



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Extracción, purificación y evaluación de inulina proveniente de la jícama (*Smallanthus sonchifolius*) y fruto de tuna (*Opuntia ficus*) en tres especies de microorganismos *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii*, y *Bifidobacterium longum*.

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: José Hernán Velastegui Morales

Tutor: Ing. María Daniela Garcés Moncayo MsC

Ambato – Ecuador

Febrero - 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. María Daniela Garcés Moncayo, MsC.

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de Informe Final del Trabajo de Titulación, opción de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 15, de Enero, del 2024

Ing. María Daniela Garcés Moncayo, MsC.

C.I. 1803571585

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, José Hernán Velastegui Morales manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales, como auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



José Hernán Velastegui Morales

C.I. 1805333547

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación, o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando los derechos de autor.



José Hernán Velastegui Morales

C.I. 1805333547

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

PhD. William Ricardo Calero Cáceres

1714344885-9

PhD. Mario Daniel García Solís

110360547-1

Ambato, 7, de Febrero, del 2024

DEDICATORIA

A Dios por darme la fuerza y la valentía de seguir adelante, por siempre guiarme en mi camino y en mis decisiones cuando más lo necesitaba.

A mis padres Adriana Morales y Fredy Velastegui por haberme brindado todo su cariño y apoyo desde pequeño, por siempre incentivarme a terminar lo que se comienza sin importar lo difícil que sea.

A mis hermanos Nicole y Ariel por haber estado para mí cuando los necesite, y haberme alentado a seguir en este arduo camino. Esto es para ustedes, como prueba de que, si se quiere, se puede.

A mi querida esposa Dayana quien fue mi motor y mi compañera en estos años de estudio, me incentivo a seguir creciendo, tanto en lo académico como en lo laboral, este logro es gracias a ella.

A mi abuelito Neptalí Velastegui por haber compartido conmigo un momento especial en mi vida, donde me enseñó y me compartió muchos de sus hobbies, historias y sabiduría.

A mi única sobrina Isabella, por brindarme su amor y sus alegrías. Mi pequeña cuando sientas que ya no puedas más, es cuando más debes esforzarte, porque estas a punto de llegar a la meta. Tienes toda la capacidad para llegar lejos.

A Sandra López, Cesar Pérez quienes también estuvieron al pendiente de mis estudios y siempre me brindaron su apoyo en todo momento, al igual que Jhonattan por muchas veces brindarme sus conocimientos cuando recién estaba comenzando.

Y, por último, pero no menos importante, a mí yo del pasado y del futuro, quiero decirte que lo logramos, te demostraste a ti mismo que eres capaz de todo, sigue adelante y no dudes de ti mismo.

José Hernán Velastegui Morales

AGRADECIMIENTO

Primeramente, a Dios por siempre bendecirme y permitirme llegar hasta este momento de mi vida, con las personas que más amo que son mi familia, gracias, Dios por todo lo que me has brindado.

A mis padres quienes fueron capaces de amarme sin siquiera conocerme. A mi amado padre Fredy, quien ha sido mi ejemplo a seguir desde pequeño, y supo estar para mí en todo momento. A mi hermosa madre, quien con su genio, amor y paciencia ha sabido guiarme por el buen camino y heredarme sus conocimientos. A mi hermana Nicole por ser mi amiga y mi consejera. A mi hermano Ariel por siempre ayudar en todas las cosas que necesite y por ser mi amigo incondicional.

En especial a mi esposa, Dayana Pérez, quien desde el día que estuvimos junto me incentivo a seguir adelante. Además de todo el apoyo, la confianza y la alegría. Jamás dejaste de creer en mí, hasta en los momentos más difíciles, supimos seguir adelante sin importar lo difícil que fuera el camino. Llegaste en el momento justo a mi vida, tomaste mi mano para seguir este camino, que tanto anhelamos juntos. Te amo.

A la Universidad Técnica de Ambato por abrirme las puertas para alcanzar mi meta. A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, por brindarme la formación académica mediante sus docentes.

A mi tutora MsC. María Daniela Garces Moncayo, quien me guio de la manera más amable y comprometida a lo largo de la elaboración de este proyecto.

Al PhD. Orestes López, por su tiempo y su ayuda incondicional, en cualquier duda para enriquecer mis conocimientos.

A mis amigos desde el primer día, José, Erick, Brenda quienes hicieron mis momentos más alegres en la Universidad y con quienes formamos una amistad sincera. A mis amigos de pandemia, Taty, Grace, Kevin, con quienes compartí gratos momentos, donde también me brindaron todo su conocimiento y su ayuda, se merecen lo mejor.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN EJECUTIVO	xvi
ABSTRACT.....	xvii
CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Justificación.....	1
1.1.2. La Inulina	2
1.1.2.1. Principales características y beneficios de la inulina	3
1.1.3. Fuentes de la inulina.....	3
1.1.3.1. Características de la tuna.....	5
1.1.3.1.1. Composición química	5
1.1.3.1.2. Beneficios del consumo de tuna	5
1.1.3.2. Características de la jícama.....	6
1.1.3.2.1. Composición química	7
1.1.3.2.2. Beneficios del consumo de jícama	7
1.1.4. Aplicaciones de la inulina en la industria	8
1.1.4.1.1. Industria farmacéutica.....	8
1.1.4.1.2. Industria alimentaria.....	8
1.1.5. Métodos de extracción	9
1.1.5.1. Extracción sólido-líquido.....	9
1.1.5.2. Extracción por ultrasonido	10
1.2. Objetivos	11
1.2.1. Objetivo general	11

1.2.2. Objetivos específicos	11
CAPITULO II.- METODOLOGÍA	12
2.1. Materiales	12
2.1.1. Materiales de laboratorio.....	12
2.1.2. Equipos.....	12
2.1.3. Reactivos	13
2.2. Métodos	13
2.2.1. Obtención de muestras	13
2.2.2. Extracción de inulina.....	13
2.2.3. Extracción en placa calefactora y agitadora.....	14
2.2.4. Extracción asistida por ultrasonido	14
2.2.5. Métodos analíticos	15
2.2.5.1. pH.....	15
2.2.5.2. Extracto seco	15
2.2.5.3. Método de fenol-sulfúrico.....	15
2.2.5.4. Hidrólisis enzimática.....	15
2.2.5.5. Método Miller	15
2.2.5.6. Método del ácido bicinconínico (BCA) para determinación de proteína	16
2.2.6. Evaluación de extractos de inulina.....	16
2.2.6.1. Activación de bacterias	16
2.2.6.2. Preparación de medios	16
2.2.6.3. Reactivación de cepas	17
2.2.6.4. Diluciones	17
2.2.6.5. Siembra	17
2.2.6.6. Curva de crecimiento	17
2.2.7. Diseño experimental.....	18
2.2.7.1. Hipótesis.....	20
2.2.7.2. Variables	20
CAPITULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
3.1. Análisis y discusión de los resultados	21
3.1.1. Análisis físico-químicos de los extractos de inulina.....	21
3.1.1.1. Determinación de pH	21
3.1.1.2. Extracto seco	22
3.1.1.3. Método Fenol-sulfúrico.....	23

3.1.1.4.	Hidrolisis enzimática y método de Miller.....	24
3.1.1.5.	Cuantificación de proteínas.....	25
3.1.2.	Evaluación microbiológica de los extractos de inulina.....	26
3.1.2.1.	Cinética de crecimiento microbiano.....	30
3.2.	Verificación de hipótesis	33
CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		34
Conclusiones		34
Recomendaciones		35
MATERIA DE REFERENCIA.....		36
Referencias Bibliográficas.....		36
Anexos.....		42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de inulina en diferentes plantas	4
Tabla 2. Medidas de pH de extractos de inulina	21
Tabla 3. Porcentaje de solidos totales en los extractos	22
Tabla 4. Valores de carbohidratos totales	23
Tabla 5. Parámetros cualitativos de la hidrolisis enzimática	24
Tabla 6. Cuantificación de fructosa.....	25
Tabla 7. Cuantificación de proteínas en las muestras	26
Tabla 8. <i>Tasa específica de crecimiento y tiempo de generación</i>	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la inulina	2
Figura 2. Gráficos de interacciones y 95% de Tukey HSD	27

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. 1. Raíz de jícama	42
Anexo A. 2. Fruto de Tuna	42
Anexo B. 1. Molienda de material vegetal	42
Anexo B. 2. Eliminación de partículas grandes	42
Anexo B. 3. Tamizaje de las muestras vegetales	42
Anexo C. 1. Precalentamiento del Buffer a 80 °C por 10 min.	42
Anexo C. 2. Extracción de inulina por 60 min a 500 rpm	42
Anexo C. 3. Enfriamiento del extracto	42
Anexo C. 4. Centrifugación a 7000 rpm por 10 min	43
Anexo D. 1. Precalentamiento del Buffer a 60 °C por 10 min	43
Anexo D. 2. Extracción de inulina por 15 min	43
Anexo D. 3. Enfriamiento del extracto	43
Anexo D. 4. Centrifugación a 7000 rpm por 10 min	43
Anexo E. 1. Medición de pH de los extractos	44
Anexo F. 1. Extractos a 102 °C por 72 h	44
Anexo F. 2. Pesaje de crisoles	44
Anexo F. 3. Sólidos totales en los extractos	44
Anexo G. 1. Reacción del Método Fenol-Sulfúrico	44
Anexo G. 2. Colocación en micropocillos	44
Anexo G. 3. Medición a 480 nm	44
Anexo G. 4. Curva estándar de D-Fructosa de 10 - 100 µg/mL	45
Anexo G. 5. Concentración de Carbohidratos Totales en los extractos	45
Anexo H. 1. Extractos + enzima inulinasa	46
Anexo H. 2. Incubación a 50 °C por 24 h	46
Anexo H. 3. Inactivación de la enzima	46

Anexo I. 1. Reacción del método Miller.....	46
Anexo I. 2. Colocación en micropocillos	46
Anexo I. 3. Medición a 560 nm	46
Anexo I. 4. Curva estándar de D-fructosa de 0.5 – 5 mg/mL.....	46
Anexo I. 5. Concentración de azúcares reductores en los extractos	47
Anexo J. 1. Reacción del método BCA.....	47
Anexo J. 2. Colocación en micropocillos	47
Anexo J. 3. Medición a 562 nm.....	47
Anexo J. 4. Curva estándar de 200-1000 mg/mL.....	48
Anexo J. 5. Concentración de proteínas en los extractos	48
Anexo K. 1. Preparación de medio de cultivo	49
Anexo K. 2. Vertido en placa	49
Anexo L. 1. Reactivación de cepas e incubación por 12 h a 37 °C.....	49
Anexo M. 1. Diluciones seriadas de 10 ⁻¹ hasta 10 ⁻⁹	49
Anexo N. 1. Dispersión en placa	50
Anexo N. 2. Incubación a 37 °C por 72 horas	50
Anexo N. 3. Conteo en placa para <i>L. acidophilus</i>	50
Anexo N. 4. Conteo en placa para <i>B. longum</i>	56
Anexo N. 5. Conteo en placa para <i>S. boulardii</i>	61
Anexo O. 1. Inoculación de medios.....	66
Anexo O. 2. Incubación a 37 °C por 60 h.....	66
Anexo O. 3. Medición de DO a 630 nm de 0 a 60 h	66
Anexo O. 4. Curvas de crecimiento de <i>L. acidophilus</i> R1	67
Anexo O. 5. Curvas de crecimiento de <i>B. longum</i> R1	69
Anexo O. 6. Curvas de crecimiento de <i>S. boulardii</i> R1.....	71
Anexo O. 7. Curvas de crecimiento de <i>L. acidophilus</i> R2	73

Anexo O. 8. Curvas de crecimiento de <i>B. longum</i> R2	75
Anexo O. 9. Curvas de crecimiento de <i>S. boulardii</i> R2.....	77
Anexo O. 10. Curvas de crecimiento de <i>L. acidophilus</i> R3	79
Anexo O. 11. Curvas de crecimiento de <i>B. longum</i> R3	81
Anexo O. 12. Curvas de crecimiento de <i>S. boulardii</i> R3.....	83
Anexo O. 13. Curva estándar de McFarland	85
Anexo P. 1. Análisis de Varianza para N de colonias – Suma de Cuadrado Tipo III	85

RESUMEN EJECUTIVO

Actualmente la industrialización de alimentos es más refinada, generando productos con bajo valor nutricional. Provocando que el sistema inmune se debilite y aparezcan varias patologías gastrointestinales. Por lo que se recomienda incluir en la dieta fibras que sean solubles como la inulina. La jícama está compuesta por un 14 por ciento de carbohidratos y alrededor de un 40 a 70 por ciento de FOS. Mientras que la tuna tiene un 10 a 15 por ciento de carbohidratos entre los cuales resalta la inulina.

Este estudio se centró en la obtención de inulina a partir de la raíz de jícama y del fruto de tuna, con el fin de encontrar nuevas fuentes. Se aplicaron dos métodos de extracción, extracción sólido líquido el cual se basa en la trituración de la materia prima, seguido por la adición de buffer a temperaturas elevadas de 80 grados Celsius y la extracción por ultrasonido el cual consistió en la aplicación de ondas sonoras de alta frecuencia a una temperatura de 60 grados Celsius.

Se evaluó la influencia de la inulina proveniente de la tuna y la jícama en la velocidad de crecimiento y tiempo de generación de los microorganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii*, y *Bifidobacterium longum*. Siendo *Lactobacillus acidophilus* el que tuvo un menor tiempo de generación de 6.80 minutos con la inulina proveniente de la jícama con el método de extracción de ultrasonido. Se determinó que el mejor tratamiento es la jícama con el método de extracción de ultrasonido debido a sus factores de operación.

Palabras clave: Inulina, Jícama, Fructooligosacárido, Tuna, Biotecnología farmacéutica, Biotecnología alimentaria, Prebióticos, Cultivos andinos

ABSTRACT

Currently, food industrialization is more refined, generating products with low nutritional value. Causing the immune system to weaken and various gastrointestinal pathologies to appear. Therefore, it is recommended to include soluble fibers such as inulin in the diet. Jicama is made up of 14 percent carbohydrates and about 40 to 70 percent FOS. While prickly pear has 10 to 15 percent carbohydrates, among which inulin stands out.

This study focused on obtaining inulin from jicama root and prickly pear fruit, in order to find new sources. Two extraction methods were applied, solid-liquid extraction which is based on the crushing of the raw material, followed by the addition of buffer at elevated temperatures of 80 degrees Celsius and ultrasound extraction which consisted of the application of sound waves of high frequency at a temperature of 60 degrees Celsius.

The influence of inulin from prickly pear and jicama on the growth rate and generation time of the probiotic microorganisms *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii*, and *Bifidobacterium longum* was evaluated. *Lactobacillus acidophilus* was the one that had a shorter generation time of 6.80 minutes with inulin from jicama with the ultrasound extraction method. It was determined that the best treatment is jicama with the ultrasound extraction method due to its operating factors.

Keywords: Inulin, Jicama, fructooligosaccharide, prickly pear, pharmaceutical biotechnology, food biotechnology, prebiotics, andean crop

CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Justificación

Hoy en día la industrialización de los alimentos cada vez se centra en que sean más refinados, lo cual baja la cantidad de fibras naturales alimentarias. Provocando que el sistema inmune se debilite y aumente el porcentaje de varias patologías gastrointestinales, como el cáncer de colon (CC). Por lo que **Arango et al., (2008)** recomienda incluir en la dieta diaria fibras que sean solubles y no gelificantes como la inulina. Por esta razón en los últimos años se ha incrementado el estudio de dichos compuestos considerados prebiótico como la inulina, mismo que cuenta con propiedades nutraceuticas, además de ser un carbohidrato de reserva de energía se encuentra presente en algunas plantas, vegetales y frutas, como la jícama (*S. sonchifolius*) y el fruto de tuna (*O. ficus*) (**Rastall, 2010**).

La inulina, al tener un enlace glucosídico en configuración beta no es capaz de ser hidrolizada por la enzima α -amilasa presente en la saliva humana (**Roberfroid, 1998**). Debido a esto no es lo suficientemente digerida y absorbida por el intestino delgado, llegando hasta el intestino grueso y el colon (**Tochio et al., 2018**). Aquí es degradada por bacterias benéficas y al mismo tiempo, disminuye el crecimiento de aquellas bacterias que son perjudiciales para la salud, como *E. coli* del tipo enterohemorrágica del serotipo O157:H7. Ya que puede provocar diarreas sanguinolentas, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (**Hutkins et al., 2016; Jiang et al., 2021**).

El presente proyecto busca demostrar la eficacia de la inulina en el crecimiento de bacterias benéficas que se encuentran alojadas en el colon. Esta será extraída y se formaran cristales, permitiendo que los medios de cultivos a utilizar para las pruebas en bacterias benéficas del colon sean suplementados con dicho probiótico. Definiendo si la inulina estimula el crecimiento de especies bacterianas probióticas como

Lactobacillus acidophilus La-14, *Sacharomyces boulardii* I-3799 y *Bifidobacterium longum* BB536.

1.1.2. La Inulina

La inulina es un prebiótico conocido como fructooligosacárido (FOS), por lo cual son carbohidratos naturales compuestos por cadenas de unidades de fructosa, sintetizado por la sacarosa. Esta se encuentra presente en varios vegetales como carbohidrato desempeñando la función de reserva de energía (**Food and Drug Administration, 2018**).

Su estructura está formada mayormente por la unión de fructosil-fructosa β (2->1), (Figura 1) provocando que la inulina no sea digerible en el estómago como cualquier otro alimento (**Arango y col., 2008**). Sin embargo, puede ser asimilada por microorganismos probióticos como los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* y especies como *S. boulardii* (**Fiallos y col., 2017**).

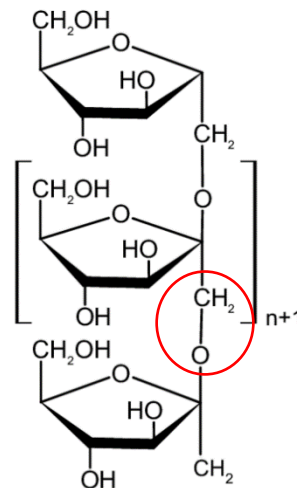


Figura 1. Estructura de la inulina

Fuente: (Ulloa, 2023)

Los prebióticos como la inulina pueden llegar a formar parte de alimentos funcionales, los cuales, al ser consumidos otorgan ciertos beneficios específicos que promueven un efecto fisiológico o psicológico **(Olagnero y col., 2007)**. Dentro de estos permite incrementar la biodisponibilidad de minerales, reforzar las funciones inmunológicas contra el cáncer; además de mejorar el metabolismo de grasas y la respuesta glicémica **(R. Hughes et al., 2022)**.

1.1.2.1.Principales características y beneficios de la inulina

La inulina puede ser de varios tipos, mismos que se diferencian por su grado de pureza. Por ejemplo, la inulina nativa contiene una elevada cantidad de azúcares libres: glucosa, sacarosa y fructosa, estas son las responsables de otorgar un sabor dulce y a su vez un mayor grado de solubilidad. Por otro lado, se encuentra la inulina con alto grado de pureza que presenta un menor grado de solubilidad y una escasa presencia de azúcares libres **(Madrigal, 2007)**.

La inulina funcional es una fibra dietética que cuenta con una creciente polaridad, por lo que contribuye con sustancias como antioxidantes, antitumorales, hepatoprotectoras, hipoglucemiantes, entre otras **(Du et al., 2023)**. Por su lado, la inulina de cadena larga (más pura) se ha evidenciado que permite cambiar la composición de la microbiota, incrementando el desarrollo de especies de *Bifidobacterium*, especialmente en personas de edad avanzada **(Kiewiet et al., 2021)**. De igual manera favorece en la disminución de la masa grasa, a pesar de que su degradación es más compleja en comparación con la inulina con fructosa **(Hiel et al., 2019)**.

1.1.3. Fuentes de la inulina

Se han estudiado algunos microorganismos productores de la enzima inulinasa, dentro de estos se encuentran algunas especies de *Aspergillus*, *Kluyveromyces*, *Penicillium* y *Pseudomonas* **(S. Hughes et al., 2017)** Sin embargo, la principal fuente de inulina es de origen vegetal, encontrándose alrededor de 36 000 especies que la conservan. Entre

estas se presentan varios grupos como las Liliacea: cebolla, esparrago, ajo; las agavaceae: agave, henequén y las Compositae: achicoria, pataca, yacón y por ultimo las Cactaceae: tuna, nopal, etc. (Benitez et al., 2015). En la Tabla 1 se muestra el porcentaje de inulina con el que cuentan algunas de estas especies.

Tabla 1. Contenido de inulina en diferentes plantas

Nombre científico	Nombre común	Fructano	%
<i>Cichorium intybus</i>	Achicoria	Inulina	16-20
<i>Helianthus tuberosus</i>	Topinambur	Inulina	15-20
<i>Dahlia spp</i>	Dahlia	Inulina	14
<i>Smallantus sonchifolius</i>	Yacón (Jícama)	Inulina	9-12
<i>Allium sativum</i>	Ajo	Inulina	9-11
<i>Opuntia ficus</i>	Tuna	Inulina	5-6
<i>Allium cepa</i>	Cebolla	Inulina	2-6
<i>Asparagus officinalis</i>	Esparrago	Inulina	2-3
<i>Triticum spp</i>	Trigo	Inulina	1-6
<i>Musa app</i>	Plátano	Inulina	0,3-0,7

Fuente: (Madriral, 2007)

Cabe destacar que la principal diferencia entre la inulina de origen vegetal y la de origen microbiano es el grado de polimerización (GP). Ya que el GP de la inulina de origen microbiano es superior al GP de la inulina de origen vegetal, siendo este el más favorable debido a su fácil aceptabilidad en el proceso de digestión (Álvarez, 2015). Tomando en cuenta esta característica se seleccionó a la jícama y a la tuna como una de las fuentes de inulina más conocidas en el Ecuador.

1.1.3.1. Características de la tuna

La tuna (*Opuntia ficus-indica*) es una fruta proveniente de América, es muy conocida por su fortaleza ante variantes ambientales y su crecimiento en suelos áridos y semiáridos. Pertenece a la familia de las *Cactaceae*, cuenta con una reserva de agua en su interior, la cual le permite dar origen al fruto de la tuna y el nopalito (**Pinango, 2019**).

