



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL
NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON
HIPERCOLESTEROLEMIA INDUCIDA”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR

ADRIANA ALEXANDRA CANDO PUMAGUALLE

TUTOR:

Dr. CARLOS PILAMUNGA

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

A Dios, por ser la luz que guía mis pasos y haberme dado la fortaleza y el coraje para culminar esta etapa de mi vida.

A mis padres Gustavo y Beatriz, y hermano Cristian por todo su amor, apoyo y confianza incondicional, que me ayudaron a ser quien soy en la vida.

A mi esposo Viktor por todo el amor brindado a los largo de estos años.

A mi hija Stephanie Victoria por ser mi luz e inspiración y sobre todo la alegría de mi hogar.

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser mi guía y pilar fundamental en mi vida.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por mi formación ética y profesional.

Al Dr. Carlos Pilamunga por su valiosa dirección en mi trabajo de investigación.

Al BQF. Carlitos Pazmiño y al BQF. Fausto Contero por brindarme sus conocimientos y su colaboración incondicional.

A mis padres por encaminar mi vida y hacerme una persona de bien.

A mi esposo Viktor por su apoyo.

A mis amigos por su sincera amistad a lo largo de estos años.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON HIPERCOLESTEROLEMIA INDUCIDA”**, de responsabilidad de la señorita egresada Adriana Alexandra Cando Pumagualle, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. César Ávalos
DECANO FAC. CIENCIAS

Dra. Ana Albuja
DIRECTOR ESCUELA

Dr. Carlos Pilamunga
DIRECTOR DE TESIS

BQF. Fausto Contero
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Eduardo Tenelanda
**COORDINADOR
SISBIB – ESPOCH**

NOTA DE TESIS

Yo, Adriana Alexandra Cando Pumagualle, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

ADRIANA ALEXANDRA CANDO PUMAGUALLE

RESUMEN

La evaluación de la actividad hipocolesterolémica del néctar de Guatila (*Sechium edule*), en ratas (*Rattus norvegicus*) con hipercolesterolemia inducida, se realizó en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para obtener una alternativa natural para tratamiento de la hipercolesterolemia.

Para evaluar si el néctar de guatila (*Sechium edule*) posee actividad hipocolesterolémica se utilizó 18 ratas de cepa Wistar divididos en 6 grupos: GA (Blanco), GB (Control positivo), GC (Control negativo), GD (Grupo investigativo 1 néctar de guatila [1g/Kg]), GE (Grupo investigativo 2 néctar de guatila [2g/Kg]), GF (Grupo investigativo 3 néctar de guatila [4g/Kg]), todos los tratamientos administrados por vía oral. Se indujo la hipercolesterolemia en los animales experimentales mediante una dieta rica en grasa en un tiempo de 5 semanas. Seguidamente se inició el tratamiento de la patología con el néctar de guatila (*Sechium edule*) a los grupos investigativos y solución de Atorvastatina al control positivo por un periodo de 6 días realizando tomas sanguíneas de la vena coccígea a 1 hora, 3 horas, 6 horas para medir los niveles de colesterol mediante método de biorelectrometría y al sexto día se dio eutanasia a los animales para obtener muestras sanguíneas para medir el nivel de colesterol final mediante método enzimático de rutina en laboratorio clínico, el análisis de los datos obtenidos se realizó mediante ANOVA (Análisis de varianza de un valor) y prueba de Tukey HSD con intervalo de confianza 95%.

Se comprobó que los 3 tratamientos a base de néctar de guatila (*Sechium edule*) presentaron efecto hipocolesterolémico, siendo el tratamiento de concentración 4g/Kg el más eficaz produciendo un descenso significativo en los niveles de colesterol. A través del estudio toxicológico e histopatológico se observó que el néctar en ninguna dosis es tóxico por lo tanto es seguro para su consumo.

Se recomienda llevar la investigación a nivel industrial para la obtención de un producto funcional a base del néctar de guatila (*Sechium edule*) para tener un tratamiento natural como alternativa para la hipercolesterolemia.

SUMMARY

The evaluation of hypocholesterolemic activity on guatila's nectar (*Sechium edule*) in rats (*Rattus norvegicus*) with induced hypercholesterolemia was performed in the animal facility at the Biochemistry and Pharmacy School of the Chimborazo Higher Polytechnic School in order to get a natural alternative for hypercholesterolemia treatment.

To evaluate if guatila's nectar (*Sechium edule*) has hypocholesterolemic activity; we used 18 Wistar full-blooded rats divided into 6 groups: GA (White), GB (Positive control), GC (Negative control), GD (Investigative Group 1 guatila's nectar [1g / Kg]), GE (Investigative Group 2 guatila's nectar [2g / Kg]), GF (Investigative Group 3 guatila's nectar [4g / Kg]), all treatments orally administered. Hypercholesterolemia was induced in experimental animals by a high fat diet within a period of 5 weeks. Following, we started the treatment of the disease with guatila's nectar (*Sechium edule*) to the investigative groups and the Atorvastatin solution to the positive control for a period of 6 days; during that time, blood samples from the coccygeal vein were taken at 1 hour, 3 hours, and 6 hours to measure cholesterol levels by the bio-reflectometric method and at the sixth day; euthanasia was given to the animals in order to get blood samples to measure the final cholesterol level through the enzymatic routine method in clinical laboratory, the analysis of data was made using ANOVA (Analysis of value variance) and Tukey HSD test with 95% confidence interval.

It was verified that the 3 treatments based on guatila's nectar (*Sechium edule*) had hypocholesterolemic effect, being 4g/Kg concentration treatment the most effective producing a significant decrease in cholesterol levels. Through the toxicological and histopathological study it was observed that the nectar is not toxic at any doses; so, it is safe for consumption.

It is recommended to bring the investigation at an industrial level to obtain a functional product made from the guatila's nectar (*Sechium edule*) in order to get a natural alternative for the hypercholesterolemia treatment.

ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE CUADROS	
ÍNDICE DE GRÁFICOS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
INTRODUCCIÓN	

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I	- 1 -
1 MARCO TEÓRICO	- 1 -
1.1 HIPERCOLESTEROLEMIA	- 1 -
1.1.1 CONCEPTO.....	- 1 -
1.1.2 CAUSAS.....	- 2 -
1.1.3 REPERCUSIONES CLÍNICAS.....	- 3 -
1.2 TRATAMIENTOS HIPOCOLESTEROLÉMICOS	- 3 -
1.2.1 MEDICAMENTOS	- 3 -
1.2.1.1 ATORVASTATINA.....	- 4 -
1.2.1.2 SIMVASTATINA	- 4 -
1.2.1.3 GEMFIBROZILO	- 5 -
1.2.2 ALTERNATIVAS.....	- 5 -
1.2.2.1 SUSTANCIAS HIPOCOLESTEROLÉMICAS.....	- 5 -
1.2.2.2 DIETA	- 6 -
1.2.2.3 FITOTERAPIA	- 6 -
1.3 GUATILA	- 8 -
1.3.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS.....	- 8 -
1.3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	- 8 -
1.3.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL FRUTO	- 9 -
1.3.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL.....	- 9 -

1.3.5	ACCIONES FARMACOLÓGICAS	- 10 -
1.3.6	ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA	- 10 -
1.4	ALIMENTOS NUTRACÉUTICOS	- 11 -
1.5	NÉCTAR	- 12 -
1.5.1	CONCEPTO.....	- 12 -
1.5.2	POTENCIAL A NIVEL COMERCIAL	- 12 -
1.6	RATAS (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 13 -
1.6.1	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	- 13 -
1.6.2	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA ESPECIE.....	- 13 -
1.6.3	CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS	- 14 -
1.6.4	DETERMINACIÓN DEL SEXO.....	- 15 -
1.6.5	DIETA	- 15 -
1.6.6	REPRODUCCIÓN	- 15 -
1.6.7	PARÁMETROS BIOQUÍMICOS.....	- 16 -
1.6.8	CONSECUENCIAS DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA	- 17 -
	CAPÍTULO II	- 18 -
2	PARTE EXPERIMENTAL	- 18 -
2.1	LUGAR DE INVESTIGACIÓN	- 18 -
2.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	- 18 -
2.2.1	MATERIAL VEGETAL.....	- 19 -
2.2.2	MATERIALES, EQUIPOS, REACTIVOS	- 19 -
2.3	ELABORACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (<i>Sechium edule</i>)	- 22 -
2.3.1	SELECCIÓN.....	- 24 -
2.3.2	PESADO	- 24 -
2.3.3	LAVADO.....	- 24 -
2.3.4	PRECOCCIÓN.....	- 24 -
2.3.5	PELADO.....	- 24 -
2.3.6	PULPEADO	- 24 -
2.3.7	REFINADO	- 25 -
2.3.8	DILUCIÓN DE LA PULPA	- 25 -
2.3.9	REGULACIÓN DE LA ACIDEZ	- 25 -
2.3.10	ADICIÓN DEL ESTABILIZANTE.....	- 25 -
2.3.11	HOMOGENIZACIÓN.....	- 25 -
2.3.12	PASTEURIZACIÓN	- 26 -
2.3.13	ENVASADO.....	- 26 -

2.3.14	ENFRIADO	- 26 -
2.3.15	ALMACENADO.....	- 26 -
2.4	TÉCNICAS Y MÉTODOS.....	- 26 -
2.4.1	CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL	- 26 -
2.4.1.1	DETERMINACIONES FÍSICAS	- 27 -
2.4.1.2	DETERMINACIONES QUÍMICAS.....	- 27 -
2.4.1.3	DETERMINACIÓN FITOQUÍMICA.....	- 27 -
2.4.1.4	DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA	- 27 -
2.4.2	CONTROL DE CALIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA	- 28 -
2.4.2.1	DETERMINACIONES FÍSICAS	- 28 -
2.4.2.2	DETERMINACIONES QUÍMICAS.....	- 28 -
2.4.2.3	DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA	- 29 -
2.4.3	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (<i>Sechium edule</i>).....	- 29 -
2.4.3.1	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	- 29 -
2.4.4	EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA	- 33 -
2.4.4.1	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	- 33 -
2.4.5	ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.....	- 33 -
	CAPÍTULO III	- 35 -
3	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	- 35 -
3.1	CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL.....	- 35 -
3.2	CONTROL DE CALIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA	- 36 -
3.3	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO Y PRESENCIA DE ELEMENTOS DE INTERÉS HIPOCOLESTEROLÉMICO PRESENTES EN EL NÉCTAR DE GUATILA (<i>Sechium edule</i>).....	- 37 -
3.4	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (<i>Sechium edule</i>).....	- 38 -
3.4.1	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	- 41 -
3.5	EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA.....	- 43 -
3.6	ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	- 45 -
	CAPÍTULO IV.....	- 48 -
4	CONCLUSIONES.....	- 48 -
	CAPÍTULO V.....	- 50 -
5	RECOMENDACIONES	- 50 -
	BIBLIOGRAFÍA	- 51 -
	ANEXOS.....	- 59 -

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

β	Beta
%	porcentaje
Å	Angstroms
Acil-CoA	Acil Coenzima A
BID	Cada 12 horas
Bx	Brix
°C	Grados Celsius
CMC	Carboximetilcelulosa
dL	Decilitros
ELnN	Extracto libre no Nitrogenados
g	Gramos
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A o
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
HS	Hora sueño
HSD	Honestly Significant Difference
HTA	Hipertensión arterial
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
L	Litros
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPL	Lipoproteinlipasa
M	Molar
mg	Miligramo
mL	Mililitro
NTE	Norma Técnica Ecuatoriana

P	Peso
pH	Potencial de hidrogeno
PO	Por la boca ó Vía oral
POES	Procedimientos operativos estandarizados de saneamiento
ppm	Partes por millón
QD	Cada día
U	Unidades
UFC	Unidades formadoras de colonias
UPC	Unidades propagadoras de colonias
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1	Composición nutritiva de diversos órganos de la guatila	- 10 -
TABLA N° 2	Datos fisiológicos de la rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 14 -
TABLA N° 3	Ciclo biológico de la rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 16 -
TABLA N° 4	Parámetros sanguíneos de la rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	- 16 -
TABLA N° 5	Materiales, reactivos y equipos para el estudio bromatológico y microbiológico de fruto y néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	- 19 -
TABLA N° 6	Materiales, reactivos y equipos para comprobar la actividad hipocolesterolémica del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	- 21 -
TABLA N° 7	Materiales, reactivos y equipos para la evaluación de la toxicidad aguda del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	- 21 -
TABLA N° 8	Materiales, reactivos y equipos para el estudio histopatológico.	- 22 -
TABLA N° 9	Condiciones ambientales y de alimentación	- 30 -
TABLA N° 10	Grupos y tratamientos experimentales.....	- 30 -

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1	Análisis bromatológico del fruto de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	- 35 -
CUADRO N° 2	Resultados de la evaluación microbiológica del fruto fresco de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	- 36 -
CUADRO N° 3	Análisis físico - químico del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	- 36 -
CUADRO N° 4	Resultados de la evaluación microbiológica del néctar de Guatila (<i>Sechium edule</i>)	- 37 -
CUADRO N° 5	Resultados de la concentración y presencia de elementos de interés hipocolesterolémica presentes en el néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	- 38 -
CUADRO N° 6	Resultados de la diferencia de peso corporal en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>), con la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) como tratamiento hipocolesterolémico. Diciembre 2013	- 39 -
CUADRO N° 7	Resultados de la diferencia de concentración plasmática del colesterol total en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>), con la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) como tratamiento hipocolesterolémico. Diciembre 2013.....	- 39 -
CUADRO N° 8	Resultados del análisis estadístico anova de varianza de un fator de la concentración plasmática del colesterol total en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) con la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) como tratatmiento hipocolesterolémico.....	- 41 -
CUADRO N° 9	Resultados de la determinación de los signos de toxicidad del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Diciembre 2013.	- 43 -
CUADRO N° 10	Resultados de la determinación de números de animales experimentales muertos en el estudio de toxicidad del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>), en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Diciembre 2013.....	- 44 -
CUADRO N° 11	Resultados del examen histopatológico de la biopsia de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>), a las cuales se les administró néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Diciembre 2013.....	- 45 -

ÍNDICE DE GRAFICOS

- GRÁFICO N° 1** Resultados de la diferencia de concentración plasmática del colesterol total en ratas (*Rattus norvegicus*), con la administración de atorvastatina y néctar de guatila (*Sechium edule*) como tratamiento hipocolesterolémico. Diciembre 2013. - 40 -
- GRÁFICO N° 2** Resultados del análisis estadístico anova un factor comparaciones múltiples método Tukey HSD al 95% de la concentración plasmática del colesterol total en ratas (*Rattus norvegicus*) con la administración del néctar de guatila (*Sechium edule*). - 42 -

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1 Fruto de guatila (*Sechium edule*) - 8 -

FIGURA N° 2 Diagrama de la elaboración del néctar de guatila (*Sechium edule*) - 23 -

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1	Guatila (<i>Sechium edule</i>)	- 59 -
FOTOGRAFÍA N° 2	Ácido ascórbico y CMC	- 59 -
FOTOGRAFÍA N° 3	Agua luz	- 59 -
FOTOGRAFÍA N° 4	Selección y pesado	- 60 -
FOTOGRAFÍA N° 5	Lavado	- 60 -
FOTOGRAFÍA N° 6	Precocción	- 60 -
FOTOGRAFÍA N° 7	Pelado	- 60 -
FOTOGRAFÍA N° 8	Pulpeado	- 61 -
FOTOGRAFÍA N° 9	Refinado	- 61 -
FOTOGRAFÍA N° 10	Dilución de la pulpa	- 61 -
FOTOGRAFÍA N° 11	Regulación de la acidez	- 61 -
FOTOGRAFÍA N° 12	Adición del estabilizante	- 62 -
FOTOGRAFÍA N° 13	Homogenización	- 62 -
FOTOGRAFÍA N° 14	Pasteurización	- 62 -
FOTOGRAFÍA N° 15	Envasado, enfriado y almacenado	- 62 -
FOTOGRAFÍA N° 16	Peso	- 63 -
FOTOGRAFÍA N° 17	Acidez	- 63 -
FOTOGRAFÍA N° 19	Cenizas	- 63 -
FOTOGRAFÍA N° 18	Humedad	- 63 -
FOTOGRAFÍA N° 20	Proteína	- 64 -
FOTOGRAFÍA N° 21	Extracto etéreo	- 64 -
FOTOGRAFÍA N° 22	Fibra	- 64 -
FOTOGRAFÍA N° 23	Vitamina C	- 64 -
FOTOGRAFÍA N° 24	pH	- 65 -
FOTOGRAFÍA N° 25	Acidez	- 65 -
FOTOGRAFÍA N° 26	Grados Brix	- 65 -
FOTOGRAFÍA N° 27	Sólidos totales	- 65 -
FOTOGRAFÍA N° 28	Fitoesteroles	- 65 -
FOTOGRAFÍA N° 29	Ambientación de los grupos experimentales	112
FOTOGRAFÍA N° 30	Inducción de la patología	112
FOTOGRAFÍA N° 31	Toma de pesos de los animales de experimentación	113

FOTOGRAFÍA N° 32	Administración por vía oral de la solución de atorvastatina y néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	113
FOTOGRAFÍA N° 33	Determinación de la concentración plasmática de colesterol total.....	114
FOTOGRAFÍA N° 34	Administración oral de la concentración máxima del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) 4g/Kg.....	116
FOTOGRAFÍA N° 35	Observación de los signos de toxicidad.....	117
FOTOGRAFÍA N° 36	Eutanasia con CO2.....	117
FOTOGRAFÍA N° 37	Disección de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)	117
FOTOGRAFÍA N° 38	Estómago, hígado y riñones de los 4 grupos en formol 10%.....	117
FOTOGRAFÍA N° 39	Cortes histológicos del estómago, hígado y riñon	118
FOTOGRAFÍA N° 40	Placas para el examen histopatológico del estómago, hígado y riñones... ..	118

ÍNDICES DE ANEXOS

ANEXO N° 1	Materia prima.....	- 59 -
ANEXO N° 2	Elaboración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	- 60 -
ANEXO N° 3	Análisis bromatológico del fruto de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	- 63 -
ANEXO N° 4	Análisis bromatológico del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	- 65 -
ANEXO N° 5	Ensayo de Lieberman - Buchard del fruto de guatila (<i>Sechium edule</i>)	- 65 -
ANEXO N° 6	Cromatografía líquida alta resolución (HPLC) del fruto y néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	- 66 -
ANEXO N° 7	Técnica para determinar humedad. Método de desecación en estufa de aire caliente	- 68 -
ANEXO N° 8	Técnica para determinar cenizas. Método de incineración en mufla.....	- 69 -
ANEXO N° 9	Técnica para la determinación de proteínas. Método de Macro Kjeldahl	- 71 -
ANEXO N° 10	Técnica para determinar el extracto etéreo. Método gravimétrico.....	- 74 -
ANEXO N° 11	Técnica para la determinación de fibra.....	- 76 -
ANEXO N° 12	Vitamina C. Método espectrofotométrico HPLC	- 78 -
ANEXO N° 13	Fitoesteroles. Ensayo de Liebermann – Buchard.....	- 80 -
ANEXO N° 14	INEN NTE 2337:2008. Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos.....	- 82 -
ANEXO N° 15	NTE INEN 389. Conservas vegetales. Determinación de la concentración del ión hidrógeno (pH)	- 88 -
ANEXO N° 16	NTE INEN 382. Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles (°Brix). Método refractométrico.....	- 90 -
ANEXO N° 17	NTE INEN 381. Conservas vegetales. Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico de referencia	- 96 -
ANEXO N° 18	INEN NTE 1529-8. Recuento de coliformes totales	- 101 -
ANEXO N° 19	NTE INEN 1529-10:98. Control microbiológico de los alimentos, mohos y levaduras viables.....	- 106 -
ANEXO N° 20	Informe de resultados de determinación de calcio (Ca) en el néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	111
ANEXO N° 21	Evaluación de la actividad hipocolesterolémica del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>). Bioterio de la Facultad de Ciencias. ESPOCH. Diciembre 2013.	112
ANEXO N° 22	Tabla de valoración de los signos de toxicidad aguda.....	115
ANEXO N° 23	Fórmula para obtener DL50.....	115
ANEXO N° 24	Evaluación de la toxicidad del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	116

ANEXO N° 25	Registro de las mediciones de la concentración plasmática del colesterol total de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) con la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	118
ANEXO N° 26	Registro de las mediciones del peso corporal de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) con la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>).....	119
ANEXO N° 27	Registro de las mediciones del peso corporal de ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) en el estudio de la toxicidad aguda.	120
ANEXO N° 28	Prueba tukey de la concentración de colesterol total en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) en la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) como tratamiento hipocolesterolémico.	121
ANEXO N° 29	Prueba de tukey de la concentración de colesterol total en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) en la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) como tratamiento hipocolesterolémico. Una hora después	124
ANEXO N° 30	Prueba tukey de la concentración de colesterol total en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) en la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) como tratamiento hipocolesterolémico. Tres horas después.	128
ANEXO N° 31	Prueba tukey de la concentración de colesterol en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) en la administración del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>) como tratamiento hipocolesterolémico. 144 horas después	131
ANEXO N° 32	Resultados del análisis bromatológico del fruto fresco de guatila (<i>Sechium edule</i>)	134
ANEXO N° 33	Resultados del análisis físico y bromatológico del néctar de guatila (<i>Sechium edule</i>)	134

INTRODUCCIÓN

El colesterol es un componente importante en nuestra dieta diaria derivado de alimentos de origen animal y de grasas saturadas, aporta energía necesaria para el desarrollo de nuestro organismo, es una sustancia adiposa suave que forma parte de la estructura y funcionamiento de todas las células del cuerpo, además de ser precursor de ácidos biliares, vitamina D3, hormonas como progesterona, estrógenos; etc. Sin embargo el exceso de colesterol puede llegar a ser un serio problema de salud.

