Universidad Nacional de Ingeniería

Área del Conocimiento de Agricultura

INFLUENCIA DEL ACEITE Y DE LA HARINA DE SEMILLA DE JÍCARO (*CRESCENTIA ALATA*) EN EL CRECIMIENTO DE LA BACTERIA PROBIÓTICA *BACILLUS CLAUSII*

Trabajo Monográfico para optar al título de
Ingeniero Químico

Elaborado por:

Br. YOANDY ANGELINA MONTERREY COREA
2020-0829U

Br. GLADYS PAMELA TÉLLEZ BUSTOS
2020-0815U

Tutor:

MSc. Ing. JOHANA O'CONNOR MENDOZA

Abril, 2026
Managua, Nicaragua

OPINIÓN DEL CATEDRÁTICO GUÍA

Es un honor presentar el trabajo de investigación titulado **"*INFLUENCIA DEL ACEITE Y DE LA HARINA DE SEMILLA DE JÍCARO (CRESCENTIA ALATA) EN EL CRECIMIENTO DE LA BACTERIA PROBIÓTICA BACILLUS CLAUSII",*** como estrategia sostenible para dar valor agregado a la producción autóctona, desarrollada por las bachilleres: Yoandy Angelina Monterrey Corea Y Gladys Pamela Téllez Bustos.

A través de su investigación, las bachilleres han demostrado que la validación científica de las propiedades probióticas del aceite y la semilla de jícaro es un paso fundamental para transformar un recurso tradicional en un ingrediente funcional de alto valor. Al demostrar su capacidad para fomentar el crecimiento de microorganismos benéficos, no solo se rescata un cultivo subutilizado, sino que se ofrece una alternativa nutritiva rica en ácidos grasos insaturados y proteínas. Esta evidencia permite que la industria alimentaria justifique su inclusión en productos procesados, garantizando que el consumo del jícaro aporte beneficios reales a la microbiota del consumidor, mejorando la salud intestinal y fortaleciendo el sistema inmunológico.

Desde la perspectiva de la ingeniería química, este proceso implica el diseño y la optimización de operaciones unitarias para extraer y estabilizar estos compuestos sin que pierdan su bioactividad. Además, la investigación está en concordancia con los lineamientos del Plan Nacional de Lucha contra la Pobreza y para el Desarrollo Humano 2022–2026, donde se enfatiza la importancia de la economía circular, dando valor agregado a los desechos industriales. Así mismo aporta al Plan Nacional de Educación, en los ejes de investigación e innovación, por otro lado, contribuye a los ODS 12: Producción y Consumo Responsables y ODS 13: Acción por el Clima.

Por lo expuesto, considero que el presente trabajo de diploma cumple con los requisitos necesarios para ser evaluado por el Tribunal Examinador correspondiente. Solicito se valore positivamente la contribución en la búsqueda de soluciones prácticas y sostenibles para los desafíos ambientales que enfrenta nuestra sociedad.

MSc. Johana Lisseth O´Connor Mendoza

Tutor del Trabajo de Diploma

Managua, febrero de 2026

Universidad Nacional de Ingeniería
Área de Conocimiento de Agricultura
Formas de Culminación de Estudios

REF.DACA.FCE.253.2025
Managua, 13 de agosto del 2025

Bachilleres

YOANDY ANGELINA MONTERREY COREA (2020-0829U)
GLADYS PAMELA TÉLLEZ BUSTOS (2020-0815U)

Estimados Bachilleres:

Es de mi agrado informarles que el PROTOCOLO de su Tema **MONOGRÁFICO**, titulado: **"INFLUENCIA DEL ACEITE Y DE LA HARINA DE SEMILLA DE JÍCARO (CRESCENTIA ALATA) EN EL CRECIMIENTO DE LA BACTERIA PROBIÓTICA BACILLUS CLAUSII"** Ha sido aprobado por el Director de Área de Conocimiento de Agricultura.

Asimismo, les comunico estar totalmente de acuerdo, que la el **MSc. Johana Lisseth O`connor Mendoza** sea la tutora de su trabajo final.

La fecha límite, para que presenten concluido su documento final, debidamente revisado por el tutor guía será el **13 de febrero del 2026.**

Esperando puntualidad en la entrega de la Tesis, me despido.

Atentamente,

MSc. José Mamerto Méndez Ubeda
Director de Área de Conocimiento de Agricultura
DACA

Tutor: MSc. Johana Lisseth O`connor Mendoza
MSc. Helia Vanessa Taleno Oporta / Secretaria Académica DACA
C/c: Archivo

DEDICATORIA

A Dios, centro de mi vida.

A mi madre, Elkin Yovanela, mi mayor inspiración. Por su amor y sacrificio que han sido la base sobre la cual he construido mi camino. Gracias por ser el ejemplo de fortaleza que guía mis pasos.

A mi padre, Julio Constantino, por ser mi refugio y mi seguridad. Mi gratitud eterna por su sabiduría, sus consejos y su amor constante.

A mi hermano, Kendrick Jhaley, por ser mi motor para crecer y mi motivación para convertirme en ejemplo y apoyo para él.

-Yoandy Angelina Monterrey Corea

DEDICATORIA

A Dios por siempre guiarme y escucharme, por darme la fortaleza y sabiduría cuando pensaba que no podía o no me sentía suficiente.

A mis padres, por su apoyo y confianza, por creerme capaz de cumplir todas mis metas y proyectos.

A mí misma, por no darme por vencida aun cuando las adversidades de la vida me hacían dudar de mis capacidades y por siempre luchar por conseguir lo que me propongo.

-Gladys Pamela Téllez Bustos

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por permitirme culminar esta etapa y ser mi fortaleza en todo momento, por poner en mi camino a personas nobles que iluminaron cada jornada.

A mi familia, por su amor y su apoyo inquebrantable, pilares que hicieron posible que hoy me convierta en profesional.

A mi amiga Angie, por sus palabras oportunas, sus consejos y la motivación que me sostuvo en los días difíciles.

A mi alma mater, que no solo me formó profesionalmente, sino que también moldeó mi calidad humana. A las amistades que guardo en el corazón, aquellas que dejaron huellas profundas y ampliaron mi manera de ver la vida.

A mis docentes del PAIQ, por enseñarme con dedicación. En especial a las docentes mujeres, por ser inspiración y demostrar que ocupamos un lugar importante en el mundo.

A mi compañera y amiga, Gladys Pamela, por dar lo mejor de sí misma en todo momento. Gracias por su esfuerzo, sus desvelos y su esmero en esta jornada. Admiro la persona fuerte y noble que es, además de la gran profesional en la que se ha convertido. Gracias a Dios por permitirnos culminar esta etapa juntas.

A nuestra tutora, MSc. Ing. Johana O'Connor Mendoza, quien desde la primera clase me transmitió de su pasión. Estoy profundamente agradecida por su guía y su apoyo en cada paso de este proceso.

A la UNHSJM, que gracias a su alianza con la UNI abrió para nosotras las puertas del laboratorio de Biotecnología Microbiana. Mi gratitud al Ing. Oscar Ruiz y al Ing. Mario Herrera por sus valiosos aportes y acompañamiento.

Y finalmente, a mí misma: por avanzar incluso cuando las circunstancias parecían adversas, por no rendirme, por mi esfuerzo, mi trabajo y mi dedicación. Con la ayuda de Dios, me permite convertirme en profesional.

-Yoandy Angelina Monterrey Corea

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme fortaleza, salud y sabiduría durante mi vida y los años que tuve de formación como ingeniera química. Por guiarme e instruirme para convertirme en la persona que soy.

A mis padres, Armando y María, por su apoyo, guía y ejemplo. Por ayudarme a ser lo que soy, por permitirme obtener este logro que es nuestro. Gracias por enseñarme a luchar por lo que quiero y por todo su apoyo.

A mi compañera de tesis, de clases y amiga, Yoandy Angelina, por ser como es, desde que la conocí siempre fue alguien amable y servicial, por tenerme en cuenta para poder terminar nuestros estudios y por ser un gran apoyo tanto académica como personalmente.

A nuestra tutora, MSc. Johanna O´Connor, por su guía, conocimientos, consejos, dedicación y disposición para ayudarnos en este último paso para podernos titular como Ingenieras.

A mi pareja, Brandon, por ser mi compañero y mi motivación, por cuidarme y apoyarme cuando más lo necesitaba, por acompañarme por las noches cuando tenía que estudiar y por preocuparse por mi bienestar durante los momentos difíciles.

A los amigos que hice durante los años de carrera, que en los momentos difíciles fueron un apoyo, por las risas que no faltaron y a aquellos profesores que con su vocación y palabras me alentaron a seguir.

Finalmente, a la UNHSJM y al Ing. Oscar Ruiz y al Ing. Mario Herrera que mediante la alianza con la Universidad Nacional de Ingeniería UNI nos permitieron realizar la parte experimental de nuestro proyecto en el laboratorio de Biotecnología Microbiana y brindarnos sus consejos y apoyo.

-Gladys Pamela Téllez Bustos

RESUMEN

Estudios recientes han demostrado que la población mundial actual prefiere consumir alimentos funcionales que ayuden a mejorar su calidad de vida. Uno de los compuestos más destacables de este grupo son los probióticos, prebióticos y simbióticos. Nicaragua al ser un país productor posee una variedad de alimentos, los cuales poseen un gran valor nutricional pero su aprovechamiento es limitado, como los es el jícaro, por este motivo se ha considerado para la extracción de su aceite. El presente trabajo monográfico tiene como objetivo Evaluar la influencia del aceite y harina de semilla de jícaro [*crescentia alata*] en el crecimiento de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii.*

Para el alcance de esta investigación, se realizaron prácticas de laboratorio en tres etapas: extracción del aceite y obtención de la harina de semilla de jícaro [*crescentia alata*], prueba de adaptabilidad de *Bacillus Clausii* a medios comerciales y evaluación del crecimiento por espectrofotometría y recuento en placa.

Como resultado del presente estudio, a partir de la Semilla de Jícaro, se extrajo aceite y con un rendimiento en la obtención de aceite del 10.60% y un rendimiento por semilla del 85.31% en la obtención de harina de la torta residual. Además, se probó la adaptabilidad de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii* en medios comerciales, teniendo como resultado que la bacteria presenta una mayor adaptabilidad en el Agar Nutritivo, obteniendo $1.28 * 10^{-2}$ UFC por mL, que en otros medios comerciales. También, se evaluó el crecimiento de la bacteria *Bacillus Clausii* mediante espectrofotometría y recuento en placas, obteniendo que en el tratamiento 6 en caldo nutritivo, a los 150 minutos se presentó medidas de absorbancia de mayor valor en la harina, 1.933 OD, en comparación a las medidas tomadas del aceite y del medio de control, 0.976 OD y 0.247 OD respectivamente y en el tratamiento 4 en caldo Luria Bertani (LB) a los 90 minutos, se obtuvo valores con diferencias significativas para el aceite, 1.025 OD, en comparación con los valores obtenidos de la harina, 0.560 OD, y, el medio de control, 0.292 OD.

ABSTRACT

Recent studies have shown that the current world population prefers to consume functional foods that help improve their quality of life. One of the most notable compounds in this group are probiotics, prebiotics and symbiotics. Nicaragua as a producer country has a variety of foods, which have a great nutritional value, but their use is limited, such as picaro, for this reason it has been considered for the extraction of its oil. The present monographic work aims to evaluate the influence of jicarus seed [*crescentia alata*] oil and flour on the growth of the probiotic bacteria *Bacillus Clausii*.

For the scope of this research, laboratory practices were carried out in three stages: extraction of oil and production of jicaro seed [*crescentia alata*] flour, test of adaptability of *Bacillus Clausii* to commercial media and growth evaluation by spectrophotometry and plate count.

Through the objectives of this work, a yield in obtaining oil of 10.60% and a yield per seed of 85.31% was obtained in obtaining flour from the residual cake. In addition, the adaptability of the probiotic bacterium *Bacillus Clausii* was tested in commercial media, with the result that the bacterium presents a greater adaptability in the Nutrient Agar, obtaining 1.28 * 10-2 CFU per mL, than in other commercial media. Also, the growth of the bacteria *Bacillus Clausii* was evaluated by spectrophotometry and plate counting, obtaining that in treatment 6 in nutritive broth, at 150 minutes it presented measures of absorbancy of greater value in flour, 1.933 OD, compared to the measurements of oil and control medium, 0.976 OD and 0.247 OD respectively and in treatment 4 in Luria Bertani broth (LB) at 90 minutes, values were obtained with significant differences for the oil, 1.025 OD, compared with the values obtained from flour, 0.560 OD, and the control medium, 0.292 OD.

INDICE

OPINIÓN DEL CATEDRÁTICO GUÍA III
DEDICATORIA II
AGRADECIMIENTOS IV
RESUMEN VI
ABSTRACT VII
INDICE VIII
INDICE DE FIGURAS X
INDICE DE TABLAS XI
ANEXOS XII
I. INTRODUCCIÓN 1
II. OBJETIVOS 2
2.1 Objetivo General. 2
2.2 Objetivos específicos. 2
III. MARCO TEÓRICO 3
3.1 Economía circular en la industria alimentaria 3
3.2 Jícaro *Crescentia Spp* 3
3.2.1. Aplicaciones 3
3.2.2. Zonificación de cultivo 3
3.3 Semilla de jícaro (*Crescentia alata*) 4
3.3.1. Extracción de aceite de semilla de jícaro (*Crescentia Alata*) por prensado 7
3.3.2. Harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) 7
3.4 Alimento Funcional 8
3.4.1. Prebióticos 8
3.4.2. Probióticos 9
3.4.3. Simbióticos 9
3.4.4. Importancia del uso de precursores 9
3.5 Identificación de las bacterias 9
3.6 Bacterias probióticas 11
3.6.1. *Bacillus Spp.* 12
3.6.2. *Bacillus Clausii* 12

3.7 Medios de cultivo 13
3.7.1. Agar nutritivo 15
3.7.2. Agar Luria (LB Miller) 15
3.7.3. Agar de tripteína soya 15
3.8 Diluciones seriadas 15
3.9 Determinación del crecimiento microbiano 17
3.9.1. Determinación del número de células 18
3.9.2. Determinación de la masa celular 19
IV. HIPÓTESIS 20
V. MATERIALES Y MÉTODO 21
5.1 Materiales 21
5.2 Ubicación del estudio 22
5.3 Extracción de aceite y producción de harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) 23
5.4 Prueba de adaptabilidad de Bacillus Clausii a medios comerciales. 29
a) Confirmación de pureza 31
5.5 Evaluación del crecimiento por espectrofotometría y recuento en placa 32
VI. RESULTADOS 34
6.1 Resultados de la extracción de aceite y producción de harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) 34
6.2 Resultados de la prueba de adaptabilidad de *Bacillus Clausii* a medios comerciales 34
a) Confirmación de pureza 37
6.3 Análisis del crecimiento por espectrofotometría y recuento en placa 38
VII. CONCLUSIONES 44
VIII. RECOMENDACIONES 45
IX. BIBLIOGRAFÍA 46
X. ANEXOS 51

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la semilla de jícaro (Crescentia alata). 4
Figura 2. Clasificación de las bacterias según su morfología..... 10
Figura 3. Morfología de colonias bacterianes 10
Figura 4. Beneficios de la cepa probiótica Bacillus Clausii a la salud 12
Figura 5. Clasificación de los medios de cultivo 14
Figura 6. Técnica Dilución en serie..... 16
Figura 7. Curva de crecimiento microbiano en un sistema cerrado 17
Figura 8. Ubicación del estudio. A) Universidad Nacional de Ingeniería B) Universidad Nacional Héroes San José de las Mulas 22
Figura 9. Proceso de obtención de las semillas de jícaro (Crescentia Alata). A) Quebrado del fruto B) Lavado de las semillas 23
Figura 10. Proceso de reducción de tamaño de la semilla. A) Reducción de humedad B) Trituración..... 24
Figura 11. Extracción del aceite. A) Calentamiento de la pulpa B) Filtrado 25
Figura 12. Separación del aceite 25
Figura 13. Aceite obtenido 26
Figura 14. Harina obtenida..... 27
Figura 15. Flujograma del proceso de obtención de aceite y harina de semilla de jícaro (Crescentia alata) 28
Figura 16. Suspensión probiótica utilizada 29
Figura 17. Medios de cultivos utilizados 29
Figura 18. Utilización del vortex y de pipeta para dilución en serie..... 30
Figura 19. Evaluación del crecimiento. A) Medio de control, solución 1% p/v harina y 2% v/v aceite B) Espectrofotómetro VWR 32
Figura 20. Preinóculo B. Clausii en shaker SciaLogex..... 33
Figura 21. Crecimiento de Bacillus Clausii de concentraciones 1:10 a $1:10^6$ por siembra en superficie en placas de Agar Nutritivo, Luria Bertani y Tripteína de Soya 35
Figura 22. Comparación de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro de medio contra factor de dilución de la adaptabilidad de Bacillus Clausii a Tripteína de Soya, Agar Nutritivo y Luria Bertani..... 36
Figura 23. Colonia de Bacillus Clausii observada en el microscopio luego de realizar tinción gram 37
Figura 24. Comparación de medidas tomadas de absorbancia en intervalos de 30 minutos sobre el crecimiento de Bacillus Clausii en medio con solución de harina, de aceite y de control 39
Figura 25. Comparación de medidas tomadas de absorbancia en intervalos de 30 minutos sobre el crecimiento de preinóculo Bacillus Clausii en medio con solución de harina, de aceite y de control Luria Bertani LB..... 43

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la semilla de jícaro (Crescentia alata). 5
Tabla 2. Composición en porcentaje de ácidos grasos de la semilla de jícaro (Crescentia alata) 6
Tabla 3. Pasos a seguir para realizar tinción Gram. 11
Tabla 4. Reactivos, materiales y equipos a utilizar 21
Tabla 5. Diseño experimental. 33
Tabla 6. Conteo del crecimiento microbiano de Bacillus Clausii en Luria Bertani, Tripteína de soya y Agar Nutritivo a factor de dilución de 1:104 a 1:106. 36
Tabla 7. Tratamientos de espectrofotometría para harina, aceite y control utilizando caldo nutritivo. 38
Tabla 8. Crecimiento de Bacillus Clausii en harina, aceite y control en placa por siembre de superficie en el T_0, T_1 y T_2. 40
Tabla 9. Crecimiento de Bacillus clausii en harina, aceite y control en placa por siembre de superficie en el T_3, T_4 y T_5. 41
Tabla 10. Absorbancia medida por espectrofotometría del crecimiento de Bacillus Clausii en medio con solución de harina, aceite y control utilizando caldo LB. 42

ANEXOS

Anexo 1. Crecimiento de Bacillus Clausii en harina, aceite y control en placa por siembra en superficie por duplicado 51
Anexo 2. Norma para la harina de trigo 54

I. INTRODUCCIÓN

El creciente interés de la población por alimentos funcionales ha impulsado la investigación sobre probióticos, prebióticos y simbióticos, debido a sus beneficios en la microbiota intestinal y la salud general. Aunque tradicionalmente estos compuestos se incorporan en productos lácteos fermentados, existe una tendencia a explorar nuevas matrices alimentarias de origen vegetal. En este contexto, el jícaro (*Crescentia alata*), especie nativa con alto valor nutricional y poco aprovechada, representa una alternativa prometedora.