El fruto de la tuna presenta distintas características, pueden ser aplanados, ramificados e incluso ovalados; el color de sus flores suele ser rojizo y el fruto cuenta con pequeñas espinas en su exterior. El interior del fruto cuenta con una masa carnosita comestible, misma que está compuesta por un pequeño tejido de celulosa, el cual con el paso de tiempo va adquiriendo rigidez. El color de este tejido puede ser verde oscuro, verde claro o hasta cenizo (**Benitez et al., 2015**).

1.1.3.1.1. Composición química

(**Vachhani et al., 2023**), menciona que la composición química puede ser variada incluso en plantas de la misma especie. En este estudio se reporta que la composición química de *O. ficus* es de 2,1% de ceniza en base húmeda, 0,22% de calcio, 0,027% de hierro, 1,07% de proteínas y tiene presencia de compuestos como cobalto, cobre, magnesio y fósforo.

Por otro lado (Ochoa & Guerra, 2013), comentan que la tuna está conformada por un 84-90% de agua, un 10-15% de carbohidratos entre los cuales resalta la inulina, sólidos solubles y azúcares como la glucosa y fructosa. Además, consta de varios compuestos bioactivos como las vitaminas C y E, polifenoles y taurina (**Manzur et al., 2022**).

1.1.3.1.2. Beneficios del consumo de tuna

Se ha reportado que el consumo de tuna ayuda a la proliferación de las plaquetas en el sistema sanguíneo, reduciendo también los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre. También es comúnmente utilizada en enfermedades cada vez más comunes

como la gastritis, diabetes, hiperglucemia y arterosclerosis (**Ochoa & Guerrero, 2013**). Se ha demostrado que la inulina presente en la tuna es un prebiótico el cual puede ser suministrado en alimentos comunes para la producción de alimentos funcionales. Estos, al ser consumidos bajan los niveles de azúcar en sangre y aportan a la absorción de calcio para prevenir la osteoporosis (**Benítez, 2015**).

De igual manera la elevada cantidad de inulina, como principal polifenol, reduce el riesgo de contraer cáncer, esto se debe a que combate a los diferentes radicales libres dañinos. Así mismo disminuye el estreñimiento y contribuye a la limpieza del colon, aliviando también malestares gastrointestinales (**Manzur et al., 2022**).

1.1.3.2. Características de la jícama

Al igual que la tuna, la jícama (*S. sonchifolius*) es una planta que pertenece a la familia de las *Asteraceae*. Comúnmente se la denomina yacón, aricoma y jícama, sus raíces pueden consumidas sin someterlas a cocción, mientras que sus hojas pueden ser usadas para infusiones (**Scher et al., 2015**).

La jícama es una planta que se cultiva en zonas que se encuentran en 1100 a 2500 m.s.n.m, por lo que la mayoría de los cultivos se encuentran en la zona de los Andes. Esto se debe a que requieren de una gran cantidad de agua, hasta 1000 mm anualmente, aunque es frágil a las heladas que se presentan en la zona tienen un alto potencial de brote y pueden alcanzar un tamaño de 0,7 a 2,5 m de altura. También cuenta con una producción de 2 a 3 kg de raíces aproximadamente, tiene una apariencia muy parecida al camote y sus raíces pueden ser cosechadas después de 6 o 9 meses de haberse sembrado, por lo que presenta un rendimiento de 20 a 40 t/ha aproximadamente (**Manrique et al., 2004**).

Las raíces de la jícama cosechadas presentan una cobertura lisa y de cascara delgada, en su interior se almacena una gran cantidad de agua como fuente de reserva. Cuentan

con un sabor dulce ya que contiene una gran cantidad de sólidos solubles, pero tienen un bajo valor energético. También contiene varios carbohidratos, de los cuales los más importantes son los FOS como la inulina (**Fenner Scher y col., 2015**).

La jícama, al ser un producto poco conocido en la sociedad, su consumo y producción son muy bajos. Las provincias del Ecuador más reconocidas por la producción de la jícama son: Loja, Azuay, Cañar y Bolívar, en donde se puede encontrar en un precio que va desde los 2 a 5 dólares por libra en los mercados (**Perez & Saucedo, 2020**).

1.1.3.2.1. Composición química

Las raíces de la jícama están compuestas en su mayoría por agua, un 14% de carbohidratos entre los cuales del 40 a 70% son FOS. Esta no contiene almidón como reserva de energía, en su lugar reserva energía en forma de FOS y otros carbohidratos como glucosa, fructosa y sacarosa. Sin embargo, estos valores pueden variar dependiendo de diversos factores en el proceso de cultivo. La presencia de proteínas y lípidos son bajos 2,2 a 4% y 0,12 a 0,42%, respectivamente. También contiene minerales como el potasio, el hierro y el magnesio, aunque este último se encuentra en bajas cantidades, además contiene compuestos antioxidantes como los polifenoles (**Scher et al., 2015**).

1.1.3.2.2. Beneficios del consumo de jícama

El consumo de la jícama es un coadyuvante para aquellas personas que sufren de diabetes o complicaciones digestivas, ya que cuenta con FOS que son fibras dietéticas que no pueden ser digeridos por el intestino delgado, pero son fermentados e hidrolizados por bacterias benéficas que se encuentran en el colon, bajando el nivel de colesterol y ayudando a la prevención de enfermedades como el cáncer. Otro de los beneficios es la disminución del peso corporal para personas que sufren de sobre peso con la ventaja de que no produce alteraciones gastrointestinales (**Bonet y col., 2010**).

1.1.4. Aplicaciones de la inulina en la industria

En los últimos años se ha estudiado los FOS con el fin de ser implementados en diferentes industrias como la alimentaria, química y farmacéutica. Los FOS pueden estar presentes en algunos alimentos o a su vez pueden ser añadidos en productos procesados lo cual los convierte en alimentos funcionales (**Álvarez y col., 2015**).

1.1.4.1.1. Industria farmacéutica

La aplicación que tiene la inulina en la industria farmacéutica es la de ralentizar la absorción de diferentes drogas en el cuerpo humano, al mismo tiempo que mitiga los efectos de estas sustancias. También se ha utilizado junto con tratamientos que se aplican en las primeras etapas del cáncer de colón (**Wang et al., 2021**). Por otro lado, la inulina puede contribuir con la disolución de fármacos poco solubles que están destinados a los tratamientos de enfermedades pulmonares y de colon. Así mismo, disminuye la toxicidad de ciertos fármacos y mejora la función terapéutica (**Afinjuomo et al., 2021**).

Otro de los efectos positivos que tiene la inulina es la buena absorción que brinda a los minerales como el Ca^{2+} y Mg^{2+} . La absorción de estos minerales en el cuerpo humano se da en la adolescencia y para optimizarla se debería consumir un estimado de 8 g de inulina diarios. Esto con la finalidad de disminuir la baja tolerancia a azúcares como la lactosa e incentivando el crecimiento de microorganismos presentes en la microbiota intestinal del colon (**Fuentes Campos y col., 2013**).

1.1.4.1.2. Industria alimentaria

La inulina en la industria alimentaria es usualmente utilizada como endulzante capaz de sustituir edulcorantes y grasas, gracias a la baja cantidad de calorías y al alto contenido de fibra que tiene (**Zambrano, 2014**). En la industria láctea es generalmente utilizado en la elaboración del yogurt, ya que mejora la viscosidad y disminuye la cantidad de sólidos grasos que el producto generalmente contiene. En la industria de cárnicos la inulina permite reemplazar a la grasa en un 37% en productos como

salchicha y mortadelas optimizando la textura y elevando la calidad de dichos productos (Scher, et al, 2015).

Así mismo la inulina influye significativamente en varios de los atributos sensoriales de los productos, alterando algunas propiedades nutricionales. Dependiendo del método de extracción, debido a que este interviene directamente en el grado de pureza y estructura molecular de la inulina. Lo que a su vez implica en su eficacia y respuesta en el organismo, por lo que es necesario seleccionar el método de extracción ideal en dependencia del uso de la inulina (Abed et al., 2016).

1.1.5. Métodos de extracción

La inulina, en su gran mayoría se obtiene de plantas como la achicoria y la alcachofa, jícama y tuna ya que presentan un gran rendimiento que les permite ser ampliamente utilizadas a nivel industrial. Tanto la metodología como los equipos necesarios para la extracción de este carbohidrato son similares a la industria azucarera, lo cual consiste en reducir el tamaño de la materia prima y posteriormente su respectiva extracción. Sin embargo, existen dos métodos que son los más utilizados: extracción sólido-líquido y extracción por baño de ultrasonido (Lingyun et al., 2007).

1.1.5.1.Extracción sólido-líquido

Los métodos para la extracción de inulina de las especies vegetales se basan inicialmente en la trituración de la materia prima, seguido por la adición de agua o buffer a temperaturas elevadas con la finalidad de extraer la inulina del material vegetal (Benítez, 2015). La extracción sólido líquido se utiliza en diversas industrias, en la industria farmacéutica se usa para extraer compuestos de las hojas y plantas para la formulación de fármacos.

El principio de este método se basa en la penetración del disolvente en la materia sólida, de esta manera lograr extraer los compuestos que se quedan en la superficie

junto con el disolvente. Para ello se realiza la reducción del tamaño del sólido, destruyendo el tejido y aumentando la superficie de contacto con el agua, los componentes en la mezcla pasan a una etapa de purificación y refinado (**Arango, 2008**).

1.1.5.2.Extracción por ultrasonido

En la actualidad se han realizado estudios para la extracción de tejidos vegetales, por ultrasonido que consiste en la aplicación de ondas sonoras de alta frecuencia. Este método es sugerido porque permite romper las paredes celulares de los vegetales, gracias a la cavitación que se genera en el proceso (**Forouzesht et al., 2019**). El fenómeno ocurre cuando las ondas sonoras llegan al recipiente que contiene la muestra, generando pequeñas burbujas de vapor, las cuales posteriormente colapsan provocando fuerzas mecánicas, dando como resultado el cizallamiento de las células, mejorando el rendimiento de extracción (**Lingyun, 2007**).

1.2.Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Estudiar la extracción, purificación y evaluación de extractos de inulina proveniente de la raíz de jícama (*S. sonchifolius*) y fruto de tuna (*O. ficus*) en tres especies de microorganismos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Extraer inulina proveniente de la raíz de jícama (*S. sonchifolius*) y fruto de tuna (*O. ficus*) mediante la técnica de extracción sólido-líquido.
- Analizar el extracto de inulina obtenido de la raíz de jícama (*S. sonchifolius*) y fruto de tuna (*O. ficus*) mediante métodos analíticos.
- Evaluar el efecto prebiótico de los extractos de inulina en microorganismos probióticos como *L. acidhopilus* La-14, *S. boulardii* I-3799 y *B. longum* BB536.

CAPITULO II.- METODOLOGÍA

2.1.Materiales

A continuación, se detallan los materiales que se utilizaron en la presente investigación (material de laboratorio, reactivos y equipos).

2.1.1. Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitación 500 mL y 50 mL
- Matraces Erlenmeyer 250 mL
- Espátula
- Tubos de ensayo 1 mL
- Tubos de centrifuga 300 mL
- Papel aluminio
- Crisoles
- Papel filtro
- Cajas Petri

2.1.2. Equipos

- Balanza analítica
- Estufa
- Potenciómetro
- Baño María
- Licuadora
- Bomba de filtrado al vacío
- Refrigerador
- Espectrofotómetro
- Autoclave
- Incubadora
- Cabina de flujo laminar
- Placa calefactora y agitadora
- Centrifuga
- Baño de ultrasonido

2.1.3. Reactivos

- Medio caldo YPD
- Medio MRS
- Medio PDA
- Medio caldo MRS
- *Lactobacillus acidophilus* La-14
- *Saccharomyces boulardii* I-3799
- *Bifidobacterium longum* BB536
- Jícama
- Tuna
- Buffer fosfato (0,05 M) pH: 7
- Hielo
- Enzima inulinasa
- Fenol 2 %
- Agua peptonada
- D-Fructosa 98.5 %
- Ácido sulfúrico 95-97 % (H₂SO₄)

2.2. Métodos

2.2.1. Obtención de muestras

Las muestras de jícama y fruto de tuna fueron adquiridas por medio de la empresa Corporación Favorita C.A, cuya matriz se encuentra ubicada en la ciudad de Quito. Se limpiaron las muestras retirando las espinas que contiene la fruta de tuna, y se lavó en conjunto con la jícama hasta eliminar todas las partículas de tierra que contenían. Posteriormente las muestras fueron peladas y colocadas en refrigeración (**Perez & Saucedo, 2020**).

2.2.2. Extracción de inulina

Las muestras fueron molidas en una licuadora (Osterizer) por un tiempo de 3 min, luego se tamizaron con el fin de seleccionar las partículas de un tamaño inferior a 500 µm (**Fragoso, 2017**).

2.2.3. Extracción en placa calefactora y agitadora

Se realizó la extracción de inulina en buffer fosfato (0,05 M, pH 6,5) con una concentración de sólidos (50 mg/mL, p/v). El buffer se mantuvo a 80 °C en una placa calefactora y con agitación (IKA) durante 10 min. Se añadió la muestra hasta tener una concentración de 50 mg/mL (p/v). Y la extracción se realizó por un tiempo de 60 min con agitación a 500 rpm (**Fragoso, 2017**).

La inulina extraída se dejó enfriar en agua – hielo, posteriormente se centrifugó a 7000 rpm por 10 min en la centrifuga Hermle (Z 326 K). A continuación se recolectó el sobrenadante, mismo que fue útil para los siguientes análisis físico-químicos: pH, extracto seco, método del ácido bicinconínico (BCA) para determinación de proteína, método de fenol – ácido sulfúrico para la determinación de carbohidratos totales y método de Miller para azúcares reductores (**Fragoso, 2017**).

2.2.4. Extracción asistida por ultrasonido

La extracción por US se realizó por medio de un baño a una frecuencia de 45 KHz, con una densidad de frecuencia de 0,04 W/cm³ a una temperatura de 60 ± 1 °C. Posteriormente se precalentó el buffer fosfato a una temperatura de 60 °C durante 10 min, en el cual se añadió a la muestra y se dejó en US durante 15 min a 60 °C, manteniendo un control de temperatura constante (**Gamboa et al., 2012**).

Luego la inulina que se extrajo se sometió al mismo procedimiento del punto 2.2.3, donde se dejó enfriar a la inulina en agua – hielo y se centrifugó a 7000 rpm por 10 min. Finalmente se recolectó el sobrenadante, el cual sirvió para llevar a cabo los análisis físico – químicos mencionados anteriormente.

2.2.5. Métodos analíticos

2.2.5.1.pH

Se midió el pH de los extractos con ayuda de un pH-metro (Hanna) equipado con un electrodo (Fragoso, 2017).

2.2.5.2.Extracto seco

Se pesaron 500 ± 5 mg de las dos muestras en una balanza analítica (Scientech), después se llevaron a una estufa (Mettler) a 102°C por 3 días hasta alcanzar un peso constante (Fragoso, 2017). Este proceso se realizó por duplicado.

2.2.5.3.Método de fenol-sulfúrico

Se realizó una dilución de las muestras 1:30 y se tomó 0,2 mL de muestra a la cual se añadió 0,4 mL de fenol al 2% de agua y se añadió lentamente 1 mL de H_2SO_4 concentrado. Luego se enfrió por 30 min y se colocó en una placa multipocillos y con ayuda del espectrofotómetro (Thermo scientific) se midió la absorbancia a 480 nm (Chow & Landhäusser, 2004). La cuantificación se realizó construyendo una recta de calibrado con fructosa a concentraciones que se encuentren entre 10 – 100 $\mu\text{g/mL}$ (Chow & Landhäusser, 2004).

2.2.5.4. Hidrólisis enzimática

A 1 mL de los extractos de jícama y tuna se añadió 50 μL de la enzima inulinasa (NS-22013), posteriormente se colocó en una incubadora (Mettler) a 50°C durante 24 h. Finalmente se inactivó la enzima en agua a ebullición por un tiempo de 5 min (Fragoso, 2017).

2.2.5.5.Método Miller

Para el análisis con el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) se tomó 100 μL de la reacción enzimática, a la cual se le añadieron 100 μL del reactivo DNS y se agitó en vortex. A continuación, se colocaron los tubos de ensayo que contenían la reacción y el reactivo

durante 5 min en agua en ebullición hasta notar un cambio de color de amarillo a rojo, mismo que indica la presencia de azúcares reductores.

Luego se enfrió la reacción en agua-hielo y se añadió 750 µL de agua con la finalidad de evitar interferencia en las muestras turbias. Finalmente se colocaron 300 µL de muestra en la placa multipocillos y se llevó al espectrofotómetro (Thermo scientific), dónde se midió la absorbancia a 560 nm. Este ensayo se llevó a cabo por triplicado.

2.2.5.6. Método del ácido bicinónico (BCA) para determinación de proteína

Para el ensayo de proteína de ácido bicinónico (BCA) se realizaron diluciones de 1/10 y 1/30 de las muestras, se tomó 0,1 mL de cada dilución y se añadieron 2 mL del reactivo BCA. Posteriormente se homogeneizaron con la ayuda de un vórtex y se incubaron a 60 °C por 15 min. Luego se dejó enfriar a temperatura ambiente y se midió la absorbancia de la solución a 562 nm. Se analizaron los datos obtenidos de las dos diluciones realizadas, basándose en la curva de calibración con un rango de 200 mg/mL hasta 1000 mg/mL (**Brown et al., 1989**).

2.2.6. Evaluación de extractos de inulina

2.2.6.1. Activación de bacterias

Las bacterias fueron reactivadas en medio Man-Rogosa-Sharpe (MRS) para *L. acidophilus* La-14 y *B. longum* BB536, mientras que se utilizó caldo de extracto de levadura de peptona y dextrosa (YPD) para *S. boulardii* I-3799 (**Ayala et al., 2018**).

2.2.6.2. Preparación de medios

El medio de cultivo MRS, PDA y caldo YPD se suplementaron con inulina de jícama y tuna a una relación de (20 g/L, 2% p/v). Se ajustó el pH a 6,5 y se esterilizaron en autoclave (Trident) por 15 min a 121 °C (**Ayala et al., 2018**).

2.2.6.3.Reactivación de cepas

Se inocularon 1,3 mL de cada cultivo de bacterias en tubos de 15 mL con 11,7 mL del medio de cultivo (relación 1/10) posteriormente se incubó por 12 h a 37 °C (**Ayala et al., 2018**).

2.2.6.4.Diluciones

Se tomó una alícuota de 1 mL de cada una de las bacterias y se realizaron diluciones seriadas de 10^{-1} hasta 10^{-9} en tubos que contenían 9 mL de agua peptonada (8,5%) (**Ayala et al., 2018**).

2.2.6.5.Siembra

Se realizó la siembra de cada dilución por dispersión en placa con cajas Petri desechables, las cuales contenían medio Man-Rogosa-Sharpe (MRS) para *L. acidophilus* La-14 y *B. longum* BB536, y Potato Dextrosa Agar (PDA) para *S. boulardii* I-3799. Se incubó a 37 °C por 72 h y se estimó la concentración bacteriana por medio de UFC (**Ayala et al., 2018**).

2.2.6.6.Curva de crecimiento

Se agregaron 12 mL de las cepas reactivadas con una concentración inicial conocida de 1.5×10^8 según la escala McFarland, en matraces Erlenmeyer (125 mL) con 108 mL de caldo Man-Rogosa-Sharpe (MRS) para *L. acidophilus* La-14 y *B. longum* BB536, y caldo de extracto de levadura, peptona y dextrosa (YPD) para *S. boulardii* I-3799, se incubó a 37 °C por 60 h (**Gómez, 2017**).

Se tomaron alícuotas de 3 mL de los cultivos de cada tratamiento, posteriormente se realizó la lectura de densidad óptica a 630 nm al tiempo de 0, 3, 6, 12, 24, 30, 36, 48, 54, y 60 h con ayuda de un espectrofotómetro, de igual manera se utiliza una curva

estándar de Mcfarland (Anexo O 13) para determinar el UFC/mL en los tratamientos. (Ayala et al., 2018).

Por medio de la densidad óptica (DO) en la fase exponencial se realizó el cálculo de 1) tasa específica de crecimiento (μ , h^{-1}) y 2) tiempo de generación (T, min), por medio de la siguiente ecuación (Ayala et al., 2018).

$$1) \ln N = \ln N_0 + \mu t$$

$$2) t = \ln 2 / \mu$$

Donde:

Ln N= DO al inicio

lnN₀= DO final de la fase exponencial

t= tiempo transcurrido entre N_0 y N

2.2.7. Diseño experimental

Se utilizó el diseño factorial AxBxC con dos niveles en la variable A de fuente de extracción de inulina (A0: jícama y A1: fruto de tuna), en la variable B método de extracción con dos niveles (B0: plancha calefactora y B1: mediante ultrasonido) y tres niveles en la variable C, probiótico (C0: *L. acidophilus* La-14, C1: *S. boulardii* I-3799, C2: *B. longum* BB536). Este diseño factorial permitió evidenciar la eficiencia de la inulina extraída.

Los tratamientos fueron los siguientes:

A0B0C0: fuente de extracción de inulina jícama, extracción por plancha de calentamiento, probiótico *L. acidophilus* La-14

A0B0C1: fuente de extracción de inulina jícama, extracción por plancha de calentamiento, probiótico *S. boulardii* I-3799

A0B0C2: fuente de extracción de inulina jícama, extracción por plancha de calentamiento, probiótico *B. longum* BB536

A0B1C0: fuente de extracción de inulina jícama, extracción por mediante ultrasonido, probiótico *L. acidophilus* La-14

A0B1C1: fuente de extracción de inulina jícama, extracción por mediante ultrasonido, probiótico *S. boulardii* I-3799

A0B1C2: fuente de extracción de inulina jícama, extracción por mediante ultrasonido, probiótico *B. longum* BB536

A1B0C0: fuente de extracción de inulina fruto de tuna, extracción por plancha de calentamiento, probiótico *L. acidophilus* La-14

A1B0C1: fuente de extracción de inulina fruto de tuna, extracción por plancha de calentamiento, probiótico *S. boulardii* I-3799

A1B0C2: fuente de extracción de inulina fruto de tuna, extracción por plancha de calentamiento, probiótico *B. longum* BB536

A1B1C0: fuente de extracción de inulina fruto de tuna, extracción ultrasonido, probiótico *L. acidophilus* La-14

A1B1C1: fuente de extracción de inulina fruto de tuna, extracción ultrasonido, probiótico *S. boulardii* I-3799

A1B1C2: fuente de extracción de inulina fruto de tuna, extracción ultrasonido, probiótico *B. longum* BB536

Los tratamientos se realizarán por triplicado y con un control de medio de cultivo sin inulina. Por otro lado, la fórmula para este diseño factorial será la siguiente:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

y_{ijkl} = Observación de la variable respuesta

μ = Media general

A_i = Efecto del i-esimo nivel factor A

B_j = Efecto del j-esimo nivel del factor B

C_k = Efecto del k-esimo nivel del factor C

AB_{ij} = Efecto de la interacción del i-esimo nivel del factor A y el j-esimo nivel del factor B en su repetición l.

