

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA**



**“Obtención de un alimento funcional probiótico, estilo dip, de semilla de
jícara enriquecido con *Bacillus clausii*”**

TRABAJO DE DIPLOMA PRESENTADO POR:

Br. Katherine Guadalupe Rivera Romero

Br. Sofía Stephanie Loáisiga Roque

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO**

TUTOR:

Msc. Ing. Johana Lisseth O'Connor Mendoza

Managua, Nicaragua

Octubre, 2023

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía, por sus bendiciones y por brindarme la fortaleza para mantenerme firme en todos los retos que se me han presentado.

A mi abuela, Amparo Dávila, por su inmenso cariño, apoyo incondicional y sabios consejos, por acogerme como a una hija y transmitirme sus principios y valores, le agradezco por motivar mis sueños y ser ese pilar que siempre me ha sostenido.

A mi tía, Luz María Rivera, por ser mi ejemplo a seguir, por ser mi mentora en mi primera experiencia laboral, por aconsejarme, exigirme y confiar en mí, hasta el cielo tía.

K. Rivera.

Dios, nunca me ha abandonado, su gracia y bendición siempre me acompaña.

Mis padres, Carlos Loáisiga y Dámaris Roque, con gran esfuerzo aprendieron a soltar y su apoyo sin condición es uno de mis mayores pilares.

Itzel, hija mía, el catalizador positivo que no sabía que le faltaba a mi vida, espero me superes siempre.

Profe Lic. María Luisa Mendoza, me enseñaste a amar los estudios, gracias por hacerme creer en mí.

S. Loáisiga Roque.

AGRADECIMIENTO

*Recibid mi enseñanza y no plata; Y ciencia antes que el oro escogido.
Porque mejor es la sabiduría que las piedras preciosas; Y todo cuanto se
puede desear, no es de compararse con ella.
Proverbios capítulo 8, versículos 10-11*

*Agradecemos a Dios todo poderoso, por permitirnos culminar esta etapa
tan importante para nuestro desarrollo profesional, porque durante
nuestra vida universitaria nos mantuvo con vida, con pan en la mesa y
nos permitió conocer personas que siempre vamos a atesorar en nuestro
corazón.*

*A nuestras familias, por motivarnos a ser mujeres profesionales, por
aconsejarnos y darnos la oportunidad de comenzar a estudiar esta
hermosa carrera universitaria.*

*A los profesores de la Facultad de Ingeniería Química, por transmitir su
conocimiento, porque durante este trayecto universitario nos enseñaron a
enamorarnos de esta maravillosa carrera universitaria.*

*Al profesor Onell Morales, por apoyarnos en las pruebas a realizar y por
permanecer hasta tarde en el laboratorio de Operaciones Unitarias para
darnos la oportunidad de avanzar en nuestro tema monográfico.*

*A la profesora Msc. Johanna O'Connor, porque desde que la conocimos nos
contagió con su entusiasmo, por el acompañamiento en horarios
extralaborales, por el esfuerzo, paciencia y motivación, gracias por ser
nuestra mentora e impulsarnos para poder culminar nuestra tesis.*

K. Rivera Romero y S. Loáisiga Roque

OPINIÓN DEL TUTOR

El presente trabajo de diploma titulado “Obtención de un alimento funcional probiótico, estilo dip, de semilla de jícara enriquecido con *Bacillus clausii*” realizado en la Universidad Nacional de Ingeniería, ha sido desarrollado por las bachilleras: Katherine Guadalupe Rivera Romero y Sofía Stephanie Loáisiga Roque, quienes identificaron que existe un mercado creciente para alimentos que contienen bacterias probióticas y una amplia variedad de cepas probióticas se están añadiendo principalmente a productos lácteos, aunque cada vez más se están incorporando en otros alimentos, como jugos, barras de granola, chocolates y cereales.

El desarrollo de nuevos alimentos probióticos y a base de un producto autóctono, como es la semilla de jícara, brinda una nueva visión hacia la búsqueda de valor agregado, incorporando alternativas biotecnológicas con alto valor de mercado.

Con los resultados obtenidos en este estudio, las graduadas aportan a la política de investigación, innovación y tecnologías productivas de Nicaragua 2022-2023, que orienta a la generación de insumos biológicos y postcosecha; que aporten al incremento de la productividad, la agregación de valor y la transformación de la producción agropecuaria. En cada etapa de esta propuesta, las graduadas, pudieron demostrar los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera de Ingeniería Química, aplicaron lo aprendido en materias como: química general, química orgánica, análisis instrumental, fundamento de los procesos biológicos, balance de materia y energía, procesos industriales, química de los alimentos, entre otras, demostrando su capacidad de poner este conocimiento al servicio del desarrollo del país.

Por lo antes expuesto, el presente Trabajo de Diploma, reúne los requisitos para ser sometido ante el correspondiente Tribunal Examinador, a quienes se les solicita valorar de manera positiva la contribución de los autores de manera pertinente, técnico-práctico y resolutivo a problemas reales que enfrentan la industria y sociedad nicaragüense.

MSc. Johana Lisseth O’Connor Mendoza

Tutor del Trabajo de Diploma

Managua, octubre 2023

RESUMEN

Esta monografía aborda la obtención de un alimento funcional probiótico, estilo dip, de semilla de jícara enriquecido con *Bacillus clausii*, se describe el proceso de obtención de la harina de semilla de jícara, la formulación de diferentes variables para la obtención del producto final, la caracterización, determinación de las propiedades fisicoquímicas del producto intermedio y la identificación de la bacteria *Bacillus clausii* en el producto terminado.

Los alimentos probióticos son una estrategia innovadora ya que los consumidores buscan opciones que ofrezcan beneficios adicionales para la salud más allá de la nutrición básica, la obtención de este alimento funcional incorpora la semilla de jícara que es un producto autóctono, considerado como un alimento con alto valor nutritivo y de bajo costo de adquisición en el país. Esta semilla es reconocida por su alto valor nutritivo y su accesibilidad económica, lo que la convierte en una pieza fundamental para abordar los desafíos actuales en la agricultura y la seguridad alimentaria.

El proceso de obtención de la harina de semilla de jícara y la formulación del producto final se realizaron garantizando que ninguna de las etapas represente un riesgo para la salud del consumidor. Con la finalización exitosa de las pruebas y la obtención de los resultados de las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas, hemos generado un valioso registro, este registro no solo documenta nuestros hallazgos, sino que también se convierte en una referencia esencial para futuras investigaciones relacionadas con esta materia prima.

Los resultados obtenidos demuestran el alto valor nutritivo de esta semilla autóctona evaluada, un contenido proteico de 21.25 % y un porcentaje de grasa de 44.75% convierte a la harina de semilla de jícara en una opción altamente nutritiva. Estos porcentajes representan una excelente fuente de proteínas para el crecimiento y reparación celular, así como un buen porcentaje de grasas para obtener energía y promover una buena salud. Incorporar esta harina en nuestra dieta puede ser beneficioso para mantener una alimentación balanceada y saludable.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	III
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo General	3
2.2 Objetivos Específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1 Generalidades de los alimentos funcionales probióticos.	4
3.1.1 Definición	4
3.1.2 Origen	4
3.1.3 Regulación para el uso de probióticos en alimentos	5
3.2 Alimentos tipo Dips	6
3.2.1 Definición	6
3.2.2 Denominación de origen	6
3.3 Semilla de jícara	6
3.3.1 Fenología del árbol de jícara	7
3.3.2 Extracción de la semilla de jícara	7
3.3.3 Propiedades de la semilla de jícara	8

3.3.4	Harina de semilla de jícaro.....	9
3.4	Bacteria <i>Bacillus clausii</i>	10
3.4.1	Farmacocinética.....	11
3.4.2	Mecanismo de resistencia	11
3.5	Caracterización de los alimentos.....	11
3.5.1	Propiedades fisicoquímicas.....	12
3.5.2	Propiedades microbiológicas	14
IV.	MATERIALES Y MÉTODO	15
4.1	Ubicación de la elaboración y análisis del producto	15
4.2	Variables de formulación para la obtención del producto final.	15
4.2.1	Obtención de harina de semilla de Jícaro	16
4.3	Formulación del dip de semilla de jícaro	19
4.3.1	Variantes de formulación con harina de semilla de jícaro.	20
4.3.2	Balance de materia para obtención de harina de semilla de jícaro	
	21	
4.4	Determinación de las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del producto intermedio y producto terminado.	22
4.4.1	Caracterización mediante Espectro IR.....	22
4.4.2	Determinación de Cenizas totales.....	23
4.4.3	Determinación de humedad por termogravimetría.....	23
4.4.4	Determinación de Grasa.....	24

4.4.5	Determinación de Proteínas por el método Kjeldahl	25
4.4.6	Identificación y cuantificación de microorganismos a través del sistema VITEK.	27
4.5	Análisis sensorial del Dip de semilla de jícara enriquecido con <i>Bacillus clausii</i>	29
V.	PRESENTACIÓN Y DISCUSION DE RESULTADOS	30
5.1	Balance de materia.....	30
5.1.1	Rendimiento de harina de semilla de jícara	30
5.2	Propiedades fisicoquímicas de la harina de semilla de jícara	31
5.2.1	Caracterización de la harina de semilla de jícara por espectro IR 31	
5.2.2	Resultados de la determinación de Cenizas totales	33
5.2.3	Resultados de la determinación de humedad	33
5.2.4	Contenido de Grasa en harina de semilla de jícara	33
5.2.5	Contenido de proteínas en la harina de semilla de jícara	33
5.2.6	Identificación y cuantificación de microorganismos en el dip de semilla de jícara.	34
5.3	Análisis sensorial del producto terminado	35
5.3.1	Resultados de pruebas sensoriales realizadas al Dip de semilla de jícara enriquecido con <i>Bacillus clausii</i>	35
VI.	CONCLUSIONES.....	36
VII.	RECOMENDACIONES	37

VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	38
IX. ANEXOS	45

I.INTRODUCCIÓN

La semilla de jícaro presenta alto contenido en proteínas, grasas insaturadas, es rica en ácido graso y su capacidad antioxidante, razón por la cual representó a Nicaragua en el proyecto “Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas (ProInfant)”, cuyo objetivo es desarrollar alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para paliar carencias nutricionales crónicas y problemas de salud en poblaciones infantiles iberoamericanas desfavorecidas. La intención de introducir alimentos probióticos es mejorar el estado de salud mediante la inclusión de componentes beneficiosos a la materia prima nativa (Ruas-Madiedo, *et al.*, 2018).

Existe un mercado creciente para alimentos que contienen bacterias probióticas y una amplia variedad de cepas probióticas se están añadiendo principalmente a productos lácteos, aunque cada vez más se están incorporando en otros alimentos, como jugos, barras de granola, chocolates, cereales, etc. La capacidad de las cepas probióticas para sobrevivir a las condiciones encontradas en los procesos de fabricación industriales (temperatura, pH, oxígeno disuelto, concentración de azúcar, etc.) es el principal obstáculo que los fabricantes de alimentos deben superar (Villanueva, 2015).

En Nicaragua existe una gran variedad de especies de jícaro, cuyo uso en la agroindustria está bastante limitado; es común utilizarlo en la elaboración artesanal de cereales que contienen semilla de jícaro, frescos combinados con leche, en el campo de la alimentación animal y medicina domiciliar o casera, sin embargo, actualmente no existen registros de áreas específicas con manejo para el aprovechamiento comercial (MEFCCA, 2023).

En el año 2004 el Consejo Nicaragüense de Ciencia y Tecnología CONICYT extendió a la empresa JICARO S.A. ubicada en la comunidad de los Zarzales León el primer premio de innovación para el desarrollo humano, esta empresa surgió con el interés del procesamiento del jícaro como fuente alimenticia y energética para los trópicos, realizó la introducción de nuevos productos para el aprovechamiento del jícaro, convirtiéndolo en la principal materia prima utilizada para la elaboración de galletas, bebidas, aceites vegetales, carbón y pequeñas cantidades de combustibles para vehículos con motor diesel (CARRASCO, 2017).

La semilla de jícaro es un producto autóctono que ha sido parte de la gastronomía nicaragüense, considerado como un alimento con alto valor nutritivo y de bajo costo de adquisición, es utilizado en la elaboración de cereales, galletas, licor y refrescos, sin embargo, su uso siempre ha sido de manera artesanal. El aprovechamiento potencial de esta materia prima representaría un nuevo rubro de ingresos mucho más significativos para las familias rurales, cuyas fincas cuentan con plantaciones silvopastoriles de jícaro, ya que la semilla de jícaro al contar una demanda industrial aumentaría su valor de mercado durante su acopio.

Con nuestra formación como ingenieros químicos hemos presentado un tema que sirva como guía a emprendedores nacionales que tengan el propósito de industrializar la semilla de jícara, que en combinación con otros insumos regionales y la adición de bacterias benéficas como los probióticos *Bacillus clausii* dé como resultado un alimento funcional con propiedades probióticas, que pueda ser comercializado a nivel nacional e internacional, de esta manera sentar las bases para la formación de una cadena de valor que ofrezca productos procesados con alto valor nutricional y que además genere futuros empleos, altamente tecnificados, que den respuesta a la problemática de las exportaciones de materia prima sin ningún valor agregado.

II.OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Obtener un alimento funcional tipo probiótico, estilo dip, con semilla de jícara (*Crescentia alata HBK*) enriquecido con *Bacillus Clausii* que realce el valor de semillas autóctonas nicaragüenses.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las propiedades fisicoquímicas tales como: proteína, contenido graso, cenizas totales y humedad, así como los grupos funcionales presentes en la harina.
- Evaluar diferentes formulaciones a escala laboratorio de un dip de semilla de jícara enriquecido con *Bacillus Claussi*, determinando el rendimiento de la materia prima.
- Identificar la actividad de la bacteria *Bacillus Claussi* en el producto terminado y su aporte a las propiedades organolépticas de las diferentes formulaciones para la obtención del producto terminado.

III.MARCO DE REFERENCIA

3.1 Generalidades de los alimentos funcionales probióticos.

Los alimentos funcionales probióticos además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueden tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo en el huésped. A través de la investigación científico-tecnológica de estas propiedades se han logrado optimizar los procesos de elaboración de alimentos funcionales que contienen este tipo de cultivo lácticos, así como conocer los mecanismos por los cuales estas bacterias ejercen su efecto benéfico en el huésped (TARANTO, 2005).

3.1.1 Definición

Se consideran alimentos funcionales aquellos que, con independencia de aportar nutrientes, han demostrado científicamente que afectan beneficiosamente a una o varias funciones del organismo, de manera que proporcionan un mejor estado de salud y bienestar. Estos alimentos, además, ejercen un papel preventivo ya que reducen los factores de riesgo que provocan la aparición de enfermedades. Entre los alimentos funcionales más importantes se encuentran los alimentos enriquecidos (Aranceta, 2008).