La investigación se centra en evaluar el rendimiento de extracción del aceite de semilla de jícaro (*Crescentia alata)* mediante prensado mecánico, preservando su pureza sin uso de solventes, y en aprovechar la torta residual para la producción de harina. Así mismo, se analiza el efecto del aceite y la harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata)* sobre el crecimiento in vitro del probiótico *Bacillus Clausii*, comparándolos con medios de cultivo comerciales, mediante técnicas de espectrofotometría y recuento bacteriano. El propósito es determinar su potencial como sustratos prebióticos para el desarrollo de alimentos funcionales.

Los antecedentes documentan experiencias exitosas en la utilización de harinas y aceites vegetales como matrices favorables para probióticos. Estudios nacionales y regionales demuestran que la semilla de jícaro (*Crescentia alata)* posee altos contenidos de proteínas, grasas y minerales, además de rendimientos aceptables en la extracción de aceite y producción de harina. Investigaciones similares con otras semillas y raíces evidencian que estos productos pueden estimular significativamente el crecimiento y la viabilidad de bacterias probióticas, fortaleciendo la base científica del presente estudio.

La investigación se enmarca en la problemática global de la inseguridad alimentaria y en la necesidad de cumplir el Objetivo de Desarrollo Sostenible 2: Hambre Cero. En Nicaragua, donde la agricultura ocupa un rol central en la economía y el jícaro es un recurso abundante, la valorización de sus subproductos contribuye al desarrollo agroindustrial, la economía circular y la sostenibilidad ambiental. Desde la perspectiva de la ingeniería química, el estudio busca generar conocimiento aplicable a la industria alimentaria, promover el aprovechamiento de cultivos autóctonos y ofrecer alternativas nutritivas y funcionales que beneficien tanto a productores como a consumidores.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General.

Evaluar la influencia del aceite y harina de semilla de jícaro [*Crescentia alata*] en el crecimiento de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii.*

2.2 Objetivos específicos.

Extraer aceite de la semilla de jícaro [*Crescentia alata*] por el método de prensado y producir harina de la torta residual.

Probar la adaptabilidad de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii* a medios comerciales (Agar nutritivo, Agar Luria Bertani y Agar de tripteína soya) por el método recuento en placa.

Analizar la incidencia del aceite y harina de semilla de jícaro [*Crescentia alata*] sobre el crecimiento in vitro de *Bacillus Clausii* por el método espectrofotometría y recuento en placa.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Economía circular en la industria alimentaria

La economía circular sugiere un modelo de sociedad que optimiza el uso de recursos, de materiales, de energía y minimiza los residuos, con el fin de lograr un sistema eficiente y sostenible. En la industria alimentaria se encuentra uno de los sectores que más requieren una transición hacia la economía circular, y también enfrenta desafíos significativos para implementarla. Las dificultades surgen en tres etapas clave de su ciclo de vida lineal: la producción de alimentos, su consumo y la gestión de excedentes y residuos generados (Jurgilevich et al., 2016).

En la revista Economistas sin Fronteras (2019) Priede e Hilliard mencionan que actualmente, los recursos agrícolas se extraen para producir alimentos que luego se comercializan a los consumidores. Este proceso genera grandes cantidades de residuos y contaminantes, tanto de origen humano como ambiental. Además, se desperdicia una cantidad considerable de alimentos que aún son aptos para el consumo. Como consecuencia, se pierden recursos que podrían reutilizarse o reciclarse, creando un sistema insostenible que excede la capacidad del planeta para regenerar recursos y gestionar los desechos. Otro efecto colateral, son los problemas sociales relacionados con la nutrición, tales como la obesidad y la desnutrición. También contribuye al deterioro ambiental a través de la degradación del suelo y la emisión de gases de efecto invernadero, lo que implica una pérdida significativa de oportunidades económicas.

3.2 Jícaro *Crescentia Spp*

Su origen es en la zona intertropical de América, es un fruto esférico con muchas semillas en su interior. Inicialmente es color verde claro y se torna a color marrón en su estado de maduración (MEFCCA, 2023).

3.2.1. Aplicaciones

También conocido como Jícara, calabaza, tapara y árbol de morro. Su cascara se ha utilizado como artesanías y recipientes precolombinos. La pulpa y semilla es consumida como harina, pozol, refresco y alimento para ganado (Revista Envío, 1994).

3.2.2. Zonificación de cultivo

“En Nicaragua, el jícaro es muy común en las tierras llanas y arcillosas en las zonas secas del Pacífico, ocasionalmente se encuentra a lo largo de la zona costera en alturas hasta 900 msnm, este se encuentra de manera silvestre.” (MEFCCA, 2023 p. 01). Conviven dos variedades que se distinguen por la forma

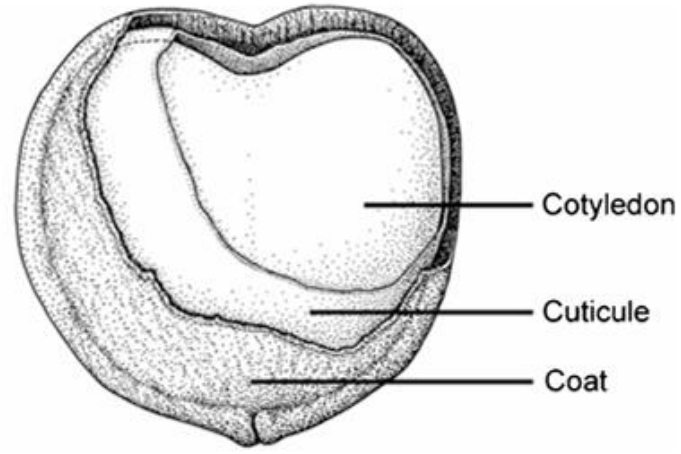
de sus hojas y el tamaño de sus frutos: *Crescentia Cujete*, conocido también como jícaro calabazo, jícara o jicarillo, tiene un diámetro de 15 a 30cm; *Crescentia Alata*, el más predominante en el país, también recibe el nombre de jícaro sabanero, posee un diámetro de 8 a 15cm. Puede crecer en suelos con un pH de 4.5 a 7.5, la variedad *C. Cujete* requiere de suelos arcillosos mientras que *C. Alata* es resistente a suelos muy secos. En general, crece en zonas de climas secos hasta 1,200 metros sobre el nivel del mar, temperaturas de 0 a 27 °C. Luego de 4 a 6 años produce frutos mayormente en los meses de marzo y mayo (MEFCCA, 2023).

3.3 Semilla de jícaro (*Crescentia alata*)

La semilla de jícaro (*Crescentia alata*) podría clasificarse como una oleaginosa debido a su alto contenido de lípidos y proteínas, comparable al de semillas como girasol, canola, algodón y maní (Rodrigues et al., 2012). La figura 1 describe la estructura de la semilla de jícaro (*Crescentia alata*), se constituye de tres partes, un revestimiento marrón, dos cotiledones blancos unidos entres sí con una capa delgada y traslucida que los rodea. Las semillas poseen un peso promedio de 53.3 ± 0.04 mg, del cual el 68% pertenece a los cotiledones (Corrales et al., 2017).

Figura 1

Estructura de la semilla de jícaro (*Crescentia alata)*.



Nota. Tomado de Corrales et al., 2017.

La semilla de jícaro (*Crescentia alata*), como se muestra en la tabla 1. Destaca de su composición química su alto contenido de proteínas y lípidos, siendo comparable también a otras oleaginosas como la soya. Su principal azúcar es la sacarosa, con 5.15g/100g. A nivel mineral, destaca la presencia de fósforo, potasio y magnesio. Además, contiene una variedad de importantes antioxidantes como gamma-tocoferol, aunque en menor proporción que la soya. Estas propiedades hacen de la semilla de jícaro (*Crescentia alata*) un recurso prometedor en la industria alimentaria (Corrales et al., 2017).

Tabla 1

Composición química de la semilla de jícaro (*Crescentia alata)***.**

Composición química	Semilla de jícaro (*Crescentia alata)*			Soya
	Semilla	Cotiledón	Revestimiento	
Proteínas (g/100 g)	33.4 ± 0.4	43.7 ± 1.2	15.8 ± 0.7	42.0 ± 0.3
Lípidos (g/100 g)	32.8 ± 0.11	38.1 ± 0.2	4.18 ± 0.38	19.8 ± 0.8
Azúcares (g/100 g)				
Sacarosa	5.15 ± 0.03	5.5 ± 0.03	2.04 ± 0.78	0.94 – 3.2
Fructosa	0.42 ± 0.02	0.50 ± 0.05	0.11 ± 0.06	0.06 - 0.2
Galactosa	0.06 ± 0.00	–	0.04 ± 0.02	0.007 – 0.02
Glucosa	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.068 – 0.11
Estaquiosa	0.11 ± 0.01	0.14 ± 0.01	<0.10	3.43 ± 0.12
Rafinosa	<0.10	<0.10	<0.10	6.62 ± 0.02
Verbascósido	<0.10	<0.10	<0.10	0.13 ± 0.01
Fibra (g/100 g)				
Fibra insoluble en detergente neutro (NDF)	23.6 ± 0.4	13.8 ± 0.2	71.2 ± 1.0	11.4 ± 0.2
Celulosa	7.3 ± 0.3	3.3 ± 0.1	34.2 ± 0.6	2.6 ± 0.1
Hemicelulosa	8.8 ± 0.4	8.3 ± 0.2	19.4 ± 1.0	5.9 ± 0.2
Lignina	7.5 ± 0.03	2.2 ± 0.01	17.6 ± 0.01	2.9 ± 0.01
Minerales (g/100 g)				
Fósforo	0.93 ± 0.01	1.24 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.61 ± 0.01
Potasio	0.55 ± 0.01	0.71 ± 0.01	0.35 ± 0.01	1.97 ± 0.02
Magnesio	0.41 ± 0.003	0.52 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.003
Calcio	0.06 ± 0.002	0.05 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.18 ± 0.004
Azufre	0.35 ± 0.01	0.45 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.04 ± 0.003
Sodio	0.01±0.001	0.03 ± 0.03	0.01 ± 0.0003	0.01 ± 0.002
Trazas minerales (mg/kg)				
Hierro	0.93 ± 0.01	90.9 ± 4.1	228.9 ± 48.5	55.5 ± 2.2
Zinc	0.55 ± 0.01	117.4 ± 42.1	43.8 ± 1.3	46.0 ±0.9
Cobre	31.6 ± 4.3	43.5 ± 6.0	22.2 ± 0.2	16.4 ± 0.7
Manganeso	24.7 ± 0.4	32.1 ± 8.4	35.9 ± 0.9	27.2 ± 0.9
Otros micro-constituyentes				
Ácido fítico (mg IP6/100g b.s.)	1325 ± 72.5	1032 ± 61	486 ± 53	1760 ± 8.0
Polifenoles (mg GAE/100g b.s.)	201 ± 8.3	326 ± 32.3	218 ± 21.9	268 ± 47
Taninos (mg TAE/100g b.s.)	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	93 ± 20
γ-Tocoferoles (mg/kg b.s.)	11.3 ± 0.13	8.82 ± 0.02	nd	15.92 ± 0.23
δ/β-Tocoferoles (mg/kg b.s.)	1.06 ± 0.14	1.15 ± 0.72	nd	2.84 ± 0.04
α-Tocoferoles (mg/kg b.s.)	Nd	0.45 ± 0.03	nd	5.45 ± 0.06

Resultados son expresado en base seca.

nd: no determinado.

Nota. Tomado de Corrales et al., 2017.

Corrales et al. (2017) afirman en su investigación que “la semilla de jícaro (*Crescentia alata*) es rica en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados,

que representan más del 75% del contenido lipídico. Por lo tanto, el aceite de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) es potencialmente de alta calidad nutricional" (p.89), lo que sugiere su uso como materia prima para la extracción de un aceite altamente nutritivo. En la tabla 2. Se muestra la composición de ácidos grasos de la semilla de jícaro (*Crescentia alata*), donde el ácido palmítico predomina como ácido graso saturado, por otra parte, el ácido graso insaturado principal es el ácido oleico.

Tabla 2

Composición en porcentaje de ácidos grasos de la semilla de jícaro (*Crescentia alata*)

	Jícaro			**Soya**
	Semilla	**Cotiledón**	**Revestimiento**	**Cotiledón**
Ácido palmítico (16:0)	14.9 ± 0.55	15.3 ± 0.57	15.1 ± 0.24	10.3 ± 0.02
Ácido esteárico (18:0)	5.4 ± 0.36	5.2 ± 0.09	6.07 ± 0.22	4.3 ± 0.04
Ácido araquídico (20:0)	0.74 ± 0.13	0.70 ± 0.03	0.82 ±0.07	-
Ácido behénico (22:0)	0.33 ± 0.10	0.29 ± 0.03	0.38 ± 0.02	-
Ácido lignocérico (24:0)	0.24 ± 0.08	0.22 ± 0.08	0.30 ± 0.04	-
Ácidos grasos saturados	21.61	21.71	22.67	
Ácido Palmitoleico (16:1, n-7)	0.45 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.57 ± 0.04	-
Ácido oleico (18:1, n-6)	55.3 ± 0.93	56.5 ± 0.70	54.1 ± 0.57	22.2 ± 0.61
Ácido linoleico (18:2, n-6)	19.5 ± 0.88	18.3 ± 0.08	19.7 ± 0.53	52.5 ± 0.36
Ácido α-linolénico (18:3, n-3)	2.4 ± 0.23	2.3 ± 0.03	2.4 ± 0.12	7.3 ± 0.12
Ácidos grasos insaturados	77.65	77.60	76.77	

Nota. Tomado de Corrales et al., 2017.

Según la cartilla de cultivo de jícaro elaborada por MEFCCA (2023) el rendimiento del aceite es aproximadamente 1.1% del peso total.

3.3.1. Extracción de aceite de semilla de jícaro (*Crescentia Alata*) por prensado

A partir de las semillas u otra parte de las plantas es posible extraer aceite, este compuesto orgánico es acumulado como fuente de energía en su estructura. De manera general existe tres métodos de extracción del aceite:

Extracción con disolventes

Piloto et al. (2021) indica que este método es eficaz para semillas oleaginosas con bajo contenido de aceite, ofreciendo un alto rendimiento y reproducibilidad. Sin embargo, presenta desventajas como consumo elevado de solvente, costos operativos altos, mayor demanda de energía, disminución de la calidad del producto y otros riesgos ambientales. La técnica Soxhlet, común en laboratorio, permite recuperar solventes y obtener buenos rendimientos. Se usa principalmente con éter de petróleo y n-hexano, aunque su aplicación industrial es limitada por restricciones químicas. La extracción sólido-líquido es otra variante utilizada para obtener compuestos antioxidantes. Dependiendo del uso final del aceite, se pueden considerar métodos alternativos como compresión, reflujo o maceración.

Extracción húmeda (extracción con vapor o agua caliente)

Oluwole et al. (2015) menciona que es un método tradicionalmente empleado en comunidades rurales aprovecha la insolubilidad del agua con el aceite. Este método se utiliza para extraer aceites esenciales mediante la conducción de vapor o agua caliente a través de las semillas. Ha sido aplicado para la extracción de aceite de manteca de karité, maní y ricino.

Extracción mecánica (prensado en frío o en caliente)

El método de extracción por prensado en frío permite obtener aceites de alta calidad, conservando sus propiedades nutricionales. Esto debido a que las bajas temperaturas empleadas en el proceso evitan la degradación de sus principios bioactivos y no requieren el uso de disolventes. Es recomendable su consumo en crudo para obtener dichos beneficios. En función a la cantidad de prensados a los que fue sometida la materia prima oleaginosa, se pueden clasificar como aceite extra virgen, aceite virgen y aceite puro (Torrez et al., 2016).

El método de extracción por prensado en caliente proporciona un mayor rendimiento debido a la reducción de la viscosidad del aceite, lo cual favorece el flujo. Sin embargo, este proceso también puede afectar negativamente la calidad del aceite (Piloto et al., 2021).

3.3.2. Harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*)

Uno de los elementos fundamentales en la alimentación mundial es la harina, esta ya que ha sido utilizada como elemento principal para la elaboración de alimentos desde tiempos ancestrales en todas partes del mundo. Es resultado de la

molienda de cereales, semillas oleaginosas y otros alimentos con gran contenido de almidón u otros nutrientes (Bautista Quisberth, 2019).

La harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata)* se obtiene una vez es deshidratada la semilla se pasa por un proceso de molienda hasta quedar un polvo fino y posteriormente el tamizado (MEFCCA, 2023).

La harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) contiene: 21.25% de proteínas; 44.75% de grasas; 4.9% de cenizas; 1.86% humedad; 27.24% de carbohidratos (Rivera y Loáisiga, 2023). Con estos datos se sugiere que es un alimento energético nutricional rico en grasas, alto en proteína y minerales.

3.4 Alimento Funcional

“Un Alimento Funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con actividad selectiva relacionada con una o varias funciones del organismo, con un efecto fisiológico añadido por encima de su valor nutricional y cuyas acciones positivas justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional (fisiológico) o incluso saludable” (Silveira et al., 2003).

Los alimentos funcionales se originan por la comprensión de las bases moleculares de la relación entre la alimentación y la salud, tomando en cuenta que los reguladores biológicos disminuyen el riesgo de enfermedades (Taranto et al., 2005).

Es decir, un alimento funcional es aquel que por sus componentes biológicamente activos mejoran la salud o bien disminuyen el riesgo de sufrir enfermedades.

3.4.1. Prebióticos

Compuestos de origen vegetal inerte, es decir, no pude ser digerida por las enzimas digestivas, estimulan selectivamente la actividad de bacterias en el colon, las cuales, a su vez, benefician la salud del hospedero (De las Cagigas Reig & Blanco Anesto, 2002).

De acuerdo con De las Cagigas Reig & Blanco Anesto (2002), quienes citaron a Maté (1996), para catalogar un alimento como prebiótico debe de cumplir con los siguientes cinco aspectos: Provenir de organismos del reino plantae; Estar compuesto por variedad de biomoléculas; Resistir a la digestión; Ser metabolizados de manera incompleta por las colonias bacterianas del colón; Retener agua en el intestino.

