

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TÉCNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**EVALUACIÓN DE UN MEDIO SÓLIDO A BASE DE CÁSCARA DE *ALOE VERA*
PARA CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS PRÓBIOTICOS**

POR:

MARIA DEL ROSARIO MARTINEZ SANCHEZ

**Presentada como requisito parcial para
Obtener el título de:**

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

SALTILLO, COAHUILA, MEXICO.DICIEMBRE 2012.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISION DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**EVALUACIÓN DE UN MEDIO SÓLIDO A BASE DE CÁSCARA DE ALOE VERA
PARA CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS**

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado examinador como requisito parcial
para obtener el título en:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

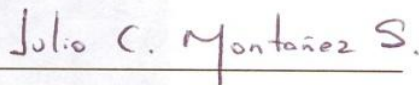
Presentado por:

MARIA DEL ROSARIO MARTINEZ SANCHEZ

El siguiente trabajo ha sido aprobado y evaluado por el siguiente comité:



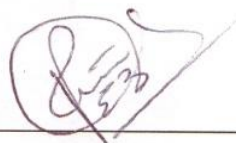
Dr. Mario Alberto Cruz Hernández
PRESIDENTE DEL JURADO



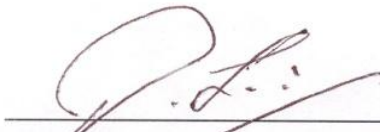
Dr. Julio Cesar Montañez Saenz
SINODAL



Dra. Dolores Gabriela Vázquez Martínez
SINODAL



Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda
SINODAL



Dr. Ramiro López Trujillo
COORDINADOR DE LA DIVISION DE CIENCIA ANIMAL



El presente trabajo de investigación ha sido desarrollado en el marco de las actividades comprometidas en el proyecto titulado “**Evaluación de un medio sólido a base de cáscara de *Aloe vera* para crecimiento de microorganismos probióticos**” con Clave 202.0405.7118, elaborado en el programa de cooperación en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

AGRADECIMIENTOS

A Dios Jehova por darme la oportunidad de vivir, de bendecir mi camino y por darme la fuerza y sabiduría para de seguir delante de saber que no estoy sola...

A mi Alma, Terra, Mater: por abrirme las puertas de esta casa de estudios y darme las oportunidades necesarias para poder concluir mis estudios profesionales.

Al Dr. Mario Alberto Cruz Hernández, mi asesor principal por haber confiado en mi; por facilitarme todo el material necesario iniciando por el Lab. De Microbiología, aunque las condiciones no eran muy adecuadas, gracias al esfuerzo de cada uno de nosotros (Rafa, Ceci y mio: Charys) y de nuestro Asesor (Dr. Mario), lo adecuamos para poder trabajar, en esta etapa aprendí muchas cosas, entre las cuales resalta que no hay barreras mas grandes que las ganas y el esfuerzo para no poder hacer las cosas; por contribuir en mi formación académica gracias Dr.

A la Dra. Gaby, por su disponibilidad y el apoyo brindado..

A la maestra Mildred, por su disponibilidad y amabilidad..

A mis profesores (as) por haberme compartido parte de su conocimiento y experiencia, la maestra Laurita, maestra María, Dra. Charles, Dra. Gaby, Dr. Heliodoro, maestra Xóchitl, Químico Reboloso, Dra. Lulú, Dr. Mario...

DEDICATORIAS

Con muchos amor y cariño a la familia Martínez Sánchez por todo el apoyo moral y económico gracias... a pesar de todos los obstáculos aquí estamos, LOS AMO...

Iniciando por mis padres Manuel Martinez* aunque ya no estas con nosotros gracias papá, a mi mamita hermosa Elena Sánchez por ser la mejor mamá del mundo, porque a pesar de todo lo que pasaste nunca perdiste la bondad, por siempre estar conmigo, por todo el apoyo que me das por darme la confianza, por preocuparte por mí, por poner a tus hijos en primer lugar antes que a ti, GRACIAS mamá..

A mis hermanos por todo el apoyo moral y económico muchas gracias, por enseñarme a salir adelante; a mi hermano Orlis, por haberte esforzado y a pesar de tu corta edad, lograste aislarnos y emprender un nuevo camino, a mi hermana guille aunque estuvimos separados siempre nos muestras amor y nos esperas con mucho entusiasmo, a mi hermanita Rey, que es como una segunda madre para mí, gracias hermanita por esforzarte y ver por nosotros, como olvidar tus aventuras en USA, eres un gran ejemplo de valentía y bondad, a mi hermano Juan por haber manejado la disciplina en nosotros, muchas gracias, por preocuparse y saber que contamos con el, aunque se encuentra lejos sé que piensas en nosotros, a mi hermanita Yolis por la confianza, el amor y la alegrías que pasamos gracias hermanita, a mi hermanita mary, por la confianza, el apoyo, por saber que siempre estas ahí, por cuidar de mamá gracias hermanita, A mi hermano Armand y Nolí (los manitos bonitos) por todas las

alegrías que hemos pasado, por todo el apoyo moral que me han brindado, gracias manitos bonitos los quiero mucho.. y quien no podía faltar, el sol de la casa, a mi sobrina Adali (lala) por darnos muchas alegrías y unirnos cada vez más..

A la Sra. Carmen por cuidar de mi en mi infancia muchas gracias..

A Daily Neuws Vazquez Morales, por estar conmigo en las buenas y en las malas por el amor y el apoyo que me brindas, por todos esos momentos que pasamos juntos, muchas GRACIAS Chikis, Te quiero mucho...

A mis amigos y compañeros de generación CXIV: Rosy, Brenda, Lidia, Henry, Luis, Clarita, Naye, Jaz, Nahum, Lauri, Karen, Fabiola, Ivon, Luci, Marilu, Fabian, Ulises, Chava, Joaquin, Pamela, Lalo, las dos Ales, lindita, Betsa, Toño, Jaguey, Raulito, Cecy... por todos esos momentos de Alegrías y de tristezas que pasamos juntos, por contribuir en mi formación académica y personal gracias..

Con mucho amor y cariño a mi amiga Lilí, a mi amigo Raholyd, por todo el apoyo brindado y por nunca darme la espalda, siempre los llevo en mi corazón los quiero mucho..

INDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	11
RESUMEN	12
CAPITULO 1	14
1.1 INTRODUCCIÓN	14
1.2 OBJETIVOS	17
1.2.1 objetivo general.....	17
1.2.2objetivos especificos	17
1.3 HIPÓTESIS	18
1.4 JUSTIFICACIÓN	18
CAPITULO 2	19
REVISIÓN DE LITERATURA.....	19
2.1 ALIMENTOS FUNCIONALES.....	19
2.1.1. Requisitos fundamentales:.....	20
2.1.2 Características	21
2.1.3 Funciones	22
2.1.4 Tipos de alimentos funcionales más comunes.....	28
2.2 PROBIÓTICOS	29
2.2.1 Características de selección de una cepa probiótica	30
2.2.2 Tipos de microorganismos.....	30
2.2.3 Principales mecanismos de acción	31
2.2.3 Beneficios para la salud.....	32
2.2.4 Microorganismos probióticos en los alimentos	33
2.3 ALOE VERA.....	35
2.3.1 Características	35
2.3.2 Composición	36
2.3.3 Propiedades.....	37
2.3.4. Usos.....	41
CAPITULO 3	41

MATERIALES Y MÉTODOS	41
3.1. Obtención de la muestra	41
ETAPA 1. PURIFICACIÓN.....	42
3.2 Aislamiento de microorganismos probióticos	42
3.3 Caracterización morfológica.....	45
3.4 Conservación de Cepas	45
ETAPA 2: SELECCIÓN DE CEPAS EN MEDIO DE CÁSCARA DE ALOE VERA	46
3.5 Preparación del medio y selección de cepas probióticas	46
ETAPA 3. CINÉTICA DE CRECIMIENTO.....	48
3.6 Determinación de tiempo de fase exponencial de microorganismos probióticos seleccionados.	48
CAPITULO 4	49
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	49
4.1 Caracterización de <i>aloe vera</i>	49
ETAPA 1. PURIFICACIÓN DE CEPAS PROBIÓTICAS	50
4.2 Aislamiento de cepas probióticas.....	50
4.3 Conservación de cepas.....	52
ETAPA 2: SELECCIÓN DE CEPAS EN MEDIO DE CÁSCARA DE ALOE VERA	53
4.4.5 Preparación del medio y selección de cepas probióticas	53
ETAPA 3. CINÉTICA DE CRECIMIENTO.....	60
4.5 Determinación de tiempo de fase exponencial de microorganismos probióticos seleccionados.	60
CAPITULO 5	65
CONCLUSIONES	65
CAPITULO 6	66
CITAS BILIOGRAFICAS	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Moduladores del crecimiento y diferenciación	22
Cuadro 2. Moduladores del metabolismo	23
Cuadro 3. Defensa antioxidante (frente a especies reactivas de oxígeno)	25
Cuadro 4. Acción sobre el sistema cardiovascular	25
Cuadro 5. Moduladores función intestinal	26
Cuadro 6. Moduladores de la conducta y funciones psicológicas	27
Cuadro 7. Microorganismos usados como probióticos	30
Cuadro 8. Principales microorganismos probióticos y sus efectos beneficiosos para la salud	33
Cuadro 9. Alimentos ricos de microorganismos probióticos	34
Cuadro 10. Lista de las principales enfermedades y molestias que la planta de la sábila ayuda a prevenir, controlar ó curar	40
Cuadro 11. medio de cultivo MRS sólido (base 1 litro).....	43
Cuadro 12. Medio líquido (base 1 litro)	47
Cuadro 13. Resultados para la determinación de porcentaje de humedad parcial (base 1 Kg).....	49
Cuadro 14. Características morfológicas de las cepas probióticas pertenecientes al laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la UAAAN	51
Cuadro 15. Número de colonias en un medio nutritivo a base de cáscara de <i>Aloe vera</i> como ingrediente principal.....	53

Cuadro 16. Promedio de número de colonias de microorganismos probióticos desarrolladas en medio de sábila a partir de diluciones con diferente concentración de bacterias 57

Cuadro 17. No. De colonias probióticas provenientes de fermentaciones de dos diferentes muestras (maíz y suero), evaluados en un periodo de 5 días. 60

Cuadro 18. Cinética de crecimiento de dos muestras diferentes utilizando el número promedio de colonias probióticas pertenecientes a una fermentación de cáscara de sábila. 61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cepas puras conservadas a temperaturas de -18°C	52
Figura 2: Crecimiento de bacterias probióticas en un tiempo de 24 horas con una dilución de 10^3	58
Figura 3: Grafica de Cinética de crecimiento de microorganismos probióticos pertenecientes a una muestra de suero.	62
Figura 4: Grafica de curva de crecimiento de microorganismos probióticos pertenecientes a una muestra de maíz.	63

RESUMEN

El número de personas con problemas alimenticios es cada vez mayor, uno de los principales factores a este suceso se debe a la vida acelerada que se tiene hoy en día, los malos hábitos de alimentación, implica que se cambian los compuestos nutrimentales por otros que no tienen aporte nutricional, aunque su efecto no es benéfico, han logrado obtener la saciedad del individuo. Con el paso del tiempo esta variedad de alimentos ha ocasionado una serie de enfermedades en la sociedad, entre los cuales destacan la obesidad, principalmente a temprana edad, hipertensión arterial, colesterol elevado, alto índice de glucosa y muchas otras enfermedades que en conclusión tienen un efecto negativo a la población. Por estas razones los gobiernos de los diferentes países han lanzado campañas para implementar buenos hábitos alimenticios; en el caso de nuestro país lo conocemos como el “plato del buen comer”, el cual es difundido principalmente por la secretaria de salud (SSA).

De acuerdo a lo anterior, la industria alimentaria ha creado una variedad de productos tomando en cuenta lo establecido por la SSA; de esta cadena se han desprendido un sinnúmero de alimentos, por ejemplo, suplementos alimenticios, verduras envasadas, frutas cristalizadas, leches fortificadas y la introducción de microorganismos probióticos para la elaboración de bebidas funcionales.