Los probióticos son considerados alimentos funcionales, y se definen, como aquellos que contienen un componente, sea o no un nutriente, que afecta una o varias funciones del organismo en forma específica y positiva, promoviendo un efecto fisiológico que va más allá de su valor nutritivo tradicional (ANMAT 2021).

3.1.2 Origen

El origen del consumo de alimentos probióticos, debido a los beneficios que presentan para la salud, data de principios del siglo XX. En 1908, el científico ruso y premio Nobel de Fisiología Iliá Méchnikov postuló que las bacterias ácido-lácticas ofrecían beneficios para la salud que llevaban a la longevidad al observar que los campesinos en Bulgaria gozaban de una vida longeva y saludable, gracias al consumo de yogur y otros productos lácteos fermentados. Sugirió que la “autointoxicación intestinal” y el envejecimiento resultante podrían suprimirse modificando la flora intestinal y utilizando microbios útiles para sustituir a los microbios proteolíticos como el Clostridium (productores de sustancias tóxicas que surgen de la digestión de proteínas, entre las que se encuentran fenoles, índoles y amoníaco) por microbios útiles (Villanueva, 2015).

Después, en la década de los años 50 la Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció programas de enriquecimiento de alimentos para luchar contra la desnutrición en las zonas más desfavorecidas; En 1984 el concepto de alimentos funcionales fue inventado en Japón, por científicos que estudiaban la relación entre nutrición, satisfacción sensorial y “fortificación”, como elementos para favorecer aspectos específicos para la salud, más tarde en la década de los 90 en Europa se introdujeron los alimentos funcionales como consecuencia de un nuevo estilo de vida asociado a la vida laboral, un aumento del poder adquisitivo y la innovación en la industria alimentaria (UNED, 2023).

3.1.3 Regulación para el uso de probióticos en alimentos

Existe un documento del CODEX ALIMENTARIUS en el que se abordó el debate sobre las directrices armonizadas sobre el uso de probióticos en alimentos y complementos alimenticios; El observador de la International Probiotics Association (IPA) presentó este tema y propuso que se elaboraran directrices sobre los probióticos dentro de un marco armonizado a fin de garantizar y mantener la calidad de los productos probióticos a escala mundial. Dicha propuesta aparece recogida en el documento NFSDU/39 CRD/3, aunque en este documento no existe una lista de probióticos autorizados en la elaboración de alimentos, se abordaron los requisitos para la evaluación de probióticos, como: inocuidad, producción, contaminantes, higiene y etiquetado (CODEX, 2018).

Los microorganismos probióticos utilizados en los alimentos deberían ser capaces no sólo de sobrevivir al paso por el aparato digestivo, sino también de proliferar en el intestino. Esto significa que deberían ser resistentes a los jugos gástricos y poder crecer en presencia de bilis, en las condiciones existentes en los intestinos, o ser consumidos en un alimento que, actuando como vehículo, les permita sobrevivir al paso por el estómago y a la exposición a la bilis (OMS/FAO, 2006).

Deberán aplicarse buenas prácticas de fabricación con garantía de la calidad, y establecerse las condiciones durante el período de conservación. El etiquetado deberá ser claro e incluir la dosis mínima y unas declaraciones verificables de propiedades saludables; Por otra parte, se debería mantener la viabilidad y la actividad probiótica durante todo el proceso de elaboración, manipulación y almacenamiento del producto alimenticio que contiene el probiótico, verificándolas cuando concluya el período de conservación (OMS/FAO, 2006).

Con el objetivo de que los probióticos puedan proporcionar beneficios a la salud, es requisito que las cepas probióticas cuenten con una matriz específica que garantice su óptima supervivencia a lo largo del tracto gastrointestinal. Los lácteos constituyen un vehículo eficiente para los microorganismos probióticos al ser un medio de cultivo ideal para la multiplicación bacteriana, además, de proteger al huésped de los elevados niveles de ácido que tiene el estómago (CONDE, 2019).

3.2 Alimentos tipo Dips

Los Dips pueden ser fabricados a base de vegetales, legumbres, semillas y especias, de manera que contribuyen al buen funcionamiento del sistema digestivo, aportan nutrientes, vitaminas minerales y fibra a quien los consume, además se pueden combinar varios sabores; presentan una consistencia cremosa y fácil de untar debido a que las materias primas utilizadas en su elaboración han sido procesadas y trituradas hasta lograr una mezcla homogénea u no homogénea dependiendo del gusto del consumidor (López, 2022).

3.2.1 Definición

Dip Es un vocablo inglés que significa, entre otras acepciones, sumergir, mojar, o la acción correspondiente, según el Cambridge Dictionary. Es una preparación en la que se sumerge o moja otro alimento para degustarla, similar a una salsa y, a veces, parecida a un puré, lo que define al dip en gastronomía es la forma de consumirlo ayudándose de otro alimento, generalmente menos sávido, sostenido con la mano, generalmente el dip es la preparación principal y el alimento instrumental es lo complementario, es una preparación para consumir fría (Hernández, 2022)

3.2.2 Denominación de origen

Hummos, mutabbal y babaganush son preparaciones del Mediterráneo oriental que existen antes de que los dips se hayan definido como tales, son preparaciones tipo puré ligero que tienen en común uno de sus ingredientes principales: la pasta de ajonjolí, conocida como tahine; Existen diferentes dips cuyos lugares de origen no necesariamente se consumen de la manera informal, en Grecia se prepara el taramasalata y en México el guacamole, que etimológicamente significa salsa de aguacate en lengua indígena. No todas las declinaciones que se realizan son recetas tradicionales, se encuentran variaciones e innovaciones que se derivan de las mismas (Paladar, 2017)

3.3 Semilla de jícara

La *crescentia alata* y *crescentia cujete*, conocida en nuestro país como semilla de jícara, planta tropical cultivada en México, Centroamérica y el caribe. En Nicaragua esta fruta tropical crece de forma silvestre sobre todo en tierras llanas y arcillosas, en la zona seca del pacífico, y no necesita fertilizantes artificiales ni insecticidas para desarrollarse, además existe en abundancia, expresó - al programa de TV "La ciencia en tus manos"- la PhD. Lesbia Hernández Somarriba, responsable de investigación de proyectos estratégicos en el programa Iberoamericano de ciencia y tecnología (CYTED), instancia que es coordinada en

Nicaragua por el consejo nicaragüense de ciencia y tecnología (CONICYT) (CONICYT, 2023)



Figura 1. Semilla de jícara *crescentia alata*, fuente (MEFCCA, 2023)

3.3.1 Fenología del árbol de jícara

Aunque se trata de árboles frecuentes en ciertas áreas del bosque tropical seco y ocasionalmente se cultivan, sobre todo como ornamentales, en realidad existe poca información acerca del desarrollo fenológico de las dos especies que habitan en Costa Rica. Por eso, realizaron un estudio para caracterizar la fenología de una de ellas, *C. alata*, en el bosque tropical seco de este país. Los resultados más relevantes de este estudio indican que en Guanacaste *Crescentia alata* produce mayor follaje en junio, máxima floración en junio y octubre, y mayor número de frutos maduros en enero. Estos datos podrían ser relevantes para la propagación, el manejo y la conservación de esta especie (Valverde; *et al* 2019).

3.3.2 Extracción de la semilla de jícara

Para la extracción de la semilla de jícara, se debe cosechar el fruto con cierto grado de madurez, determinado por la textura de la cáscara y la coloración de esta, la cual se torna verde amarillenta y rígida, posteriormente se deja reposar de 10 a 15 días en un ambiente ventilado y con baja humedad para evitar la proliferación de hongos que dañen el producto y alcance suficiente madurez. Durante esta etapa, el fruto se torna café oscuro. El manejo postcosecha es sencillo:

Recolección de materia prima: Proceso que requiere de mano de obra necesaria para la recolección

Almacenamiento del fruto: Debe de ser en condiciones idóneas de baja humedad, aeración y temperatura media.

Extracción de pulpa: Se quiebra la cáscara que protege la pulpa y semilla y se prosigue a retirar la pulpa.

Se fragmenta la cáscara manualmente con ayuda de instrumento o cuchillo filoso y se extrae la pulpa utilizando cucharas de hierro, quedando una pelota formada por pulpa y semilla.

Se mezcla la pulpa ya extraída con agua, dejándola en reposo y por diferencia de densidad la semilla reposa en el fondo y la pulpa y las semillas vanas quedan en la superficie del agua lo que permite separarlo. La pulpa extraída se coloca en sacos de polipropileno. Si la pulpa es obtenida de jícáros amarillentos su fermentación es de 5-7 días. Durante el proceso de fermentación se producen gases que hace que el saco se hinche y produzca un líquido oscuro al que le llaman lejía; si la pulpa proviene de jícáros ya fermentados su proceso es de 2 días como máximo.

Secado de pulpa: Este proceso se realiza por un lapso de 48 horas a una temperatura constante de 35°C. El secado se realiza en horno de secado con duración de 2 horas máximo con temperatura de 80°C. Otro mecanismo implementado es el patio de secado o plástico negro, este va en dependencia del clima, si es un día soleado tarda 2 días en secarse en jornadas de 12 horas y si está nublado tarda aproximadamente 3 días (MEFCCA, 2023)

3.3.3 Propiedades de la semilla de jícaro

En las semillas de los frutos se analizó el contenido de proteínas, ácidos grasos, fibra dietética, fitatos, polifenoles, taninos, tocoferoles, azúcares, minerales, aminoácidos e inhibidores de tripsina. Los cotiledones de jícaro contenían $43,6 \pm 1,15$ g de proteína/100 g y $38,0 \pm 0,20$ g de grasa/100 g (peso seco), lo que es comparable con la mayoría de las semillas ricas en proteínas y oleaginosas. Entre los lípidos, el 77,6% fueron ácidos grasos insaturados, en particular el ácido oleico, y los aminoácidos esenciales representaron el $16,0 \pm 0,9\%$ (peso seco) de la fracción proteica, que es similar al contenido de aminoácidos de la soja. La actividad inhibidora de tripsina de la semilla de jícaro

fue baja (0.1 unidades inhibitoras de tripsina TIU/mg), lo que mejora la digestibilidad de sus proteínas (Corrales, C.V; et al, 2017).

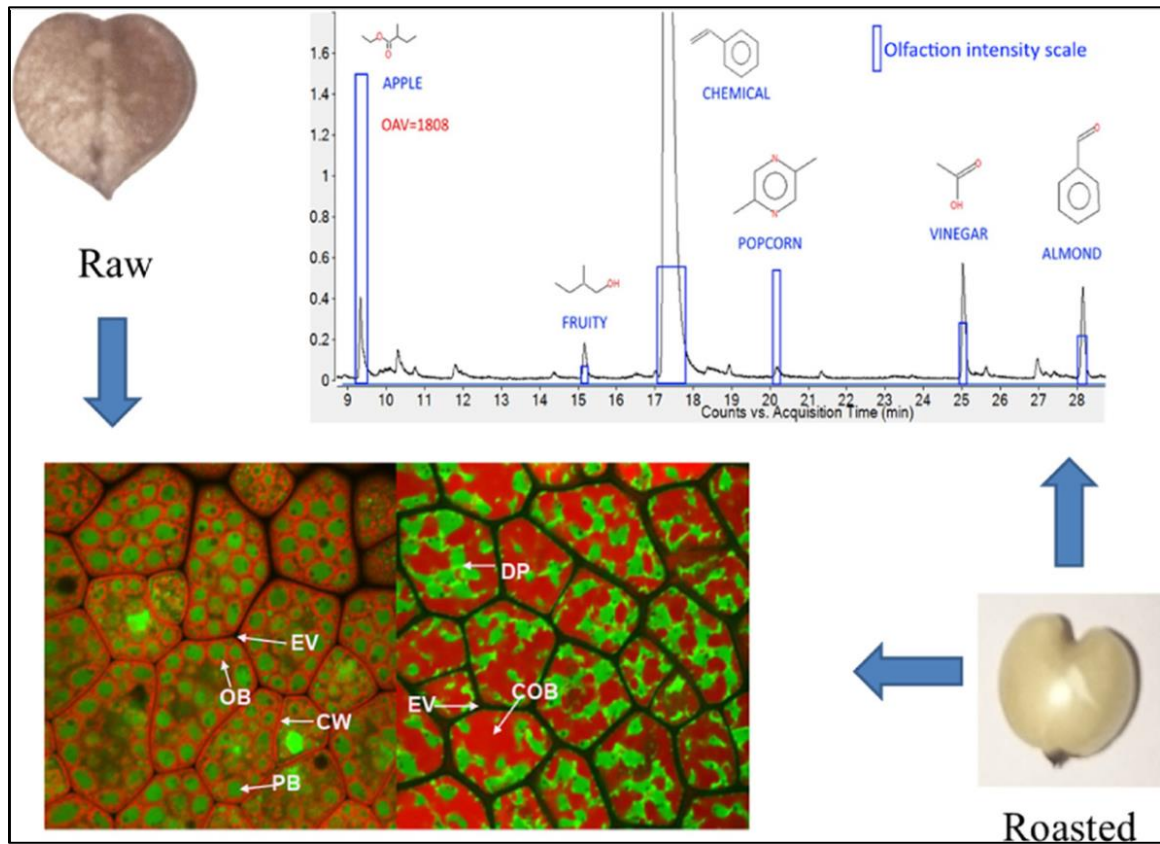


Figura 2. Cromatograma de identificación de los compuestos aromáticos de las semillas, fuente (Corrales, C.V; et al, 2017).

Las semillas se tuestan para desarrollar un aroma específico, los compuestos aromáticos etil-2-metilburato y 2,5-dimetilpirazina son los responsables de darle ese característico olor a la semilla de jicaro, tostado a una temperatura óptima de 160 °C por 150 segundos, sin embargo, dependiendo de las condiciones de tostado pueden cambiar los parámetros de calidad. (Flores, 2020) Las semillas ligeramente tostadas contiene una humedad de $5.80 \pm 0.37\%$, un contenido de proteico (N x 6.25) de 23.25 %, y 33.75 % de contenido graso; Por lo tanto la semilla de jicaro tostada es de interés para la industria de alimentos, pues permite utilizarla como una excelente fuente alimenticia principalmente por su alto valor proteico y graso (Figuerola, 2000).

3.3.4 Harina de semilla de jícaro

La harina es el polvo fino que se obtiene del cereal molido y de otros alimentos ricos en almidón. Se puede obtener harina de distintos cereales, aunque la más habitual es harina de trigo, también se obtiene harina de otros cereales como centeno, cebada, avena, maíz, arroz y existen también otros tipos de harinas

derivadas de otros alimentos como leguminosas (garbanzos, soja), castaña, mandioca, etc (Fernández, 2022).

La harina de semilla de jícaro tiene usos como suplemento alimenticio en la dieta de los animales, existen resultados que indican que se obtiene aumento de grasa, proteína, leche y masa corporal. Por otra parte, puede ser aprovechada para preparar bebidas populares como la horchata y el pozol, por su alta concentración de elementos nutricionales que en su mayoría se encuentra en la semilla. Entre otros posibles usos en la industria se encuentra la elaboración de galletas en base a la harina de la semilla de Jícaro, utilizada para deportistas, comida rápida y personas intolerantes a la soya, unas de las ventajas de estas galletas es que tienen más sabor y se mantienen frescas durante mucho tiempo (Flores, 2020).

