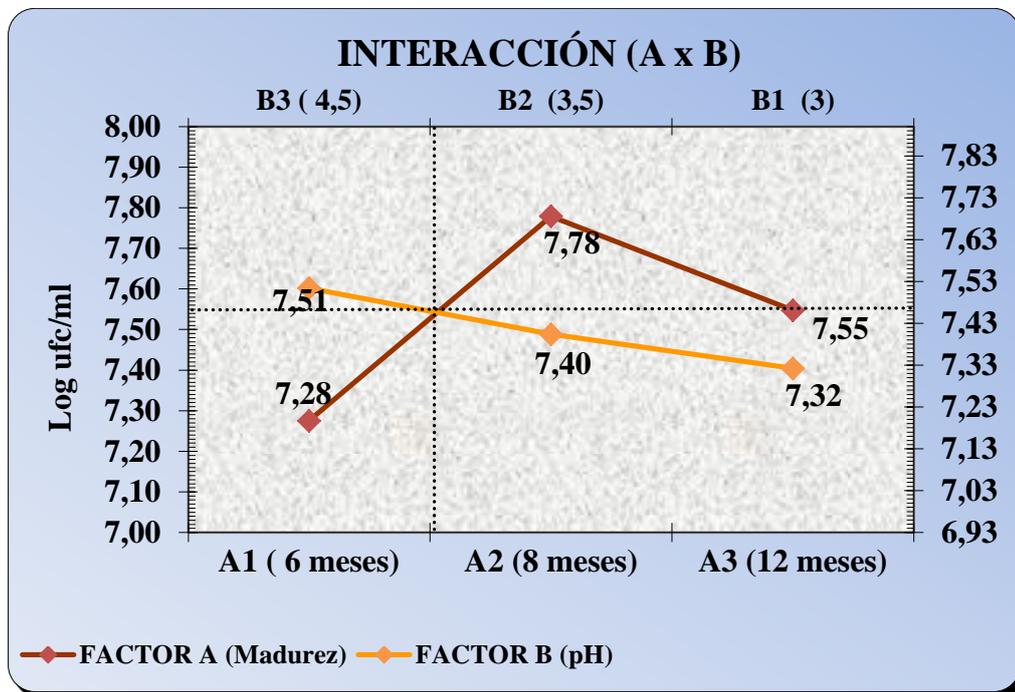


Gráfico 1. Interacción de los factores (A x B) madurez y pH en la variable recuento de *Lactobacillus acidophilus*.

Al realizar la gráfica de interacción de la variable recuento de microorganismos, se observa interacción entre los factores madurez y pH, se observa que actúan conjuntamente lo que indica que la composta de 8 meses de madurez a un pH de 4,5 es un medio óptimo para el crecimiento y sobrevivencia de las mismas. Concordando con la deducción de Bamforth, (2007) quien establece que el pH de 6,4- 4,5 es óptimo para el crecimiento de los *Lactobacillus acidophilus* en un medio selectivo.

De la gráfica de la interacción se deduce que estos factores influyen sobre el crecimiento de los microorganismos, con un error del 1 %. Por lo que se efectuó la prueba de Tukey para tratamientos y diferencia significativa para factores.

Tabla 16. Pruebas de Tukey de significancia para tratamientos y testigo

RANGOS			
TRAT.	COMBINACIONES	MEDIAS	RANGOS
T6	A2B3	$8,72 \times 10^7$	A
T5	A2B2	$7,40 \times 10^7$	B
T4	A2B1	$6,37 \times 10^7$	C
T9	A3B3	$5,46 \times 10^7$	D
T8	A3B2	$4,84 \times 10^7$	E
T7	A3B1	$3,92 \times 10^7$	F
T3	A1B3	$3,05 \times 10^7$	G
T2	A1B2	$2,45 \times 10^7$	H
T1	A1B1	$1,84 \times 10^7$	I
TESTIGO		$1,21 \times 10^7$	J

Después de haber realizado los cálculos de la prueba de Tukey se determinó que el tratamiento T6 (compota elaborada con jícama de 8 meses a un pH de 4,5) tiene el mayor crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*, con un valor de $8,72 \times 10^7$ ufc/ml por lo que se comprueba que la madurez y el pH influyen en el crecimiento de bacterias probióticas.

Tabla 17. Prueba de significación. Diferencia mínima significativa para el factor madurez de cosecha.

RANGOS		
NIVEL	MEDIAS	RANGO
A2	$7,49 \times 10^7$	A
A3	$4,74 \times 10^7$	B
A1	$2,45 \times 10^7$	C

Los rangos son diferentes para cada factor (Madurez con la que se realizó la compota de jícama), lo que indica que hay diferencia estadística entre ellos.

Espinoza, Sorensen et al., (2000) deducen que: “La madurez óptima es de 7 a 8 meses” sin embargo, en la investigación la mejor madurez es A2 (madurez de 8 meses) con la que se realizó la compota debido a que esta contiene 2,57% de inulina por ello, hay mayor crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ufc/ml con un valor de $7,49 \times 10^7$ ufc/ml.

Tabla 18. Prueba de significación. Diferencia mínima significativa para el factor pH.

RANGOS		
NIVEL	MEDIAS	RANGO
B3	$3,92 \times 10^7$	A
B2	$3,28 \times 10^7$	B
B1	$2,73 \times 10^7$	C

Los rangos son diferentes para cada factor (pH de la compota), lo que indica que hay diferencia entre ellos. Según FAO, (2011); Los *Lactobacillus* crecen a un medio ligeramente ácido con un pH de 6,4 – 4,5; Por ello el nivel B3 que corresponde al factor pH de 4,5 con una media de $3,92 \times 10^7$ ufc presenta mayor crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*. Sin embargo en el pH de 3 se evidencia crecimiento a pesar de ser un pH bajo. Según Lara & Burgos (2012) “Los *Lactobacillus acidophilus* muestran tolerancia a las condiciones del tracto gastrointestinal como crecimiento a pH 3, concentración de sales biliares”.

4.3.1. CURVAS DE CRECIMIENTO DE *Lactobacillus acidophilus*

En la figura 1 se puede observar que los mejores tratamientos son: T6 (madurez de 8 meses de cosecha y pH de 4,5), debido a que evidencia un mayor crecimiento con $8,72 \times 10^7$ ufc/ml durante un tiempo de 72 horas, seguido por T5 (madurez de 8 meses de cosecha y pH de 3,5) con $7,40 \times 10^7$ ufc/ml, T4 (madurez de 8 meses de cosecha de pH 3,0) con $6,37 \times 10^7$ ufc/ml, T9 (madurez 12 meses de cosecha a un pH de 4,5) con $5,46 \times 10^7$ ufc/ml, T8 (madurez de 12 meses de cosecha a un pH de 3,5) con $4,84 \times 10^7$ ufc/ml, T7 (madurez de 12 meses de cosecha a un pH de 3,0) con $3,92 \times 10^7$ ufc/ml, T3 (madurez de 6 meses de

cosecha a un pH de 4,5) con $3,05 \times 10^7$ ufc/ml, T2 (madurez de 6 meses de cosecha a un pH de 3,5) con $2,45 \times 10^7$ ufc/ml, y T1 (madurez de 6 meses de cosecha a un pH de 3,0) con $1,84 \times 10^7$ ufc/ml es el que presenta un mínimo crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*.

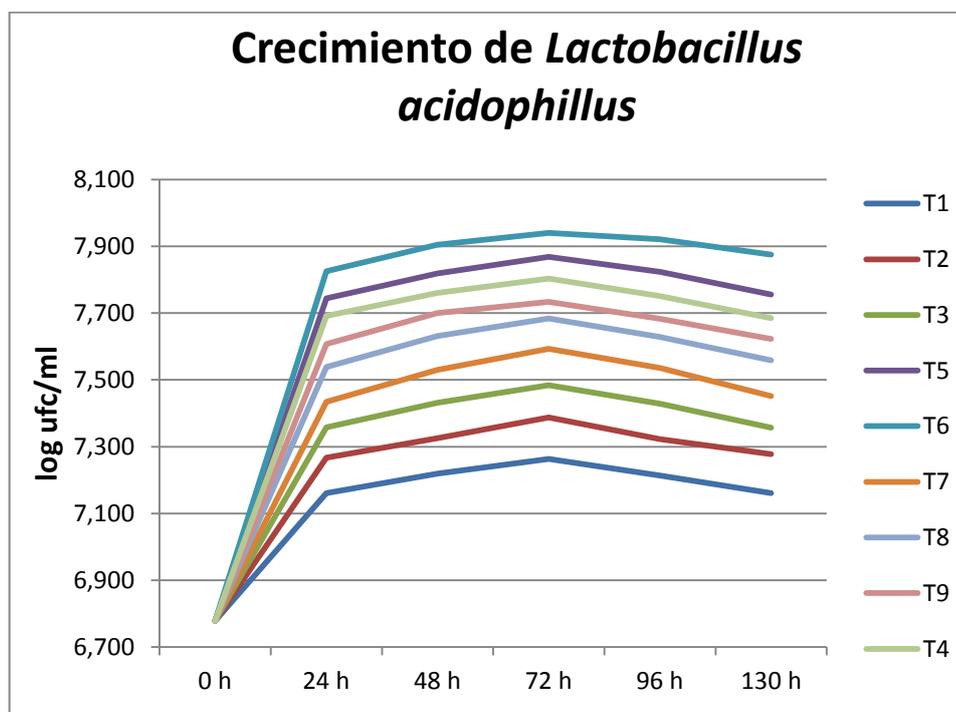


Gráfico 2. Curva de crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en un medio de compota de jícama a pH: 3, 3.5, 4.5 y estados de madurez de cosecha: 6 meses, 8 meses, 12 meses.

Según Melgar et al., (2014); Los *Lactobacillus* sin importar su origen sean cepas aisladas o cepas comerciales, son capaces de sobrevivir en las condiciones más estresantes de pH 2 y de pH 9 que normalmente se encuentran en el interior del tracto. Los tratamientos que mejor se asemejan a las condiciones del tracto digestivo son T1 (compota de jícama a una madurez de seis meses con un pH de 3,0), T4 (compota de jícama a una madurez de 8 meses con un pH de 3,0) y T7 (compota de jícama a una madurez de 12 meses a un pH de 3,0), la misma que a pesar de ser un pH de 3,0 presenta sobrevivencia y crecimiento de bacterias benéficas.

Según FAO, (2007); La jícama *Smallanthus sonchifolius* almacenan carbohidratos en forma de inulina, además los azúcares que contiene la jícama

están almacenados en forma de polímero de la fructosa o levulosa: un “azúcar” con características especiales por lo tanto, la compota de jícama elaborada de acuerdo a los parámetros de la Norma Inen 2337 con tres edades distintas de cosecha cumple con éstas, influyendo en el crecimiento de bacterias benéficas como *Lactobacillus acidophilus*, siendo el mejor estado de madurez a los 8 meses en el cual, se observa mayor crecimiento, como consecuencia del mayor porcentaje de inulina que contiene respecto a las otras edades de seis y doce meses.

La capacidad de supervivencia llega hasta las 72 horas debido al contenido de inulina de las compotas de jícama.

4.3.1.1. Tiempo de supervivencia del mejor tratamiento

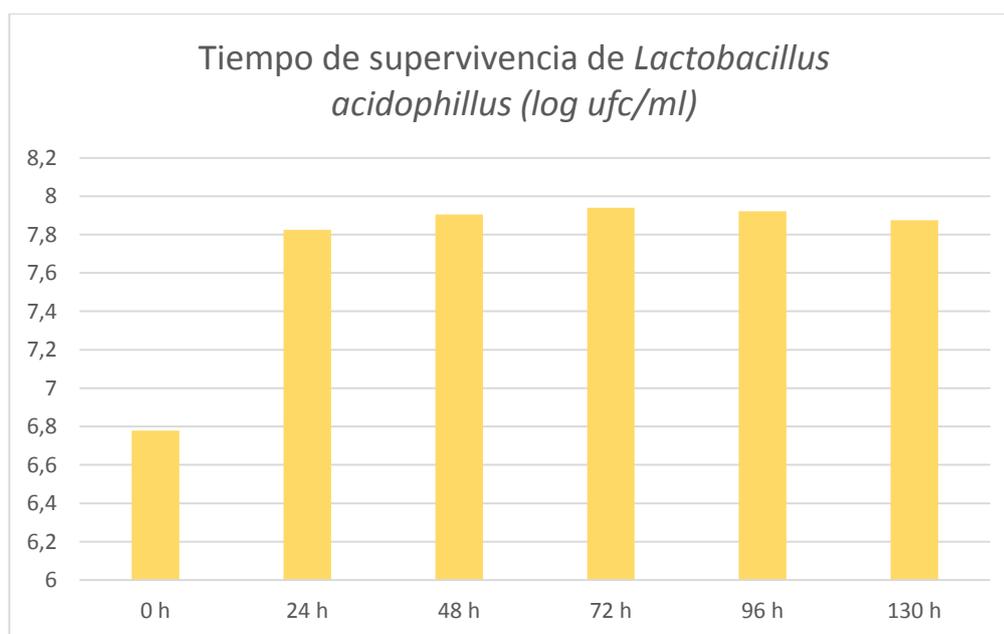


Gráfico 3. Tiempo de supervivencia del mejor tratamiento

El gráfico representa el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en tiempos de 24, 48, 72, 96, 130 horas del mejor tratamiento T6 (compota elaborada con jícama de 8 meses a un pH de 4,5), observando un mayor crecimiento a las 72 horas, tiempo en el cual las bacterias probióticas sobreviven notablemente con un valor de $8,72 \times 10^7$ ufc/ml.

Bamforth (2007), menciona que las bacterias *Lactobacillus acidophilus* son más fáciles de cultivar, ligeramente más voluminoso y se implanta con facilidad en el intestino, lo cual es muy beneficioso para la salud a diferencia de otras cepas y resiste a condiciones de estrés, de tal forma que en la presente investigación se comprueba su crecimiento llegando a las 72 horas de supervivencia.

4.4. SUPERVIVENCIA DE *Bifidobacterium bifidum* EN 130 HORAS

Para evaluar el crecimiento de las *Bifidobacterium bifidum* se cultivaron las bacterias, utilizando como medio compota elaborada con jícama a tres estados de madurez (en floración 6 meses, dos meses después de la floración 8 meses, seis meses después de la floración 12 meses) a tres pH distintos, obteniendo los resultados que se observa en la siguientes tabla.