BC_{jk} = Efecto de la interacción del i-esimo nivel del factor B y el j-esimo nivel del factor C en su repetición l.

ABC_{ijk} = Efecto de la interacción triple en su repetición l.

ε_{ijk} = Error

2.2.7.1.Hipótesis

- **Hipótesis nula**

Ho: La suplementación de los medios de cultivo específicos para cada microorganismo con Inulina no ayuda a la multiplicación celular.

- **Hipótesis alternativa**

Ha: La suplementación de los medios de cultivo específicos para cada microorganismo con Inulina ayuda a la multiplicación celular

2.2.7.2.Variables

- **Independiente**

- ✓ Concentración de inulina

- **Dependiente**

- ✓ Método de extracción

- ✓ Material vegetal utilizado

- ✓ Densidad celular

CAPITULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Análisis físico-químicos de los extractos de inulina

3.1.1.1. Determinación de pH

La jícama cuenta con un pH natural que se encuentra en el rango de 6,5 a 7,5, siendo ligeramente neutro; mientras que la tuna cuenta con un pH de 5,5 a 6,5 tendiendo a un medio más ácido. Sin embargo, estos valores pueden cambiar según la variedad de la planta y los factores ambientales como: el sol, la cantidad de agua y la altura en las que fueron cultivadas (Coronado & Salazar, 2017). A continuación, en la Tabla 2 se muestran los valores de pH obtenidos posterior al proceso de extracción de inulina de las frutas de tuna y jícama.

Tabla 2. Medidas de pH de extractos de inulina

pH	Muestras			
	Tuna (PC)	Tuna (US)	Jícama (PC)	Jícama (US)
	6.98±0.01	6.95±0,12	6.98±0.23	7.06±0.04

Con la finalidad de evitar la degradación de la inulina obtenida de las diferentes frutas (Fragoso, 2017), se recomienda emplear un buffer fosfato de pH 7 como solución de extracción. De este modo el valor de pH obtenido es mayor a 5, evitando que la inulina pueda ser degradada. Sin embargo, cuando se encuentra en un medio con pH inferior a 5 ocurre la degradación de la inulina afectando al enlace beta 2-1, eliminando la capacidad de generar enlaces glucosídicos e interactuar con otros componentes (Glibowski & Biaduñ, 2021).

3.1.1.2.Extracto seco

La tuna es una fruta que se encuentra constituida en su mayoría por agua, del 85 al 90%, además de proteínas y minerales como calcio y hierro que corresponden al 3,73%, aproximadamente. Mientras que, el 15% restante corresponde a sólidos totales en los cuales se encuentran varios carbohidratos, donde se destaca la inulina (Ochoa, 2013). En el caso de la jícama, esta se encuentra constituida por un 90 % de agua, el contenido de carbohidratos es del 40 a 70 %, donde un gran porcentaje es inulina (Bonet et al., 2010). En la presente investigación se obtuvo un porcentaje bajo de sólidos totales tanto para la tuna como para la jícama, mismos que se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. *Porcentaje de solidos totales en los extractos*

Muestras	Peso inicial	Peso final	Porcentaje %
Tuna PC	500 mg	14 mg	2.8 %
Tuna US	500 mg	15.3 mg	3 %
Jícama PC	500 mg	11 mg	2.2 %
Jícama US	500 mg	18.2 mg	3.64 %

Dentro de los valores obtenidos por los diferentes métodos de extracción se puede observar que el mayor porcentaje de sólidos totales pertenece al extracto de jícama mediante el método de US. Por lo tanto, se entiende que exista mayor cantidad de carbohidratos en dicho material vegetal. Lo cual se corrobora en un estudio realizado por (Lingyun et al., 2007) en dónde se obtuvo un extracto de inulina, mismo que contenía un porcentaje de 4,2% de sólidos totales tomando en cuenta que las condiciones operacionales del ultrasonido son similares a las utilizadas en la presente investigación, es decir 65 °C, 42 KHz y 10 min.

Según (Ochoa & Guerra, 2013) la tuna cuenta con un 15% de sólidos totales en 1 kg de pulpa, lo cual explica en este estudio que se alcance tan solo 3% de sólidos totales, aproximadamente, en 500 mg extracto de inulina, sin tomar en cuenta el método de

extracción utilizado. De igual manera ocurre en un estudio realizado por (Vachhani et al., 2023) dónde se obtuvo un 2% de sólidos totales, aproximadamente en una muestra de 300 mg. Tomando en cuenta que la parte del material vegetal procesado fue la pulpa y, por ende, no se requiere de un método más específico ni de estrictas condiciones de extracción para la obtención de inulina.

3.1.1.3. Método Fenol-sulfúrico

Se realizó la cuantificación de carbohidratos totales mediante el método Fenol-sulfúrico con la finalidad de determinar la presencia de azúcares libres (glucosa, fructosa, sacarosa) en la inulina nativa extraída de la jícama y la tuna. En la Tabla 4 se muestran los valores obtenidos de carbohidratos totales para las diferentes frutas según el método de extracción.

Tabla 4. Valores de carbohidratos totales

Muestras		Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Control		15,58
Jícama	US	52,54
	PC	46,20
Tuna	US	45,47
	PC	46,25

Nota: US: extracción por ultrasonido. PC: Extracción con Solido liquido con plancha de calentamiento.

En la Tabla 4 se identifica la concentración de carbohidratos totales tanto para la inulina proveniente de la jícama como de la tuna, en donde se destaca el extracto de jícama obtenido por US con un valor de 52.54 $\mu\text{g}/\text{mL}$, debido a que cuenta con una mayor concentración de carbohidratos con respecto a la concentración obtenida con la tuna como material vegetal, como se observa en la curva estándar de D-Fructosa que va de 10-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Anexo G.4). Esto indica que el extracto de jícama tiende a presentar mayor concentración de inulina, ya que (Salvador, 2012) menciona que esta

fruta cuenta con un 40 a 70 %, de carbohidratos. Mientras que para la tuna se presenta del 9 al 10% de carbohidratos del peso de su pulpa (Ochoa & Guerra, 2013).

3.1.1.4. Hidrolisis enzimática y método de Miller

La hidrolisis enzimática se realizó para degradar la inulina en unidades de fructosa y posteriormente aplicar el método Miller para cuantificar la fructosa presente en los extractos de inulina. Para esto primero se realizó una prueba cualitativa de la hidrolisis enzimática es decir evaluando la presencia de turbidez, precipitado y cambio de color de los extractos de plancha de calentamiento (PC) y baño de ultrasonido (US), los resultados se muestran en la Tabla 5, en donde se evidenció que no existe turbidez en las muestras de jícama.

Tabla 5. *Parámetros cualitativos de la hidrolisis enzimática*

Muestras	Cambio de color	Precipitado	Turbidez
Inulina comercial	No	Si	Si
Tuna PC	Si	Si	Si
Tuna US	Si	Si	Si
Jícama PC	Si	Si	No
Jícama US	Si	Si	No

Como se muestra en la Tabla 5 los cambios de color tanto para la tuna como para la jícama son evidentes en relación con la inulina comercial la cual se tomó como control, pasando de verde oscuro a verde claro y de amarillo intenso a crema, respectivamente. Por otro lado, los diferentes ensayos mostraron precipitado y turbidez, lo cual indica que existió desnaturalización de la enzima inulinasa. Es decir, se llevó a cabo la ruptura del enlace β 2-1 de la estructura de la inulina (Naidoo et al., 2015). Con respecto al control positivo, el cual fue de inulina comercial de achicoria, se observó que no presenta un cambio de color ya que es incolora debido a su alta pureza. Sin embargo, si presenta precipitado y turbidez, factores que indican la hidrólisis de la enzima inulinasa (Milek, 2022).

Posteriormente se realizó el análisis cuantitativo de la presencia de azúcares reductores por medio del método de Miller para esto se realizó una curva de fructosa dentro de un rango de 0,5 a 5 mg/mL (Anexo I.4). Los valores obtenidos más altos fueron de los tratamientos de jícama US con 2,088 mg/mL y tuna US con 1,706 mg/mL, respectivamente como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. *Cuantificación de fructosa*

Tratamientos		Concentración (mg/mL)
Control	Inulina comercial	2.873
Jícama	US	2.088
	PC	1.685
Tuna	US	1.706
	PC	1.490

Estos valores son muy cercanos al control positivo (inulina comercial de achicoria), con un valor de 2,873 $\mu\text{g/mL}$. Por lo tanto, al utilizar la enzima comercial exoinulinasa esta hidrolizó los enlace β 2-1 de la inulina dando como producto fructosa y glucosa y por lo tanto evidenciando un cambio de color, precipitación y turbidez en los extractos de inulina (Calderón, 2010). Por lo que el extracto de jícama obtenida por ultrasonido dio un valor de azúcares reductores de 2.088 $\mu\text{g/mL}$ bastante próximo a la inulina comercial lo que indica que es el que mayor cantidad de inulina contiene (Corrado et al., 2021) mientras que el valor más bajo fue de 1,490 mg/mL de la muestra de tuna por el método de PC.

3.1.1.5. Cuantificación de proteínas

El método del ácido bicinonínico es uno de los métodos más eficaces para la cuantificación de proteínas gracias a su baja probabilidad de ser afectado por residuos de compuestos en la muestra a analizar (Cortés et al., 2020). La jícama y la tuna son

material vegetal que no cuentan con una gran cantidad de proteínas, (**Huaman & Julca, 2022**), indica que el contenido de proteína en 1 kg de jícama es de aproximadamente de 2,7 g. Por lo tanto, los valores obtenidos en todos los tratamientos se encuentran dentro del rango de la curva estándar que va de 200 a 1000 mg/mL (Anexo J.4), destacando el tratamiento de jícama con baño de ultrasonido, en el cual se obtuvo un valor de 236,41 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 7).

Con lo que respecta a la tuna (**Abbas et al., 2022**) menciona que en 1 kg de su pulpa existe aproximadamente 3 g de proteína, lo cual justifica que en la presente investigación se haya alcanzado un máximo de 216,25 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 7) en 345 g de muestra empleando el tratamiento de baño de ultrasonido.

Tabla 7. *Cuantificación de proteínas en las muestras*

Tratamientos		Concentración ($\mu\text{g/mL}$)
Control	Negativo	154,16
Jícama	US	236,41
	PC	231,25
Tuna	US	216,25
	PC	171,91

3.1.2. Evaluación microbiológica de los extractos de inulina

Se realizó un análisis microbiológico con la finalidad de determinar cuál es el material vegetal y el método de extracción que aporta una mayor cantidad de inulina y, por ende, permita un mayor crecimiento de los 3 microorganismos probióticos evaluados. En el (Anexo P.1) se muestra el Análisis de Varianza para el factor respuesta (Número de colonias) de los 3 microorganismos, donde se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes probióticos. Además, se realizó un análisis de varianza donde se estableció que existe una influencia estadísticamente significativa entre interacciones de los tres factores (materia vegetal, probióticos y método de extracción). Con un valor p menor a 0,05.

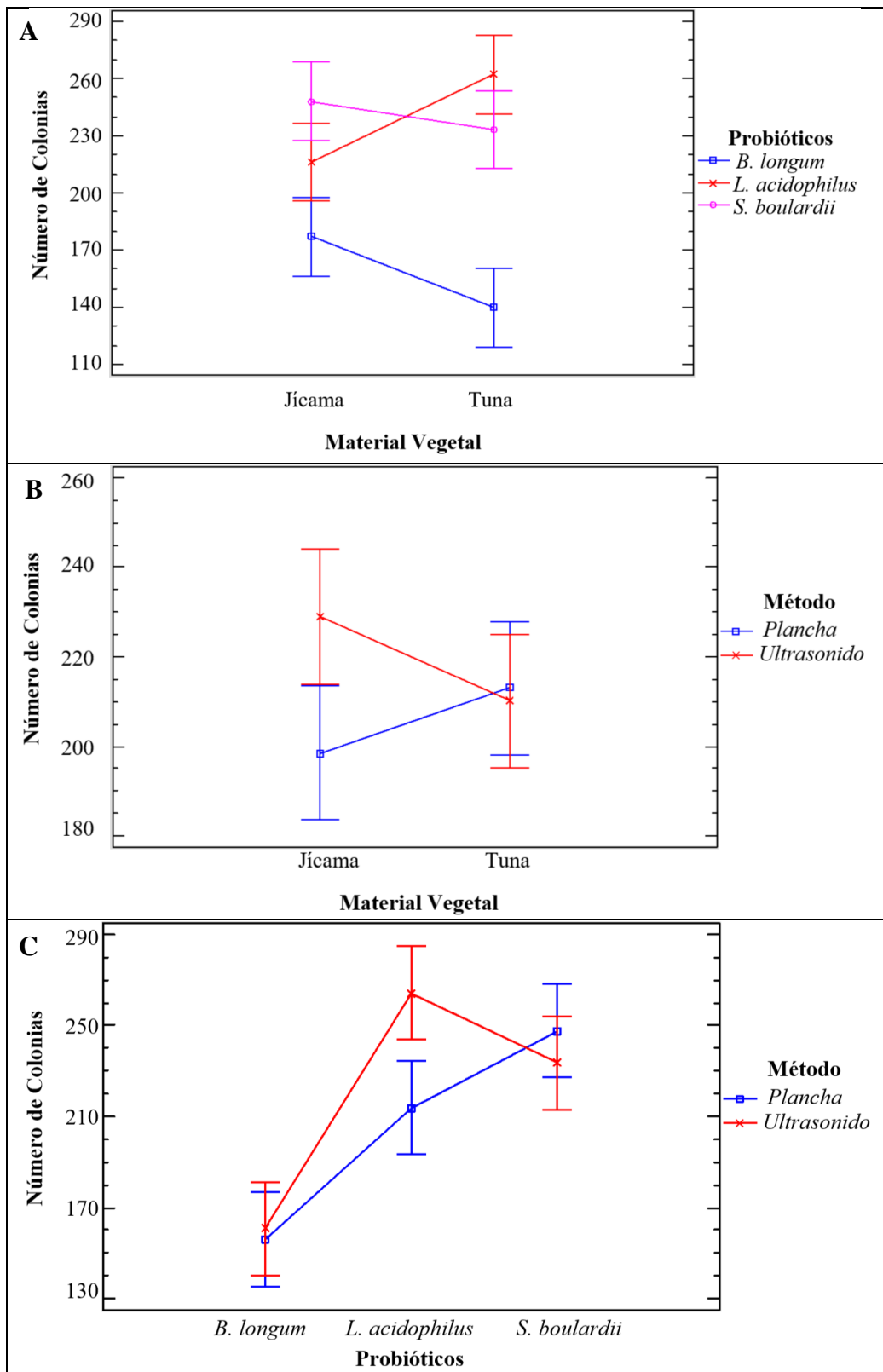


Figura 2. Gráficos de interacciones y 95% de Tukey HSD

A. Interacción de probióticos con material vegetal, dónde existe una diferencia estadísticamente significativa entre el Número de colonias obtenidas de *B. longum* y *S. boulardii* con el extracto de inulina de jícama y entre el Número de colonias obtenidas de *B. longum*, *L. acidophilus* y *S. boulardii* con el extracto de inulina de tuna. **B.** Interacción de métodos con material vegetal, dónde existe una diferencia estadísticamente significativa entre el Número de colonias obtenidas con el extracto de inulina de jícama y los métodos de extracción. **C.** Interacción de métodos con probióticos, dónde existe una diferencia estadísticamente significativa entre el Número de colonias obtenidas de *L. acidophilus* y los dos métodos de extracción.

En el apartado A se muestra que existe un mayor número de colonias de *S. boulardii* y *B. longum* con el extracto de inulina de la jícama en comparación con la tuna, en el caso de *L. acidophilus* ocurrió lo contrario, el número de colonias fue mayor en el extracto de tuna con relación al extracto de jícama. Esto se debe a las diferentes características metabólicas de los probióticos utilizados, en este sentido, *L. acidophilus*, al ser un aerobio facultativo tiende a desarrollarse de mejor manera en cualquier tipo de ambiente aprovechando todos los nutrientes (**Chamberlain et al., 2022**). De igual manera este probiótico tiene la capacidad de degradar carbohidratos compuestos de manera más rápida en comparación con *S. boulardii* y *B. longum*. Por lo que se entiende que una vez consumida la glucosa del medio inicia la degradación de la inulina en carbohidratos más simples, como la fructosa (**Wang et al., 2021**). Además, la tuna cuenta con una mayor cantidad de azúcares libres en comparación con la jícama, por esto *L. acidophilus* con su capacidad de consumir azúcares simples presenta una mayor cantidad de colonias en comparación con los demás probióticos (**Chamberlain et al., 2022**).

De igual manera, *S. boulardii*, al ser una levadura aerobia presenta un número de colonias similar a las de *L. acidophilus*, independientemente del material vegetal (**Fu et al., 2023**), lo cual se puede evidenciar en el Apartado A de la Figura 2. Mientras que, *B. longum* al ser un microorganismo anaerobio y tener otras rutas metabólicas su desarrollo a nivel *in vitro* presenta cierta dificultad, por lo que no puede aprovechar todos los nutrientes y, por ende, la degradación de carbohidratos es más lenta dificultando la multiplicación de sus colonias (**Pokusaeva et al., 2011**). Mostrando

una diferencia estadísticamente significativa entre el número de colonias obtenidas con relación a *S. boulardii* y *L. acidophilus* (Anexo P.1)

En el Apartado B se muestra que los métodos de extracción para la tuna no influyen en la obtención de inulina, esto se debe a que no existe una diferencia estadísticamente significativa en el número de colonias obtenido (Anexo P.1). También se evidencia que la obtención de inulina a partir de la tuna fue mejor con la plancha de calentamiento, mientras que para la jícama fue con el baño ultrasónico (**Martono et al., 2019**). Por otro lado, las condiciones operacionales de los métodos influyen directamente, siendo estos la temperatura y el tiempo. Ya que para el método de US la temperatura fue de 60 °C por 15 min, y para el método de PC la temperatura fue de 80 °C por 60 min. Como indica (**Glibowski & Bukowska, 2011**) la inulina ya puede degradarse cuando se mantiene a temperaturas que van desde los 80 °C por largos periodos de tiempo. Esto se debe a que el extracto tiende a caramelizarse, como suele ocurrir con la pulpa de la tuna.

Además, en la tuna la proporción de inulina es baja debido a las condiciones ambientales a las que suele estar expuesta. Siendo las más importantes la temperatura y la luz solar, debido a estos factores influyen directamente en la hidrólisis de la inulina (**Madrigal, 2007**). Lo cual no ocurre con la inulina extraída de la jícama, ya que al estar presente en la raíz los factores ambientales como la luz y temperatura no afectan al contenido de la misma (**Scher et al., 2015**).

En el apartado C se evidencia una influencia estadísticamente significativa en la interacción de los métodos de extracción con los probióticos (*B. longum*, *S. boulardii* y *L. acidophilus*) (Anexo P.1). Sin embargo se debe destacar que la interacción de *L. acidophilus* con los diferentes métodos de extracción presentan un mayor número de colonias corroborando lo indicado en el Apartado A. Asimismo se identificó que el método ideal para el proceso de extracción de inulina fue de ultrasonido, como se puede notar en el apartado B y C, dónde se obtiene un mayor número de colonias. Esto

gracias a que se trata de una técnica menos invasiva, en comparación con otros métodos convencionales, ayudando a preservar íntegramente los compuestos sensibles al calor, en este caso a la inulina (Lingyun et al., 2007).

Los efectos que se tiene en las interacciones de las variables se deben a los diferentes porcentajes de inulina que posee cada uno de los materiales vegetales utilizados, en donde la jícama se sobrepone a la tuna con un porcentaje que va del 9 al 12 % y la tuna del 7 al 8 % (Manzur et al., 2022). El método de extracción y los parámetros también juegan un papel de suma importancia, ya que el método que se utiliza puede determinar la cantidad de la inulina que se extrae. De igual manera si la temperatura es muy elevada y el pH es menor a 5 la inulina podría degradarse debido a la ruptura de su enlace beta 2-1 (Calderón & Maggi, 2010).

3.1.2.1. Cinética de crecimiento microbiano

Se realizó la curva de crecimiento microbiano de cada tratamiento por triplicado, con una concentración inicial de probiótico conocida de 1.5×10^8 , posteriormente se calculó la tasa específica de crecimiento y el tiempo de generación con la finalidad de determinar cuál es el tratamiento que permite obtener un mayor número de colonias.

Tabla 8. Tasa específica de crecimiento y tiempo de generación

Tratamientos		μ (h ⁻¹)	T (min)	
Control		<i>L. acidophilus</i>	0,180	3,85
		<i>B. longum</i>	0,0066	105,02
		<i>S. boulardii</i>	0,0069	100,45
Jícama	US	<i>L. acidophilus</i>	0,102	6,80
		<i>B. longum</i>	0,070	9,90
		<i>S. boulardii</i>	0,130	5,33
	PC	<i>L. acidophilus</i>	0,0705	9,83
		<i>B. longum</i>	0,0048	144,40
		<i>S. boulardii</i>	0,0101	68,63

Tuna	US	<i>L. acidophilus</i>	0,0844	8,21
		<i>B. longum</i>	0,0077	90,01
		<i>S. boulardii</i>	0,058	119,51
	PC	<i>L. acidophilus</i>	0,0778	8,90
		<i>B. longum</i>	0,0062	111,80
		<i>S. boulardii</i>	0,0062	111,79

Según las curvas de crecimiento obtenidas existe un aumento evidente de UFC/mL en los 3 probióticos que se utilizaron junto con la inulina obtenida de la jícama y la tuna en comparación con los controles (medios de cultivo sin inulina) como se observa en los (Anexos O, 4,5,6). Siendo que el que mejor resultados obtuvo la inulina proveniente de la jícama por el método de extracción de ultrasonido.