El presente trabajo, se enfoca principalmente en el tiempo de crecimiento de microorganismos probióticos en un medio sólido, utilizando como ingrediente principal en el sustrato cáscara de *Aloe vera*, los resultados contribuirán en la elaboración de una bebida funcional.

Para ello se analizó las cepas probióticas pertenecientes a la colección del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. En la primera etapa se activaron los microorganismos en Agar MRS sólido, a una temperatura de 35°C por 48 horas en condiciones anaeróbicas; una vez pura la bacteria, se aisló

para su posterior conservación. Seguido de esto, se preparó medio sólido a base de cáscara de *Aloe vera*, se inocularon 100 μL de bacteria por cada muestra, a una temperatura de 35°C por 48 horas en condiciones de anaerobiosis. De las cepas evaluadas las que presentaron un mejor crecimiento microbiano en este medio fueron las identificadas como maíz y suero. Posteriormente se llevo a cabo la cinética de crecimiento de cada una de ellas, dando los siguientes resultados: en el caso de maíz, el mejor tiempo de desarrollo es de 48 a 72 horas alcanzando 13×10^6 UFC, mientras que en el suero es de 24 a 72 horas con un número de 19×10^6 UFC.

Palabras clave: bebida funcional, Aloe vera, probiótico.

CAPITULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la problemática de la mala alimentación, hoy en día la población exige alimentos con mejor calidad nutrimental, mostrando aceptación satisfactoria por productos apegados a los requisitos de la SSA y demás organizaciones gubernamentales relacionados a este fin; dando paso a la creación de alimentos funcionales, considerados como aquellos productos con un alto o bajo aporte nutricional, teniendo efectos benéficos sobre uno o mas de las funciones humanas, ya sea mejorando las condiciones generales y físicas, o bien, disminuyendo el riesgo de enfermedades.

Los probióticos son cultivos puros, o mezcla de cultivos de microorganismos vivos, que al ser aplicado al ser humano y a animales en cantidades adecuadas aportan efectos beneficiosos al huésped, mejorando las propiedades de la microflora nativa. Los microorganismos mas empleados son los pertenecientes al género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que son comensales del tracto gastrointestinal humano y han sido, utilizadas tradicionalmente en diversas fermentaciones alimentarias; de acuerdo a estudios realizados, dentro de sus beneficios se encuentran la reducción en la incidencia de estreñimiento, diarrea, cáncer intestinal ,estimulación del sistema inmune, prevención y tratamiento de trastornos gastrointestinales de diversa etiología, reducción de intolerancia a la lactosa, modulación de respuesta inmunitaria y reducción de los valores de colesterol.

Hoy en día, los yogures y otras leches fermentadas constituyen los principales vehículos para el aporte de probióticos, ya que, además de las propiedades funcionales de las bacterias inoculadas, estos alimentos tienen gran aceptación en los distintos grupos de población y son fáciles de digerir (Sanz, 2003).

En la elaboración de bebidas lácticas, se han empleado la adición de componentes naturales, tal es el caso de las frutas, siendo la más empleada la fresa. Con el paso del tiempo se incorporaron compuestos con propiedades de mejora digestiva (ricos en fibra) y frutos secos, por ejemplo, la linaza, avena, ciruela pasa, nuez, el nopal y en los últimos años, se está estudiando las propiedades y beneficios que aporta el *Aloe vera*, y el efecto que tienen los microorganismos probióticos al utilizar un medio combinado con esta planta.

La sábila (*Aloe vera* o *Aloe barbadensis Miller*), es una planta originaria de África, específicamente de la península de Arabia. Su nombre genérico *Aloe* proviene del término árabe *alloe*, que significa sustancia amarga y brillante, se le denomina también con el nombre de sábila; esta y otras variedades se debe a la deformación del vocablo árabe *Cabila* que significa planta espinosa; de alrededor de 300 especies de *Aloe*, se ha demostrado científicamente que son cuatro tipos los que presentan mayores propiedades medicinales: 1) *Aloe barbadensis Miller*, 2) *Aloe perryi Baker*, 3) *Aloe ferox* y 4) *Aloe arborenses*. No obstante, el *Aloe barbadensis Miller* es considerado como la más utilizada en la medicina curativa y la más popular en el mundo entero llamada comúnmente sábila. Tiene una participación relevante en la industria de *health food* y *nutraceúticos*, y una amplia participación en alimentos funcionales. En otros mercados, utilizan el *Aloe* en preparación de productos dietéticos y *light*. Otro importante uso es el proporcionado por el gel de *Aloe* que contiene parte de la Aloína o goma de la cáscara, que se utilizan como uno de los ingredientes principales de algunas dietas y regímenes para bajar de peso.

Los elementos encontrados en cantidades representativas son:

Minerales (Manganeso, Potasio, Sodio, Cromo, Cloro, Magnesio, Zinc, Hierro).

Vitaminas (Betacaroteno, Vitaminas B1, B2, B3, B6, E, Ácido fólico, Colina).

Aminoácidos esenciales (Lisina, Treonina, Valina, Metionina, Leucina, Isoleucina, Fenilalanina, Triptófano), Serina, Ácido Glutámico, Prolina, Tirosina.

Mono y polisacáridos (Celulosa, Glucosa, Manosa, Galactosa, Aldonesta, Ácido urónico, L-ranosa, Xilosa, Arabinosa).

Enzimas (Oxidasa, Amilasa, Catalasa, Lipasa, Alinasa).

Antraquinonas (Aloína, Isobarbaloina, Barbaloina, Acido Cinámico, Antranol).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluación de un medio sólido a base de cáscara de *Aloe vera*, para crecimiento y propagación de microorganismos probióticos pertenecientes a la colección del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, mediante mejor adaptación al medio y cinética de crecimiento.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ❖ Purificación y conservación de 16 cepas de microorganismos probióticos de la colección del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la UAAAN.
- ❖ Caracterización de cáscara de *Aloe vera*.
- ❖ Realizar fermentaciones en medio sólido, utilizando como soporte cáscara de *Aloe vera* y microorganismos probióticos.
- ❖ Seleccionar microorganismos que presenten mayor número de UFC.
- ❖ Realizar cinética de crecimiento de las bacterias seleccionadas e identificar el tiempo de fase exponencial.

1.3 HIPÓTESIS

El empleo de las fibras de Aloe vera, es un medio apropiado para el crecimiento y propagación de microorganismos probióticos.

1.4 JUSTIFICACIÓN

En un mundo industrializado acelerado, el organismo humano sufre diferentes debilidades, tal es el caso del intestino, que se ve bombardeado a diario por sustancias que producen alergias, compuestos químicos y bacterias potencialmente nocivas presentes en los alimentos y las bebidas. Por otra parte, las enfermedades en general, ciertos fármacos, la modificación de los hábitos alimenticios o el estrés pueden alterar el equilibrio de nuestra microflora intestinal y hacer posible el desarrollo de las bacterias perjudiciales. Por ello, los probióticos desempeñan un papel esencial en la salud y la prevención de las enfermedades en el ser humano. Se puede restablecer el equilibrio natural del organismo, potenciar la salud y mantener el bienestar mediante el consumo de probióticos.

En la industria alimentaria los probióticos son utilizados principalmente en alimentos lácticos, como el queso y el yogur. Con el paso del tiempo surgió la adición de frutas, frutos secos, cereales ricos en fibra y últimamente, el uso del nopal ha provocado un gran auge en esta industria trayendo consigo el análisis de la sábila destinada a este sector alimenticio. En nuestro país, esta planta es comúnmente conocida. Por su facilidad de adaptación y sus propiedades, el *Aloe vera* ha despertado el interés como cualquier cultivo, habiéndose establecido plantaciones en 1,752 hectáreas, de las cuales 780 (44.5%) son de temporal y las restantes 972 (55.5%) comprenden cultivos de riego. En base a ello, la industria de los Alimentos tiene una amplia tarea para destinar el aprovechamiento de esta planta.

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 alimentos funcionales

El termino Alimentos Funcionales, según la comisión Europea de Acción Concertada sobre la Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa (FUFOSE), abreviación en ingles), la definen como: “Un producto alimenticio puede ser considerado solamente funcional si, además del impacto en la base nutricional, este tiene efectos benéficos sobre uno o mas funciones en el organismo humano, ya sea mejorando las condiciones generales y físicas o disminuyendo el riesgo de enfermedades” (Siro y col. 2008).

La definición oficial más ampliamente aceptada es la del ILSI (International Life Sciences Institute):“Un alimento funcional es aquél que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y que sus efectos positivos justifican que pueda reivindicarse sus características funcionales o incluso saludables”.

Es decir, un alimento se considera funcional porque, además de destacar en sus propiedades nutritivas, contiene algunos elementos que al consumirlos diariamente en una dieta equilibrada contribuye a mantener o mejorar nuestro estado de salud y bienestar.

Esta denominación apareció hace años en Japón, país pionero en establecer un sistema de aprobación para los alimentos funcionales, basado en los resultados de investigaciones sobre los beneficios para la salud de productos concretos o de sus componentes.

Su rango de beneficios va desde ácidos, grasas y otros componentes encontrados en alimentos tales como aguacates, jitomates granos de cocoa, o productos fabricados que se les han agregado elementos funcionales, por ejemplo a yogures, leche y jugos (Chasquibol, 2003).

Es importante no confundir a los alimentos funcionales con los suplementos alimenticios o dietéticos, que no son alimentos convencionales, sino que contienen un ingrediente alimenticio o destinado a completar la alimentación.

Los alimentos funcionales deben cumplir unos requisitos fundamentales para su denominación, desarrollo y comercialización que están regulados por la Unión Europea en el reglamento (CE) N° 1924/2006 del parlamento Europeo y del consejo del 20 de diciembre del 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos.

2.1.1. REQUISITOS FUNDAMENTALES:

- 1) Se trata de un alimento convencional o de uso diario. No son comprimidos, ni encapsulado, ni ninguna otra forma de suplemento alimenticio.
- 2) Se consumen como parte de una dieta normal o usual.
- 3) Están compuestos por componentes naturales (en oposición a los sintéticos)
- 4) aunque es posible que se encuentren en concentraciones no naturales o en alimentos que normalmente no los contienen.
- 5) Ejercen un efecto positivo en funciones orgánicas, más allá de su valor nutritivo básico.
- 6) Mejoran el estado de salud y/o reducen el riesgo de enfermedad, o aportan beneficios para la salud, como la mejora de la calidad de vida, que incluye el rendimiento físico, psicológico y de comportamiento.

2.1.2 CARACTERÍSTICAS

1.-El alimento debe ejercer un efecto positivo sobre la salud o sobre una función fisiológica. Hemos de precisar que, recientemente, en el documento de consenso de la Unión Europea (FUFOSE, 1999) se determinan dos tipos de efectos: mejora del estado de salud y bienestar y/o disminución del riesgo de enfermedad.

2.- Los beneficios nutricionales y saludables de los alimentos o de los ingredientes específicos deben fundamentarse en una sólida base científica.

3.- La cantidad apropiada de ingesta diaria del alimento o del ingrediente debe ser establecida por expertos.

4.- El alimento, o el ingrediente, no debe resultar nocivo si se ingiere por encima de la ingesta recomendada.

5.- El ingrediente debe estar caracterizado por:

a) Sus propiedades físicas y químicas, valoradas a través de métodos analíticos detallados.

b) Su presencia cualitativa y cuantitativa en el alimento.

6.- El ingrediente no debe reducir el valor nutritivo del alimento.

7.- El alimento debe ser administrado como tal, de una manera convencional, nunca en forma de tabletas, cápsulas o polvos.

8.- El ingrediente debe ser un compuesto natural. De un modo general, se pueden describir tres condiciones que definen el carácter “funcional” de un alimento:

a) Ha de responder a las características de un alimento.

b) Siempre debe ser consumido formando parte de la elaboración de los platos que integran los menús de las dietas alimenticias.

c) El alimento debe ejercer, una vez ingerido, un efecto positivo sobre una determinada función fisiológica (Barró, 2002).