La harina de semilla de jícaro se puede consumir en fórmulas de alto contenido proteínico, tanto como para alimentación humana como animal. En el tema monográfico de la propuesta tecnológica para la extracción de aceite y producción de harina a partir de semilla de jícaro sabanero, se realizaron análisis a la torta de semilla de jícaro que se extrajo mediante prensado, secado, molido y tamizado; en la tabla 1 se muestran las características de la torta de harina de semilla de jícaro:

Contenido	Porcentaje
Proteína	40.6%
Grasas	8.16 %
Cenizas	6.69 %
Fibra cruda	20.72 %
Humedad	10.25%
Carbohidratos	13.58%

Tabla 1. Fuente, (Torrez, et. al, 2016).

3.4 Bacteria *Bacillus clausii*

Es un germen Gram-positivo, estrictamente aeróbico que tolera el medio alcalino, no patógeno, móvil, formador de esporas y como la mayoría de las bacterias del género *Bacillus*, lo hace en forma de barras o listones con márgenes filamentosos de aspecto blanco cremoso, altamente resistente a condiciones físicas y químicas adversas. La temperatura óptima de crecimiento es de 40°C y pH 9,0 y se encuentra en las deposiciones del 80% de los sujetos sanos, pero en concentraciones mucho más bajas que otras bacterias intestinales, lo cual sugiere es un componente menor de la microbiota intestinal (León, et. al, 2015).

Bacillus clausii actúa corrigiendo el desequilibrio en el ecosistema intestinal y previniendo su recurrencia en el futuro, con lo que le permite tener una vida más balanceada desde adentro hacia afuera. El funcionamiento normal del intestino depende de un delicado equilibrio de la flora intestinal, conocida también como microbiota. Algunos estilos de vida, el estrés, la alimentación no saludable y los

tratamientos con antibióticos son factores que pueden llevar a la destrucción de la flora intestinal (microbiota), *Bacillus clausii* actúa como un agente probiótico, restaurando la flora intestinal (microbiota) para que el intestino pueda recuperarse (Enterogermina, www.enterogermina.com, 2023).

3.4.1 Farmacocinética

Bacillus clausii durante la esporulación puede conducir a efectos positivos en el tracto gastrointestinal. Se encontró que las cepas liberan compuestos antimicrobianos y modulan la actividad inmune aumentando la producción de inmunoglobulina A secretora. La resistencia de las esporas a los antibióticos hace que sea especialmente útil para su uso en conjunto con el tratamiento antimicrobiano. En forma de esporas resiste el medio ácido artificial y humano por lo menos durante 2 horas a una temperatura de 37°C, por lo que pasan al duodeno en ese lapso de tiempo, intactas. También resisten las sales biliares por 24 horas y al calor húmedo a 100°C por 20 a 30 minutos y al calor seco la supervivencia es 1000 veces mayor (León, et. al, 2015).

3.4.2 Mecanismo de resistencia

Bacillus clausii es uno de los pocos aliados provechosos para la salud intestinal, una vez que estas bacterias colonizan el intestino, el desequilibrio ya existente tendrá una mucha menor probabilidad de afectar el organismo, controlando los síntomas como el dolor abdominal, la diarrea, el estreñimiento y otros más. Muchas especies bacterianas mueren al entrar en contacto con el entorno ácido del estómago, y en particular con la bilis. *Bacillus clausii* es resistente a este ambiente, por lo que logra pasar y sobrevivir para luego colonizar el intestino (Enterogermina, www.enterogermina.com, 2023)

Una de sus características es la resistencia a los antibióticos, ya que estos se consumen con el objetivo de matar o inutilizar la mayoría de las formas de vida bacterianas. La especie bacteriana *Bacillus Clausii* es resistente a esta acción de la mayoría de los antibióticos, por lo que puede usarse simultáneamente; pocos pueden debilitar o erradicar esta especie. Adicional a esta característica destaca la resistencia térmica, las esporas de *Bacillus clausii* logran sobrevivir y mantener su acción, incluso tras ser expuestas a altas temperaturas. Esta bacteria es fácil de transportar ya que no requiere ser refrigerada (<30°C) (Enterogermina, www.enterogermina.com, 2023).

3.5 Caracterización de los alimentos

La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de los diferentes ensayos a que puede someterse utilizando diferentes métodos de evaluación, los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que persigan y los principios en que se fundamentan. Es necesario realizar un análisis de alimentos

para asegurar que sean aptos para el consumo humano y para asegurar que cumplen con las características y composición que se espera de ellos. El análisis de los diferentes tipos de alimentos nace por la necesidad vital del ser humano de conocer las sustancias que ingiere. Desde el punto de vista químico, los alimentos son tan complejos, que de algunos aún se desconoce su composición completa (CABALLERO, 2018).

Se debe estudiar la composición de los alimentos y los efectos que sus componentes provocan en el curso de los diferentes procesos a los que están sujetos; A continuación, se detallan algunos ensayos que deben realizarse al dip de semilla de jícara y a los productos intermedios de las diferentes etapas del proceso:

3.5.1 Propiedades fisicoquímicas

- **Identificación por Espectro IR**

En el contexto de la medición y análisis de los alimentos, la técnica de FT-IR proporciona una buena alternativa para la detección de los componentes mayoritarios en un producto, de manera rápida, confiable y efectiva. Existe una biblioteca de espectros de infrarrojo característicos del agua, carbohidratos, lípidos y proteínas, para cada componente mayoritario se deben observar sus respectivos espectros, los cuáles se deben comparar con los picos más importantes que los caracteriza (Cortez, 2020)

La espectroscopía infrarroja (IR) se basa en el hecho de que la mayoría de las moléculas absorben la luz en la región infrarroja del espectro electromagnético, convirtiéndola en vibración molecular, esta absorción es característica de la naturaleza de los enlaces químicos presentes en una muestra (BRUKER, 2023).

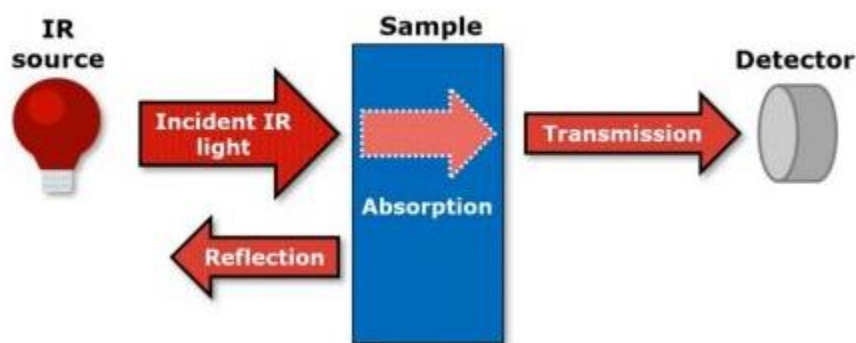


Figura 3. Principios de la espectroscopia infrarroja, fuente (BRUKER, 2023)

grupos funcionales: Los grupos funcionales son unidades estructurales dentro de compuestos orgánicos definidas por disposiciones específicas de átomos y enlaces. El infrarrojo es una poderosa herramienta de identificación de grupos funcionales debido a las frecuencias de absorción similares para esos grupos en

diferentes moléculas. La frecuencia real se ve afectada por el entorno, por lo que el cuadro de referencia muestra bandas anchas en lugar de frecuencias específicas. La identificación de grupos funcionales es una piedra angular de la espectroscopia IR y la química orgánica (Termofisher, 2023)

- **Cenizas totales**

La ceniza de un alimento es el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica. El valor de cenizas se puede considerar como un criterio útil para la identificación de la autenticidad de un alimento ya que se puede detectar la presencia de adulterantes. Su determinación consiste en llevar la muestra a una carbonización para después realizar la incineración en la mufla. El total de cenizas se obtiene por diferencia de peso (Nepomuceno, 2017).

- **Humedad**

El contenido de humedad influye de manera determinante en la conservación o resistencia al deterioro de los alimentos procesados. La técnica por excelencia para cuantificar el contenido de humedad en una muestra, es la determinación gravimétrica. La misma se fundamenta en someter la muestra a calentamiento en una estufa y luego medir la pérdida de peso debido a la volatilización del agua. La Association of Official Analytical Chemists (AOAC), reconoce esta técnica por el método oficial (32.1.03), para la determinación de humedad en alimentos sólidos y harinas (Bianco, 2014).

- **Determinación de Proteína**

La función esencial de las proteínas en los alimentos es contribuir a su calidad organoléptica o sensorial, proporcionan sabor a los alimentos, sobre todo, a través de la liberación de péptidos. Existen péptidos con todos los sabores básicos: salado, ácido, dulce, amargo y umami, sin embargo, la aportación más importante de las proteínas a las características sensoriales de los alimentos radica en su capacidad de formar o estabilizar su estructura (Fandiño, 2014).

Por su costo es este el nutriente más importante en la dieta en una operación comercial; su adecuada evaluación permite controlar la calidad de los insumos proteicos que están siendo adquiridos o del alimento que se está suministrando. Su análisis se efectúa mediante el método de Kjeldahl, mismo que evalúa el contenido de nitrógeno total en la muestra, después de ser digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio (FAO, 2023).

- **Determinación de Grasa**

Las grasas se clasifican con las proteínas y carbohidratos, como sustancias alimenticias fundamentales y se consumen en gran cantidad, actúan como lubricantes, plastificantes y buenos conductores del calor, comunicando sabores y texturas. Dada la insolubilidad de las sustancias grasas en el agua y su

inmiscibilidad con ella, la extracción de la grasa a partir de las materias primas que la contienen se debe llevar a cabo justamente prescindiendo de la intervención del agua. La grasa se extraerá basándose en su miscibilidad en disolventes orgánicos, que, a su turno, son insolubles en agua e inmiscibles con ella (VENTURA, 2020).

3.5.2 Propiedades microbiológicas

- **Identificación y cuantificación de microorganismos a través del sistema VITEK**

El sistema VITEK, permite la identificación microbiana de rutina para aplicaciones alimentarias. Es un sistema automatizado de microbiología con tecnología basada en crecimiento de microorganismos, este sistema cuenta con un casete que contiene hasta 10 tarjetas de análisis y sus tubos de ensayo con inóculo. Se utiliza para la preparación y el procesamiento de muestras dentro del instrumento. El casete está equipado con un código de barras que permite identificar el casete con el instrumento. El código de barra es la etiqueta de identificación de interfaz adherida a cada tarjeta de análisis del sistema VITEK . este contiene el tipo de prueba, el número de lote y la fecha de caducidad de la tarjeta de análisis (BIOMERIEUX, 2023).

IV.MATERIALES Y MÉTODO

4.1 Ubicación de la elaboración y análisis del producto

La elaboración del dip de semilla de jícara enriquecido con *Bacillus clausii* se llevó a cabo en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad Nacional de Ingeniería, ubicado en el Recinto Universitario Simón Bolívar, en la Avenida Universitaria, Managua, Nicaragua. Localizada geográficamente en las coordenadas UTM 12.1435887,-86.2675189. E

n el laboratorio de análisis ubicado dentro de este mismo edificio se realizó la caracterización de la harina de semilla de jícara mediante espectro IR. Las pruebas fisicoquímicas como determinación de humedad, determinación de cenizas totales y determinación de grasa se realizaron en el Laboratorio de Secado, perteneciente a la Facultad de Ingeniería Química.

La determinación de proteínas totales se realizó en el Laboratorio de Suelos y Agua (LABSA) de la Universidad Nacional Agraria, ubicado en el Km. 12 Carretera Norte, Managua, Nicaragua, Apartado Postal: 453, localizado geográficamente en las coordenadas UTM 12.150150,-86.212864. La identificación y cuantificación de la bacteria *Bacillus clausii* en el producto terminado se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Latinoamericano de Biotecnología MECHNIKOV, ubicado en el Km 6 Carretera Norte, Managua, Nicaragua, localizado geográficamente en las coordenadas UTM 12.149282,-86.218676

4.2 Variables de formulación para la obtención del producto final.

Las variables de formulación que determinaron la obtención del producto final, se dividen en 2 grupos, variables independientes y variables dependientes, las variables dependientes son las que fijaron el proceso de formulación y se detallan a continuación:

- Harina de semilla de jícara
- Crema dulce
- Queso unttable

Estas fueron mezcladas a distintos porcentajes para lograr la obtención del producto deseado, de esta manera se evaluó el impacto de las mismas en las características organolépticas del producto final.

La variable independiente es la bacteria *Bacillus clausii* esta fue añadida en las diferentes variables formuladas, con una adición del 5 % de la bacteria en el total del producto.

4.2.1 Obtención de harina de semilla de Jícaro

Se desarrolló un diseño de la línea de producción de harina de semilla de jícaro tomando en cuenta las recomendaciones de las fuentes bibliográficas citadas en el marco teórico; lo que nos permitió realizar el balance de materia correspondiente y verificar que el proceso cumple con los requerimientos de calidad para obtener la mezcla deseada en el producto final (dip).

A continuación, las etapas del proceso:

- **Selección de Materia Prima:** Se realizó la compra de la semilla de Jícaro en un mercado local de Managua, de donde se tomaron 0.5 Kg para realizar los análisis de laboratorio. Se procedió a limpiar las semillas de manera manual con apoyo de la malla N°8 del tamiz; eliminando así partículas ajenas a la materia prima que podrían afectar los valores del pesado.



Figura 4. Semilla de Jícaro seleccionada. Fuente: Elaboración propia.

- **Lavado:** se realizó el lavado de la semilla de Jícaro, con agua eliminando pequeñas partículas de tierra que no se eliminaron correctamente en el proceso anterior.

- **Tostado:** Se realizó en una bandeja metálica en la cocina industrial del laboratorio de Operaciones Unitarias de FIQ-UNI, de manera manual, con el objetivo de eliminar residuos de humedad, además resaltar propiedades organolépticas de la semilla de Jícaro, entre otras.



Figura 5, Semilla de Jícaro en proceso de tostado. Fuente: Elaboración propia.

- **Molienda:** Se procedió a realizar la reducción de tamaño de la semilla de Jícaro, para lo que se utilizó un procesador de alimentos marca *Cuisinart*.



Figura 6, Semilla de Jícaro en proceso de reducción de tamaño. Fuente: Elaboración propia.

- **Tamizado:** Siete bandejas con numeración 8, 12, 35, 50, 80, 140, 230 del tamiz ubicado en el laboratorio de Operaciones Unitarias FIQ-UNI, durante un lapso de 10 minutos, dieron como resultado el tamaño de harina esperado como materia prima para la formulación del dip.