Con *L. acidophilus* se obtuvo una μ de 0.102 h^{-1} y un T de 6,8 min como se observa en la Tabla 8 con la inulina de jícama y US como método de extracción. El primer dato evidencia que dicho probiótico tiende a metabolizar rápidamente carbohidratos como la glucosa e inulina, debido a la disponibilidad de distintas rutas metabólicas que posee para la obtención de energía (**R. Hughes et al., 2022**). Obteniendo un máximo de $2,10 \times 10^9$ UFC/mL en su fase exponencial (Anexo O.4), lo cual coincide con el análisis realizado anteriormente con respecto al método y material vegetal, dónde se muestra una mayor cantidad de biomasa con respecto al resto de probióticos utilizando US.

Al comparar con el control, *L. acidophilus* una vez que ha consumido la glucosa del medio empieza a metabolizar la inulina que se encuentra en las muestras (**Mueller et al., 2016**). De esta manera se explica que exista una mayor cantidad de UFC/mL en un tiempo de 12 a 36 h en los tratamientos. Mientras que en el control la fase de crecimiento fue tan solo de 12 a 24 h presentando una menor cantidad de UFC/mL (Anexo O.4).

Al tratar las UFC/mL de *S. boulardii* se puede notar que tuvo mayor cantidad de UFC/mL, con $1,30 \times 10^9$ UFC/mL en su fase exponencial con la inulina de jícama y usando US (Anexo O.6). Presentando una μ de $0,130 \text{ h}^{-1}$ y un T de 5,33 min (Tabla 8) con una fase exponencial que duró de 12 a 24 h. A pesar de presentar una tasa específica de crecimiento elevada en comparación al resto de tratamientos, cuyas fases exponenciales se encontraron en el lapso de 12 a 36 h (Anexo O.6), no se puede garantizar una estabilidad metabólica. Según **(R. Hughes et al., 2022)**. Esto puede desencadenar cierta competencia con el resto de microorganismos presentes en la microbiota intestinal debido al corto tiempo que dura la multiplicación celular **(Abed et al., 2016)**.

Con respecto a *B. longum* se obtuvo una μ de $0,070 \text{ h}^{-1}$ y una T de 9,90 min (Tabla 8), estos datos indican que su velocidad de crecimiento es baja y, por ende, el tiempo de generación será mayor provocando que su desarrollo sea estable en condiciones biológicas **(Ramirez et al., 2019)**. Varios estudios realizados en adultos sanos y diabéticos indican que la inulina permite el aumento de probióticos del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en la microbiota intestinal **(Bouhnik et al., 2014)**. Provocando que enzimas como la β -fructosidasa se encuentren en grandes proporciones debido a que es la responsable de degradar los enlaces glicosídicos presentes en la inulina, y al mismo tiempo ayudan a controlar hormonas importantes como la insulina, beneficiando a personas diabéticas **(Chambers et al., 2019)**.

Caso contrario ocurre con el método de PC dónde se obtuvo una μ menor y un T mayor, tanto para la jícama como la tuna en comparación con el método de US en los 3 probióticos

estudiados. Debido a las razones planteadas anteriormente, dónde se indica que el método cuenta con algunas condiciones que perjudican la extracción eficiente de inulina para los diferentes materiales vegetales. Por ende, se puede apreciar una fase exponencial no acentuada (Anexo O.5), sino más bien constante, misma que indica que el crecimiento de UFC/mL de estos probióticos (*S. boulardii* y *B. longum*) no es significativo.

3.2.Verificación de hipótesis

A partir de la comparación de los resultados obtenidos en cuanto a la multiplicación celular con los medios que contenían el extracto de inulina con los medios que no estaban suplementados:

- Se rechaza la hipótesis nula
- Se acepta la hipótesis alternativa, por tanto, se determinó que la presencia del extracto de inulina influye en la multiplicación celular de los probióticos

CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- A partir de esta investigación se logró determinar que la raíz de jícama cuenta con mayor proporción de inulina en comparación con el fruto de tuna, misma que fue obtenida por los métodos de US y PC de los cuales el mejor fue el de US. estas afirmaciones se deben a que la concentración de UFC/mL en las distintas pruebas fue mayor con el extracto de inulina de jícama obtenido por US.
- Se obtuvo el extracto de inulina tanto de la jícama como de la tuna mediante las técnicas de US y PC, de las cuales a partir de la biomasa obtenida se logró determinar que el mejor método fue el de US debido a sus condiciones operacionales, siendo estas menos invasivas para los probióticos utilizado caso contrario a ocurrió con el método de plancha de calentamiento con la que se obtuvo una menor cantidad de biomasa.
- A partir de los análisis físico – químicos realizados se obtuvo que en cuanto al pH el extracto de inulina de jícama y de tuna fue de 6 – 7 independientemente del método por la influencia del buffer fosfato mientras que para el porcentaje de extracto seco para solidos solubles se obtuvo un rango de 2,2 al 3,6 % donde no se muestra una diferencia significativa independientemente del método. Con método del fenol-sulfúrico se obtuvo mayor cantidad de carbohidratos totales en la jícama que en la tuna, dependiendo del método, siendo el mejor el ultrasonido con jícama ya que obtuvo un porcentaje de carbohidratos totales promedio de 2,8 para el método de Miller llevado a cabo posterior a la hidrólisis enzimática se determinó que la jícama contiene mayor cantidad de inulina, ya que se alcanzó un 2,25 mg/mL de fructosa, misma que se obtiene de la desnaturalización de la inulina. para la determinación de proteínas de igual manera la jícama por el método de US fue el mejor ya que alcanzó 246,25 $\mu\text{g/mL}$.

- Posterior a la evaluación del efecto prebiótico se determinó que el extracto de inulina de jícama obtenido mediante US es el mejor en comparación al extracto de inulina de tuna obtenido por US y por PC, debido a que se obtuvo una mayor cantidad de UFC/mL con cada probiótico. Cabe destacar que el que se desarrolló de mejor manera fue *L. acidophilos*, seguido de *S. boulardi* y finalmente *B. Longum*.

Recomendaciones

- Para la obtención del extracto de inulina se identificó que el método de US es el ideal, sin embargo, se sugiere llevar a cabo una extracción con el método de lisis ultrasónica debido a que este se caracteriza por que sus condiciones son menos invasivas que con el método US con lo cual se esperaría que se obtenga una mayor cantidad de extracto de inulina.
- Previo a los análisis físico- químicos podría llevarse a cabo la purificación de los extractos de inulina con la finalidad de realizar dichos ensayos con una muestra que no contenga factores no deseados que puedan influir en el crecimiento de los probióticos.
- Para obtener una mejor evaluación del efecto prebiótico se considera necesario realizar más replicas con las condiciones determinadas con la finalidad de disminuir el error experimental para obtener resultados

MATERIA DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Abbas EY, Ezzat MI, El Hefnawy HM, Abdel-Sattar E. An overview and update on the chemical composition and potential health benefits of *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *J Food Biochem.* 2022 Nov;46(11):e14310. doi: 10.1111/jfbc.14310. Epub 2022 Jul 2. PMID: 35780308
- Abed, S., Ali, A., Noman, A., Bakry, A., & Abed, S. (2016). Inulin as Prebiotics and its Applications in Food Industry and Human Health; A Review. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 5(1), 2319–1473. <https://www.researchgate.net/publication/318900116>
- Afinjuomo, F., Abdella, S., Youssef, S., Song, Y., & Garg, S. (2021). Inulin and its application in drug delivery. *Pharmaceuticals*, 14(9). <https://doi.org/10.3390/ph14090855>
- Benitez, I., Perez, A., Álvarez, R., Collado, O., & Gonzalez, Y. (2015). Perspectivas de la producción de inulina a partir de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). *Tecnología Química*, 35(2), 181–192. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Bonet, M., Meson, O., de Moreno, A., Dogi, C. A., Chaves, S., Kortsarz, A., Grau, A., & Perdigón, G. (2010). Prebiotic effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on intestinal mucosa using a mouse model. *Food and Agricultural Immunology*, 21(2), 175–189. <https://doi.org/10.1080/09540100903563589>
- Bouhnik, Y., Raskine, L., Simoneau, G., Vicaut, E., Neut, C., Flourié, B., Brouns, F., & Bornet, F. R. (2014). The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: A double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(6), 1658–1664. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.6.1658>
- Brown, R., Jarvis, K., & Hyland, K. (1989). Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. *Analytical Biochemistry*, 180(1), 136–139. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90101-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90101-2)

- Calderón, A. C., & Maggi, R. C. (2010). Scientia Agropecuaria Inulinase production by yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Scientia Agropecuaria*, *1*, 235–245.
- Chamberlain, M., O’Flaherty, S., Cobián, N., & Barrangou, R. (2022). Metabolomic Analysis of *Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri*, *L. crispatus*, and *Lactocaseibacillus rhamnosus* Strains in the Presence of Pomegranate Extract. *Frontiers in Microbiology*, *13*(May), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.863228>
- Chambers, E., Byrne, C., Morrison, D., Murphy, K., Preston, T., Tedford, C., Garcia, I., Fountana, S., Serrano, J., Holmes, E., Reynolds, C., Roberts, J., Boyton, R., Altmann, D., McDonald, J., Marchesi, J., Akbar, A., Riddell, N., Wallis, G., & Frost, G. (2019). Dietary supplementation with inulin-propionate ester or inulin improves insulin sensitivity in adults with overweight and obesity with distinct effects on the gut microbiota, plasma metabolome and systemic inflammatory responses: a randomised cross-over t. *Gut*, *68*(8), 1430–1438. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318424>
- Coronado, D., & Salazar, M. (2017). ELABORACIÓN DE HARINA DE *Smallanthus sonchifolius* (POEPP.) H. ROB. “YACÓN” Y SU INFLUENCIA EN EL CRECIMIENTO DE DOS BACTERIAS PROBIÓTICAS. *Ciencia e Investigación*, *19*(2), 70–73. <https://doi.org/10.15381/ci.v19i2.13631>
- Corrado, I., Cascelli, N., Ntasi, G., Birolo, L., Sannia, G., & Pezzella, C. (2021). Optimization of Inulin Hydrolysis by *Penicillium lanosocoeruleum* Inulinases and Efficient Conversion Into Polyhydroxyalkanoates. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*(March), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.616908>
- Cortés, J., Zárate, A., Figueroa, J., Medina, J., Fuentes, E., Rodríguez, M., Aliaga, M., & López, C. (2020). Protein quantification by bicinchoninic acid (BCA) assay follows complex kinetics and can be performed at short incubation times. *Analytical Biochemistry*, *608*(July). <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113904>
- Du, M., Cheng, X., Qian, L., Huo, A., Chen, J., & Sun, Y. (2023). Extraction, Physicochemical Properties, Functional Activities and Applications of Inulin Polysaccharide: a Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, *78*(2), 243–252.

<https://doi.org/10.1007/s11130-023-01066-6>

Food and Drug Administration. (2018). Review of the scientific evidence on the physiological effects of certain non-digestible carbohydrates. *U.S Department of Health and Human Services, June*, 1–52. <https://www.fda.gov/files/food/published/Review-of-the-Scientific-Evidence-on-the-Physiological-Effects-of-Certain-Non-Digestible-Carbohydrates>.

Forouzesh, F., Rabbani, M., & Bonakdar, S. (2019). A comparison between ultrasonic bath and direct sonicator on osteochondral tissue decellularization. *Journal of Medical Signals and Sensors*, 9(4), 227–233. https://doi.org/10.4103/jmss.JMSS_64_18

Fragoso, L. (2017). Obtención de inulina y oligosacáridos derivados de la alcachofa. In *Universidad Autonoma de Madrid*. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/176553/1/FragosoTFGinulina.pdf>

Fu, J. J., Liu, J., Wen, X., Zhang, G., Cai, J., Qiao, Z., An, Z., Zheng, J., & Li, L. (2023). Unique Probiotic Properties and Bioactive Metabolites of *Saccharomyces boulardii*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 15(4), 967–982. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09953-1>

Glibowski, P., & Biaduń, P. (2021). Chemical stability of inulin in acidic environment as an effect of a long-term storage. *Polish Journal of Natural Sciences*, 35(3), 323–329.

Glibowski, P., & Bukowska, A. (2011). The effect of pH, temperature and heating time on inulin chemical stability. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 10(2), 189–196.

Hiel, S., Bindels, L., Pachikian, B., Kalala, G., Broers, V., Zamariola, G., Chang, B. ., Kambashi, B., Rodriguez, J., Cani, P., Neyrinck, A., Thissen, J. P., Luminet, O., Bindelle, J., & Delzenne, N. (2019). Effects of a diet based on inulin-rich vegetables on gut health and nutritional behavior in healthy humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 109(6), 1683–1695. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz001>

Huaman, M., & Julca, E. (2022). Identificación de inulina y oligosacáridos en las hojas

- de Yacón (*Polymnia sonchifolia*) para la obtención de un edulcorante. *Prospectiva Universitaria*, 4(1), 23–26. <https://doi.org/10.26490/uncp.prospectivauniversitaria.2007.4.1217>
- Hughes, R., Alvarado, D., Swanson, K., & Holscher, H. (2022). The Prebiotic Potential of Inulin-Type Fructans: A Systematic Review. *Advances in Nutrition*, 13(2), 492–529. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab119>
- Hughes, S., Qureshi, N., López, J., Jones, M., Jarodsky, J., Galindo, L., & Lindquist, M. (2017). Utilization of inulin-containing waste in industrial fermentations to produce biofuels and bio-based chemicals. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(4), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2241-6>
- Kiewiet, M., Elderman, M., El Aidy, S., Burgerhof, J., Visser, H., Vaughan, E., Faas, M., & de Vos, P. (2021). Flexibility of Gut Microbiota in Ageing Individuals during Dietary Fiber Long-Chain Inulin Intake. *Molecular Nutrition and Food Research*, 65(4), 1–10. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202000390>
- Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin, Y., Chenggang, C., Tianhua, F., & Fan, Z. (2007). Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1087–1093. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.028>
- Manrique, I., Hermann, M., & Bernet, T. (2004). Yacón Ficha técnica. *Centro Internacional de La Papa*.
- Manzur, S., Arias, J., Ramírez, E., Sánchez, M., Jaramillo, O., Angel, J., Zafra, Q., Barrera, R., & Cruz, N. (2022). Applications and Pharmacological Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Peel: A Review. *Life*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/life12111903>
- Martono, Y., Apriliyani, S., Riyanto, C., Mutmainah, & Kusmita, L. (2019). Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of inulin from gembili tubers (*Dioscorea esculenta* L.) using response surface methodology (RSM). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012154>
- Milek, J. (2022). The inulin hydrolysis by recombinant exo-inulinases: determination

the optimum temperatures and activation energies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 147(14), 8061–8067. <https://doi.org/10.1007/s10973-021-11086-6>

Mueller, M., Schwarz, S., Viernstein, H., Loeppert, R., & Praznik, W. (2016). Growth of selected probiotic strains with fructans from agaves and chicory. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 27(3), 54–57.

Naidoo, K., Kumar, A., Sharma, V., Permaul, K., & Singh, S. (2015). Purification and characterization of an endoinulinase from *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* KM 24 mutant. *Food Technology and Biotechnology*, 53(2), 146–153. <https://doi.org/10.17113/ftb.53.02.15.3902>

Ochoa, C., & Guerro, J. (2013). EFECTO DE LA TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE TUNA BLANCA VILLANUEVA (*Opuntia albicarpa*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(2), 149–161.

Perez, Y., & Saucedo, E. (2020). *Obtencion de inulina en tres formas de presentacion a partir del Yacon (Smallantus conchifolius) y la Tuna (Opuntia ficus-indica)*. <https://repositorio.uea.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/734/T.AGROP.B.UEA.1159.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Pokusaeva, K., Fitzgerald, G., & Van Sinderen, D. (2011). Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes and Nutrition*, 6(3), 285–306. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0206-6>

Ramirez, C., Slezak, K., Fuller, Z., Duncan, A., Holtrop, G., & Petra, L. (2019). Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. *British Journal of Nutrition*, 101(4), 533–540. <https://doi.org/10.1017/S0007114508019880>

Scher, C. F., Brandelli, A., & Noreña, C. Z. (2015). Yacon inulin leaching during hot water blanching. *Ciencia e Agrotecnologia*, 39(5), 523–529. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542015000500011>

Ulloa, M. (2023). *Caracterización de la Inulina Comercial y su Implementación Alimentaria en Personas con el Trastorno del Espectro Autista*. 140–150.

https://www.researchgate.net/publication/374216083_Caracterizacion_de_la_Inulina_Comercial_y_su_Implementacion_Alimentaria_en_Personas_con_el_Trastormo_del_Espectro_Autista/link/6514274a37d0df2448f11707/download?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1Ymx

Vachhani, N., Ahuja, K., Thesiya, A., Hazra, T., & Ramani, V. (2023). Formulation, Characterization and Storage Stability of Prickly Pear (*Opuntia ficus*) Fruit and Milk Based Fermented Beverage. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 42(Of), 535–540. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.dr-2113>

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(May), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>

Anexos

Anexo A. Obtención de muestras



Anexo A. 1. Raíz de jícama



Anexo A. 2. Fruto de Tuna

Anexo B. Extracción de inulina



Anexo B. 1. Molienda de material vegetal

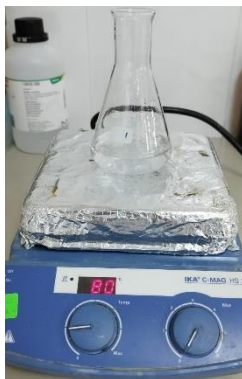


Anexo B. 2. Eliminación de partículas grandes



Anexo B. 3. Tamizaje de las muestras vegetales

Anexo C. Extracción en placa calefactora y agitadora



Anexo C. 1. Precalentamiento del Buffer a 80 °C por 10 min.



Anexo C. 2. Extracción de inulina por 60 min a 500 rpm



Anexo C. 3. Enfriamiento del extracto



Anexo C. 4. *Centrifugación a 7000 rpm por 10 min*

Anexo D. *Extracción por Ultrasonido*



Anexo D. 1. *Pre calentamiento del Buffer a 60 °C por 10 min*



Anexo D. 2. *Extracción de inulina por 15 min*



Anexo D. 3. *Enfriamiento del extracto*



Anexo D. 4. *Centrifugación a 7000 rpm por 10 min*

Anexo E. Medición de pH



Anexo E. 1. Medición de pH de los extractos

Anexo F. Extracto seco



Anexo F. 1. Extractos a 102 °C por 72 h

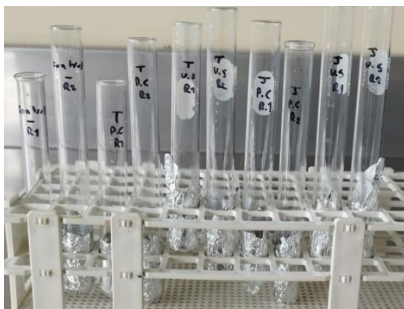


Anexo F. 2. Pesaje de crisoles



Anexo F. 3. Solidos totales en los extractos

Anexo G. Método de Fenol-Sulfúrico



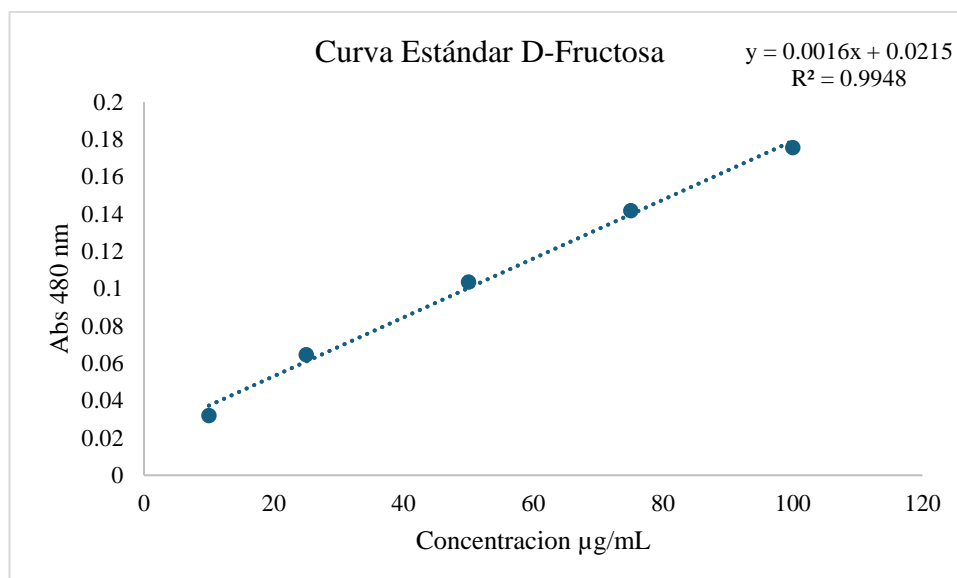
Anexo G. 1. Reacción del Método Fenol-Sulfúrico



Anexo G. 2. Colocación en micropocillos



Anexo G. 3. Medición a 480 nm

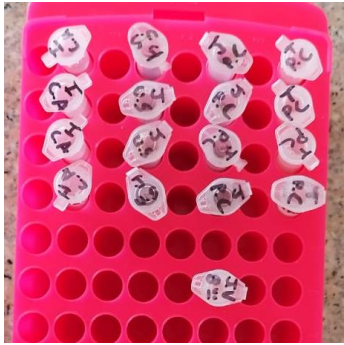


Anexo G. 4. Curva estándar de D-Fructosa de 10 - 100 µg/mL

Muestras	ABS	Concentración
Jícama US R1	0.0756	47.250
Jícama US R2	0.0984	61.500
Jícama US R3	0.0782	48.875
Jícama PC R1	0.0452	28.250
Jícama PC R2	0.0866	54.125
Jícama PC R3	0.09	56.250
Tuna US R1	0.0725	45.312
Tuna US R2	0.0586	36.625
Tuna US R3	0.0872	54.500
Tuna PC R1	0.0891	55.687
Tuna PC R2	0.0471	29.437
Tuna PC R3	0.0858	53.625