Según datos del Ministerio de Salud Pública del Ecuador (2008) se estima que el 20% de la población adulta tiene niveles de colesterol elevados, de los cuales la mayoría ya presentan dislipidemias ante esto se busca una opción para ayudar a erradicar o controlar esta enfermedad.

La hipercolesterolemia es un padecimiento habitual en nuestra sociedad lo pueden padecer personas de cualquier edad. Es considerada como una enfermedad pues se involucran factores genéticos, edad, sexo, factores metabólicos, medioambientales, socioeconómicos y psicológicos.

Según la OMS la hipercolesterolemia es un problema mal controlado pues la mayoría de quienes padecen de este mal no cuentan con una terapia adecuada para disminuir el riesgo de padecer problemas cardiovasculares, siendo esta una de las afecciones con un alto nivel de mortalidad con un dato de 17 millones de vidas por cada año a nivel mundial.

En este contexto el propósito de la elaboración del néctar de guatila es contribuir a la meta de “Reducir el nivel de hipercolesterolemia de la población” cumpliendo con el objetivo 3 del Plan Nacional del Buen Vivir que es “Mejorar la calidad de vida de la población” ofreciendo una alternativa natural para que las personas con perfil lipídico alterado puedan alcanzar niveles normales, sin correr riesgo de efectos adversos que pueden ocasionar los fármacos destinados a este propósito y, aportándoles nutrientes necesarios para el desarrollo del metabolismo como pro-vitamina A (beta caroteno), vitamina C y un importante porcentaje de carbohidratos y minerales.

Con esto se busca que revalorizar la guatila (*Sechium edule*) pues es una fruta subestimada por mucho al demostrar la actividad hipocolesterolémica y darle un valor agregado elaborando alimentos nutraceúticos como el néctar. También se mejorarán las condiciones socio económicas de los productores de este fruto que se cultiva en las provincias de Pastaza y Morona Santiago, al mejorar la demanda del mismo.

En la presente investigación el objetivo planteado fue evaluar la actividad hipocolesterolémica del néctar de guatila (*Sechium edule*) en animales de experimentación. Se realizó 3 tratamientos con diferentes concentraciones 1g/Kg, 2g/Kg y 4g/Kg con el fin de encontrar el tratamiento más eficaz para la hipercolesterolemia. Se evaluó el nivel de toxicidad del néctar, utilizando el ensayo de toxicidad aguda.

Se realizó el control de calidad de la materia prima y del néctar mediante su análisis bromatológico y microbiológico; los resultados obtenidos se encuentran dentro de los requisitos establecidos en la NTE INEN 2 337:2008.

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 HIPERCOLESTEROLEMIA.

1.1.1 CONCEPTO.

La hipercolesterolemia es el aumento del nivel de colesterol en la sangre, esto se debe generalmente a la acumulación de colesterol LDL en las paredes interiores de las arterias lo que provoca una disminución del flujo sanguíneo y del oxígeno hacia el corazón. (ALONSO, F.)

El interés clínico de la hipercolesterolemia se debe a su vinculación directa con las enfermedades cardiovasculares, es por este motivo que a un paciente con nivel de colesterol elevado se le debe calcular el riesgo individual teniendo en cuenta la presencia de otros factores como diabetes, HTA, obesidad y tabaquismo.

Para el plan terapéutico se debe tener en cuenta el grado de colesterolemia que padece el paciente, aquí se tomará en cuenta la educación sanitaria como punto básico.

En prevención primaria:

- Norcolesterolemia: niveles de colesterol total <200mg/dl.
- Hipercolesterolemia límite: niveles de colesterol total 200-250 mg/dl.
- Hipercolesterolemia: niveles de colesterol total >250 mg/dl.

En prevención secundaria:

- Hipercolesterolemia: niveles de colesterol LDL <130mg/dL o niveles de colesterol total >200 mg/dL. (**ALONSO, F.**)

1.1.2 CAUSAS.

Los factores que contribuyen al incremento del nivel de concentración plasmática de colesterol son los siguientes:

- **Dietas inadecuadas:** El consumo excesivo de grasas animales y de alcohol no permite la degradación del colesterol LDL provocando su acumulación en las arterias.
- **Edad y género:** Después de los 20 años de edad los niveles de colesterol en nuestro organismo aumentan. En las mujeres el nivel de colesterol es bajo hasta la menopausia mientras que en los hombres se estabiliza después de los 50.
- **Enfermedades hepáticas, endocrinas y renales** aumentan la síntesis de la lipoproteína LDL.

- **Fumar:** La presencia de la nicotina incrementa los niveles de colesterol LDL.
- **Hipercolesterolemia familiar:** Es ocasionada por un defecto genético que impide que el colesterol LDL sea degradado, siendo este un riesgo de mortalidad temprana.
- **Obesidad:** Es un desencadenante de la hipercolesterolemia por el aumento de los niveles de triglicéridos en sangre.
- **Poca actividad física:** al no realizar actividad física el nivel de colesterol en sangre se acumula, además de esto se contribuye a la obesidad. (GARWOOD, P. 2011)

1.1.3 REPERCUSIONES CLÍNICAS.

Las personas que presentan un alto nivel en la concentración plasmática de colesterol LDL pueden correr los siguientes riesgos:

- Aumenta el riesgo de accidentes cerebrovasculares, muerte súbita, infartos, etc.
- Pueden padecer cálculos de la vesícula.
- Susceptibles a padecer HTA.
- Aumenta el riesgo de padecer diabetes.

1.2 TRATAMIENTOS HIPOCOLESTEROLÉMICOS

1.2.1 MEDICAMENTOS

1.2.1.1 ATORVASTATINA

Inhibe la HMG-CoA reductasa la cual limita la velocidad de biosíntesis del colesterol, e inhibe la síntesis del colesterol en el hígado. (**VADEMECUM. 2011**)

Dosificación

Adultos:

Dosis inicial: 10 - 80 mg PO QD. Comenzar con 10 – 20 mg PO QD. Para disminuir LDL en > 45%: 40 mg PO QD.

Dosis máxima: 80 mg PO QD. (**CONSEJO NACIONAL DE SALUD. 2011**)

1.2.1.2 SIMVASTATINA

Es un potente inhibidor de HMG-CoA reductasa el cual cataliza el cambio de HMG-CoA en mevalonato, para dar paso a la biosíntesis del colesterol. (**VADEMECUM. 2011**)

Dosificación:

Adultos:

Dosis inicial: 10 - 20 mg PO QD HS. Para disminuir LDL en 45%: 40 mg PO QD HS.

Dosis máxima: 80 mg PO QD

Con ciclosporina o danazol: 5 mg PO QD HS. Dosis máxima: 10 mg/día.

Con amiodarona o verapamilo: 20 mg PO QD HS.

Vigilar transaminasas al comienzo del tratamiento y al menos cada 6 meses.

(**CONSEJO NACIONAL DE SALUD. 2011**)

1.2.1.3 GEMFIBROZILO

Es un regulador del perfil lipídico, este medicamento estimula la lipólisis periférica de VLDL y quilomicrones; e inhibe la síntesis de VLDL en el hígado, aumenta las HDL2 y HDL3 y las apolipoproteínas A-I y A-II. (VADEMECUM. 2011)

Dosificación:

Adultos: 600 mg PO BID, 30 minutos antes de desayuno y merienda Vigilar Creatinina, transaminasas, leucocitos, hematíes y plaquetas, al comienzo y durante el primer año.

Niños: No hay dosis establecida para niños. (CONSEJO NACIONAL DE SALUD. 2011)

1.2.2 ALTERNATIVAS.

1.2.2.1 SUSTANCIAS HIPOCOLESTEROLÉMICAS.

- **Vitamina B3.** 6g/día ayuda a disminuir el colesterol en sangre. Está presente en el hígado, pescado, verduras, papas, etc. No se recomienda su consumo prolongado.

- **Vitamina C.** 1g/día puede aumentar los niveles de colesterol HDL en un 8 %.
Contienen vitamina C los tomates, naranjas, pomelos, patatas, fresas, espinacas, etc.

- **Vitamina E.** por ser un antioxidante se recomienda su uso en el tratamiento de la hipercolesterolemia junto a una dieta adecuada y ejercicio físico.
La Vitamina E está presente en el aceite de girasol, aceite de oliva, aceite de soya, atún, sardinas, etc.

- **Calcio.** 1g/día de calcio por 8 semanas disminuye el nivel de colesterol en un 4, 8 %.
- **Spirulina.** Es un alga unicelular rica en ácidos poli-insaturados, se lo consume en forma de polvo como suplemento dietético.
- **Cebada.** Por su alto contenido de fibra saludable.

1.2.2.2 DIETA.

Para combatir la hipercolesterolemia se recomienda la siguiente dieta:

- Grasas saturadas: 7% de calorías.
- Grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas: 10 - 20% de calorías
- Carbohidratos: 50% de calorías
- Fibra: 25g/día
- Proteínas: 15% de calorías
- Grasas trans: evitar su consumo.

Se debe consumir las calorías que el cuerpo quema por día. (LIFSHITZ, A. 2013)

1.2.2.3 FITOTERAPIA.

- **Acedera:** la fibra de las hojas de acedera ayuda a reducir el colesterol del organismo.

- **Aceite de oliva:** por su contenido de fitoesteroles y ácido oleico se lo utiliza para combatir el colesterol malo.
- **Ajo:** ayuda en el tratamiento del colesterol alto por su alto contenido de antioxidantes.
- **Brócoli:** es un vegetal rico en fibra soluble, antioxidantes como el sulforafano.
- **Alcachofera:** su efecto hipocolesterolémico se debe principalmente a la presencia de Cinarina que interfiere en la síntesis de colesterol y la luteolina que inhibe su formación además de contener fibra y antioxidantes que ayudan a eliminar el colesterol.
- **Avellana:** es rica en ácidos grasos insaturados como el omega 9 y pobre en ácidos grasos saturados por este motivo es recomendada para el tratamiento de hipercolesterolemia.
- **Albahaca:** Contiene fibra que arrastra las grasas, saponinas que las disuelven y antioxidantes que ayudan a evitar se depositen las grasas en las paredes de las arterias. Se la puede consumir en té, infusiones y jugos.
- **Guatila:** Por su contenido de fitoesteroles ayuda a bajar el colesterol; se la puede consumir cruda o cocinada.

1.3 GUATILA.



FUENTE: [HTTP://WWW.FONDATION-LOUISBONDUELLE.ORG](http://www.fondation-louisbouduelle.org)

FIGURA N° 1 FRUTO DE GUATILA (*Sechium edule*)

1.3.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS.

Clasificación Botánica

Familia: Cucurbitaceae

Nombre científico: *Sechium edule*

Nombres comunes: cidrayota, chayota, tayota, güisquil, guatilla, papapobre o guatila. (WIKIPEDIA. 2013)

1.3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

La *Sechium edule* es una planta herbácea, trepadora, perenne, monoica, con raíz tuberosa y tallo delgado ramificado; su longitud alcanza hasta diez metros. Tiene hojas con pecíolo sulgado, anchas, ovadas a suborbiculares de tres a cinco lóbulos, su flor es unisexual, el fruto es solitario, carnoso y tiene diferentes formas, tamaños y clases de espinas exodermas de color blanco, verde claro, amarillento o verde oscuro, con una pulpa carnosa blanca o verde claro, de sabor amargo, en las variedades silvestres y no amargo en las cultivadas. La semilla es ovoide envuelta en una testa lisa suave. (MORENO, A. 2010)

1.3.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL FRUTO.

Botánicamente se le considera como un "pepo" o "falsa baya" tiene una forma lobulada con surcos longitudinales, con una sola semilla grande, ovoide y comprimida con una testa suave y lisa. Puede estar cubierta parcial o totalmente por espinas. (MARCANO, J. 2008)

Alcanza su madurez comercial después de los 25 días de que la flor fue fecundada, tiene un color verde claro y la parte comestible un color blanco a cremoso, su sabor es una mezcla de zapallo y pera. (SERRA, M. 2013)

Tiene un alto porcentaje de agua (90%) y fibra, y bajo contenido de carbohidratos además posee Vitamina C y Calcio es por este motivo que es considerada como una "papa dietética". (SERRA, M. 2013)

La variedad de este fruto en Ecuador pesa alrededor de 250-300 gramos.

1.3.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL.

Los frutos y en particular las semillas, son ricos en aminoácidos, como ácido glutámico, alanina, leucina, prolina, serina, tirosina, treonina, valina y metionina (esta última sólo en frutos). La guatila contiene fitoesteroles (β -sitoesterol, estigmasterol), compuestos terpénicos, flavonoides (kaempferol-3-O-rutinósido y flavonol-3-O-glucósido), almidón, vitamina C, β -caroteno, Calcio y aceite fijo. (Tabla 1.) (MORENO, A. 2010)

TABLA N° 1 COMPOSICIÓN NUTRITIVA DE DIVERSOS ÓRGANOS DE LA GUATILA (1)

Componente	Contenido de fruto	Contenido de brotes	Contenido en raíces	Unidad
Agua	90,80	89,70	79,70	%
Carbohidratos	7,70	4,70	17,80	g
Proteínas	0,90	4,00	2,00	g
Lípidos	0,20	0,40	0,20	g
Calcio	12,00	58,00	7,00	mg
Fósforo	30,00	108,00	34,00	mg
Hierro	0,60	2,50	0,80	mg
Vitamina A (valor)	5,00	615,00	-	UI
Tiamina	0,03	0,08	0,05	mg
Riboflavina	0,04	0,18	0,03	mg
Niacina	0,40	1,10	0,90	mg
Acido ascórbico	20,00	16,00	19,00	mg
Valor energético	31,00	60,00	79,00	cal

FUENTE: [HTTP://WWW.MEDIGRAPHIC.COM/PDFS/WAXAPA/WAX-2010/WAX103D.PDF](http://www.medigraphic.com/pdfs/waxapa/wax-2010/wax103d.pdf)

1.3.5 ACCIONES FARMACOLÓGICAS.

La guatila (*Sechium edule*) es un fruto que posee propiedades adelgazantes, analgésico, antiinflamatorio, anticancerígenos, cardiovasculares y regenerativo.

1.3.6 ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA.

El fruto de guatila es solitario, carnoso y tiene diferentes formas, tamaños y clases de espinas exodermas de color blanco, verde claro, amarillo o verde oscuro; dentro de su composición nutricional se destaca su riqueza en agua, fosforo, aminoácidos y fitoesteroles. (MORENO, A. 2010)

Los fitoesteroles son moléculas que están presentes en los alimentos vegetales, poseen una estructura semejante a la del colesterol. Por años es conocido que estas moléculas poseen efectos hipocolesterolémicos cuando son consumidos en una dosis de 1-3g/día, por esta razón se les vincula en el tratamiento de hipercolesterolemias leves o moderadas con el objetivo de prevenir enfermedades cardiovasculares. (VALENZULEA, A., RONCO, A.)

Los fitoesteroles disminuyen la concentración plasmática de colesterol total y colesterol LDL por su acción conjunta sobre los siguientes mecanismos:

1. Inhibición de la absorción intestinal de colesterol.
2. Inhibición de la actividad de la enzima acilCoA.colesterol-acil tranferasa
3. Aumento de la actividad del transportador de tipo ABC.

Por este motivo los fitoesteroles son considerados en la producción de alimentos funcionales. (VALENZULEA, A., RONCO, A.)

1.4 ALIMENTOS NUTRACÉUTICOS.

Los nutraceúticos son alimentos que ayudan a nuestra salud mediante el aumento de defensas, prevención y mejoramiento de enfermedades.

Según la INEN NTE 2587:2011, Alimento nutraceútico: “Son suplementos dietéticos, que aportan el componente bioactivo de un alimento, disponible en una forma farmacéutica y usada para mejorar la salud, en dosis que exceden aquellas que pueden ser obtenidas de un alimento normal.”

Según la INEN NTE 2587:2011, Alimento funcional: “Es un alimento natural o procesado que siendo parte de una dieta variada y consumido en cantidades adecuadas y de forma regular, además de nutrir tiene componentes bioactivos que ayudan a las funciones fisiológicas normales y/o que contribuyen a reducir o prevenir el riesgo de enfermedades.”

1.5 NÉCTAR.

1.5.1 CONCEPTO.

Según la NTE INEN 2337:2008. “Es el producto pulposo o no pulposo sin fermentar, pero susceptible de fermentación, obtenido de la mezcla del jugo de fruta o pulpa, concentrados o sin concentrar o la mezcla de éstos, provenientes de una o más frutas con agua e ingredientes endulzantes o no.”