2.1.3 FUNCIONES

- Crecimiento y desarrollo.
- Metabolismo de sustancias.
- Defensa contra el estrés oxidativo.
- Sistema cardiovascular.
- Funciones del tracto gastrointestinal.
- Funciones psicológicas y conductuales.

2.1.3.1 FUNCIONES OBJETIVO

Cuadro 1. Moduladores del crecimiento y diferenciación

FUNCIONES OBJETIVO	COMPONENTE ALIMENTARIO
ADAPTACION MATERNA EN LA GESTACIÓN Y LACTANCIA	Micronutrientes Ác. grasos polinsaturados series omega 3 y 6. Energía
MADURACIÓN DEL ESQUELETO	Calcio Vitamina D Vitamina C
DESARROLLO DEL TUBO NEURAL	Ácido fólico
CRECIMIENTO CORPORAL	Factores de crecimiento Aminoácidos esenciales Ácidos grasos insaturados

DEFENSA INMUNOLOGICA	Vitamina A Vitamina D Vitaminas antioxidantes Ácidos grasos polinsaturados Omega 3 y 6 Elementos traza Arginina Nucleótidos y nucleosidos Probióticos
DESARROLLO PSICOMOTOR	Ácidos grasos polinsaturados Omega 3 y 6 Hierro Zinc Yodo

Cuadro 2. Moduladores del metabolismo

FUNCIONES OBJETIVO	COMPONENTES ALIMENTARIOS
MANTENIMIENTO DEL PESO DESEABLE	Densidad energética Sustitutivos de la grasa Relación grasa/carbohidratos Alimentos con bajo índice glicémico Fibra
CONTROL DE GLUCEMIA Y SENSIBILIDAD INSULINICA	Densidad energética Sustitutos de la grasa Relación grasa/carbohidratos Alimentos con bajo índice glicémico Fibra soluble viscosa Ácidos grasos saturados

CONTROL DE METABOLISMO	Densidad energética Sustitutivos de la grasa Relación grasa/carbohidratos Alimentos con bajo índice glicémico Fibra Ácidos grasos polinsaturados Ácidos grasos monoinsaturados omega 3 y 6.
RENDIMIENTO EN LA ACTIVIDAD FISICA	Agua y electrolitos Energía Carbohidratos de alto y bajo índice glicémico Sustancias ergonicas (creatinina) Proteínas y aminoácidos específicos
DEFENSA INMUNOLÓGICA	Vitamina A Vitamina D Vitaminas antioxidantes Ácidos grasos polinsaturados Omega 3 y 6 Elementos traza Arginina Nucleótidos y nucleosidos Probióticos
DESARROLLO PELCOMOTOR	Ácidos grasos polinsaturados omega 3 y 6 Hierro Zinc Yodo

Cuadro 3. Defensa antioxidante (frente a especies reactivas de oxígeno)

FUNCIONES OBJETIVO	COMPONENTES ALIMENTARIOS
PRESERVACION DEL ADN	Vitamina C Vitamina E Carotenoides Polifenoles incluyendo flavonoides
PRESERVACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLINSATURADOS	Vitamina C Vitamina E Carotenoides
PRESERVACIÓN DE LAS LIPOPROTEÍNAS	Vitamina C Vitamina E Carotenoides Polifenoles, incluyendo flavonoides
PRESERVACIÓN DE PROTEÍNAS	Vitamina C Vitamina E Carotenoides Selenio Polifenoles, incluyendo flavonoides

Cuadro 4. Acción sobre el sistema cardiovascular

FUNCIONES OBJETIVO	COMPONENTES ALIMENTARIOS
HOMEOSTASIS DE LIPOPROTEÍNA	Ác grasos saturados Ác grasos monoinsaturados Ác grasos polinsaturados Algunos Fitoesteroles Algunos Fitostanoles Proteínas de Soja Tocotrienoles Sustitutivos de la grasa

INTEGRIDAD ARTERIAL	Ácidos grasos omega 3 (EPA y DHA)
CONTROL DE TROMBOGÉNESIS	Ácidos grasos omega 3 (EPA y DHA) Ácido linoleico
CONTROL DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL	Energía total Cloruro sódico Ácidos grasos Omega 3 (EPA y DHA)
DEFENSA INMUNOLÓGICA	Control de niveles de homocisteína Vitamina B6 Vitamina B12

Cuadro 5. Moduladores función intestinal

FUNCION OBJETIVO	COMPONENTES ALIMENTARIOS
FUNCIÓN INTESTINAL ÓPTIMA Y FORMACIÓN DE HECES	Carbohidratos no digeribles Probióticos Prebióticos Simbióticos
COMPOSICIÓN DE LA FLORA COLONICA	Probióticos Prebióticos Simbióticos
INMUNOMODULADORES A NIVEL INTESTINAL	Probióticos Prebióticos Simbióticos
CONTROL DE LA FERMENTACIÓN COLONICA	Prebióticos Simbióticos

Cuadro 6. Moduladores de la conducta y funciones psicológicas

FUNCIONES OBJETIVO	COMPONENTES ALIMENTARIOS
APETITO Y SACIEDAD	Proteína Sustitutos de la grasa Sustitutos del azúcar Grasas estructuradas Ác grasos específicos
RENDIMIENTO COGNOSCITIVO	Glucosa Cafeína Vitamina B Colina
CARÁCTER Y VITALIDAD	Alcohol Carbohidratos Relación carbohidratos/proteínas Tirosina y triptófano
ESTRÉS	Alcohol Carbohidratos Sacarosa

Un alimento o componente alimenticio funcional puede ser un macronutriente con un efecto fisiológico específico o un micronutriente esencial, pero también puede ser un componente que aunque no tenga un alto valor nutritivo o no sea esencial, su consumo logre la modulación de alguna función en el organismo que reduzca el riesgo de enfermedad, como es el caso de la fibra y algunos microorganismos viales (Roberfroid 2000).

2.1.4 TIPOS DE ALIMENTOS FUNCIONALES MÁS COMÚNES

LOS PROBIÓTICOS

Principalmente bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que de acuerdo a estudios realizados, dentro de sus beneficios se encuentra la reducción de la incidencia del estreñimiento, diarrea, cáncer intestinal y estimulación del sistema inmune (Vasiljevic y Shah, 2008).

FIBRAS NO DIGERIBLES Y PREBIÓTICOS

Las fibras dietéticas (celulosas, hemicelulosas y pectinas resistentes a la digestión por las enzimas endógenas del intestino humano) benefician las funciones gastrointestinales y se sugiere que previenen enfermedades como el cáncer colorectal, obesidad, diabetes mellitus y arteriosclerosis. Los prebióticos son ingredientes alimenticios no digeribles que afectan benéficamente al huésped debido a que estimulan selectivamente el crecimiento y/o actividad de bacterias benéficas en el colon. Dentro de los principales prebióticos se encuentra los fructo-oligosacáridos, inulina, isomalto-oligosacáridos, polidextrosa, lactulosa y almidón resistente (Siró et al., 2008). Debido a la sinergia entre los probióticos y prebióticos, los alimentos que contienen una combinación de ellos son frecuentemente referidos como “Simbióticos”.

SUSTANCIAS BIOACTIVAS Y VITAMINAS (COMPUESTOS ANTIOXIDANTES)

Se pueden encontrar en las frutas y los vegetales, son de gran interés debido a su participación en la prevención de enfermedades causadas como resultado del estrés oxidativo, productor de numerosos desordenes incluyendo mal función cardiovascular, cataratas, cáncer, reumatismos y muchas otras enfermedades (Kaur y Kapoor, 2001). Dentro de este grupo encontramos los polifenoles,

flavonoides, isómeros del ácido linoleico conjugado, isoflavonas A,B, C,E, tocoferoles, aceites vegetales polinsaturados omega 3 y 6 entre otros.

PROTEÍNAS

Como ejemplo se encuentra la proteína de soya que reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares y problemas de hipertensión arterial (Manh et al., 2005; Cartagena 2005).

2.2 Probióticos

Son microorganismos vivos, principalmente bacterias, usados en forma de suplementos nutricionales que, tras ser ingeridos en cantidades suficientes, mejoran el equilibrio microbiano en el intestino de las personas o animales que los ingieren, provocando efectos beneficiosos sobre la salud, mas allá de los efectos nutricionales tradicionales.

Con el paso del tiempo, los probióticos han ido evolucionando desde productos pioneros, como *Lactobacillus acidophilus*, hasta la gran variedad que existe actualmente con varios tipos de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium* e incluso hongos y levaduras como *Aspegillus oryzea* y *Candida pintolopesli*.

2.2.1 CARACTERÍSTICAS DE SELECCIÓN DE UNA CEPA PROBIÓTICA

Para seleccionar una cepa como probiótico requiere que sus efectos fisiológicos beneficiosos sean demostrados científicamente, presentando lo siguiente:

- 1) La cepa debe ser de origen humano y seguro para uso humano.
- 2) Debe ser estable al ácido y la bilis.
- 3) Debe adherirse a las células de la mucosa intestinal.
- 4) Debe reducir o excluir la presencia de agentes patógenos.
- 5) Debe colaborar en la formación de una flora normal equilibrada.

Entre los microorganismos comúnmente empleados como probióticos se encuentran las bacterias ácido- lácticas, que agrupan una gran cantidad de géneros que incluyen un considerable número de especies.

2.2.2 TIPOS DE MICROORGANISMOS

Cuadro 7. Microorganismos usados como probióticos

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Lactococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
<i>L. acidophilus</i> <i>L. lactis</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L.rhamnosus GG</i> <i>L. casei</i> <i>L. kefir</i> <i>L.brevis</i> <i>L. reuteri</i> <i>L.helveticus</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. jonhsonii</i> <i>L. salivarius</i>	<i>B. bifidum</i> <i>B. longum</i> <i>B. infantis</i> <i>B. breve</i> <i>B. lactis</i> <i>B. adolescentes</i>	<i>L. lactis</i> <i>L. cremoris</i> <i>L. diacetylactis.</i>	<i>S. thermophilus</i> <i>S. lactis</i>

<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>	Otras especies
<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>B. subtilis</i> <i>B. coagulans</i>	<i>Sacharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Leuconostoc spp.</i>

Es importante mencionar que no todos los probióticos ejercen los mismos efectos, existiendo una gran variabilidad inmunológica entre especies, e incluso entre cepas pertenecientes a la misma especie. Por ejemplo, en una investigación ex vivo de linfocitos en el vaso de un ratón, se observó que *L. acidophilus* aumenta la proliferación, mientras que *Lactobacillus* como *casei*, *gasseri* y *rhamnosus* la inhiben, demostrando efectos sobre linfocitos T y B que son específicos de la cepa.

2.2.3 PRINCIPALES MECANISMOS DE ACCIÓN

Prevención de la colonización por microorganismos patógenos

Bloqueo de receptores específicos (adherencia y competencia por nutrientes). Los nutrientes están presentes en cantidad limitada en el intestino. Si las bacterias beneficiosas consumen estos nutrientes necesarios para el desarrollo de agentes patógenos, limitan así su proliferación. Los microorganismos probióticos compiten por los patógenos no solo por los nutrientes sino también por el espacio físico. Por ejemplo *L. rhamnosus GG*, *L. plantarum* y *Sboulardii*. También pueden llegar a producir una disminución en la concentración de lactosa en la leche fermentada por la actividad de la lactasa bacteriana durante la fermentación.

Actividad antimicrobiana

Producen numerosas sustancias antimicrobianas específicas, como las bacteriocinas, ácidos grasos volátiles de cadena corta, peróxido de hidrógeno y ácido láctico, ocasionando la reducción del pH luminal; se considera principal mecanismo por el cual las bacterias lácticas inhiben el crecimiento de diferentes bacterias patógenas como *E.coli*, *Streptococcus* y *Salmonella*.

Inmunomoduladora

Regulan la respuesta inmunitaria humoral y celular. Por las bacterias *L. rhamnosas* GG, *L.acidophilus*, *Bifidobacterium spp.*, *L. reuteri*

Actividad enzimática

Disminución en la actividad de enzimas asociadas con la síntesis de lactosa.