Anexo G. 5. Concentración de Carbohidratos Totales en los extractos

Anexo H. Hidrolisis enzimática



Anexo H. 1. Extractos + enzima inulinasa

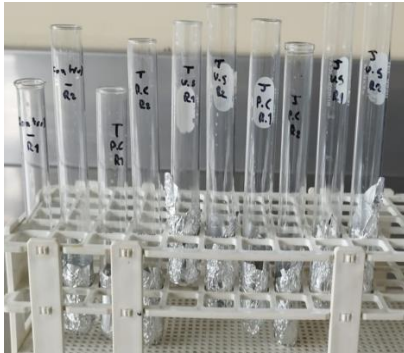


Anexo H. 2. Incubación a 50 °C por 24 h



Anexo H. 3. Inactivación de la enzima

Anexo I. Método Miller



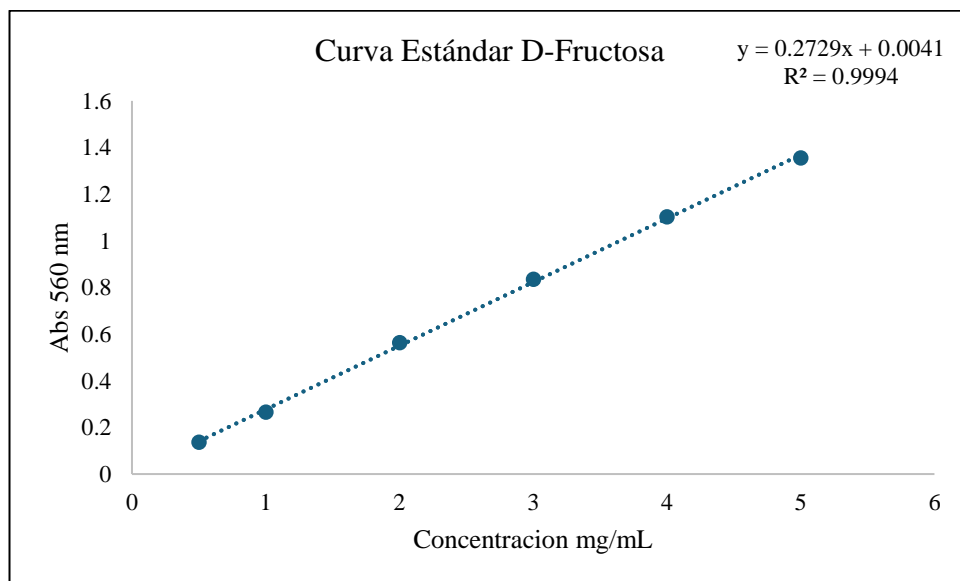
Anexo I. 1. Reacción del método Miller



Anexo I. 2. Colocación en micropocillos



Anexo I. 3. Medición a 560 nm

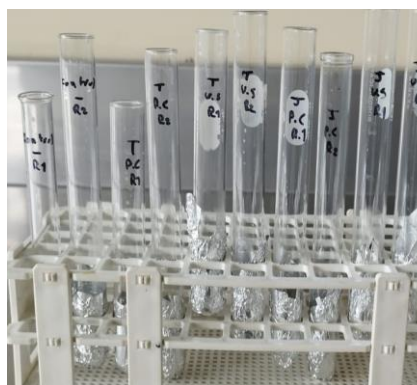


Anexo I. 4. Curva estándar de D-fructosa de 0.5 – 5 mg/mL

Muestras	ABS	Concentración (mg/mL)
Control (-)	0,0086	0,032
Inulina comercial (control +) R1	0,5772	2,115
Inulina comercial (control +) R2	0,9495	3,479
Inulina comercial R3	0,8254	3,025
Tuna PC R1	0,4031	1,477
Tuna PC R2	0,3956	1,450
Tuna pc R3	0,4212	1,543
Tuna US R1	0,5149	1,887
Tuna US R2	0,4518	1,656
Tuna US R3	0,4301	1,576
Jícama PC R1	0,4584	1,680
Jícama PC R2	0,5572	2,042
Jícama PC R3	0,3641	1,334
Jícama US R1	0,5102	1,870
Jícama US R2	0,6145	2,252
Jícama US R3	0,5845	2,142

Anexo I. 5. *Concentración de azúcares reductores en los extractos*

Anexo J. *Método del ácido bicinonónico (BCA) para determinación de proteínas*



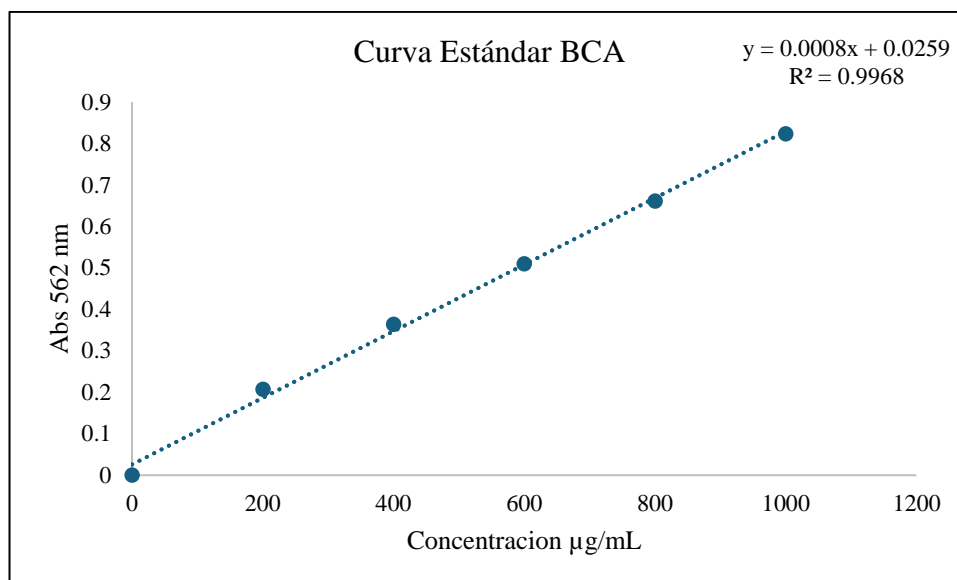
Anexo J. 1. *Reacción del método BCA*



Anexo J. 2. *Colocación en micropillos*



Anexo J. 3. *Medición a 562 nm*



Anexo J. 4. Curva estándar de 200-1000 mg/mL

Muestras	ABS	Concentración
Control (-)	0,1203	150,375
Jícama US R1	0,1884	235,500
Jícama US R2	0,197	246,250
Jícama US R3	0,182	227,500
Jícama PC R1	0,1894	236,750
Jícama PC R2	0,1874	234,250
Jícama PC R3	0,1782	222,750
Tuna PC R1	0,1413	176,625
Tuna PC R2	0,1388	173,500
Tuna PC R3	0,1325	165,625
Tuna US R1	0,1556	194,500
Tuna US R2	0,1872	234,000
Tuna US R3	0,1762	220,250

Anexo J. 5. Concentración de proteínas en los extractos

Anexo K. Preparación de medios



Anexo K. 1. Preparación de medio de cultivo



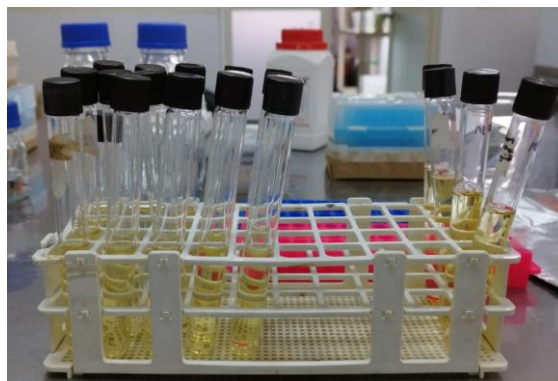
Anexo K. 2. Vertido en placa

Anexo L. Reactivación de cepas



Anexo L. 1. Reactivación de cepas e incubación por 12 h a 37 °C

Anexo M. Diluciones



Anexo M. 1. Diluciones seriadas de 10^{-1} hasta 10^{-9}

Anexo N. Siembra



Anexo N. 1. Dispersión en placa



Anexo N. 2. Incubación a 37 °C por 72 horas

Anexo N. 3. Conteo en placa para *L. acidophilus*

Muestra	Cepa	Método de extracción	Dilución	Replica	N° de colonias
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-1	1	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-2	1	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-3	1	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-4	1	>300
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-5	1	265
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-6	1	68
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-7	1	3
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-8	1	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-9	1	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-1	2	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-2	2	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-3	2	IC

Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-4	2	>300
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-5	2	276
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-6	2	45
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-7	2	7
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-8	2	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-9	2	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-1	3	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-2	3	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-3	3	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-4	3	>300
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-5	3	240
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-6	3	37
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-7	3	5
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-8	3	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-9	3	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-1	1	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-2	1	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-3	1	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-4	1	>300
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-5	1	266
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-6	1	45
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-7	1	0

Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-8	1	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-9	1	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-1	2	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-2	2	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-3	2	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-4	2	>300
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-5	2	270
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-6	2	47
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-7	2	5
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-8	2	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-9	2	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-1	3	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-2	3	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-3	3	IC
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-4	3	>300
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-5	3	255
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-6	3	22
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-7	3	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-8	3	0
Tuna	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-9	3	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-1	1	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-2	1	IC

Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-3	1	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-4	1	>300
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-5	1	288
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-6	1	46
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-7	1	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-8	1	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-9	1	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-1	2	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-2	2	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-3	2	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-4	2	>300
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-5	2	252
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-6	2	40
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-7	2	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-8	2	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-9	2	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-1	3	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-2	3	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-3	3	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-4	3	>300
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-5	3	265
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-6	3	31

Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-7	3	5
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-8	3	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	US	-9	3	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-1	1	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-2	1	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-3	1	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-4	1	>300
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-5	1	165
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-6	1	24
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-7	1	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-8	1	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-9	1	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-1	2	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-2	2	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-3	2	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-4	2	>300
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-5	2	182
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-6	2	30
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-7	2	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-8	2	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-9	2	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-1	3	IC

Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-2	3	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-3	3	IC
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-4	3	>300
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-5	3	145
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-6	3	12
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-7	3	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-8	3	0
Jícama	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PC	-9	3	0
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-1	1	IC
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-2	1	>300
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-3	1	240
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-4	1	38
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-5	1	10
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-6	1	1
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-7	1	0
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-8	1	0
Control	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-9	1	0

Anexo N. 4. Conteo en placa para *B. longum*

Muestra	Cepa	Método de extracción	Dilución	Replica	N° de colonias
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-1	1	I.C
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-2	1	158
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-3	1	57
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-4	1	8
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-5	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-6	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-7	1	1
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-8	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-9	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-1	2	IC
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-2	2	196
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-3	2	22
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-4	2	2
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-5	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-6	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-7	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-8	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-9	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-1	3	IC
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-2	3	135
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-3	3	15
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-4	3	0

Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-5	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-6	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-7	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-8	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-9	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-1	1	13
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-2	1	1
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-3	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-4	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-5	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-6	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-7	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-8	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-9	1	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-1	2	10
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-2	2	1
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-3	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-4	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-5	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-6	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-7	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-8	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-9	2	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-1	3	IC

Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-2	3	95
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-3	3	8
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-4	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-5	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-6	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-7	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-8	3	0
Tuna	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-9	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-1	1	IC
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-2	1	193
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-3	1	20
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-4	1	1
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-5	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-6	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-7	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-8	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-9	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-1	2	IC
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-2	2	158
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-3	2	19
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-4	2	1
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-5	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-6	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-7	2	0

Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-8	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-9	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-1	3	IC
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-2	3	125
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-3	3	15
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-4	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-5	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-6	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-7	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-8	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	US	-9	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-1	1	IC
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-2	1	196
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-3	1	19
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-4	1	3
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-5	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-6	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-7	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-8	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-9	1	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-1	2	IC
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-2	2	210
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-3	2	30
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-4	2	2

Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-5	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-6	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-7	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-8	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-9	2	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-1	3	IC
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-2	3	180
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-3	3	12
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-4	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-5	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-6	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-7	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-8	3	0
Jícama	<i>Bifidobacterium longum</i>	PC	-9	3	0
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-1	1	IC
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-2	1	85
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-3	1	0
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-4	1	0
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-5	1	0
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-6	1	0
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-7	1	0
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-8	1	0
Control	<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-9	1	0

Anexo N. 5. Conteo en placa para *S. boulardii*

Muestra	Cepa	Método de extracción	Dilución	Replica	N° de colonias
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-1	1	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-2	1	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-3	1	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-4	1	>300
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-5	1	219
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-6	1	60
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-7	1	9
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-8	1	1
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-9	1	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-1	2	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-2	2	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-3	2	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-4	2	>300
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-5	2	208
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-6	2	65
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-7	2	6
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-8	2	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-9	2	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-1	3	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-2	3	IC

Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-3	3	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-4	3	>300
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-5	3	195
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-6	3	36
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-7	3	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-8	3	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-9	3	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-1	1	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-2	1	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-3	1	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-4	1	>300
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-5	1	297
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-6	1	66
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-7	1	7
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-8	1	2
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-9	1	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-1	2	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-2	2	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-3	2	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-4	2	>300
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-5	2	260
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-6	2	68

Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-7	2	7
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-8	2	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-9	2	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-1	3	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-2	3	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-3	3	IC
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-4	3	>300
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-5	3	220
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-6	3	41
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-7	3	5
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-8	3	0
Tuna	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-9	3	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-1	1	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-2	1	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-3	1	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-4	1	>300
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-5	1	265
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-6	1	100
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-7	1	6
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-8	1	1
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-9	1	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-1	2	IC

Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-2	2	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-3	2	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-4	2	>300
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-5	2	280
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-6	2	54
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-7	2	10
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-8	2	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-9	2	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-1	3	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-2	3	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-3	3	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-4	3	>300
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-5	3	235
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-6	3	36
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-7	3	8
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-8	3	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	US	-9	3	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-1	1	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-2	1	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-3	1	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-4	1	>300
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-5	1	253

Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-6	1	62
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-7	1	2
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-8	1	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-9	1	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-1	2	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-2	2	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-3	2	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-4	2	>300
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-5	2	240
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-6	2	55
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-7	2	5
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-8	2	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-9	2	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-1	3	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-2	3	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-3	3	IC
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-4	3	>300
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-5	3	215
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-6	3	40
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-7	3	9
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-8	3	0
Jícama	<i>Saccharomyces boulardii</i>	PC	-9	3	0

Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-1	1	IC
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-2	1	IC
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-3	1	225
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-4	1	60
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-5	1	4
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-6	1	0
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-7	1	0
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-8	1	0
Control	<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-9	1	0