Es una bebida alimenticia prácticamente es un zumo rebajado con agua contiene ácido cítrico y estabilizante como el CMC. Por su poca estabilidad al néctar se le debe realizar un tratamiento térmico apropiado garantizando así su conservación. **(PACHECO, R. 2012)**,

1.5.2 POTENCIAL A NIVEL COMERCIAL.

Con el aumento del consumo de jugos y bebidas a base de frutas, el néctar tiene un alto potencial a nivel comercial dentro de los productos alimenticios. Además de esto el Ecuador posee una gran ventaja por diversidad de frutas.

1.6 RATAS (*Rattus norvegicus*)

1.6.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Superfamilia: Muroidea

Familia: Muridae

Subfamilia: Murinae

Género: Rattus

Especie: norvegicus

Nombre binomial: Rattus norvegicus

Subspecies: R. n. albinicus – R. n. albus – R. n. norvegicus. (HALVERSON, M. 2005)

1.6.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA ESPECIE.

Las primeras cepas de rata utilizada a mediados del siglo XIX para la investigación biomédica fueron desarrolladas en el instituto Wistar de Filadelfia. Numerosas de las cepas consanguíneas que se emplean en la actualidad son descendiente de estas cepas albinas (Wistar).

La rata es el vertebrado usado con más frecuencia después del ratón y se utilizan en medicina, nutrición, toxicología, estudios del sistema nervioso y de la conducta animal. (ZUÑIGA, M., Y OTROS. 2001)

1.6.3 CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS.

La anatomía y fisiología de la rata es muy parecida a la del ratón. Las nefronas de la corteza del riñón muy cercanas a la superficie y es posible acceder a ellas. Las glándulas suprarrenales están alejadas de los principales vasos sanguíneos, esto hace que la adrenalectomía en la rata sea menos arriesgada que por ejemplo, en el conejo.

Las ratas tienen una vista muy limitada. Posee un hígado pentabulado, carecen de vesícula biliar. Las glándulas suprarrenales están alejadas de los grandes vasos. (ORTIZ, Alex. 2012). En el alvéolo ocular se encuentra la glándula de Harder, que produce una secreción rica en porfirinas, de color rojizo marrón, que lubrica el ojo. (ZUÑIGA, M., Y OTROS. 2001)

TABLA N° 2 DATOS FISIOLÓGICOS DE LA RATA

EVENTO	DATOS
Temperatura corporal	35,9 – 37,5 °C
Frecuencia cardiaca	250 - 600 por minuto
Frecuencia respiratoria	66 - 144 por minuto
Peso	Macho adulto 300 – 500 gramos
	Hembra adulta 200 – 400 gramos
	Recién nacidos 5 gramos
Consumo de agua	24 - 60 mL por día ó 10 -12 mL por cada 100 gramos de peso corporal por día
Consumo de alimento	15 – 30 gramos por día ó 5 – 6 gramos por cada 100 gramos de peso corporal por día
Heces	Dura y alargada de color marrón oscuro con extremos redondeados
Orina	Transparente y amarilla
Duración de vida	2,5 – 3,5 años

FUENTE: <http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/Doctorado/cursos/CirExp/005.pdf>

1.6.4 DETERMINACIÓN DEL SEXO.

Se determina a través de la distancia anogenital, en el macho es mayor que en la hembra. En los adultos machos, los testículos destacan debajo de la cola.

1.6.5 DIETA

Su dieta es proporcionada en general mediante pellets de 4 a 5 gramos. Normalmente se coloca de 12-15 pellets por día y en conjunto se provee agua en una botella con válvula automática. A los roedores habitualmente se les proporciona alimento y agua para que lo consuman a voluntad.

1.6.6 REPRODUCCIÓN

La reproducción de la rata y el ratón son similares, en la rata no se da el efecto Bruce y no es muy evidente la sincronización del ciclo estral estimulada por las feromonas presentes en la orina del macho. Después del apareamiento en la hembra aparece un tapón vaginal durante las 12 – 24 horas consiguientes. **(ORTIZ, Alex. 2012)**

Las hembras son sexualmente maduras a las 6 – 8 semanas de vida; en su fase estral presenta los siguientes signos: temblor de orejas, frotamiento de la cabeza y espalda, nerviosismo y lordosis al acariciarlas. Antes del parto aumenta el acicalamiento de la parte posterior del cuerpo y se observa un flujo vaginal. **(HALVERSON, M. 2005)**

Son excelentes madres, aceptan crías procedentes de otras camadas, siempre que estén en buen estado y la diferencia de edad no sea grande.

TABLA N° 3 CICLO BIOLÓGICO DE LA RATA

EVENTO	DATOS
Gestación	21 – 22 días
Número de crías	6 – 8
Lactancia	21 días
Peso al destete	40 – 60 gramos
Edad a la pubertad	70 – 80 días
Madurez reproductiva	65 – 110 días
Peso de adulto	200 – 500 gramos
Vida productiva	365 días
Longevidad	2,5 años
Ciclo estral (días)	4 – 5

FUENTE: <http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/Doctorado/cursos/CirExp/005.pdf>

1.6.7 PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

TABLA N° 4 PARÁMETROS SANGUÍNEOS DE LA RATA

EVENTO	DATOS
Glucosa (mg/100mL)	50 – 135
Colesterol total (mg/dL)	47 – 93
Triglicéridos	74 – 150
Proteínas totales (g/100mL)	4,7 – 8,2
Albumina (g/100mL)	2,7 – 5,1
Transaminasa glutámica (U/L)	4,6 – 81
Transaminasa pirúvica (U/L)	18 – 30
Fosfatasa alcalina (U/L)	57 – 128
Urea en sangre (mg/100mL)	5 – 29

FUENTE: <http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/Doctorado/cursos/CirExp/005.pdf>

1.6.8 CONSECUENCIAS DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA.

Los animales experimentales inducidos a hipercolesterolemia pueden correr algunos riesgos como:

- Formación de tumores en órgano y tejidos que regulan el metabolismo.
- Aparición de abscesos.
- Ceguera.
- Infartos.
- Accidentes cerebrovasculares.
- Muerte súbita.
- Aumenta el riesgo de contraer Diabetes. (**VALERIO, María. 2013**)

CAPÍTULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL.

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN.

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Laboratorio de Nutrición animal y bromatológico de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- El laboratorio del centro de servicios técnicos y transferencia de tecnología ambiental. CESTA-ESPOCH.
- Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio Histopatológico de SOLCA- Riobamba.
- Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque Andrade.

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIAL VEGETAL

Como materia prima se utilizó fruto de guatila (*Sechium edule*) originario de la provincia de Pastaza, cantón Puyo, recogido en el mes de diciembre.

Para el néctar se utilizó (**Ver Anexo N° 1**):

- Pulpa de Guatila
- Agua potable
- Ácido cítrico
- Carboximetilcelulosa

2.2.2 MATERIALES, EQUIPOS, REACTIVOS

TABLA N° 5 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS PARA EL ESTUDIO BROMATOLÓGICO Y MICROBIOLÓGICO DE FRUTO Y NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

MATERIALES	REACTIVOS	EQUIPOS
Termómetro	Agua destilada	Balanza analítica
Soporte universal	Ácido sulfúrico 0,13M	Desecador
Pinzas universales	Hidróxido de Potasio 0,23M	Estufa
Mangueras	Sulfato de sodio	Mufla
Reverbero	Sulfato de cobre	Equipo de Weende
Balones	Ácido sulfúrico concentrado	Digestor de fibra
Pinzas para bureta	Ácido bórico al 2.5%.	Refractómetro
Bureta	Zinc granulado	Equipo Kjeldahl
Picnómetro	Hidróxido de sodio al 50%	Cabina extractora de gases

Trípode	Ácido clorhídrico 0.1N	Digestor de fibra
Embudo	Ácido sulfúrico 0.3N	HPLC
Papel filtro	Ácido ascórbico estándar	pH – metro
Pizeta	Ácido fosfórico 0.05M	Autoclave
Espátula	Fenoltaleína	Bomba de vacío
Pipetas volumétricas	Agua bidestilada	Computadora
Capsula de porcelana	Agar saboraud	Centrifuga
Pinzas para capsula	Anhídrido acético	Incubadora
Crisol	Cloroformo	Viscosímetro
Erlenmeyer		Refrigerador
Varilla de agitación		
Vidrio reloj		
Vasos de precipitación		
Jeringuilla		
Lana de vidrio		
Probeta		
Balones de aforo		
Cajas Petri		
Placas Petrifilm		
Asa		
Tubos de ensayo		
Mandil		
Guantes		
Mascarilla		

TABLA N° 6 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS PARA COMPROBAR LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*).

MATERIALES	REACTIVOS Y SOLUCIONES	EQUIPOS
Cánula orogástrica	Néctar de Guatila (<i>Sechium edule</i>)	Balanza analítica
Capilares rojos	Atorvastatina 10 mg	Dispositivo diagnóstico multiparámetro MultiCarein
Algodón	Alcohol 70°	Tiras reactivas para Colesterol Total
Jeringuilla 1ml	Propilenglicol	
Caja de guantes	Agua destilada	
Mascarilla	Gel desinfectante	
Uniforme	Vaselina	
Mandil		
REACTIVO BIOLÓGICO		
Ratas Wistar		

TABLA N° 7 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*).

MATERIALES	REACTIVOS Y SOLUCIONES	EQUIPOS
Cánula orogástrica	Néctar de Guatila (<i>Sechium edule</i>) en su máxima concentración	Balanza analítica
Caja de guantes	Gel desinfectante	
Mascarilla	Vaselina	
Uniforme		
Mandil		
REACTIVO BIOLÓGICO		
Ratas Wistar		

TABLA N° 8 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.

MATERIALES	REACTIVOS Y SOLUCIONES	EQUIPOS
Algodón	Formol tamponado para muestras histológicas	Balanza analítica
Bandejas de plástico	Colorantes para tinción HE	Equipo de eutanasia
Placas portaobjetos	Parafina para inclusión de tejidos histológicos	Equipo de disección
Placas cubreobjetos	Xilol	Refrigerador
Envases estériles	Sellador entellán	Microscopio
Canastillas	Gel desinfectante	
Caja de guantes		
Mascarilla		
Regla		
Mandil		
REACTIVO BIOLÓGICO		
Ratas Wistar		

2.3 ELABORACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

El proceso de elaboración del néctar se realiza como se muestra en la figura 2. (**Ver Anexo N° 2**)

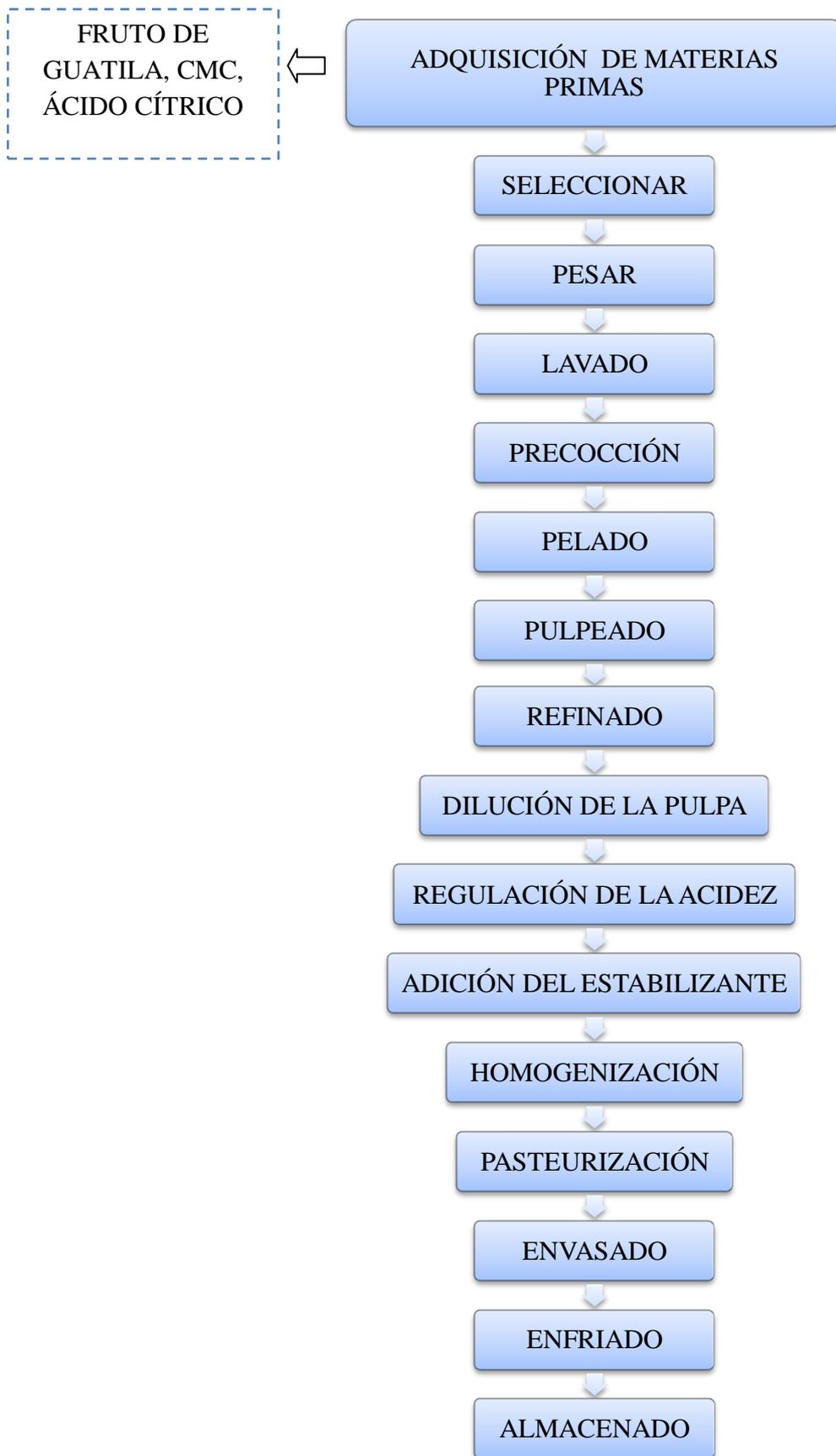


FIGURA N° 2 DIAGRAMA DE LA ELABORACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (Sechium edule)

2.3.1 SELECCIÓN

Eliminamos los frutos maltratados, dañados y con contaminación microbiana.

2.3.2 PESADO

Con esto podemos determinar el rendimiento que se puede conseguir del fruto.

2.3.3 LAVADO

Eliminamos la suciedad y la tierra presente en la superficie del fruto.

2.3.4 PRECOCCIÓN

Sumergimos el fruto en agua a T° de ebullición hasta su ablandamiento.

2.3.5 PELADO

Lo realizamos con un cuchillo para que el fruto quede libre de cáscaras y pepas.

2.3.6 PULPEADO

Colocamos el fruto pre-cocido en la licuadora hasta obtener la pulpa.

2.3.7 REFINADO

En este paso se realiza un tamizado para obtener una apariencia más homogénea.

2.3.8 DILUCIÓN DE LA PULPA

Se diluye la pulpa en una relación 2:1 donde colocamos 2 partes de la pulpa pura de guatila y 1 una parte de agua.

2.3.9 REGULACIÓN DE LA ACIDEZ

Para regular la acidez realizamos lo siguiente:

- Tomamos una muestra del néctar
- Con el pH-metro determinamos la acidez de la muestra
- Agregamos ácido cítrico hasta la acidez se estabilice en un pH de 3.8-4.5.

2.3.10 ADICIÓN DEL ESTABILIZANTE

Al ser la guatila un fruto pulposo se requiere añadir el 0,07% de CMC.

2.3.11 HOMOGENIZACIÓN

Mezclamos hasta la completa disolución de todos los ingredientes.

2.3.12 PASTEURIZACIÓN

Calentamos el néctar hasta su punto de ebullición, manteniéndolo a esta T° por un tiempo de 1-3 minutos; retiramos de fuego y separamos la espuma que se formó en la superficie.

2.3.13 ENVASADO

Inmediatamente envasamos hasta el tope del contenido del envase de vidrio y colocamos la tapa. Este paso debe hacerse en una T° no menos de 85°C.

2.3.14 ENFRIADO

Colocamos el néctar envasado bajo chorros de agua fría.

2.3.15 ALMACENADO

Almacenamos en un lugar fresco, limpio, seco y con ventilación.

2.4 TÉCNICAS Y MÉTODOS.

2.4.1 CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL.

El fruto de Guatila (*Sechium edule*) no sufrió más manipulación que los procesos de recolección y conservación.

Para el control de calidad del fruto se realizaron las siguientes pruebas:

2.4.1.1 DETERMINACIONES FÍSICAS. (Ver Anexo N° 3)

Peso: Gravimetría.

Color: Organoléptico.

Olor: Organoléptico.

Sabor: Organoléptico.

pH: NTE INEN 389 (Ver Anexo N° 15)

Acidez: NTE INEN 381. (Ver Anexo N° 17)

2.4.1.2 DETERMINACIONES QUÍMICAS. (Ver Anexo N° 3)

Humedad: Método de desecación en estufa de aire caliente. (Ver Anexo N° 7)

Cenizas: Método de incineración en mufla. (Ver Anexo N° 8)

Proteínas: Método de Macro Kjeldhal. (Ver Anexo N° 9)

Extracto etéreo: Método de Goldfish . (Ver Anexo N° 10)

Fibra: Método de Weende. (Ver Anexo N° 11)

Vitamina C.- Método espectrofotométrico HPLC (Ver Anexo N° 12)

2.4.1.3 DETERMINACIÓN FITOQUÍMICA. (Ver Anexo N° 5)

Fitoesteroles.- Ensayo de Liebermann-Burchard (Ver Anexo N° 13)

2.4.1.4 DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA.

Recuento de coliformes totales: Método Placa Petrifilm.

Recuento de mohos y levaduras: Método de siembra a profundidad.

2.4.2 CONTROL DE CALIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA.

Para realizar el control de calidad del néctar de guatila (*Sechium edule*); la materia prima fue adquirida en la ciudad de Puyo provincia de Pastaza donde se consideró parámetros de las normativas INEN para néctar.

Para el control de calidad del néctar de guatila se realizaron las siguientes pruebas:

2.4.2.1 DETERMINACIONES FÍSICAS. (Ver Anexo N° 4)

Aspecto: Organoléptico.

Color: Organoléptico.

Olor: Organoléptico.

Sabor: Organoléptico.

pH: NTE INEN 389 (Ver Anexo N° 15)

Acidez: NTE INEN 381. (Ver Anexo N° 17)

Índice de refracción (°Brix): NTE INEN 380 (Ver Anexo N° 16)

Viscosidad: Viscosímetro rotacional.

2.4.2.2 DETERMINACIONES QUÍMICAS. (Ver Anexo N°4)

Sólidos totales: NTE INEN 382.- Método de desecación en estufa de aire caliente.