Tabla 19. Datos para evaluar el crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* en la compota de jícama

Tratamientos	Repeticiones			Sumatoria	Media	Log ufc/ml
	I	II	III			
T1	1,73 x 10 ⁷	1,72 x 10 ⁷	1,75 x 10 ⁷	5,20 x 10 ⁷	1,73 x 10 ⁷	7,24
T2	1,97x10 ⁷	1,90 x 10 ⁷	2,06 x 10 ⁷	5,93 x 10 ⁷	1,98 x 10 ⁷	7,30
T3	2,18 x 10 ⁷	2,22 x 10 ⁷	2,25 x 10 ⁷	6,65 x 10 ⁷	2,22 x 10 ⁷	7,35
T4	4,05 x 10 ⁷	4,10 x 10 ⁷	4,15 x 10 ⁷	1,18 x 10 ⁸	3,92 x 10 ⁷	7,59
T5	4,50 x 10 ⁷	4,70 x 10 ⁷	4,98 x 10 ⁷	1,42 x 10 ⁸	4,73 x 10 ⁷	7,67
T6	5,26 x 10 ⁷	5,28 x 10 ⁷	5,33 x 10 ⁷	1,59 x 10 ⁸	5,29x 10 ⁷	7,72
T7	2,56 x 10 ⁷	2,56 x 10 ⁷	2,56 x 10 ⁷	7,68 x 10 ⁷	2,56 x 10 ⁷	7,41
T8	3,15 x 10 ⁷	3,12 x 10 ⁷	3,13 x 10 ⁷	9,40 x 10 ⁷	3,13 x 10 ⁷	7,50
T9	3,45 x 10 ⁷	3,46 x 10 ⁷	3,48 x 10 ⁷	1,04 x 10 ⁸	3,46 x 10 ⁷	7,54
Testigo	1,23x 10 ⁷	1,24 x 10 ⁷	1,22 x 10 ⁷	3,69x10 ⁷	1,23x 10 ⁷	7,09
Sumatoria	2,38 x 10 ⁸	2,38 x 10 ⁸	2,43 x 10 ⁸	9,07 x 10 ⁸	3,02 x 10 ⁷	7,48

Tabla 20. Análisis de varianza del crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* a tres estados de madurez y 3 niveles de pH diferente a las 130 horas

F.V.	G.L	S.C	C.M	F.Cal.	Signif.	F.T 5%	F.T 1%
Total	29	4,89 x10 ¹⁵					
Tratamientos	9	4,87 x10 ¹⁵	5,42 x10 ¹⁴	5,20 x10 ²	**	2,39	3,46
Maduración	2	1,01 x10 ¹⁶	5,03 x10 ¹⁵	5,08 x10 ³	**	3,49	5,85
pH	2	1,40 x10 ¹⁴	7,01 x10 ¹³	2,18 x10 ²	**	3,49	5,85
Maduración*pH	4	8,61 x 10 ¹⁵	2,15 x 10 ¹⁵	4,54 x10 ³	**	2,87	4,43
factores vs testigo	1	5,98 x 10 ³¹	5,98 x 10 ³¹	3,71x10 ¹⁹	**	4,35	8,10
Error	20	7,07 x 10 ¹¹	7,07 x 10 ¹¹				

CV: 2,7694 %

NS: No significativo ni al 1% ni al 5% de error para la prueba de Fisher

*****: Significativo al 5% de error para la prueba de Fisher

******: Significativo al 1% de error para la prueba Fisher

De acuerdo a la tabla 20, el análisis de varianza muestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos con un error del 1%. La madurez y el pH influyeron en el crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* con un error del 1%.

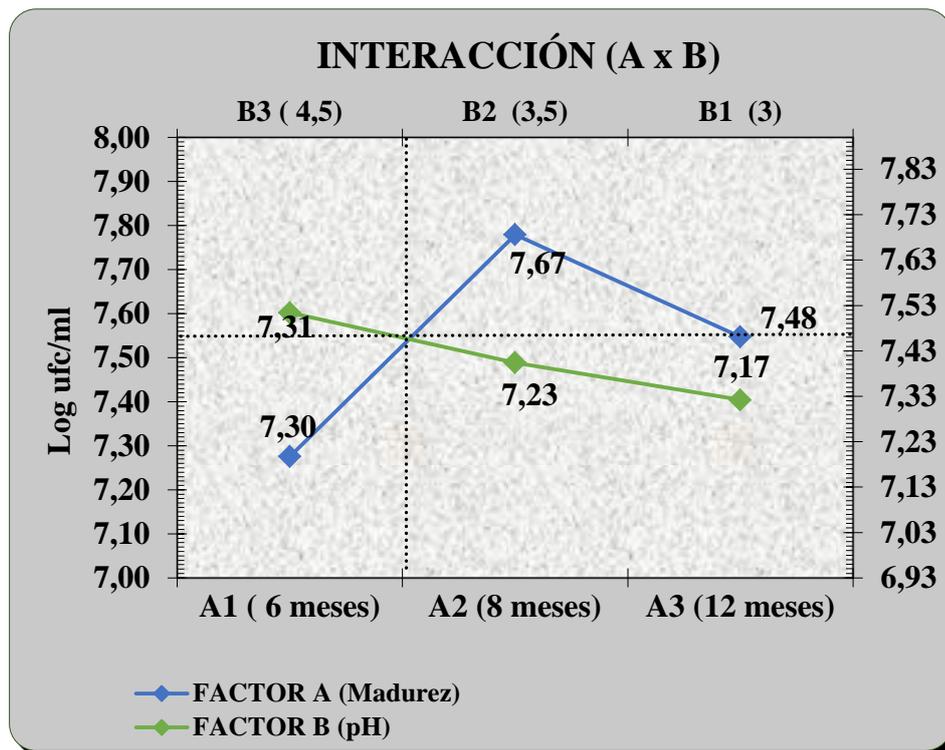


Gráfico 4. Interacción de los factores (A x B) madurez y pH en la variable recuento de *Bifidobacterium bifidum*.

En la gráfica se observa la interacción de la variable recuento de *Bifidobacterium bifidum* y se establece que la compota de 8 meses de madurez a un pH 4,5 es un medio óptimo para el crecimiento y supervivencia de las mismas, sin embargo Schoster et al., (2013) afirma que: “Todas las cepas probióticas potenciales eran capaces de crecer a un pH de 4,0 y no crecen a un pH de 2,0 especialmente las *Bifidobacterium*”

En la gráfica de la interacción, se deduce que los factores; pH y madurez influyen en el crecimiento de *Bifidobacterium bifidum*, con un error del 1 %. Por lo que se efectuó la prueba de Tukey para tratamientos y diferencia significativa para factores.

Tabla 21. Pruebas de significación de *Bifidobacterium bifidum* para tratamientos.

RANGOS			
TRAT.	COMB.	MEDIAS	RANGOS
T6	A2B3	5,29 x10 ⁷	A
T5	A2B2	4,73 x10 ⁷	B
T4	A2B1	4,10 x10 ⁷	C
T9	A3B3	3,46 x10 ⁷	D
T8	A3B2	3,13 x10 ⁷	E
T7	A3B1	2,56 x10 ⁷	F
T3	A1B3	2,22 x10 ⁷	G
T2	A1B2	1,98 x10 ⁷	H
T1	A1B1	1,73 x10 ⁷	I
TESTIGO		1,23 x10 ⁷	J

Al realizar las pruebas de Tukey se determinó el tratamiento que tiene más crecimiento de *Bifidobacterium bifidum*, obteniendo como resultado el tratamiento T6 (compota elaborada con jícama de 8 meses a un pH de 4,5).

Mayorga et al., (2010). Afirman que durante la producción de probióticos o alimentos funcionales con bifidobacterias, la viabilidad de las bacterias se ve afectada por la acidez del medio de cultivo, sin embargo la compota de jícama de 8 meses a un pH de 4,5 resulta ser un buen incidente de crecimiento para *Bifidobacterium bifidum* con un crecimiento de 5,29 x 10⁷ ufc/ml.

Tabla 22. Pruebas de significación de *Bifidobacterium bifidum* para el factor madurez.

RANGOS		
NIVEL	MEDIAS	RANGO
A2	4,71 x10 ⁷	A
A3	3,05 x10 ⁷	B
A1	1,98 x10 ⁷	C

Los rangos son diferentes para cada factor (Madurez con la que se realizó la compota de jícama), lo que indica que hay diferencia estadística entre ellos.

Según la FAO (2007).” La cantidad de inulina que contiene la jícama depende del lugar y tiempo de cosecha por lo que en casos llega a 16 % de inulina”, no siendo así en la presente investigación, ya que la madurez óptima es A2 con una media de 4,71 x 10⁷ ufc/ml correspondiente al estado de madurez de 8 meses con un contenido de 2,57% de inulina; sin embargo se nota un mayor crecimiento de *Bifidobacterium bifidum*.

Tabla 23. Pruebas de significación de *Bifidobacterium bifidum* para el factor pH.

RANGOS		
NIVEL	MEDIAS	RANGO
B3	2,50 x10 ⁷	A
B2	2,23 x10 ⁷	B
B1	1,94 x10 ⁷	C

Los rangos son diferentes para cada factor (pH modificado de la compota), lo que indica que hay diferencia entre ellos.

Según Lara & Burgos, (2012). “Las *Bifidobacterium Bifidum* crecen a un medio ligeramente ácido con un pH de 6,4 – 4,5” Por ello el nivel B3 correspondiente a pH de 4,5 con una media de 2,50 x 10⁷ ufc/ml presenta mayor crecimiento, sin embargo a un pH de 3 presenta un mínimo crecimiento a pesar de ser un pH bajo y más ácido.

4.4.1. CURVAS DE CRECIMIENTO DE *Bifidobacterium bifidum*

En el gráfico se observar que el tratamiento que presenta mayor cantidad de microorganismos es T6 (madurez de 8 meses de cosecha y pH de 4,5), debido a

que se evidencia crecimiento en $5,29 \times 10^7$ ufc/ml durante un tiempo de 72 horas, seguida por T5 (madurez de 8 meses de cosecha y pH de 3,5) con $4,73 \times 10^7$ ufc/ml, T4 (madurez de 8 meses de cosecha de 3,0) con $4,10 \times 10^7$ ufc/ml, T9 (madurez 12 meses de cosecha a un pH de 4,5) con $3,46 \times 10^7$ ufc/ml, T8 (madurez de 12 meses de cosecha a un pH de 3,5) con $3,13 \times 10^7$ ufc/ml, T7(madurez de 12 meses de cosecha a un pH de 3,0) con $2,56 \times 10^7$ ufc/ml, T3(madurez de 6 meses de cosecha a un pH de 4,5) con $2,22 \times 10^7$ ufc/ml, T2(madurez de 6 meses de cosecha a un pH de 3,5) con $1,98 \times 10^7$ ufc/ml, siendo así el T1(madurez de 6 meses de cosecha a un pH de 3,0) con $1,73 \times 10^7$ ufc/ml el que tiene un mínimo crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* debido a su mínimo porcentaje de prebióticos.

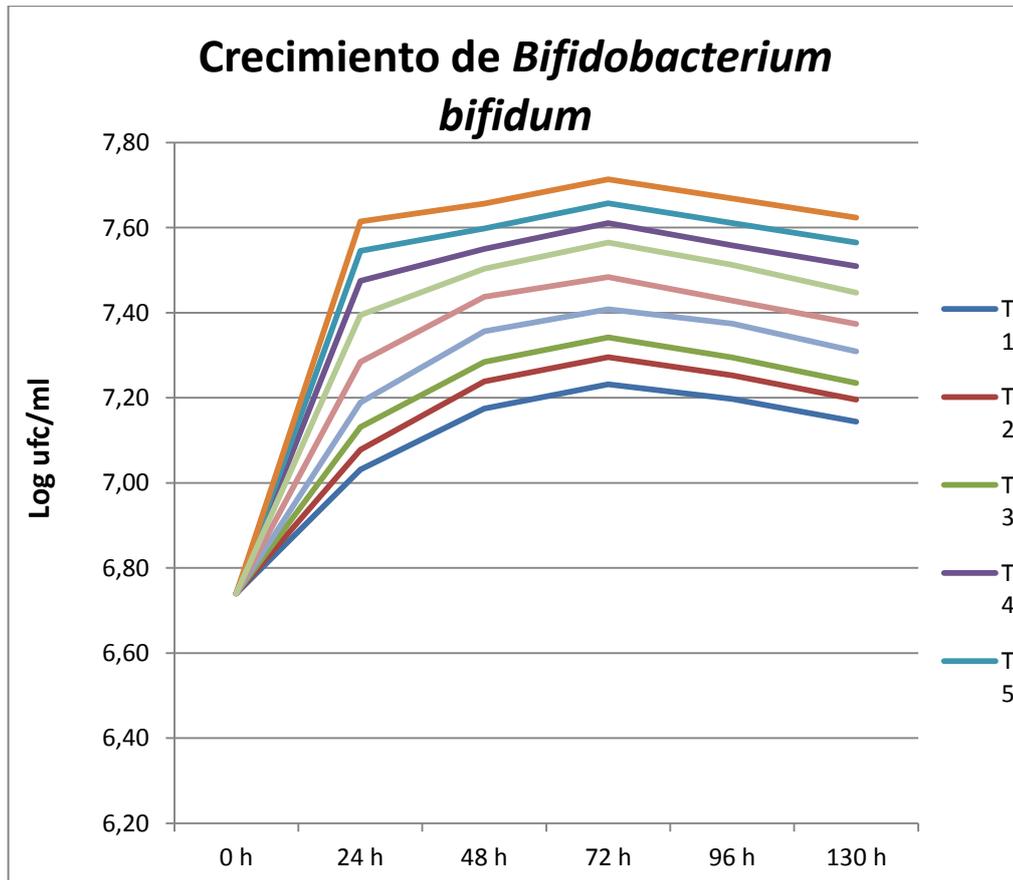


Gráfico 5. Curva de crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* en un medio de compota de jícama a pH: 3, 3.5, 4.5 y estados de madurez de cosecha: 6 meses, 8 meses, 12 meses.