2.2.3 BENEFICIOS PARA LA SALUD

- Ⓢ Benefician la microbiota intestinal
- Ⓢ Prevención y tratamiento de la diarrea
- Ⓢ Combaten el estreñimiento leve
- Ⓢ Intervienen en problemas de Intolerancia a la lactosa
- Ⓢ Combaten la enfermedad inflamatoria intestinal
- Ⓢ Tienen efectos moduladores sobre el sistema inmunitario
- Ⓢ Prevención y tratamiento de infecciones urinarias
- Ⓢ Prevención de cáncer colorrectal
- Ⓢ Reducción de colesterol
- Ⓢ Prevención de infecciones respiratorias
- Ⓢ Prevención de caries

Cuadro 8. Principales microorganismos probióticos y sus efectos beneficiosos para la salud.

MICROORGANISMO	EFFECTO BENEFICIOSO
<i>L. acidophilus</i> LC1	Equilibrio flora intestinal, efecto en sistema inmunitario
<i>L. acidophilus</i> NCFCO1748	Reducción actividad enzimática procancerígenas, diarrea y constipación.
<i>L. acidophilus</i> NCFM	Reducción de actividad de enzimas procancerígenas
<i>L. jonsonii</i> LA1	Inmuno estimulador, tratamiento de gastritis y úlceras.
<i>L. rhamnosus</i> GG	Inmuno estimulador, diarrea, inflamación del intestino
<i>L. bulgaricus</i>	Inmuno estimulador, absorción de lactosa
<i>L. casei</i>	Promotor del crecimiento y de la viabilidad de probióticos
<i>B. bifidum</i>	Diarrea por rotavirus, equilibrio de la microbiota
<i>S. thermophilus</i>	Inmuno estimulador, absorción de lactosa
<i>S. boulardii</i>	Prevención de diarrea y tratamiento de colitis

2.2.4 MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS EN LOS ALIMENTOS

El vehículo alimenticio más común para introducir microorganismos probióticos a nuestro cuerpo es el yogur, proveniente de la leche fermentada; las leches fermentadas pueden ser el resultado de una fermentación desarrollada con un solo tipo de microorganismo probiótico y contener bacterias vivas y diversos compuestos generados durante la fermentación (Yakult, LC1-go), o bien contener bacterias vivas que son agregados durante una etapa del proceso.

Existen también presentaciones comerciales con una mezcla de microorganismos probióticos (Protexin, Nature Sun shine). Es importante mencionar que el uso de los probióticos no solamente se centra en los productos lácteos, su aplicación se ha expandido en alimentos no lácteos sin fermentar, tal es el caso de la mayonesa, comestibles para untar, carne, queso, jugo de frutas, helados de crema, productos a base de avena, entre otros (Rodger, 2007). Para el caso de los jugos de fruta, lo sugieren como un medio apropiado para fortificarlo con probióticos, debido a su ya reconocido beneficio para la salud y su frecuente consumo por un gran porcentaje de la población.

Cuadro 9. Alimentos ricos de microorganismos probióticos.

ALIMENTO	DESCRIPCION
Yogur	Fermentado de la leche, textura cremosa característica y ligero sabor ácido.
Kéfir	Fermentado de la leche, es una combinación única de leche de cabra y granos fermentados.
Chucrut	Hecho de col fermentada (así como otras hortalizas), es rico en vitaminas B, A, E y C.
Microalgas	Plantas de los océanos, tales como la espirulina, chorella, y las algas azules y verdes.
Sopa de miso	Miso es una de las plantas medicinales tradicionales de Japón, y se utiliza como regulador digestivo.
Tempeh	Es un grano fermentado bajo en sodio.
Kimchi	Es una col fermentada muy picante y agrio, es una gran fuente de beta-caroteno, calcio, hierro y vitaminas A, C, B1 y B2.

Té de kombucha	Té fermentado con un alto contenido de bacterias intestinales saludables.
----------------	---

2.3 *Aloe vera*

La planta de *Aloe vera* es originaria de África, específicamente de la península de Arabia. Su nombre genérico proviene del termino árabe alloeh que significa “sustancia brillante y amarga”, se le denomina también con el nombre de sábila; ésta y otras variantes se debe a la deformación del vocablo árabe Cabila que significa planta espinosa. Existen alrededor de 300 especies de *Aloe*, pero se ha demostrado científicamente que son cuatro tipos los que presentan mayores propiedades medicinales: a) *Aloe barbadensis* Miller, b) *Aloe perryi* Baker, c) *Aloe ferox* y d) *Aloe arborescens*. No obstante, el *Aloe barbadensis* Miller es considerada como la más utilizada en la medicina curativa y la más popular en el mundo entero llamada comúnmente sábila.

2.3.1 CARACTERÍSTICAS

Es una planta fanerógama (con flores), angiosperma de la familia de las liliáceas, que pertenece a la especie de plantas crasas o suculentas de las cuales también forman parte las cactáceas, y de la subfamilia de las aloínas (que produce aloína), es una planta de hojas alongadas, carnosas y ricas en agua están agrupadas hacia el extremo, alcanza una altura de 50 a 70 cm crecen en forma de roseta espiral alrededor del tallo, los tallos alcanzan una altura de 30 a 40 cm de longitud. El mucílago del áloe contiene en su espesor parénquimas, modalidad de tejido celular esponjoso capaz de almacenar el agua filtrada por las raíces y las hojas. Gracias a una sabia alquimia (metabolismo) está agua se transforma en el gel amargo y translúcido tan buscado por sus propiedades medicinales. , poseen el borde espinoso dentado; las flores son tubulares, colgantes, de un color que va del blanco verdoso al rojo, pasando por el amarillo y el naranja; La reproducción

del *Aloe* se realiza con las semillas (los pájaros y los insectos favorecen la polinización natural), o bien por los renuevos (clonos) que brotan alrededor de la parte inferior de las hojas. Esta planta es xerófila, es decir, se adapta a vivir en áreas de poca disponibilidad de agua y se caracteriza por poseer tejidos para el almacenamiento de la misma.

2.3.2 COMPOSICIÓN

El gel de *Aloe vera* contiene alrededor de 98.5% de agua, es rico en mucílagos. Los mucílagos se caracterizan por estar formados por ácidos galacturónicos, glucorónicos y unidos a azúcares como glucosa, galactosa y arabinosa. También están presentes otros polisacáridos con alto contenido en ácidos urónicos, fructosa y otros azúcares hidrolizables. Químicamente se caracteriza por la presencia de compuestos fenólicos de gran poder antioxidante, que son generalmente clasificados en dos grupos principales: las cromonas (componentes bioactivos en fuentes naturales, se utilizan como antiinflamatorios y antibióticos) y las antraquinonas (son compuestos aromáticos polihidroxilados, que constituyen el numeroso grupo de sustancias polifenólicas que conforman la base y la fuente de una importante cantidad de colorantes). Varios polisacáridos han sido detectados y aislados desde la pulpa del *Aloe vera*, incluyendo manosa, galactosa, arabinosa, sustancias pécticas y ácido glucurónico. Otros polisacáridos presentes en el gel de *Aloe vera* son: glucomanano y acemanano. El primero es un polisacárido, del tipo heteropolisacárido, el cual presenta una estructura química compuesta por D-manosa y D-glucosa en una porción 8:5, respectivamente, unidas por enlaces β al igual que el acemanano.

En cuanto a su composición física, la sábila cuenta con lo siguiente:

VITAMINAS (Vit A, Vit B1, Vit B2, Nacinamida, Vit B6, Vit B9, Vit B12, Vit C, Vit E, Colina).

MINERALES. (Calcio, Fosforo, Potasio, Hierro, Sodio, Cloro, Manganeso, Cobre, Cromo, Zinc.

MONO Y POLISACARIDOS (Celulosa-Glucosa- Manosa- Aldonentosa, Acido úrico (Hexo)- Lipasa- Aliinasa, L- ramnosa, Carrisyn.

AMINOACIDOS ESCENCIALES. (Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Teonina, Valina).

AMINOACIDOS SECUNDARIOS (Acido aspártico, Acido glutámico, Alanina, Arginina, Glicina, Histidina, Hidroxiprolina, Prolina, Serina, Tirosina.)

ENZIMAS (Fosfatasa acida, Amilasa, Bradiquinasa o braquinasa, Catalasa, Celulasa, Creatinin- fosfoquinasa, Lipasa, Nucleotidasa, Fosfatasa alcalina, Proteolitiasa o proteasa.

2.3.3 PROPIEDADES

INHIBE EL DOLOR: tiene la habilidad de penetrar muy profundamente, la sábila quita y bloquea el dolor en las capas profundas de la piel, debido a sus componentes activos.

DESINFLAMANTE Y ANTI- ALÉRGICO: tiene compuestos de antraquinonas y salicilatos que son los agentes antiinflamatorios y bloqueadores del dolor, es de mucha ayuda para curar las quemaduras y abrasiones por que contiene magnesio lácteo, que es una sustancia que ayuda al sistema inmunológico cuando hay irritantes en el organismo.

ACCIÓN CICATRIZANTE: Por su alto contenido de calcio, potasio y zinc, así como de vitaminas C y E, la sábila provoca la formación de una red de fibras que atrapan los eritrocitos de la sangre ayudando a la cicatrización. El calcio es un

elemento muy importante para la buena función del sistema nervioso y para la acción muscular, siendo un gran catalizador en toda curación.

ACCIÓN ANTIBIÓTICA: es excelente para la eliminación bacteriana así como para su prevención, se ha comprobado que quita o inhibe la acción destructora de muchas bacterias, como la salmonella y los estafilococos que producen supuración, también combate a la *escherichia coli*, a los *streptococcus faecalis*, además de ser eficientes contra hongos como *candida albicans* etc. El acemman (acetil - manosa), sustancia que se encuentra en la sábila es muy efectiva en el combate a ciertos virus, se usa actualmente inyectada para combatir cierto tipo de leucemia y fibrosarcomas en los animales.

REGENERADOR CELULAR: posee una hormona que acelera el crecimiento de nuevas células y además elimina las células viejas, gracias a la presencia del calcio, elemento que regula el paso de los líquidos en las células, pueden mantener su equilibrio interno y externo, dando así mayor salud celular a todos los tejidos del cuerpo. Una característica importante es que la sábila contiene 18 de los 23 aminoácidos que requiere el cuerpo humano para la formación de proteínas, células y tejidos. Además contiene minerales como el calcio, fósforo, cobre, hierro, manganeso, magnesio, potasio y sodio, elementos indispensables para el metabolismo y operación celular.

ENERGETIZANTE: ayuda al buen metabolismo celular, es decir, a la producción de la energía que requiere el cuerpo, además debido a su contenido de Vitamina C, también produce una acción que mejora y estimula el flujo de la circulación y el buen funcionamiento del aparato cardiovascular. La vitamina C es muy importante para el fortalecimiento del sistema inmunológico, circulatorio y digestivo e interviene en la prevención de enfermedades.

DIGESTIVA: contiene una gran cantidad de enzimas que desdoblan los nutrientes complejos a nutrientes simples, estos son absorbidos por el intestino y llevados al torrente sanguíneo circulatorio. Otro componente de la sábila es el aloin extraído de la parte exterior de la hoja que es usado como laxante.

GRAN VEHICULO DE TRANSPORTE: La sábila debido a la presencia de lignina, penetra y es un vehículo perfecto para transportar profundamente dentro de la piel a otras sustancias o elementos con los cuales esta combinado. Esta es la razón por la cual existen miles de productos cosméticos y medicinales mezclados con sábila.

DESINTOXICANTE: Debido al potasio que contiene, mejora y estimula el hígado y los riñones, que son los principales órganos de desintoxicación. Así mismo la sábila contiene ácido urónico el cual elimina los materiales tóxicos a nivel celular.

REHIDRATANTE DE LA PIEL: Penetra profundamente y restituye los líquidos perdidos en las capas de la piel, además de reparar los tejidos dañados de adentro hacia fuera, como sucede en el caso de las quemaduras tanto por fuego como por radiación, o por el sol.