Castañeda (2018) enuncia como los principales componentes prebióticos a los siguientes: fructooligosacáridos (FOS), inulina, isomalto-oligosacárido (IMO), polidextrosa, lactulosa, almidón resistente, oligosacáridos, galactooligosacáridos (GOS) y xilooligosacáridos (XOS).

3.4.2. Probióticos

Son microorganismos vivos que se ingieren y benefician el desarrollo de la flora microbiana del intestino (Fuller,1989).

“Para que un microorganismo pueda realizar esta función de protección tiene que cumplir los postulados de Huchetson: ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino.” (De las Cagigas Reig & Blanco Anesto, 2002).

3.4.3. Simbióticos

Recientemente se estudia la posibilidad de unir prebióticos con probióticos, esta unión recibe el nombre de simbiótico. El objetivo es ampliar la longevidad de los microorganismos descritos en el punto anterior gracias a la presencia de un prebiótico. (De las Cagigas Reig & Blanco Anesto, 2002).

Bernal Castro et al. (2017) indican que es una preparación alimentaria con una o más especies de probióticos e ingredientes prebióticos, donde la actividad probiótica es favorecida por la metabolización de los prebióticos.

3.4.4. Importancia del uso de precursores

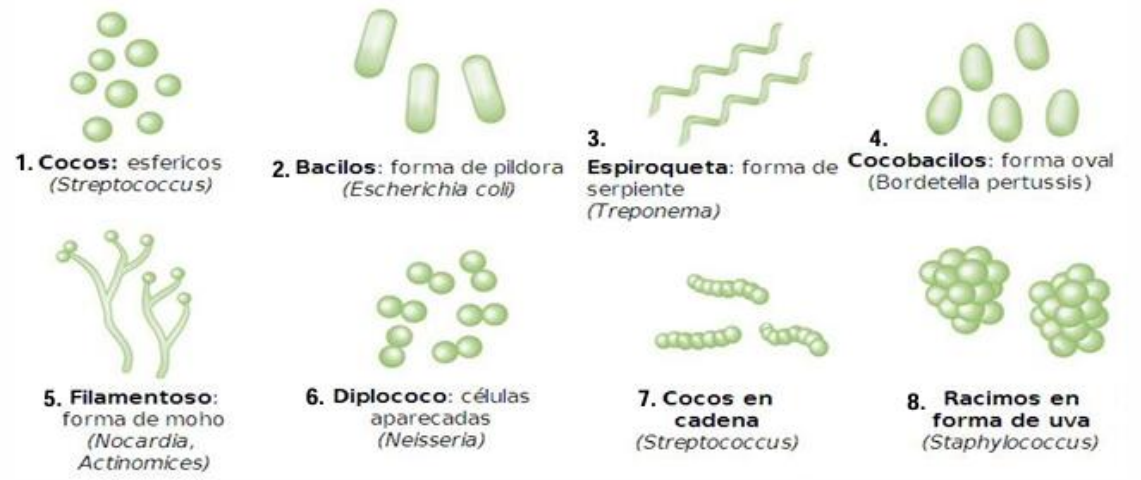
Dado el impacto positivo de los prebióticos en la actividad de los probióticos, es esencial investigar los precursores que pueden fomentar el crecimiento de estos microorganismos vivos. Se ha identificado la presencia de fuentes naturales de prebióticos en alimentos como la leche, los vegetales, las frutas, los cereales, las leguminosas, la caña de azúcar, la miel de abeja y el maíz (Castañeda, 2018). Resulta fundamental analizar el comportamiento de los probióticos en presencia de dichas fuentes con el objetivo de formular alimentos funcionales.

3.5 Identificación de las bacterias

Los microorganismos visualmente se pueden clasificar según su forma o estructura, esto es definido por la Real academia de la Lengua Española (2025) como **morfología**. En la figura 2 adaptada por O´Connor Mendoza (2019) a partir de Rosenthal & Tan (2011) se ilustran las diferentes formas de estos seres vivos.

Figura 2

Clasificación de las bacterias según su morfología**.**



Nota. Tomado de (Rosenthal &Tan, 2011).

Desde el mismo enfoque, Prescott et al. (2004) se refieren a una colonia como un conjunto de microrganismos que se multiplican sobre una superficie sólida y se puede observar macroscópicamente. En la figura 3 se muestra la variedad de formas, elevaciones y márgenes que puede caracterizar a una colonia bacteriana.

Figura 3

Morfología de colonias bacterianes



Nota. Tomado de Prescott et al., 2004.

Por su parte, la **tinción Gram** es un proceso que se fundamenta en la composición de la pared celular y en la manera en que interactúa con diferentes sustancias químicas (Pedrique de Aulacio & De Castro, 2001).

A continuación, en la tabla 3 se detalla los pasos que se realizaran para la Tinción de Gram y su efecto sobre las bacterias.

Tabla 3

Pasos a seguir para realizar tinción Gram.

PASO DEL PROCESO	REACCIÓN Y COLORACIÓN DE LAS BACTERIAS	
	GRAM POSITIVAS	**GRAM NEGATIVAS**
Solución de Cristal violeta al 1%. Se deja actuar 1 minuto.	Células color violeta.	Células color rojo.
Solución Yodo – Iodurada. Se deja actúa 1 a 2 minutos.	Formación del complejo Yodo – Cristal Violeta en el interior de las células. Las células permanecen violetas.	Formación del complejo Yodo – Cristal Violeta en el interior de las células. Las células permanecen violetas.
Solución de Alcohol Acetona. Se deja actuar 20 segundos.	El complejo Yodo – Cristal Violeta no sale de las células, las que conservan el color violeta.	El complejo Yodo – Cristal Violeta se separa de las células, las que pierden el color y no pueden observarse.
Solución de Safranina. Se deja actuar 1 a 2 minutos. Lavar, secar y observar al microscopio.	Las células conservan el color violeta.	Las células decoloradas se tiñen de rojo.

Nota. Tomado de Santambrosio & Ortega, 2009.

3.6 Bacterias probióticas

Las bacterias son microorganismos, definidos como seres vivos de tamaño microscópico, comúnmente, formados por una sola célula. Provocan cambios en el medio ambiente donde se encuentran ya que son capaces de alimentarse, multiplicarse y resistir a condiciones mínimas de supervivencia u otros agentes. Las propiedades mencionadas anteriormente, destacan a estos seres vivos como sustanciales en aplicaciones de la industria alimentaria, farmacéutica, y ambiental (Enciclopedia Iberoamericana, 2019).

Las bacterias probióticas se agregan a productos alimenticios y medicinales para beneficiar la salud del consumidor. En particular, se ha evidenciado que estas cepas pueden tratar casos como diarrea, enfermedad inflamatorio intestinal, obesidad, diabetes, entre otras (Elshaghabee et al., 2017; Mallappa et al., 2012; Panwar et al., 2014).

Las especies de *Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Streptococcus, Bacillus* y *Saccharomyces* son mundialmente reconocidas por sus propiedades probióticas, donde las dos primeras mencionadas, son las más populares (Elshaghabee et al., 2017).

3.6.1. *Bacillus Spp.*

Etimológicamente su nombre significa *un pequeño bastón.* Este género abarca 318 especies. Son aeróbicos y aeróbicos facultativos, de actividad antimicrobiana, antioxidantes e inmunomodulador (Elshaghabee et al., 2017).

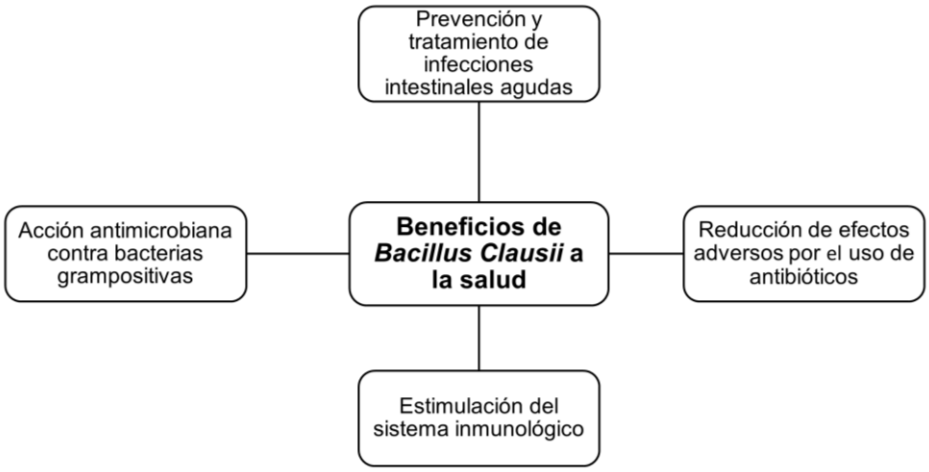
Vinculado al género *Lactobacillus*, el género *Bacillus* incluye especies grampositivas y formadoras de esporas, como *B. coagulans*, *B. subtilis, B. licheniformis, B. indicus y B. Clausii*. Aunque no se considera una especie propia del sistema digestivo, su tolerancia a ácidos y sales biliares en entornos hostiles son características que han favorecido su incorporación en formulaciones farmacéuticas y alimenticias (Acosta-Rodríguez-Bueno et al., 2022).

3.6.2. *Bacillus Clausii*

Es una bacteria grampositiva, aeróbica, formadora de endosporas y alcalifílica facultativa. En la figura 4 se muestran sus principales aportes a la salud, entre ellos: la prevención y tratamiento de infecciones intestinales agudas, y la reducción de efectos adversos por el uso de antibióticos, al contribuir a restablecer y restaurar el equilibrio de la microbiota intestinal; Estimulación del sistema inmunológico mediante la regulación de inmunoglobulinas (proteínas clave en la defensa del organismo); Acción antimicrobiana contra bacterias grampositivas, lo que le permite competir con otras bacterias potencialmente dañinas en el intestino (Abbrescia et al., 2014).

Figura 4

Beneficios de la cepa probiótica *Bacillus Clausii* a la salud.



Nota. Adaptado de Abbrescia et al., 2014).

Esta cepa probiótica presenta ventajas sobre otros microorganismos no formadoras de esporas, ya que su capacidad para esporular le confiere termoestabilidad y resistencia a pH bajos, como el del ácido clorhídrico en el estómago. Además, su viabilidad no se ve afectada por el almacenamiento a temperatura ambiente (Abbrescia et al., 2014).

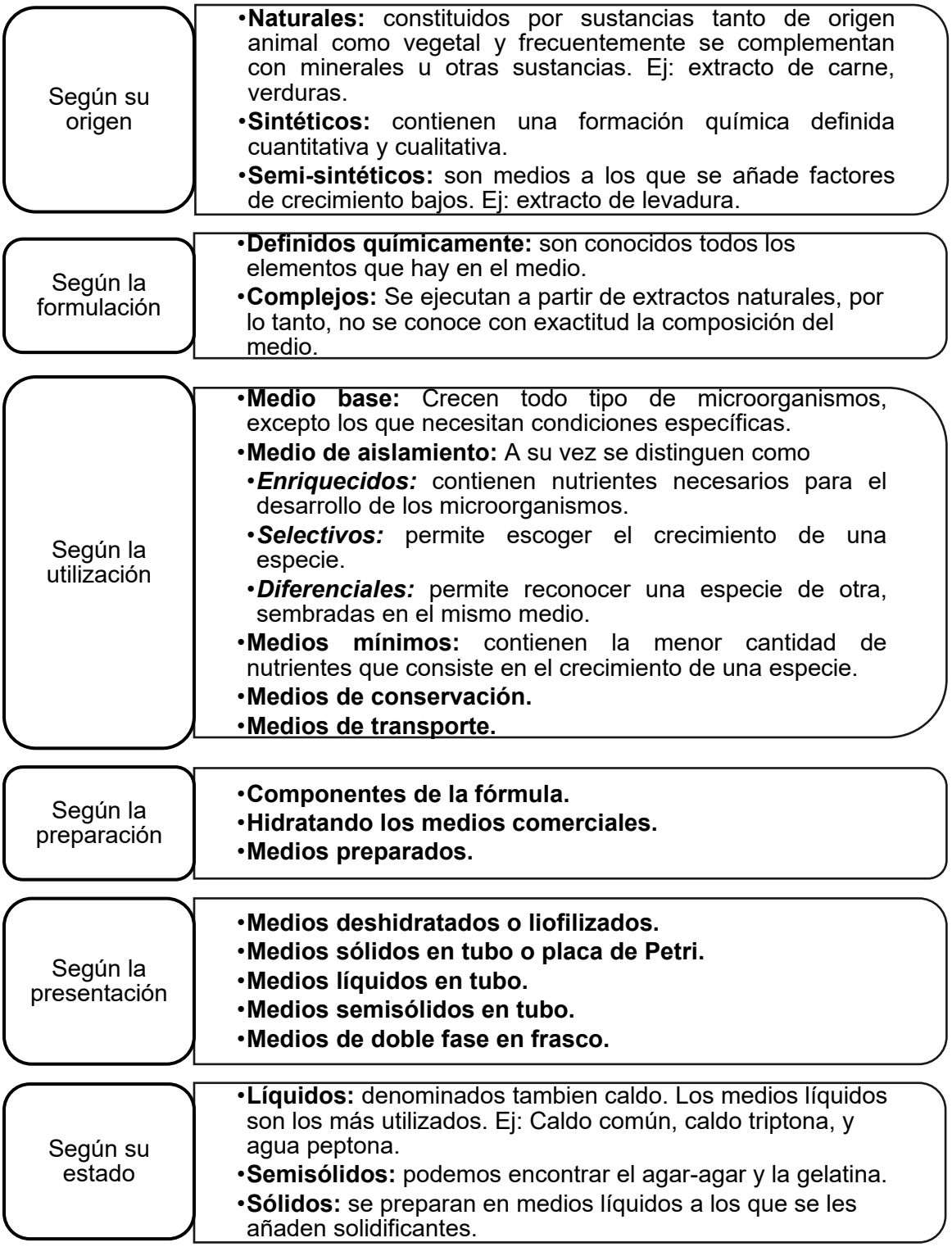
Las cepas de *Bacillus Clausii* se utilizan ampliamente como probióticos debido a sus propiedades inmunomoduladoras y antimicrobianas. Se ha demostrado que aportan beneficios significativos, como el alivio de síntomas nasales durante reacciones alérgicas, efectos antiinflamatorios de los malestares secundarios causados en consecuencia al tratamiento con antibióticos contra *Helicobacter pylori* y propiedades terapéuticas en infecciones del tracto urinario. Además, su seguridad ha sido comprobada, especialmente en cepas como DSM 8716, ATCC 21536 y ATCC 21537, las cuales no presentan transferencia de genes de resistencia a los macrólidos, un grupo de antibióticos. (Lee et al., 2019).

3.7 Medios de cultivo

Andreu et al. (2023) manifiestan que los medios de cultivo son mezclas de sustancias que favorecen el crecimiento y diferenciación de microorganismos, debido a que contienen nutrientes, fuentes de energías u otros materiales esenciales para el desarrollo de estos microorganismos. Se clasifican según su origen, formulación, utilización, preparación, presentación, y estado a como se detalla en la figura 5. Son esenciales para el aislamiento, identificación y estudio de bacterias, permitiendo conocer su metabolismo y características. Además, su preparación y uso requieren control de temperatura y condiciones adecuadas para garantizar resultados óptimos.

Figura 5

Clasificación de los medios de cultivo.



Nota. Adaptado de Andreu et al., 2023.

3.7.1. Agar nutritivo

Es un medio de cultivo nutritivo no selectivo compuesto principalmente de pluripeptona y extracto de carne, que actúan como fuente de carbono y nitrógeno, proporcionando los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano. La adición de cloruro de sodio asegura el balance osmótico, mientras que el agar sirve como agente solidificante. Este medio es ampliamente utilizado con propósitos generales en la microbiología, especialmente para el aislamiento y recuento de microorganismos con requerimientos nutricionales mínimos. Su aplicación está detallada en los procedimientos para análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria (Laboratorios Britania S.A., 2021).

3.7.2. Agar Luria (LB Miller)

Medio enriquecido utilizado, especialmente de Escherichia Coli a partir de diversas muestras. Compuesto por agar bacteriológico, cloruro sódico, triptona y extracto de levadura, los cuales aportan al medio los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos. El cloruro de sodio contribuye a mantener el equilibrio osmótico (CONDALAB, 2022).

3.7.3. Agar de tripteína soya

Este medio se utiliza con fines generales y facilita el desarrollo y aislamiento de una amplia gama de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y estrictos. En el cultivo, la tripteína y la peptona de soya proporcionan nutrientes ricos en péptidos, aminoácidos libres, bases púricas y pirimidínicas, minerales y vitaminas. La peptona de soya además aporta hidratos de carbono que favorecen el crecimiento de diversos microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico y el agar actúa como agente solidificante. Este medio puede servir como base a la cual se le adicionan nutrientes o antimicrobianos para obtener un medio enriquecido o selectivo según el aditivo (Laboratorios Britania S.A., 2021).

3.8 Diluciones seriadas

Las diluciones seriadas, también conocidas como dilución en serie, consisten en realizar diluciones consecutivas empleando el mismo factor de dilución en cada etapa. En la figura 6 se esquematiza esta técnica, la cual comienza a partir de un tubo de ensayo con la muestra original. De este, se toma 1 mL de muestra y se vierte en un tubo de ensayo que contiene 9 mL de solvente. Este proceso se repite hasta que el último tubo alcance un volumen final de 10 mL. Esta técnica facilita el conteo en placas, ya que permite obtener colonias individuales que posteriormente se multiplican por el factor de dilución para determinar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) presentes en la muestra original. El factor de concentración se define como el volumen inicial dividido por el volumen

final de la solución, mientras que el factor de dilución es el inverso del factor de concentración. (Orange County Biotechnology Education Collaborative, 2022).