(Ver Anexo N° 16)

Vitamina C.- Método espectrofotométrico HPLC (**Ver Anexo N°12**)

Calcio: Método interno.- referencia Cookbook EPA200.7/ EPA 3015aICP (**Ver Anexo N° 20**)

2.4.2.3 DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA.

Recuento de coliformes totales INEN NTE 1529-8: Método Placa Petrifilm. (**Ver Anexo N° 18**)

Recuento de mohos y levaduras INEN NTE1529-10: Método de siembra a profundidad. (**Ver Anexo N° 19**)

2.4.3 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) (**Ver Anexo N° 21**)

2.4.3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la evaluación de la actividad hipocolesterolémica del néctar de guatila se utilizaron 18 ratas albinas (*Rattus Norvegicus*) de cepa Wistar machos de edad de 6 meses con peso promedio de 350g – 431g y niveles basales de colesterol total. Se realizó mediante cuatro etapas:

ETAPA 1: PERÍODO DE AMBIENTACIÓN.

Se ambientó a los animales experimentales separados en grupos a condiciones ambientales y alimentación de acuerdo al protocolo de investigación. Esta etapa durará siete días donde serán observados antes del inicio del experimento, para ratificar su estado de salud óptimo.

Durante esta etapa los animales de experimentación son sometidos a manipulación para ambientarlos al investigador y a la técnica.

TABLA N° 9 CONDICIONES AMBIENTALES Y DE ALIMENTACIÓN

EVENTO	DATOS
Temperatura	22 0 C +/- 2
Humedad	50 % +/-10
Período de fotoluminiscencia	12 Horas de luz y 12 Horas de oscuridad
Alimentación	15g al día y agua ad libitum

ETAPA 2: MODELO EXPERIMENTAL

En la siguiente tabla se indica los ensayos realizados a cada grupo para determinar la actividad hipocolesterolémica del néctar de guatila (*Sechium edule*). Los animales de experimentación fueron seleccionados de acuerdo a niveles de colesterol similares para formar 6 grupos de 3 ratas que servirán como Blanco, Control Negativo, Control Positivo y 3 Grupos Experimentales con diferentes concentraciones.

TABLA N° 10 GRUPOS Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

CÓDIGO	GRUPO	TRATAMIENTO
A	Blanco	Dieta Normal
B	Control negativo	Patología
C	Control positivo	Patología + Atorvastatina 10mg
D	Grupo investigativo 1	Patología + Néctar de guatila concentración 1 (1g/Kg)

E	Grupo investigativo 2	Patología + Néctar de guatila concentración 2 (2g/Kg)
<hr/>		
F	Grupo investigativo 3	Patología + Néctar de guatila concentración 3 (4g/Kg)

ETAPA 3: INDUCCIÓN DE LA PATOLOGÍA (HIPERCOLESTEROLÉMIA).

Para la etapa de inducción de la patología se alimentó a los animales con tortilla de yema de huevo mediante vía oral a voluntad del animal de experimentación durante 4 semanas.

Las determinaciones de los niveles de Colesterol total en sangre se realizó mediante la punción de la vena coccígea de la cola para obtener una gota de sangre capilar, la cual se deja caer sobre la tirilla reactiva que permite obtener un resultado mediante bioreflectometría.

ETAPA 4: TRATAMIENTO.

Al grupo Control Positivo se le administró una solución de Atorvastatina con ayuda de una cánula orogástrica. La dosis de administración se midió según el peso del animal, siendo la concentración de 10mg/Kg peso.

La solución de Atorvastatina se elaboró de la siguiente manera:

1. Trituramos la tableta de Atorvastatina.
2. Pesamos 0,0871g de polvo
3. Disolvemos en 5 mL de Propilenglicol

4. Aforamos a 50mL.

A los grupos experimentales se les administra el néctar de guatila mediante cánula orogástrica de la siguiente manera:

G.D: Grupo Investigativo 1, Néctar de Guatila en concentración 1g/Kg el volumen de administración se determinó de acuerdo al peso del animal.

G.E: Grupo Investigativo 2, Néctar de Guatila en concentración 2g/Kg el volumen de administración se determinó de acuerdo al peso del animal.

G.F: Grupo Investigativo 3, Néctar de Guatila en concentración 4g/Kg el volumen de administración se determinó de acuerdo al peso del animal.

Para el cálculo del volumen de administración se utilizó la fórmula $V = \frac{m}{\delta}$

Donde,

V= volumen de la dosis

m= gramos de néctar de acuerdo al peso del animal.

δ = densidad del néctar (1.035g/mL)

Posteriormente se mide el colesterol de los animales de experimentación a las 0, 1, 3, 6 horas y después de 6 días. (**Ver Anexo N° 25**)

Las determinaciones y administraciones se llevaron a cabo a la misma hora a lo largo del proceso de experimentación.

2.4.4 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*). (Ver Anexo N° 24)

2.4.4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Aleatoriamente se conformó cuatro grupos experimentales con una rata cada grupo de seis meses de edad con un peso de entre 340 y 378g y a condiciones ambientales adecuadas; tres grupos fueron tratados con el néctar de guatila y uno como testigo.

A los animales experimentales se les administró el néctar mediante sonda orogástrica con un ayuno previo de 18 horas. La concentración del néctar es de 4g/Kg; el volumen del néctar dependerá del peso de los animales.

Posteriormente fueron observados individualmente durante los primeros 30 minutos y durante las primeras 4 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento, donde se recogerán los signos que son indicativos de la toxicidad aguda. (4) (Ver Anexo N° 22).

Para establecer la DL_{50} se utilizó el método de Karber y Beherens. (Ver Anexo N° 23).

Se controló el peso de los animales experimentales durante los 14 días del experimento. (Ver Anexo N° 27)

2.4.5 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO. (Ver Anexo N° 24)

Para verificar los efectos toxicológicos que pueda presentar el néctar de guatila en los órganos más importantes del cuerpo una vez culminado el experimento se procedió a sacrificio de los animales mediante eutanasia con gas CO₂.

Se realizó una necropsia macroscópica del estómago, hígado y riñones registrando color, peso, largo, ancho y profundidad de los mismos, una vez obtenidos estos datos se colocaron las muestras en envases que contenían formol buferado al 10% y sellados herméticamente para su respectivo análisis histopatológico, para esto se prepararon las placas junto al BQF. Javier Robles en el Laboratorio Histopatológico del SOLCA-RIOBAMBA y su posterior observación microscópica con la colaboración del Dr. Oswaldo Duque para determinar el daño a nivel tisular.

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIONES.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL.

Para realizar el control de calidad del fruto de guatila (*Sechium edule*) se utilizó el fruto fresco obtenido en la ciudad del Puyo, cabe destacar que no sufrió más manipulación que los procesos de recolección y conservación.

CUADRO N° 1 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL FRUTO FRESCO DE GUATILA (*Sechium edule*)

DETERMINACIÓN	RESULTADOS	
	FRUTO ANALIZADO	REFERENCIA (MORENO, A)
AGUA	93,605 ± 0,11%	90,80%
CARBOHIDRATOS	5,20 ± 0,12 g	7,70g
PROTEÍNAS	0,80 ± 0,03g	0,90g
LÍPIDOS	0,18 ± 0,01g	0,20g
VITAMINA C	14,60mg	20mg

En base a los datos expuestos en el cuadro N°1 donde nos indica el análisis bromatológico del fruto de guatila (*Sechium edule*), se observa que los resultados son semejantes entre el fruto que es materia prima para el néctar y a los expuestos por MORENO ADRIANA, en

su artículo científico *Sechium edule* (jacq.) Swartz y los fitoesteroles como agentes antihiperlipidémicos y antihipertensivos.

CUADRO N° 2 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL FRUTO FRESCO DE GUATILA (*Sechium edule*)

DETERMINACIONES	VALOR ENCONTRADO
Coliformes totales UFC/g	460 UFC/g
Mohos y levaduras UPC/g	4,6 x 10 ⁴ UPC/g

El Cuadro N°2 nos indica el recuento de microorganismos presentes en el fruto de guatila (*Sechium edule*) aquí se observa que posee un alto número de coliformes totales, mohos y levaduras, se debe tener presente que para cualquier proceso que se desee realizar con este fruto se debe disminuir la carga microbiana.

3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA

CUADRO N° 3 ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

DETERMINACIÓN	RESULTADOS
ASPECTO	Acuoso
COLOR	Crema
pH	3,82 ± 0,08
DENSIDAD	1,04 ± 0,0004g/mL
ACIDEZ	0,98%
°BRIX	4,6
SÓLIDOS TOTALES	5,68 ± 0,02

En base a los datos expuestos en el cuadro N°3 donde nos indica el análisis físico – químico del néctar de guatila (*Sechium edule*), se observa que posee un aspecto acuoso y de color crema relacionado al color la pulpa del fruto, la densidad del néctar 1,04g/mL es similar a la del agua; posee un bajo contenido de azúcares, representado por los °Brix; presenta un pH ácido de 3,82 el cual se encuentran dentro de los requisitos según la NTE INEN 2 337:2008 Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales.

CUADRO N° 4 RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

DETERMINACIONES	VALOR ENCONTRADO	REFERENCIA NTE INEN 2 337:2008
Coliformes totales UFC/g	10 UFC/g	Max. 10
Mohos y levaduras UPC/g	8 UPC/g	Max. 10

En base a los datos expuestos en el cuadro N°4 del estudio microbiológico donde nos indica el recuento de microorganismos en el néctar de guatila (*Sechium edule*), se observó que para Coliformes totales y Mohos y levaduras los resultados se encuentran dentro de los límites permitidos según la NTE INEN 2 337:2008 Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales.

El análisis se realizó el día que fue elaborado el néctar; la muestra se conservó sellada herméticamente.

3.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO Y PRESENCIA DE ELEMENTOS DE INTERÉS HIPOCOLESTEROLÉMICO PRESENTES EN EL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

CUADRO N° 5 RESULTADOS DE LA CONCENTRACIÓN Y PRESENCIA DE ELEMENTOS DE INTERÉS HIPOCOLESTEROLÉMICA PRESENTES EN EL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

ELEMENTO	CONCENTRACIÓN
VITAMINA C	12,16mg
CALCIO	136,60 mg/dL

ELEMENTO	PRESENCIA
FITOESTEROLES	
Ensayo Lieberman – Buchard	(+++)

(+++)= ALTA EVIDENCIA

En base a los datos expuestos en el cuadro N°5 se puede observar que la cantidad de Vitamina C y Calcio no son muy elevados en el néctar de guatila, con esto se puede decir que el efecto hipocolesterolémico se debe a la presencia de fitoesteroles y que la Vitamina C y el Calcio complementan el tratamiento para la disminución de la concentración plasmática del colesterol total.

3.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

Para la evaluación de la actividad hipocolesterolémica del néctar de guatila (*Sechium edule*) en ratas (*Rattus norvegicus*), se administró tres tratamientos a diferentes concentraciones 1g/Kg, 2g/Kg y 4g/Kg a cada grupo respectivamente.

CUADRO N° 6 RESULTADOS DE LA DIFERENCIA DE PESO CORPORAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*), CON LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO. DICIEMBRE 2013.

TRATAMIENTO	DIFERENCIA DE PESO (g)
CONTROL NEGATIVO	-11,3
CONTROL POSITIVO	0,25
GRUPO EXPERIMENTAL (1g/Kg)	0,83
GRUPO EXPERIMENTAL (2g/Kg)	7,03
GRUPO EXPERIMENTAL (4g/Kg)	10,7

En base a los datos expuestos en el cuadro N°6 de la evaluación de la actividad hipocolesterolémica del néctar de Guatila (*Sechium edule*) donde nos indica la diferencia de las mediciones diarias peso corporal (**Ver Anexo N° 26**) en ratas (*Rattus norvegicus*), se pudo observar que tras el tratamiento hipocolesterolémico se produjo una disminución en el peso de los grupos experimentales 2 y 3 de concentración (2g/Kg) y (4g/Kg) respectivamente; con estos datos se puede concluir que el néctar de guatila (*Sechium, edule*) posee un efecto adelgazante mínimo sin comprometer el apetito de los animales.

CUADRO N° 7 RESULTADOS DE LA DIFERENCIA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DEL COLESTEROL TOTAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*), CON LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO. DICIEMBRE 2013.

TRATAMIENTO	DIFERENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DEL COLESTEROL (mg/dL)
CONTROL NEGATIVO	-1
CONTROL POSITIVO	53
G.E. (1g/Kg)	14,666
G.E. (2g/Kg)	30
G.E. (4g/Kg)	53,333

En base a los datos expuestos en el cuadro N°7 de la evaluación de la actividad hipocolesterolémica del néctar de guatila (*Sechium edule*) donde nos indica la diferencia de concentración plasmática del colesterol total (Ver Anexo N° 25) en ratas (*Rattus norvegicus*), se puede observar el comportamiento de cada grupo tras el tratamiento hipocolesterolémico donde se produjo una disminución de la concentración plasmática del colesterol total, con estos datos se puede concluir que el tratamiento del grupo experimental (4g/Kg) es semejante al tratamiento del grupo control positivo (Atorvastatina).

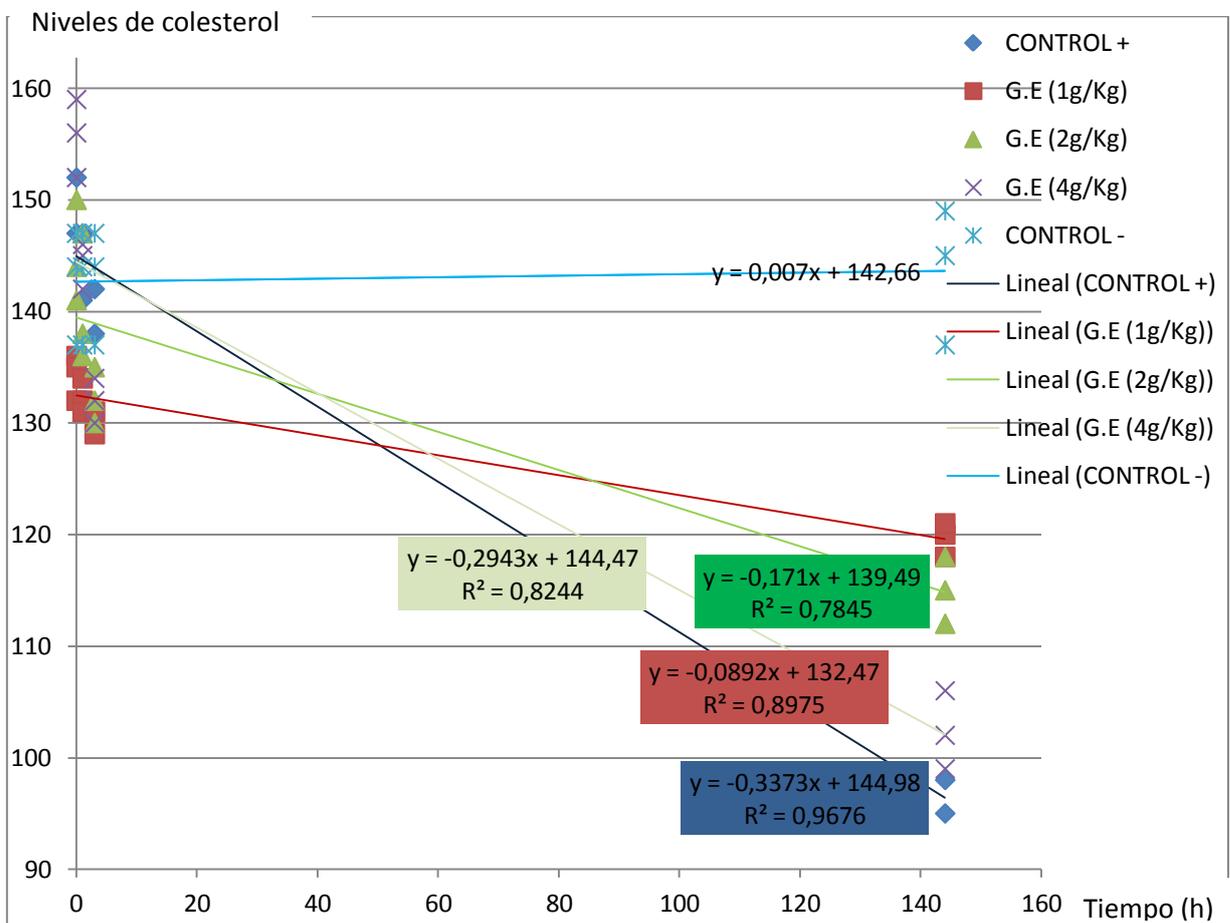


GRÁFICO N° 1 RESULTADOS DE LA DIFERENCIA DE CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DEL COLESTEROL TOTAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*), CON LA ADMINISTRACIÓN DE ATORVASTATINA Y NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO. DICIEMBRE 2013.

El Gráfico N°1 nos indica la diferencia de la concentración plasmática del colesterol total en ratas (*Rattus norvegicus*), estos resultados nos demuestran que entre los tres tratamientos a base de néctar de guatila (*Sechium edule*) el tratamiento 4g/Kg es el q posee un alto efecto hipocolesterolémico siendo comparable con el tratamiento del control positivo, a esto le sigue en efectividad el tratamiento 2g/Kg y por último el tratamiento 1g/Kg.

3.4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron obtenidos por método biorelectométrico y espectrofotométrico. El análisis estadístico se realizó comparando las mediciones diarias de colesterol total de cada grupo utilizando el test Anova y Tukey HSD al 95%.

CUADRO N° 8 RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO ANOVA DE VARIANZA DE UN FACTOR DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DEL COLESTEROL TOTAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO.

“ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR”				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
CONTROL +	2	193	96,5	4,5
G.E (1g/Kg)	3	359	119,666667	2,33333333
G.E (2g/Kg)	3	345	115	9
G.E (4g/Kg)	3	307	102,333333	12,3333333
CONTROL -	3	431	143,666667	37,3333333

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	3651,85714	4	912,964286	64,9539808	1,2298E-06	3,63308851
Dentro de los grupos	126,5	9	14,0555556			
Total	3778,35714	13				

El Cuadro N° 8 nos indica la aplicación del test Anova de un factor, aquí se encontró que existen diferencias significativas entre el grupo control positivo, control negativo, grupo experimental (1g/Kg), grupo experimental (2g/Kg) y grupo experimental (4g/Kg).

Se observa que $p > 0,05$ con esto se acepta la hipótesis de este trabajo que nos dice que el néctar de guatila (*Sechium edule*) posee efecto hipocolesterolémico.

SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1.00	2	96,5000	
4.00	3	102,3333	
3.00	3		115,0000
2.00	3		119,6667
Sig.		,149	,280

GRÁFICO N° 2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO ANOVA UN FACTOR COMPARACIONES MÚLTIPLES MÉTODO TUKEY HSD AL 95% DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DEL COLESTEROL TOTAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*).

El Gráfico N° 2 nos indica la aplicación del test de Tukey al 95% de significancia de los grupos homogéneos, se puede observar claramente que el grupo experimental 4g/Kg tiene un efecto hipocolesterolémico semejante al del grupo control positivo Atorvastatina.

En cuanto al tratamiento 1g/Kg y 2g/Kg se puede decir que ambos poseen un efecto hipocolesterolémico semejante pero de menor eficacia en comparación con el grupo control positivo y el tratamiento 4g/Kg.

3.5 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*).

Para la evaluación de la toxicidad aguda se observó a los 4 grupos de animales experimentales por 14 días.

CUADRO N° 9 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE 2013.