DETERGENTE NATURAL (CONTIENE SAPONINAS): Es un emulsificante natural debido al contenido de saponinas (elementos usados en la elaboración de jabones). Por otro lado, debido a la presencia de enzimas proteolíticas, destruyen el tejido muerto limpiando de esta manera las heridas.

ACCIÓN QUERATOLITICA: Esta acción es la que permite que se desprenda la piel dañada o herida, renovándose con células nuevas, permite que exista un mayor flujo sanguíneo por venas y arterias, despejándolas de pequeñas coagulaciones.

LA SÁBILA EN LA ODONTOLOGÍA: el extracto de sábila, ayuda a combatir la gingivitis en las encías y controla la sensibilidad dental, además de ayudar a la prevención de la caries sin contar con elementos abrasivos que destruyen con el tiempo el esmalte de los dientes.

Cuadro 10. Lista de las principales enfermedades y molestias que la planta de *Aloe vera* ayuda a prevenir, controlar ó curar.

Acné	Reumatismo
Úlceras pépticas y estomacales	Dermatitis
Alta presión sanguínea	Tuberculosis
Dolor de cabeza	Inhibidor de dolor muscular
Pie de atleta	Seborrea y Alopecia
Insomnio	Quemaduras por fuego
Inflamaciones	Erupción cutánea
Constipación	Esclerosis múltiple
Colitis	Venas varicosas
Disentería	Artritis
Problemas digestivos	Cáncer de la piel, digestivo y de colon
Quemaduras por rayos X	Inflamación de intestinos
Estimula la circulación	Obstrucción de venas
Infecciones de la piel	Anemia
Congestión crónica de la nariz	

2.3.4. USOS

La sábila es la más utilizada en la industria de la perfumería y cosmetología, se aprovechan más sus cualidades emolientes, humectantes, hidratantes y desinfectantes, así como su contenido de saponinas, glucósidos y polisacáridos para la elaboración de cremas faciales, champú tonificante, jabones, lociones para la piel, filtros solares y otros. Recientemente se está haciendo uso del jugo de la sábila para la preparación de bebidas refrescantes y saludables, por su alto contenido en proteínas, aminoácidos, minerales, enzimas y otros complementos que le dan cualidades aperitivas, nutritivas, tónicas y reconstituyentes; En el área agronómica, el jugo de sábila se ha usado experimentalmente como repelente e insecticida en larvas presentes en algunas plantas tuberosas, obteniéndose muy buenos resultados. De igual manera se ha reportado la experimentación para el control de enfermedades virales en papa, presentando una acción inhibitoria media en comparación con otros extractos de origen vegetal.

CAPITULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo del presente trabajo, se realizó en el laboratorio de Microbiología del departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

3.1. Obtención de la muestra

Las hojas de Aloe vera provienen del Ejido La leona, municipio de Ramos Arizpe Coahuila, estas fueron lavadas y pesadas en una balanza electrónica marca Ohaus, (modelo Scowt- pro, echo en USA) este dato, se registro como peso número 1), seguido de esto, se corto de forma transversal en los extremos y en el contorno de la hoja y se volvió a pesar. Posteriormente se corto con mucho

cuidado la cáscara para separarla del mucilago, se sometieron en una solución de ácido cítrico al 10% (masa/ volumen) durante media hora, en dos charolas de aluminio previamente identificadas, se procedió a pesar la cáscara y el mucilago (peso 2). Con los pesos número 2 se realizó la determinación de materia seca total, para ello, se colocó en una charola de aluminio cáscara de sábila y en otra el mucilago, se secó en una estufa de esterilización y secado (Marca "SAN JOR", modelo: SE33P, de procedencia mexicana) a 60°C en el caso de la cáscara fue en un tiempo de 72 horas y en el mucilago de 96 horas, transcurrido el tiempo se sacó de la estufa se volvió a pesar cada muestra y se maceró en un mortero, posteriormente se hizo pasar la muestra en un molino (Moulinex, marca La picadora, modelo: AR6838C6, Tipo: AR68, hecho en Colombia) para obtener partículas más pequeñas y uniformes, finalmente se hizo pasar la muestra por un tamiz de pruebas físicas de número 100 con apertura de 149 micrones y se guardaron en frascos previamente identificados.

Se utilizaron 16 cepas de las siguientes muestras: Alfalfa, Agua miel, Calabaza, Frijol, Jagüey, Leche, Maíz, Manzana, M1, M2, Pozol, San Rafael, Suero, Sotol, Sotol filtrado y 02-I, estas fueron obtenidas de la colección de cepas probióticas del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

ETAPA 1. Purificación

3.2 AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

Con una asa bacteriológica, tomar un poco de muestra de cada cepa, sembrar por triplicado, mediante la técnica de estría continua en placas de agar MRS.

Identificar las cajas y agruparlas en 6, para poder colocarlas en frasco reactores, inyectar nitrógeno con el objetivo de darle condiciones anaeróbicas (la inyección de nitrógeno se realiza en un tiempo de 4-5 minutos), resguardarlas a una temperatura de 35°C por 48 horas.

Transcurrido el tiempo, fijar una colonia en un portaobjetos, realizar Tinción de Gram y observar en el microscopio (marca Konus, campus, modelo: BM-100-FL, fabricación Italiana) a 100X, repetir esté procedimiento hasta obtener colonias puras, una vez encontrada la colonia, repetir el procedimiento dos veces mas.

El medio de cultivo MRS sólido y la Tinción de Gram se realizó de la siguiente manera:

a) cultivo MRS sólido

El agar MRS fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe (1960) para promover un medio que pudiera evidenciar un buen crecimiento de *Lactobacillus* y otras bacterias ácido lácticas; el cuadro 11 presenta la composición del agar empleado en el presente estudio.

Cuadro 11. Composición del medio de cultivo MRS sólido

COMPONENTES	g/L
Extracto de carne (marca JT-Baker)	5 g
Peptona de carne (marca JT-Baker)	10 g
Extracto de levadura (marca JT-Baker)	5 g
Glucosa (dextrosa) (marca JT-Baker)	20 g
Fosfato dipotasico (marca JT-Baker)	2 g
Citrato de Sodio (marca JT-Baker)	2 g
Acetato de Sodio (marca JT-Baker)	2 g
Sulfato de Magnesio (marca JT-Baker)	1 g.
Sulfato de Manganeso (marca JT-Baker)	0.05 g
Agar bacteriológico (marca Bioxon)	12 g
Tween 80 (marca Emsorb 6900 de Emery)	1 ml

Elaboración de agar

En un matraz Erlenmeyer de 2 litros agregar 1 litro de agua destilada y un agitador magnético mantenerlo en agitación (para este paso, se utilizó una parrilla de agitación marca Thermo Scientific, modelo: SP131325, echo en China) e ir agregando los componentes en el orden del cuadro número 11.

Tapar el matraz con algodón y cubrirlo con un gorro de papel, se aplica calor hasta alcanzar el punto de ebullición, se deja enfriar para medir el pH con un potenciómetro (marca Hana, modelo: H120, de procedencia mexicana) a temperatura ambiente, éste debe estar en un rango de 6.5 - 7.0. Esterilizar el medio en un autoclave (marca Evar, modelo: FV-24, echo en México) y vaciar aproximadamente 60 ml por cada caja Petri. Finalmente dejar enfriar.

b) Tinción de Gram

La técnica empleada se realizó de acuerdo a lo establecido por Christian Gram (1884), la cual consiste en lo siguiente: poner una gota de agua destilada en un portaobjeto.

Con el asa bacteriológica tomar una colonia de la caja Petri y diluirla, está se hará pasar por encima de la flama del mechero hasta secar. Una vez seca agregar una gota de azul violeta dejar un minuto y enjuagar con agua destilada, posteriormente agregar una gota de lugol, esperar un minuto y enjuagar con agua destilada. Agregar durante 12 o 15 segundos gotas de alcohol cetona.

Enjuagar rápidamente con agua destilada para posteriormente adicionar 1 gota de safranina, esperar un tiempo de 30 a 60 segundos, enjuagar y esperar a que se seque. Una veza seca agregar una gota de aceite de inmersión y enfocar en el microscopio.

3.3 Caracterización morfológica

Este procedimiento se realizó con la tinción de Gram para poder observar en el microscopio, con la finalidad de clasificar las bacterias en dos grupos: las bacterias Gram positivas y las bacterias Gram negativas. Según Christian Gram (1884), la tinción diferencia a estos dos grupos por la composición de la pared celular, ya que las bacterias Gram positivas poseen una gruesa malla de peptidoglicano en su parte más externa, mientras que las bacterias Gram negativas poseen sólo una fina capa de peptidoglicano, que esta además envuelta por una membrana, la membrana externa. Siguiendo estas características se llevo a cabo la caracterización morfológica de los microorganismos probióticos.

3.4 Conservación de Cepas

Una vez aislada la bacteria, se preparó agar nutritivo MRS líquido, del mismo modo que el medio sólido, la diferencia consiste en lo siguiente: a esté medio no se le agregó agar bacteriológico, y se procedió a vaciar 20 ml de medio en cada frasco de vidrio de capacidad de 50 ml, mismos que no fueron bien cerrados con tapas de goma, debido a que fueron sometidos a esterilización.

Una vez estériles se cerraron bien, se espero a que baje la temperatura del frasco a 27°C aproximadamente.

Con el asa bacteriológica se tomo un colonia pura y se diluyo en un frasco previamente identificado, con el fin de darle condiciones de anaerobiosis se le inyectora nitrógeno por 35 segundos, se le aplicó una temperatura de 35°C por 48 horas; este procedimiento se realizó con cada una de las diferentes muestras.

Mientras transcurría el tiempo se esterilizaron tubos Ependorff. Se preparó una solución de 100 mL de leche descremada con 10 mL de glicerol y se procedió a esterilizar.

Posteriormente se tomó de la solución estéril 500 μ L y 500 μ L del cultivo de cepa, colocándolas en los tubos de Ependorff, finalmente se almacenaron en congelación.

ETAPA 2: Selección de cepas en medio de cáscara de *Aloe vera*

3.5 PREPARACIÓN DEL MEDIO Y SELECCIÓN DE CEPAS PROBIÓTICAS

Se utilizó el frasco que contenía cáscara de sábila, del cual se pesaron 3 g y se vació en un frasco de vidrio de capacidad de 50 ml.

En un matraz Erlenmeyer se preparó un medio líquido, con las mismas cantidades e ingredientes que establece la marca manual Bioxon (cuadro 12).

Se tomaron 7 ml de medio líquido los cuales fueron vaciados en el frasco que contenía 3 g de sábila, se mezcló con una varilla de vidrio, para posteriormente sellarlo con un tapón de goma y someterlo a esterilización.

Una vez estéril, se dejó enfriar hasta que el medio alcanzara una temperatura ambiente. Con una micropipeta se tomaron 100 μ L de muestra de una cepa pura y se inoculó al frasco (frasco que contenía medio líquido y 3 g de cáscara de *Aloe vera*), se mezcló bien con una varilla de vidrio estéril y se procedió a cerrarlos con una tapa de goma y sobre éste papel parafina (marca parafilm).

Posteriormente se inyectó nitrógeno directamente al medio, durante 35 segundos y se incubó (se utilizó una incubadora orbital, marca Prendo, modelo: ISO650V7) a 35°C por 48 horas. Transcurrido el tiempo, con el asa bacteriológica se tomó un poco de muestra y se sembró en medio MRS sólido (se sembraron 5 repeticiones por cada muestra).

Las cajas Petri se colocaron en biorreactores de vidrio a las cuales se les dieron condiciones de anaerobiosis, con una temperatura de 35°C por 48 horas.

Finalmente se realizó el conteo de colonias, para visualizar que bacteria tiene mejor crecimiento en este medio.

NOTA: el procedimiento anterior se realiza por cada frasco, por lo tanto, se repitió 16 veces con 5 repeticiones por cada frasco, debido a que se tenían 16 muestras diferentes (Alfalfa, Agua miel, Calabaza, Frijol, Jagüey, Leche, Maíz, Manzana, M1, M2, Pozol, San Rafael, Suero, Sotol, Sotol filtrado y 02-I), también cuando las cajas presentaban un número de colonias incontables, se realizaron diluciones, estos datos se presentan en la sección de resultados.