Figura 7, Proceso de Tamizado de semilla de Jicaro. A) Equipo Tamizador Tyler con el juego de tamices ASTM con cierto diámetro de apertura B) Tamiz N°8 C) Tamiz N°12 D) Tamiz N°35 E) Tamiz N°50 con el tamaño de partícula deseada. Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se presenta el flujograma del proceso de elaboración de harina de semilla de jícara:

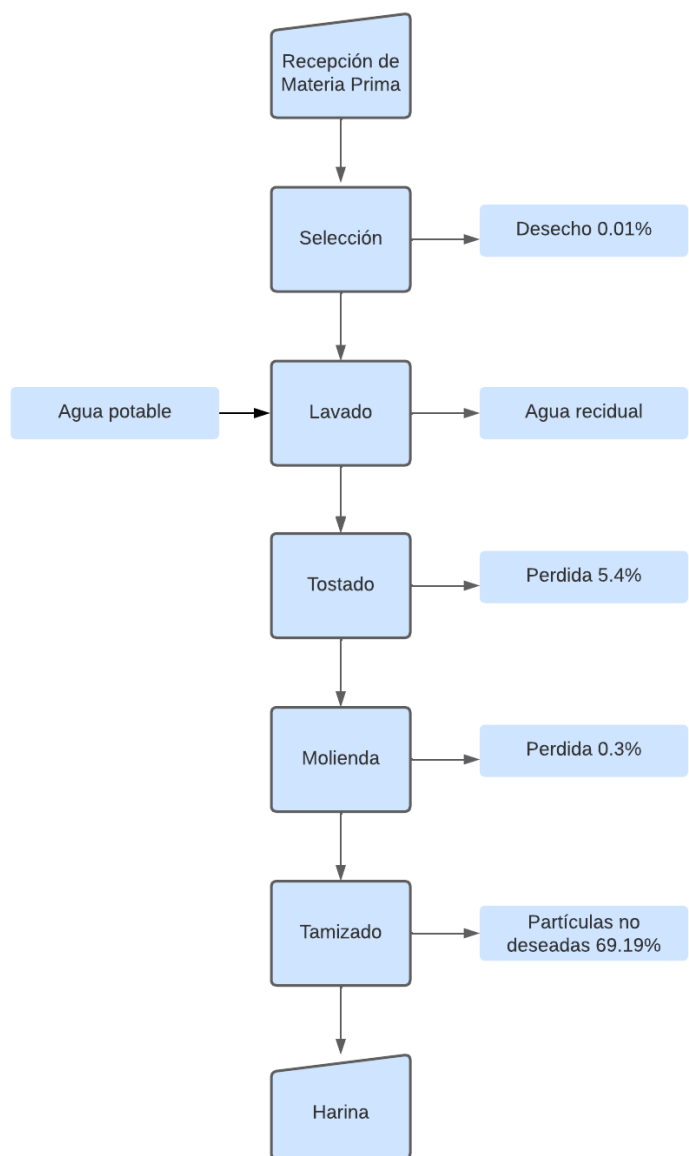


Figura 8, Flujograma del proceso de obtención de harina de semilla de jícara, fuente: elaboración propia.

4.3 Formulación del dip de semilla de jícara

La adición de *Bacillus clausii* es una constante en las diferentes formulaciones, este aditivo se utilizó a una concentración de 5%. La adición del 5 % de la bacteria *Bacillus clusii* se determinó mediante el ensayo de identificación de la bacteria en el producto final, se realizaron pruebas con adiciones del 2.5%, 5.0% y 7.5% en el dip de semilla de jícara, se obtuvieron resultados satisfactorios con la adición

del 5 %, por lo cual se determinó este porcentaje para ser una constante en las formulaciones realizadas. Se realizaron dos variantes mediante diseño experimental para determinar cuál es la que tiene mejores propiedades organolépticas y mejor aceptación del consumidor.

4.3.1 Variantes de formulación con harina de semilla de jícaro.

La primera variante se realizó pesando 9 gramos de harina de semilla de jícaro de 297 μm (obtenida del Tamiz N°50) y se mezclaron con 16 gramos de crema dulce, este producto se homogenizó con la ayuda de una espátula, al total de 25 gramos de dip se le agregaron 0.625 mL de la bacteria *Bacillus clausii*, una vez homogenizado el producto se observó una textura apropiada para un dip

La segunda variante se realizó con queso untable, se pesaron 9 gramos de harina de semilla de jícaro de 297 μm (obtenida del Tamiz N°50), 16 gramos de queso untable y se homogenizó con la ayuda de una espátula, posterior a la homogenización se agregaron 0.625 mL de bacteria *Bacillus clausii* y se volvió a homogenizar el producto.

La relación en porcentajes es de 36% de harina de semilla de jícaro y 64 % de crema dulce. La adición de la bacteria se realiza al final, en relación al peso del 100% del producto. Ambas formulaciones son una mezcla de harina de semilla de jícaro y el medio lácteo utilizado, no se registraron pérdidas durante las mezclas de los componentes, por lo que no requiere cálculos de balance de materia para esta etapa.



Figura 9. Formulación de variante 1, crema dulce con harina de semilla de jícaro. Fuente: Elaboración propia

4.3.2 Balance de materia para obtención de harina de semilla de jícaro

A continuación, en la figura 10 se presenta el balance a través de diagrama de proceso con la representación de cada entrada y salida para la obtención de harina de semilla jícaro:

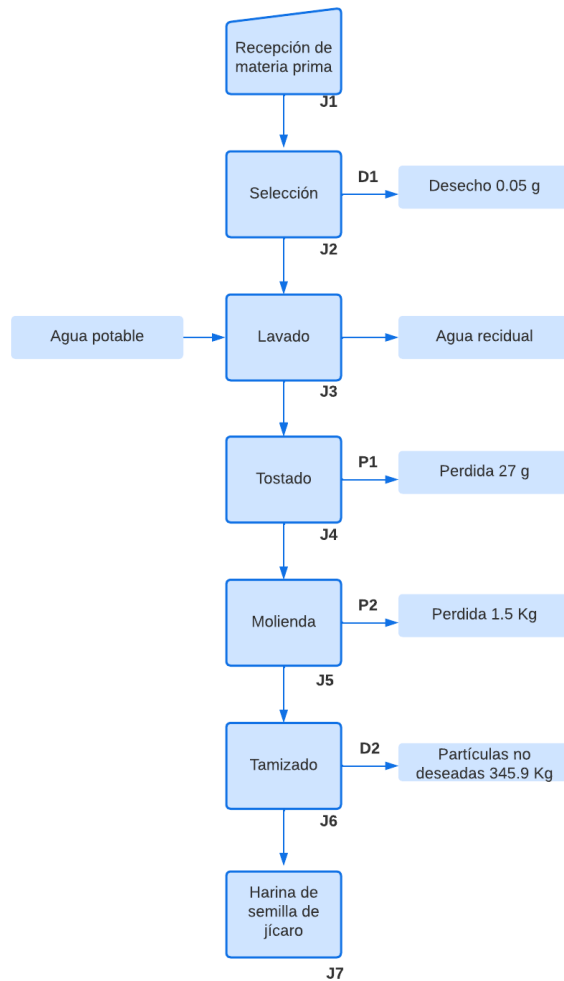


Figura 10. Balance de Materia en el proceso de obtención de harina de semilla de jícaro. Fuente: Elaboración propia.

4.4 Determinación de las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del producto intermedio y producto terminado.

Se llevaron a cabo evaluaciones de las propiedades fisicoquímicas en la harina de semilla de jícaro y ensayos microbiológicos en el producto final. A continuación, se describen los parámetros que fueron objeto de evaluación:

4.4.1 Caracterización mediante Espectro IR

La caracterización de la harina de semilla de jícaro se realizó mediante la técnica instrumental FT-IR, esta se ejecutó en el espectrómetro Bruker Alpha FTIR con un rango espectral de 4000 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1} , resolución espectral típica de 0.5 cm^{-1} y fuente de luz infrarroja (BRUKER, 2023).

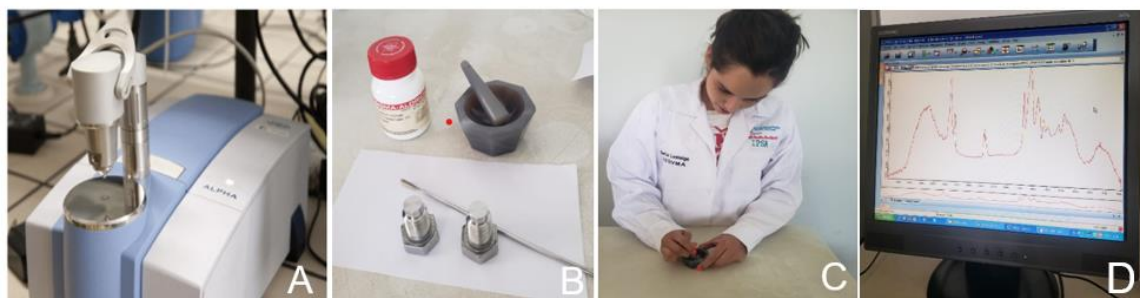


Figura 11. A) Equipo FTIR, B) mortero de ágata y reactivo de bromuro de potasio, C) homogenización de la harina de semilla de jícaro con el reactivo bromuro de potasio, D) Espectro IR de harina de semilla de jícaro, fuente: elaboración propia.

La preparación de la muestra se realizó de la siguiente manera:

- Se pesaron 0.25 mg de harina de semilla de jícaro y se colocaron en el mortero de ágata, moliendo la harina hasta reducir el tamaño a un polvo más fino.
- Se adicionaron 5 mg de KBr a la muestra y se mezclaron con el pistilo, hasta obtener una mezcla homogénea.
- Se transfirió la mezcla homogénea al dado para disminuir la dispersión del haz del espectrofotómetro
- Posteriormente la mezcla se presionó en un troquel especial a una presión entre 18 a 20,000 lb/plg², se repitió este paso hasta obtener un disco transparente.
- A continuación, se colocó el disco en la trayectoria del haz del instrumento infrarrojo y se esperó al proceso de datos del software del espectrómetro Bruker Alpha FTIR en donde se identificó la estructura de la semilla de jícaro.

4.4.2 Determinación de Cenizas totales

Se utilizó la técnica y procedimiento 923.03 de la AOAC (1990) basado en la incineración completa de la materia orgánica de la muestra en un horno mufla, quedando únicamente el residuo de materia inorgánica. (AOAC, 1990).

En un crisol de porcelana se pesaron 2.04 g de harina, colocándose seguidamente en una placa calefactora para iniciar la combustión de la materia orgánica. Una vez reducido el volumen de muestra se introdujo en el interior de un horno mufla a 531°C, durante 3 horas hasta la obtención de cenizas, una vez completa la incineración, se colocó la muestra en un desecador para enfriarla antes de pesarla nuevamente.

El porcentaje de cenizas se calculó mediante la expresión:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} \times 100$$

Donde:

P₀= peso del crisol vacío

P₁= peso del crisol con la muestra

P₂= peso del crisol con las cenizas

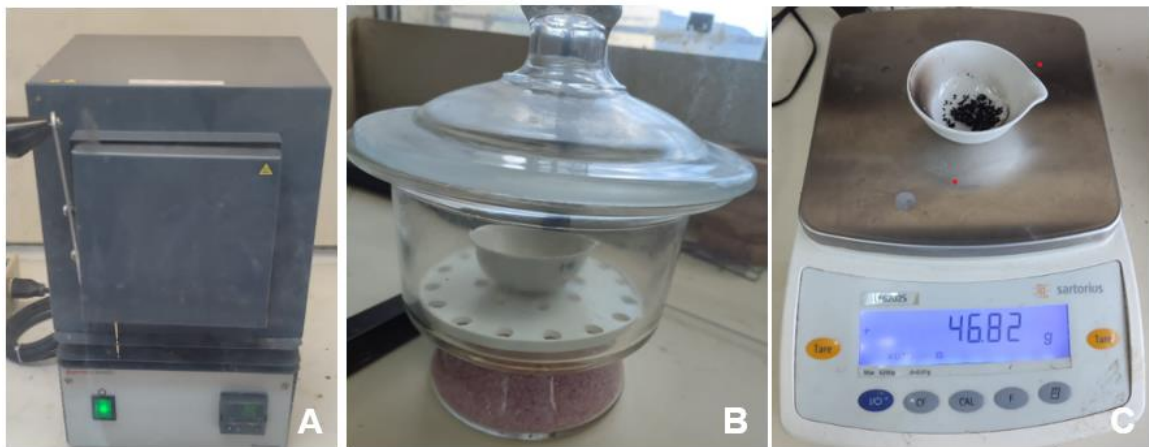


Figura 12. Procedimiento para determinación de cenizas totales, (A) incineración en horno Mufla, (B) Desecador de cenizas para su enfriamiento antes de ser pesadas, (C) Peso final de crisol con muestras de cenizas.

4.4.3 Determinación de humedad por termogravimetría

Se cuantificó el porcentaje de humedad presente en la harina de semilla de jícara utilizando el analizador de humedad Sartorius MA 150 (Sartorius, 2018), un crisol de aluminio y pinzas para manipular los recipientes, a continuación, se detalla el procedimiento realizado:

- Se colocó el crisol con la muestra en la balanza analítica Sartorius MA 150.

- Se programó la balanza para realizar la medición de humedad a una temperatura de 105°C, durante 14.2 minutos para eliminar la humedad de la muestra.
- Una vez transcurrido el tiempo programado la balanza mostró directamente el porcentaje de humedad en la pantalla.



Figura 13. Determinación de humedad por método directo a través de termogravimetría, Fuente: elaboración propia.

4.4.4 Determinación de Grasa

El contenido de grasas presente en la harina se determinó mediante el método de la AOAC 945.16, siguiendo el procedimiento:

- Se tomó una muestra de 4 g de harina de semilla de jícara, la cual se transfirió a un dedal de extracción de algodón de celulosa, el dedal fue protegido por una capa de algodón para evitar la pérdida de gases.
- El dedal conteniendo la muestra se colocó en el extractor Soxhlet.
- Se pesó el balón de extracción, para posteriormente agregarle el disolvente hexano y se realizó el proceso de extracción por un período de 6 horas.
- Finalizada la extracción se procedió a separar el disolvente hexano de la grasa recuperada de la harina de semilla de jícara, mediante la destilación a presión reducida usando un rotavapor R-124, marca Büchi en un baño maría modelo Waterbath B-480 ajustado a una temperatura de 40°C.
- Se sumergió el balón de extracción parcialmente en el baño maría para luego encender el rotavapor a una velocidad moderada.

- Una vez funcionando el rotavapor se encendió la bomba de vacío para reducir la presión interna del equipo, este proceso finalizó luego de 10 minutos, cuando ya no se observó más condensación de vapor.
- Finalizada la condensación se procedió a apagar la bomba de vacío y a desmontar el matraz de extracción para posteriormente pesarlo en la balanza analítica Sartorius LE6202S. Parte del proceso se muestra en la figura 15.