Anexo O. Curva de crecimiento



Anexo O. 1. Inoculación de medios

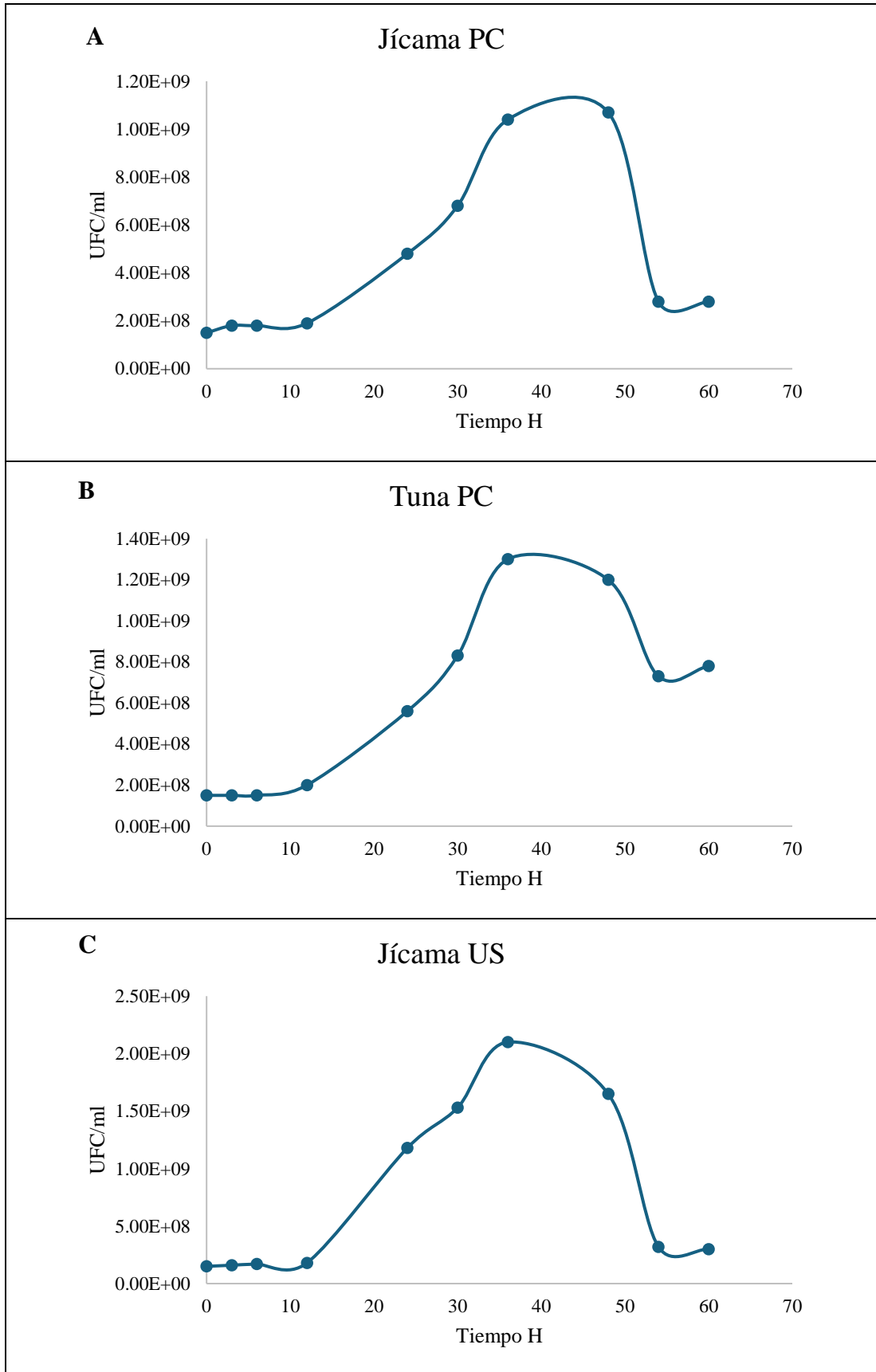


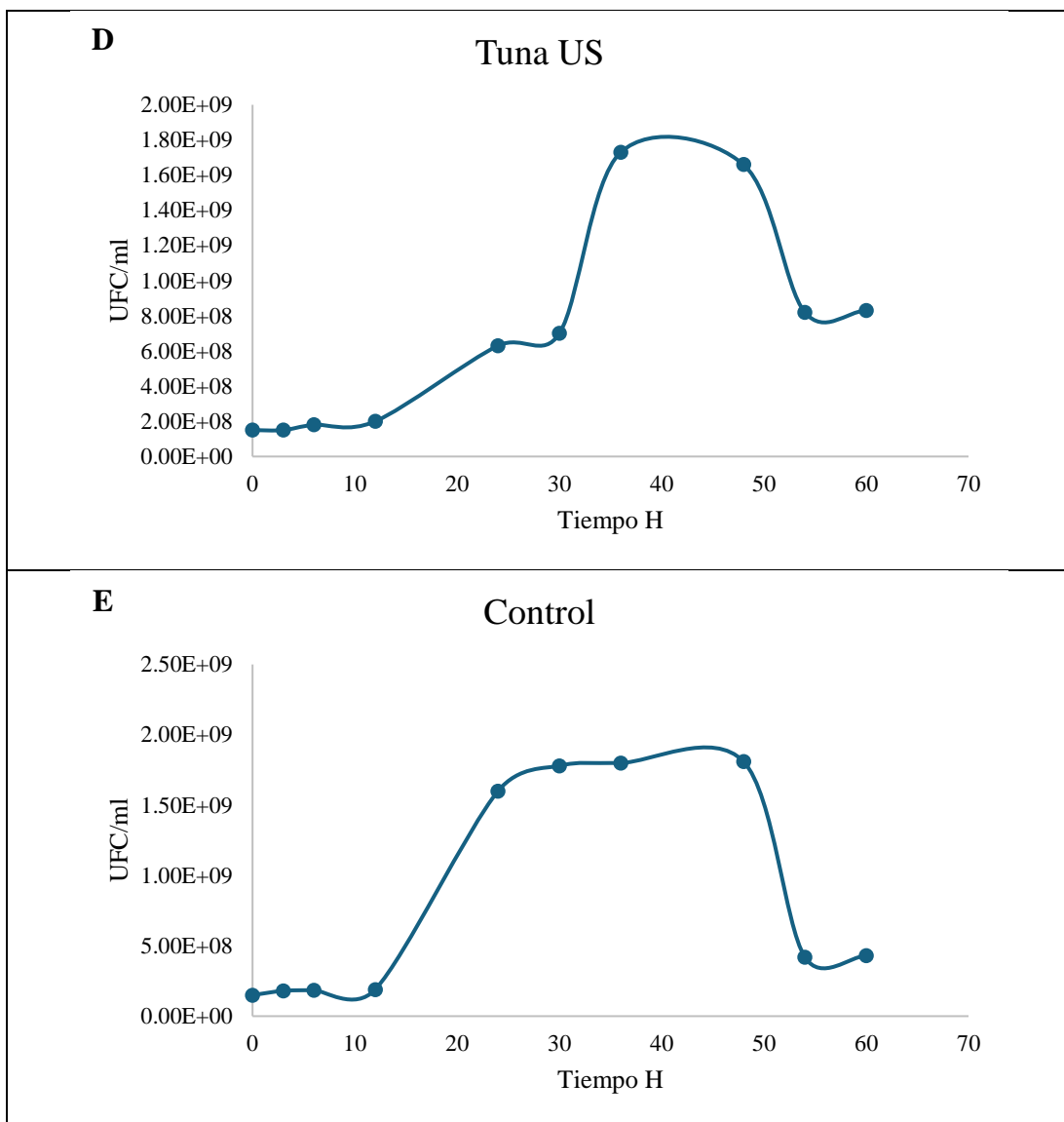
Anexo O. 2. Incubación a 37 °C por 60 h



Anexo O. 3. Medición de DO a 630 nm de 0 a 60 h

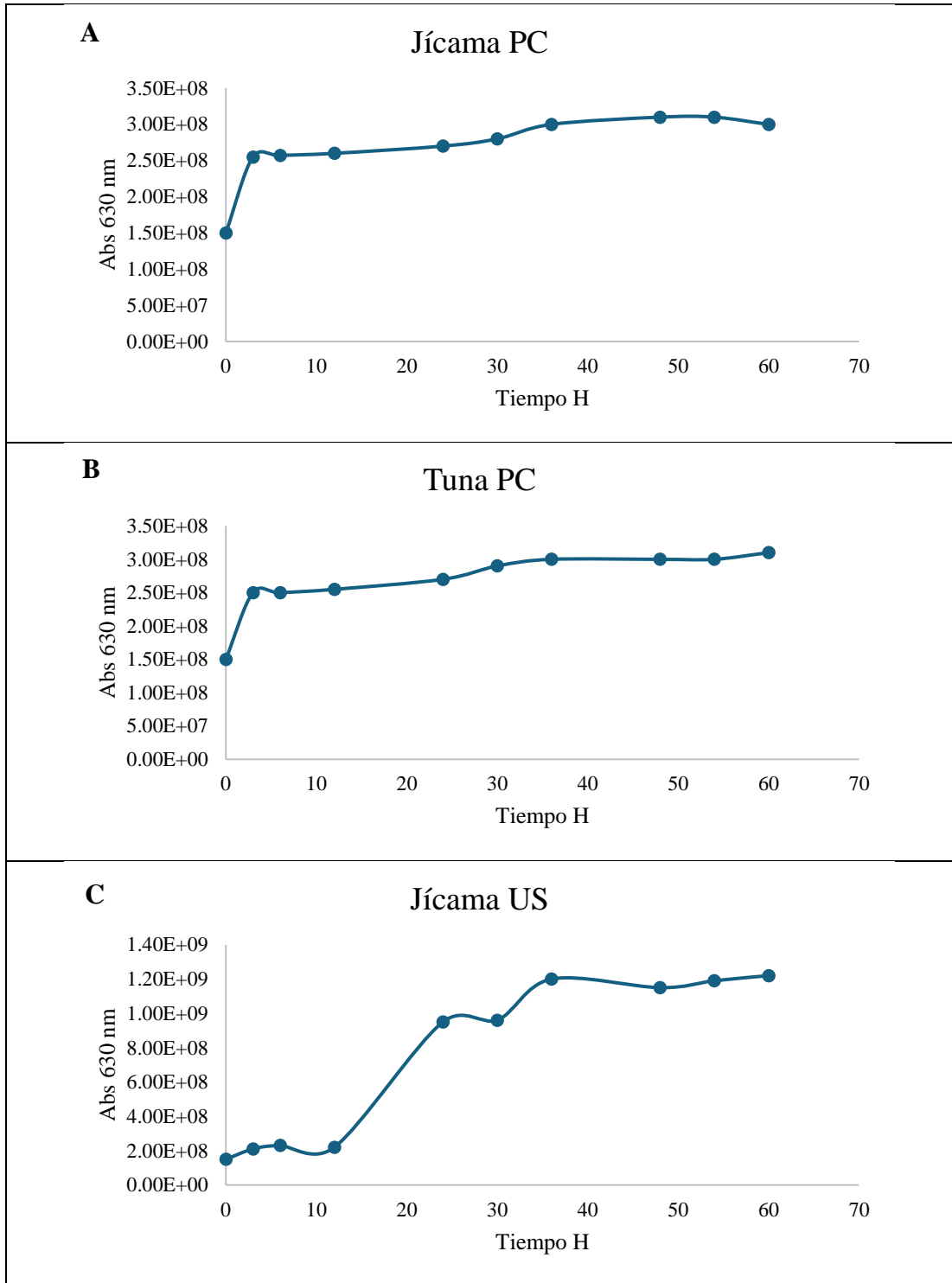
Anexo O. 4. Curvas de crecimiento de *L. acidophilus* R1

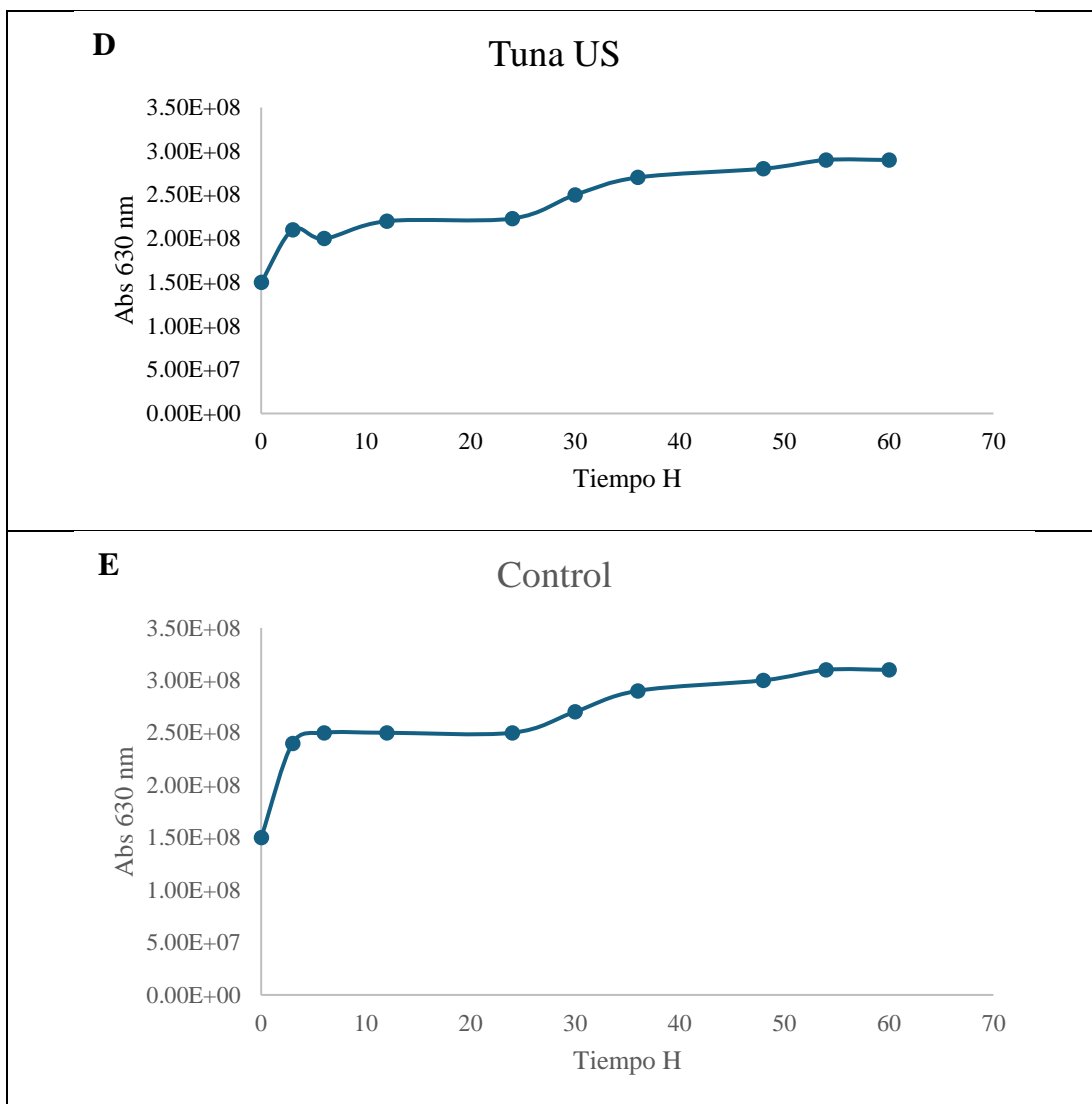




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *L. acidophilus*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo MRS sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

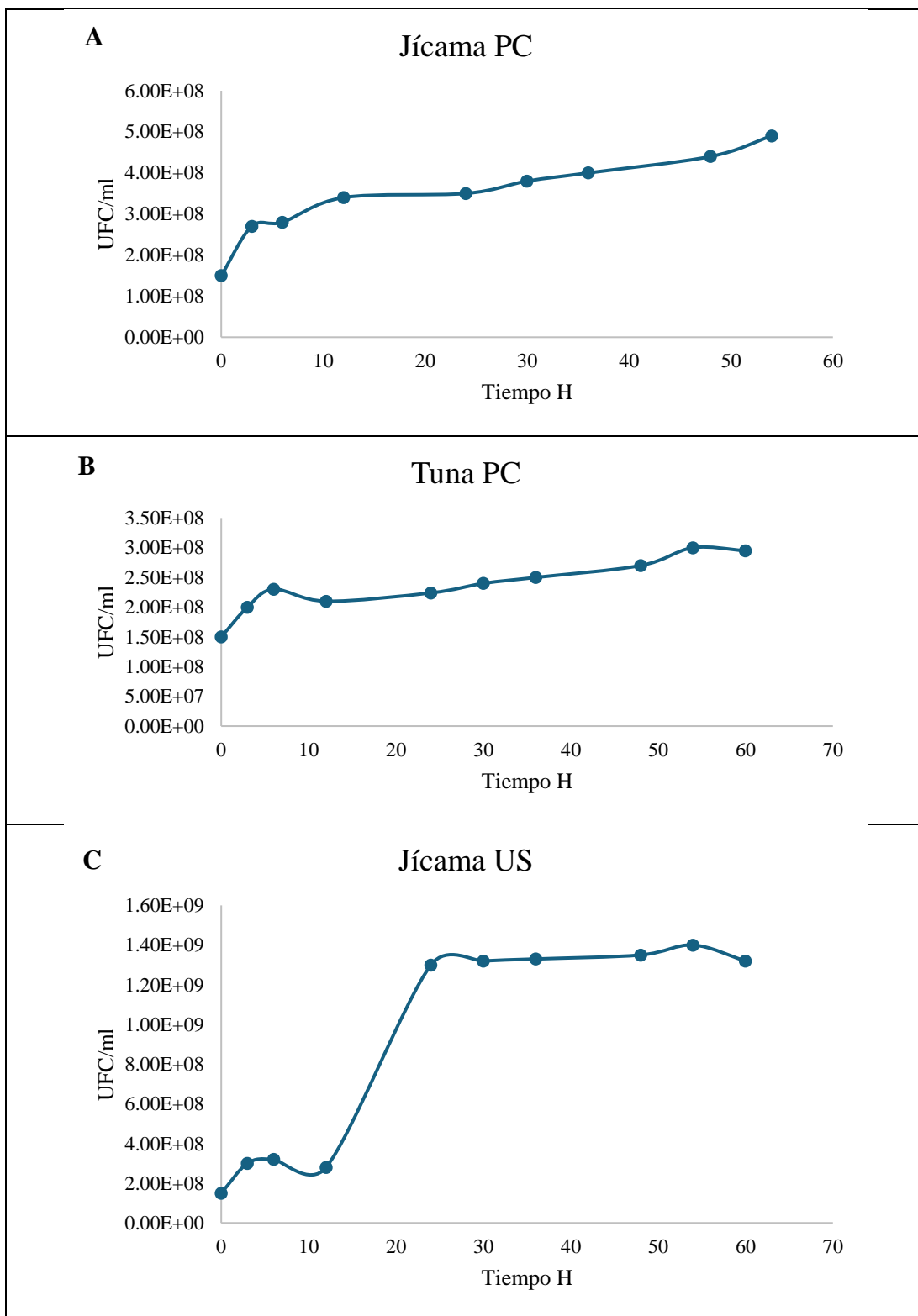
Anexo O. 5. Curvas de crecimiento de *B. longum* R1

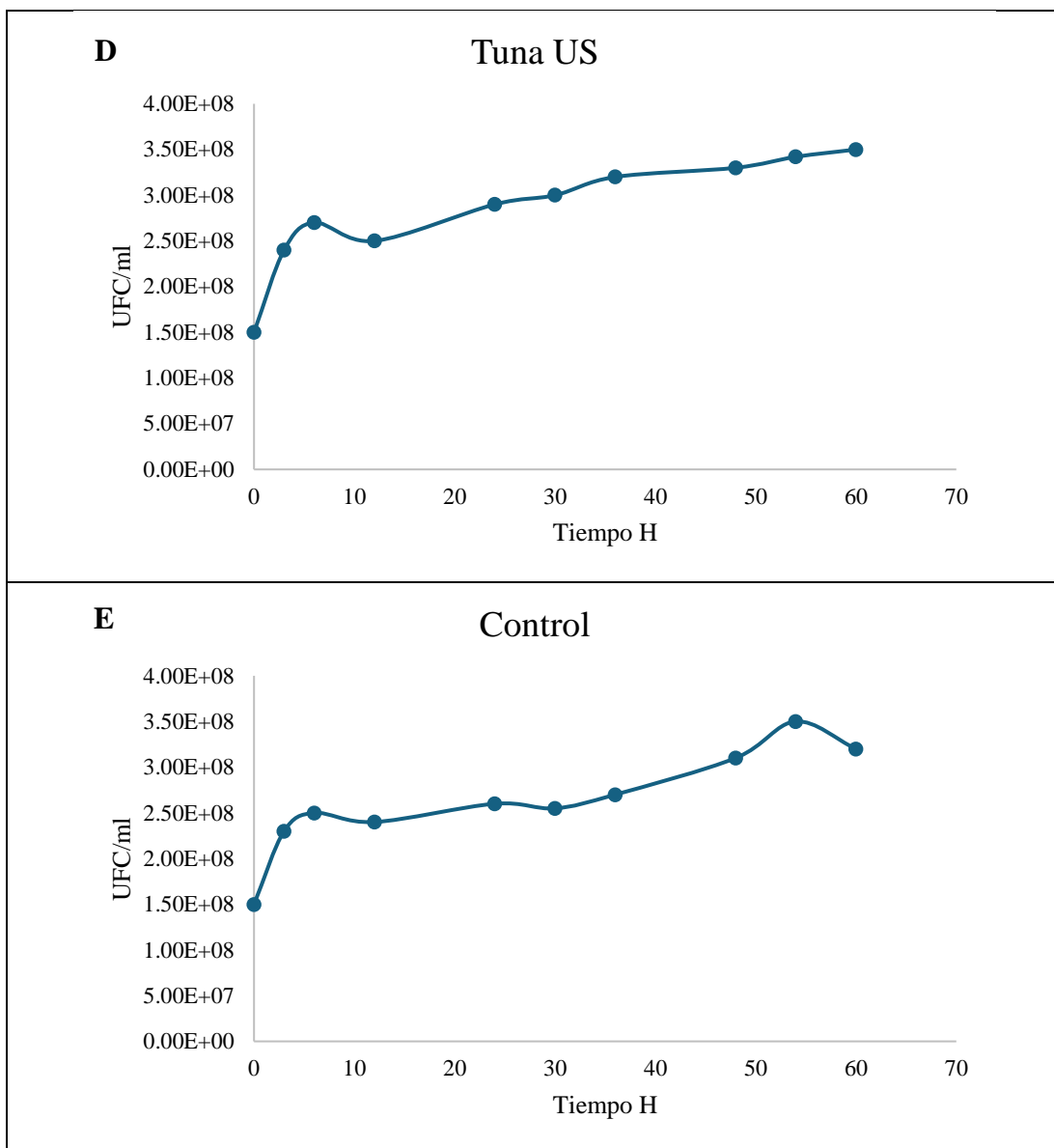




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *B. longum*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo MRS sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

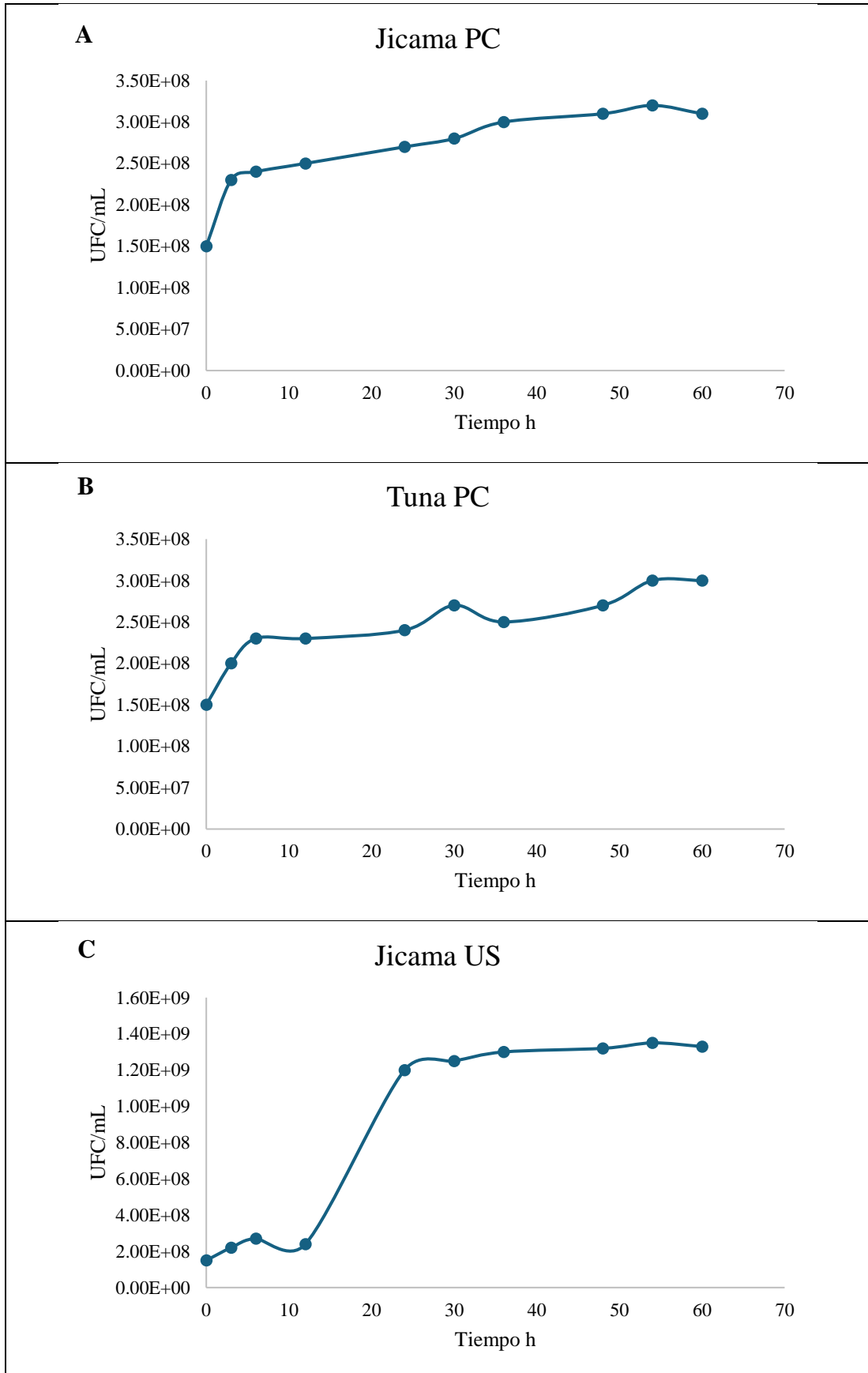
Anexo O. 6. Curvas de crecimiento de *S. boulardii* R1

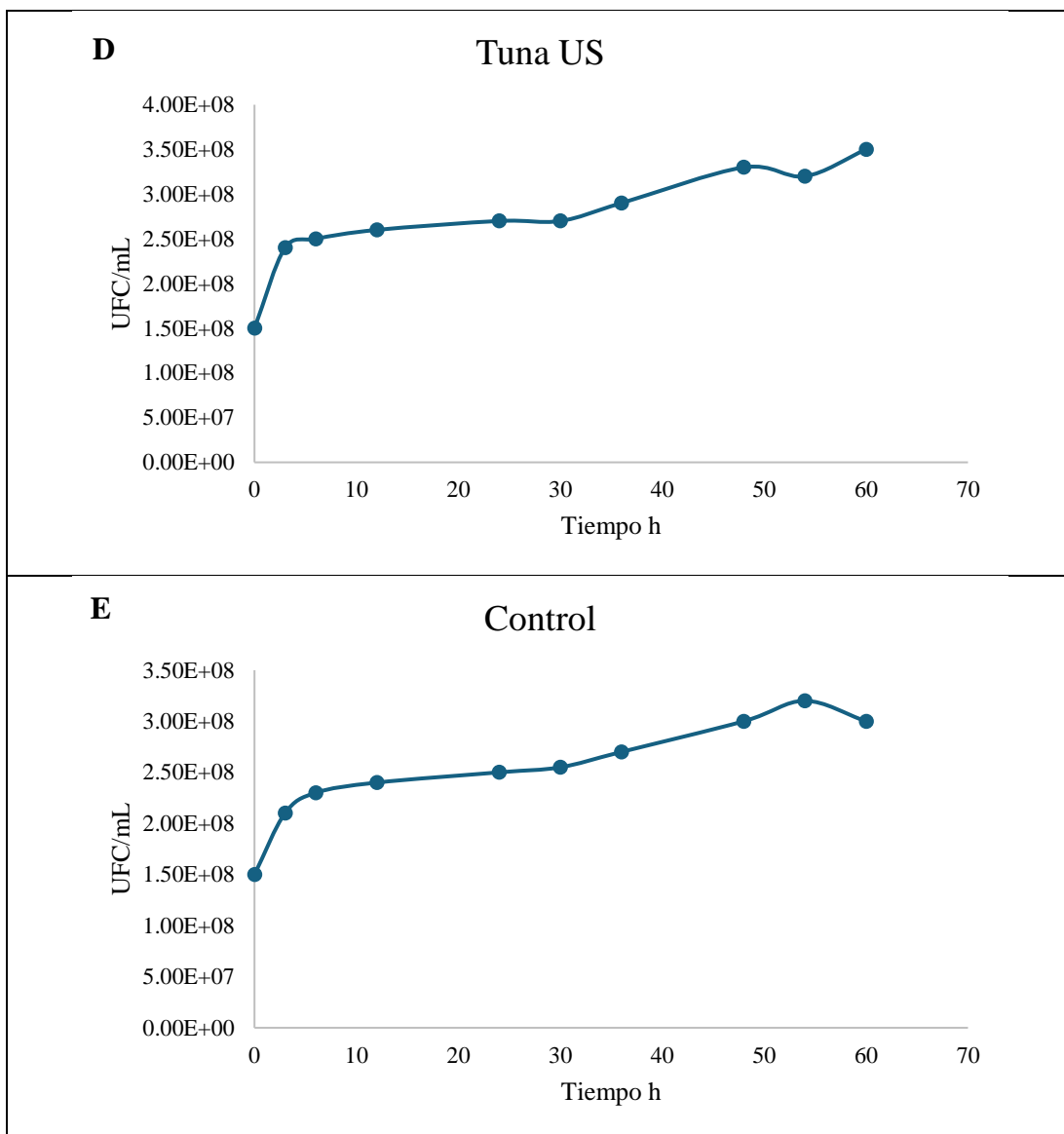




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *S. boulardii*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo YPD sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