Cuadro 12. Medio líquido

COMPONENTES	g/L
Nitrato de sodio (marca JT- Baker)	3.0 g
Fosfato dipotásico (marca JT- Baker)	1.0 g
Sulfato de Magnesio (marca JT- Baker)	6.50 g
Cloruro de potasio (marca JT- Baker)	0.50 g
Sulfato ferroso (marca JT- Baker)	0.01 g
pH 7.3 ± 0.2	

ETAPA 3. Cinética de crecimiento

3.6 DETERMINACIÓN DE TIEMPO DE FASE EXPONENCIAL DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS SELECCIONADOS.

Se seleccionaron las muestras que tuvieran mayor número de colonias en el medio nutritivo teniendo como ingrediente principal cáscara de *Aloe vera*. De las 16 muestras evaluadas, solo dos lograron tener un número considerable de UFC, tal fue el caso de la muestra de maíz y la muestra de suero.

Para evaluar la cinética de crecimiento, se prepararon 6 frascos de vidrio de capacidad de 50 ml, con 3 gramos de sábila y 7 ml de medio líquido, por cada una de las muestras.

Se inoculó 100 μ L de muestra proveniente de cepa pura, se inyectó nitrógeno de forma directa, durante 35 segundos y se procedió a incubar a 35°C. Se realizó una fermentación con los siguientes tiempos: 0 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas y 120 horas.

Cada que se cumplían los tiempos aquí mencionados, con el asa bacteriológica se tomó un poco de muestra y se sembró en medio MRS sólido con 5 repeticiones, se les aplicó a las cajas Petri condiciones de anaerobiosis con una temperatura de 35°C por 48 horas, posteriormente se realizó el conteo de UFC, este procedimiento se realizó con cada uno de los tiempos. De igual forma, cuando las cajas presentaban un número incontable de colonias se procedía a realizar diluciones.

CAPITULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 CARACTERIZACIÓN DE ALOE VERA

Para la determinación de materia seca total, se procedió a pesar la sábila, registrando los siguientes datos:

Cuadro 13. Resultados para la determinación de porcentaje de humedad en base húmeda.

Pesos	Gramos
Peso de charola 1	17.3
Peso de charola 2	16.6
Peso de la muestra fresca (cascara)	1000
Peso de la muestra fresca (mucilago)	1000
Peso de la charola 1 + muestra fresca (cascara)	1017.3
Peso de la charola 2 + muestra fresca (mucilago)	1016.6
Peso de la muestra seca (cascara)	238
Peso de la muestra seca (mucilago)	55
Peso de la muestra seca (cascara) + peso de la charola	255.3
Peso de la muestra seca (mucilago) + peso de la charola	71.6

Cálculos

Porcentaje de humedad en base húmeda = $((W1 - W2) / W1) * 100$

W1 = Peso de la muestra fresca

W2 = Peso de la muestra después de estar en la estufa

HH = humedad en base húmeda.

% HH = $((1000 \text{ g} - 238 \text{ g}) / 1000 \text{ g}) * 100$

% HH= 94.5 % en mucilago

PORCIENTO DE MATERIA SECA TOTAL

$$\%MST = \frac{\text{peso de charola con muestra seca} - \text{peso de charola sola}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

$$\%MST \text{ cascara} = \frac{255.3 - 17.3}{1000} \times 100$$

$$= \boxed{23.8\% \text{ MST en cascara}}$$

$$\%MST = \frac{71.6 - 16.6}{1000} \times 100$$

$$= \boxed{5.5 \% \text{ MST en mucilago.}}$$

ETAPA 1. Purificación de cepas probióticas

4.2 AISLAMIENTO DE CEPAS PROBIÓTICAS

Se evaluó la calidad de purificación de 16 cepas, mediante resiembras en placa en agar nutritivo MRS sólido, el crecimiento de todos los microorganismos evaluados se manifestó a las 48 horas en condiciones de anaerobiosis, de acuerdo a la literatura citada por Monzón Toledo (2010), menciona que el crecimiento de los mismos microorganismos probióticos se llevo a cabo a las 24 horas brindando las mismas condiciones, entre las principales causas a esta diferencia se debe a que las cepas evaluadas en el presente trabajo tienen 2 años de conservación, mientras que las cepas utilizadas por la autora antes mencionada utilizó cepas conservadas en ese mismo año (2010); De acuerdo a la técnica de Tinción de Gram estas bacterias fueron aisladas, manifestando las características que se presentan en la siguiente tabla:

Cuadro 14. Características morfológicas de las cepas probióticas pertenecientes al laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la UAAAN

CEPAS	TAMAÑO	TINCIÓN	FORMA
02-1	Chicas	Gram +	Esféricos
Manzana	Grandes	Gram +	Esféricos
Maíz	Chicas	Gram +	Bastón
Frijol	Grandes	Gram +	Bastón
Alfalfa	Chicos	Gram +	Bastón
Sotol filtrado	Chicos	Gram +	Esféricos
Pozol	Chicos	Gram +	Esféricos
Agua miel	Grandes	Gram +	Bastón
Calabaza	Chicos	Gram +	Bastón
M1	Chicas	Gram +	Bastón
Soto sin filtrar	Chicos	Gram +	Esféricos
M2	Chicos	Gram +	Esféricos
Suero	Grandes	Gram +	Bastón
Jagüey	Grandes	Gram +	Esféricos
San Rafael	Medianos	Gram +	Esféricos
Leche	Grandes	Gram +	Bastón

Todas las cepas presentaron la característica de ser gram positivas, de acuerdo a la literatura citada por Ana Naab (2005) menciona que las bacterias se dividen en dos grandes grupos: Gram positivas y Gram negativas. La distinción inicial entre estos dos tipos se llevó a cabo gracias a un tipo de tinción diferencial denominado tinción de Gram, en la cual, las bacterias Gram positivas aparecen en color púrpura, mientras que las Gram negativas presentan color rojo. Esta diferencia se debe a la estructura de la pared celular, no a su composición química. Las bacterias Gram positivas tienen un compuesto llamado peptidoglicano cuyo componente es mayoritario en sus paredes celulares (hasta el 90%), mientras que en las Gram negativas no lo es y no alcanza el 20% del total relativo. La forma y el tamaño de las colonias probióticas fue definida de acuerdo a lo visualizado en el microscopio y con la literatura citada, con el nombre de: Morfología y estructura de las bacterias parte I, por Aliaga (2011).

4.3 CONSERVACIÓN DE CEPAS

Se obtuvieron 8 cepas puras por cada muestra, dando un total de 128 cepas puras previamente identificadas, debido a que se manejaron 16 muestras diferentes, estas mismas fueron entregadas al laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, las cuales fueron sometidas a un equipo de congelación (congelador tipo cajón, marca Torrey, modelo: CH25, echo en México) empleando una temperatura de -18°C , para su conservación.



Figura 1. Cepas puras conservadas a temperaturas de -18°C .

ETAPA 2: Selección de cepas en medio de cáscara de *Aloe vera*

4.4.5 PREPARACIÓN DEL MEDIO Y SELECCIÓN DE CEPAS PROBIÓTICAS

La inoculación de 100 μ L de cepa en un medio nutritivo a base de cáscara de *Aloe vera* como ingrediente principal, se llevo a cabo de manera correcta, propiciando el crecimiento de microorganismos probióticos a las 48 horas en condiciones de anaerobiosis.

Es importante mencionar que no todas las bacterias crecieron en esté medio nutritivo, en algunos frascos, la bacteria creció demasiado, ocasionando la realización de diluciones seriadas, para llevarse a cabo el conteo de número de colonias y la identificación morfológica de la bacteria, en cambio, en otros frascos, no se presento crecimiento alguno.

En la siguiente tabla, se muestra el número de colonias desarrolladas en el medio nutritivo a base de cáscara de sábila, de cada una de las diferentes muestras.

Cuadro 15. Número de colonias en un medio nutritivo a base de cáscara de *Aloe vera* como ingrediente principal.

MUESTRA	DILUCIONES				PROMEDIO
LECHE	MADRE	10^1	10^2	10^3	D.M=incontable.
	R1=incontable.	R1=76	R1=10	R1=1	D. 10^1 =73
	R2= incontable.	R2=47	R2=1	R2=1	D. 10^2 =2
	R3= incontable.	R3=122	R3=0	R3=0	D. 10^3 =0
	R4=incontable.	R4= 63	R4=3	R4=0	
	R5=incontable.	R5=80	R5=3	R5=0	
ALFALFA	R1=110	R1=23	R1=27	R1=0	D.M=102
	R2=105	R2=21	R2=3	R2=0	D. 10^1 =20
	R3=98	R3=20	R3=3	R3=0	D. 10^2 =2
	R4=96	R4=18	R4=2	R4=0	D. 10^3 =0
	R5=84	R5=18	R5=1	R5=0	

SOTOL	R1=2	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=1
	R2=1	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=0	R3=2	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=3	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=0	R5=1	R5=0	R5=0	
02-I	R1=28	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=1
	R2=2	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=1	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=1	R4=1	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=0	R5=0	R5=0	R5=0	
JAGUEY	R1=incontable.	R1=49	R1=63	R1=4	D.M=incontable.
	R2=incontable.	R2=66	R2=8	R2=1	D.10 ¹ =48
	R3=incontable.	R3=32	R3=18	R3=0	D.10 ² =11
	R4=incontable.	R4=48	R4=11	R4=1	D.10 ³ =1
	R5=incontable.	R5=47	R5=6	R5=1	
POZOL	R1=6	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=1
	R2=1	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=1	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=0	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=1	R5=0	R5=0	R5=0	
AGUA MIEL	R1=22	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=14
	R2=15	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=11	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=3	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=7	R5=0	R5=0	R5=0	
M1	R1=0	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=0
	R2=0	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=1	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=0	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=0	R5=0	R5=0	R5=0	
CALABAZA	R1=2	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=4
	R2=0	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=8	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=4	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=1	R5=0	R5=0	R5=0	

FRIJOL	R1=0	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=0
	R2=0	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=0	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=0	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=0	R5=0	R5=0	R5=0	
SAN RAFAEL	R1=0	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=0
	R2=0	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=0	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=0	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=0	R5=0	R5=0	R5=0	
SOTOL FILTRADO	R1=135	R1=76	R1=0	R1=0	D.M=16
	R2=35	R2=2	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =3
	R3=17	R3=4	R3=1	R3=0	D.10 ² =0
	R4=17	R4=1	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=13	R5=5	R5=0	R5=0	
MAIZ	R1=incontable.	R1=incontable.	R1=incontable.	R1=148	D.M=incontable
	R2=incontable.	R2=incontable.	R2=83	R2=50	D.10 ¹ =incontable
	R3=incontable.	R3=incontable.	R3=incontable.	R3=29	D.10 ² =incontable.
	R4=incontable.	R4=incontable.	R4=incontable.	R4=27	D.10 ³ =29
	R5=incontable.	R5=incontable.	R5=15	R5=30	
SUERO	R1=incontable.	R1=incontable.	R1=95	R1=61	M=incontable.
	R2=incontable.	R2=incontable.	R2=41	R2=55	D.10 ¹ =incontable.
	R3=incontable.	R3=incontable.	R3=64	R3=28	D.10 ² =47
	R4=incontable.	R4=incontable.	R4=14	R4=18	D.10 ³ =22
	R5=incontable.	R5=incontable.	R5=37	R5=20	
M2	R1=incontable.	R1=incontable.	R1=150	R1=84	M=incontable.
	R2=incontable.	R2=incontable.	R2=59	R2=10	D.10 ¹ =incontable.
	R3=incontable.	R3=incontable.	R3=46	R3=2	D.10 ² =53
	R4=incontable.	R4=incontable.	R4=55	R4=10 R5=1	D.10 ³ =5
	R5=incontable.	R5=incontable.	R5=53	R6=7 R7=2	

MANZANA	R1=0	R1=0	R1=0	R1=0	D.M=0
	R2=0	R2=0	R2=0	R2=0	D.10 ¹ =0
	R3=0	R3=0	R3=0	R3=0	D.10 ² =0
	R4=0	R4=0	R4=0	R4=0	D.10 ³ =0
	R5=0	R5=0	R5=0	R5=0	

Donde:

R= repeticiones

D.M= promedio de la dilución madre

D.10¹= promedio de la dilución 10¹

D.10²= promedio de la dilución 10²

D.10³= promedio de la dilución 10³

Con los datos obtenidos en las repeticiones, se procedió a estimar un número promedio para simplificar el número de datos, tal como se muestra en la siguiente tabla:

Cuadro 16. Promedio del número de colonias de microorganismos probióticos desarrolladas en medio de cáscara de Sábila a partir de diluciones con diferente concentración de bacterias.