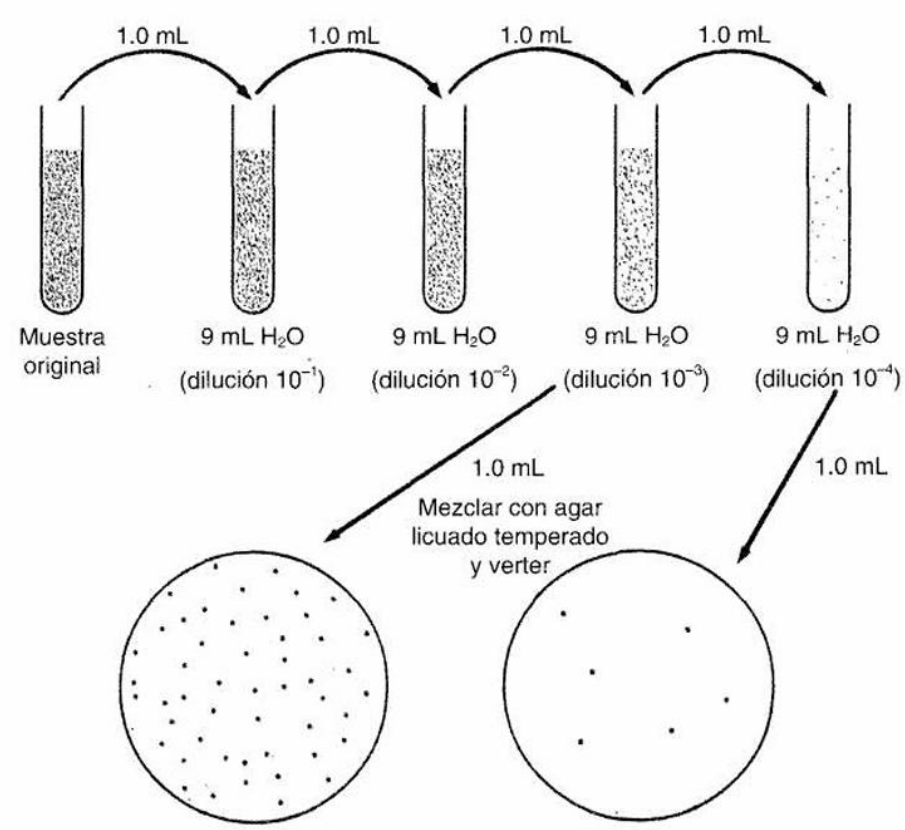
$$\frac{UFC}{mL} = \textbf{Número de colonias} * \textbf{Factor de dilución} \quad \textbf{Ecuación 1}$$

$$\textbf{Factor de concentración} = \frac{Volumen_{inicial}}{Volumen\ _{final}} \quad \textbf{Ecuación 2}$$

$$\textbf{Factor de dilución} = \frac{1}{\textbf{Factor de concentración}} \quad \textbf{Ecuación 3}$$

Figura 6

Técnica Dilución en serie.



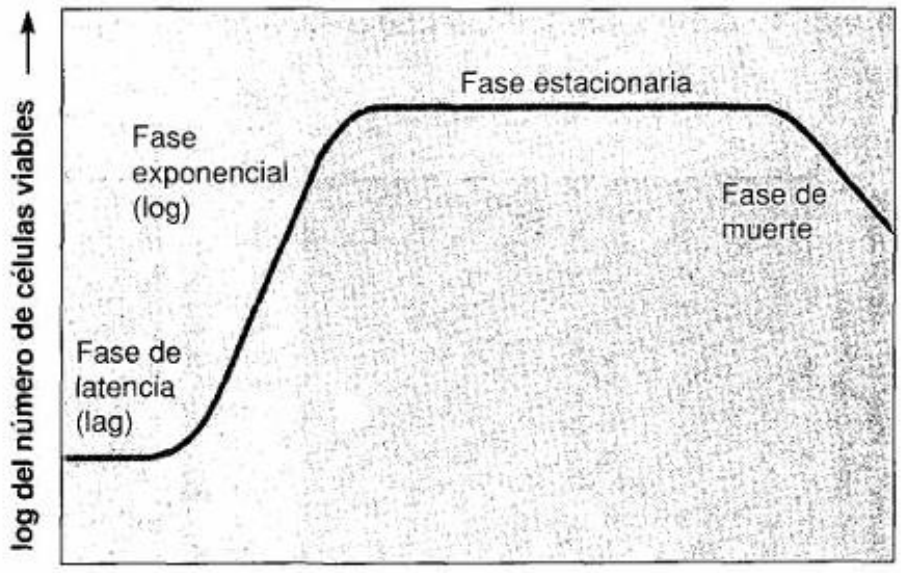
Nota. Tomado de Prescott et al., 2004.

3.9 Determinación del crecimiento microbiano

Tanto los nutrientes como los factores ambientales, tales como la temperatura, el nivel de oxígeno y la concentración osmótica, son determinantes críticos en el desarrollo de los microorganismos. El 95% del peso seco de la célula está compuesto por los siguientes macroelementos: carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, azufre, fósforo, así como iones de calcio, magnesio y hierro. Estos macroelementos, también conocidos como macronutrientes, son fundamentales para impulsar diversas actividades enzimáticas (Prescott et al., 2004).

Figura 7

Curva de crecimiento microbiano en un sistema cerrado.



Nota. Tomado de Prescott et al., 2004.

El estudio del crecimiento de microorganismos en sistemas cerrados se realiza mediante el análisis de la curva de crecimiento del cultivo microbiano. La figura 7 identifica cuatro fases distintas:

- Fase de latencia (lag)

No se observa un incremento neto de masa; la célula está en la fase de adaptación al nuevo medio al que ha sido expuesta. La duración de esta fase depende del estado del microorganismo y de la composición del medio, y puede extenderse si el inóculo proviene de una fuente antigua o de un medio químicamente distinto.

- Fase exponencial o logarítmica (log)

Dependiendo de su potencial genético, el tipo de medio y las condiciones en las que se desarrollan, esta es la fase donde los microorganismos crecen y se dividen al máximo nivel posible con una velocidad constante. En esta etapa, la población

es más uniforme tanto química como fisiológicamente, lo que la convierte en ideal para estudios bioquímicos y fisiológicos.

- Fase estacionaria

Aunque el crecimiento de la población microbiana se detenga debido a factores como la limitación de nutrientes, la disponibilidad de oxígeno y la acumulación de productos residuales tóxicos, los microorganismos siguen metabólicamente activos. El número total de microorganismos viables permanece constante, y en el caso de las bacterias, se encuentran aproximadamente en una concentración de 10^9 células por mL.

- Fase de muerte

En esta etapa, ocurre una pérdida irreversible de la capacidad para multiplicarse debido a cambios ambientales perjudiciales descritos en la fase anterior. Generalmente, al igual que su crecimiento en la fase exponencial, este proceso se desarrolla de manera logarítmica.

3.9.1. Determinación del número de células

Prescott et al. (2004) indica que el recuento directo es una de las formas más comunes para determinar el número de células microbianas. Asimismo, expone cuatro métodos; el primero se trata de cámaras de recuento, como la Petroff-Hausser para procariotas o hemocitómetros para procariotas y eucariotas. Las cámaras de recuento tienen una cuadrícula de profundidad conocida, lo que permite calcular la cantidad de microorganismos en la muestra a partir del volumen y la dilución aplicada. Sin embargo, este método tiene limitaciones como, requerir de altas concentraciones de microorganismos para obtener datos representativos y no distingue fácilmente entre células vivas y muertas.

El segundo es usando un Contador Coulter para microorganismos más grandes, como protozoos, algas y levaduras no filamentosas, detecta el paso de células a través de un orificio midiendo su resistencia eléctrica. Este método es preciso para células grandes, pero menos eficiente para bacterias debido a interferencias con residuos y la formación de filamentos.

El tercero es el uso de filtros de membrana, los cuales retienen bacterias y facilitan su recuento tras incubarlas en agar. Este método es especialmente útil en el análisis de agua. Además, puede emplearse para contar bacterias directamente usando colorantes, que permiten distinguir células vivas y muertas.

Y para finalizar, el cuarto método es recuento en placa, donde una muestra diluida de bacterias se siembra en agar sólido, permitiendo que cada microorganismo forme una colonia individual. El recuento de microorganismos viables se realiza mediante el número de colonias formadas y la dilución de la muestra. Para mayor precisión, se emplean contadores de colonias y técnicas de siembra en placa por extensión o profundidad. Los resultados se expresan en unidades formadoras de

colonias (UFC). Para obtener datos confiables, el número de colonias por placa debe oscilar entre 30 y 300.

3.9.2. Determinación de la masa celular

De igual importancia (Prescott et al., 2004) sugiere que el crecimiento de la población microbiana también resulta en el aumento de la masa total celular. El método más directo es el peso seco microbiano, donde las células se centrifugan, lavan, secan y pesan, aunque es un procedimiento lento y poco sensible, especialmente para bacterias. Por otro lado, espectrofotometría, otra técnica más rápida y sensible, aprovecha la capacidad de las células para dispersar la luz. La dispersión es proporcional a la biomasa celular y se puede medir usando un espectrofotómetro. A partir de una concentración bacteriana de 10^7 células por mL, el medio se torna turbio, y su grado de turbidez aumenta con la concentración. Esto permite medir el crecimiento poblacional siempre que sea suficientemente grande.

También se pueden medir componentes celulares específicos, que se relacionan a la cantidad total o presencia activa de biomasa, como: proteínas, nitrógeno, clorofila, ATP (Adenosín Trifosfato).

IV. HIPÓTESIS

Ho (Hipótesis Nula): El aceite y harina de semilla de Jícaro [*Crescentia alata*] favorecen el crecimiento de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii.*

Ha (Hipótesis Alternativa): El aceite y harina de semilla de Jícaro [*Crescentia alata*] no favorecen el crecimiento de la bacteria probiótica *Bacillus clausii.*

V. MATERIALES Y MÉTODO

A continuación, se presenta materiales y método utilizado para desarrollar la presente investigación. La extracción del aceite y de la harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) se realizó en el laboratorio de alimentos de la Universidad Nacional de Ingeniería. Mientras que la activación de la bacteria *Bacillus Clausii* y ensayos para la evaluación del efecto de los productos elaborados a partir de la semilla de jícaro (*Crescentia alata*) sobre su crecimiento in vitro se desarrolló en el laboratorio de biotecnología microbiana de la Universidad Nacional Héroes San José de las Mulas.

5.1 Materiales

En la tabla 4 se muestra la lista de los materiales, equipos y reactivos utilizados para el desarrollo de la metodología de la presente investigación.

Tabla 4

Reactivos, materiales y equipos a utilizar.

MATERIALES Y EQUIPOS	REACTIVOS
Asa de platino	Agar Luria Bertani LB
Autoclave LS-35LD	Agar nutritivo
Cuchara de madera	Agar Triptona de Soya TSA
Embudo	Agua destilada estéril
Espectrofotómetro VWR V-3100PC	Agua peptonada
Gradilla para tubos	Agua potable
Incubadora Thermo Scientific 150	Caldo Luria Bertani
Jícaro	Caldo nutritivo
Licuadora Oster de 10 velocidades	Solución alcohol acetona
Martillo	Solución de safranina
Matraz Erlenmeyer	Solución Violeta de cristal 1%
Mechero	Solución Yodo-Yodurada (Lugol)
Micropipeta	
Microscopio óptico AmScope B120C	
Molino industrial	
Papel filtro	
Placa Petri	
Plancha de agitación y calentamiento Corning PC-420D	
Portaobjetos	
Sarten de aluminio	
Shaker SciaLogex SK-O330-Pro	
Tamizador Tyler con juego de tamices ASTM	
Tela filtrante	
Tubos de ensayo	
Vortex Fisher Scientific	

Nota. Elaboración propia.

5.2 Ubicación del estudio

Cómo se muestra en la figura 8, la extracción del aceite y de la harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata)* se realizó en el laboratorio de alimentos 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. Mientras que la activación de la bacteria *Bacillus Clausii* y ensayos para la evaluación del efecto de los productos elaborados a partir de la semilla de jícaro (*Crescentia alata*) sobre el crecimiento in vitro de *Bacillus Clausii* se desarrolló en el laboratorio de biotecnología microbiana de la Universidad Nacional Héroes San José de las Mulas (UNHSJM), ubicado al costado sur Colonia Rubén Darío, Managua, Nicaragua. Localizado geográficamente en las coordenadas UTM 12.1378636, -86.2208535.

Figura 8

Ubicación del estudio. A) Universidad Nacional de Ingeniería B) Universidad Nacional Héroes San José de las Mulas.



Nota. Tomadas a través de Google Maps.

5.3 Extracción de aceite y producción de harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*)

A partir de Torrez et al. (2016) se desarrolló el flujo de proceso representado en la figura 15, incorporando una modificación al método de extracción. El prensado mecánico por extracción manual en caliente.

- **Selección y lavado de materia prima:** Se clasificaron los frutos maduros, libres de olores extraños, tierra o grietas como el insumo ideal para este proceso. Se eligieron aquellos cuya cáscara presentaba un color verde amarillento y cuyas semillas eran de color café a marrón. Posteriormente, se realizó el lavado utilizando agua potable.

- **Quebrado del fruto y extracción de las semillas:** Como se representa en la figura 9, con un martillo metálico con mango de madera, se golpeó el centro del fruto, lo que permitió abrir la cáscara en dos. Esto facilitó la extracción de la pulpa la cual seguidamente se lavó en un recipiente con abundante agua para separar las semillas. El rendimiento de pulpa se definió como la fracción resultante de dividir el peso de pulpa extraída entre el peso total del fruto, multiplicado por cien, como en la ecuación 4. El rendimiento de semilla se determinó mediante el cociente entre el peso de semilla recuperada y el peso de pulpa, posteriormente multiplicado por cien para su conversión a porcentaje, como en la ecuación 5.

$$\%\boldsymbol{Pulpa} = \frac{\boldsymbol{Peso\ de\ pulpa\ obtenida}}{\boldsymbol{Peso\ del\ fruto}} * \mathbf{100} \qquad \textbf{Ecuación 4}$$

$$\%\boldsymbol{Semilla} = \frac{\boldsymbol{Peso\ de\ semilla\ obtenida}}{\boldsymbol{Peso\ de\ pulpa}} * \mathbf{100} \qquad \textbf{Ecuación 5}$$

Figura 9

Proceso de obtención de las semillas de jícaro (*Crescentia Alata).* A) Quebrado del fruto B) Lavado de las semillas.



Nota. Imágenes de elaboración propia.

- **Secado y triturado:** Tal como se detalla en la figura 10, sobre una plancha de agitación y calentamiento marca Corning modelo PC-420D se calentó un sartén de aluminio a 250ºC y se colocó las semillas por 20 minutos para reducir su humedad. Luego, en una licuadora de la marca Oster de 10 velocidades, se colocó las semillas a velocidad media durante 1 minuto, repitiendo este proceso hasta reducir su tamaño.

Figura 10

Proceso de reducción de tamaño de la semilla. A) Reducción de humedad B) Trituración.



Nota. Imágenes de elaboración propia.

- **Calentamiento y filtrado:** Como se muestra en la figura 11, con el fin de facilitar la extracción del aceite sin afectar sus propiedades. Se calentó a 60°C la pasta obtenida sobre la misma plancha de calentamiento y agitación Corning PC-420D, agregando poca agua mezclando continuamente con una cuchara de madera durante 20 minutos. A continuación, y mientras la mezcla permanecía caliente, se filtró a través de una tela fina, separando así el líquido de la torta residual, posteriormente almacenada.

Figura 11

Extracción del aceite. A) Calentamiento de la pulpa B) Filtrado.



Nota. Imágenes de elaboración propia.

- **Evaporación:** Sobre una plancha de calentamiento y agitación Corning PC-420D a 550°C se colocó el sartén con el líquido filtrado durante 4 horas. El aceite se separó en la superficie, como se ilustra en la figura 12.

Figura 12

Separación del aceite.

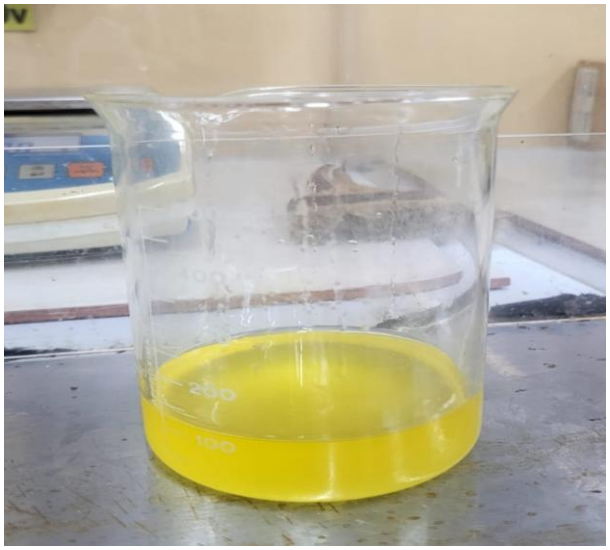


Nota. Imagen de elaboración propia.

- **Decantado y filtrado:** Se vertió el aceite obtenido sobre un embudo con papel filtro a un beaker para separar las impurezas. Se obtuvo un aceite de color amarillo como se muestra en la figura 13.

Figura 13

Aceite obtenido.



Nota. Imagen de elaboración propia.

- **Envasado de aceite:** Se almacenó en un frasco de vidrio y oscuro previamente esterilizado. El rendimiento de aceite se estimó empleando la razón masa de aceite sobre masa de semillas, expresada en unidades porcentuales tras su multiplicación por cien, como en la ecuación 6.

$$\%\boldsymbol{Aceite} = \frac{\boldsymbol{Peso\ de\ aceite\ obtenido}}{\boldsymbol{Peso\ de\ semillas}} * \mathbf{100} \qquad \textbf{Ecuación 6}$$

- **Producción de harina:** La torta residual obtenida en el proceso de calentamiento y filtrado, se llevó a molienda en un molino industrial de discos para reducir su diámetro de partícula que posteriormente, se llevó a tamizado en un equipo tamizador Tyler con juego de tamices ASTM, para separar los tamaños de partículas y obtener una harina homogénea como muestra la figura 14. El diámetro de partícula se obtuvo con relación a escala de tamices estándar Tyler. El porcentaje de harina se calculó mediante el cociente entre el peso de harina producida y el peso de las semillas, normalizado a 100 % como en la ecuación 7.

$$\%\boldsymbol{Harina} = \frac{\boldsymbol{Peso\ de\ harina\ obtenida}}{\boldsymbol{Peso\ de\ semillas}} * \mathbf{100} \qquad \textbf{Ecuación 7}$$

Figura 14

Harina obtenida.