SIGNOS DE TOXICIDAD	DOSIS																											
	B							A1							A2							A3						
	0g/kg							1g/kg							2g/kg							4g/kg						
	DÍAS																											
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Actividad general	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Grito	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Irritabilidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Respuesta al toque	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Huida	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Contorsiones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Patas posteriores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enderezamiento	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Actividad prensil	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Tono corporal	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Ataxia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflejo corneal	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Colvusiones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipnosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Anestesia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lagrimación	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Micción	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Defecación	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Piloerección	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Hipotermia	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0
Respiración	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4 4
Cianosis	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0

B: BLANCO
A 1: NÉCTAR DE GUATILA (1g/Kg).
A 2: NÉCTAR DE GUATILA (2g/Kg).
A 3: NÉCTAR DE GUATILA (4g/Kg).

4: NORMAL, 0: AUSENCIA

En base a los datos expuestos en el cuadro N°9 del estudio toxicológico donde nos indica los signos de toxicidad del néctar de guatila (*Sechium edule*) en los animales experimentales, se observó que durante los 14 días de dicho estudio no se produjo ningún cambio corporal y/o conductual en los animales a ninguna dosis administrada, ya que todos tuvieron conductas similares al grupo control.

En este cuadro se tomó únicamente los datos de los 7 primeros días puesto que los 7 días posteriores no presentaron cambio alguno.

CUADRO N° 10 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE NÚMEROS DE ANIMALES EXPERIMENTALES MUERTOS EN EL ESTUDIO DE TOXICIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*), EN RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE 2013.

DOSIS	DÍAS													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

B: BLANCO
A 1: NÉCTAR DE GUATILA (1g/Kg).
A 2: NÉCTAR DE GUATILA (2g/Kg).
A 3: NÉCTAR DE GUATILA (4g/Kg).

En base a los datos expuestos en el cuadro N°10 del estudio toxicológico donde nos indica el número de muertes de los animales experimentales usados en la determinación de la toxicidad aguda del néctar de guatila (*Sechium edule*), se observó que no existió ningún animal muerto durante el transcurso de dicho estudio, por lo tanto se determinó que el néctar de guatila (*Sechium edule*) no posee efecto tóxico.

En cuanto al cálculo del DL₅₀ no se puede realizar debido a que ninguna rata murió a causa de la administración oral del néctar.

3.6 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Para este estudio se realizó los cortes histopatológicos de los órganos importantes del cuerpo siendo estos el estómago, hígado y riñones de cada animal experimental, para su posterior observación microscópica se preparó las respectivas placas donde se evaluará el daño ocasionado con el néctar administrado.

CUADRO N° 11 RESULTADOS DEL EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE LA BIOPSIA DE RATAS (*Rattus norvegicus*), A LAS CUALES SE LES ADMINISTRÓ NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE 2013.

MUESTRA	EXAMEN MACROSCÓPICO	EXAMEN MICROSCÓPICO
B	RIÑÓN - Peso: 1,2g - Largo: 4cm - Ancho: 1,2cm - Profundidad: 0,5cm	Túbulos de calibre y contenido normal; glomérulos con integridad en la pared

B	HÍGADO - Peso: 14,7g - Largo: 7cm - Ancho: 5cm - Profundidad: 0,6cm	Espacios portales con vasos normales; lobulillos hepáticos de arquitectura normal.
B	ESTÓMAGO - Peso: 2,4g - Largo: 3,5cm - Ancho: 2,1cm - Profundidad: 0,6cm	Mucosa gástrica normal con integridad del epitelio.
A1	RIÑÓN - Peso: 1,3g - Largo: 2cm - Ancho: 1,2cm - Profundidad: 0,4cm	Glomérulos con integridad en la pared; túbulos de calibre y contenido normal.
A1	HÍGADO - Peso: 13,1g - Largo: 7cm - Ancho: 4,5cm - Profundidad: 0,5cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura normal; espacios portales con vasos normales.
A1	ESTÓMAGO - Peso: 1,8g - Largo: 2,8cm - Ancho: 1,1cm - Profundidad: 0,5cm	Mucosa gástrica normal con integridad del epitelio.
A2	RIÑÓN - Peso: 1,6g - Largo: 2cm - Ancho: 1.1cm - Profundidad: 0,5cm	Túbulos de calibre y contenido normal; glomérulos con integridad en la pared

A2	HÍGADO - Peso: 14,3g - Largo: 6,3cm - Ancho: 4,5cm - Profundidad: 0,5cm	Espacios portales con vasos normales; lobulillos hepáticos de arquitectura normal.
A2	ESTÓMAGO - Peso: 2,3g - Largo: 2,6cm - Ancho: 1,2cm - Profundidad: 0,4cm	Mucosa gástrica normal con integridad del epitelio.
A3	RIÑÓN - Peso: 1,1g - Largo: 2,4cm - Ancho: 1,1cm - Profundidad: 0,7cm	Glomérulos con integridad en la pared; túbulos de contenido y calibre normal.
A3	HÍGADO - Peso: 14,3g - Largo: 6,3cm - Ancho: 4,5cm - Profundidad: 0,6cm	Lobulillos hepáticos de arquitectura normal; espacios portales con vasos normales.
A3	ESTÓMAGO - Peso: 2,1g - Largo: 3,5cm - Ancho: 1,5cm - Profundidad: 0,6cm	Mucosa gástrica normal con integridad del epitelio.

B: BLANCO
A 1: NÉCTAR DE GUATILA (1g/Kg).
A 2: NÉCTAR DE GUATILA (2g/Kg).
A 3: NÉCTAR DE GUATILA (4g/Kg).

En base a los datos expuestos en el cuadro N°11 del estudio histopatológico donde nos indica el análisis microscópico y macroscópico de los animales experimentales usados en la determinación de la toxicidad aguda del néctar de guatila (*Sechium edule*), se observó que no existió daño en ninguno de ellos pues presentaron estructura normal por lo tanto se determinó que el néctar estudiado en dosis 4g/Kg no produce alteración en los órganos importantes de los animales de experimentación por lo tanto no es tóxico.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES

1. En el control de calidad del néctar de guatila (*Sechium edule*) los resultados de pH, °Brix y sólidos totales que se obtuvieron demuestran que el producto se encuentra dentro de los requisitos establecidos por la NTE INEN 2 337:2008.
2. Se evidenció la presencia de fitoesteroles en el fruto de guatila (*Sechium edule*) mediante un ensayo positivo de la prueba fitoquímica de Liebermann-Burchard.
3. Se verificó la calidad sanitaria del néctar de guatila (*Sechium edule*) a través del recuento de Coliformes totales y mohos y levaduras ya que estos se encuentran dentro de los requisitos microbiológicos para los productos pasteurizados citados en la NTE INEN 2 337:2008, con lo que se concluye que la materia prima tuvo un buen manejo de recolección y el proceso de elaboración del néctar siguió con los POES establecido; por tanto no presenta riesgo para la salud.
4. Se comprobó que la administración oral del néctar de guatila (*Sechium edule*) en dosis de 4g/Kg no produce un efecto tóxico agudo en los animales experimentales, pues el estudio histopatológico nos sustenta el hecho de que dicho néctar no induce daño ni anormalidad a los órganos estudiados, por lo tanto se concluye que es un producto seguro de consumir en dosis 4g/Kg.

5. Al término de la investigación los 3 tratamientos a base de néctar de guatila (*Sechium edule*) presentaron efecto hipocolesterolémico, siendo el tratamiento de concentración 4g/Kg el más eficaz ya que se produjo un descenso significativo en los niveles de colesterol.

6. Se comparó los 3 tratamientos con el grupo control positivo al que se le administró una solución de medicamento hipocolesterolémico Atorvastatina y se concluyó que el tratamiento 4g/Kg presenta una actividad hipocolesterolémica semejante a dicho medicamento.

CAPÍTULO V

5 RECOMENDACIONES

1. Se deben diseñar más investigaciones sobre el fruto de guatila (*Sechium edule*), pues a este fruto también se le atribuye propiedades adelgazantes, regenerador celular, anticancerígenos.
2. Llevar la investigación a nivel industrial para la obtención de un producto funcional a base del néctar de guatila (*Sechium edule*) ya que se comprobó que posee un efecto hipocolesterolémico.
3. Dar a conocer sobre esta investigación y los resultados obtenidos a la población para que el néctar de guatila o su fruto se tome como una alternativa de tratamiento contra la hipercolesterolemia.
4. Realizar estudios clínicos del efecto hipocolesterolémico del néctar de guatila (*Sechium edule*).
5. El envasado del néctar debe ser al vacío para evitar contaminación microbiana.

BIBLIOGRAFÍA

ALBAHACA. 2007

<http://www.bajarcolesterol.com/infusiones-colesterol/te-albahaca-bajarcolesterol.html>

(2013/10/01)

ATORVASTATINA. VADEMECUM. 2011

<http://www.vademecum.es/principios-activos-atorvastatina-c10aa05>

(2013/09/30)

BERNARD, J. Diagnóstico y tratamientos clínicos. 9na. ed., Barcelona – España.

Científicas y técnicas. 1994, pp. 195.

BOATELLA, J., Y OTROS. Química y Bioquímica de los Alimentos II. Madrid-

España. Barcelona. 2004, pp. 13.

BRAVERMAN, J. La bioquímica de los alimentos. México D.F- México. El Manual Moderno. pp. 56,57-269.

CARRILLO, Paulina. Comprobación del hipoglucemiante del zumo del fruto de noni (*Morinda citrifolia*) en ratas (*Rattus Norvegicus*) con hiperglucemia inducida. (Tesis), (BQF). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2011, pp.70.

CASTRO, D. Manual de Patología General. 6a. ed. Barcelona – España. Elsevier. 2006, pp. 80.

CIDRA

<http://medicinatural.byethost15.com/cidra.html>

(2013/09/27)

CHAYOTE. SERRA, M. 2013.

<http://www.huertayjardineria.com.ar/papa%20del%20aire.htm>

(2013/10/01)

CHAYOTE UNA HORTALIZA CON FUTURO. MARCANO, J. 2008

<http://isabel-elchayote.blogspot.com/2008/06/chayote-una-hortaliza-con-futuro.html>

(2013/10/01)

COLESTEROL

<http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias/Colesterol.htm>

(2013/09/22)

COLESTEROL. MERCK SHARP & DOHME CORP. 2012

<http://consumidores.msd.com.ec/enfermedades/enfermedades-del-corazon/colesterol.aspx>

(2013/09/22)

COLESTEROL ALTO. LIFSHITZ, A. 2013

<http://www.vidaysalud.com/su-salud-de-a-a-z/enfermedades-y-condiciones/a-c/colesterol-alto/>

(2013/09/28)

CONSECUENCIAS DE HIPERCOLESTEROLEMIA. REINA, D. 2011

<http://blog.codeconutrilinea.com/colesterol/consecuencias-de-hipercolesterolemia-quienes-tienen-riesgo-de-enfermedades-del-corazon/>

(2013/09/28)

CONSEJO NACIONAL DE SALUD. Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos y Registro Terapéutico. Quito – Ecuador. 2011, pp. 170-173.

CORONADO, M., HILARIO, R. Procesamiento de alimentos para pequeñas y microempresas agroindustriales elaboración de néctar. Lima – Perú. CIED. 2001, pp. 10-23.

EL COLESTEROL

<http://isacurandera.blogspot.no/2008/05/el-colesterol.html>

(2013/09/28)

EL COLESTEROL ALTO, UN PROBLEMA MAL CONTROLADO. GARWOOD, P. 2011

http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2011/cholesterol_20110201/es/

(2013/09/22)

EL NÉCTAR UN BEBIDA ALIMENTICIA. PACHECO, R. 2012

<http://rosapachecogarcia.blogspot.com/2012/01/el-nectar-una-bebida-alimenticia.html>

(2013/12/10)

FABRICACIÓN E INGREDIENTES DE JUGOS Y NÉCTARES. ANBER.

http://www.anber.cl/inicio/variedad_prod_jugos_nectares.php

(2013/12/10)

FEELLOWS, P. Tecnología del Procesado de Alimentos Principios y Prácticas. Zaragoza - España. Acribia. 1994, pp. 316-322.

GALLEGOS, J. Manual de Prácticas de Microbiología de los Alimentos. Riobamba - Ecuador. 2003, pp. 14 -16, 45 – 46.

GEMFIBROZILO. VADEMECUM. 2011

<http://www.vademecum.es/principios-activos-gemfibrozilo-c10ab04>

(2013/09/30)

GILBERTO, A., MAURICIO, A. Interpretación clínica del laboratorio. 6ta. ed. Bogotá - Colombia. Médica Panamericana. 2000, pp. 120-121.

HALVERSON, M. Guía para Cuidados y Uso de Animales de Experimentación. Buenos Aires - Argentina. Universitaria. 2005, pp. 90.

HERRERA, C., Y OTROS. Química de los Alimentos Manual de Laboratorio. Guanacasta -Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 2003, pp. 10.

HIPERCOLESTEROLEMIA. ALONSO, F.

www.elgotero.com/Arquivos PDF/hipercolesterolemia.pdf

(2013/09/28)

HORTON, R. Y OTROS. Principios de Bioquímica. México DF – México. Pearson. 2008, pp. 258.

IBARZ, A, Y OTROS. Operaciones unitarias en la Ingeniería de Alimentos. Madrid - España. Mundi Prensa Libros. 2005, pp. 624.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. NTE. INEN 2587:2011.

Alimentos funcionales. Requisitos. Quito – Ecuador. 2011

<http://www.inen.gob.ec/images/pdf/nte/2587.pdf>

(2013/10/01)

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. NTE. INEN 2337:08. Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos. Quito – Ecuador. 2008

<http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/2337.pdf>

(2013/10/01)

LA GUATILA. 2012.

<http://la-canasta.org/la-guatila/>

(2013/10/01)

LA GUATILA, UNA FRUTA SUBESTIMADA PERO CON MUCHOS BENEFICIOS. RCN CARACOL. 2013.

<http://www.noticiascaracol.com/salud/video-264776-la-guatila-una-fruta-subestimada-con-muchos-beneficios>

(2013/09/24)

LAS CAUSAS DEL COLESTEROL ALTO. 2012

<http://www.vivirsalud.com/4059/las-causas-del-colesterol-alto>

(2013/09/24)

LUCERO, O. (Folleto) Técnicas de Laboratorio de Bromatología y Análisis de Alimentos. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba - Ecuador. 2009, pp. 1-74.

MONROY, Ana. Estudio biodirigido de *sechium edule* (Jacq.) Sw. (Tesis), (AGR). Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, Posgrado de botánica. Montecillo - México. 2008, pp. 12.

MORENO, A. *Sechium edule* (jacq.) Swartz y los fitoesteroles como agentes antihiperlipidémicos y antihipertensivos. (Investigación). (México). 2010
<http://www.medigraphic.com/pdfs/waxapa/wax-2010/wax103d.pdf>

(2013/09/22).

MUÑOZ, Marisol. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa María (*Piper peltatum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*). (Tesis), (BQF). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2014, pp. 49.

NÉCTAR (ALIMENTO). WIKIPEDIA. 2012

[http://es.wikipedia.org/wiki/Néctar_\(alimento\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Néctar_(alimento))

(2013/09/27)

NUEVAS EVIDENCIAS SOBRE LA RELACIÓN ENTRE COLESTEROL ALTO Y EL CÁNCER. VALERIO, M. 2013.

<http://www.elmundo.es/salud/2013/11/28/529794566843417e428b4590.html>

(2014/10/05)

ORTIZ, Alex. Efecto hipolipemiente del extracto de las hojas de frutipan (*Artocarpus altilis*), en ratas (*Rattus Norvegicus*) con hiperlipidemia inducida. (Tesis), (BQF). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba - Ecuador. 2012, pp. 86-88.

PASCUAL, M., y OTROS. Microbiología Alimentaria. 2ª. ed. Madrid – España. Díaz de Santos. 2000, pp. 19.

PEÑA, M. Toxicología Clínica. Medellín - Colombia. Gente Visual Publicitaria. 2009, pp. 78-89.

PEÑAFIEL, Diana., GUATEMAL, Willian. Prevalencia de dislipidemias y sus factores de riesgo en adultos que acuden al centro de salud N°1 de la ciudad de Ibarra, provincia de Imbabura octubre del 2009 – diciembre 2010. (Tesis), (NUT). Universidad Técnica del Norte, Facultad Ciencias de la Salud, Escuela de Nutrición y salud Comunitaria. Ibarra - Ecuador. 2010, pp. XIX.

PETER, N. Preelaboración y Conservación de Alimentos. Madrid – España. Síntesis. 2002, pp. 233-234.

PILCO, Gisela. Comprobación del efecto adelgazante de la tintura de apio (*Apium graveolens*) y el perejil (*Petroselinum sativum*) en voluntarios con sobrepeso. (Tesis), (BQF). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba - Ecuador. 2012, pp. 5-6.

¿POR QUÉ TENEMOS EL COLESTEROL ALTO?. ALIMENTACIÓN-SANA.

<http://www.alimentacion-sana.org/Portal%20nuevo/actualizaciones/porquecol.htm>

(2013/09/22)

RATNER, R., ORTIZ, M. Obesidad. (Revista chilena de obesidad). (Santiago de Chile).
2008

<http://www.sochob.cl/pdf/RevistaJunio.pdf>

(2013/10/02)

ROMERO, J., MEDELLIN, R. Rattus norvegicus. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. (Proyecto). México D.F – México.

<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Rattusnorvegicus00.pdf>

(2014/10/05)

SARAVIA, A. Manual de Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales in vivo e in vitro. Guatemala - Guatemala. Universitaria – Universidad de San Carlos de Guatemala. 2005, pp. 65-109; 543-549.

SECHIUM EDULE. WIKIPEDIA. 2013.

http://es.wikipedia.org/wiki/Sechium_edule

2013/09/24

SECRETARIA NACIONAL DE PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO. Plan del buen vivir. Objetivos del buen vivir.