Según Mayorga et al., (2010); menciona que las Bifidobacterias son resistentes y presentan sobrevivencia a la acidez cuando el jugo gástrico se encuentra a un pH

de 2 y las condiciones de acidez varía entre especies y cepas”. Lo que se concuerda con la investigación, ya que a un pH de 3 las bacterias presentaron crecimiento de *Bifidobacterium bifidum*.

Según Rodríguez, (2006) determina que: “El acondicionamiento de las bifidobacterias a condiciones de estrés, al final de la fase del crecimiento exponencial o durante la fase estacionaria permiten presentar mayor resistencia a condiciones posteriores más extremas. Sin embargo al presentar un valor bajo de 1,58 de inulina en el estado de floración (6 meses) se obtiene crecimiento y supervivencia de *Bifidobacterium bifidum*.”

4.4.2. TIEMPO DE SUPERVIVENCIA EN EL MEJOR TRATAMIENTO PARA *Bifidobacterium bifidum*.

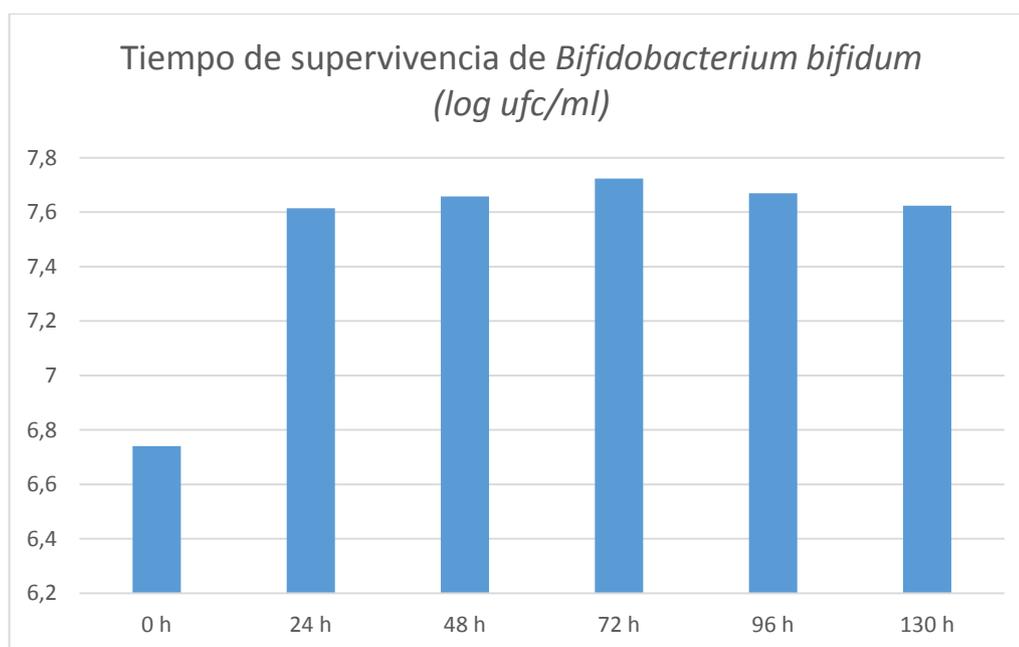


Gráfico 6. Tiempo de supervivencia del mejor tratamiento

El gráfico representa el mejor tratamiento en el crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* a un tiempo 24, 48, 72, 96 y 130 horas y se obtuvo un mayor crecimiento a las 72 horas, tiempo en el cual las bacterias probióticas sobreviven notablemente con un valor de $5,29 \times 10^7$ ufc/ml.

Mayorga et al., (2010) menciona que: “Las bacterias *Bifidobacterium bifidum* presenten mayor resistencia en la fase de crecimiento exponencial o durante la fase estacionaria, por lo que concuerda con la investigación debido a la capacidad de desarrollarse hasta las 72 horas fase exponencial.

4.5. CANTIDAD DE BIOMASA

La biomasa es la cantidad de microorganismos acumulados mediante el crecimiento y la reproducción, es decir se observa microorganismos vivos y muertos en su totalidad. En esta investigación la cantidad máxima de crecimiento es en la etapa de 72 horas.

Tabla 24. Cantidad de biomasa de *Lactobacillus acidophilus* en diferentes tiempos

<i>Lactobacillus acidophilus</i>									
Tiempo	6 meses			8 meses			12 meses		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
	UFC/g								
0 h	$6,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^6$	$6,00 \times 10^6$	$6,00 \times 10^6$	$6,00 \times 10^6$	$6,00 \times 10^6$	$6,00 \times 10^6$	$6,00 \times 10^6$	$6,00 \times 10^6$
24 h	$2,30 \times 10^7$	$2,00 \times 10^7$	$2,50 \times 10^7$	$5,50 \times 10^7$	$6,30 \times 10^7$	$7,34 \times 10^7$	$3,45 \times 10^7$	$4,20 \times 10^7$	$4,50 \times 10^7$
48 h	$1,90 \times 10^7$	$2,41 \times 10^7$	$3,12 \times 10^7$	$6,62 \times 10^7$	$7,63 \times 10^7$	$9,37 \times 10^7$	$4,06 \times 10^7$	$5,12 \times 10^7$	$5,92 \times 10^7$
72 h	$2,02 \times 10^7$	$2,77 \times 10^7$	$3,40 \times 10^7$	$6,97 \times 10^7$	$8,21 \times 10^7$	$9,41 \times 10^7$	$4,45 \times 10^7$	$5,41 \times 10^7$	$5,95 \times 10^7$

Según Sonnenburg & Sonnenburg (2014). Las bacterias *Lactobacillus acidophilus* se adaptan a medios bastantes ácidos y su crecimiento depende de la incidencia de prebióticos, por lo que se determina que la compota de jícama tiene propiedades prebióticas; debido a que presentó una cantidad de biomasa en el mejor tratamiento T6 (compota elaborada con jícama de 8 meses a un pH de 4,5) con un valor de $9,41 \times 10^7$ ufc/g. a un tiempo máximo de crecimiento de 72 horas.

Tabla 25. Cantidad de biomasa de *Bifidobacterium bifidum* en diferentes tiempos

<i>Bifidobacterium bifidum</i>									
Tiempo	6 meses			8 meses			12 meses		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
	UFC/ g								
0 h	$5,50 \times 10^6$								
24 h	$1,30 \times 10^7$	$1,20 \times 10^7$	$1,40 \times 10^7$	$3,10 \times 10^7$	$4,40 \times 10^7$	$6,20 \times 10^7$	$2,10 \times 10^7$	$2,60 \times 10^7$	$2,90 \times 10^7$
48 h	$1,92 \times 10^7$	$2,26 \times 10^7$	$3,40 \times 10^7$	$5,50 \times 10^7$	$5,35 \times 10^7$	$8,20 \times 10^7$	$3,40 \times 10^7$	$3,60 \times 10^7$	$4,30 \times 10^7$
72 h	$1,96 \times 10^7$	$2,40 \times 10^7$	$4,20 \times 10^7$	$6,00 \times 10^7$	$6,12 \times 10^7$	$9,30 \times 10^7$	$4,60 \times 10^7$	$4,90 \times 10^7$	$5,20 \times 10^7$

De acuerdo a Bustamante et al., (2010). Las *Bifidobacterium bifidum* pueden competir mejor por azúcares que no son metabolizados y por otras bacterias ya que son habitantes normales del colón y además añade que la mejor biomasa final se da en prebiótico rafinosa. Sin embargo, en esta investigación su prebiótico es inulina y se observa una cantidad de biomasa final hasta 72 horas, dándose el mayor crecimiento en el tratamiento T6 (compota elaborada con jícama de ocho meses a un pH de 4,5) con un valor de $9,30 \times 10^7$ ufc/g.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La madurez óptima de la jícama se determinó en función de la cantidad de sólidos totales y del pH concluyéndose que la jícama de ocho meses es la mejor ya que presenta 11,13 °Brix y un pH de 6,25 lo que favorece el crecimiento para las bacterias probióticas.
- De los resultados del análisis físico-químicos de la compota de jícama, se concluye que la elaborada con jícama de ocho meses presenta el porcentaje más alto de concentración de inulina con un valor de 2,57 % y menor proporción de carbohidratos con un valor de 17,10 % en relación con las compotas de jícama elaboradas con diferente madurez fisiológica que presenta valores menores en inulina y mayor en carbohidratos.
- En cuanto a la calidad microbiológica la compota de jícama de ocho meses presenta valores inferiores a 10 UFC cumpliendo con la Norma NTE INEN 2 337: (Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales).
- Mediante el análisis de las curvas de crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* cultivadas en compota de jícama se determina que el mejor tratamiento es T6 (Compota elaborada con jícama de ocho meses y un pH de 4,5) ya que presenta $8,72 \times 10^7$ y $5,29 \times 10^7$ UFC/ ml respectivamente en un tiempo de 72 horas condición que comprueba que la jícama es un prebiótico que favorece el crecimiento de dichas bacterias benéficas.

- La biomasa es la cantidad de microorganismos acumulados mediante el crecimiento, es decir se incluyen microorganismos vivos y muertos en su totalidad, en la presente investigación la biomasa aumenta de acuerdo al tiempo siendo el máximo de 72 horas, por lo que el tratamiento seis alcanza un valor de $9,41 \times 10^7$ UFC/g para *Lactobacillus acidophilus* y para *Bifidobacterium bifidum* $9,30 \times 10^7$ UFC/g.
- Se acepta la hipótesis alternativa planteada, ya que el estado de madurez y el pH si influyen en el crecimiento de las bacterias: *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, obteniendo mayor crecimiento de estas bacterias benéficas en el tratamiento seis (compota con jícama de ocho meses de cosecha y un pH 4,5).

5.2. RECOMENDACIONES

- En esta investigación se utilizó jícama morada Ecu 1221123 para la elaboración de la compota pero se recomienda realizar estudios similares con otras variedades.
- Al ser la jícama de ocho meses la que presenta mayor capacidad prebiótica se recomienda utilizarla en la elaboración de otros productos agroindustriales como: mermeladas, jugos, pulpas, productos mínimamente procesados de jícama.
- Establecer la formulación y un estudio del tiempo de vida útil de la compota de jícama para su posible comercialización.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguas, A., Garcia, E., Ruiz, O., & Trinidad, A. (2014). Calidad de fruto de Litchi (Litchi Sonn) producido en el estado de Veracruz, México. *Fitotecnia mexicana*, 21.
- Aguavil, J. (2012). *Efecto de un probiótico nativo elaborado en base a Lactobacillus y Bacillus subtilis sobre el sistema Gastrointestinal en pollos Broiler Ross- 308 en Santo Domingo de los Tsáchilas*. Santo Domingo-Ecuador.
- Álvarez Borroto, C. R., Ruano Nieto, C. A., Calle Miñaca, M. R., & Lara Fiallos, M. V. (2014). Extracción y determinación de inulina del ajo común autóctono (*Allium sativum*). *Revista Cubana Química*, 131-146.
- Angón, P., Santos, N., & Hernández, C. (2006). Índice para la determinación de las condiciones óptimas de madurez de un fruto. *Ciencia y tecnología*, 3-8.
- Arnao, I., Seminario, J., Cisneros, R., & Trabucco, J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca - Perú. *Anales de la Facultad de Medicina*, 239-240.
- Bamforth, C. (2007). *Food, fermentation and micro-organisms*. Zaragoza-España: Acribia, S.A.
- Bustamante, C., Mayorga, R., Ramirez, S., Martinez, C., Barranco, F., & Azaola, E. (2010). Evaluación microbiológica de compuestos con actividad prebiótica. *Revista mexicana de Ciencias Farmacéutica*, 9.
- Campos, M., Cotrina, L., & Romero, B. (2013). Extracción y caracterización de la inulina de tubérculos. *Instituto de Investigaciones de la facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 14.
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Lima: Cipotato.

- Cardona, M. W., Berdugo, J., & Cadavid, A. (2008). Comparación de concentración espermática usando la cámara de Neubauer. *SciELO*, 32-34.
- Centro de Monitoreo del Clima de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra PUCESI. (12 de Diciembre de 2016). Monitoreo del Clima. Ibarra, Imbabura, Ecuador.
- Clavijo, N., & Pérez, M. (2012). Tubérculos andinos y conocimiento agrícola local en comunidades del Ecuador y Colombia. *Cuadernos de desarrollo rural*.
- Corzo, N., Alonso, L., Azpiroz, F., Calvo, M., Cirici, M., & Leis, R. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición Hospitalaria*, 99-100.
- Escalante, A. (2001). El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*.
- Espinoza, F., Sorensen, M., Argenti, P., & Diaz, Y. (1999). Dos leguminosas tuberosas con futuro en Venezuela . *fonaiap Divulga*.
- FAO. (2007). Aprovechamiento biotecnológico de residuos animales y vegetales para la producción de biofertilizantes líquido o biabono. Ibarra-Ecuador.
- FAO. (2011). Probióticos en los alimentos. *Considerado el agua como un alimento también*, 12.
- Fuentes, N., Figueroa, E., Carcelén, F., & Arbaiza, T. (2012). Harina de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como prebiótico en dietas de patos muscovy (*cairina moschata*) en etapa de engorde. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 106-107.
- Hardenburg, R. (2010). *Almacenamiento comercial de frutas, legumbres, existencias de floristerías y viveros*. Costa Rica: Cidia.
- Henao, A., Comba, N., Alvarado, M., Santamaría, J. (2015). Bacterias autótrofas y heterótrofas asociadas a nieve marina lodosa en arrecifes con escorrentía continental. *Revista Redalyc*, 11-12.

- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (2003). *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador*. Quito-Ecuador.
- Lalanne, G., Rivera, Y., Farrera, R., & Hernández, H. (2014). Supervivencia bajo condiciones de estrés de lactobacilos halotolerantes con características probióticas. *Revista mexicana de ingeniería química*, 328-330.
- Lara, C., & Burgos, Á. (2012). Potencial probiótico de cepas nativas para uso como aditivos en la alimentación avícola. *Colombia. Biotecnología*, 33.
- Madrigal, L., & Sangronis, E. (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos Latinoamericanos de nutrición*.
- Manzano, C., Estupiñan, D., & Poveda, E. (2012). Efectos clínicos de los probióticos: Qué dice la evidencia. *Revista Chilena de Nutrición*, 90-92.
- Margulis, L., Bassler, B., Sandín, M., Ruipérez, V., Santos, E., Goldman, M., y otros. (2014). *Microbiótica, nutrición simbiótica y microorganismos regeneradores*. Madrid: Integralia la casa natural, S. L.
- Marinque, I., Párraga, A., & Hermann, M. (2005). *Jarabe de yacón: principios y procesamiento*. Lima: Centro Internacional de la Papa.
- Mayorga, I., Bustamante, C., Gutiérrez, A., Barranco, E., & Azaola, A. (2010). Crecimiento, sobrevivencia y adaptación de *Bifidobacterium infantis* a condiciones ácidas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 259-260.
- Merino, L. (2004). Estudio Bromatológico y Fitoquímico de la jícama. *FERMENTUM*, 12-13.
- Millone, M., Olagnero, G., & Santana, E. (2010). Alimentos funcionales: análisis de la recomendación en la práctica diaria. *Diaeta*, 8-9.
- Mujica, A., & Ortiz, R. (2012). La importancia de los cultivos andinos. *FERMENTUM*, 11.

- Navas, C., & Costa, A. (2010). Diseño de la línea de producción de compotas de banano. *Desarrollo de compotas y diseño de la línea de producción en la línea bananera*.
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Gracella, L., & Montanati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Diaeta*, 22-24.
- Palou, A., & Serra, F. (2000). Perspectivas Europeas sobre los alimentos funcionales. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 85-86.
- Pérez, M., Rodríguez, Y., & Suarez, Y. (2014). Validation of the ultraviolet spectrophotometry method for the quality control of ciprofloxacin chlorhydrate in Ciprecu tablets. *Revista Cubana de farmacia*, 201-202.
- Pérez, V. (2011). *Realización de elaboraciones básicas y elementales de cocina y asistir en la elaboración culinaria*. España: Paraninfo S.A.
- Pinzón, I., Fischer, G., & Corredor, G. (2013). Relación entre la madurez fisiológica y la madurez comercial de frutos de kiwi 'Hayward' producidos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Universidad Nacional de Cuyo., 311-312.
- Régimen de la OCDE para la aplicación de normas internacionales relacionadas con frutas y hortalizas. (1998). *Pruebas objetivas para determinar la madurez de la fruta*.
- Rob, H. (2009). *Factsheet, datos botánicos de yacón, Smallanthus sonchifolius*. México: Gmbh.
- Sanz, Y., Collado, M., & Dalmau, J. (2003). Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. *Acta pediátrica española* (pág. 482). Valencia: La fé.
- Schoster, A., Kokotovic, A., Pedersen, P., Dal, B., & Guardabassi, L. (2013). In vitro inhibition of *Clostridium perfringens* by commercial probiotic strains. *Publwed*, 41.

- Seminario, J., Rea, J., Blas, R., Caicedo, G., Dos, F., Knudsen, S., y otros. (2006). Raíces Andinas: *Contribuciones al conocimiento y a la capacitación*. Lima: Centro Internacional de la papa.
- Seminario, J., Valderrama, M., & Manrique, I. (2003). El Yacón: *Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio*. Lima, Perú: CODUCE.
- Socorro, G., Manzano, H., Flores, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Biomédica*, 132-133.
- Sonnenburg, J., & Sonnenburg, E. (2014). *Intestino feliz*. España: Aguilar.
- Suárez, D. (2005). *Guía de procesos para la elaboración de néctares, mermeladas, uvas pasas y vinos*. Bogotá: Cab.
- Tapia, M. E. (2000). *Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación*. Santiago-Chile.
- Urías, E., Silvas, & López, M. (2004). Efecto prebiótico de los fructanos de agave. *Participación de la mujer en la ciencia*, 2.
- Valdez, G., Margalef, M., & Gómez, M. (2013). Formulación de barra dietética funcional prebiótica a partir de harina de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *Diaeta*, 27-28.
- Webber, J., & Zimmerman, M. (2014). *The Men`s Health Big Book of Food & Nutrition*. New York: S.L. Barcelona.
- Zavala, L. (2014). "Adición de Bacterias Biocontroladoras (*Oxydol*) para el control de amoníaco en cama de pollos". Guayaquil.

ANEXOS

ANEXO 1. Fotografías del proceso de elaboración de la compota de jícama



Fotografía 16. Lavado de la jícama



Fotografía 17. Selección



Fotografía 18. Pesado



Fotografía 19. Escaldado de las jícamas



Fotografía 20. Pesado de aditivos



Fotografía 21. Adición de agua destilada



Fotografía 22. Mezcla de agua destilada y aditivos



Fotografía 23. Pelado de la jícama



Fotografía 24. Jícama pelada



Fotografía 25. Troceado



Fotografía 26. Licuado



Fotografía 27. Cocción de la pulpa de jícama



Fotografía 28. Medición del pH



Fotografía 29. Medición de sólidos totales



Fotografía 30. Compota de jícama

ANEXO 2. Fotografías de cultivo de cepas



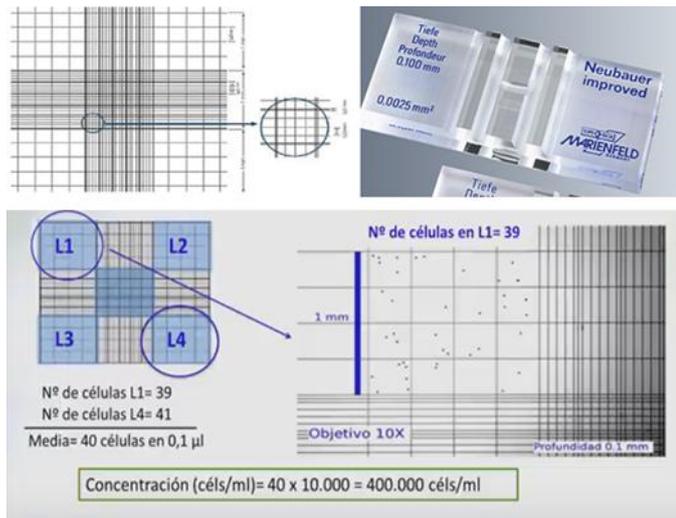
Fotografía 31. Cepa pura



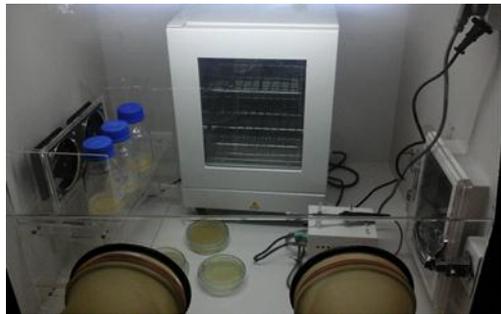
Fotografía 32. Medios preparados para *Bifidobacterium bifidum*



Fotografía 33. Incubando las comptas inoculadas



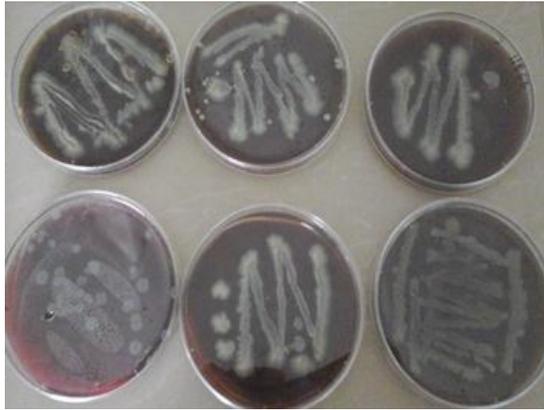
Fotografía 34. Cámara de Neubauer



Fotografía 35. Activación de *Lactobacillus acidophilus*



Fotografía 36. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*



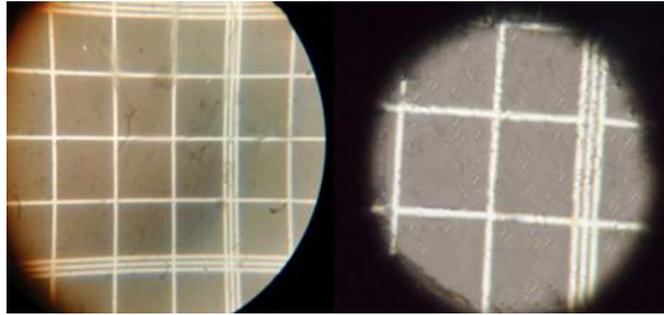
Fotografía 37. Crecimiento de *Bifidobacterium bifidum*



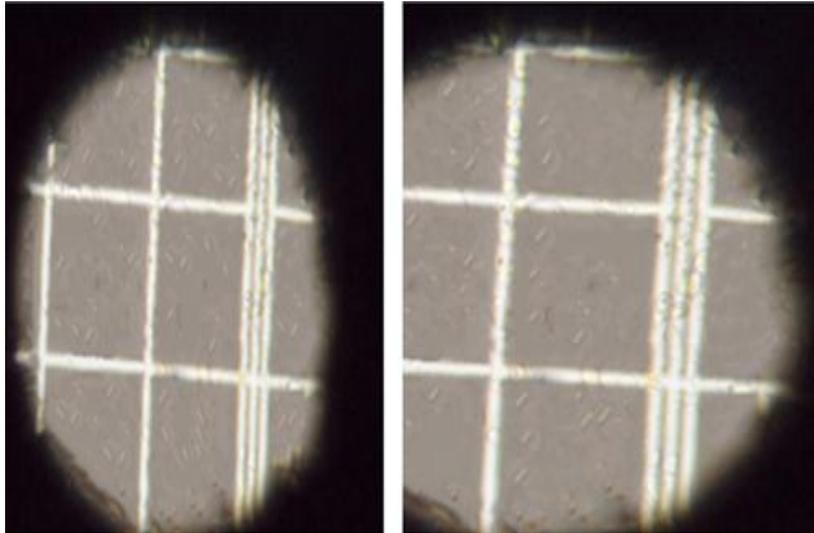
Fotografía 38. Añadiendo microorganismos en la cámara de Neubauer



Fotografía 39. Observar en el microscopio con ayuda de la cámara de Neubauer

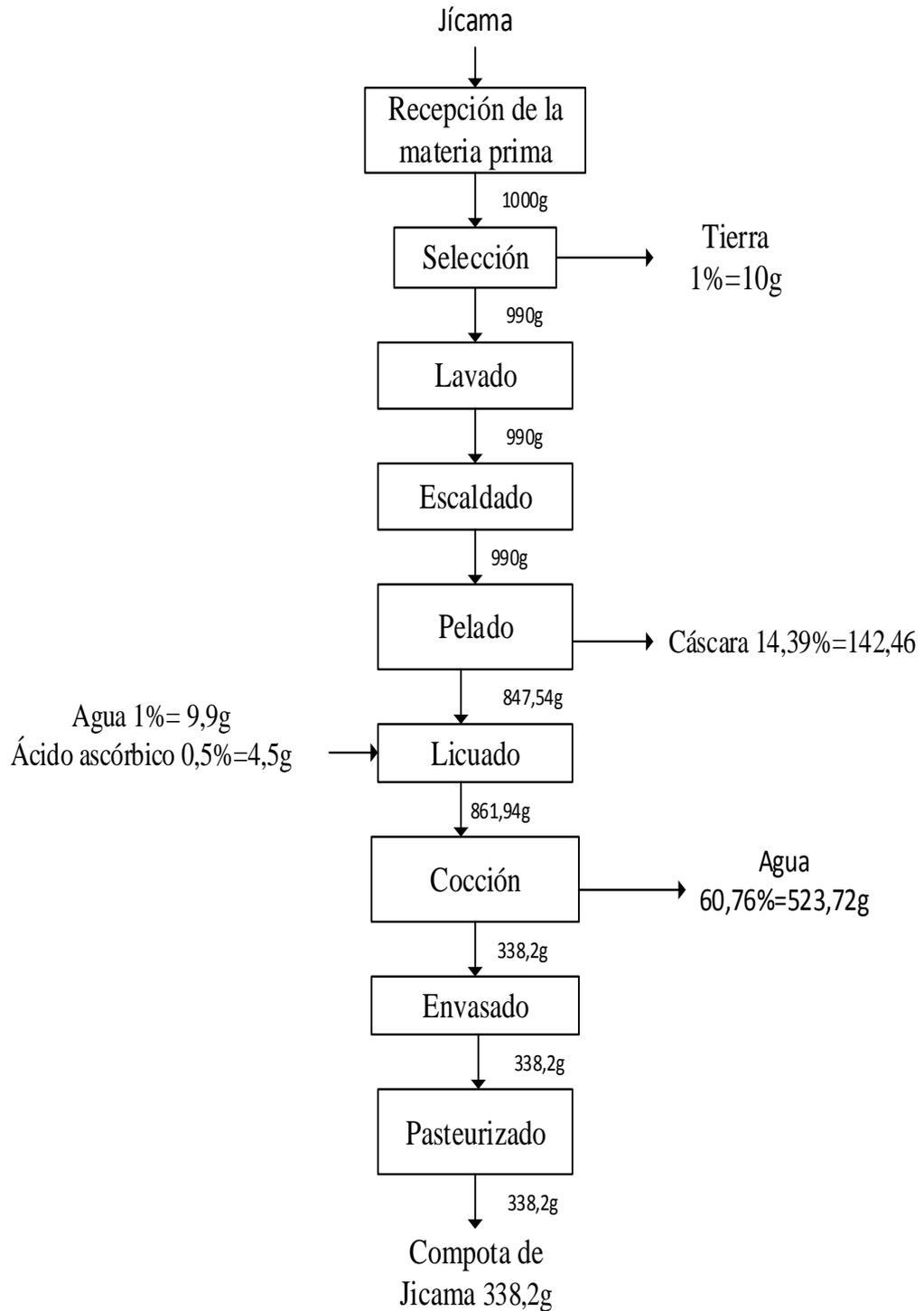


Fotografía 40. Vista en la cámara de Neubauer de *Bifidobacterium bifidum*



Fotografía 41. Vista en la cámara de Neubauer de *Lactobacillus acidophilus*

ANEXO 3. Balance de materiales de la compota con jícama de 8 meses



ANEXO 4. Curvas de crecimiento

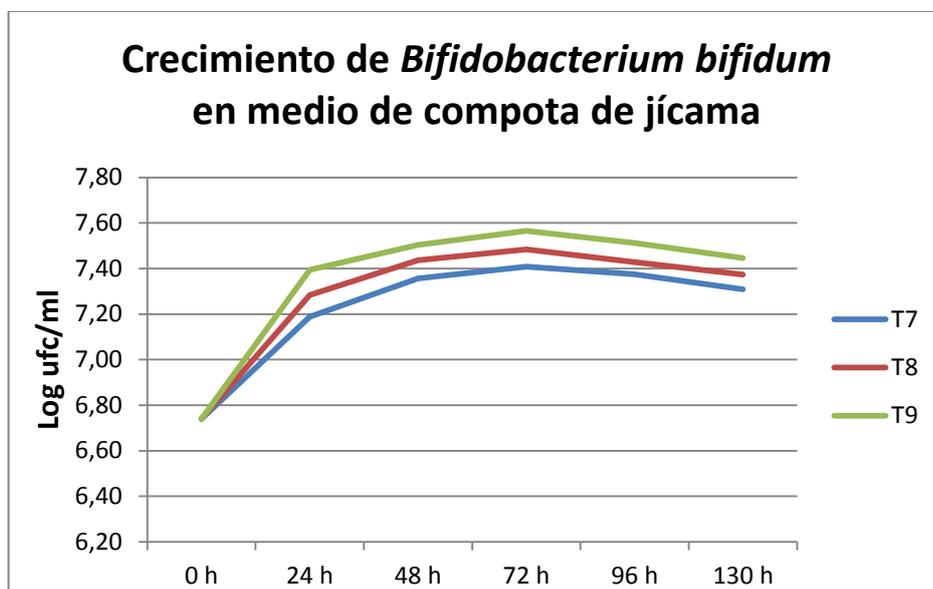


Gráfico 7. Crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* en medio de compota de jícama a una madurez de 12 meses y pH: 3,0; 3,5; 4,5.