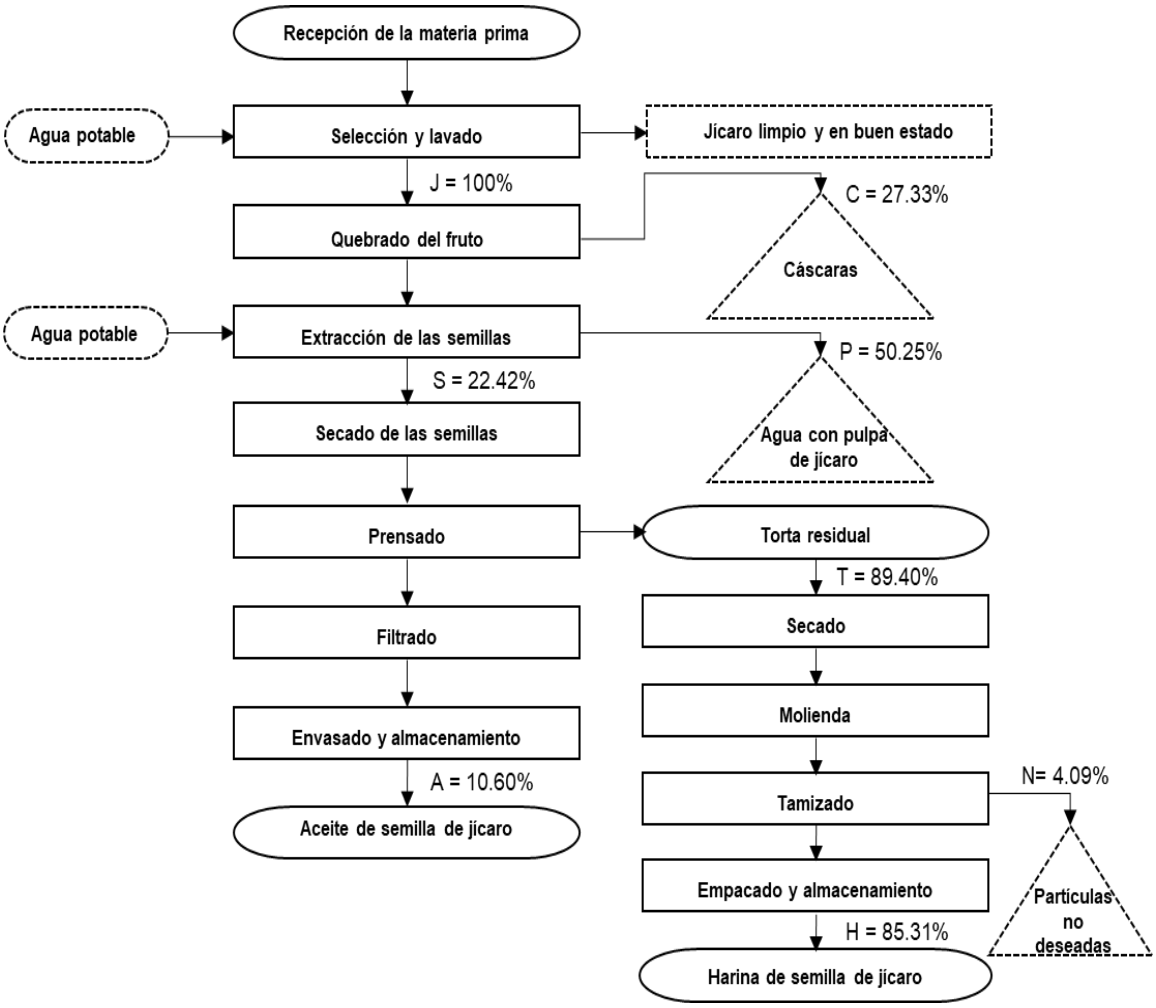


Nota. Imagen de elaboración propia.

A continuación, en la figura 15 se presenta el flujograma del proceso a partir de Torrez et al. (2016), en esta se muestra que para la extracción de aceite de semilla de jícaro (*Crescentia Alata)* se generan principalmente tres residuos: cáscaras, pulpa y torta. Donde J corresponde a los jícaros en buen estado, S a las semillas obtenidas y los residuos se identifican como C y P, que representan la cáscara y la pulpa, respectivamente. Del mismo modo, A indica el aceite extraído, T la torta residual, H la harina generada tras procesar las semillas y N el material retenido después del tamizado, cuyo tamaño de partícula no cumple con las especificaciones requeridas.

Figura 15

Flujograma del proceso de obtención de aceite y harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*).



Nota. Imagen de elaboración propia.

En cuanto a los residuos generados por la extracción de aceite de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) se aprovecha la torta residual para la elaboración de harina, sin embargo, también se generan otros residuos como cáscaras y pulpas, es importante buscar alternativas para su aprovechamiento ya que cuentas con importantes características.

5.4 Prueba de adaptabilidad de Bacillus Clausii a medios comerciales.

Para el desarrollo de esta investigación, se activó la cepa a partir de una suspensión oral comercial con el código TS/DRUGS/51/2004, se presenta en ampollas bebibles de 5ml que contiene $2x10^9$ esporas de *Bacillus Clausii* en excipiente de agua purificada, como se muestra en la figura 16.

Figura 16

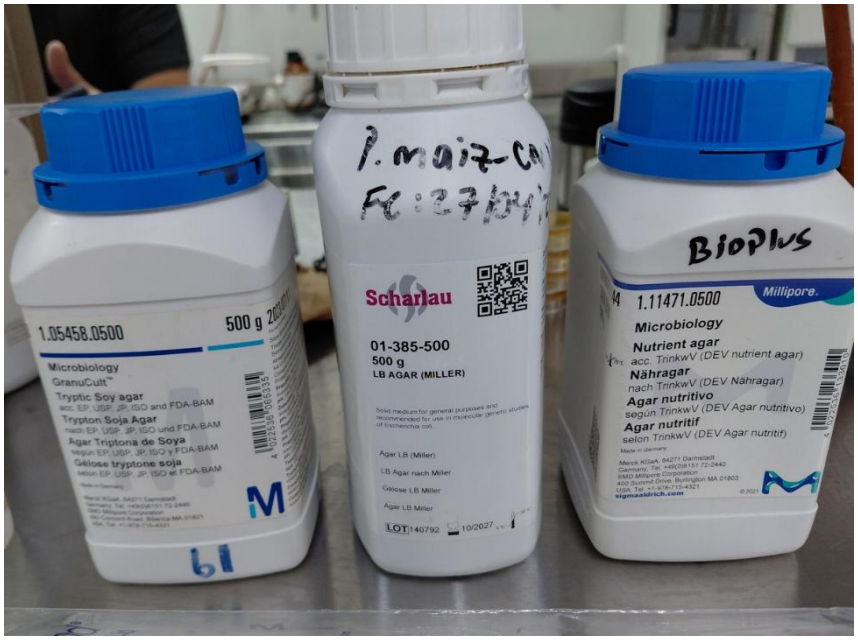
Suspensión probiótica utilizada.



Nota. Imagen de elaboración propia.

Figura 17

Medios de cultivos utilizados.



Nota. Imagen de elaboración propia.

Se prepararon tres medios de cultivos comerciales, que se muestran en la figura 17, conocidos como Agar nutritivo, Agar Luria Bertani (LB), Tripteína de Soya (TSA), según las instrucciones del fabricante, luego se introdujo los tres Erlenmeyer que contiene cada uno de los medios a una autoclave vertical de acero inoxidable modelo LS-35LD con cinta indicadora durante 15 minutos a

121°C, se distribuyó sobre placas Petri al lado de un mechero que creó un ambiente estéril.

Como se ilustra en la figura 18, para la siembra, se agitó la suspensión de la bacteria probiótica en agua purificada utilizando un vortex de la marca Fisher Scientific con el fin de homogenizarle, y se efectuó una dilución en serie en seis tubos que contenían 9 mL de agua peptonada.

Figura 18

Utilización del vortex y de pipeta para dilución en serie.



Nota. Imágen de elaboración propia.

1. Con una micropipeta, se transfirió 1 mL de la muestra original al primer tubo con agua peptonada.
2. Se agitó en el vortex Fisher Scientific para homogenizar la bacteria durante 1 minuto.
3. Se tomó 1 mL de la dilución y se transfirió al segundo tubo con 9 mL de agua peptonada.
4. Este procedimiento se repitió para los seis tubos de ensayo.

Finalmente, se tomó 1 mL de cada tubo de la serie y se sembró por superficie en placas con los tres medios comerciales y se colocaron en una incubadora de la marca Thermo Scientific modelo 150 de 30-35°C durante 24 horas.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se procedió al recuento de colonias. Se seleccionaron las placas con colonias separadas que contenía entre 30 y 300 colonias. Utilizando la ecuación 1 del acápite 3.8 en el marco teórico, se realizó el cálculo y se eligió el medio comercial con la mayor cantidad de UFC/mL.

a) Confirmación de pureza

Las pruebas de microbiología detalladas a continuación permitieron identificar las características y pureza de la cepa estudiada.

Morfología

Se observó la forma de la cepa cultivada y se asoció a uno de los presentados en la figura 2. También se identificó la forma, elevación y margen de la colonia bacteriana con fundamento en la figura 3.

Tinción de Gram

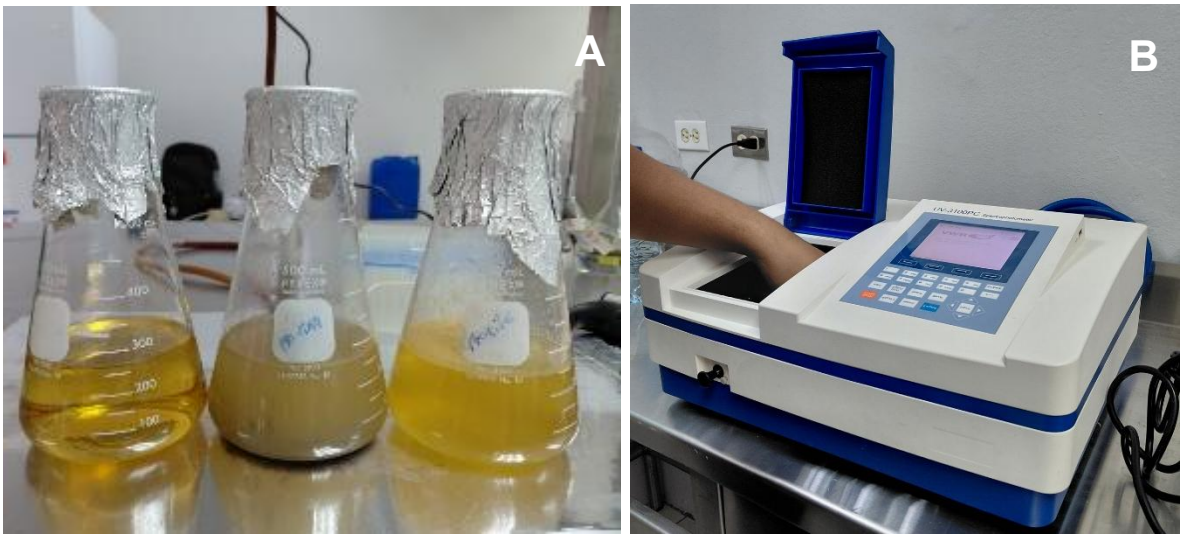
Siguiendo la metodología presentada en la tabla 3 del marco teórico, se colocó sobre un portaobjetos una gota de agua destilada estéril y con un asa de platino se tomó una colonia del medio sólido y se emulsionó con la solución, se extendió en forma de capa delgada y uniforme. Se pasó con cuidado el portaobjeto en forma horizontal, sobre la llama del mechero manteniendo el extendido hacia arriba, hasta la sequedad total. Seguidamente se aplicó cristal violeta por 1 minuto, yodo-lugol por 1 minuto, alcohol-acetona por 20 segundos y Safranina por 1 minuto, se enjuagó entre cada aplicación. Se dejó secar y se colocó una gota de aceite de inmersión. Se observó en el microscopio marca AmScope modelo B120C con el objetivo 100X los resultados de la muestra contenida en el portaobjetos.

5.5 Evaluación del crecimiento por espectrofotometría y recuento en placa

A partir de la metodología descrita por (Coronado y Salazar, 2016) y adaptando a nuestras condiciones la metodología establecida por (Alonso et al., 2019), se transfirió una colonia de la placa hacia un Erlenmeyer que contenía caldo comercial y se preparó una solución al 1% p/v de la harina obtenida y otra solución al 2% v/v del aceite obtenido como se muestra en la figura 19 parte A). Se añadió 25 mL del inoculo a las dos soluciones (MS1 y MS2) y a un medio de control con el medio comercial (MC), se mantuvo en un shaker de la marca SciaLogex modelo SK-O330-Pro a 140 rpm, que aumentó la velocidad de crecimiento bacteriano.

Figura 19

Evaluación del crecimiento. A) Medio de control, solución 1% p/v harina y 2% v/v aceite B) Espectrofotómetro VWR.



Nota. Imágenes de elaboración propia.

Se tomaron muestras al inicio de la prueba (0 horas), y cada 30 minutos. En cada punto de muestreo se midió la absorbancia en un espectrofotómetro VWR modelo UV-3100PC a 500nm para la harina y a 600nm para el aceite y para el control, el cual se muestra en la figura 19 parte B) Para determinar el crecimiento bacteriano cualitativamente se sembró en placa y se incubó en una incubadora Thermo Scientific modelo 150 por 24 horas a 37°C.

Todas las pruebas se llevaron a cabo por triplicado, repitiendo la prueba en tres semanas distintas. El promedio de estas pruebas fue comparado con el inóculo de control, que consistió en *Bacillus Clausii* en medio comercial sin adición de harina ni aceite, como se muestra en la tabla 5. Con los resultados obtenidos se construyó una curva de Absorbancia vs. Tiempo, que permitió analizar como la bacteria probiótica se adecua al aceite y harina de la semilla de Jícaro (*Crescentia*

alata) en comparación al medio comercial que tuvo el mejor resultado en el punto 5.4.

Tabla 5

Diseño experimental.

Tratamiento	Tipo de medio	Tiempo de incubación (horas)	Crecimiento microbiano
1	MC	t1	Absorbancia
2	MC	t2	Absorbancia
3	MC	t3	Absorbancia
4	MS1	t1	Absorbancia
5	MS1	t2	Absorbancia
6	MS1	t3	Absorbancia
7	MS2	t1	Absorbancia
8	MS2	t2	Absorbancia
9	MS2	t3	Absorbancia

Nota. Elaboración propia.

De igual forma que en el experimento previo, se llevó a cabo la evaluación utilizando un segundo medio comercial seleccionado por su eficacia en la adaptación de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii*. Esta vez, se preparó un preinóculo de *Bacillus Clausii* en dicho caldo comercial. El procedimiento consistió en tomar una colonia y se transfirió a un beaker que contenía el medio comercial. Posteriormente, el beaker se colocó en un shaker SciaLogex SK-O330-Pro a 140 rpm durante 24 horas, como muestra la figura 20. Esta etapa tuvo como propósito preadaptar la bacteria al nuevo medio, lo cual contribuye a reducir la fase de latencia del microorganismo.

Figura 20

Preinóculo *B. Clausii* en shaker SciaLogex.



Nota. Imagen de elaboración propia.

VI. RESULTADOS

A continuación, se exponen los resultados obtenidos de la metodología descrita en el presente estudio:

6.1 Resultados de la extracción de aceite y producción de harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*)

Para el cálculo del rendimiento de semilla por fruto se empleó las fórmulas descritas en metodología acápite 5.3, a partir de la ecuación 4 se conoce que el porcentaje de pulpa por fruto es del 50.25%, y que el rendimiento de semilla es del 22.42%, empleando la ecuación 5.

A partir de la semilla se logró extraer el 10.60% de aceite y el 85.31% de harina con diámetro de partícula de 297μm, estos valores se conocen a partir del empleo de la fórmula 6 y 7 del mismo acápite.

Si bien, aun no se cuenta con alguna normativa para este tipo de harina, de acuerdo con el Codex Alimentarius (1985), la granulosidad de la harina de trigo debe ser igual a 212 μm, un valor cercano y aceptable al tomar en cuenta la materia prima de la que se origina.

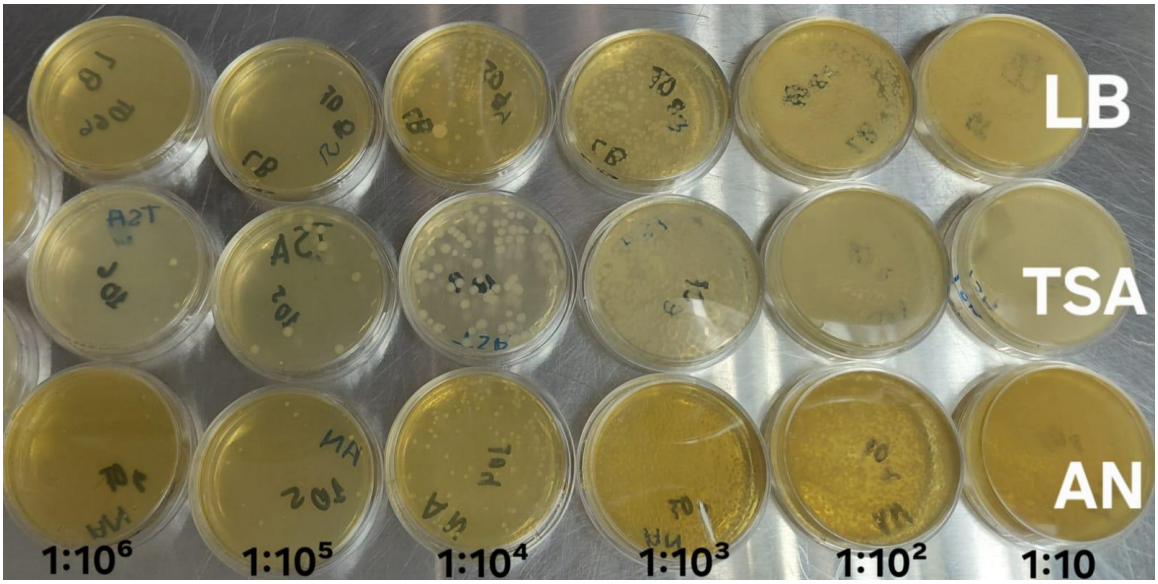
Comparando los resultados a los de Torrez et al. (2016) quienes utilizaron un tornillo sin fin manual y artesanal para la extracción, obtuvieron un rendimiento del aceite del 24-33% así como un 53% de harina por semilla, si bien no se obtuvieron valores cercanos por utilizar diferentes métodos de extracción, se confirma que es posible extraer estos productos a partir de semilla de jícaro (*Crescentia Alata)* por más de una vía.

6.2 Resultados de la prueba de adaptabilidad de *Bacillus Clausii* a medios comerciales

Luego de las 24 horas de incubación de la siembra por superficie de las seis diluciones seriadas para los tres medios comerciales en estudio: Agar nutritivo, Luria Bertani y Tripteína de soya. Por tanto, se obtuvieron 18 placas que se muestran en la figura 21, se dividen en tres filas: la fila superior son placas de Luria Bertani, la fila de en medio son placas de Tripteína de soya y la fila inferior son placas de Agar Nutritivo, asimismo, la concentración de *Bacillus clausii* disminuye de derecha a izquierda.