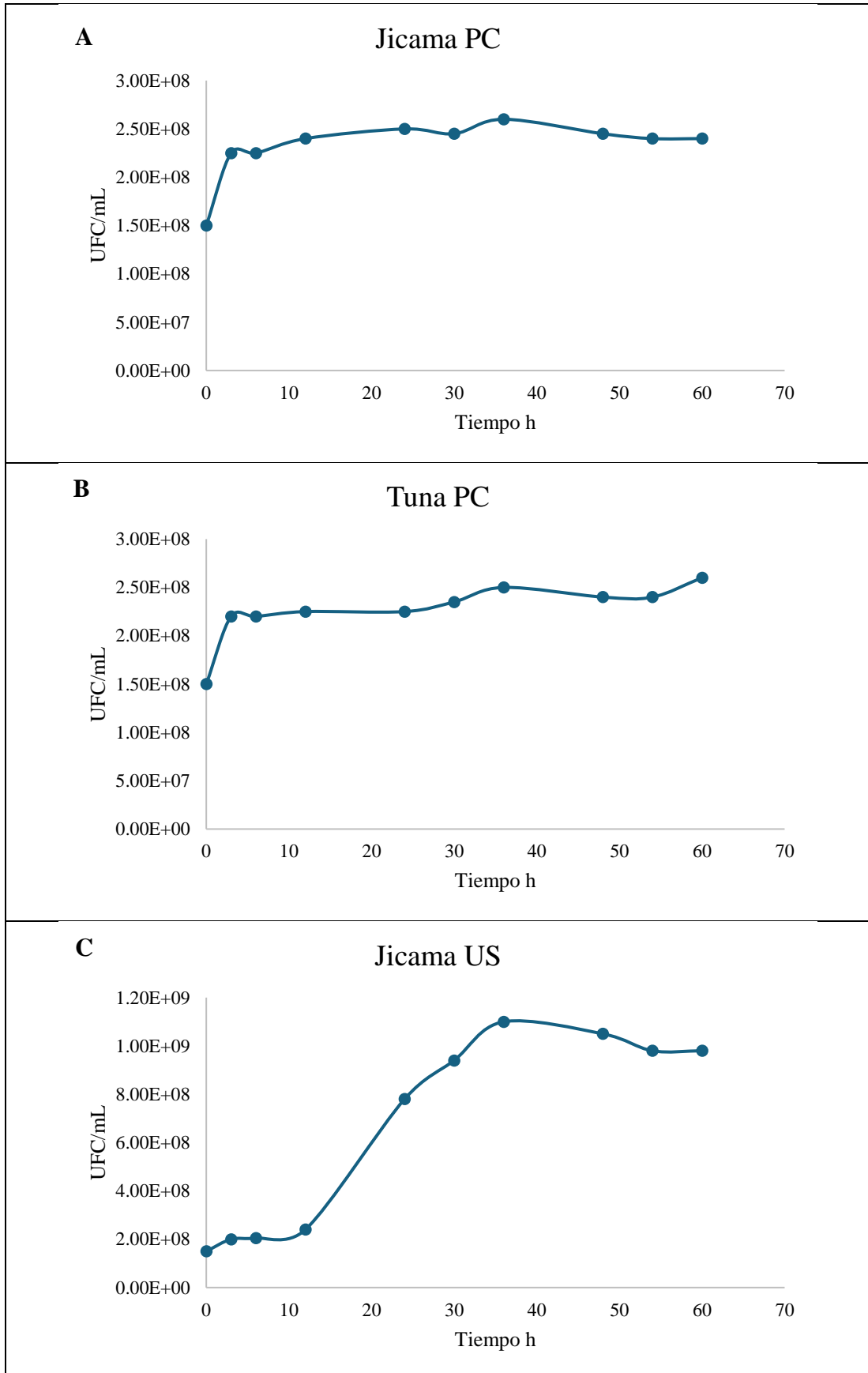
Anexo O. 7. Curvas de crecimiento de *L. acidophilus* R2

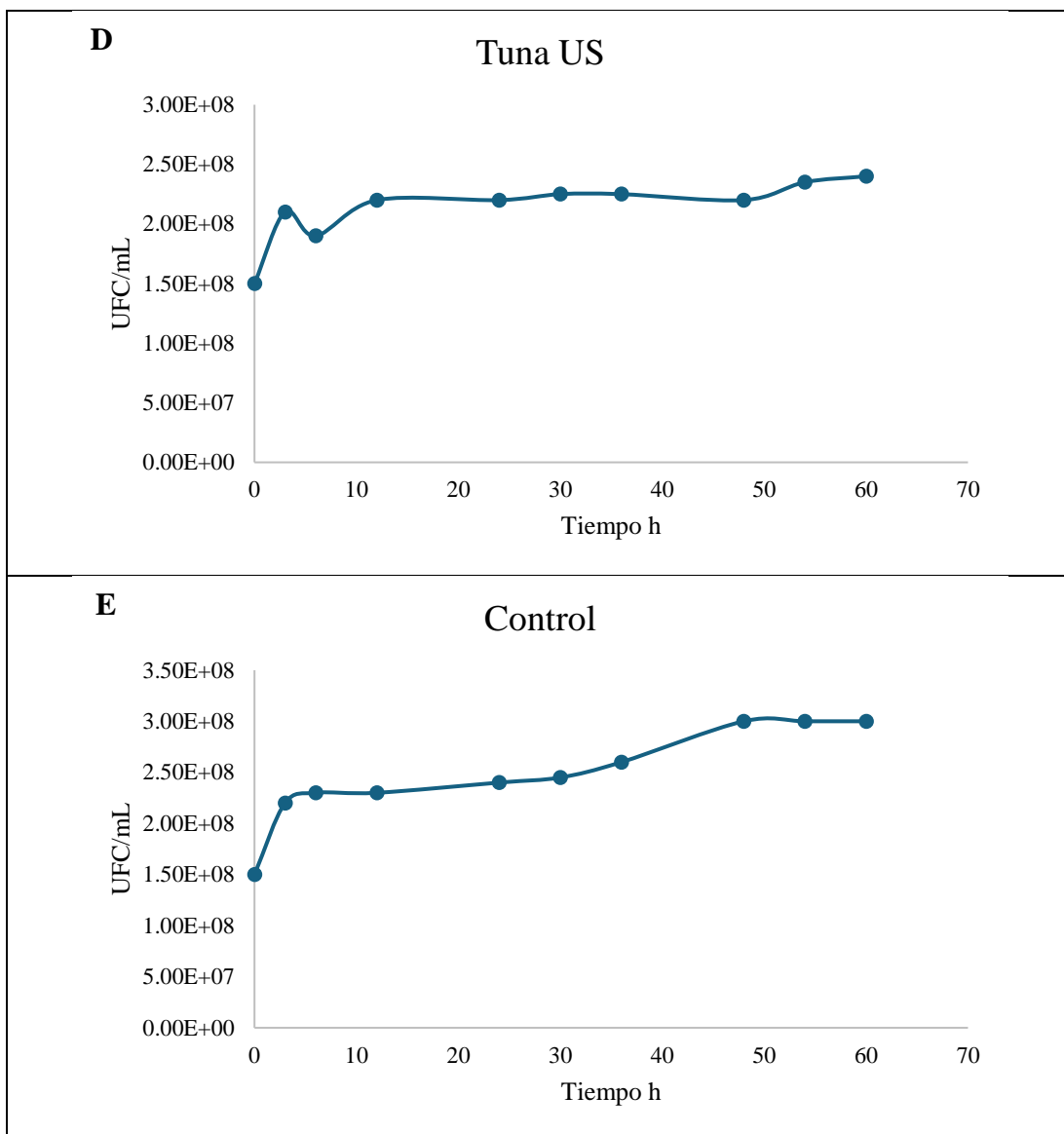




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *L. acidophilus*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo MRS sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

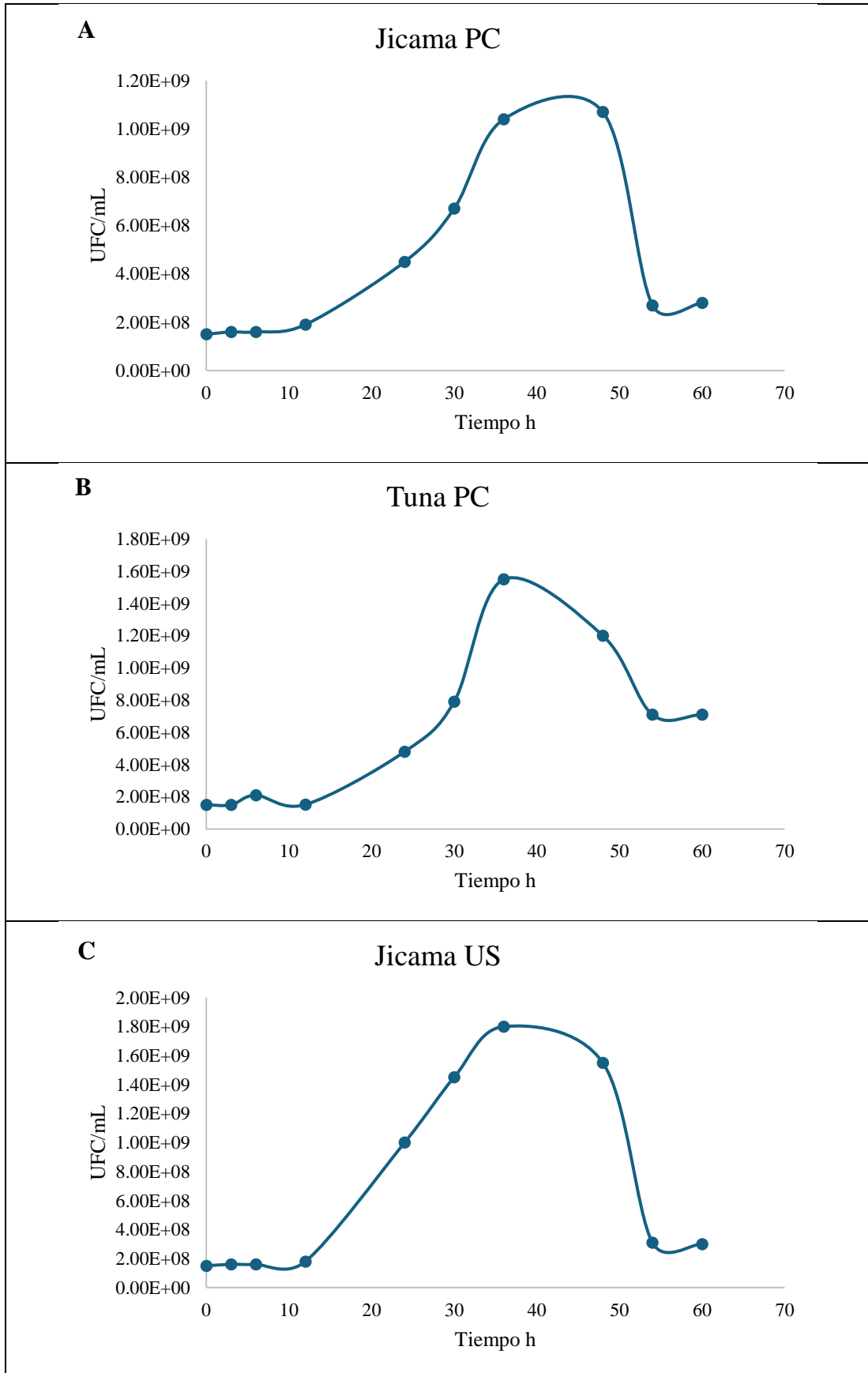
Anexo O. 8. Curvas de crecimiento de *B. longum* R2

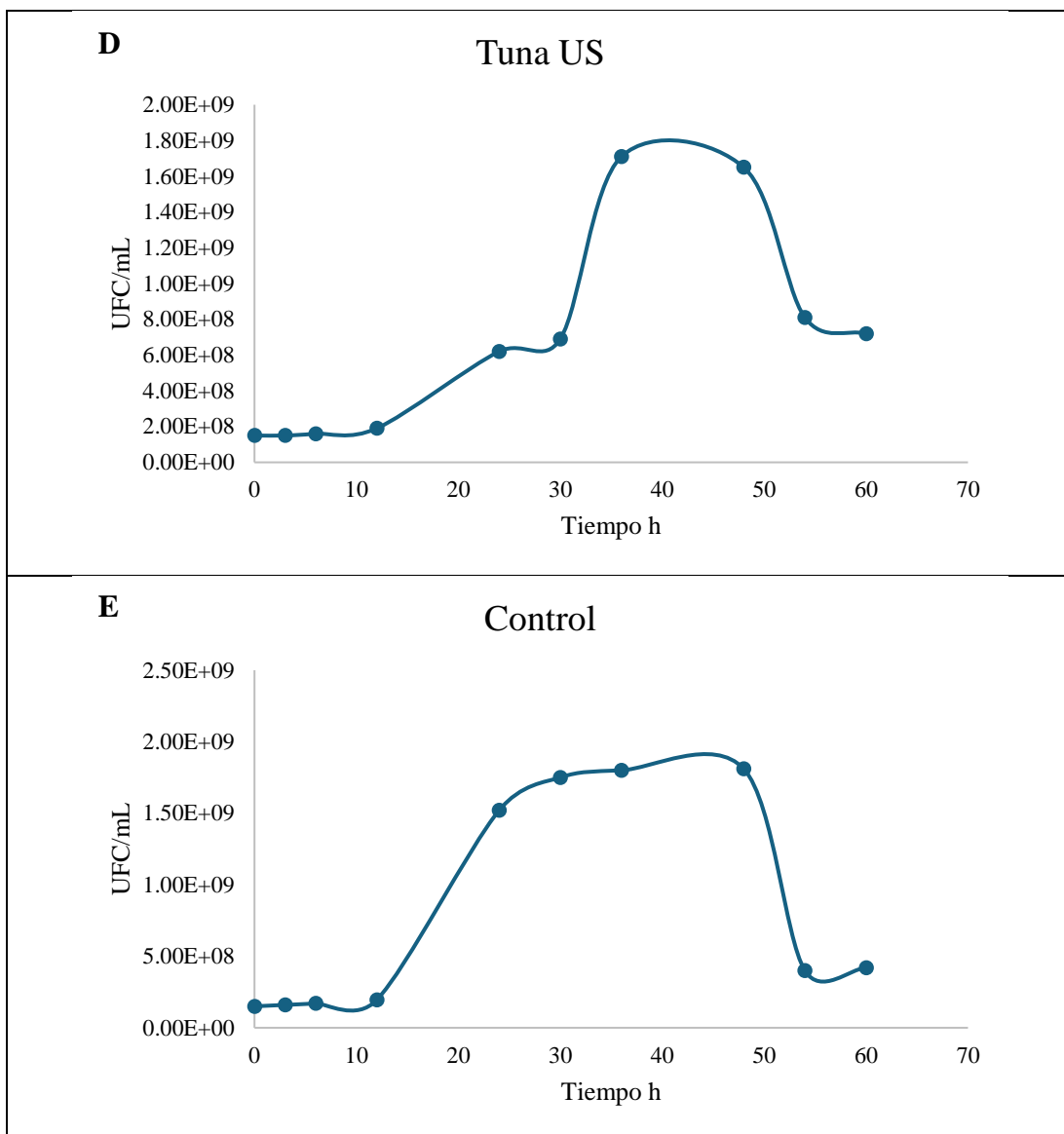




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *B. longum*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo MRS sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

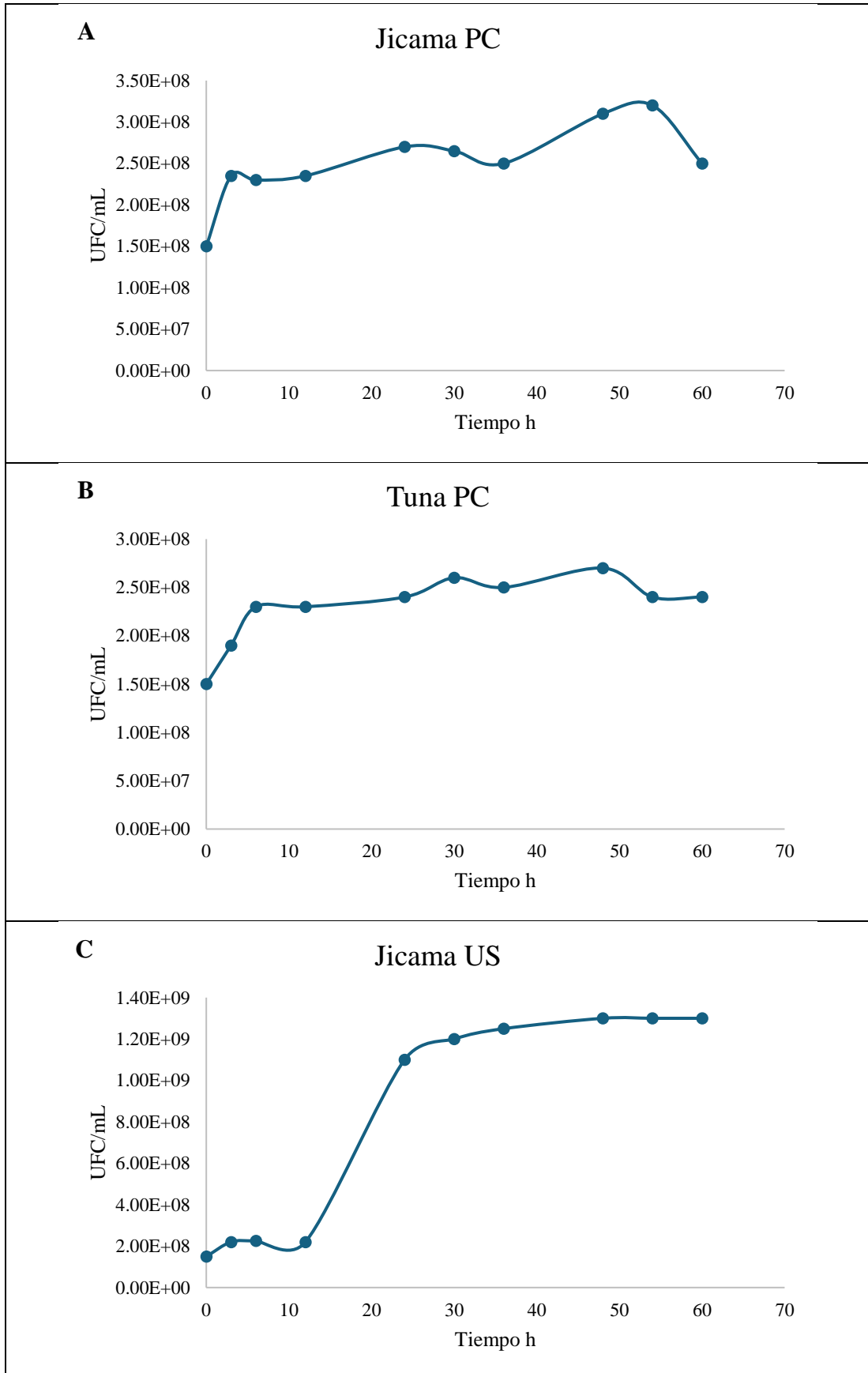
Anexo O. 9. Curvas de crecimiento de *S. boulardii* R2