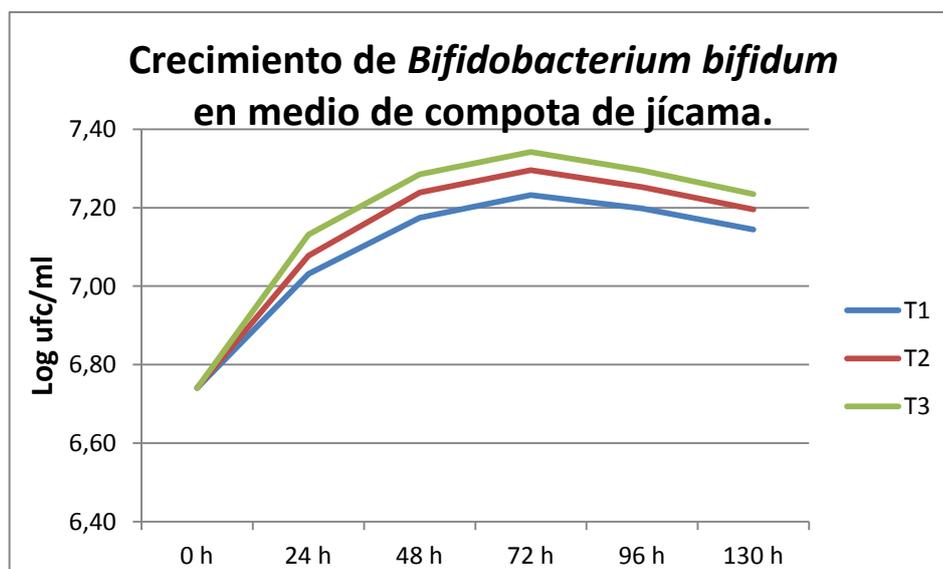


Gráfico 8. Crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* en medio de compota de jícama a una madurez de 6 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5; 4,5.

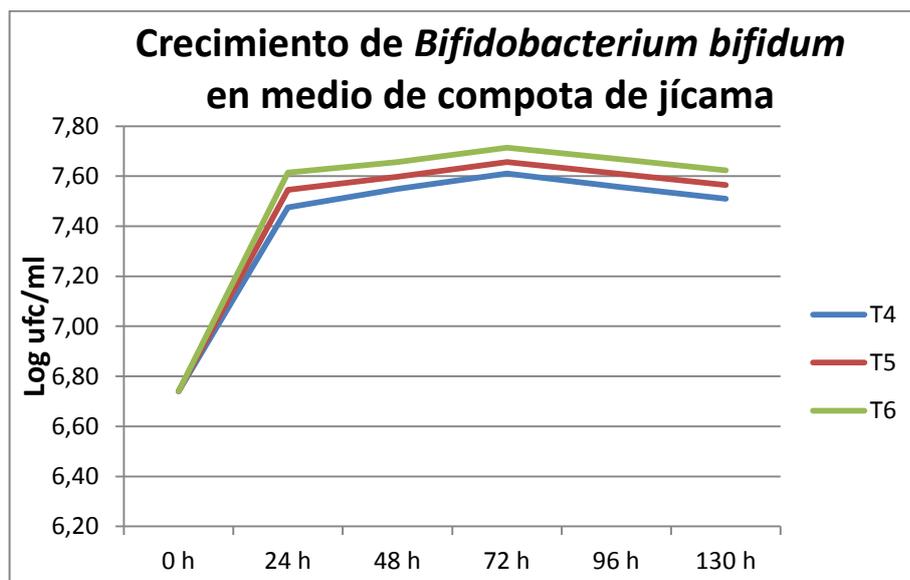


Gráfico 9. Crecimiento de *Bifidobacterium bifidum* en medio de compota de jícama a una madurez de 8 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5; 4,5.

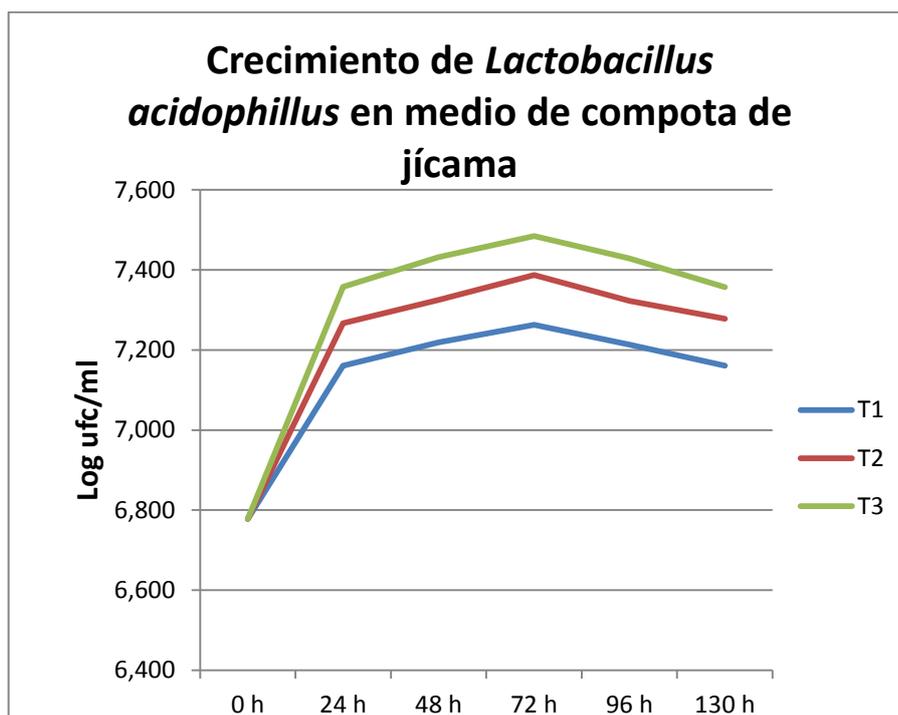


Gráfico 10. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en medio de compota de jícama a una madurez de 6 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5; 4,5.

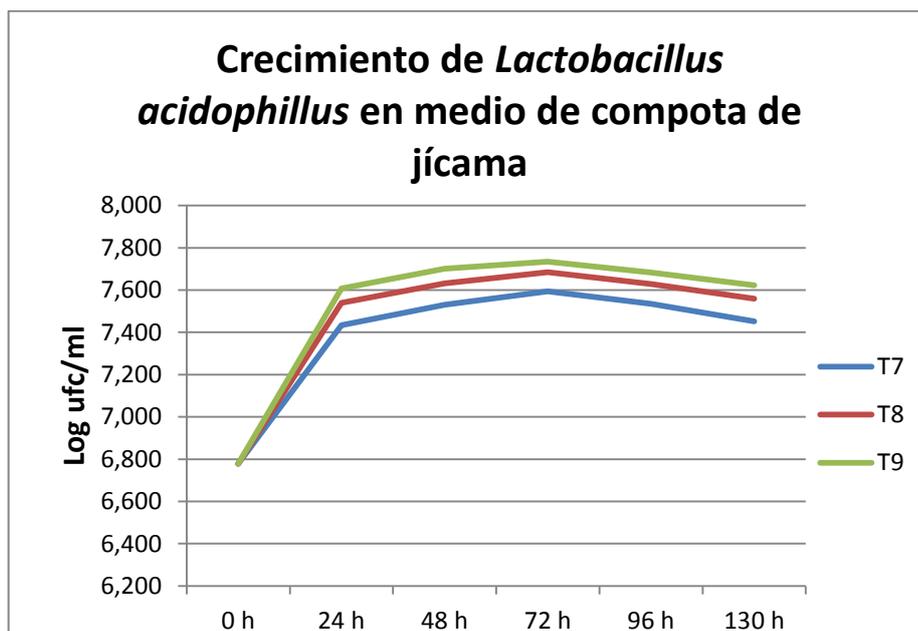


Gráfico 11. Curva de crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en medio de compota de jícama a una madurez de 12 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5; 4,0.

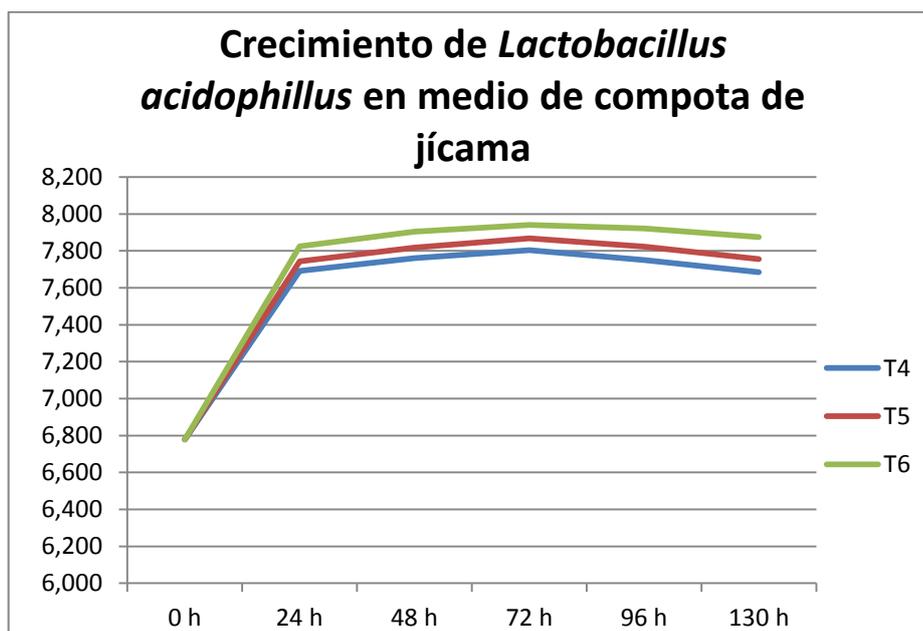
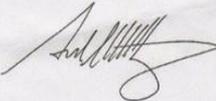


Gráfico 12. Curvas de crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en medio de compota de jícama a una madurez de 8 meses de cosecha y pH: 3,0; 3,5; 4,5.

ANEXO 5. Fichas técnicas

Ficha técnica de *Bifidobacterium bifidum* ATCC 81163

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: <i>Bifidobacterium bifidum</i> Catalog Number: Lot Number: 1025-09 Reference Number: ATCC® 11863™* Purity: <0.1% of Total Pellet CFU Recovery: >1000 CFUs per pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2018/12/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L Negen Release Date: 2015/3/3
Performance	
Macroscopic Features: Small, circular, convex, entire edge, translucent, and smooth. Microscopic Features: Pleomorphic gram positive rods; may be branched.	Medium: A/R SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek ANC (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results A/R SBAP/35 C/ Aerobic Atmosphere/72 hr: no growth <div style="text-align: center;">  Brad Goskowitz, President AUTHORIZED SIGNATURE </div>
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
  TESTING CERT #2655.01	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> MEDIBAC-INC S.A. Distribuidor para el Ecuador de MICROBIOLOGICS Registro Sanitario AD-541-04-13 </div>	
© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.286	



RECOMMENDED GROWTH REQUIREMENTS

LYFO DISK® AND KWIK-STIK™ Microorganisms

SELECTION OF GROWTH REQUIREMENTS

1. Primary growth on a nonselective agar medium is preferred. Primary growth in a fluid medium should only occur in special instances or when recommended. Because of the manipulations required during hydration, it is difficult to obtain purity of a lyophilized strain in a fluid medium. A contaminant may completely overgrow and obscure the presence of the lyophilized strain.
2. The following information lists which method should be used to grow the various microorganism species. Descriptions of methods follow the microorganism list.