Figura 21

Crecimiento de *Bacillus Clausii* de concentraciones 1:10 a $1:10^6$ por siembra en superficie en placas de Agar Nutritivo, Luria Bertani y Tripteína de Soya.



Nota. Imagen de elaboración propia.

Las placas que contenía el inóculo de *Bacillus Clausii* 1:10 se observan numerosas colonias sobre toda la superficie, un crecimiento similar para los tres medios en estudio; seguidamente las placas que contienen *Bacillus Clausii* $1:10^2$ se observó en el Agar Nutritivo y Luria Bertani colonias separadas a comparación del crecimiento en Tripteína de soya; asimismo en las placas que contenían *Bacillus Clausii* $1:10^3$ se evidenciaron colonias individuales y dispersas, aunque en cantidades mayores a 300 por placa; por otra parte, en las placas que contenían *Bacillus Clausii* $1:10^4$ se contaron 108 colonias en Luria Bertani, 93 colonias en Tripteína de soya y 128 colinas en Agar Nutritivo; de la misma manera en las placas que contenían *Bacillus clausii* $1:10^5$ se contaron 7 colonias en Luria Bertani, 12 colonias en Tripteína de Soya y 14 colonias en Agar Nutritivo; finalmente, se realizó el conteo de las placas que contenían en inoculo de *Bacillus Clausii* $1:10^6$ cuyo crecimiento se contabilizó en 2 colonias en Luria Bertani, 3 colonias en Tripteína de Soya y 14 colonias en Agar Nutritivo. Como resultado, se construyó la tabla 6 considerando las placas cuyo factor de dilución es $1:10^6$, $1:10^5$ y $1:10^4$, y se eligió las que contenían de 30 a 300 colonias.

Tabla 6

Conteo del crecimiento microbiano de *Bacillus Clausii* en Luria Bertani, Tripteína de soya y Agar Nutritivo a factor de dilución de $1:10^4$ a $1:10^6$.

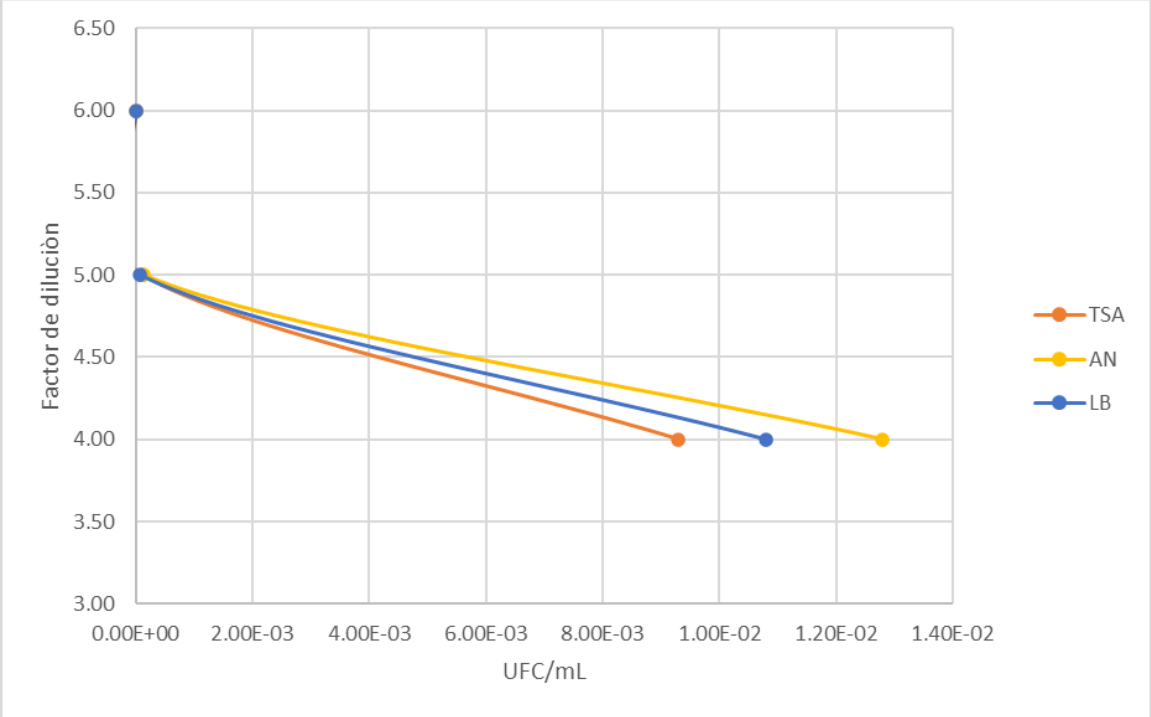
Factor de dilución	LB	TSA	AN
$1:10^6$	2	3	14
$1:10^5$	7	12	14
$1:10^4$	108	93	128

Nota. Elaboración propia.

Como se muestra en la tabla 5 la que cumplía con ese parámetro fueron aquellas cuyo factor de dilución era igual a $1:10^4$. De manera que, se realizó cálculos de Unidades Formadoras de colonia por mililitro, utilizando la ecuación 1. En efecto, se graficaron estos resultados de Unidades formadoras de Colonia por mililitro de medio (UFC/mL) contra Factor de dilución, como se muestra en la figura 22.

Figura 22

Comparación de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro de medio contra factor de dilución de la adaptabilidad de *Bacillus Clausii* a Tripteína de Soya, Agar Nutritivo y Luria Bertani.



Nota. Imagen de elaboración propia.

Aunque *Bacillus Clausii* mostró crecimiento en los tres medios sintéticos evaluados, presentó su mejor adaptación en el agar nutritivo, seguido por el agar Luria Bertani y, en menor medida, en el agar Tripteína de Soya. Este resultado está relacionado a la composición de cada medio, ya que el agar nutritivo se caracteriza por la simplicidad y disponibilidad inmediata de sus componentes, que contiene peptona y extracto de carne, aportando aminoácidos, péptidos cortos, vitaminas y sales fácilmente asimilables, favoreciendo el metabolismo básico y el crecimiento inicial de bacterias no exigentes. En comparación, al agar Luria Bertani, aunque también contiene peptona y extracto de levadura, incorpora NaCl en mayor concentración, lo que puede alterar la presión osmótica y afectar la fisiología de cepas sensibles.

Por otro lado, el agar Tripteína de Soya, formulado para el cultivo de microorganismos exigentes, contiene una mezcla de digeridos vegetales y animales que aportan proteínas, péptidos, aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales en formas altamente biodisponibles. Su composición compleja ofrece un amplio espectro de nutrientes que favorecen el crecimiento robusto y la actividad metabólica de bacterias con requerimientos nutricionales específicos. Sin embargo, esta riqueza nutricional puede implicar una mayor demanda en las rutas metabólicas para la asimilación eficiente de sus componentes, lo que podría explicar una adaptación más lenta en comparación con medios más simples. Esta característica resalta la importancia de seleccionar medios adecuados según el perfil metabólico del microorganismo para optimizar su cultivo.

a) Confirmación de pureza

Se identificaron las características de la cepa estudiada *bacillus clausii* al observar en un microscopio AmScope B120C, también se realizó tinción gram. Como se observa en la figura 23, la colonia por su forma, elevación y margen se identificó como puntiformes elevada, de igual manera, al aplicarse tinción gram la colonia se tiño de color violeta por tanto resultó ser gram positiva, en consecuencia, se confirma la pureza de cepa *Bacillus clausii* aislada ya que se registraron características de acuerdo con las publicadas por Abbrescia et al. (2014).

Figura 23

Colonia de *Bacillus Clausii* observada en el microscopio luego de realizar tinción gram.



Nota. Imagen de elaboración propia.

6.3 Análisis del crecimiento por espectrofotometría y recuento en placa

A continuación, mediante la tabla 7, se presentan los 6 tratamientos resultado de las medidas de absorbancia tomadas para medio de control, medio con solución de harina 1% p/v, y medio con solución de aceite 2% v/v.

Tabla 7

Tratamientos de espectrofotometría para harina, aceite y control utilizando caldo nutritivo.

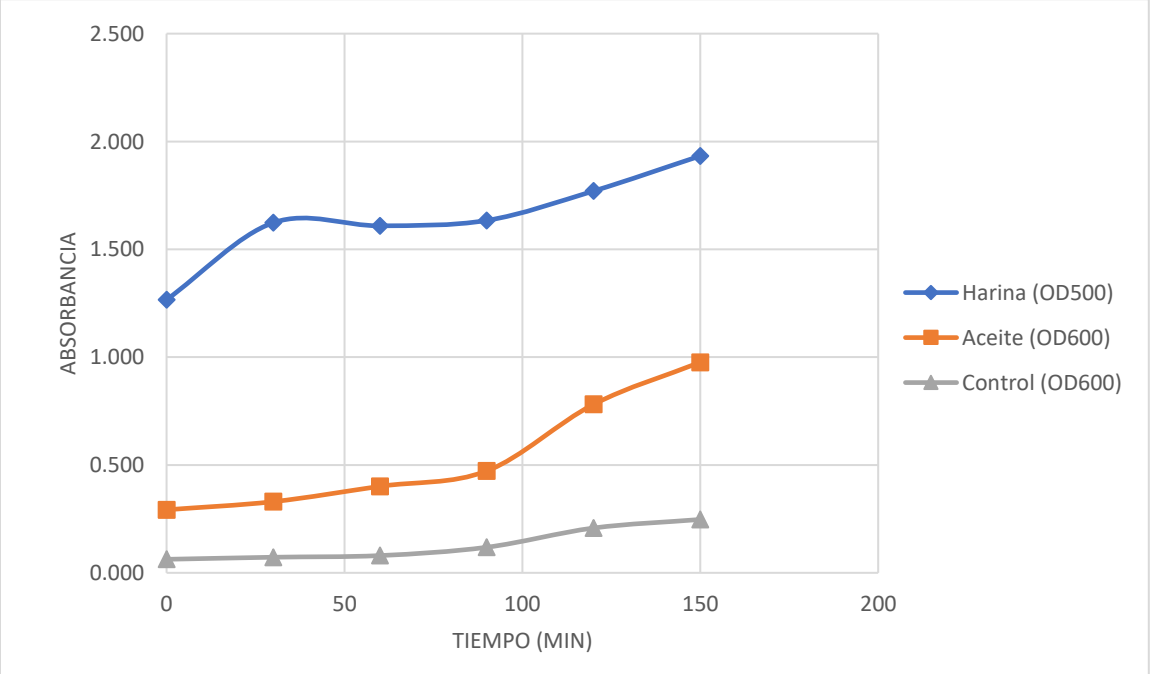
Tratamiento	Tiempo (min)	Harina (OD500)	Aceite (OD600)	Control (OD600)
1	0	1.266	0.292	0.063
2	30	1.623	0.330	0.072
3	60	1.609	0.401	0.080
4	90	1.634	0.472	0.119
5	120	1.770	0.781	0.208
6	150	1.933	0.976	0.247

Nota. Elaboración propia.

Con estos datos se graficó absorbancia tomada para los tres medios contra el tiempo en minutos, como se muestra en la figura 24 se observa como *Bacillus Clausii* en el medio enriquecido con harina presenta datos de absorbancia que van de aumento del t=0 al t=1, para después mantenerse en constante crecimiento hasta el t=5. Por otro lado, la absorbancia medida de *Bacillus clausii* en el medio enriquecido con aceite se mantuvo constante del t=0 al t=3 y del t=4 a t=5 tuvo su mayor crecimiento. En comparación, al medio de control que tuvo la menor absorbancia registrada del t=0 al t=5. Por tanto, estos datos sugieres que el mayor crecimiento obtenido de la cepa en estudio el medio que contenía el medio con solución de harina 1% p/v, seguido del medio con solución de aceite 2% v/v y el menor crecimiento presentado fue en el medio de control que únicamente contenía el medio caldo nutritivo.

Figura 24

Comparación de medidas tomadas de absorbancia en intervalos de 30 minutos sobre el crecimiento de *Bacillus Clausii* en medio con solución de harina, de aceite y de control.

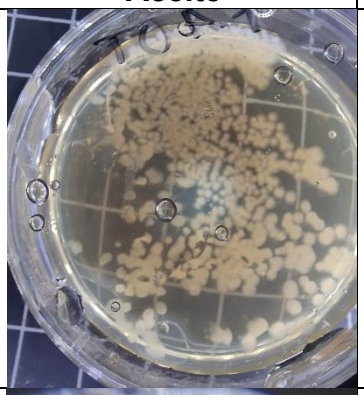
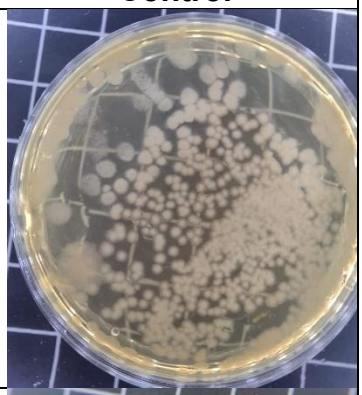
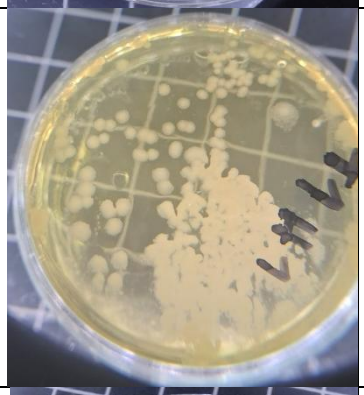
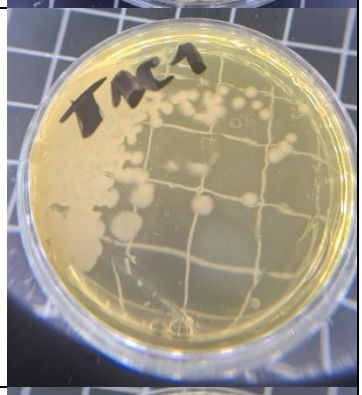
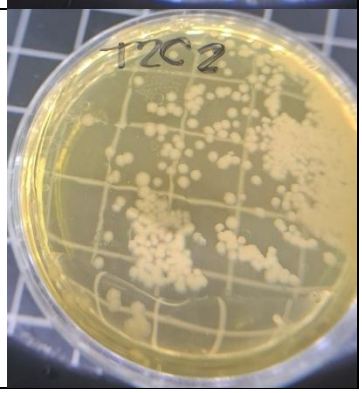


Nota. Imagen de elaboración propia.

A continuación, en la tabla 8 se muestran los resultados representativos el crecimiento en placa por la siembra en superficie de la solución de harina y de aceite en contraste a la solución de control. En el T_0 se observa crecimiento de colonias mayormente separadas en las tres placas, luego en el T_1 aunque igualmente presentan crecimiento las tres placas, es mayor en la placa de *Bacillus Clausii* en aceite, asimismo, en el T_2 se observa un mayor crecimiento en la placa de *Bacillus Clausii* en harina en contraste las otras dos placas.

Tabla 8

Crecimiento de *Bacillus Clausii* en harina, aceite y control en placa por siembra de superficie en el T_0, T_1 y T_2.

	Harina	Aceite	Control
T 0			
T 1			
T 2			

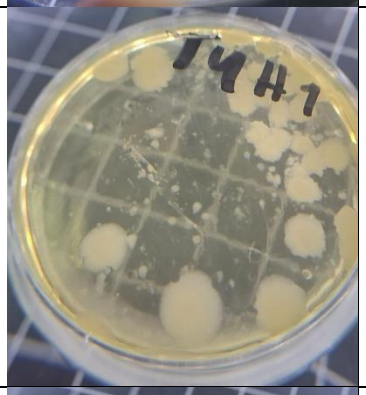
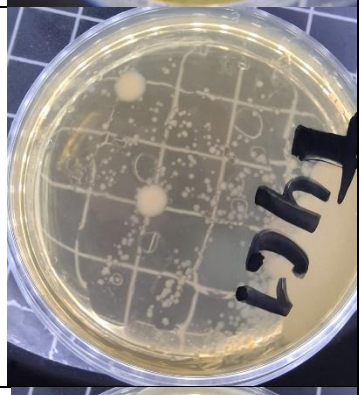
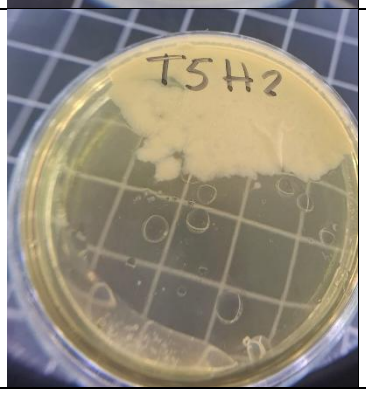
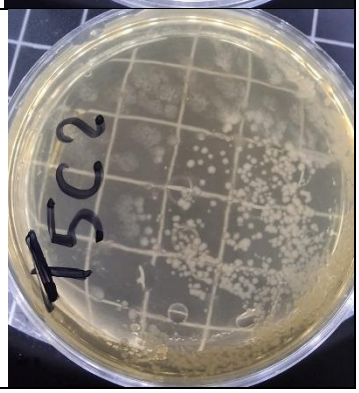
Nota. Elaboración propia.

De la misma forma, como se logra observar en la tabla 9, en el T_3 se observa una acumulación mayor de colonias sobre las placas de aceite y de harina en comparación a la de control, también, en T_4 se observa crecimiento sobre las tres placas sobre todo en la placa de *Bacillus Clausii* en aceite, al finalizar el experimento en el T_5 se observa como en la placa de control hay pocas colonias

de *Bacillus Clausii* en comparación al crecimiento obtenido en placas de aceite y harina. A modo de resumen, se observa un mayor crecimiento de colonias de *Bacillus Clausii* tanto en las placas de aceite como de harina, en comparación a las placas de control.

Tabla 9

Crecimiento de *Bacillus clausii* en harina, aceite y control en placa por siembra de superficie en el T_3, T_4 y T_5.

	Harina	Aceite	Control
T 3			
T 4			
T 5			

Nota. Elaboración propia.

Seguidamente, se presentan los resultados del crecimiento de *Bacillus Clausii* como preinóculo en caldo Luria Bertani, en la tabla 10 se exponen las medidas de absorbancia tomadas, en total se registraron 6 tratamientos con intervalos de 30 minutos, donde se tomó como variable independiente el tiempo y la variable dependiente la absorbancia medida tanto para el medio con harina a una densidad óptica de 500nm como para el medio con aceite y de control a una densidad óptica de 600nm.