<http://plan.senplades.gob.ec/web/guest/3.1.2>

(2013/09/24)

SIMVASTATINA. VADEMECUM. 2011

<http://www.vademecum.es/principios-activos-simvastatina-c10aa01>

(2013/09/30)

TOXICIDAD DE FITOESTEROL

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10456681>

(2014/10/05)

VALENZULEA, A., RONCO, A. Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. (Revista chilena de nutrición). (Santiago de Chile). http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s0717-75182004031100003&script=sci_arttext (2013/10/02)

ZUÑIGA, M., Y OTROS. Ciencia y Tecnología en Protección y Experimentación animal. Madrid - España. McGraw – Hill Interamericana. 2001, pp. 90

ANEXOS

ANEXO N° 1 MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA N° 1 GUATILA (*Sechium edule*)



FOTOGRAFÍA N° 2 ÁCIDO ASCÓRBICO Y CMC



FOTOGRAFÍA N° 3 AGUA LUZ

ANEXO N° 2 ELABORACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)



FOTOGRAFÍA N° 4 SELECCIÓN Y PESADO



FOTOGRAFÍA N° 5 LAVADO



FOTOGRAFÍA N° 6 PRECOCCIÓN



FOTOGRAFÍA N° 7 PELADO



FOTOGRAFÍA N° 8 PULPEADO



FOTOGRAFÍA N° 9 REFINADO



FOTOGRAFÍA N° 10 DILUCIÓN DE LA PULPA



FOTOGRAFÍA N° 11 REGULACIÓN DE LA ACIDEZ



FOTOGRAFÍA N° 12 ADICIÓN DEL ESTABILIZANTE



FOTOGRAFÍA N° 13 HOMOGENIZACIÓN



FOTOGRAFÍA N° 14 PASTEURIZACIÓN



FOTOGRAFÍA N° 15 ENVASADO, ENFRIADO Y ALMACENADO

**ANEXO N° 3 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL FRUTO DE GUATILA
(*Sechium edule*)**



FOTOGRAFÍA N° 16 PESO



FOTOGRAFÍA N° 17 ACIDEZ



FOTOGRAFÍA N° 18 HUMEDAD



FOTOGRAFÍA N° 19 CENIZAS



FOTOGRAFÍA N° 20 PROTEÍNA



FOTOGRAFÍA N° 21 EXTRACTO ETÉREO



FOTOGRAFÍA N° 22 FIBRA



FOTOGRAFÍA N° 23 VITAMINA C

**ANEXO N° 4 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL NÉCTAR DE GUATILA
(*Sechium edule*)**



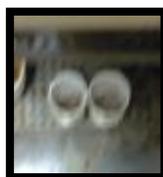
FOTOGRAFÍA N° 24 pH



FOTOGRAFÍA N° 25 ACIDEZ

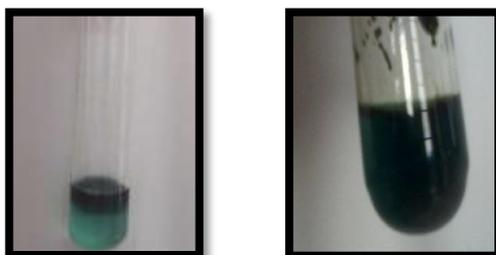


FOTOGRAFÍA N° 26 GRADOS BRIX



FOTOGRAFÍA N° 27 SÓLIDOS TOTALES

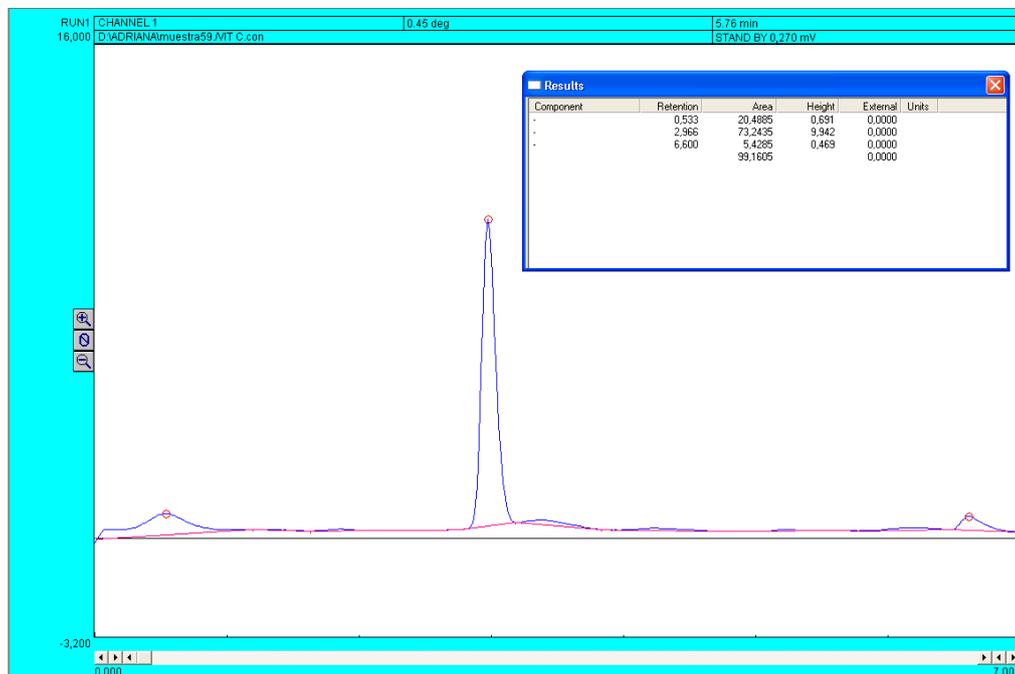
**ANEXO N° 5 ENSAYO DE LIEBERMANN BUCHARD DEL FRUTO DE
GUATILA (*Sechium edule*)**



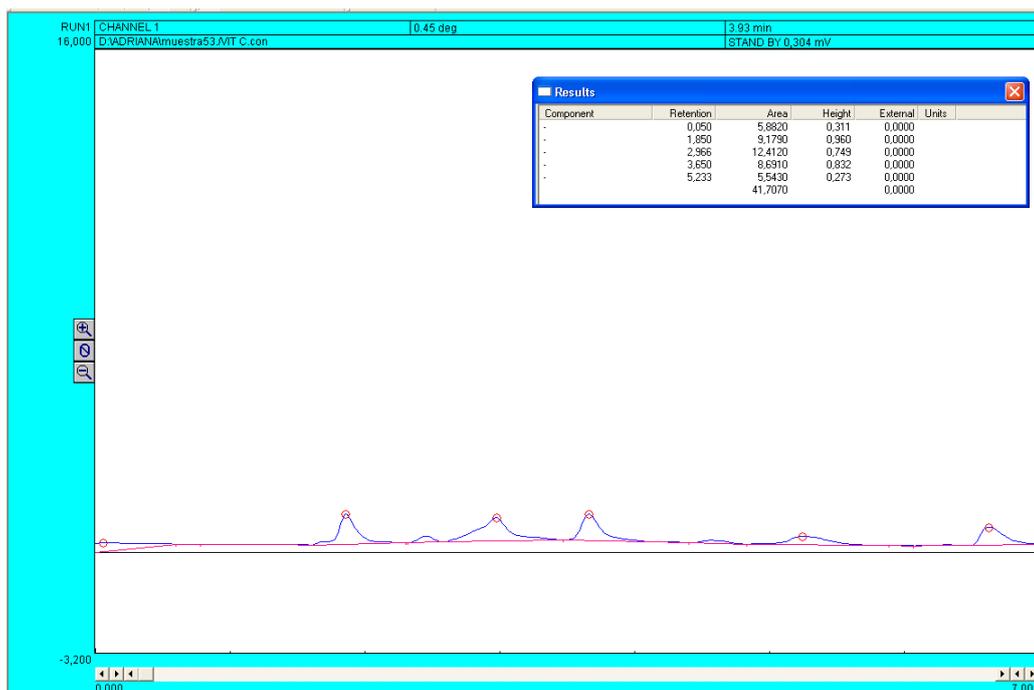
FOTOGRAFÍA N° 28 FITOESTEROLES

ANEXO N° 6 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) DEL FRUTO Y NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

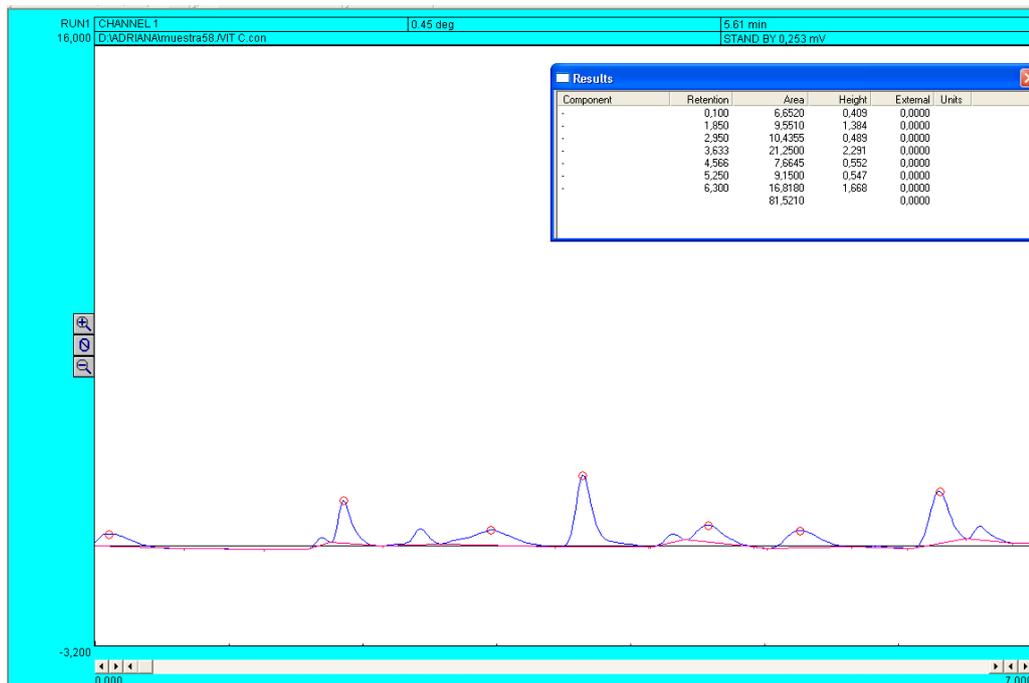
CROMATOGRAMA DEL ESTANDAR DE VITAMINA C



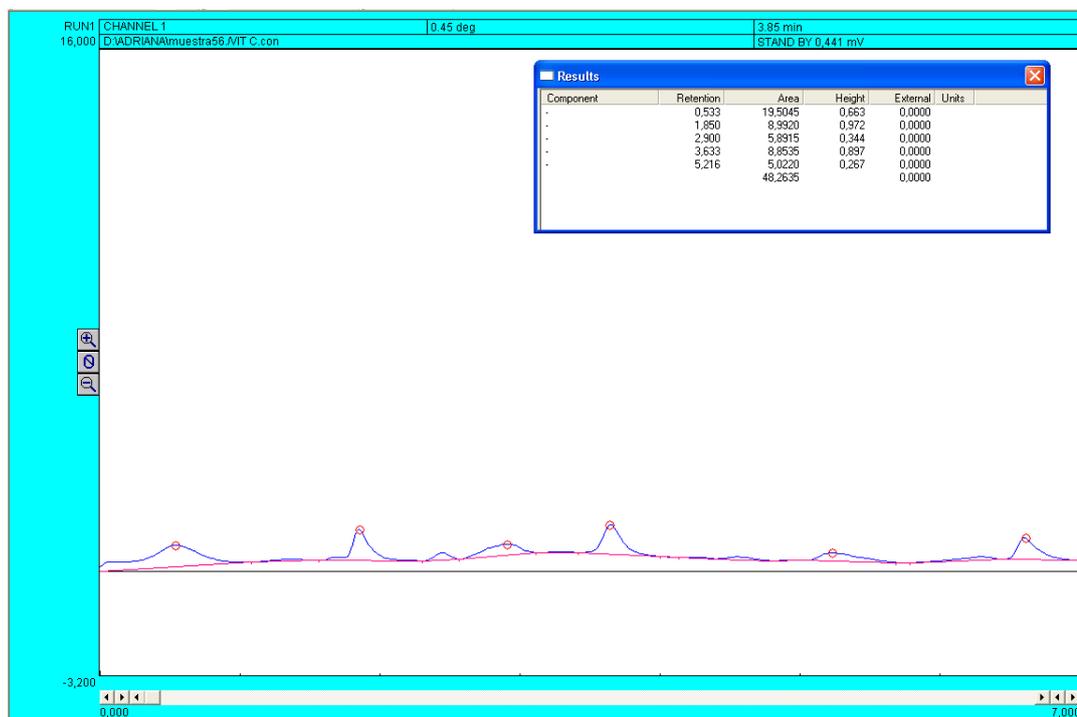
CROMATOGRAMA DEL FRUTO DE GUATILA (*Sechium edule*)



CROMATOGRAMA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Secchium edule*) + ÁCIDO ASCORBICO



CROMATOGRAMA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Secchium edule*)



ANEXO N° 7 TÉCNICA PARA DETERMINAR HUMEDAD DE DESECACIÓN EN ESTUFA DE AIRE CALIENTE

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Principio

Método gravimétrico mediante la desecación en estufa de aire caliente a 105 °C durante 24 horas.

Procedimiento

- Pesar 1-10 g de muestra directamente en cápsula de porcelana previamente tarada, repartir uniformemente en su base.
- Colocar en la estufa a 105⁰C ± 3⁰C por un lapso de 2 a 3 h, hasta peso constante.
- Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar.
- Desecar hasta peso constante
- La determinación debe realizarse por duplicado.

Cálculos

$$SS (\%) = \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} * 100$$

En donde:

SS= sustancia seca en porcentaje en masa.

W₁ = masa de la cápsula en g

W₂= masa de la cápsula con la muestra húmeda en g

W₃= masa de la cápsula con la muestra después del calentamiento en g

$$\%HUMEDAD= 100 - \%SS$$

ANEXO N° 8 TÉCNICA PARA DETERMINAR CENIZAS. MÉTODO DE INCINERACIÓN EN MUFLA

DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Principio

Se lleva a cabo por medio de la incineración y consiste en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla en una temperatura de 550 ± 25 °C, con esto la sustancia orgánica se combustiona y se forma el CO₂, agua y la sustancia orgánica, se quedando la parte mineral en forma de residuos, la incineración se lleva a cabo hasta obtener una ceniza de color gris o gris claro.

Procedimiento

- Colocar la capsula en la mufla y calentarle durante 550 ± 25 °C; transferirle al de secador para enfriamiento y pesarla con aproximación al 0,1 mg (W1).
- Pesar la capsula, 10g de muestra con aproximación al 0,1 mg y colocar sobre la fuente calórica a 150 ± 25 °C para la evaporación (W2)
- Colocar la cápsula con el contenido a la mufla e incinerar a 550 ± 25 °C, hasta obtener cenizas blancas las cuales deben humedecerse con gotas de agua destilada.
- Evaporar sobre la fuente calórica y proceder a calcinar nuevamente en la mufla a 550 ± 25 °C por un tiempo de 4 horas como mínimo, hasta obtener cenizas blancas.
- Después de ese tiempo se saca al desecador por 30 minutos.
- Pesar la capsula con su contenido, con aproximación al 0,1mg.(W3)

Cálculos

Porcentaje de cenizas:

$$\%C = \frac{(W3 - W1)}{(W2 - W1)} * 100\%$$

Dónde:

%C = porcentaje de cenizas

W1 = peso de la cápsula vacía

W2 = peso de la cápsula con la muestra húmeda

W3 = peso de la cápsula con cenizas

Cenizas en base seca:

$$\%C.B.S. = \frac{100 * \%C}{\%M.S.}$$

Dónde:

% C.B.S. = % cenizas en base seca.

%C = % Ceniza

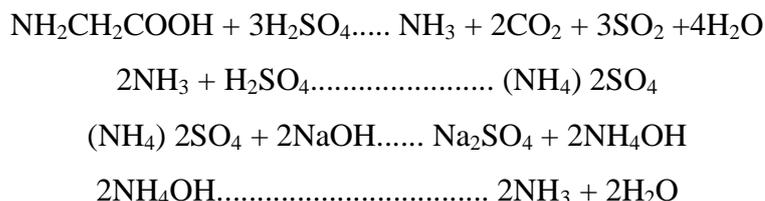
%M.S. % Materia Seca

ANEXO N° 9 TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS. MÉTODO DE MACRO KJELDAHL

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

Principio

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado y calor, los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar anhídrido carbónico y agua, La proteína se descompone con el ácido formando sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico 0,1 N en presencia de verde de bromo cresol. (20)



Etapa de digestión

- Introduzca la muestra de 1 g con el papel en los balones de Kjeldahl de 800ml.
- Añada en cada balón aproximadamente 9g de sulfato de sodio, 1g de sulfato de cobre y agregue 25ml. de H₂SO₄ concentrado.
- Coloque los balones en los digestores del equipo Kjeldahl, prenda el extractor de vapores y luego los calentadores individuales del equipo.
- Deje que se digiera la muestra hasta que tome un color verde esmeralda, esto conseguimos en aproximadamente 1 1/2 horas.

Etapa de destilación

- Coloque en los matraces Erlenmeyer de 500ml. 100ml. de H_3BO_3 al 2.5%.
- Traslade los matraces Erlenmeyer con el H_3BO_3 al 2.5% al equipo de destilación e introduzca los tubos de vidrio del equipo en los Erlenmeyer, teniendo cuidado que los tubos queden en contacto con el ácido bórico.
- Una vez enfriados los balones Kjeldahl con las muestras digeridas, añada a cada balón 200ml. de agua destilada. DESPACIO, y con CUIDADO debido a que se da una reacción exotérmica (producción de calor y vapores).
- Agregue a cada balón 3 pepitas de zinc granulado.
- Procedemos a añadir muy cerca del equipo Kjeldahl 100ml. de NaOH al 50% en cada balón.
- Colocamos inmediatamente y sin agitar el balón de Kjeldahl a cada tapón de hule del equipo de destilación del aparato Kjeldahl, agitamos el balón para la homogeneización de las sustancias producto de la reacción.
- Prendemos los reverberos del equipo de destilación del aparato de determinación de proteínas y regulamos la temperatura hasta que cada matraz Erlenmeyer con H_3BO_3 al 2.5% se hayan recolectado de 250 a 300ml. del destilado.
- Una vez recolectado los 250 a 300ml. del destilado, sacamos los matraces Erlenmeyer y ponemos de 2 a 3 gotas de indicador. (20)

Etapa de la titulación

- Armamos el equipo de titulación que consiste en el soporte universal con los portaburetas, el agitador magnético y la barra de agitación.
- Ponemos en la bureta, ácido clorhídrico 0.1N
- Colocamos dentro del matraz Erlenmeyer con el destilado la barra de agitación y ponemos el Erlenmeyer con el destilado y la barra de agitación encima del agitador magnético.
- Realizamos la titulación hasta el aparecimiento de un color rosa pálido.

- Registramos la cantidad de H₂SO₄ 0.3N gastados en la titulación.

Cálculos

Porcentaje de proteína

$$\%P = \frac{NHCL * 0,014 * 100 * 6.25 * mLHCl}{W1 - W2}$$

Dónde:

%PB= % Proteína Bruta

W 1 = Peso del papel solo

W2 = Peso del papel más muestra

0.014 = Constante

6.25 = Constante

mL HCL = mL de Ácido Clorhídrico utilizados al titular.

Proteína en Base Seca:

$$\%P.B.S = \frac{100 * \%PB}{\%M.S.}$$

Dónde:

%PB= % Proteína en Base Seca

%PB= % Proteína Bruta

%M.S.= % Materia Seca

ANEXO N° 10 TÉCNICA PARA DETERMINAR EL EXTRACTO ETÉREO. MÉTODO GRAVIMÉTRICO

DETERMINACIÓN DEL EXTRACTO ETÉREO.

Principio

El hexano se evapora y se condensa continuamente y al pasar a través de la muestra extrae materiales solubles en el solvente orgánico. El extracto se recoge en un beaker y cuando el proceso se completa el hexano se destila y se recolecta en otro recipiente, y la grasa que queda en el beaker se seca y se pesa.