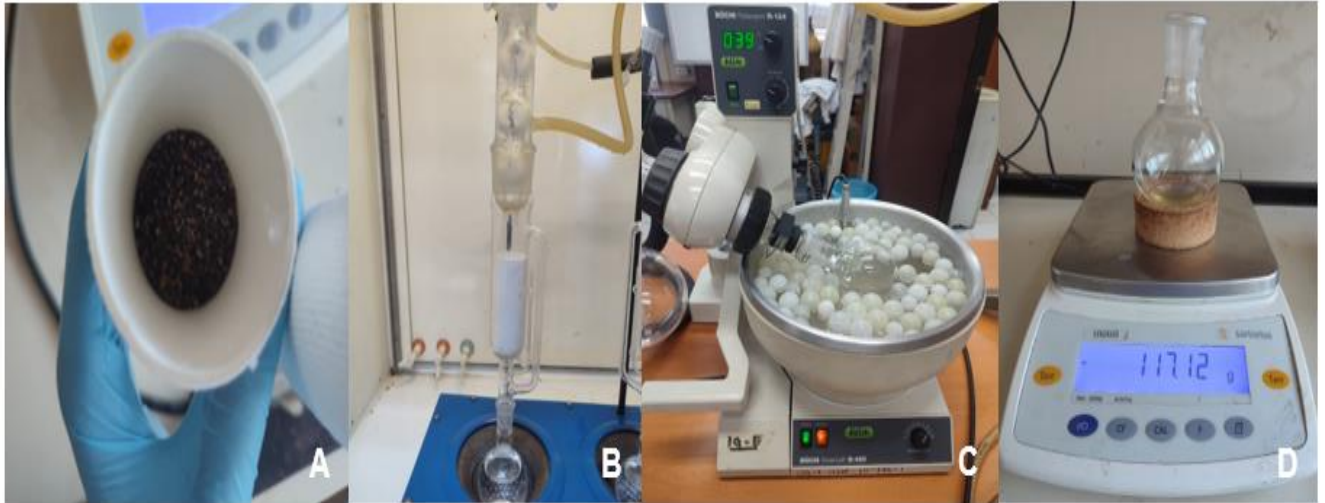


Figura 14. Procedimiento para determinación de grasa en harina de semilla de jícaro, (A) colocación de la muestra en el dedal, (B) proceso de extracción en el equipo Soxhlet, (C) proceso de separación de la grasa de semilla de jícaro y el disolvente hexano mediante rotavapor (D) Peso final del matraz con el extracto etéreo.

El cálculo de porcentaje de grasas se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$Grasas(\%) = \frac{(P_1 - P_2)}{P} * 100$$

Donde:

P1: Peso en g del matraz con el extracto etéreo.

P2: Peso en g del matraz vacío.

P: Peso en g de la muestra empleada.

4.4.5 Determinación de Proteínas por el método Kjeldahl

La determinación de proteínas se realizó mediante el método Kjeldahl, siguiendo lo establecido en el Procedimiento Operativo Estándar para nitrógeno del suelo, FAO, 2021 (FAO, 2021). Este método se divide en 3 etapas: digestión, destilación y valoración, las cuales se describen a continuación:

A) Digestión:

- Se pesó 1 g de harina de semilla de jícara y se introdujo en un tubo de digestión. Se añadió al tubo con muestra 5 g de catalizador Kjeldahl (1 pastilla) y 5 mL de ácido sulfúrico al 95% (en la campana extractora de gases), se agitó suavemente hasta mezclar el ácido con la muestra.
- Se colocaron los tubos de digestión con las muestras en el Bloc-digest con el colector de humo funcionando para realizar la digestión a una temperatura de 400°C, por un período de 30 minutos.
- Se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente, y se dosificaron lentamente 20 mL de agua destilada en cada tubo de muestra (con cuidado y dejando caer el agua lentamente por las paredes del tubo), posteriormente se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos.

B) Destilación:

- Se añadieron 20 mL de ácido bórico en un matraz erlenmeyer de 250 mL y 3 gotas de indicador mixto. Colocar el erlenmeyer en la alargadera del refrigerante teniendo la precaución de que ésta quede sumergida dentro de la disolución de ácido bórico.

Para ajustar las condiciones de destilación se utilizó un blanco que consiste en colocar un tubo limpio y vacío en la unidad de destilación y agregar 20 mL de agua y 20 mL de solución de NaOH.

- Se colocó el tubo con la muestra en el lado izquierdo del destilador modelo Kjeltec 8100 Destillation Unit, marca Foss. Se destilaron 100 mL de condensado, esta operación se realizó por aproximadamente 10 minutos.

C) Valoración

- Se añadieron unas gotas de indicador mixto al destilado para realizar la valoración con ácido clorhídrico 0,31 N, hasta que se observó que la solución cambió el color de verde a violeta, se anotó la cantidad de ácido clorhídrico consumido para realizar el cálculo de porcentaje de nitrógeno presente en la muestra de harina de semilla de jícara.

El % de proteína se realizó aplicando las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{1,4 \times (V_1 - V_0) \times N}{P}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times F$$

Donde:

P= peso de la muestra (g)

V_1 = volumen de HCL consumido en la valoración (mL)

N= Normalidad del HCL

V_0 = volumen de HCL consumido en la valoración de un blanco (mL)

F= factor de conversión para pasar de contenido en nitrógeno a contenido en proteínas. La mayoría de las proteínas contienen un 16% de N₂, de modo que el factor de conversión es de $(100/16 = 6,25)$, pero se han obtenido empíricamente otros factores de conversión en función de la muestra analizada.

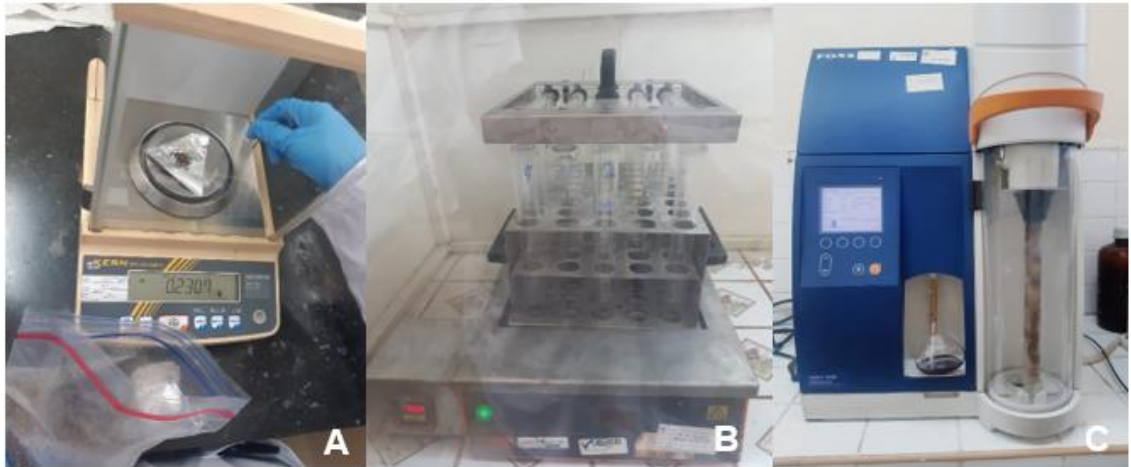


Figura 15. (A, B y C) Determinación de proteína a través del método Kjeldahl. (A) Pesaje de la muestra, (B) digestión ácida con ácido sulfúrico, (C) Destilación de la muestra a través de destilador Kjeltec 8100

4.4.6 Identificación y cuantificación de microorganismos a través del sistema VITEK.

Este procedimiento consiste en la identificación y cuantificación de la bacteria *Bacillus clausii* la cual fue adicionada al 5% al dip de semilla de jícaro. Se realizó el procedimiento a través del sistema automatizado de microbiología con tecnología basada en crecimiento: VITEK, (BIOMERIEUX, 2023).

Para la identificación y cuantificación se realizó una dilución de la muestra en una solución de agua de peptona simple al 0.1%, luego esta solución conteniendo la muestra se inoculó en una placa petri conteniendo agar triptona de soya 40 g/L (este medio permite el crecimiento de la bacteria por ser un medio nutritivo), pH 7.3 ± 0.2 , estas placas se realizaron por duplicado y se incubaron por 48 horas a una temperatura de 30-35°C.

Una vez incubadas la muestra por 48 horas, se retiran las placas y se procede con el método de identificación que consiste en extraer con un asa una colonia de la placa y ajustarla en 3 mL de patrón McFarland a una concentración de 1.8% a 2.20% (esto se realiza en un tubo de ensayo de borosilicato de 5 mL), esta solución se coloca en un porta caset para introducirlo al equipo VITEK, este caset

es específico para cada tipo o familia de bacterias, contiene pozos que cambian de color cuando identifican la bacteria, en el caso de los *Bacillus* tardan en identificarse de 14 a 18 horas.

El equipo vitek es un sistema que se opera de manera automática a través de la operación del Software desde la computadora, en la figura 17 se muestra la tarjeta BC utilizada para la identificación y cuantificación de la bacteria y el equipo VITEK, modelo 2 compact, marca Biomerieux.



Figura 16. (A) Tarjeta VITEK 2 BCL utilizada para la identificación y cuantificación de la bacteria *Bacillus Clausii*, (B) Equipo VITEK 2 COMPACT.

Entrada de la información de la muestra (Operación del Software desde la Computadora)

- Con el software V2C **Flexprep**, se seleccionó el casete para la identificación de la bacteria *Bacillus Claussi* (VITEK 2 BCL) y se escaneó su código de barras, luego se procedió a la codificación de la muestra
- Se introdujo el valor del patrón MacFarland de la suspensión (Lectura del densichek) manualmente y se seleccionó la opción validar.
- Una vez listos todos los datos en el casete virtual se presionó el botón enviar casete para vincular al **Vitek 2 systems web**.

Llenado y carga de tarjetas (Operación del Equipo)

- Se colocó la tarjeta y tubos con suspensión en el casete, para luego cargar el casete en la estación de llenado del equipo y cerrar la puerta de llenado, asegurándose que el llenador este detenido y que el estatus del instrumento fuera Aceptar, luego se presionó el botón Inicio de llenado.
- Una vez que el indicador visual y auditivo indicó la finalización del proceso del llenado de las tarjetas. (Las tarjetas inoculadas pasaron por un mecanismo que corta los tubos de transferencia y las sella, previo a la carga

dentro del carrusel-incubadora. Todos los tipos de tarjetas se incubaron en línea a $35.5^{\circ} \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ en la estación de carga).

- Cuando el proceso de llenado de las tarjetas finalizó, se retiró el casete de la estación de llenado y se transfirió a la estación de carga. (Tiempo de transferencia de una estación a otra fue de 10 minutos).
- Se retiraron los casetes de la estación de carga una vez que el indicador comenzó a parpadear y el cargador indicó remover.

Lectura de resultados (Operación del Software desde la computadora)

Los resultados fueron generados por el software, este emitió un reporte de manera automática con los datos ingresados y los resultados obtenidos luego de haber finalizado el período de incubación total.

4.5 Análisis sensorial del Dip de semilla de jícara enriquecido con *Bacillus clausii*

Se realizaron pruebas de preferencia para determinar cuál de las dos variantes del producto terminado presenta las mejores características organolépticas, se presentaron las muestras ante 10 panelistas, entre los panelistas estuvieron 2 niñas de 11 años, 3 hombres (entre 25 y 32 años) y 5 mujeres (entre 29 y 33 años), se les pidió evaluar los parámetros de textura, olor, color y sabor, se asignó una escala del 1 al 5, siendo 5 el puntaje más alto, indicando una mayor aceptación por parte del consumidor, la sumatoria de los 4 parámetros evaluados por los panelistas es de 20 puntos.

Las muestras fueron entregadas a los panelistas, el dip se acompañó de galletas simples para evitar interferencias en el paladar, se les proporcionó una encuesta para registrar la valoración de las dos formulaciones, posterior a la obtención de resultados, estos fueron evaluados mediante la herramienta de gráficos de excel, de manera que se pudieran vincular los datos obtenidos de una forma visible.

V. PRESENTACIÓN Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 Balance de materia

En el capítulo V se presentan los resultados y análisis de datos de cada una de las pruebas realizadas al producto intermedio y al producto terminado. En el acápite 5.1 se muestran a través de tablas el balance de materia del proceso de obtención de harina de semilla de jícara y de las dos formulaciones realizadas del dip de semilla de jícara, para la interpretación de la tabla 2 es necesario ver la figura 10 para la comprensión de la codificación.

5.1.1 Rendimiento de harina de semilla de jícara

Descripción	J1	J2=J1-D1	J3=J2	J4=J3-P1	J5=J4-P2	J6=J5-D2	J7=J6
Semilla de Jícara	0.5	0.49995	0.5	0.47295	0.47145	0.12555	0.12555
Harina de semilla de jícara							0.12555

Tabla 2. Balance de materia del proceso productivo de harina de semilla de jícara (Kg/h). Fuente: elaboración propia.

Se llevó a cabo la formulación de dos variantes lácteas de alimentos funcionales de tipo probiótico, estilo "dip", que incorporaban semilla de jícara enriquecida con *Bacillus Clausii*, a nivel de laboratorio.

A continuación, se presentan los resultados en las tablas 3 y 4:

Descripción	J7A	J8A	J9A	J10A=J7A+J8A+J9A	V1=J10A
Harina de Semilla de jícara	0.01				
<i>Bacillus Claussi</i> 5%		0.0017			
Crema Dulce			0.025		
Producto final				0.034	0.034

Tabla 3. Balance de materia del proceso de producción de dip variante 1, % de acuerdo con variantes de formulación (Kg/h). Fuente: elaboración propia.

Descripción	J7B	J8B	J9B	J10B=J7B+J8B+J9B	V2=J10B
Harina de Semilla de jícara	0.01				
<i>Bacillus Claussi</i> 5%		0.02605			
Queso Untable			0.0451		
Producto final				0.0521	0.0521

Tabla 4. Balance de materia del proceso de producción de dip variante 2, % de acuerdo con variantes de formulación (Kg/h). Fuente: elaboración propia.

5.2 Propiedades fisicoquímicas de la harina de semilla de jícaro

Para una mejor comprensión de los resultados obtenidos durante la caracterización de las propiedades fisicoquímicas de la harina de semilla de jícaro, se han realizado comparaciones con otros productos similares anteriormente estudiados. A continuación, se presentan los resultados de cada uno de los análisis realizados.