Tabla 10

Absorbancia medida por espectrofotometría del crecimiento de *Bacillus Clausii* en medio con solución de harina, aceite y control utilizando caldo LB.

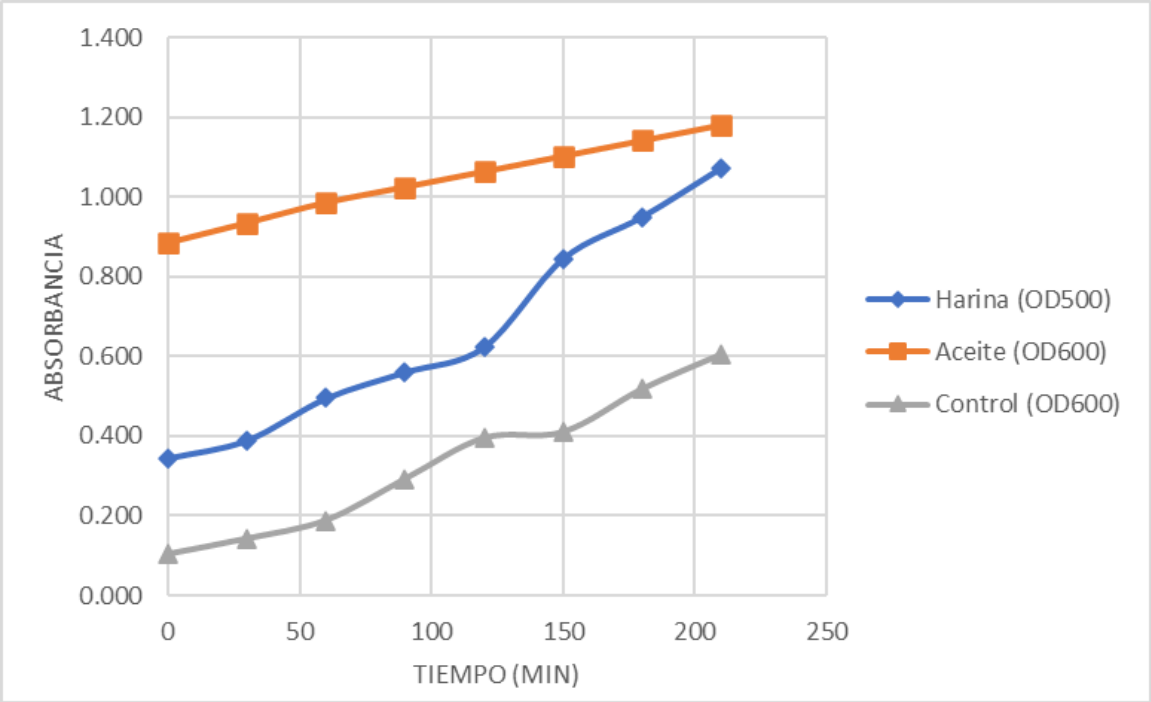
Tratamiento	Tiempo (min)	Harina (OD500)	Aceite (OD600)	Control (OD600)
1	0	0.345	0.885	0.103
2	30	0.390	0.935	0.142
3	60	0.495	0.986	0.188
4	90	0.560	1.025	0.292
5	120	0.623	1.064	0.395
6	150	0.844	1.102	0.410
7	180	0.949	1.141	0.518
8	210	1.071	1.180	0.605

Nota. Elaboración propia.

A partir de la tabla 10 se construyó un gráfico del tiempo contra la absorbancia como se muestra en la figura 25, en la presente se observa como la absorbancia de *Bacillus Clausii* es mayor en el medio con la solución del aceite, también se observa que *Bacillus Clausii* en el medio con la solución de harina aumento desde el tratamiento 5 hasta obtener un valor cercano al del aceite al final del ensayo, esto en comparación a la absorbancia medida de *Bacillus Clausii* en el medio de control cuyos valores fueron menores.

Figura 25

Comparación de medidas tomadas de absorbancia en intervalos de 30 minutos sobre el crecimiento de preinóculo *Bacillus Clausii* en medio con solución de harina, de aceite y de control Luria Bertani LB.



Nota. Imagen de elaboración propia.

Considerando que la densidad óptica es directamente proporcional al crecimiento bacteriano, se observa que *Bacillus Clausii* experimenta un aumento significativo en su crecimiento en presencia de aceite de semilla de jícaro (*Crescentia alata)* respecto al control.

Por consiguiente, con base en los resultados generales obtenidos, se acepta la hipótesis planteada para este estudio.

VII. CONCLUSIONES

- A través de la parte experimental, se evaluó la influencia del aceite y harina de semilla de jícaro [*Crescentia alata*] en el crecimiento de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii.*

- Se logró extraer aceite de la semilla de jícaro (*Crescentia alata)* a través del método de prensado, obteniendo un rendimiento de aceite por semilla del 10.60% comparable a otros estudios reportados. Además, se obtuvo harina de la torta residual con un rendimiento por semilla de 85.31%.

- A través de la parte experimental, se consiguió probar la adaptabilidad de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii* a medios comerciales como agar Nutritivo, agar Luria Bertani y agar de Tripteína de Soya; la bacteria se desarrolló en los tres medios de cultivos, sin embargo, presento una mejor adaptación en el agar Nutritivo, obteniendo $1.28 * 10^{-2}$ UFC por mL.

- Se analizó la incidencia del aceite y harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata)* sobre el crecimiento de la bacteria *Bacillus Clausii*, por medio de las medidas de absorbancia tomadas del caldo nutritivo se obtuvo que en el tratamiento 6 (Tabla 7) a los 150 minutos fue el de mayor valor para la Harina con 1.933 OD en comparación a la del aceite y al medio de control, 0.976 OD y 0.247 OD respectivamente con esto se puede inferir que presenta un mayor crecimiento el medio enriquecido con harina en comparación del medio de control y a través de las medidas de absorbancia del tratamiento 4 en caldo Luria Bertani (LB), a los 90 minutos, se obtuvo valores con diferencias significativas para el aceite, 1.025 OD, en comparación con los valores obtenidos de la harina, 0.560 OD, y, el medio de control, 0.292 OD, en este caso se concluye que el aceite presenta un mayor crecimiento de la bacteria. También, mediante el recuento en placas se logra evidenciar que la bacteria *Bacillus Clausii* presenta una mejor adaptación en los medios enriquecidos con aceite y harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata)*, en comparación con el medio de control. Por lo tanto, en los medios enriquecidos se experimenta un mayor crecimiento de la bacteria probiótica *Bacillus Clausii*.

VIII. RECOMENDACIONES

A partir de los hallazgos obtenidos en la presente investigación, y considerando que su exposición revela aspectos que requieren mayor profundización y plantea interrogantes aún pendientes de resolución, se formulan las siguientes recomendaciones con el propósito de brindar continuidad y respaldo a futuros estudios:

- Profundizar en la caracterización y aprovechamiento de la cáscara y la pulpa de la fruta de jícaro, actualmente considerados desechos del proceso, con el fin de evaluar su potencial como fuente de fibra dietética, compuestos bioactivos o insumos para la elaboración de ingredientes funcionales, biomateriales o productos destinados a la alimentación animal.

- Desarrollar escalado del proceso de extracción de aceite de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) y la obtención de harina a nivel piloto e industrial, considerando parámetros de eficiencia de extracción, rendimiento, estabilidad del aceite, calidad nutricional y funcional de la harina, así como los requerimientos de equipamiento, costos operativos y cumplimiento de la normativa sanitaria y de inocuidad alimentaria aplicable.

- Evaluar diferentes métodos de extracción de los compuestos bioactivos presentes en la semilla de jícaro (*Crescentia alata*), tales como polifenoles, tocoferoles y otros antioxidantes. Se recomienda estudiar el rendimiento, la pureza y la estabilidad de los extractos obtenidos, para su aplicación en alimentos funcionales o formulaciones cosméticas

- Formular productos alimenticios o suplementos que combinen el aceite de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) con la bacteria probiótica *Bacillus clausii*, con el propósito de evaluar si contribuye a mejorar la viabilidad, adaptación y colonización de la bacteria en el tracto gastrointestinal. Estos estudios deberían incluir ensayos de estabilidad, liberación, supervivencia en condiciones simuladas de digestión y, eventualmente, evaluaciones clínicas o preclínicas orientadas a determinar su impacto en la salud digestiva

- Considerar la incorporación de harina de semilla de jícaro (*Crescentia alata*) en mezclas con harinas tradicionales (por ejemplo, trigo) en productos de panificación u otros alimentos, enriquecidos con *Bacillus clausii* como probiótico. Se sugiere evaluar el efecto de esta combinación sobre la calidad nutricional, las propiedades del producto final y su posible contribución al mantenimiento de la flora intestinal y a la mejora de la salud digestiva, mediante estudios in vitro e in vivo.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Abbrescia, A., Palese, L. L., Papa, S., Gaballo, A., Alifano, P., & Sardanelli, A. (2014). Antibiotic Sensitivity of *Bacillus Clausii* Strains in Commercial Preparation. *Clinical Immunology, Endocrine & Metabolic Drugs*. [en línea] 2014, Vol. 1. <https://doi.org/10.2174/2212707002666150128195631> [Consulta: 10 Diciembre 2024]. ISSN: 2212-7089

Acosta-Rodríguez-Bueno, C. P., Abreu y Abreu, A. T., Guarner, F., Guno, M. J. V., Pehlivanoğlu, E., & Perez III, M. (2022). *Bacillus Clausii* for gastrointestinal disorders: a narrative literature review. *Advances in Therapy.* [en línea] 2022, Vol. 39. <https://doi.org/10.1007/s12325-022-02285-0> [Consulta: 10 Diciembre 2024].

Akca, S., & Akpinar, A. (2021). The Effects of Grape, pomegranate, Sesame Seed Powder and Their Oils on Probiotic Ice Cream: Total phenolic contents, antioxidant activity and probiotic viability. *Food Bioscience* [en línea] 2021, Vol. 42. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101203> [Consulta: 24 Octubre 2024].

Alonso García, E., Pérez Montoro, B., Benomar, N., Castillo-Gutiérrez, S., Estudillo-Martínez, M. D., Knapp, C. W., & Abriouel, H. (2019). New insights into the molecular effects and probiotic properties of *Lactobacillus pentosus* pre-adapted to edible oils. *LWT - Food Science and Technology* [en línea] 2019, Vol. 109. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.028> [Consulta: 24 Octubre 2024].

Andreu E., A., Dos Santos M., A., Berlanga R., N., Franco, S., M., Borao P., S., Pueyo L., P. (2023). Medios de cultivo. *Revista sanitaria de investigación* [en línea] <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/medios-de-cultivo/> [Consulta: 16 Mayo 2025]. ISSN: 2660-7085

Bautista Quisberth, D. (2019). Elaboración De Harina Para Consumo Humano A Partir De Orujo De Uva Del Departamento De Tarija. Tarija, Bolivia. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/7943366?show=full> [Consulta: 04 Marzo 2026].

Bernal Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., Gutiérrez-Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición* [en línea] Vol. 44 No. 4 Santiago, 2017. <https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182017000400383#B5> [Consulta: 16 Abril 2025] ISSN: 0717-7518

Castañeda G, C. (2018). Actualización en prebióticos. *Revista cubana de pediatría* [en línea] Vol. 90 No. 4. < http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312018000400008> [Consulta: 09 Mayo 2025] ISSN: 1561-3119

Codex Alimentarius (1985). Norma para la harina de trigo. < https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B152-1985%252FCXS_152s.pdf> [Consulta: 04 Marzo 2026].

CONDALAB (2022). Agar Luria (Agar LB Miller) [en línea]. <Agar Luria (Agar LB Miller) Formato 500 g> [Consulta: 16 Mayo 2025]

Coronado, D. A., & Salazar, M. (2016). Elaboración de harina de *smallanthus sonchifolius (poepp.) h. rob.* "yacón" y su influencia en el crecimiento de dos bacterias probióticas. *Ciencia e Investigación* [en línea] <https://core.ac.uk/download/pdf/304895958.pdf> [Consulta: 24 Octubre 2024]. ISSN: 1609-9044

Corrales, C. V., Fliedel, G., Perez, A. M., Servent, A., Prades, A., Dornier, M., Lomonte, B., & Vaillant, F. (2017). Physicochemical characterization of jicaro seeds (*Crescentia alata* H.B.K.): A novel protein and oleaginous seed. *Journal of Food Composition and Analysis* [en línea] 2017, Vol. 56. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.11.007> [Consulta: 24 Octubre 2024].

De las Cagigas Reig, A. L., & Blanco Anesto, J. (2002). Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment Nutr*. [en línea] <probioticos_y_prebioticos-libre.pdf> [Consulta: 4 Noviembre 2024].

Editorial Grudemi (2019). Microorganismos. [en línea] <https://enciclopediaiberoamericana.com/microorganismos/> [Consulta: 25 Noviembre 2024]

Elshaghabee, F. M. F., Rokana, N., Gulhane, R.D., Sharma, C., Panwar, H. (2017). *Bacillus* As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. [en línea] <Bacillus As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives - PMC> [Consulta: 25 Noviembre 2024]

Enríquez-Estrella, M., Torres-Caicedo, L., Monar-Vega, K., & Uvidia-Cavadiana, H. (2022). Alimentos funcionales la tendencia de consumo del siglo XXI. *Revista Científica Agropecuaria* [en línea] No. 3, Año 2, Vol. 1. < Vista de ALIMENTOS FUNCIONALES LA TENDENCIA DE CONSUMO DEL SIGLO XXI> [Consulta: 16 Abril 2025]

Fernández, R. (1994). El jícaro: árbol sagrado y respuesta económica. *Revista envío*. [en línea] No. 147., Abril 1994, Nicaragua. <Revista Envío - El jícaro: árbol sagrado y respuesta económica> [Consulta: 5 Noviembre 2024]

Fuentes-Berrio, L., Acevedo-Corea, D., & Gelvez-Ordoñez, V. M. (2015). Alimentos funcionales: impacto y retos para el desarrollo y bienestar de la sociedad colombiana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria* [en línea] Vol. 13. No. 2. Julio-Diciembre 2015. < http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v13n2/v13n2a16.pdf> [Consulta: 16 Abril 2025]

Fuller R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of applied bacteriology* [en línea]. 2008, Vol. 66. <https://enviromicro-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x> [Consulta: 26 Noviembre 2024]. ISSN: 1365-2672

Jurgilevich, A., Birge, T., Kentala-Lehtonen, J., Korhonen-Kurki, K., Pietikäinen, J., Saikku, L., & Schösler, H. (2016). Transition towards circular economy in the food system. *Sustainability.* [en línea]. Enero 2016, Vol. 8. <Transition towards Circular Economy in the Food System> [Consulta: 10 Diciembre 2024]. ISSN: 2071-1050

Laboratorios Britania S.A. (2021). Nutritivo Agar [en línea]. <upl_60707641dee11.pdf> [Consulta: 11 Mayo 2025]

Laboratorios Britania S.A. (2021). Tripteína Soya Agar [en línea]. <upl_6054e7678b1e3.pdf> [Consulta: 24 Mayo 2025]

Lee N.K., Kim W.S., Paik H.D. (2019). Cepas de bacilos como probióticos humanos: caracterización, seguridad, microbioma y portador de probióticos [en línea] <Cepas de Bacillus como probióticos humanos: caracterización, seguridad, microbioma y portador de probióticos - PMC> [Consulta: 10 Diciembre 2024].

Mallappa, R. H., Rokana, N., Duary, R. K., Panwar, H., Batish, V. K., & Grover, S. (2012). Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* [en línea]. <Indian Journal of Endocrinology and Metabolism> [Consulta: 25 Noviembre 2024]. ISSN: 2230-9500

Maté, J. J. (1996). Fibra dietética en gastroenterología. [en línea] Barcelona. < Fibra dietética en gastroenterología - Dialnet> [Consulta: 25 Noviembre 2024]

Ministerio de Economía Familiar Comunitaria Cooperativa y Asociativa. (2023). Cartilla del cultivo de Jícaro. [en línea] <https://www.economiafamiliar.gob.ni/backend/vistas/doc/cartilla/documento3202440.pdf> [Consulta: 4 Noviembre 2024]

Montoya P., J. D. (2024). *Actividades Económicas en Nicaragua: Primaria, Secundaria, Terciaria y Cuaternaria* [en línea] <https://actividadeseconomicas.org/actividades-economicas-en-nicaragua-primaria-secundaria-terciaria-y-cuaternaria/> [Consulta: 17 Abril 2025]

Naciones Unidas (2023). Objetivos de desarrollo sostenible. [en línea] <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/hunger/> [Consulta: 4 Noviembre 2024]

O´Connor Mendoza, J. L. (2019). Descifrando el contenido microbiano de bioinsumos comerciales para el diseño de un consorcio con potencial biofertilizante. Tesis de Máster en Biotecnología. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ingeniería química, 142 p.

Oluwole, F. A., Aviara, N. A., Umar, B., Mohammed, A. B. (2015). Influence of Variety and Pre-treatment on Oil Properties of Mechanically Expressed Castor Oil.

Global Advanced Research Journal of Engineering. [en línea] Vol. 4. Enero 2015. <https://www.researchgate.net/publication/299398041_Influence_of_Variety_and_Pre-treatment_on_Oil_Properties_of_Mechanically_Expressed_Castor_Oil> [Consulta: 16 Mayo 2025]. ISSN: 2315-5124

Orange County Biotechnology Education Collaborative (2022). 1.18: Diluciones en serie y curvas estándar con lectores de microplacas [en línea]. <1.18: Diluciones en serie y curvas estándar con lectores de microplacas - LibreTexts Español> [Consulta: 24 Mayo de 2025].

Panwar, H., Calderwood, D., Grant, I. R., Grover, S., & Green, B. D. (2014). Lactobacillus strains isolated from infant faeces possess potent inhibitory activity against intestinal alpha-and beta-glucosidases suggesting anti-diabetic potential. *European Journal of Nutrition* [en línea]. <Lactobacillus strains isolated from infant faeces possess potent inhibitory activity against intestinal alpha- and beta-glucosidases suggesting anti-diabetic potential | European Journal of Nutrition> [Consulta: 25 Noviembre 2024]. ISSN: 1436-6215

Pedrique de Aulacio, M. & De Castro, N. (2001). Morfología y estructura de los microorganismos [en línea]. Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. <http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_2_morfologia.pdf> [Consulta: 25 Noviembre 2024]

Piloto R., R., Sotolongo P., J. A., Díaz D., Y., Suárez H., J. (2021). Extracción de aceite de origen vegetal [en línea]. <https://www.researchgate.net/profile/Ramon-Piloto-Rodriguez/publication/356287423_Extraccion_de_aceites_de_origen_vegetal/links/61950fec07be5f31b78ecebc/Extraccion-de-aceites-de-origen-vegetal.pdf?origin=publication_detail> [Consulta: 16 Mayo 2025].