MUESTRA	PROMEDIOS			
	DILUCIÓN MADRE	DILUCIÓN 10 ¹	DILUCIÓN 10 ²	DILUCIÓN 10 ³
LECHE	incontable	73	2	0
ALFALFA	102	20	2	0
SOTOL	1	0	0	0
02-I	1	0	0	0
JAGUEY	incontable	48	11	1
POZOL	1	0	0	0
AGUA MIEL	14	0	0	0
M1	0	0	0	0
CALABAZA	4	0	0	0
FRIJOL	0	0	0	0
SAN RAFAEL	0	0	0	0
SOTOL FILTRADO	16	3	0	3
MAIZ	incontable	incontable	incontable	29
SUERO	incontable	incontable	47	22
M2	incontable	incontable	53	5
MANZANA	0	0	0	0

Con los datos del cuadro anterior, se tomaron los datos en donde todas las muestras presentaran un número de colonias contables, por lo tanto, se tomaron los resultados de la columna de dilución 10³, para poder comparar el crecimiento de bacterias de las diferentes muestras en las mismas condiciones, procediendo a realizar la siguiente grafica:

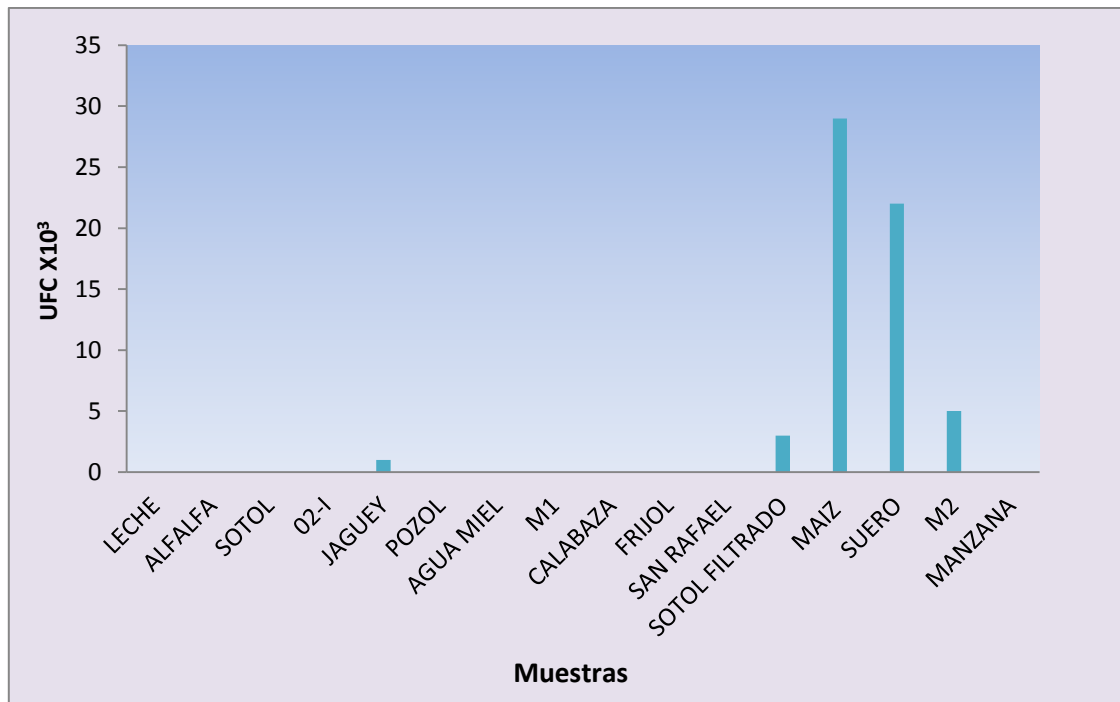


Figura 2: Crecimiento de bacterias probióticas en un tiempo de 24 horas con una dilución de 10^3

De acuerdo a los resultados en la grafica, se puede ver que las muestras con mejor crecimiento en medio nutritivo utilizando como soporte cáscara de *Aloe vera*, son la muestra de maíz con $29 \text{ UFC X } 10^3$ y la muestra de suero con un número de $22 \text{ UFC X } 10^3$.

Según Collado Amores (2004) el número de probióticos que debe tener una bebida funcional es de 10^6 células viables por ml, para que se lleve a cabo los efectos positivos en el organismo humano. Por lo tanto, estas dos muestras (maíz y suero) pueden ser utilizadas en la elaboración de una bebida funcional utilizando como sustrato cáscara de *Aloe vera*.

En base a estudios anteriores se encontró, que todas las muestras utilizadas en el presente trabajo pertenecen al grupo de bacterias acidolácticas. La clasificación de las bacterias acidolácticas de Orla-Jensen (1931) aún se acepta como método estándar de diferenciación de estos microorganismos.

Los de forma esférica (cocoidea) se conocen como "*Streptococcus*" y los bacilos se clasifican como *Thermobacterium*, *Streptobacterium* y *Betabacterium*.

Según la séptima edición del manual de Bergey's (1957), todas las bacterias acidolácticas se incluyen en la familia *Lactobacillaceae*, que a su vez se subdivide en *Streptococcaceae* (de forma esférica u ovoide) y *Lactobacillaceae* (de forma bacilar).

Esta clasificación ha sido reorganizada en la octava edición del manual de Bergey (1974), que las considera dos familias separadas: *Streptococcaceae* y *Lactobacillaceae*. En la edición del manual de Bergey de 1986, los anteriores microorganismos están agrupados en diferentes secciones. Las bacterias acidolácticas (LAB) son un grupo de bacterias Gram-positivas agrupadas por una gran cantidad de características morfológicas, metabólicas y fisiológicas. La descripción general de este grupo de bacterias se incluye en el grupo de Gram-positivos, no esporulados, cocos o bacilos que producen ácido láctico como producto de la fermentación de carbohidratos.

En base a ello, se deduce que algunas bacterias no tuvieron un efecto positivo en el medio empleado (cáscara de sábila como ingrediente principal) por la razón de que, aunque pertenecen a la misma familia y género, no son de la misma especie, por lo tanto el requerimiento de condiciones de crecimiento son diferentes.

La FAO/OMS, en mayo de 2002, declaró que para identificar el género, la especie y la cepa probiótica es necesario profundizar su identificación a nivel intraespecífico, mediante métodos de caracterización fenotípica y genotípica, a fin de asociar un determinado efecto con una cepa concreta, y poder realizar su seguimiento en estudios tecnológicos, clínicos y epidemiológicos.

ETAPA 3. Cinética de crecimiento

4.5 DETERMINACIÓN DE TIEMPO DE FASE EXPONENCIAL DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS SELECCIONADOS.

Una vez seleccionadas las muestras (maíz y suero), se realizaron fermentaciones, haciendo siembras en cajas Petri con agar MRS sólido, dándoles condiciones de anaerobiosis y haciendo conteo de colonias cada 48 horas, este procedimiento se realizó durante cinco días, arrojando los siguientes resultados:

Cuadro 17. No. De colonias probióticas provenientes de fermentaciones de dos diferentes muestras (maíz y suero), evaluados en un periodo de 5 días.

SUERO			MAÍZ		
TIEMPO	REPETICIONES	UFC	TIEMPO	REPETICIONES	UFC
24 h	R1	115	24 h	R1	18
	R2	100		R2	13
	R3	80		R3	9
	R4	56		R4	10
	R5	107		R5	18
48 h	R1	23	48 h	R1	16
	R2	8		R2	19
	R3	5		R3	18
	R4	6		R4	14
	R5	17		R5	15
72 h	R1	25	72 h	R1	9
	R2	29		R2	17
	R3	12		R3	12
	R4	9		R4	10
	R5	19		R5	16

96 h	R1	11	96 h	R1	1
	R2	6		R2	1
	R3	2		R3	3
	R4	7		R4	3
	R5	5		R5	2
120 h	R1	4	120 h	R1	2
	R2	1		R2	2
	R3	8		R3	5
	R4	5		R4	1
	R5	4		R5	3

NOTA: en la muestra del suero, a partir del tiempo de 48 horas en adelante, se realizaron diluciones de 10^3 , mientras que en el maíz, a partir del tiempo de 24 horas en adelante se realizaron diluciones de 10^4 .

Los resultados del cuadro anterior se simplificaron en la siguiente tabla, obteniendo números promedios, y realizando graficas para visualizar la fase exponencial de las bacterias.

Cuadro 18. Cinética de crecimiento de dos muestras diferentes utilizando el número promedio de colonias probióticas pertenecientes a una fermentación de cáscara de sábila.

SUERO		MAÍZ	
TIEMPO	PROMEDIO UFC	TIEMPO	PROMEDIO UFC
0	0	0	0
24	9 200	24	1 400
48	1 200 000	48	16 000 000
72	1 900 000	72	13 000 000
96	600 000	96	2 000 000
120	400 000	120	3 000 000

La curva de crecimiento es una representación grafica del logaritmo del número de células con relación al tiempo. Está curva se compone de cuatro fases: a) Fase de latencia (lag). Es el periodo que corresponde a la adaptación de un microorganismo a las nuevas condiciones medio ambientales en un nuevo medio de cultivo. b) Fase exponencial o logarítmica (log). Las células mejor adaptadas comienzan a dividirse de forma gradual a intervalos regulares de tiempo, llevándose a cabo un incremento poblacional. Se considera que las células son fisiológicamente iguales y el tiempo de generación es constante. c) Fase estacionario o de equilibrio. En esté periodo existe una disminución en el crecimiento poblacional, esencialmente por agotamiento de nutrientes y acumulación de productos tóxicos. Teóricamente se considera como constantes las tasas de proliferación y la de muerte. d) Fase de Declinación o muerte. El número de células que mueren es mayor que el número de células que se dividen. Se considera teóricamente que la tasa de muerte es mucho mayor que la de proliferación.

La curva de crecimiento de la muestra de suero se comportó de la siguiente manera:

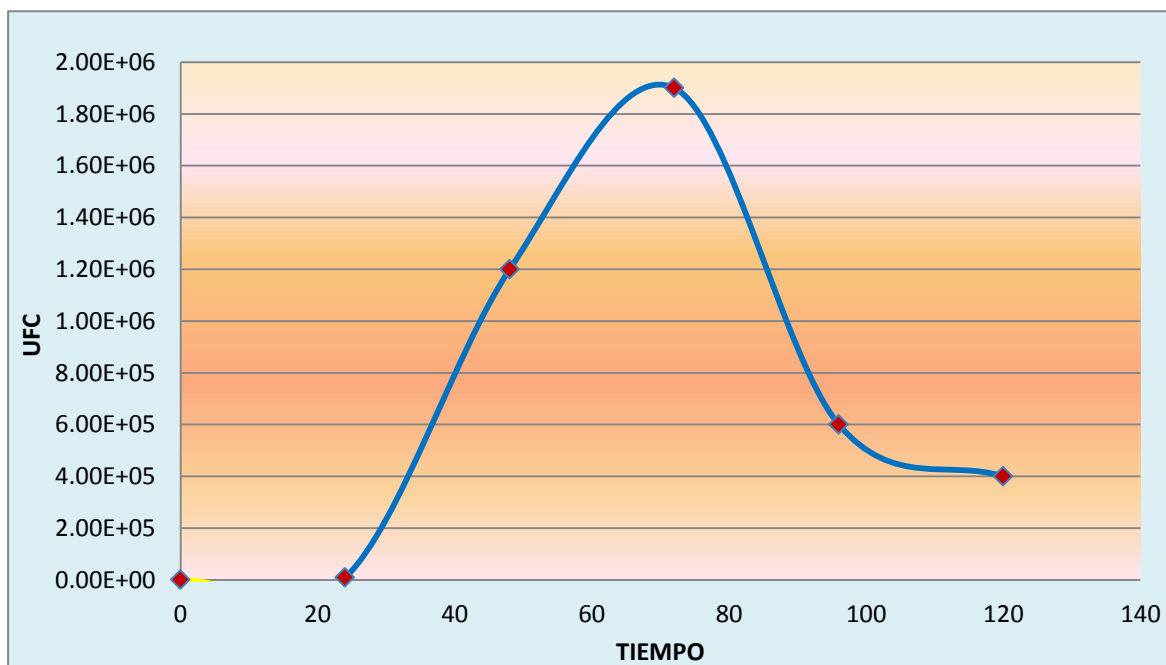


Figura 3: Grafica de Cinética de crecimiento de microorganismos probióticos pertenecientes a una muestra de suero.