5.2.1 Caracterización de la harina de semilla de jícaro por espectro IR

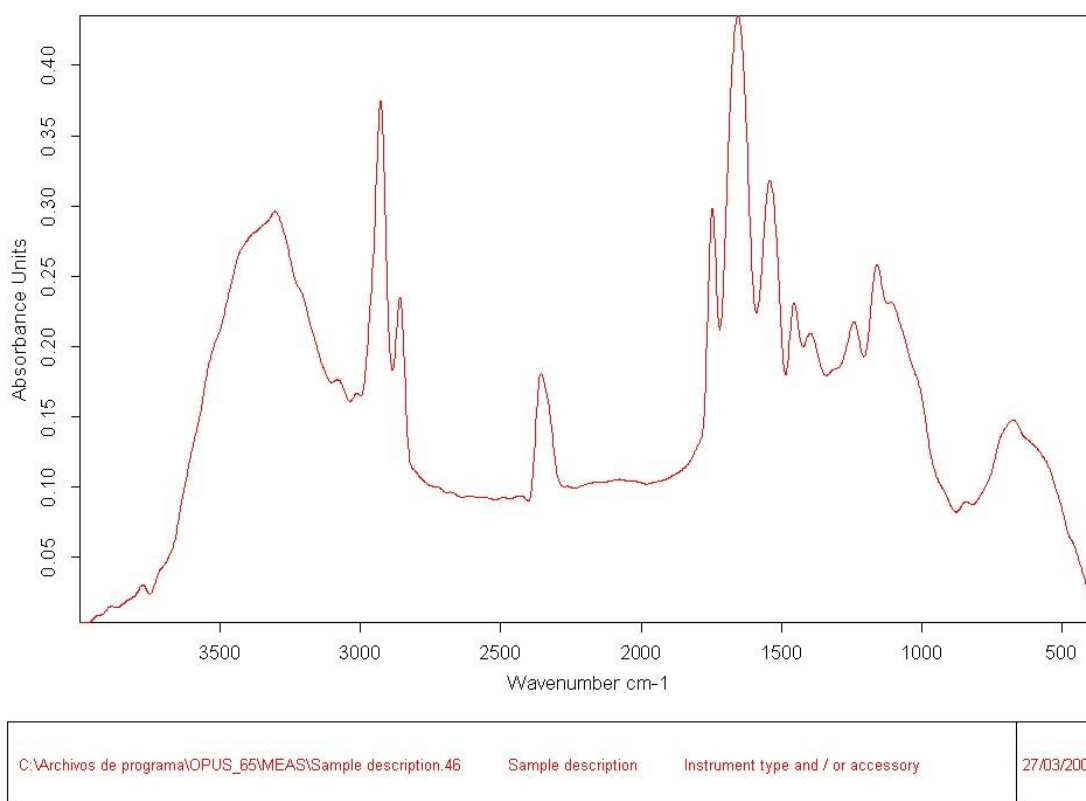


Figura 17. Espectro IR de muestra de Semilla de Jícaro, fuente: espectrómetro Bruker Alpha FTIR (Laboratorio de Operaciones Unitarias FIQ-UNI).

	Longitud de onda (nm)		Tipo de vibración	ASOCIADO A
	REAL	TEORICO		
Proteínas	1501.4	1502.5	1er sobretono de N-H	Amina aromática primaria (p-NH ₂)
	1973	1967-1977.5	Combinación de tensión y flexión de N-H	Amina aromática primaria o-NO ₂
	2056	2055	Combinación de tensión N-H y tensión C=O	Amidas: .CONH. y .CONH ₂

	2178	2180	2do sobretono de N-H, 1er sobretono de tensión C=O; combinación de tensión C-N y flexión de N-H	N-H/C-N/C=O de amidas secundarias
C	1436	1441	1er sobretono O o s -H	Sacarosa Cristalina, C4- OH.
	1450	1450	1er sobretono O-H polimérico (.O-H)	Almidones/Alcoholes poliméricos
	1581	1580	1er sobretono del puente de hidrógeno O-H	Alcoholes R-C-O-H
	1932	1930	Combinación de la tensión O-H y flexión H-O-H	Polisacáridos
	2100	2100	Combinación de la flexión O-H y tensión C-O, 3er sobretono de C=O-O	Glucosa, Polisacáridos
	2276	2273 2280	Combinación de tensión O-H y tensión C-O. Combinación de tensión de C-H y deformación de C-H	Glucosa, Polisacáridos
Lípidos	1724 1726	1725	1er sobretono de la tensión C-H	Metilenos (.CH ₂)
	1764	1765	1er sobretono de la tensión C-H	Metilenos (.CH ₂)
	2307- 2311	2310	2do sobretono de la flexión C-H	Aceites, lípidos

Tabla 5. Bandas de absorción características de las proteínas, carbohidratos y lípidos en el espectro NIR, fuente: (PEÑALOZA, 2017)

Se tomó como referencia la tabla de Bandas de absorción características de las proteínas carbohidratos y lípidos en el espectro NIR, de (PEÑALOZA, 2017) donde se detallan las longitudes de onda y su asociación a los grupos característicos de interés.

En el espectro IR obtenido de la muestra de harina de semilla de jícara se aprecian bandas en la región de 1501.4 cm⁻¹ asociada a las proteínas Amina aromática primaria (p-NH₂), también se observan bandas en la región de 1581 cm⁻¹, esta es una región que debe buscarse en las harinas y suplementos alimenticios para verificar la presencia de los carbohidratos.

La presencia de lípidos es notable ya que se observan bandas intensas en la región de 1724 cm⁻¹ y 1764 cm⁻¹, que indica la presencia de metilenos, también hay un espectro cercano a la región 2300 cm⁻¹ asociado al doblamiento del enlace CH de los aceites, finalmente en el área de banda de 3500-3200 cm⁻¹ se muestra

el agua, compuesto presente en la mayoría de los alimentos, la cual se debe a vibraciones de estiramiento del enlace O-H.

5.2.2 Resultados de la determinación de Cenizas totales

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{46.82g - 46.72g}{48.76 - 46.72g} \times 100 = 4.9\%$$

Se analizó la harina de semilla de jícaro y se determinó un contenido de cenizas totales del 4.9%. Este resultado revela la presencia significativa de minerales inorgánicos en la harina, lo que podría ser atribuido a la naturaleza de la semilla de jícaro. Estos minerales pueden ser de interés en términos de valor nutricional y calidad del producto final, así como para comprender mejor la composición de la semilla de jícaro en sí, pues el contenido de cenizas totales es un indicador del contenido total de minerales y microelementos que cumplen funciones metabólicas importantes en el organismo.

5.2.3 Resultados de la determinación de humedad

El análisis de humedad se realizó por método directo a través de termogravimetría, obteniendo un resultado de 1.86 % esto significa que, de cada 100 gramos de harina, aproximadamente 1.86 gramos son agua. Este resultado es satisfactorio ya que cumple con los estándares establecidos para productos secos como el pinolillo, según lo establecido en la NTON 03 071 – 06; esta norma técnica obligatoria exige un límite máximo del 5% para este producto.

5.2.4 Contenido de Grasa en harina de semilla de jícaro

$$\text{Grasas(\%)} = \frac{(117.13 - 115.34)}{4} * 100$$

El análisis de contenido de grasas se realizó por triplicado, obteniendo un promedio de 44.75 %, este resultado indica que la harina de semilla de jícaro es una fuente considerable de lípidos.

5.2.5 Contenido de proteínas en la harina de semilla de jícaro

El porcentaje de Nitrógeno obtenido de la muestra de harina de semilla de jícaro fue de 3.40 %, con este valor se calcula el contenido de proteínas mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Proteína} = 3.40 \% \times 6.25$$

En la siguiente tabla se muestra en resumen los resultados obtenidos de cada uno de los parámetros fisicoquímicos analizados y el cálculo del contenido de carbohidratos presentes en la harina de semilla de jícaro:

Contenido	Porcentaje
Proteína	21.25%
Grasas	44.75 %
Cenizas	4.9 %
Humedad	1.86 %
Carbohidratos	27.24 %

Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de la harina de semilla de jícaro.
Fuente: elaboración propia

La determinación de carbohidratos será la diferencia de todos los porcentajes De determinados anteriormente, se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$C(\%) = 100 - (Proteína + Grasa + Ceniza + Humedad)$$

$$C(\%) = 100 - (21.25 + 44.75 + 4.9 + 1.86) = 27.24\%$$

5.2.6 Identificación y cuantificación de microorganismos en el dip de semilla de jícaro.

Se realizó la identificación de la bacteria como materia prima y también una vez adicionada al dip de semilla de jícaro, mediante el aislamiento de esta, se obtuvo 94 % de probabilidad de la identificación de la bacteria con un nivel de confianza de identificación muy buena.

Posterior a la identificación se realizaron pruebas para asignar un porcentaje aceptable al dip de semilla de jícaro, obteniendo buenas respuestas con la adición de un 5 % de la materia prima Bacteria (*Bacillus Claussi*) al dip de semilla de jícaro.

5.3 Análisis sensorial del producto terminado

5.3.1 Resultados de pruebas sensoriales realizadas al Dip de semilla de jícara enriquecido con *Bacillus clausii*

Se obtuvo un puntaje total de 18 para la variante del dip de semilla de jícara elaborado con queso untable y un puntaje total de 13 para la variante elaborada con crema dulce, por lo tanto, es evidente que el producto terminado con mayor aceptación por parte de los consumidores fue el dip de semilla de jícara con queso untable, presentando excelente puntaje en los parámetros de textura y olor y un puntaje muy bueno para los parámetros de color y sabor.

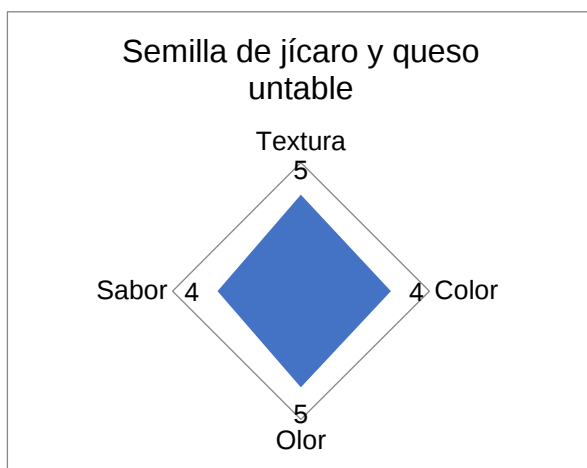


Figura 18. Evaluación de dip elaborado con queso con queso untable. Fuente: elaboración propia

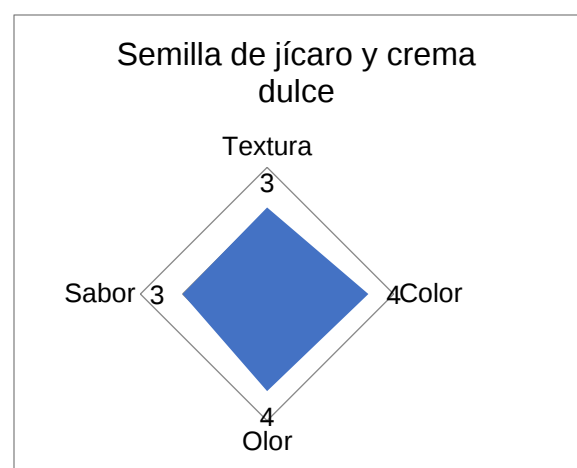


Figura 19. Evaluación de dip elaborado con crema dulce. Fuente: elaboración propia

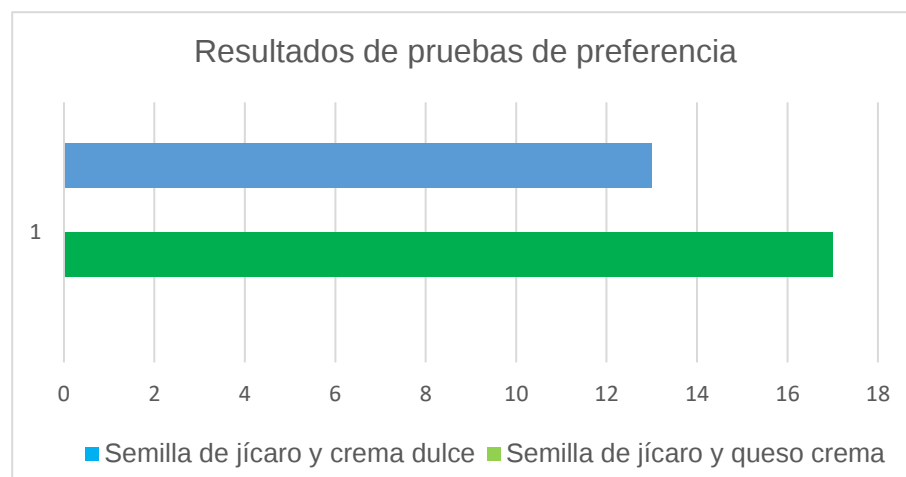


Figura 20. Comparación de pruebas de preferencia entre las 2 variantes presentadas, Fuente: elaboración propia

VI. CONCLUSIONES

Mediante la determinación de las propiedades fisicoquímicas a la harina de semilla de jícara, las cuales se resumen en la tabla 6, se concluye que esta harina contiene un nivel bastante alto de proteínas en comparación con muchas otras harinas y productos alimenticios, lo que la convierte en una alternativa llamativa para personas que buscan aumentar su consumo de proteínas, como atletas, vegetarianos o veganos, además la presencia de lípidos es notable; en comparación con otras harinas como la harina de trigo refinada que presenta entre 0.5% a 0.6% de cenizas totales, un valor de 4.9% es muy significativo ya que es atribuido a harinas integrales las cuales suelen tener valores más altos debido a la inclusión de partes del grano que contienen más minerales.

La humedad la norma técnica obligatoria NTON 03 071 – 06; exige un límite máximo del 5% para este producto. por lo tanto, el resultado de la harina de semilla de jícara se considera aceptable ya que garantiza que el producto almacenado en condiciones recomendadas puede mantener su calidad a lo largo del tiempo. Los resultados de la grasa indica ser una fuerte importante de lípidos que son un componente importante en la alimentación, este resultado no es comparable con las harinas de trigo o de maíz ya que la semilla de jícara al ser oleaginosa aporta un mayor porcentaje de grasa, por lo tanto, su indica que su consumo debe ser moderado dependiendo de los objetivos dietéticos de la salud.

En cuanto al rendimiento no se logró obtener un alto porcentaje debido al tamaño de partículas deseado en la harina para ser utilizada en la formulación del dip, sin embargo, parte de este rendimiento se atribuye al proceso de obtención, pues no se contó con un horno rotatorio por ejemplo o un molino industrializado para realizar adecuadamente la separación de partículas.

Según los resultados de las formulaciones realizadas a escala de laboratorio, se determinó que la mezcla más aceptada fue el dip de harina de semilla de jícara con queso unttable. En los comentarios realizados por parte de los panelistas se destaca el contraste de sabores por lo salado que aporta el queso unttable en comparación con el toque dulce que caracteriza a la semilla de jícara, además de señalar que la textura es ideal como acompañante de las galletas saladas con las que se sirvieron y por último indicaron que el olor de la semilla de jícara se percibe como agradable, ya que evoca un aroma a frutos secos, (este se potencializa con el proceso de tostado de la semilla) que acompañado con el aroma del queso unttable genera notas que persisten en cada bocado.