<i>Acetobacter</i> sp.	Method 3
Note: Incubate at 25°C in CO ₂ for 3-4 days.	
<i>Achromobacter</i> sp.	Method 1
<i>Acinetobacter</i> sp.	Method 1
<i>Actinobacillus</i> sp.	Method 3
<i>Actinomyces</i> sp.	Method 4
<i>Aerococcus</i> sp.	Method 1
<i>Aeromonas</i> sp.	Method 2
Note: <i>A. hydrophila</i> should be incubated at 30°C. <i>A. salmonicida</i> should be incubated at 25°C.	
<i>Aggregatibacter</i> sp.	Method 3
<i>Alcaligenes</i> sp.	Method 1
<i>Alicyclobacillus</i> sp.	Method 12
Note: <i>A. acidoterrestris</i> , Microbiologics #0265, should be incubated at 45°C.	
<i>Alloiococcus</i> sp.	Method 2
<i>Amylomyces</i> sp.	Method 5
<i>Aneurinibacillus</i> sp.	Method 1
<i>Aquaspirillum</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C for 6 days.	
<i>Arcanobacterium</i> sp.	Method 2
<i>Arthrobacter</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25° C.	
<i>Aspergillus</i> sp.	Method 5
Note: <i>A. flavus</i> does not grow well on Standard Methods Agar (Plate Count Agar).	
<i>Bacillus</i> sp.	Method 1
Note: Some <i>Bacillus</i> sp. demonstrate better recovery on subculture when the stock organism growth is maintained at room temperature rather than 2-8° C.	
<i>Bacteroides</i> sp.	Method 4
Note: <i>B. ureolyticus</i> should be incubated 5 days. The colonies are very small. Several subculture plates may need to be inoculated in order to have sufficient quantity of the microorganism for testing.	
<i>Bifidobacterium</i> sp.	Method 4
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Method 20
<i>Bordetella parapertussis</i>	Method 21
<i>Bordetella pertussis</i>	Method 21
<i>Brevibacillus</i> sp.	Method 1
<i>Brevundimonas</i> sp.	Method 1
<i>Brochothrix</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C.	
<i>Budvicia</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C.	
<i>Burkholderia</i> sp.	Method 1
<i>Campylobacter</i> sp.	Method 6

Ficha técnica de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314

TECHNICAL INFORMATION BULLETIN

TIB.081

Note: Chocolate agar is the best medium for the primary growth of *C. jejuni*. DO NOT open the inoculated agar medium petri plate for the first 48 hours.

<i>Candida</i> sp.	Method 5
<i>Capnocytophaga</i> sp.	Method 3
<i>Cedecea</i> sp.	Method 1
<i>Cellulosimicrobium</i> sp.	Method 1
<i>Citrobacter</i> sp.	Method 1
<i>Cladosporium</i> sp.	Method 5
<i>Clostridium</i> sp.	Method 4

Note: *C. difficile*, *C. sordellii*, and *C. tetani* will only grow on Anaerobic Blood Agar.

<i>Corynebacterium</i> sp.	Method 1
----------------------------	----------

Note: Use Method 2 to grow *C. urealyticum*.

<i>Cronobacter</i> sp.	Method 1
<i>Curtobacterium</i> sp.	Method 1
<i>Cryptococcus</i> sp.	Method 5

Note: *Cryptococcus* MUST be incubated at 25°C to assure growth. *C. gattii* grows best on Malt Extract Agar or Sabouraud Dextrose Emmons Agar.

<i>Deinococcus</i> sp.	Method 1
<i>Delftia</i> sp.	Method 1
<i>Desulfotomaculum</i> sp.	Method 22
<i>Edwardsiella</i> sp.	Method 1
<i>Eggerthella</i> sp.	Method 4
<i>Eikenella</i> sp.	Method 3
<i>Elizabethkingia</i> sp.	Method 1
<i>Enterobacter</i> sp.	Method 1
<i>Enterococcus</i> sp.	Method 1
<i>Erysipelothrix</i> sp.	Method 2
<i>Escherichia coli</i>	Method 1
<i>Exiguobacterium</i> sp.	Method 1
<i>Finnegoldia</i> sp.	Method 4

Note: Incubate 72 to 96 hours in anaerobic atmosphere.

<i>Flavobacterium</i> sp.	Method 1
---------------------------	----------

Note: Incubate at 30°C.

<i>Fluoribacter</i> sp.	Method 8
<i>Fusarium</i> sp.	Method 5
<i>Fusobacterium</i> sp.	Method 4
<i>Gardnerella</i> sp.	Method 9
<i>Gemella</i> sp.	Method 4
<i>Geobacillus</i> sp.	Method 1

Note: *G. stearothermophilus* strains must be incubated at 55°C. *G. stearothermophilus*, Microbiologics #0137, does not grow on Sheep Blood Agar.

<i>Geotrichum</i> sp.	Method 5
<i>Granulicatella adiacens</i>	Method 24
<i>Haemophilus</i> sp.	Method 3
<i>Hafnia</i> sp.	Method 1
<i>Issatchenkia</i> sp.	Method 5
<i>Kingella</i> sp.	Method 2

Note: Incubate in 5-10% CO₂.

<i>Klebsiella</i> sp.	Method 1
<i>Kloeckera</i> sp.	Method 5
<i>Kocuria</i> sp.	Method 1

Note: *K. rosea* should be incubated at 25°C.

<i>Lactobacillus</i> sp.	Method 11
<i>Lactococcus</i> sp.	Method 2
<i>Leclercia</i> sp.	Method 1
<i>Legionella</i> sp.	Method 8
<i>Listeria</i> sp.	Method 1
<i>Lysinibacillus</i> sp.	Method 1
<i>Macrocooccus</i> sp.	Method 1
<i>Malassezia</i> sp.	Method 16
<i>Mannheimia</i> sp.	Method 1

<i>Methylobacterium</i> sp.	Method 1
-----------------------------	----------

Method 5

- Sabouraud Dextrose Emmons Agar - 25°C in aerobic atmosphere – 2 to 7 days.
- Nonselective Sheep Blood Agar is an appropriate alternative.
- Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar, Potato Dextrose Agar and Standard Plate Count Agar are appropriate alternatives together with an additional period (24 hours) of incubation.

Method 6

- Chocolate Agar - 35°C in Microaerophilic Environment – 48 to 72 hours.

Method 7

- Lowenstein Jensen Agar or Middlebrook Agar - 35°C in 5 to 7% CO₂ or aerobic atmosphere – up to one week. *M. fortuitum* subsp. *fortuitum*, *M. peregrinum* and *M. smegmatis* will also grow on Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar) as well as Lowenstein Jensen and Middlebrook Agar but additional incubation time may be required.

Method 8

- Buffered Charcoal Yeast Extract Agar - 35°C in aerobic atmosphere – 3 to 5 days.

Method 9

- V Agar or Chocolate Agar - 35°C in 5% to 7% CO₂ – 48 hours.

Method 10

- Rehydrate in sterile Brain Heart Infusion Broth, Tryptic Soy Broth (Soybean Casein Digest Agar) or 0.85% Saline. Rehydration with water may result in decreased or no recovery. Rehydration with fluid provided in the KWIK-STIK™ unit provides satisfactory recovery.
- Grow on Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar) - 35°C in aerobic atmosphere – 24 to 48 hrs. *Vibrio* sp. also grows on Marine Agar.

Method 11

- The primary growth medium is MRS (Man, Rogosa, Sharpe) Broth. Incubate at 35°C in aerobic atmosphere for 48 hours. Transfer to either Columbia CNA with Sheep Blood or Tryptic Soy Agar with Sheep Blood. Incubate at 35°C in 5 to 7% CO₂ for 48 hrs. A few *Lactobacilli* species, such as *L. fermentum*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, and *L. sakei*, do not need to be started in Lactobacilli MRS broth. They may be plated directly to Columbia CNA with Sheep Blood or Tryptic Soy Agar with Sheep Blood and incubated at 35°C in 5 to 7% CO₂ for 48 hrs.

Method 12

- Potato Dextrose Agar - 55°C in aerobic atmosphere – 24 to 48 hours.

Method 13

- Rehydrate 1 pellet of *M. hominis* or *Ureaplasma* sp. in 10B Arginine Broth. Alternatively inoculate broth with a KWIK-STIK. Make serial dilutions (for example, 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10,000). Incubate at 35°C in aerobic atmosphere. As soon as the Arginine vial turns pink (24 to 48 hours), sub 0.1 mL of broth to A-8 Agar and streak for isolation. DO NOT use cotton swab or wooden shaft. Incubate mycoplasma at 35°C in 5 to 7% CO₂. Incubate ureaplasma at 35°C anaerobically for up to 96 hours. In order to see colonies, examine plates microscopically.

Method 14

- Rehydrate 1 pellet of *M. pneumoniae* in SP4 Glucose Broth. Alternatively, inoculate broth with a KWIK-STIK. Make serial dilutions (for example, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32). Incubate at 35°C in aerobic atmosphere. As soon as the broth turns from red to yellow (1-4 weeks), sub 0.2 mL of broth to SP4 Glucose Agar and streak for isolation. DO NOT use cotton swab or wooden shaft. Incubate at 35°C in CO₂ atmosphere, preferably in a candle jar, for 5 to 15 days. In order to see colonies, examine plates microscopically.

Method 15

- Rehydrate 1 pellet of *M. orale* in 10B Arginine Broth. Alternatively, inoculate broth with a KWIK-STIK. Make serial dilutions (for example, 1:10, 1:100, 1:1000). Incubate at 35°C, in aerobic atmosphere. As soon as the broth turns from yellow to pink (48 to 72 hours), sub 0.2 mL of broth to SP4 Glucose Agar and streak for isolation. DO NOT use cotton swab or wooden shaft. Incubate plates at 35°C in anaerobic conditions for 3 to 6 days. In order to see colonies, examine plates microscopically.

ANEXO 6. Análisis de laboratorio de la compota de jícama

Análisis de actividad antioxidante de la compota con jícama a diferentes estados de madurez a 6, 8 12 meses.

NC-LSAIA-2001-03



INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD
LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS

Panamericana Sur Km. 1, Catagigua Tlfs. 2690891-3007154. Fax 3007134
 Casilla postal 17-01-540



INFORME DE ENSAYO No: 15-288

NOMBRE PETICIONARIO: Sra. Cristina Suárez	INSTITUCION: Particular	
DIRECCION: Ibarra	ATENCIÓN: Sra. Cristina Suárez	
FECHA DE EMISION: 13/10/2015	FECHA DE RECEPCION: 21/09/2015	
FECHA DE ANALISIS: Del 22 de septiembre al 12 de octubre de 2015	HORA DE RECEPCION: 09H50	
	ANALISIS SOLICITADO: Humedad, actividad antioxidante	

ANÁLISIS	HUMEDAD	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Ω					IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.01						
METODO REF.	U. FLORIDA 1970						
UNIDAD	%	µMTrolox/g					
15-1618	77.89	29.55					Compota 6 meses
15-1619	76.69	27.25					Compota 8 meses
15-1620	75.28	24.07					Compota 12 meses

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.
 OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente



Dr. Armando Rubio
RESPONSABLE DE CALIDAD



RESPONSABLES DEL INFORME



Dr. Abel Samardiego, M.Sc.
RESPONSABLE TÉCNICO

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
 Los resultados en los indicadores solo están relacionados con el objeto de ensayo.
 NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial y está sujeta únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibida. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.

Análisis de inulina de la compota de jícama de 6 meses en floración



Orden de trabajo N° 154578
Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Cristina Suárez
DIRECCIÓN: Panamá 159 y Rafael Miranda
FECHA DE RECEPCIÓN: 24 de noviembre del 2015
MUESTRA: Compota de jícama 6 meses
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Pastoso color habano
ENVASE: Frasco de vidrio
FECHA DE TOMA DE MUESTRA: ----
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 24 de noviembre – 11 de diciembre del 2015
REFERENCIA: 154578
MUESTREADO: Por el cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 24 °C 32 % HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADOS
Inulina (%)	HPLC	1.58


Dr. Oscar Luzziaga
PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.



INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412
e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzziaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec
www.labolab.com.ec Quito - Ecuador

Análisis de inulina de la compota con jícama de 8 meses (dos meses luego de la floración)



*Orden de trabajo N° 154579
Hoja 1 de 1*

NOMBRE DEL CLIENTE: Cristina Suárez
DIRECCIÓN: Panamá 159 y Rafael Miranda
FECHA DE RECEPCION: 24 de noviembre del 2015
MUESTRA: Compota de jícama 8 meses
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Pastoso color amarillo
ENVASE: Frasco de vidrio
FECHA DE TOMA DE MUESTRA: ----
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 24 de noviembre – 11 de diciembre del 2015
REFERENCIA: 154579
MUESTREADO: Por el cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 24 °C 32 % HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADOS
Inulina (%)	HPLC	2.57

Dr. Oscar Ezcurriaga
 PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
 Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.



INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412
 e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecillialuzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

Análisis de inulina de compota con jícama de 12 meses (seis meses luego de la floración)

LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

*Orden de trabajo N° 154580
Hoja 1 de 1*

NOMBRE DEL CLIENTE: Cristina Suárez
DIRECCIÓN: Panamá 159 y Rafael Miranda
FECHA DE RECEPCION: 24 de noviembre del 2015
MUESTRA: Compota de jícama 12 meses
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Pastoso color habano
ENVASE: Frasco de vidrio
FECHA DE TOMA DE MUESTRA: ----
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 24 de noviembre – 11 de diciembre del 2015
REFERENCIA: 154580
MUESTREADO: Por el cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 24 °C 32 % HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADOS
Inulina (%)	HPLC	1.85


Dr. Oscar Luzuriaga
PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO
Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412
e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec
www.labolab.com.ec Quito - Ecuador

Resultados de análisis físico, Químicos y Microbiológicos de las compotas de jícama (6 meses, 8 meses, 12 meses)



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.
Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	106 - 2015
Análisis solicitado por:	Srta. Cristina Suarez
Empresa:	No aplica
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	05 de octubre de 2015
Fecha de entrega informe:	07 de octubre de 2015
Ciudad:	Ibarra
Provincia:	Imbabura

#	Muestra	Lote #
1	Jícama 6 meses	No aplica
2	Jícama 8 meses	No aplica
3	Jícama 12 meses	No aplica

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados			Método de ensayo
		6 meses	8 meses	12 meses	
Humedad	g/100g	75,15	75,45	74,57	AOAC 925.10
Azúcares Reductores Libres	g/100g	8,70	6,92	9,01	AOAC 932.14C
Brix	—	24	24	24	AOAC 932.14C
pH	—	4,5	4,5	4,5	AOAC 981.12
Proteína Bruta	g/100g	3,40	3,49	4,0	AOAC 920.87
Extracto Etéreo	g/100g	2,70	3,20	2,72	AOAC 920.85
Cenizas	g/100g	1,0	0,77	1,18	AOAC 923.03
Fibra Bruta	g/100g	0,95	0,60	0,96	AOAC 932.14C
Carbohidratos totales	g/100g	17,40	17,10	17,53	Calculo
Calorías	Kcal/100g	110,06	111,14	110,60	Calculo
Acidez	g/100g	0,89	0,89	0,89	AOAC 954.07

Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas

Atentamente:

Bloq. José Luis Moreno
Técnico de Laboratorio



Visión Institucional
La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales.