Procedimiento

- Una vez lavados los beakers para el solvente, séquelos en la estufa a 105c. por 2 horas.
- Sáquelos de la estufa y póngalos en el desecador por 1/2 hora, péselos, registre el peso y vuélvalos al desecador hasta el momento de ser utilizados.
- Realice el pesaje de las muestras en papel aluminio, pese 1g. de muestra con aproximación de 0.1mg. Registre el peso.
- Coloque en un papel limpio Na_2SO_4 , colóquelo en la muestra pesada
- Pese el papel aluminio con el residuo de la muestra, registre el peso.
- Coloque la muestra con el Na_2SO_4 en un dedal.
- Introduzca un tapón de algodón desengrasado en la boca del dedal.
- Coloque el dedal dentro del porta-dedal.
- Coloque los porta-dedales con dedales dentro de los ganchos metálicos que están ubicados en el aparato Goldfish.
- Saque los beakers del desecador y proceda a poner una medida de Hexano de 25 a 60 cc aproximadamente (Es inflamable).

- Coloque el beaker con el hexano dentro del anillo metálico de rosca.
- Coloque el anillo metálico con el beaker en el aparato de Goldfish.
- Abra el grifo de agua que está conectado a los refrigerantes del aparato.
- Abra la válvula de seguridad 3 veces (estas válvulas se encuentran encima de los refrigerantes del equipo).
- Levante las parrillas hasta tocar los vasos y ajuste el calor para rendir de 4 a 6 gotas por segundo.
- Extraiga el extracto etéreo durante 4 horas. En este tiempo debe controlar que el hexano no se evapore.
- Una vez realizada la extracción del extracto etéreo y al cabo de las 4 horas proceda de la siguiente manera:
 - Baje los calentadores
 - Saque el anillo metálico de rosca que está conteniendo el beaker con hexano y el E.E.
 - Saque el porta-dedal de los ganchos metálicos del equipo
 - Coloque los beakers de recuperación del hexano en los ganchos metálicos del aparato
 - Vuelva a colocar el anillo de rosca metálico que está conteniendo el beaker con el hexano y el E.E. en el aparato Goldfish.
 - Levante la parrilla hasta que el sobrante de hexano esté casi todo en el vaso de recuperación.
 - Baje los calentadores
 - Coloque el beaker con el E.E. en la estufa a 105 0C. por 1/2 hora.
 - Saque los beakers de recuperación con el solvente que se encuentra en el equipo y ponga el hexano recuperado en el frasco destinado para este fin.
 - Saque los beakers con el E.E. de la estufa y colóquelos en el desecador por 1/2 hora para su enfriamiento. Péselos y registre el peso.

Cálculos

$$\%E.E = \frac{(\text{peso beaker} + E.E) - (\text{peso beaker vacío})}{(\text{peso papel} + \text{muestra}) - (\text{peso papel solo})} \times 100$$

$$\%E.E = \frac{100 \times \%E.E}{\% M \text{ seca}}$$

ANEXO N° 11 TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE FIBRA.

DETERMINACIÓN DE FIBRA

Principio

Fibra cruda es la pérdida de masa que corresponde a la incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en condiciones específicas.

Se basa en la sucesiva separación de minerales, proteína, grasa y sustancia extraída libre de nitrógeno, la separación de estas sustancias se logra mediante con una solución débil de ácido sulfúrico y álcalis, agua caliente y acetona. El ácido sulfúrico hidroliza a los carbohidratos insolubles (almidón y parte de la hemicelulosa), los álcalis transforman en estado soluble a las sustancias albuminosas, separan las grasas, disuelven parte de la hemicelulosa y lignina, el éter o acetona extraen las resinas, colorantes, residuos de grasa y eliminan el agua; los minerales que no se solubilizaron ni en ácido ni en álcali, quedan como constituyentes de la ceniza obtenida del residuo seco insoluble en ácido y en álcali. Por diferencia estos dos últimos parámetros se obtienen fibra bruta.

Procedimiento

- Pesar un gramo de la muestra desengrasada (W3).
- En la muestra evaporada poner 20 ml de H₂SO₄, 0,13 M
- Agitar constantemente durante 45 minutos
- Muestra digestada en medio ácido, lavar con agua a 100 °C tres veces.
- Colocar 20 ml de KOH 0,23 M y realizar agitación constante ebullición a 45 minutos.

- La muestra digestada en medio básico lavar con agua con agua a 100°C tres veces prensar, desengrasar y evaporar.
- Secar en la estufa a 105 °C durante 12 horas.
- Enfriar en el desecador 30 minutos y pesar (W1).
- Incinerar en la mufla a 550 °C por 3 horas
- Enfriar en el desecador y pesar (W2)

Cálculos

$$\% \text{ F. C.} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} * 100$$

Donde:

% F.C.= % de fibra cruda

W₁ = crisol con muestra digerida

W₂ = del crisol con cenizas

W₃ = de la muestra

$$\% \text{ F. C. B. S.} = \frac{100 \times \% \text{ Fc.}}{\% \text{ de la M. S.}} * 100$$

Donde

% F.C. Base Seca = % F.C. B. S

ANEXO N° 12 VITAMINA C. MÉTODO ESPECTOFOTOMÉTRICO HPLC

DETERMINACIÓN DE VITAMINA C

Para este ensayo se utilizó el método: Cromatografía líquido de alta resolución (HPLC).

Principio

Consiste en una cromatografía de participación en fase reversa, fase móvil polar con la detección en el campo ultravioleta a una longitud de onda de 254 nm.

Condiciones: 5 µm 120 A° (4.6 *150 mm)

Columna DIONEX C18

Flujo 1mL/min

Detector UV/visible

Fase móvil H₃PO₄ 0.05 M

Preparación del estándar de Vitamina C

- Pesar exactamente 0.0025 g de Ácido ascórbico estándar.
- Aforar a 50 mL con ácido fosfórico 0.05M grado HPLC (Solución Estándar de Vitamina C 50 ppm).
- Tomar una alícuota de 1mL y aforar a 10mL (solución de trabajo de 5 ppm)
- Filtrar el sobrenadante con acrodiscos de membranas.
- Colocar en vial de vidrio para su inyección.

Extracción del principio activo del fruto de guatila fresco

- Pesar exactamente posible 0.5 g de la muestra.
- Aforar a 10 mL con ácido fosfórico 0.05 M grado HPLC
- Colocar por 10 minutos en el ultrasonido.
- Filtrar mediante papel filtro.
- Filtrar el sobrenadante con acrodiscos de membranas.
- Colocar en vial de vidrio para su inyección.

Extracción del principio activo del néctar de guatila

- Pesar exactamente posible 0.5 g de la muestra.
- Aforar a 10 mL con ácido fosfórico 0.05 M grado HPLC
- Colocar por 10 minutos en el ultrasonido.
- Filtrar mediante papel filtro.
- Filtrar el sobrenadante con acrodiscos de membranas.
- Colocar en vial de vidrio para su inyección.

Extracción del principio activo del néctar de guatila con ácido ascórbico

- Pesar exactamente posible 0.5 g de la muestra.
- Aforar a 10 mL con ácido fosfórico 0.05 M grado HPLC
- Colocar por 10 minutos en el ultrasonido.
- Filtrar mediante papel filtro.
- Filtrar el sobrenadante con acrodiscos de membranas.
- Colocar en vial de vidrio para su inyección.

Cuantificación de Vitamina C

$$CM\left(\frac{mg}{100g}\right) = \frac{A.M * C.St * V.A}{A.St * M * 10}$$

Dónde:

A.M = Área de la Muestra

A.E = Área del Estándar

C.E = Concentración del Estándar

V A = Volumen aforado de la muestra (ml)

M= Peso de la muestra (gramos)

CM = Concentración de Vitamina C en la muestra

ANEXO N° 13 FITOESTEROLES. ENSAYO DE LIEBERMANN – BUCHARD

ENSAYO DE LIEBERMANN-BURCHARD.

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

1. Rosado-azul muy rápido.
2. Verde intenso-visible aunque rápido.

3. Verde oscuro-negro-final de la reacción.

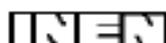
A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

IMPORTANTE: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

ANEXO N° 14 INEN NTE 2337:2008. JUGOS, PULPAS, CONCENTRADOS, NÉCTARES, BEBIDAS DE FRUTAS Y VEGETALES. REQUISITOS

CDU: 683.8
ICS: 67.080.20



CIUJ.3113
AL.02.03-485

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	JUGOS, PULPAS, CONCENTRADOS, NECTARES, BEBIDAS DE FRUTAS Y VEGETALES. REQUISITOS.	NTE INEN 2 337:2008 2008-12
<p align="center">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir los jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales.</p> <p align="center">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a los productos procesados que se expenden para consumo directo; no se aplica a los concentrados que son utilizados como materia prima en las industrias.</p> <p align="center">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Jugo (zumo) de fruta.- Es el producto líquido sin fermentar pero susceptible de fermentación, obtenido por procedimientos tecnológicos adecuados, conforme a prácticas correctas de fabricación; procedente de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o, a partir de frutas conservadas por medios físicos.</p> <p>3.2 Pulpa (puré) de fruta.- Es el producto caroso y comestible de la fruta sin fermentar pero susceptible de fermentación, obtenido por procesos tecnológicos adecuados por ejemplo, entre otros: tamizando, triturando o desmenuzando, conforme a buenas prácticas de manufactura; a partir de la parte comestible y sin eliminar el jugo, de frutas enteras o peladas en buen estado, debidamente maduras o, a partir de frutas conservadas por medios físicos.</p> <p>3.3 Jugo (zumo) concentrado de fruta.- Es el producto obtenido a partir de jugo de fruta (definido en 3.1), al que se le ha eliminado físicamente una parte del agua en una cantidad suficiente para elevar los sólidos solubles (° Brix) en, al menos, un 50% más que el valor Brix establecido para el jugo de la fruta.</p> <p>3.4 Pulpa (puré) concentrada de fruta.- Es el producto (definido en 3.2) obtenido mediante la eliminación física de parte del agua contenida en la pulpa.</p> <p>3.5 Jugo y pulpa concentrado edulcorado.- Es el producto definido en 3.3 y 3.4 al que se le ha adicionado edulcorantes para ser reconstituido a un néctar o bebida, el grado de concentración dependerá de los volúmenes de agua a ser adicionados para su reconstitución y que cumpla con los requisitos de la tabla 1, ó el numeral 5.4.1</p> <p>3.6 Néctar de fruta.- Es el producto pulposo o no pulposo sin fermentar, pero susceptible de fermentación, obtenido de la mezcla del jugo de fruta o pulpa, concentrados o sin concentrar o la mezcla de éstos, provenientes de una o más frutas con agua e ingredientes endulzantes o no.</p> <p>3.7 Bebida de fruta.- Es el producto sin fermentar, pero fermentable, obtenido de la dilución del jugo o pulpa de fruta, concentrados o sin concentrar o la mezcla de éstos, provenientes de una o más frutas con agua, ingredientes endulzantes y otros aditivos permitidos.</p> <p align="center">4. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS</p> <p>4.1 El jugo y la pulpa debe ser extraído bajo condiciones sanitarias apropiadas, de frutas maduras, sanas, lavadas y sanitizadas, aplicando los Principios de Buenas Prácticas de Manufactura.</p> <p>4.2 La concentración de plaguicidas no deben superar los límites máximos establecidos en el Codex Alimentario (Volumen 2) y el FDA (Part. 193).</p> <p align="right">(Continúa)</p>		

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

(Continúa)

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

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

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos para los jugos y pulpas de frutas

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

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

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

5.1.4 Requisitos físico- químico

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

5.2 Requisitos específicos para los néctares de frutas

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

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

5.2.3 Requisitos físico - químicos

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

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

(Continúa)

5.3 Requisitos específicos para los jugos y pulpas concentradas.

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

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

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

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

5.4 Requisitos específicos para las bebidas de frutas

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

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

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

5.5 Requisitos microbiológicos

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

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

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

TABLA 3. Requisitos microbiológicos para productos congelados

	n	m	M	a	Método de ensayo
Coliformes NMP/cm ³	3	< 3	--	0	NTE INEN 1529-8
Coliformes fecales NMP/cm ³	3	< 3	--	0	NTE INEN 1529-8
Recuento de esporas clostridium sulfita reductoras UFC/cm ³ ¹⁾	3	< 10	--	0	NTE INEN 1529-13
Recuento estándar en placa REP UFC/cm ³	3	1,0x10 ²	1,0x10 ⁴	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de mohos y levaduras UP/cm ³	3	1,0x10 ²	1,0x10 ⁴	1	NTE INEN 1529-10

¹⁾ Para productos enlatados.

(Continúa)

TABLA 4. Requisitos microbiológicos para los productos pasteurizados

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

En donde:

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

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

5.6 Contaminantes

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

TABLA 5. Límites máximos de contaminantes

	Límite máximo	Método de ensayo
Arsénico, As mg/kg	0,2	NTE INEN 269
Cobre, Cu mg/kg	5,0	NTE INEN 270
Estaño, Sn mg/kg *	200	NTE INEN 385
Zinc, Zn mg/kg	5,0	NTE INEN 399
Hierro, Fe mg/kg	15,0	NTE INEN 400
Plomo, Pb mg/kg	0,05	NTE INEN 271
Patulina (en jugo de manzana)**, mg/kg	50	AOAC 49.7.01
Suma de Cu, Zn, Fe mg/kg	20	
* En el producto envasado en recipientes estañados		
** La patulina es una micotoxina formada por una lactona hemiacetalica, producida por especies del género <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> y <i>Byssoclamys</i> .		

5.7 Requisitos Complementarios

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

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

(Continúa)

6. INSPECCIÓN

6.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN 378.

6.2 Aceptación o Rechazo. Se aceptan los productos si cumplen con los requisitos establecidos en esta norma, caso contrario se rechaza.

7. ENVASADO Y EMBALADO

7.1 El material de envase debe ser resistente a la acción del producto y no debe alterar las características del mismo.

7.2 Los productos se deben envasar en recipientes que aseguren su integridad e higiene durante el almacenamiento, transporte y expendio.

7.3 Los envases metálicos deben cumplir con la NTE INEN 190, Codex Alimentario y FDA.

8. ROTULADO

8.1 El rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en la NTE INEN 1 334-1 y 1 334-2, y en otras disposiciones legales vigentes.

8.2 En el rotulado debe estar claramente indicada la forma de reconstituir el producto.

8.3 No debe tener leyendas de significado ambiguo, ni descripción de características del producto que no puedan ser comprobadas.

(Continúa)

ANEXO N° 15 NTE INEN 389. CONSERVAS VEGETALES. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL IÓN HIDRÓGENO (pH)

CDU 664.8



AL 02. 01 - 314

Norma Ecuatoriana	CONSERVAS VEGETALES DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION DEL ION HIDRÓGENO (pH)	INEN 389 Primera Revisión 1985-12
<p style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Instituto Ecuatoriano de Normatización, INEN, Casilla 3999 - Baquerizo 454 - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción</p>	<p align="center">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece el método potenciométrico para determinar la concentración del ion hidrógeno (pH) en conservas vegetales.</p> <p align="center">2. INSTRUMENTAL</p> <p>2.1 Potenciómetro, con electrodos de vidrio.</p> <p>2.2 Vaso de precipitación de 250 cm³.</p> <p>2.3 Agitador.</p> <p align="center">3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA</p> <p>3.1 Si la muestra es líquida, homogenizarla convenientemente mediante agitación.</p> <p>3.2 Si la muestra corresponde a productos densos o heterogéneos, homogenizarla con ayuda de una pequeña cantidad de agua (recientemente hervida y enfriada) y mediante agitación.</p> <p align="center">4. PROCEDIMIENTO</p> <p>4.1 Efectuar la determinación por duplicado sobre la misma muestra preparada.</p> <p>4.2 Comprobar el correcto funcionamiento del potenciómetro.</p> <p>4.3 Colocar en el vaso de precipitación aproximadamente 10 g ó 10 cm³ de la muestra preparada, añadir 100 cm³ de agua destilada (recientemente hervida y enfriada) y agitar suavemente.</p> <p>4.4 Si existen partículas en suspensión, dejar en reposo el recipiente para que el líquido se decante.</p> <p>4.5 Determinar el pH introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que éstos no toquen las paredes del recipiente ni las partículas sólidas, en caso de que existan.</p> <p align="right"><i>(Continúa)</i></p>	

5. ERRORES DE METODO

5.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,1 unidades de pH; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

6. INFORME DE RESULTADOS

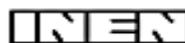
6.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

6.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

6.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

ANEXO N° 16 NTE INEN 382. CONSERVAS VEGETALES. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX). MÉTODO REFRACTOMÉTRICO.



CDU: 654.8

AL 02.01-302

<p>Norma Técnica Ecuatoriana</p>	<p align="center">CONSERVAS VEGETALES. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES. METODO REFRACTOMETRICO.</p>	<p align="right">NTE INEN 380 Primera revisión 1985-12</p>
<p align="center">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece el método para determinar el contenido de sólidos solubles en conservas vegetales, mediante lectura refractométrica a 20°C.</p> <p align="center">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Este método es aplicable particularmente a productos espesos, ricos en azúcares o que contienen material suspendido. Si los productos contienen otras sustancias disueltas, los resultados serán aproximados; sin embargo, por conveniencia, se puede considerar el resultado obtenido por este método como el contenido de sólidos solubles.</p> <p align="center">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Contenido de sólidos solubles determinado por el método refractométrico: concentración de sacarosa (en porcentaje de masa), en una solución acuosa, que tiene el mismo índice de refracción que el producto analizado, en condiciones de concentración y temperatura especificadas.</p> <p align="center">4. EQUIPOS Y MATERIALES</p> <p>4.1 Refractómetro con regulador de temperatura. Se puede usar en cualquiera de las modalidades siguientes:</p> <p>4.1.1 Refractómetro con escala para índice de refracción graduada en 0,001, de modo que permita estimar lecturas de hasta 0,0002. Este refractómetro será calibrado de tal manera que a 20°C registre un índice de refracción de 1,3330 para el agua destilada.</p> <p>4.1.2 Refractómetro con escala para porcentaje en masa de sacarosa, graduada en 0,50%, de modo que permita estimar lecturas de hasta 0,25%. Este refractómetro será calibrado de modo que a 20°C registre un contenido de sólidos solubles (sacarosa) de cero para el agua destilada.</p> <p>4.2 Vaso de precipitación de 250 cm³</p> <p>4.3 Embudo de Buchner para filtración.</p> <p align="right"><i>(Continúa)</i></p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baños de San Carlos - Quito - Ecuador - Prohibida la reproducción

5. PREPARACION DE LA MUESTRA

5.1 Productos líquidos claros. Mezclar bien la muestra y usarla directamente para la determinación.

5.2 Productos semiespesos (purés, pastas, salsas, etc). Mezclar bien la muestra y prensarla a través de una gaza doblada en cuatro partes, rechazando las primeras gotas de líquido y reservando el resto de éste para la determinación.

5.3 Productos espesos (jaleas, etc). Pesar en el vaso de precipitación tarado, hasta 40 g de la muestra con aproximación al 0,1 g. Añadir de 100 a 150 ml de agua destilada y calentar la mezcla hasta ebullición; mantenerla en ebullición por 2 a 3 minutos, agitando con varilla de vidrio. Enfriar y mezclar bien. Dejar en reposo por 20 minutos, pesar con aproximación al 0,01 g y filtrar en embudo de Buchner. Recoger el filtrado en un recipiente seco y reservarlo para la determinación.