Plan Nacional de Lucha contra la Pobreza y para el Desarrollo Humano 2022-2026. [en línea] <PNCL-DH_2022-2026(19Jul21).pdf> [Consulta: 02 Mayo 2025].

Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., (2004). Microbiología. 5ª ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 1280p.

Priede, B. Ergamini, T., & Hilliard, I. (2019). La economía circular en la industria alimentaria. *Dossieres EsF* [en línea] No. 35., 2019, España. Economistas sin fronteras. Madrid. <Dossieres-EsF-35-RSC-en-la-industria-alimentaria.pdf> [Consulta: 10 Diciembre 2024]. ISSN: 2603-848X

Real Academia Española (2025). Diccionario de la lengua española [versión 23.8 en línea]. <morfología | Definición | Diccionario de la lengua española | RAE - ASALE> [Consulta: 22 de f Febrero de 2025].

Rivera Romero, K. G., & Loásiga Roque, S. S. (2023). Obtención de un alimento funcional probiótico, estilo dip, de semilla de jícaro enriquecido con Bacillus

Clausii. Trabajo Monográfico de Ingeniero Químico. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de ingeniería química, 59p.

Rodrigues, I.M., Coelho, J.F.J. & Carvalho, M.G.V.S. (2012). Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: methods, limitations and potential. *Journal of Food Engineering*. [en línea] Abril, 2012. Vol. 109. < Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential - ScienceDirect> [Consulta: 4 Noviembre 2024]. ISSN: 0260-8774

Rosenthal, K., S., y Tan, M., J., (2011). Capítulo 6-12. En su: Rapid review microbiology and immunology. 3ª ed., MOSBY ELSEVIER, Philadelphia, pp. 46-89.

Santambrosio, E., y Ortega, M. (2009). Cátedra de biotecnología: Siembra y recuento de microorganismos [en línea]. Departamento de ingeniería química de la Facultad Regional Rosario, Universidad Tecnológica Nacional de la República Argentina. Santa fe. <https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicoIII.pdf> [Consulta: 25 Noviembre 2024]

Silveira Rodríguez, M. B., Monereo Megías, S., & Molina Baena, B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos? *Revista española de salud pública.* [en línea] Vol. 77., No. 3. Mayo-Junio 2003, Madrid. <Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿cerca o lejos? - Dialnet> [Consulta: 25 Noviembre 2024]. ISSN: 2173-9110

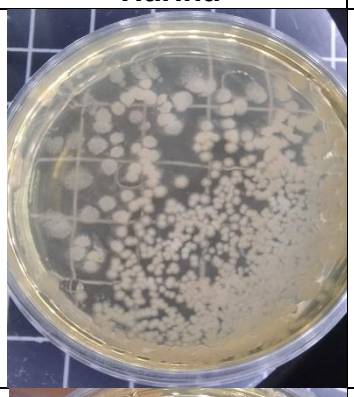
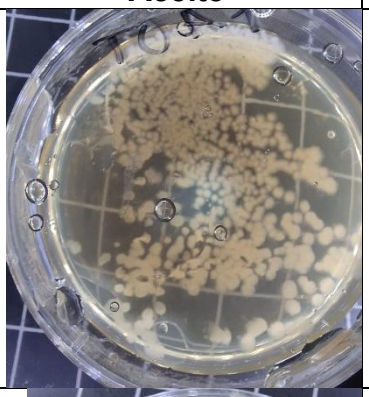
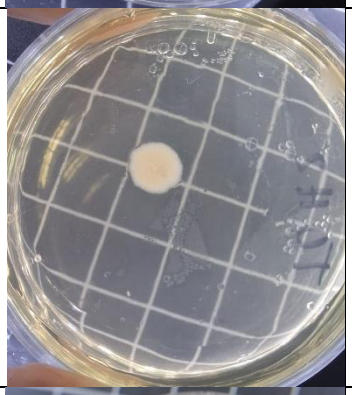
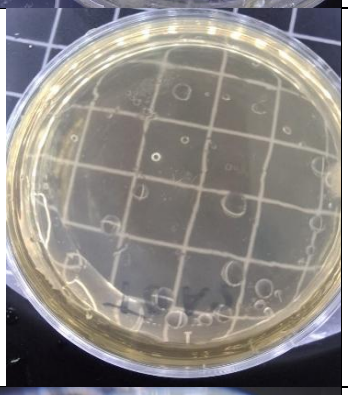
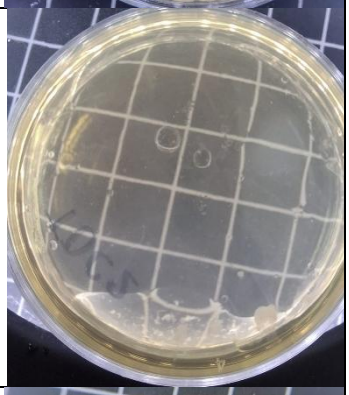
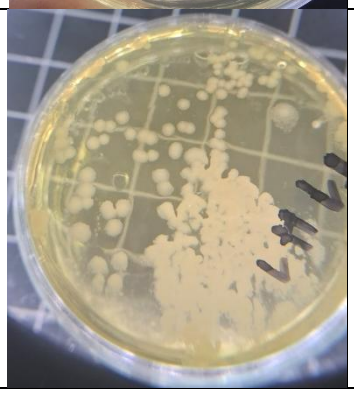
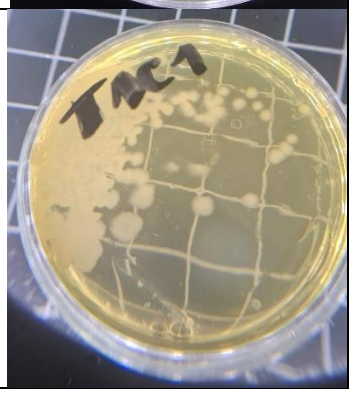
Taranto, M. P., Medici, M., & de Valdez, G. F. (2005). Alimentos funcionales probióticos. *Química Viva* [en línea] No. 1. Mayo 2005, Argentina. <alimprob.PDF> [Consulta: 25 Noviembre 2024]. ISSN: 1666-7948

Torrez, M. A., González Pérez, M. A., & Obando Hurtado, K. H. (2016). Propuesta tecnológica para la extracción de aceite y producción de harina a partir de semilla de jícaro sabanero (Crescentia Alata), en el departamento de chontales, en el año 2015. Seminario de graduación de Ingeniería agroindustrial. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Departamento de ciencias, tecnología y salud, 121 p.

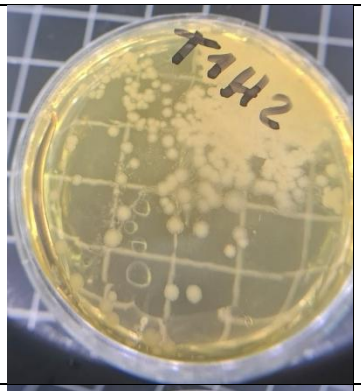
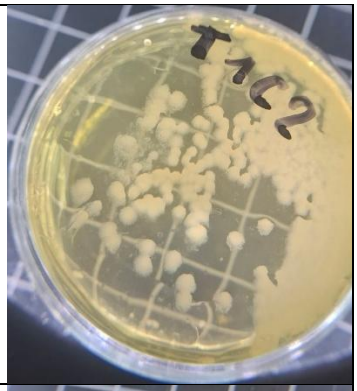
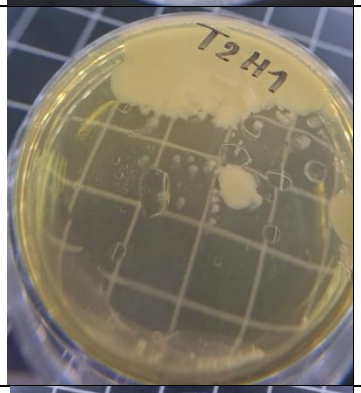
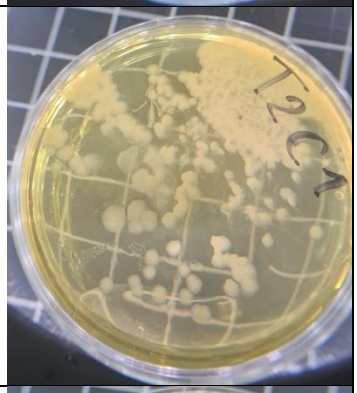
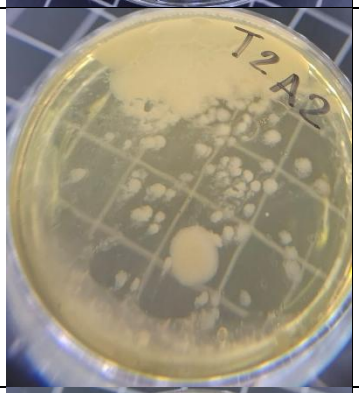
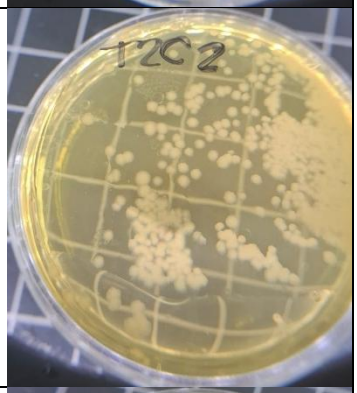
X. ANEXOS

Anexo 1

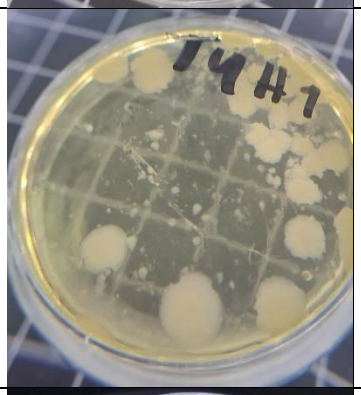
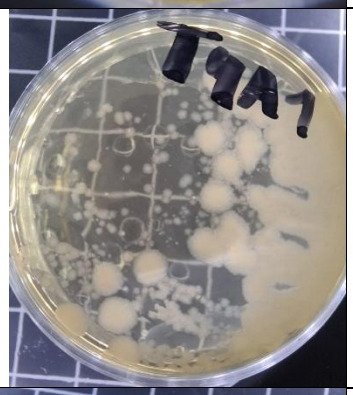
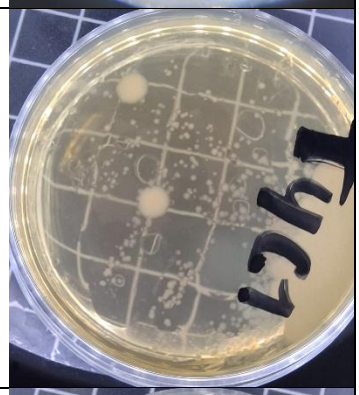
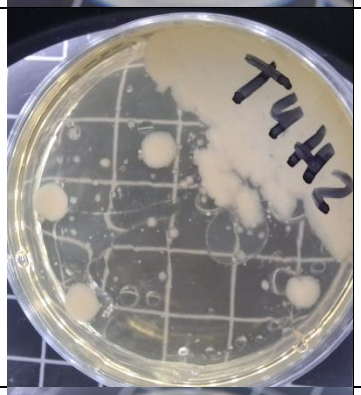
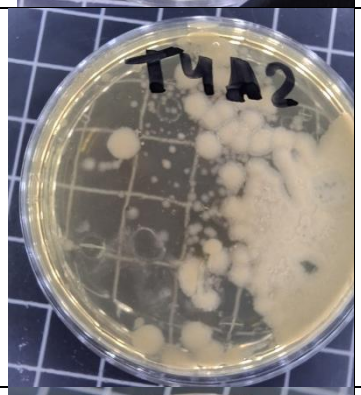
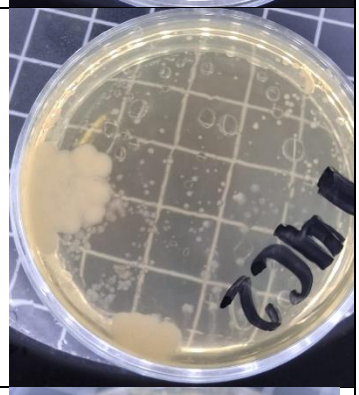
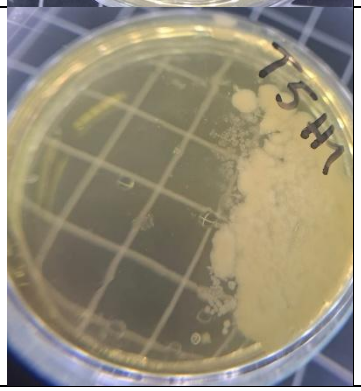
Crecimiento de *Bacillus Clausii* en harina, aceite y control en placa por siembra en superficie por duplicado.

	Harina	Aceite	Control
T_0 1			
T_0 2			
T_1 1			

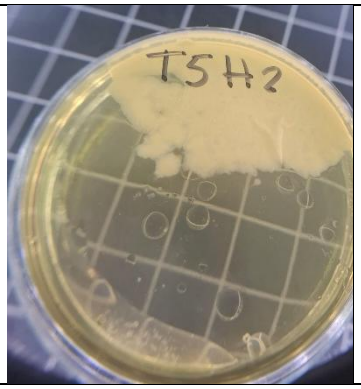
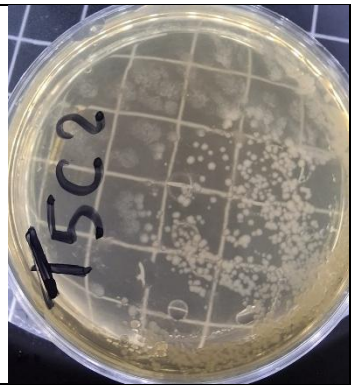
Anexo 2 (Continuación)

T_1 2			
T_2 1			
T_2 2			
T_3 1			

Anexo 3 (Continuación)

T_3 2			
T_4 1			
T_4 2			
T_5 1			

Anexo 4 (Continuación)

T_5 2			

Nota. Elaboración propia.

Anexo 5

Norma para la harina de trigo.

Factor/Descripción	Límite	Método de análisis
CENIZA	A gusto del comprador	Remítase a la Sección 9
ACIDEZ DE LA GRASA	MÁX.: 70 mg por 100 g de harina respecto a la materia seca expresada como ácido sulfúrico - o - Se necesitará no más de 50 mg de hidróxido de potasio para neutralizar los ácidos grasos libres en 100 gramos de harina, respecto a la materia seca	Remítase a la Sección 9
PROTEÍNA (5,7)	MÍN.: 7,0 % referido al peso del producto seco	Remítase a la Sección 9
SUSTANCIAS NUTRITIVAS i. vitaminas ii. minerales iii. aminoácidos	De conformidad con la legislación del país en que se vende el producto	No se ha definido ningún método
TAMAÑO DE LAS PARTÍCULAS (GRANULOSIDAD)	El 98 % o más de la harina deberá pasar a través de un tamiz (No. 70) de 212 micras	Remítase a la Sección 9

Nota. Tomada de Codex Alimentarius (1985).

Universidad Nacional de Ingeniería

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
UNI
RECINTO UNIVERSITARIO PEDRO ARÁUZ PALACIOS

MATRICULA ORDINARIA CURSO 2026 SEMESTRE 1

CÓDIGO DE ESTUDIANTE	6B710BA6		
NOMBRE	MONTERREY COREA YOANDY ANGELINA		
ÁREA/CUR	DIRECCIÓN DE ÁREA DE CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA		
CARRERA	Ingeniería Química		
TURNO	Diurno	**SEXO**	F
AÑO MATRICULADO	6	**GRUPO**	D1FCE-QUI-R
SIT. ESC	REINGRESO	**AÑO ING. EDUC. SUP**	2020

AÑO	GRUPO	ASIGNATURA
6	D1FCE-QU	FORMAS DE CULMINACION DE ESTUDIOS

LAS ASIGNATURAS MARCADAS CON (*) SON LLEVADAS POR TERCERA VEZ.
Para Consultar Informe de Calificaciones en https://singu.setec.edu.ni/

Correo:
Clave:

FECHA: 29/03/2026 06:44:09

Creado Por: 6B710BA6
Actualizado Por:

INICIO DE CLASES:
-- NUEVO INGRESO 2026:
--PRESENCIAL: LUNES 2 DE FEBRERO
--SABATINO: SÁBADO 31 DE ENERO
--DOMINICAL: DOMINGO 1 DE FEBRERO
--REINGRESO 2026:
-- CARRERAS DE CIENCIAS DE LA SALUD (II AÑO - VI AÑO): LUNES 26 DE ENERO.
--PRESENCIAL: 9 DE MARZO
--SABATINO: 7 DE MARZO
--DOMINICAL: 8 DE MARZO

Universidad Nacional de Ingeniería

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
UNI
RECINTO UNIVERSITARIO PEDRO ARÁUZ PALACIOS

MATRICULA ORDINARIA CURSO 2026 SEMESTRE 1

CÓDIGO DE ESTUDIANTE	6CA0EB86		
NOMBRE	TÉLLEZ BUSTOS GLADYS PAMELA		
ÁREA/CUR	DIRECCIÓN DE ÁREA DE CONOCIMIENTO DE AGRICULTURA		
CARRERA	Ingeniería Química		
TURNO	Diurno	**SEXO**	F
AÑO MATRICULADO	6	**GRUPO**	D1FCE-QUI-R
SIT. ESC	REINGRESO	**AÑO ING. EDUC. SUP**	2020

AÑO	GRUPO	ASIGNATURA
6	D1FCE-QU	FORMAS DE CULMINACION DE ESTUDIOS

LAS ASIGNATURAS MARCADAS CON (*) SON LLEVADAS POR TERCERA VEZ.
Para Consultar Informe de Calificaciones en https://singu.setec.edu.ni/

Correo:
Clave:

FECHA: 24/02/2026 04:50:23

Creado Por: 6CA0EB86
Actualizado Por:

INICIO DE CLASES:
-- NUEVO INGRESO 2026:
--PRESENCIAL: LUNES 2 DE FEBRERO
--SABATINO: SÁBADO 31 DE ENERO
--DOMINICAL: DOMINGO 1 DE FEBRERO
--REINGRESO 2026:
-- CARRERAS DE CIENCIAS DE LA SALUD (II AÑO - VI AÑO): LUNES 26 DE ENERO.
--PRESENCIAL: 9 DE MARZO
--SABATINO: 7 DE MARZO
--DOMINICAL: 8 DE MARZO