Az. 17 de Julio 9-21 y José María
Córdova Barro El Olivo
Teléfono (06)2997900
Fax Ext. 7711
Email: unq@untn.edu.ec
www.untn.edu.ec
Ibarra - Ecuador



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.
Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	006 - 2016
Análisis solicitado por:	Srta. Cristina Suárez
Empresa:	No aplica
Muestreado:	No aplica
Fecha de recepción:	06 de enero de 2016
Fecha de entrega informe:	13 de enero de 2016
Ciudad:	Ibarra
Provincia:	Imbabura

Muestra: Compota de Jicama
No. de Lote No aplica
No. Unidades Analizadas No aplica

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado			Método de ensayo
		6 meses	8 meses	12 meses	
Recuento estándar en placa	UFC/g	110	120	130	AOAC 989.10
Recuento de mohos	UFC/g	< 10	< 10	< 10	AOAC 997.02
Recuento de levaduras	UFC/g	< 10	< 10	< 10	

Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas
Atentamente:

Bioq. José Luis Moreno
Técnico de Laboratorio



Visión Institucional

La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales.

Av. 17 de Julio S-21 y José María
Córdova Barrio El Olivo
Teléfono: (06)2997800
Fax: Ext. 7711.
Email: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec
Ibarra - Ecuador

ANEXO 7. Normas INEN

NTE INEN 2 337: 2008 Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales.

NTE INEN 2 337	2008-12
<p>4.3 Los principios de buenas prácticas de manufactura deben propender reducir al mínimo la presencia de fragmentos de cáscara, de semillas, de partículas gruesas o duras propias de la fruta.</p> <p>4.4 Los productos deben estar libres de insectos o sus restos, larvas o huevos de los mismos.</p> <p>4.5 Los productos pueden llevar en suspensión parte de la pulpa del fruto finamente dividida.</p> <p>4.6 No se permite la adición de colorantes artificiales y aromatizantes (con excepción de lo indicado en 4.7 y 4.9), ni de otras sustancias que disminuyan la calidad del producto, modifiquen su naturaleza o den mayor valor que el real.</p> <p>4.7 Únicamente a las bebidas de fruta se pueden adicionar colorantes, aromatizantes, saborizantes y otros aditivos tecnológicamente necesarios para su elaboración establecidos en la NTE INEN 2 074.</p> <p>4.8 Como acidificante podrá adicionarse jugo de limón o de lima o ambos hasta un equivalente de 3 g/l como ácido cítrico anhidro.</p> <p>4.9 Se permite la restitución de los componentes volátiles naturales, perdidos durante los procesos de extracción, concentración y tratamientos térmicos de conservación, con aromas naturales.</p> <p>4.10 Se permite utilizar ácido ascórbico como antioxidante en límites máximos de 400 mg/kg.</p> <p>4.11 Se puede adicionar enzimas y otros aditivos tecnológicamente necesarios para el procesamiento de los productos, aprobados en la NTE INEN 2 074, Codex Alimentario, o FDA o en otras disposiciones legales vigentes.</p> <p>4.12 Se permite la adición de los edulcorantes aprobados por la NTE INEN 2 074, Codex Alimentario, y FDA o en otras disposiciones legales vigentes.</p> <p>4.13 Sólo a los néctares de fruta pueden añadirse miel de abeja y/o azúcares derivados de frutas.</p> <p>4.14 Se pueden adicionar vitaminas y minerales de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1 334-2 y en las otras disposiciones legales vigentes.</p> <p>4.15 La conservación del producto por medios físicos puede realizarse por procesos térmicos: pasteurización, esterilización, refrigeración, congelación y otros métodos adecuados para ese fin; se excluye la radiación ionizante.</p> <p>4.16 La conservación de los productos por medios químicos puede realizarse mediante la adición de las sustancias indicadas en la tabla 15 de la NTE INEN 2 074.</p> <p>4.17 Los productos conservados por medios químicos deben ser sometidos a procesos térmicos.</p> <p>4.18 Se permite la mezcla de una o más variedades de frutas, para elaborar estos productos y el contenido de sólidos solubles (°Brix), será ponderado al aporte de cada fruta presente.</p> <p>4.19 Puede añadirse jugo obtenido de la mandarina <i>Citrus reticulata</i> y/o híbridos al jugo de naranja en una cantidad que no exceda del 10% de sólidos solubles respecto del total de sólidos solubles del jugo de naranja.</p> <p>4.20 Puede añadirse jugo de limón (<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. f. <i>Citrus limonum</i> Rissa) o jugo de lima (<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.), o ambos, al jugo de fruta hasta 3 g/l de equivalente de ácido cítrico anhidro para fines de acidificación a jugos no endulzados.</p> <p>4.21 Puede añadirse jugo de limón o jugo de lima, o ambos, hasta 5 g/l de equivalente de ácido cítrico anhidro a néctares de frutas.</p> <p>4.22 Puede añadirse al jugo de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> L) sal y especias así como hierbas aromáticas (y sus extractos naturales).</p>	(Continúa)

4.23 Se permite la adición de dióxido de carbono, mayor a 2 g/kg, para que al producto se lo considere como gasificado.

4.24 A las bebidas de frutas cuando se les adicione gas carbónico se las considerará bebidas gaseosas y deberán cumplir los requisitos de la NTE INEN 1 101.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos para los jugos y pulpas de frutas

5.1.1 El jugo puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.

5.1.2 La pulpa debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.

5.1.3 El jugo y la pulpa debe estar exento de olores o sabores extraños u objetables.

5.1.4 *Requisitos físico- químico*

5.1.4.1 Los jugos y las pulpas ensayados de acuerdo a las normas técnicas ecuatorianas correspondientes, deben cumplir con las especificaciones establecidas en la tabla 1.

5.2 Requisitos específicos para los néctares de frutas

5.2.1 El néctar puede ser turbio o claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta o frutas de las que procede.

5.2.2 El néctar debe estar exento de olores o sabores extraños u objetables.

5.2.3 *Requisitos físico - químicos*

5.2.3.1 El néctar de fruta debe tener un pH menor a 4,5 (determinado según NTE INEN 389).

5.2.3.2 El contenido mínimo de sólidos solubles (°Brix) presentes en el néctar debe corresponder al mínimo de aporte de jugo o pulpa, referido en la tabla 2 de la presente norma.

(Continúa)

TABLA 1. Especificaciones para los jugos o pulpas de fruta

FRUTA	Nombre Botánico	Sólidos Solubles ^{a)} Mínimo NTE INEN 380
Acerola	<i>Malpighia sp</i>	6,0
Albaricoque (Damasco)	<i>Prunus armeniaca</i> L.	11,5
Arándano (mirtilo)	<i>Vaccinium myrtillus</i> L. <i>Vaccinium corymbosum</i> L. <i>Vaccinium angustifolium</i>	10,0
Arazá	<i>Eugenia stipitata</i>	4,8
Babaco	<i>Carica pentagona</i> Heilb	5,0
Banano	<i>Musa, spp</i>	21,0
Borojo	<i>Borojoa spp</i>	7,0
Carambola (Grosella china)	<i>Averrhoa carambola</i>	5,0
Claudia ciruela	<i>Prunus domestica</i> L.	12,0
Coco (1)	<i>Cocos nucifera</i> L.	5,0
Coco (2)	<i>Cocos nucifera</i> L.	4,0
Durazno (Melocotón)	<i>Prunus pérsica</i> L.	9,0
Frutilla	<i>Fragaria spp</i>	6,0
Frambuesa roja	<i>Rubus idaeus</i> L.	7,0
Frambuesa negra	<i>Rubus occidentalis</i> L.	11,0
Guanábana	<i>Anona muricata</i> L.	11,0
Guayaba	<i>Psidium guajava</i> L.	5,0
Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	8,0
Litchi	<i>Litchi chinensis</i>	11,0
Lima	<i>Citrus aurantifolia</i>	4,5
Limón	<i>Citrus limon</i> L.	4,5
Mandarina	<i>Citrus reticulata</i>	10,0
Mango	<i>Mangifera indica</i> L.	11,0
Manzana	<i>Malus domestica</i> Borkh	6,0
Maracuyá (Parchita)	<i>Passiflora edulis</i> Sims	12,0
Marañón	<i>Anacardium occidentale</i> L.	11,5
Melón	<i>Cucumis melo</i> L.	5,0
Mora	<i>Rubus spp.</i>	6,0
Naranja	<i>Citrus sinnensis</i>	9,0
Naranjilla (Lulo)	<i>Solanum quitoense</i>	6,0
Papaya (Lechosa)	<i>Carica papaya</i>	8,0
Pera	<i>Pyrus communis</i> L.	10,0
Piña	<i>Ananas comosus</i> L.	10,0
Sandia	<i>Citrullus lanatus</i> Thunb	6,0
Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i> L.	18,0*
Tomate de árbol	<i>Cyphomandra betacea</i>	8,0
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> L.	4,5
Toronja (Pomelo)	<i>Citrus paradisi</i>	8,0
Uva	<i>Vitis spp</i>	11,0

^{a)} En grados Brix a 20 °C (con exclusión de azúcar)

- (1) Este producto se conoce como "agua de coco" el cual se extrae directamente del fruto sin exprimir la pulpa.
- (2) Es la emulsión extraída del endosperma (almendra) maduro del coco, con o sin adición de agua de coco

* Para extraer el jugo del tamarindo debe hacerse en extracción acuosa, lo cual baja el contenido de sólidos solubles desde 60 °Brix, que es su Brix natural, hasta los 18 °Brix en el extracto.

NOTA 1. Para las frutas que no se encuentran en la tabla el mínimo de grados Brix será el Brix del jugo o pulpa obtenido directamente de la fruta

(Continúa)

TABLA 2. Especificaciones para el néctar de fruta

FRUTA	Nombre Botánico	% Aporte de jugo de fruta	Sólidos Solubles ^{a)} Mínimo NTE INEN
Acerola	<i>Malpighia sp</i>	25	1,5
Albaricoque (Damasco)	<i>Prunus armeniaca</i> L.	40	4,6
Arándano (mirtilo,)	<i>Vaccinium myrtillus</i> L. <i>Vaccinium corymbosum</i> L. <i>Vaccinium angustifolium</i>	40	4,0
Arazá	<i>Eugenia stipitata</i>	*	*
Babaco	<i>Carica pentagona</i> Heilb	25	1,25
Banano	<i>Musa, spp</i>	25	5,25
Borojo	<i>Borojoa spp</i>	25	1,75
Carambola (Grosella china)	<i>Averrhoa carambola</i>	25	1,25
Claudia ciruela	<i>Prunus domestica</i> L.	50	6,0
Coco (1)	<i>Cocos nucifera</i> L.	25	1,25
Coco (2)	<i>Cocos nucifera</i> L.	25	1,0
Durazno (Melocotón)	<i>Prunus pérsica</i> L.	40	3,6
Frutilla	<i>Fragaria spp</i>	40	2,4
Frambuesa roja	<i>Rubus idaeus</i> L.	40	2,8
Frambuesa negra	<i>Rubus occidentalis</i> L.	25	2,75
Guanábana	<i>Anona muricata</i> L.	25	2,75
Guayaba	<i>Psidium guajava</i> L.	25	1,25
Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	*	*
Litchi	<i>Litchi chinensis</i>	20	2,24
Lima	<i>Citrus aurantifolia</i>	25	1,13
Limón	<i>Citrus limon</i> L.	25	1,13
Mandarina	<i>Citrus reticulata</i>	50	5,0
Mango	<i>Mangifera indica</i> L.	25	2,75
Manzana	<i>Malus domestica</i> Borkh	50	3,0
Maracuyá (Parchita)	<i>Passiflora edulis</i> Sims	*	*
Marañón	<i>Anacardium occidentale</i> L.	25	2,88
Melón	<i>Cucumis melo</i> L.	35	1,75
Mora	<i>Rubus spp</i>	30	1,8
Naranja	<i>Citrus sinnensis</i>	50	4,5
Naranjilla (Lulo)	<i>Solanum quitoense</i>	*	*
Papaya (Lechosa)	<i>Carica papaya</i>	25	2,0
Pera	<i>Pyrus communis</i> L.	40	4,0
Piña	<i>Ananas comosus</i> L.	40	4,0
Sandia	<i>Citrullus lanatus</i> Thunb	40	2,4
Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i> L.	*	*
Tomate de árbol	<i>Cyphomandra betacea</i>	25	2,0
Tomate	<i>Lycopersicum esculentum</i> L.	50	2,25
Toronja (Pomelo)	<i>Citrus paradisi</i>	50	4,0
Uva	<i>Vitis spp</i>	50	5,5
Otros:			
- Alto contenido de pulpa o aroma fuerte		25	--
- Baja acidez , bajo contenido de pulpa o aroma bajo a medio		50	--

* Elevada acidez , la cantidad suficiente para lograr una acidez mínima de 0,5 % (como ácido cítrico)
^{a)} En grados Brix a 20°C (con exclusión de azúcar)

(Continúa)

5.3 Requisitos específicos para los jugos y pulpas concentradas.

5.3.1 El jugo concentrado puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.

5.3.2 La pulpa concentrada debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.

5.3.3 El jugo y pulpa concentrado, con azúcar o no, debe estar exento de olores o sabores extraños u objetables.

5.3.4 El contenido de sólidos solubles (°Brix a 20 °C con exclusión de azúcar) en el jugo concentrado será por lo menos, un 50% más que el contenido de sólidos solubles en el jugo original (Ver tabla 1 de esta norma).

5.4 Requisitos específicos para las bebidas de frutas

5.4.1 En las bebidas el aporte de fruta no podrá ser inferior al 10 % m/m, con excepción del aporte de las frutas de alta acidez (acidez superior al 1,00 mg/100 cm³ expresado como ácido cítrico anhidro) que tendrán un aporte mínimo del 5% m/m

5.4.2 El pH será inferior a 4,5 (determinado según NTE INEN 389)

5.4.3 Los grados brix de la bebida serán proporcionales al aporte de fruta, con exclusión del azúcar añadida.

5.5 Requisitos microbiológicos

5.5.1 El producto debe estar exento de bacterias patógenas, toxinas y de cualquier otro microorganismo causante de la descomposición del producto.