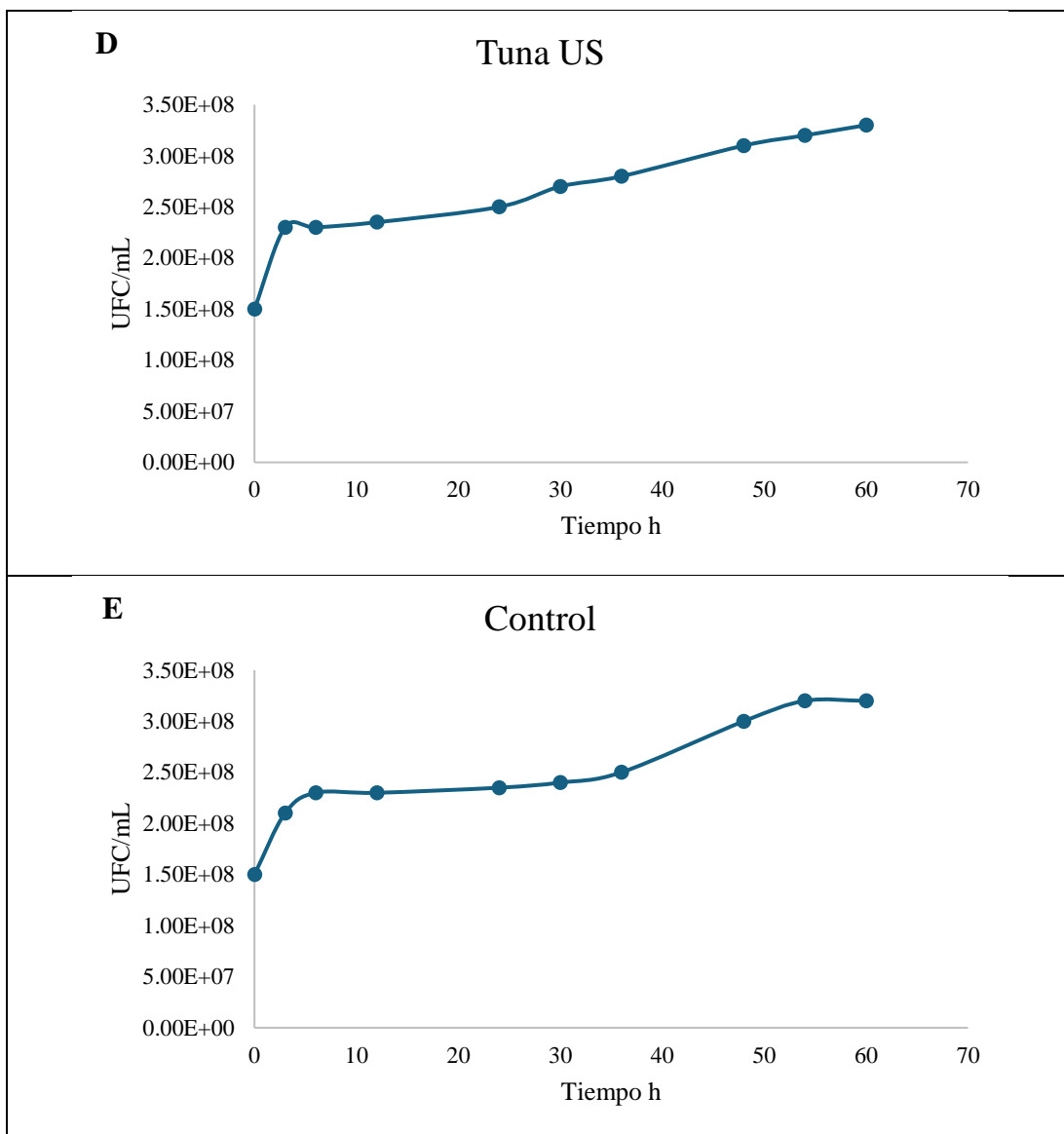




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *S. boulardii*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo YPD sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

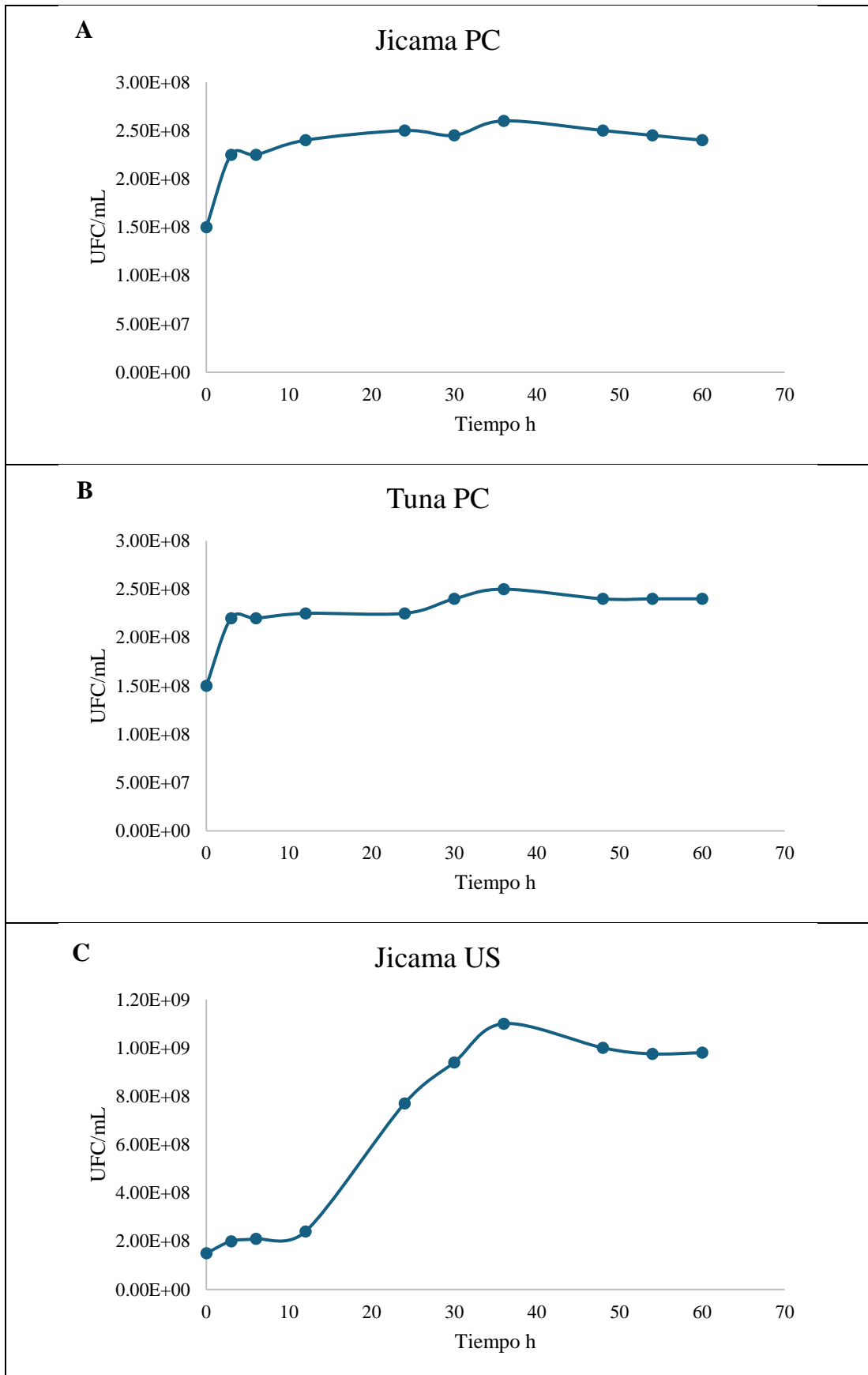
Anexo O. 10. Curvas de crecimiento de *L. acidophilus* R3

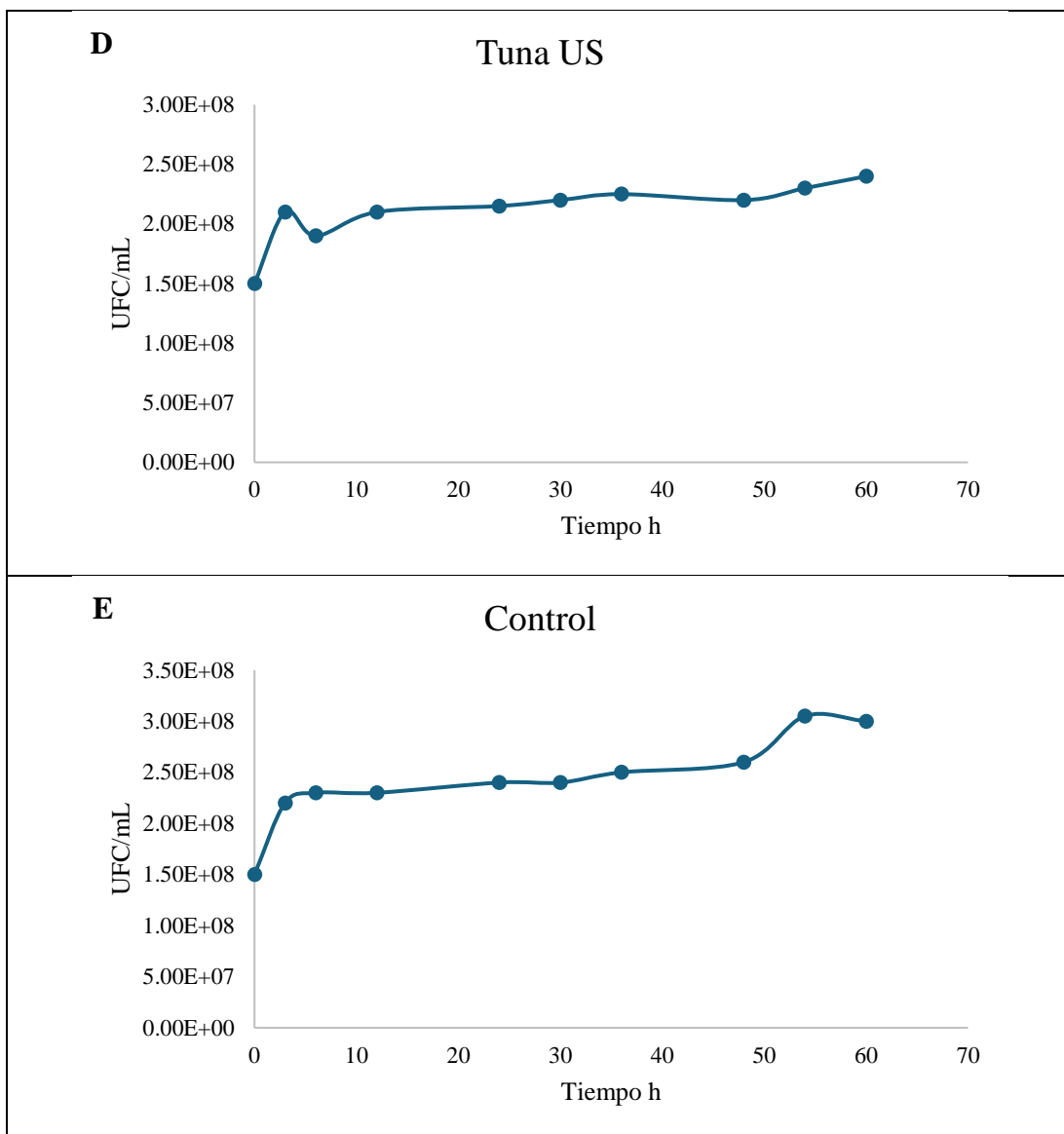




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *L. acidophilus*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo MRS sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

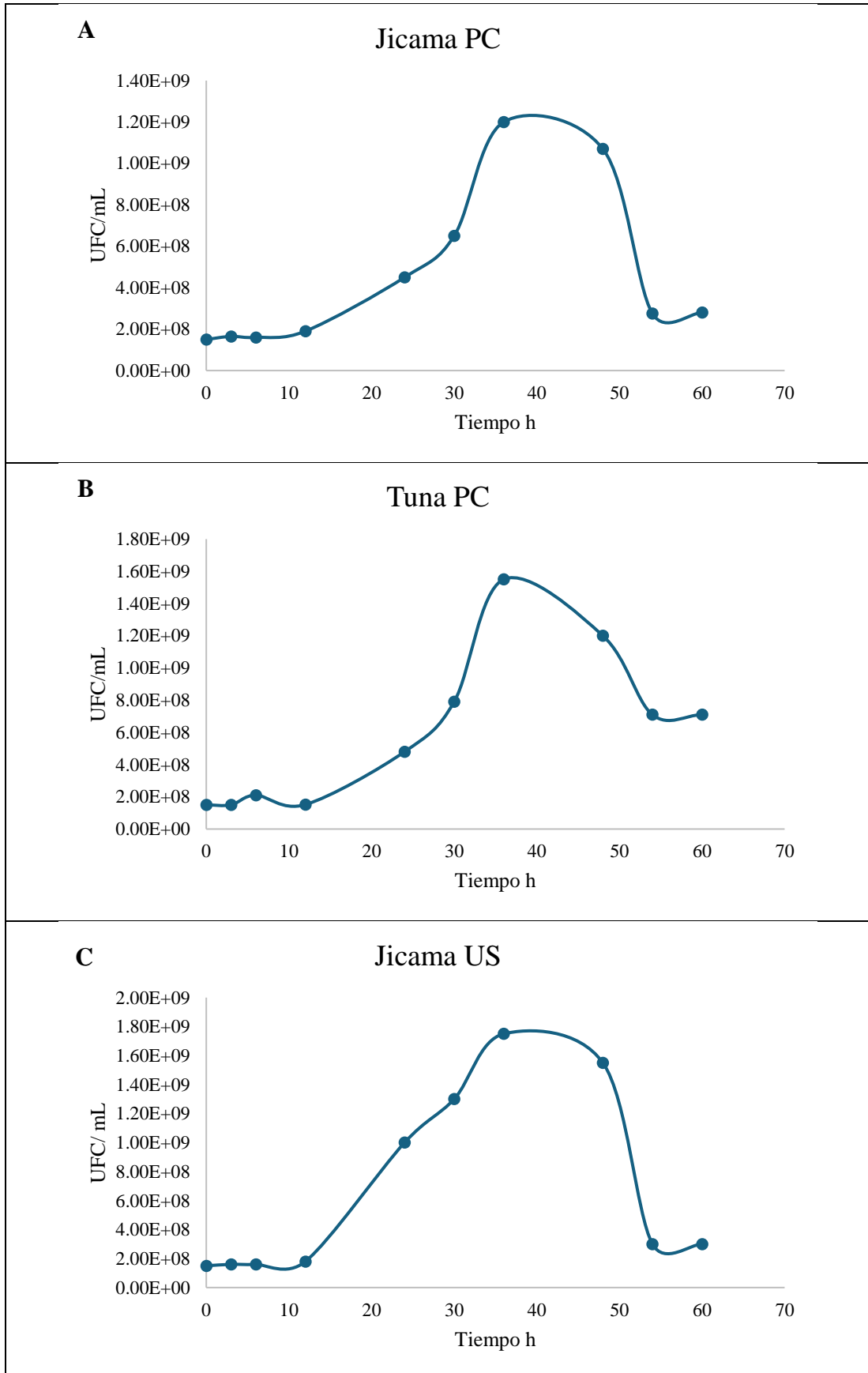
Anexo O. 11. Curvas de crecimiento de *B. longum* R3

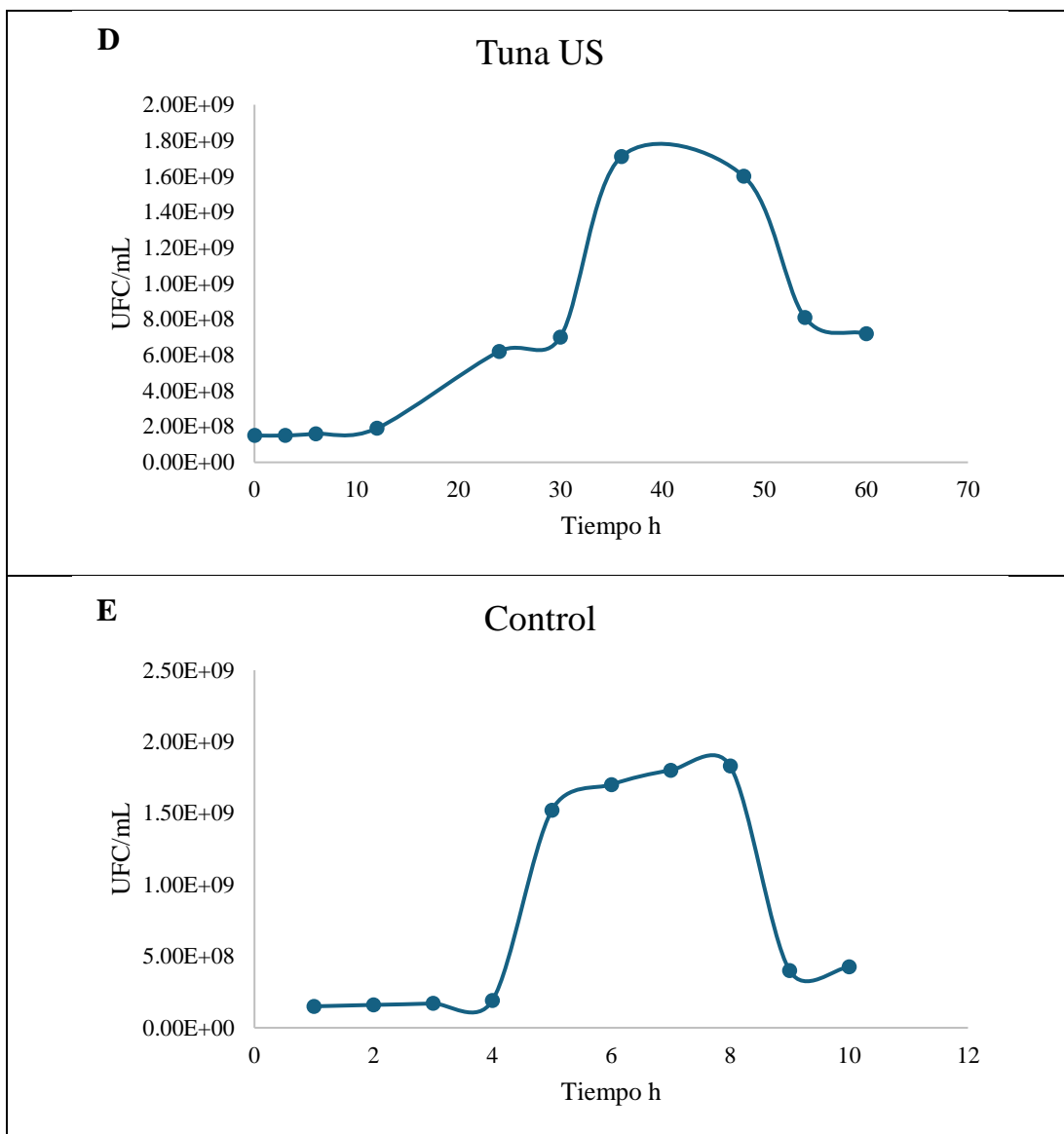




Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL **A)** Curva de crecimiento de *B. longum*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo MRS sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

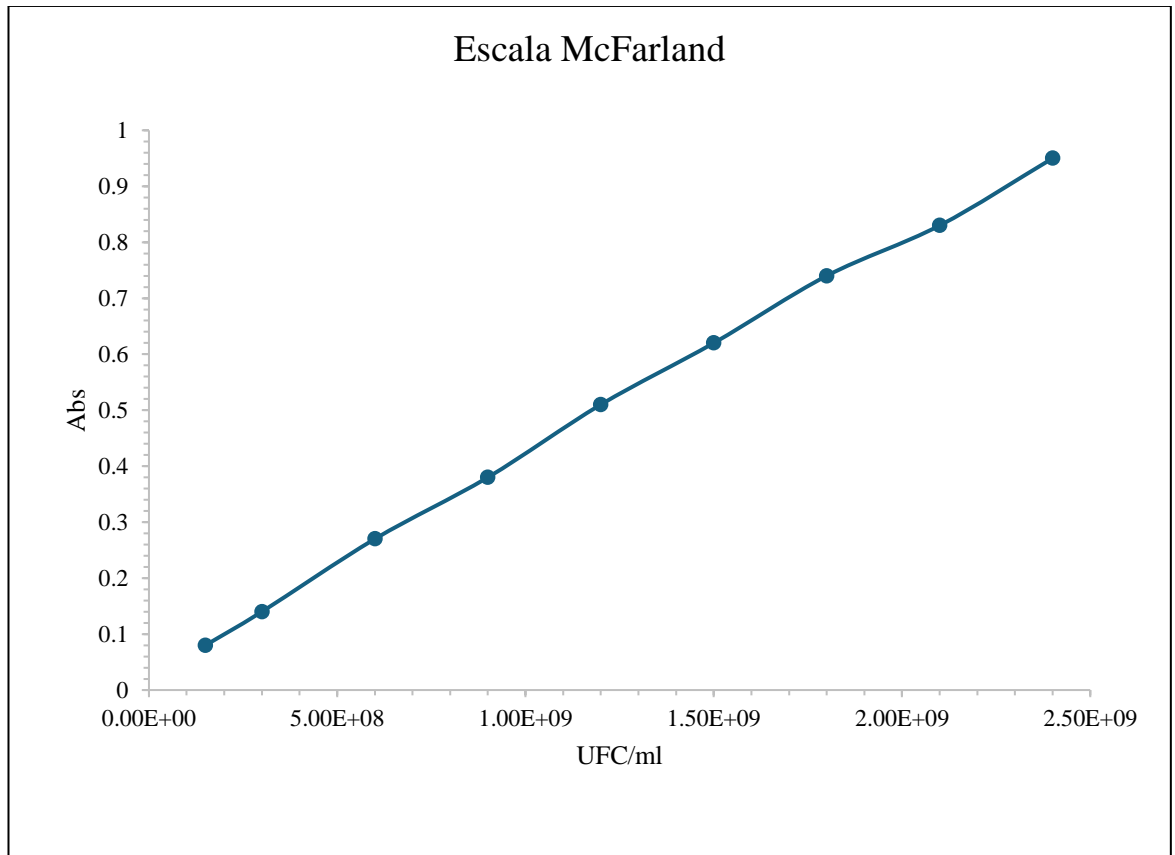
Anexo O. 12. Curvas de crecimiento de *S. boulardii* R3





Nota: Curvas de crecimiento con valores de UFC/mL estimado **A)** Curva de crecimiento de *S. boulardii*, con el tratamiento de jícama PC. **B)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna PC. **C)** Curva de crecimiento con el tratamiento de jícama US. **D)** Curva de crecimiento con el tratamiento de tuna US. **E)** Curva de crecimiento del control, caldo YPD sin suplemento de extracto de inulina. En los diferentes apartados la sección seleccionada pertenece a la fase exponencial.

Anexo O. 13. Curva estándar de McFarland



Anexo P. Diseño experimental

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Materia vegetal	38,0278	1	38,0278	0,07	0,7908
B:Probioticos	53042,9	2	26521,4	50,20	0,0000
C:Metodo	1722,25	1	1722,25	3,26	0,0836
Interacciones					
AB	11068,2	2	5534,11	10,47	0,0005
AC	2516,69	1	2516,69	4,76	0,0391
BC	6572,67	2	3286,33	6,22	0,0067
ABC	15638,2	2	7819,11	14,80	0,0001
Residuos	12680,7	24	528,361		
Total (Corregido)	103280.	35			

Anexo P. 1. Análisis de Varianza para N de colonias – Suma de Cuadrado Tipo III