La bacteria *Bacillus clausii* pudo determinarse satisfactoriamente con la adición de un 5% en el producto final, en las pruebas realizadas se determinó que la adición de esta bacteria no alteró las propiedades organolépticas del dip de semilla de jícara y se considera que a esta concentración puede generar el efecto deseado, que es darle una función probiótica al producto terminado.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un diseño de planta para la industrialización del proceso de producción de harina de semilla de jícaro, puesto que es una semilla de fácil adquisición en el mercado nacional, sin embargo, el proceso de extracción de la misma no está estandarizado, adicional a esto la calidad de la harina de semilla de jícaro podría mejorarse significativamente con un proceso de obtención industrializado, pues se separaría mayor cantidad de humedad y aceites que bien podrían aprovecharse como subproductos.

Se recomienda determinar por separado los compuestos minerales contenidos en la harina de semilla de jícaro, puesto que se obtuvo un 4.9 % de cenizas totales en la materia prima evaluada, lo cual indica la presencia considerable de minerales inorgánicos lo que sería beneficioso desde el punto de vista nutricional.

Es recomendable realizar un estudio para evaluar la estabilidad de la bacteria *Bacillus clausii* contenida en el producto final, de esta manera determinar el tiempo de vida útil del producto y el comportamiento de la bacteria conforme al tiempo de almacenamiento en condiciones refrigeradas.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- 2016, P. (01 de Junio de 2017). *Paladar 2016*. Obtenido de <https://paladar2016.wordpress.com/2017/06/01/dips/>
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (28 de abril de 2021). www.anmat.gov.ar. Obtenido de http://www.anmat.gov.ar/consumidores/alimentos/alimentos_funcionales_probioticos.pdf
- AESAN. (2020). PROBIÓTICOS EN LOS ALIMENTOS. *Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición*, 1-3.
- ALIMENTARIUS, C. D. (2018). *DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LAS DIRECTRICES ARMONIZADAS SOBRE EL USO DE PROBIÓTICOS EN ALIMENTOS Y COMPLEMENTOS ALIMENTICIOS*. Berlín, Alemania: Codex Alimentarius.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*. EEUU: Gaithersburg [ESTADOS UNIDOS] : AOAC International.
- Bayardo Aguilar, K. O. (2012). *Propuesta de un plan de mejora de la calidad del proceso de molido de horchata en Inversiones El Caracol S.A.* Managua-Nicaragua: Universidad Nacional de Ingeniería - Facultad de Ciencias y Sistemas.
- BIOMERIEUX. (02 de 03 de 2023). *®VITEK 2 Manual de usuario*. Obtenido de <https://www.manualslib.com/manual/1291233/Biomérieux-Vitek-2.html#manual>
- Blue, N. (07 de Marzo de 2023). *Labotienda.com*. Obtenido de <https://www.labotienda.com/es/productos-laboratorio/balanza-de-precision-5000g-0-01g-serie-5172/>
- BRUKER. (10 de 03 de 2023). *Boletín global de Bruker Optics*. Obtenido de Guía de espectroscopía infrarroja: <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html>

- Camacho, A. M. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. México: Facultad de Química, UNAM. .
- CONICYT. (25 de 01 de 2023). *Consejo Nicaragüense de Ciencia y Tecnología*. Obtenido de <https://www.conicyt.gob.ni/index.php/2017/02/03/semilla-de-jicaro-presente-en-consorcio-de-investigacion-internacional/>
- Cortez, P. M. (2020). *Principios y aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo en el análisis de alimentos y bebidas*. Zapopan, Jalisco, México: D.R. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C.
- Culinarium. (08 de Marzo de 2023). *INOXIBAR*. Obtenido de <https://www.culinarium.es/es/olla-inox-tapa-cristal-26-cm-inoxibar-5004677>
- DAKOTA. (07 de Marzo de 2023). *electrogarline.com*. Obtenido de <https://www.electrogarline.com/industrias-y-oficinas/agroindustria/molino-de-granos/molino-de-granos-secos-de-2-hp-de-acero-inoxidable-1500.html>
- DAYANNY BAENA GARCIA, N. M. (2018). *DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACIÓN ORAL ADICIONADA CON CEPA PROBIÓTICA DE Bacillus clausii*. Cartagena, Colombia: UNIVERSIDAD DEL SINÚ SECCIONAL CARTAGENA.
- DAYANNY BAENA GARCIA, N. M. (2018). *DESARROLLO DE UNA PALETA DE SALES DE REHIDRATACIÓN ORAL ADICIONADA CON CEPA PROBIÓTICA DE Bacillus clausii*. CARTAGENA DE INDIAS D. T. H. Y C.: UNIVERSIDAD DEL SINÚ SECCIONAL CARTAGENA.
- Ebro. (15 de Marzo de 2023). *Femto Instruments*. Obtenido de <https://femto.es/termometro-de-termopar-monocanal-con-conexion-smp-de-alta-precision-y-sonda-de-temperatura-de-aire-hasta-1100-c-o-3mm-x-100mm>
- ecoologic.com. (15 de Marzo de 2023). *ecoologic.com*. Obtenido de <https://www.ecoologic.com/envase-rectangular-pequeno>

- Enterogermina. (16 de Junio de 2023). *www.enterogermina.com*. Obtenido de <https://www.enterogermina.com/es-pe/probioticos/bacillus-clausii>
- Enterogermina. (17 de junio de 2023). *www.enterogermina.com*. Obtenido de <https://www.enterogermina.com/es-pe/probioticos/bacillus-clausii>
- Fandiño, R. L. (2014). *Las proteínas de los alimentos*. Madrid, España: Consejo Superior de Investigaciones Científicas-CSIC.
- FAO. (14 de 03 de 2023). *MANUAL DE TECNICAS PARA LABORATORIO DE NUTRICION DE PECES Y CRUSTACEOS*. Obtenido de [fao.org: https://www.fao.org/3/ab489s/AB489S00.htm#TOC](https://www.fao.org/3/ab489s/AB489S00.htm#TOC)
- Fernández, I. C. (2022). *COOPERATIVASIMBIOSIS*. Obtenido de TODO LO QUE DBES SABER SOBRE HARINAS : <https://www.cooperativasimbiosis.com/harinas/#:~:text=La%20harina%20es%20el%20polvo,obtener%20harina%20de%20distintos%20cereales>.
- Fisherbrand™. (15 de Marzo de 2023). *Fisher Scientifiuc*. Obtenido de <https://www.fishersci.es/shop/products/304-stainless-steel-light-laboratory-chattaway-spatula/11563482#?keyword=>
- Flores, R. E. (2020). *Usos de la harina de Jícara (Crescentia cujete) en la industria: Revisión de Literatura*. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Flores, R. V. (2015). Probióticos: una alternativa para la industria de alimentos. *Universidad de Lima. Lima, Perú*, 1-12.
- Hernández, D. (05 de Julio de 2022). *GASTROLAB*. Obtenido de H GASTROLAB: <https://www.gastrolabweb.com/tips/2022/7/5/que-diferencias-hay-entre-la-salsa-el-dip-el-aderezo-atento-esas-caracteristicas-25786.html>
- Hugo W Bianco D, T. C. (2014). *Determinación de humedad en harina precocida de maíz blanco utilizando un horno de microondas doméstico*. Venezuela: Revista del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”.

- INTERNATIONAL, A. (1999). *Official methods of analysis of AOAC International*. EEUU: Gaithersburg [ESTADOS UNIDOS] : AOAC International.
- ISLAS, A. A. (2019). *OBTENCIÓN DE UN ALIMENTO FUNCIONAL MEDIANTE LA LIOFILIZACIÓN Y SECADO POR ASPERSIÓN DE UN PRODUCTO GENERADO A PARTIR DE LA MICROBIOTA DEL KÉFIR*. ORIZABA, VERACRUZ, MÉXICO: INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ORIZABA.
- Italvacuum. (07 de Marzo de 2023). *directindustry.es*. Obtenido de <https://www.directindustry.es/prod/italvacuum/product-27975-106869.html>
- Javier Aranceta, L. S. (2008). *Guía de alimentos funcionales*. España: Instituto Omega 3, Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC).
- Karla Ximena López Beraún, M. A. (2022). *ESTUDIO DE PREFACTIBILIDAD PARA LA INSTALACIÓN DE UNA PLANTA PRODUCTORA DE DIPS DE GARBANZOS (Cicer arietinum), YUYO (Chondracanthus chamissoi) Y ACEITUNA VERDE (Olea europaea)*. Lima, Perú: Universidad de Lima, Facultad de Ingeniería y Arquitectura.
- Keyra León, H. U. (2015). GUÍAS DE MANEJO CLÍNICO CONSENSO DE PROBIÓTICOS PRODUCTOS Y EFECTOS. *ARCHIVOS VENEZOLANOS DE PUERICULTURA Y PEDIATRÍA*, 129-134.
- KG, S. L. (2018). Instrucciones de funcionamiento Moisture Analyzer Sartorius V.S: 11. Goettingen, Alemania: © Sartorius Alemania.
- LÓPEZ, R. N. (2013). *OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LECHE VEGETAL A PARTIR DE SEMILLA DE JÍCARO SABANERO (Crescentia Alata) (H.B.K)*. León, Nicaragua: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, UNAN- LEÓN.
- MARIA PIA TARANTO, M. G. (2005). Alimentos funcionales probióticos. *Química Viva*, 26-34.

- Maykel Andrés Torrez, M. Á. (2016). *Propuesta tecnológica para la extracción de aceite y producción de harina a partir de semilla de jícara sabanero (Crescentia Alata), en el departamento de chontales, en el año 2015*. Managua, Nicaragua: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, MANAGUA.
- MEFCCA. (28 de 02 de 2023). *Cartilla del cultivo de jícara*. Obtenido de <https://www.economiafamiliar.gob.ni/backend/vistas/doc/cartilla/documento3202440.pdf>
- MEFCCA. (Recuperado de la página web oficial del MEFCCA el 28/01/2023). *Cartilla del Cultivo de Jícara*. Obtenido de [www.economiafamiliar.gob.ni: https://www.economiafamiliar.gob.ni/backend/vistas/doc/cartilla/documento3202440.pdf](https://www.economiafamiliar.gob.ni/backend/vistas/doc/cartilla/documento3202440.pdf)
- Memmert. (07 de Marzo de 2023). *directindustry.es*. Obtenido de <https://www.directindustry.es/prod/memmert-gmbh-co-kg/product-28305-1703298.html>
- Nepomuceno, G. B. (2017). *Implementación de análisis bromatológicos (grasas totales, cenizas, humedad y fibra cruda) en la empresa Alimentos Tenerife*. Veracruz, Mexico: Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz.
- NTE-INEN. (2015). *LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE NITRÓGENO MÉTODO KJELDAHL*. Quito, Ecuador: NTE-INEN 16.
- OMS/FAO. (2006). *Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*. Roma: Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy .
- Patrcia, R.-M., & Aznar Rosa, F. L. (2018). *Alimentos Vegetales con funcinalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas: Proyecto ProInfant-CYTED. Red-Bal , Red Española de Bacterias Lácticas*.

- Peñañiel, M. U. (2015). *Dip de Garbanzo (Cicerarietinum), con Tomate (Lycopersicumsculentum, Mil) Deshidratado*. Guayaquil, Ecuador: Universidad de Guayaquil.
- PEÑALOZA, O. F. (2017). *ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE UN ALIMENTO POR ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-NIRS) Y QUIMIOMETRÍA*. Mexicali, B. C.: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA.
- Sares, L. C. (2017). *FUNDAMENTOS BÁSICOS DE CÁLCULOS DE INGENIERÍA QUÍMICA CON ENFOQUE EN ALIMENTOS*. Machala - Ecuador: Ediciones UTMACH.
- Suministros, D. (08 de Marzo de 2023). *dimobasuministros.com*. Obtenido de <https://www.dimobasuministros.com/tamiz-macrolon-malla.html>
- Termofisher. (10 de mayo de 2023). *www.thermofisher.com*. Obtenido de <https://www.thermofisher.com/ni/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/fourier-transform-infrared-spectroscopy/resources/ftir-spectroscopy-academy.html>
- TX-700, T. (08 de Marzo de 2023). *Kasalab S.A*. Obtenido de <https://www.kasalab.com/producto/texturometro-tx-700/>
- UNED. Facultad de Ciencias. Nutrición y Dietética. (2023). *Guía de Alimentación y Salud. Alimentos funcionales.*, 1-8.
- United, F. a. (2021). *Standard operating procedure for soil nitrogen Kjeldahl method*. Roma: FAO. 2021 *Standard operating procedure for soil nitrogen Kjeldahl method*, Roma.
- UPO-Universidad pablo de Olavide, d. S. (10 de 03 de 2023). *Técnicas Avanzadas en Química*. Obtenido de Extracción Soxhlet-UPO: https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/TAQ/curso0405/TAQP5_0405.pdf

VENTURA, L. M. (2020). *Manual de prácticas de Análisis de Alimentos*. Xalapa, Veracruz-México: UNIVERSIDAD VERACRUZANA.

Waring. (08 de 03 de 2023). *Imisanic.com*. Obtenido de <https://imisanic.com/producto/waring-procesador-de-alimentos/>

WMETERS, P. P.-0. (15 de Marzo de 2023). *JC MEDICAL SUPPLIES*. Obtenido de <https://www.jcmedicalsupplies.com/producto/phmetro-ph-009iii-wmeters/>

YULEISI TATIANA CABALLERO HERNÁNDEZ, S. R. (2018). *MANUAL DE ANÁLISIS QUÍMICO E INSTRUMENTAL – FUNDAMENTOS DE ANÁLISIS QUÍMICO*. Barrancabermeja, Santander, Colombia: Instituto Universitario de la Paz – UNIPAZ.