5.5.2 El producto debe estar exento de toda sustancia originada por microorganismos y que representen un riesgo para la salud.

5.5.3 El producto debe cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 3, tabla 4, o con el numeral 5.5.4

TABLA 3. Requisitos microbiológicos para productos congelados

	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes NMP/cm ³	3	< 3	--	0	NTE INEN 1529-6
Coliformes fecales NMP/cm ³	3	< 3	--	0	NTE INEN 1529-8
Recuento de esporas clostridium sulfito reductoras UFC/cm ³ 1)	3	< 10	--	0	NTE INEN 1529-18
Recuento estándar en placa REP UFC/cm ³	3	1,0x10 ²	1,0x10 ³	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de mohos y levaduras UP/ cm ³	3	1,0x10 ²	1,0x10 ³	1	NTE INEN 1529-10

1) Para productos enlatados.

(Continúa)

TABLA 4. Requisitos microbiológicos para los productos pasteurizados

	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes NMP/cm ³	3	< 3	--	0	NTE INEN 1529-6
Coliformes fecales NMP/cm ³	3	< 3	--	0	NTE INEN 1529-8
Recuento estándar en placa REP UFC/cm ³	3	< 10	10	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de mohos y levaduras UP/ cm ³	3	< 10	10	1	NTE INEN 1529-10

En donde:

NMP = número más probable
 UFC = unidades formadoras de colonias
 UP = unidades propagadoras
 n = número de unidades
 m = nivel de aceptación
 M = nivel de rechazo
 c = número de unidades permitidas entre m y M

5.5.4 Los productos envasados asépticamente deben cumplir con esterilidad comercial de acuerdo a la NTE INEN 2 335

5.6 Contaminantes

5.6.1 Los límites máximos de contaminantes no deben superar lo establecido en la tabla 5

TABLA 5. Límites máximos de contaminantes

	Límite máximo	Método de ensayo
Arsénico, As mg/kg	0,2	NTE INEN 269
Cobre, Cu mg/kg	5,0	NTE INEN 270
Estaño, Sn mg/kg *	200	NTE INEN 385
Zinc, Zn mg/kg	5,0	NTE INEN 399
Hierro, Fe mg/kg	15,0	NTE INEN 400
Plomo, Pb mg/kg	0,05	NTE INEN 271
Patulina (en jugo de manzana)**, mg/kg	50	AOAC 49.7.01
Suma de Cu, Zn, Fe mg/kg	20	

* En el producto envasado en recipientes estañados
 ** La patulina es una micotoxina formada por una lactona hemiacetálica, producida por especies del género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Byssoclamys*.

5.7 Requisitos Complementarios

5.7.1 El espacio libre tendrá como valor máximo el 10 % del volumen total del envase (ver NTE INEN 394).

5.7.2 El vacío referido a la presión atmosférica normal, medido a 20 °C, no debe ser menor de 320 hPa (250 mm Hg) en los envases de vidrio, ni menor de 160 hPa (125 mm Hg) en los envases metálicos. (ver NTE INEN 392).

(Continúa)

6. INSPECCIÓN

- 6.1 Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN 378.
- 6.2 Aceptación o Rechazo.** Se aceptan los productos si cumplen con los requisitos establecidos en esta norma, caso contrario se rechaza.

7. ENVASADO Y EMBALADO

- 7.1** El material de envase debe ser resistente a la acción del producto y no debe alterar las características del mismo.
- 7.2** Los productos se deben envasar en recipientes que aseguren su integridad e higiene durante el almacenamiento, transporte y expendio.
- 7.3** Los envases metálicos deben cumplir con la NTE INEN 190, Codex Alimentario y FDA.

8. ROTULADO

- 8.1** El rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en la NTE INEN 1 334-1 y 1 334-2, y en otras disposiciones legales vigentes.
- 8.2** En el rotulado debe estar claramente indicada la forma de reconstituir el producto.
- 8.3** No debe tener leyendas de significado ambiguo, ni descripción de características del producto que no puedan ser comprobadas.

(Continúa)

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 190:1992	<i>Envases metálicos de sellado hermético para alimentos y bebidas no carbonatadas. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 269:1979	<i>Conservas vegetales. Determinación del contenido de arsénico</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 270:1979	<i>Conservas vegetales. Determinación del contenido de cobre</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 271:1979	<i>Conservas vegetales. Determinación del contenido de plomo</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 378:1979	<i>Conservas vegetales. Muestreo</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 380:1986	<i>Conservas vegetales. Determinación de sólidos soluble. Método refractométrico</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 385:1979	<i>Conservas vegetales. Determinación del contenido de estaño</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 389:1986	<i>Conservas vegetales. Determinación de la concentración del ión hidrógeno (pH)</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 394:1986	<i>Conservas vegetales. Determinación del volumen ocupado por el producto</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 399:1979	<i>Conservas vegetales. Determinación del contenido de zinc</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 400:1979	<i>Conservas vegetales. Determinación del contenido de hierro</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-1:2000	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2:2000	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5:199	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos REP</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-6:1990	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos conformes por la técnica del número más probable</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8:1990	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de conformes fecales y escherichia coli</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10:1998	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de mohos y levaduras viables</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-18:1998	<i>Control microbiológico de los alimentos. Clostridium perfringens. Recuento en tubo por siembra en masa</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074:1996	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos</i>
AOAC 49.7.01	<i>Patulin in Apple juice. Thin layer Chromatographic Method 974.18 18th Edition 2005</i>
Programa conjunto FAO/OMS CODEX ALIMENTARIUS	<i>Volumen 2 Residuos de plaguicidas en los alimentos.</i>
EDA Part 193. Tolerances for pesticides in food.	<i>Administered by environmental protection agency.</i>
Principios de Buenas prácticas de manufactura.	

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma técnica colombiana NTC 404	<i>Frutas procesadas. Jugos y pulpas de frutas, Bogotá 1998</i>
Norma técnica colombiana NTC 1364	<i>Frutas procesadas. Concentrados de frutas, Bogotá 1996</i>
Norma técnica colombiana NTC 659	<i>Frutas procesadas. Néctares de frutas, Bogotá 1996</i>

Norma Técnica obligatoria Nicaragüense, NTON 03 043 – 03 *Norma de especificaciones de néctares, jugos y bebidas no carbonatadas*. Managua, 2003

Code of Federal Regulations, Food and Drugs Administration FDA Part 146 Last updated: July 27, 2005

CODIGO ALIMENTARIO ARGENTINO Capítulo XII Artículo 1040 - (Res 2067, 11.10.88) hasta Artículo 1051 - (Res 2067, 11.10.88), Actualizado al 2003

Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (actualizado a agosto del 2006) TITULO XXVII DE LAS BEBIDAS ANALCOHOLICAS, JUGOS DE FRUTA Y HORTALIZAS Y AGUAS ENVASADAS Párrafo I de las bebidas analcohólicas ARTÍCULO 480, Santiago, 2006

Programa Conjunto FAO/OMS Norma general del Codex para zumos (jugos) y néctares de frutas (CODEX STAN 247-2005)

Programa conjunto FAO/OMS General Standard for food additives *Codex Stan 192-1995* (Rev. 6-2005)

Norma Técnica Ecuatoriana INEN 3078: 2015 Purés en conserva requisitos



Quito – Ecuador

NORMA
TÉCNICA
ECUATORIANA

NTE INEN 3078

PURÉS EN CONSERVA. REQUISITOS.

PUREE. REQUERIMENTS

DESCRIPTORES: frutas, productos derivados, puré, vegetales, productos elaborados a base de frutas y vegetales
ICS: 67.080.01

4
Páginas

Norma Técnica Ecuatoriana	PURÉS EN CONSERVA. REQUISITOS	NTE INEN 3078 :2015
---------------------------------	-------------------------------	------------------------

1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos del puré de frutas y el puré de hortalizas en conserva, listos para el consumo.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos en su totalidad o en parte, son referidos en este documento y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN 382, *Conservas vegetales. Determinación de materia seca (sólidos totales)*

NTE INEN 1334-1, *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos*

NTE INEN 1334-2, *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos*

NTE INEN 1334-3 *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 3. Requisitos para declaraciones nutricionales y declaraciones saludables*

NTE INEN 1529-5, *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. Por Recuento Estándar en Placa*

NTE INEN 1529-12, *Control microbiológico de los alimentos. Recuento de hifas de mohos*

NTE INEN 1529-17, *Control microbiológico de los alimentos. Bacterias anaerobias mesófilas. Recuento en tubo por siembra en masa*

NTE INEN-ISO 1842, *Productos vegetales y de frutas. Determinación de pH (IDT)*

NTE INEN ISO 2859-1, *Procedimientos de muestreo para inspección por atributos. Parte 1: programas de muestreo clasificados por el nivel aceptable de Calidad (AQL) para inspección lote a lote*

NTE INEN-ISO 7558, *Guía para el envasado de frutas y hortalizas (ISO 7558:1998 IDT)*

NTE INEN-OIML R 87, *Cantidad de producto en envase*

CP INEN CODEX 1, *Principios generales de higiene de los alimentos*

NTE INEN-CODEX 192, *Norma General del Codex para los aditivos alimentarios*

CPE INEN-CODEX CAC/GL 10, *Listas de referencia de compuestos de nutrientes para su utilización en alimentos para fines dietéticos especiales destinados a los lactantes y niños pequeños*

3. DEFINICIONES

3.1 Puré de fruta en conserva. Alimento que se prepara con fruta entera o pelada cocida o no cocida y triturada hasta conseguir una pasta, que es tratada térmicamente de manera apropiada, antes o después de haber sido cerrada herméticamente en un envase para evitar su deterioro.

3.2 Puré de hortalizas en conserva. Alimento que se prepara con hortalizas cocidas y trituradas hasta conseguir una pasta, que es tratada térmicamente de manera apropiada, antes o después de haber sido cerrada herméticamente en un envase para evitar su deterioro.

4. REQUISITOS

4.1 El puré en conserva debe cumplir con los siguientes requisitos:

4.1.1 Elaborarse a partir de fruta u hortaliza en buen estado, debidamente madura y fresca, o conservada por procedimientos físicos o químicos.

4.1.2 Debe tener textura fina y uniforme, debe tener un tamaño de partículas que no requiera o incite a la masticación.

4.1.3 Debe presentar un aspecto homogéneo con características organolépticas propias del producto.

4.1.4 Se debe preparar y manipular de conformidad con lo establecido en el CP INEN CODEX 1.

4.1.5 Las vitaminas y los minerales que se le añadan deben seleccionarse del CPE INEN-CODEX CAC/GL 10.

4.1.6 Debe almacenarse y transportarse en ambientes secos y bien ventilados.

4.1.7 Debe ser tratado térmicamente o esterilizado comercialmente, cumpliendo los tiempos y temperaturas apropiadas con el fin de eliminar microorganismos patógenos y los que causan recontaminación del producto. Este tratamiento puede ser antes o después de haber sido cerrado herméticamente en un envase.

4.1.8 Debe reportar ausencia en el análisis de: mohos determinados según la NTE INEN 1529-12, anaerobios mesófilos según la NTE INEN 1529-5 y aerobios mesófilos determinados con la NTE INEN 1529-17.

4.1.10 En el puré se debe utilizar los aditivos permitidos y en las cantidades especificadas en NTE INEN-CODEX 192.

4.1.11 Debe cumplir con los requisitos físicos y químicos de la Tabla 1.

TABLA 1. Requisitos físicos y químicos para el puré de frutas y hortalizas

Requisitos	Puré de frutas		Puré de vegetales		Método de ensayo
	Min	Max	Min	Max	
Sólidos totales (fracción másica en %)	15	21,5	8	—	NTE INEN 382
pH	—	4,6	—	5,4	NTE INEN-ISO 1842

5. INSPECCIÓN

5.1 Para la determinación de la cantidad de muestras puede realizarse de acuerdo a la NTE INEN ISO 2859-1 y la NTE INEN 2859-2.

5.2 Aceptación o rechazo.

Si el producto cumple con los requisitos especificados en esta norma el lote es aprobado.

6. ENVASADO Y EMBALAJE

6.1 El puré debe expendirse en envases higiénicos completamente cerrados, que aseguren la adecuada conservación y calidad del producto.

6.2 El embalaje del puré debe hacerse en condiciones que mantenga las características del envase y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento, transporte y expendio.

6.3 Los requisitos de cantidad de producto en paquetes y sus tolerancias deben estar de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN-OIML R 87.

7. ROTULADO

El rotulado del producto debe cumplir con los requisitos señalados en la norma NTE INEN 1334-1, NTE INEN 1334-2 y NTE INEN 1334-3.

APÉNDICE Z

BIBLIOGRAFIA

NOM-173-SCFI-2009: 2009, *Jugo de frutas preenvasadas. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y método de prueba*

COVENIN 2005:1994, *Alimentos colados y picados, envasados para lactantes*

NMX-F-460-1986:1986, *Alimentos para infantes y niños de corta edad. Frutas coladas y picadas*

ITINTEC 203.106:1985, *Compota de manzanas*

NMX-F-033-1982:1982, *Alimentos para humanos. Puré de tomate envasado*

CODEX STAN 17-1981:1981, *Norma del Codex para el puré de manzanas en conserva*

CODEX STAN 57-1981:1981, *Norma del Codex para el concentrado de tomate elaborado*

PROYECTO A2

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: TÍTULO: PURÉS EN CONSERVA. REQUISITOS. Código ICS:
NTE INEN 3078 67.080.10

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio: 2015-11-10	REVISIÓN: La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma Oficialización con el Carácter de por Resolución No. publicado en el Registro Oficial No. Fecha de iniciación del estudio: 2015-11-10
---	---

Fechas de consulta pública:

Comité Técnico de: Frutas y hortalizas elaboradas
Fecha de iniciación: Fecha de aprobación:
Integrantes del Comité:

NOMBRES: INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

Otros trámites: Esta norma NTE INEN 3078:2015 reemplaza a la NTE INEN 2009:2013

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma

Oficializada como: Por Resolución No. Registro Oficial No.

PROYECTO A2