En base a la grafica número 3, se muestra que el probiótico perteneciente a la muestra de suero en el tiempo de 0 – 24 horas corresponde la fase de adaptación debido a que la curva se mantiene firme, alcanzándose en este periodo un número de 9 200 UFC, en el lapso de 24 a 68 horas la proliferación de las células es constante llevándose a cabo el incremento poblacional con relación al incremento del tiempo, por lo tanto, este conjunto de características pertenecen a la fase exponencial, obteniéndose en esta fase un número de 9 200 UFC a 1 900 000 UFC, al llegar al tiempo de 68 a 72 horas se encuentra la fase estacionaria es decir, la multiplicación a gran escala se detiene y la bacteria busca fuentes para su supervivencia, el tiempo de 72 a 120 horas pertenecen a la fase de declinación por que la tasa de muerte microbiana es mucho mayor que la de la proliferación el número de colonias fue reducida a 400 000 UFC.

En el caso de la muestra de maíz el microorganismo probiótico presento la curva de crecimiento de la siguiente forma:

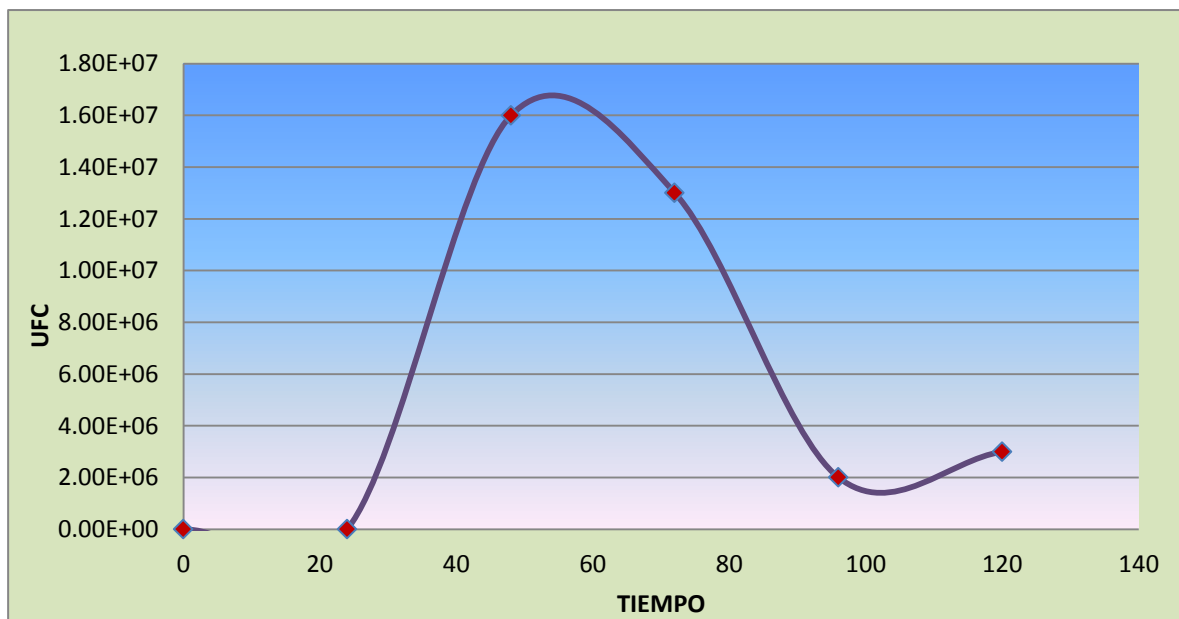


Figura 4: Grafica de curva de crecimiento de microorganismos probióticos pertenecientes a una muestra de maíz.

En la figura 4 se visualiza que la fase de adaptación de la bacteria corresponde al tiempo de 0 a 24 horas, alcanzando un número de 1 400 UFC, la fase exponencial se inicia en el tiempo de 24 a 48 horas obteniéndose 16 000 000 de UFC, la fase estacionaria se sitúa en el tiempo de 49 a 58 horas, finalmente el ciclo de vida del microorganismo concluye con la fase de declinación alcanzando un número de 3 000 000 de UFC en un tiempo comprendido de 58 a 120 horas.

Con estos resultados se demuestra que los microorganismos probióticos presentes en estas dos muestras seleccionadas, son capaces de hidrolizar los carbohidratos presentes en la cáscara de *Aloe vera*, para transformarlos en nutrientes propios y concluir su ciclo de vida.

De acuerdo a la literatura citada por Collado Amores (2004), la diferencia del número de unidades formadoras de colonias alcanzadas por las dos muestras evaluadas, se debe a la diferencia del metabolismo que posee cada una de ellas.

Por lo tanto aunque existan bacterias pertenecientes a la misma especie no es un indicio de que presentaran características iguales.

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

Mediante la técnica de estría continúa en placas se logro aislar microorganismos probióticos de 16 muestras diferentes, las cuales fueron conservadas en cepas, a temperatura de congelación (-18°C).

De acuerdo a la caracterización de *Aloe vera*, se obtiene que de 1 kg de sábila, se obtiene 55 g de materia seca total (MST) de mucilago, misma que equivale al 5.5% del peso total de la materia prima en el caso de la cáscara se obtienen 238 g de materia seca total, la cual equivale al 23.8% de MST.

En base a los resultados, solo algunos de los microorganismos probióticos utilizados en el presente trabajo, crecieron en las fermentaciones con medio sólido utilizando como soporte cáscara de *Aloe vera*, entre ellos se encuentran las muestras de: leche, alfalfa, sotol, 02-I, jagüey, pozol, agua miel, M1, calabaza, sotol filtrado, maíz, suero y M2; mientras que algunas muestras no tuvieron crecimiento alguno, estas son: frijol, San Rafael y manzana. De las muestras que sí se desarrollaron en este medio, solo dos tuvieron altos rendimientos (muestras de suero y maíz), mismas que fueron evaluadas en una cinética de crecimiento comprendida en un periodo de cinco días, en la cual se encontró que la fase exponencial de la muestra de suero inicia las 24 horas con un número de 9 200 UFC y concluye a las 68 horas con 1 900 000 de UFC; mientras que en el maíz se inicia a las 24 horas con un número de 1 400 UFC y termina a las 48 horas con un número 16 000 000 de UFC.

Por lo tanto, debido a la rápida adaptación del probiótico al medio de cáscara de sábila, es interesante estudiar a que especie, pertenecen los microorganismos probióticos pertenecientes a estas dos muestras, para poder definir sus características y propiedades de forma mas concreta. Además de aprovechar a

esta planta en la industria alimentaria con la elaboración de un producto funcional.

CAPITULO 6

CITAS BILIOGRAFICAS

Boletín ASERCA regional peninsular: Propiedades de la Sábila. Julio 2009

Arribas B, Rodríguez ME y col. (2008). Review: Aplicaciones terapéuticas de los probióticos. Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España.

María Isabel Mínguez Mosquera, Antonio Pérez Gálvez. Revista Agroscic: Características Químicas Nutricionales y Funcionales de los Alimentos. Grupo de Química y Bioquímica de pigmentos. Departamento de Biotecnología de Alimentos. Instituto de la grasa (CSIC). Sevilla.

Carl Erik Nord (2007). When Should Probiotics Be Used in Gastrointestinal Infections?. Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institute, Karolinska University Hospital, SE-141 86 Stockholm, Sweden.

Maria Touraki y col. (2012). Evaluation of the probiotics *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* bioencapsulated in *Artemia nauplii* against vibriosis in European sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*, L.). Laboratory of General Biology, Division of Genetics, Development and Molecular Biology, Department of Biology School of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki.

Yukiko K Nakamura y Stanley T Omaye. (2012). Review: Metabolic diseases and pro- and prebiotics: Mechanistic insights. Department of Agriculture, Nutrition, and Veterinary Sciences, University of Nevada Reno, Reno, NV 89557, USA.

Javier Aranceta, Lluís Serra y col. Guía de alimentos funcionales. Puleva Food y Sociedad Española Nutrición Comunitaria.

Rabin Gyawali y Salam A. (2012). Mini Review Impact of plant derivatives on the growth of foodborne pathogens and the functionality of probiotics. Food Microbiology and Biotechnology Laboratory, North Carolina Agricultural and Technical State University.

José Carmen Ramírez y col. (2011). Revista Fuente. Año 2, No.7: Bacterias lácticas: importancia en Alimentos y sus efectos en la salud. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Centro de Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Nayarit.

Programa NUSA. Nutrición y Salud (2009). Información científica. Alimentos funcionales.

Secretaría FAO/OMS (2006). Revista Alimentación y Nutrición: Probióticos en los Alimentos propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación.

Piret Koll, Reet Mandar y col. (2010). Screening and Evaluation of Human Intestinal Lactobacilli for the Development of Novel Gastrointestinal Probiotics. Department of Microbiology, University of Tartu, Tartu, Estonia.

Antonio Vega G, Nevenka Ampuero y col. (2005). Revista Chilena de Nutrición Vol. 32, No 3. El Aloe Vera (*Aloe barbadensis Miller*) Como Componente de Alimentos Funcionales.

Manuela Belén Silveira Rodríguez y col. (2003). Revista española de salud pública: Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos? *versión impresa issn 1135-5727*.

Mikael Kuitunen (2011). Safety of probiotics. Clinical and Translational Allergy, Venice, Italy.

Diego Javier Mercanti (2007). Tesis: Perfiles de lipólisis y características sensoriales de quesos semiduros con bacterias probióticas como fermento adjunto. Universidad Nacional del Litoral, Facultad de bioquímica y ciencias biológicas.

R. Amores y col. (2004). Review: Probióticos. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

Peter Bossier (2007). Review: Of the Functionality of Probiotics in the Larviculture Food Chain. Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, Ghent University.

Javier Alexander Mancera Apolinar (2010). Tesis: Diseño de una pulpa funcional de frutas y hortalizas con propiedades antioxidantes y probióticas. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.

Linaje M.S y col. (2009). Yogurt: Sábila y Nopal (Alimentos Probióticos). Universidad Autónoma de Coahuila-Escuela de Ciencias Biológicas.

María Elizabeth Contreras y col. (2007). Proceso de biotransformación láctica del jugo de *Aloe vera*. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán.

Ofelia Ana Naab (2005). Apunte Teórico: Pared celular en procariontas. Facultad de Agronomía. Universidad de Nuevo León.

María Carmen Collado Amores (2004). Tesis: Caracterización de cepas del género *bifidobacterium* con carácter probiótico. Universidad Politécnica de Valencia Departamento de biotecnología.

José González Cabeza (2007). Crecimiento Microbiano. Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Medicina / Ciencia Catedra de Microbiología.

- ❖ medicinaupv.files.wordpress.com/.../2-3-clase-mor...
- ❖ www.aloeinfo.info/aloesp.pdf
- ❖ www.med.uva.es/pingo/.../Tema40Castro.pdf