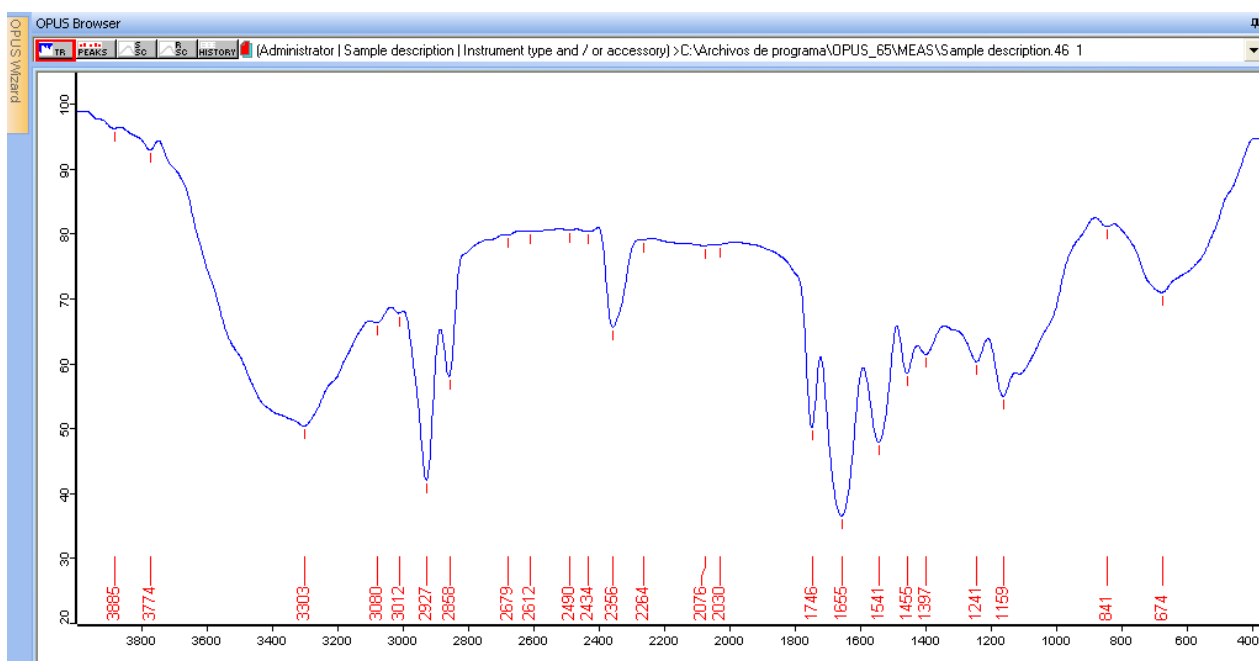
YURIS LISSETH CARRASCO LAINES, M. A. (Mayo de 2017). PROPORCIONAR VALOR AGREGADO A LOS JICAROS SILVESTRES (*Crescentia Alata*) CON LA ELABORACION DE CARBON VEGETAL EN EL PERIODO DE ENERO A DICIEMBRE 2014. León, Nicaragua: Universidad Nacional Autonoma de Nicaragua UNAN-LEON.

IX.ANEXOS

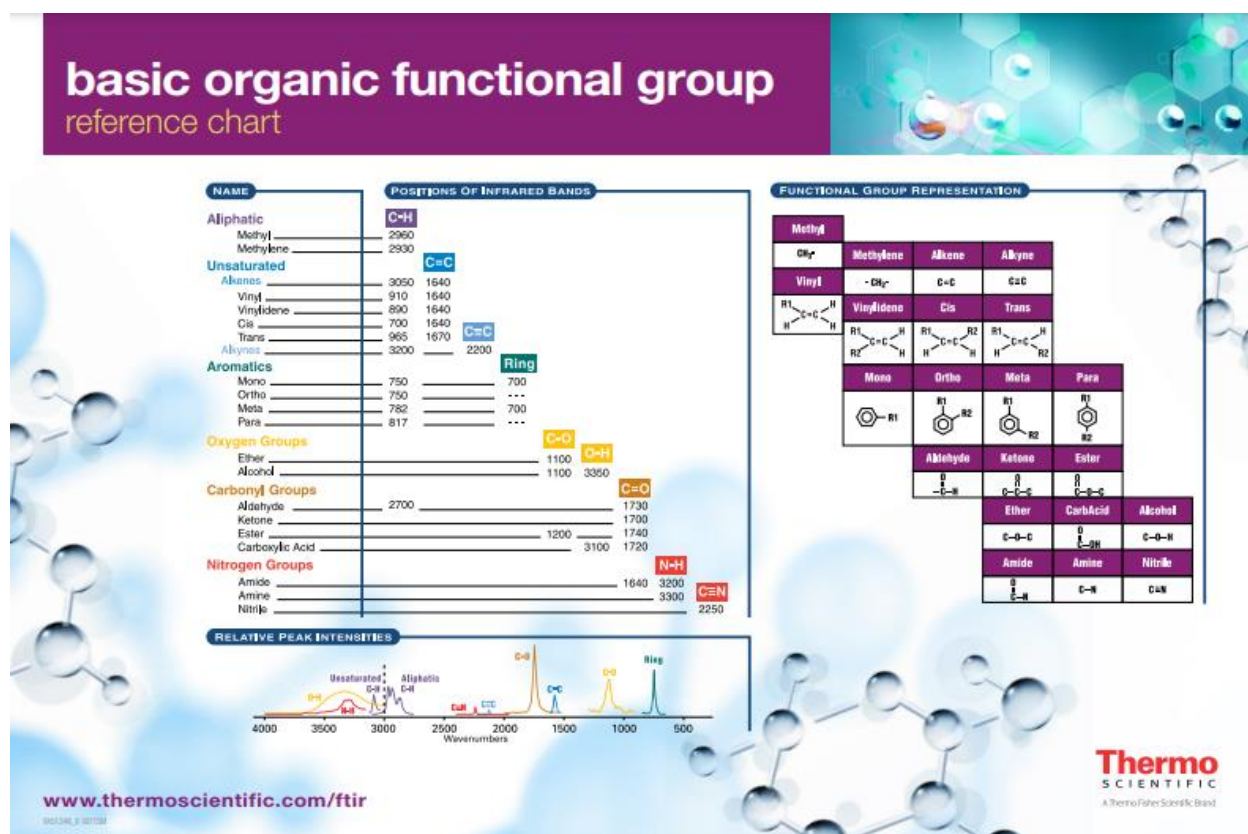
Anexo 1. Resultados de harina de semilla de jícara obtenida en el proceso de tamizado, fuente, elaboración propia.

Tamizador Tyler (Operaciones Unitarias)			
N° de Malla	Tamiz Vacío (Kg)	Tamiz con muestra (Kg)	Total (Kg)
8	0.475	0.501	0.026
12	0.444	0.457	0.013
35	0.360	0.666	0.306
50	0.345	0.471	0.126

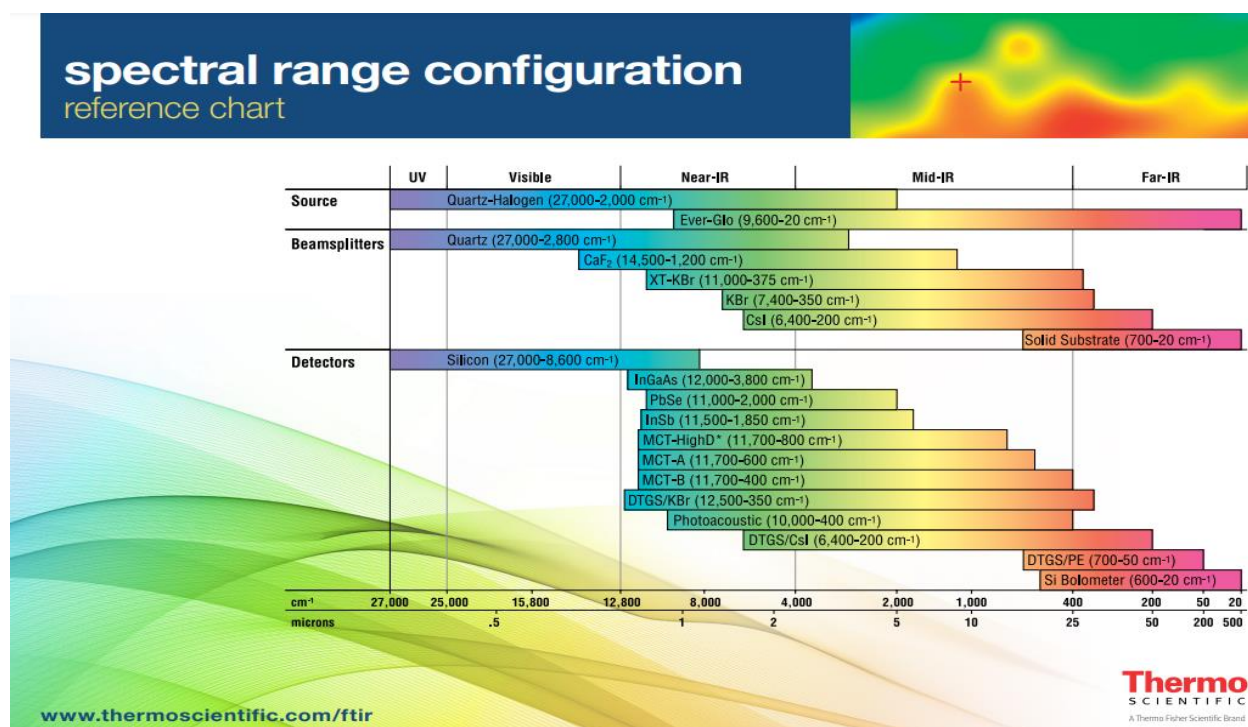
Anexo 2. Espectro IR de transmitancia (%) de la harina de semilla de jícara obtenido durante el ensayo realizado en el laboratorio de análisis de Operaciones Unitarias.



Anexo 3. Carta de referencia para grupos funcionales orgánicos.



Anexo 4. Configuración de rango espectral



Anexo 5. Resultado de identificación de la bacteria *Bacillus Clausii*

Cliente de bioMérieux: Equipo N°: Aislamiento: 01-1 (Aprobado) Tipo de tarjeta: BCL Código de barras: 2392436203416421 Prueba de instrumento: 00001A0FD94B (MECHNIKOV) Técnico de preparación: Carlos Florencio Sanchez(c.florencio)	Informe de examen	Editado por: c.florencio															
Bionúmero: 1356105004114020 Cantidad de organismo:																	
Organismo seleccionado: Bacillus clausii																	
Comentarios:																	
	Se encontro en la muestra una concentracion de 1000 UFC																
Patrón McFarland: 1.87 (1.80 - 2.20)																	
Información de identificación	Tarjeta: BCL Estado: Final	N° de lote: 2392436203 Tiempo de análisis: 13,90 horas	Fecha caduc.: 28-jul-2024 12:00 CST Finalizado: 01-jul-2023 05:49 CST														
	Origen del organismo VITEK 2																
Organismo seleccionado	94% Probabilidad Bacillus clausii Bionúmero: 1356105004114020 Nivel de confianza: Identificación muy buena																
Organismos de análisis y pruebas a separar:																	
Mensajes análisis: Véanse datos adicionales en la información sobre el producto.																	
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s) Bacillus clausii dRIB(1),OLD(88),																	
Detalles bioquímicos																	
1	BXYL	+	3	LysA	-	4	AspA	-	5	LeuA	(+)	7	PheA	+	8	ProA	-
9	BGAL	+	10	PyrA	-	11	AGAL	+	12	AlaA	-	13	TyrA	+	14	BNAG	(+)
15	APPA	+	18	CDEX	-	19	dGAL	-	21	GLYG	-	22	INO	-	24	MdG	-
25	ELLM	+	26	MdX	-	27	AMAN	+	29	MTE	-	30	GlyA	-	31	dMAN	-
32	dMNE	-	34	dMLZ	-	36	NAG	-	37	PLE	-	39	IRHA	-	41	BGLU	+
43	BMAN	(+)	44	PHC	-	45	PVATE	-	46	AGLU	+	47	dTAG	-	48	dTRE	-
50	INU	-	53	dGLU	-	54	dRIB	+	56	PSCNa	-	58	NaCl 6.5%	-	59	KAN	-
60	OLD	-	61	ESC	+	62	TTZ	(-)	63	POLYB 1	-						

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02 Guía de interpretación de CMI: Nombre de juego de parámetros de AES:	Guía de interpretación terapéutica: Última modificación de parámetros de AES: Página 1 de 2
---	---

Cliente de bioMérieux:

Informe de examen

Editado por: c.florencio

Equipo N°:

Aislamiento: 01-1 (Aprobado)

Tipo de tarjeta: BCL Código de barras: 2392436203416421 Prueba de instrumento: 00001A0FD94B (MECHNIKOV)

Técnico de preparación: Carlos Florencio Sanchez(c.florencio)

Bionúmero: 1356105004114020

Cantidad de organismo:

Organismo seleccionado: *Bacillus clausii*

Acción	Nombre (ID de usuario)	Fecha/Hora	Comentario
--------	------------------------	------------	------------

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02

Guía de interpretación de CMI:

Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:

Última modificación de parámetros de AES:

Página 2 de 2

Anexo 6. Resultado de cuantificación de la bacteria Bacillus Claussi

Cliente de bioMérieux: **Informe de examen**
 Equipo N°: Editado por: c.florencio
 Aislamiento: 21145-3 (Aprobado)
 Tipo de tarjeta: BCL Código de barras: 2392187203424583 Prueba de instrumento: 00001A0FD94B (MECHNIKOV)
 Técnico de preparación: Carlos Florencio Sanchez(c.florencio)

Bionúmero: 1052105004010020

Cantidad de organismo:

Organismo seleccionado: Bacillus clausii

Comentarios:	

Patrón McFarland: 2.09 (1.80 - 2.20)

Información de identificación	Tarjeta: BCL	Nº de lote: 2392187203	Fecha caduc.: 22-nov-2023 12:00 CST
	Estado: Final	Tiempo de análisis: 13,87 horas	Finalizado: 05-may-2023 04:29 CST
Origen del organismo	VITEK 2		
Organismo seleccionado	94% Probabilidad Bacillus clausii		
	Bionúmero: 1052105004010020 Nivel de confianza: Identificación muy buena		
Organismos de análisis y pruebas a separar:			
Mensajes análisis: Véanse datos adicionales en la información sobre el producto.			
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s) Bacillus clausii PheA(97),LeuA(72),OLD(88),			

Detalles bioquímicos																	
1	BXYL	+	3	LysA	-	4	AspA	-	5	LeuA	-	7	PheA	-	8	ProA	-
9	BGAL	+	10	PyrA	-	11	AGAL	+	12	AlaA	-	13	TyrA	+	14	BNAG	-
15	APPA	+	18	CDEX	-	19	dGAL	-	21	GLYG	-	22	INO	-	24	MdG	-
25	ELLM	+	26	MdX	-	27	AMAN	+	29	MTE	-	30	GlyA	-	31	dMAN	-
32	dMNE	-	34	dMLZ	-	36	NAG	-	37	PLE	-	39	IRHA	-	41	BGLU	+
43	BMAN	(-)	44	PHC	-	45	PVATE	-	46	AGLU	(+)	47	dTAG	-	48	dTRE	-
50	INU	-	53	dGLU	-	54	dRIB	-	56	PSCNa	-	58	NaCl 6.5%	-	59	KAN	-
60	OLD	-	61	ESC	+	62	TTZ	-	63	POLYB I	-						

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02

Guía de interpretación de CMI:

Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:

Última modificación de parámetros de AES:

Página 1 de 2

Cliente de bioMérieux:

Informe de examen

Editado por: c.florencio

Equipo N°:

Aislamiento: 21145-3 (Aprobado)

Tipo de tarjeta: BCL Código de barras: 2392187203424583 Prueba de instrumento: 00001A0FD94B (MECHNIKOV)

Técnico de preparación: Carlos Florencio Sanchez(c.florencio)

Bionúmero: 1052105004010020

Cantidad de organismo:

Organismo seleccionado: *Bacillus clausii*

Acción	Nombre (ID de usuario)	Fecha/Hora	Comentario
--------	------------------------	------------	------------

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02

Guía de interpretación de CMI:

Nombre de juego de parámetros de AES:

Guía de interpretación terapéutica:
Última modificación de parámetros de AES:

Página 2 de 2