5.4 Productos congelados. Descongelar la muestra y retirar, si es necesario, las semillas, pepitas o partes duras; mezclar el producto con el líquido formado durante el proceso de descongelación y proceder según se describe en 5.2 o 5.3, según sea el caso.

5.5 Productos secos. Cortar la muestra en trozos pequeños retirando, de ser necesario, semillas, pepitas o partes duras; mezclar bien y pesar en el vaso de precipitación tarado, de 10 a 20 g de muestra, con aproximación al 0,01 g. Añadir agua destilada en cantidad equivalente a 5 o 10 veces la masa de la muestra, y colocar en un baño de agua hirviendo por 30 minutos, agitando ocasionalmente con varilla de vidrio. Si no se ha obtenido una mezcla homogénea, prolongar el tiempo de calentamiento hasta obtenerla. Enfriar el contenido del vaso y mezclar bien. Dejar reposar por 20 minutos, pesar con aproximación al 0,01 g y filtrar en un recipiente seco, reservando el filtrado para la determinación.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 La determinación debe hacerse por duplicado sobre la misma muestra de laboratorio.

6.2 Ajustar la circulación de agua del refractómetro para operar a la temperatura requerida (entre 15 y 25°C).

6.3 Colocar 2 o 3 gotas de la muestra preparada según el numeral 5 en el prisma fijo del refractómetro y ajustar inmediatamente el prisma móvil. Continuar la circulación de agua durante el tiempo necesario para que tanto los prismas como la solución de ensayo alcancen la temperatura requerida, que debe permanecer constante, dentro del rango de $\pm 0,5^\circ\text{C}$ durante toda la determinación.

6.4 Leer el valor del índice de refracción o el porcentaje en masa de sacarosa, según el instrumento que se haya usado (4.1.1 o 4.1.2).

(Continúa)

6.5 Se recomienda el uso de una lámpara de vapor de sodio, que permite la obtención de resultados más precisos, especialmente en el caso de productos coloreados u oscuros.

7. CALCULOS

El contenido de sólidos solubles expresado como porcentaje de masa se obtiene de la siguiente manera:

7.1 Correcciones

7.1.1 Si la lectura se efectuó a una temperatura diferente de $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, se aplicará la corrección siguiente:

7.1.1.1 Refractómetro con escala para índice de refracción:

$$N_D^{20} = N_D^t + 0,00013(t - 20)$$

N_D^{20} = índice de refracción a 20°C

N_D^t = índice de refracción a la temperatura a la que se efectuó el ensayo

t = temperatura a la que se realizó el ensayo (en grados C)

7.1.1.2 Refractómetro con escala para porcentaje en masa de sacarosa. Corregir la lectura usando la Tabla 1 del apéndice X.

7.1.2 Cuando el producto lo requiera, realizar la corrección por acidez según la Tabla 3 del apéndice X.

7.2 Métodos y fórmulas de cálculo. El contenido de sólidos solubles, expresado como porcentaje de masa, se obtiene de la siguiente manera:

7.2.1 *Refractómetro con escala para índice de refracción.* Obtener de la Tabla 2 del apéndice X, el porcentaje en masa de sacarosa correspondiente al índice de refracción determinado según 6.4 y corregido, de ser necesario, según 7.1.1.1 y 7.1.2. En el caso de productos líquidos o semi-espesos (5.1 o 5.2), el valor encontrado en la Tabla 3 del Apéndice X, es el contenido de sólidos solubles. En el caso de los productos espesos, congelados o secos, el contenido de sólidos solubles se obtiene aplicando la fórmula siguiente:

$$\frac{P \times M_1}{M_0}$$

Siendo:

P = % (m/m) de sólidos solubles en la solución diluida

M_0 = masa, en gramos, de la muestra antes de la dilución

M_1 = masa, en gramos, de la muestra después de la dilución

7.2.2 Refractómetro con escala para porcentaje en masa de sacarosa. Para productos líquidos o semi espesos, el contenido de sólidos solubles (% de sacarosa m/m) es el valor determinado según 6.4 y corregido, de ser necesario, según 7.1.1.2 y 7.1.2. Para productos espesos, congelados o secos, calcular el contenido de sólidos solubles mediante la fórmula indicada en 7.2.1.

8. ERRORES DE METODO

8.1 La diferencia entre los resultados de dos determinaciones sucesivas realizadas por el mismo analista no excederá de 0,5 g de sólidos solubles por 100 g de producto.

9. INFORME DE RESULTADOS

9.1 Reportar como resultado final la media aritmética de dos determinaciones que cumplan con lo indicado en 8.1.

9.2 Expresar el resultado con una cifra decimal

9.3 En el informe de resultados debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

9.4 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de las muestras.

APENDICE X
TABLA 1. Corrección de las lecturas del refractómetro con escala para sacarosa a una temperatura diferente de $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Temperatura (°C)	Lecturas de la Escala para contenido de sólidos solubles (% m/m)									
	5	10	15	20	25	30	40	50	60	70
	Sustraer del porcentaje de sólidos solubles									
15	0,29	0,31	0,33	0,34	0,34	0,35	0,37	0,38	0,39	0,40
16	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,28	0,30	0,30	0,31	0,32
17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	0,23	0,23	0,24
18	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,16	0,16
19	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08
	Añadir al porcentaje de sólidos solubles									
21	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
22	0,13	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16
23	0,20	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24
24	0,27	0,28	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32
25	0,35	0,36	0,37	0,38	0,38	0,39	0,40	0,40	0,40	0,40

TABLA 2. Índice de refracción y porcentaje en masa de sólidos solubles (sacarosa) correspondiente

Índice de Refracción	Contenido de sólidos solub. (Sacarosa)	Índice de Refracción	Contenido de sólidos solub. (Sacarosa)	Índice de Refracción	Contenido de sólidos solub. (sacarosa)	Índice de Refracción	Contenido de sólidos solub. (Sacarosa)
n_D^{20}	% (m/m)						
1,333 0	0	1,367 2	22	1,407 6	44	1,455 8	66
1,334 4	1	1,368 9	23	1,409 6	45	1,458 2	67
1,335 9	2	1,370 6	24			1,460 6	68
1,337 3	3	1,372 3	25	1,411 7	46	1,463 0	69
1,338 8	4			1,413 7	47	1,465 4	70
1,340 3	5	1,374 0	26	1,415 8	48		
		1,375 8	27	1,417 9	49	1,467 9	71
1,341 8	6	1,377 5	28	1,420 1	50	1,470 3	72
1,343 3	7	1,379 3	29			1,472 8	73
1,344 8	8	1,381 1	30	1,422 2	51	1,475 3	74
1,346 3	9			1,424 3	52	1,477 8	75
1,347 8	10	1,382 9	31	1,426 5	53		
		1,384 7	32	1,428 6	54	1,480 3	76
1,349 4	11	1,386 5	33	1,430 8	55	1,482 9	77
1,350 9	12	1,388 3	34			1,485 4	78
1,352 5	13	1,390 2	35	1,433 0	56	1,488 0	79
1,354 1	14			1,435 2	57	1,490 6	80
1,355 7	15	1,392 0	36	1,437 4	58		
		1,393 9	37	1,439 7	59	1,493 3	81
1,357 3	16	1,395 8	38	1,441 9	60	1,495 9	82
1,358 9	17	1,397 8	39			1,498 5	83
1,360 5	18	1,399 7	40	1,444 2	61	1,501 2	84
1,362 2	19			1,446 5	62	1,503 9	85
1,363 8	20	1,401 6	41	1,448 8	63		
		1,403 6	42	1,451 1	64		
1,365 5	21	1,405 6	43	1,453 5	65		

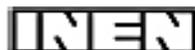
(Continúa)

**TABLA 3. Correcciones por acidez para obtener °Brix a partir de lecturas refractométricas
(Basadas en contenido de ácido cítrico de jugos cítricos u otras soluciones que contienen apéar)
Añadir al valor obtenido para porcentaje de sólidos solubles (m/m)**

% Acido Corro									
0,0	0,00	7,0	1,34	14,0	2,64	21,0	3,88	28,0	5,10
0,2	0,04	7,2	1,38	14,2	2,69	21,2	3,91	28,2	5,14
0,4	0,08	7,4	1,42	14,4	2,72	21,4	3,95	28,4	5,18
0,6	0,12	7,6	1,46	14,6	2,75	21,6	3,99	28,6	5,22
0,8	0,16	7,8	1,50	14,8	2,78	21,8	4,02	28,8	5,25
1,0	0,20	8,0	1,54	15,0	2,81	22,0	4,05	29,0	5,28
1,2	0,24	8,2	1,58	15,2	2,85	22,2	4,09	29,2	5,31
1,4	0,28	8,4	1,62	15,4	2,89	22,4	4,13	29,4	5,35
1,6	0,32	8,6	1,66	15,6	2,93	22,6	4,17	29,6	5,39
1,8	0,36	8,8	1,69	15,8	2,97	22,8	4,20	29,8	5,42
2,0	0,39	9,0	1,72	16,0	3,00	23,0	4,24	30,0	5,46
2,2	0,43	9,2	1,76	16,2	3,03	23,2	4,27	30,2	5,49
2,4	0,47	9,4	1,80	16,4	3,06	23,4	4,30		
2,6	0,51	9,6	1,83	16,6	3,09	23,6	4,34		
2,8	0,54	9,8	1,87	16,8	3,13	23,8	4,38		
3,0	0,58	10,0	1,91	17,0	3,17	24,0	4,41		
3,2	0,62	10,2	1,95	17,2	3,21	24,2	4,44		
3,4	0,66	10,4	1,99	17,4	3,24	24,4	4,48		
3,6	0,70	10,6	2,03	17,6	3,27	24,6	4,51		
3,8	0,72	10,8	2,06	17,8	3,31	24,8	4,54		
4,0	0,78	11,0	2,10	18,0	3,35	25,0	4,58		
4,2	0,81	11,2	2,14	18,2	3,38	25,2	4,62		
4,4	0,85	11,4	2,18	18,4	3,42	25,4	4,66		
4,6	0,89	11,6	2,21	18,6	3,46	25,6	4,69		
4,8	0,93	11,8	2,24	18,8	3,49	25,8	4,73		
5,0	0,97	12,0	2,27	19,0	3,53	26,0	4,76		
5,2	1,01	12,2	2,31	19,2	3,56	26,2	4,79		
5,4	1,04	12,4	2,35	19,4	3,59	26,4	4,83		
5,6	1,07	12,6	2,39	19,6	3,63	26,6	4,86		
5,8	1,11	12,8	2,42	19,8	3,68	26,8	4,90		
6,0	1,15	13,0	2,46	20,0	3,70	27,0	4,94		
6,2	1,19	13,2	2,50	20,2	3,73	27,2	4,97		
6,4	1,23	13,4	2,54	20,4	3,77	27,4	5,00		
6,6	1,27	13,6	2,57	20,6	3,80	27,6	5,03		
6,8	1,30	13,8	2,61	20,8	3,84	27,8	5,06		

(Continúa)

ANEXO N° 17 NTE INEN 381. CONSERVAS VEGETALES. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE. MÉTODO POTENCIOMÉTRICO DE REFERENCIA



CDU: 654.8

AL 03.02-303

<p>Norma Técnica Ecuatoriana</p>	<p align="center">CONSERVAS VEGETALES DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE METODO POTENCIOMETRICO DE REFERENCIA</p>	<p align="center">INEN 381 Primera revisión 1985-12</p>
<p align="center">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece el método potenciométrico para determinar la acidez titulable en conservas vegetales y Jugos de frutas.</p> <p align="center">2. RESUMEN</p> <p>2.1 Determinar la acidez titulable mediante un potenciómetro y utilizando hidróxido de sodio.</p> <p align="center">3. INSTRUMENTAL</p> <p>3.1 Balanza analítica, sensible al 0,1 mg. 3.2 Potenciómetro, con electrodos de vidrio. 3.3 Agitador mecánico o electromagnético. 3.4 Mortero. 3.5 Matraz Erlenmeyer de 250 cm³. 3.6 Condensador de reflujo. 3.7 Matraz volumétrico de 250cm³. 3.8 Baño de agua. 3.9 Embudo; para filtración.</p> <p align="center">4. REACTIVOS</p> <p>4.1 Solución 0,1 N de hidróxido de sodio. 4.2 Solución reguladora, de pH conocido. Se recomienda pH = 9.</p> <p align="right"><i>(Continúa)</i></p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno Es-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

5. PREPARACION DE LA MUESTRA

5.1 Productos líquidos o fácilmente filtrables (jugos, jarabes, líquidos de encurtido y productos fermentados).

5.1.1 Mezclar convenientemente la muestra y filtrar utilizando algodón o papel filtro.

5.1.2 Colocar 25 cm³ del líquido filtrado en un matraz volumétrico de 250 cm³ y diluir a volumen con agua destilada previamente hervida y enfiada, mezclando luego perfectamente la solución.

5.2 Productos densos o difíciles de filtrar, (salsas en conserva, mermeladas, jaleas).

5.2.1 Mezclar y ablandar la muestra en un mortero.

5.2.2 Pesar 25 g de muestra, con aproximación al 0,01 g, y transferir a un matraz Erlenmeyer, añadiendo luego 50 cm³ de agua destilada caliente; mezclar convenientemente hasta obtener un líquido de aspecto uniforme.

5.2.3 Acoplar el condensador de reflujo en el matraz Erlenmeyer y calentar en el baño de agua hirviente durante 30 min; enfriar y transferir el contenido a un matraz volumétrico de 250 cm³, diluyendo a volumen con agua destilada previamente hervida y enfiada.

5.2.4 Mezclar perfectamente y filtrar.

5.3 Productos sólidos, secos y congelados.

5.3.1 Fraccionar en partes pequeñas la muestra que previamente deberá descongelarse, si es necesario; limpiar la muestra de tallos, semillas y otros cuerpos extraños.

5.3.2 Triturar la muestra en el mortero y pesar, con aproximación al 0,01 g, aproximadamente 25 g de la misma, continuando luego como se indica en 5.2.2.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

6.2 Comprobar el funcionamiento correcto del potenciómetro utilizando la solución reguladora de pH conocido.

6.3 Lavar el electrodo de vidrio varias veces con agua destilada hasta que la lectura del pH sea de aproximadamente 6.

(Continua)

6.4 Colocar en un matraz volumétrico de 25 a 100 cm³ de la muestra preparada, según la acidez esperada, y sumergir los electrodos en la muestra.

6.5 Añadir rápidamente de 10 a 50 cm³ de la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, agitando hasta alcanzar pH 6, determinado con el potenciómetro.

6.6 Continuar añadiendo lentamente solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta obtener pH 7; luego, adicionar la solución 0,1 N de hidróxido de sodio en cuatro gotas por vez, registrando el volumen de la misma y el pH obtenido después de cada adición, hasta alcanzar pH 8,3 aproximadamente.

6.7 Por interpolación, establecer el volumen exacto de solución 0,1 N de hidróxido de sodio añadido, correspondiente al pH 8,1.

7. CALCULOS

7.1 La acidez titulable se determina mediante la ecuación siguiente:

7.1.1 Para productos líquidos:

$$A = \frac{(V_1 N_1 M) 10}{V_2}$$

Siendo:

A = g de ácido en 1 000 cm³ de producto.

V₁ = cm³ de NaOH usados para la titulación de la alícuota.

N₁ = normalidad de la solución de NaOH.

M = peso molecular del ácido considerado como referencia.

V₂ = volumen de la alícuota tomada para el análisis en 6.4.

7.1.2 Para productos sólidos:

$$A = \frac{V_1 N_1 M}{V_2}$$

Siendo:

A = g de ácido por 100 g de producto.

V₁ = cm³ de NaOH usados para la titulación de la alícuota.

N₁ = normalidad de la solución de NaOH.

M = peso molecular del ácido considerado como referencia.

V₂ = volumen de la alícuota tomada para el análisis en 6.4.

(Continúa)

8. ERRORES DE METODO

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2% del promedio aritmético de los resultados; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

9. INFORME DE RESULTADOS

9.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación, con una cifra decimal.

9.2 La acidez titulable se expresa en gramos del ácido predominante en el producto analizado por 100 g ó 1 000 cm³ de la muestra. En este caso, debe considerarse lo indicado en el Anexo A.

9.3 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

9.4 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

ANEXO A

ACIDOS PRESENTES EN CONSERVAS VEGETALES

ACIDOS	PRODUCTOS	GRAMOS POR MILIEQUIVALENTE
Málico	Derivados de frutas con semilla o huesillos	0,067
Cítrico anhidro	Derivados de bayas y frutas cítricas	0,064
Cítrico monohidratado	Derivados de bayas y frutas cítricas	0,070
Tartárico	Derivados de la vid	0,075
Oxálico	Derivados de espinacas y tallos	0,045
Acético	Productos encurtidos y adobados	0,060

(Continua)

ANEXO N° 18 INEN NTE 1529-8. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES

<p>COU: 003.1 ICS: 07.100.30</p>		<p>AL 01.05-208</p>
<p>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</p>	<p>CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES Y <i>E. coli</i></p>	<p>NTE INEN 1529-8 1990-02</p>
<p>1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece la técnica del número más probable para la determinación de coliformes fecales y las pruebas confirmatorias de <i>Escherichia coli</i> e identificación de las especies del grupo coliforme fecal.</p> <p>2. TERMINOLOGÍA</p> <p>2.1 Coliformes fecales. Es un grupo de coliformes que en presencia de sales biliares u otros agentes selectivos equivalentes fermenta la lactosa con producción de ácido y gas a temperatura entre 44 y 45,5 °C. Este grupo contiene una alta proporción de <i>E. coli</i>, tipo I y II y que en general puede considerarse como equivalente a <i>E. coli</i>, siendo por ello útiles como indicadores de contaminación fecal en los alimentos.</p> <p>2.2 <i>E. coli</i>. Es una especie bacteriana que a más de presentar las características del grupo coliforme fecal, produce Indol a partir del triptófano; es positivo a la prueba del rojo de metilo y negativo a la de Voges Proskauer; no utiliza el citrato como única fuente de carbono. Las cepas Indol positivas se llaman <i>E. coli</i> Tipo I y se supone que su hábitat natural primario es el intestino.</p> <p>2.3 Recuento de coliformes fecales. Es la determinación del número de coliformes fecales por gramo ó cm³ de muestra de alimento.</p> <p>2.4 Diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal. Es el proceso realizado para confirmar la presencia de <i>E. coli</i> y diferenciar las especies y variedades del grupo coliforme fecal mediante el conjunto de pruebas bioquímicas conocidas como "IMVEC".</p> <p>2.6 IMVEC. Es una designación mnemónica de un grupo de cinco pruebas bioquímicas que consiste en:</p> <ul style="list-style-type: none"> I = Verificación de la producción de Indol a partir del triptófano M = Reacción del RM (rojo de metilo) para comprobar el descenso del pH del caldo glucosa tamponado V = Reacción de VP (Voges-Proskauer); para comprobar la producción de acetoina a partir de glucosa. E = Prueba de Eijkman, para comprobar la termotolerancia o crecimiento a 44 - 45,5 ± 0,2 °C. C = Utilización del citrato como fuente de carbono. <p>3. RESUMEN</p> <p>3.1 Este método se basa en la prueba de Eijkman modificada para detectar la fermentación de la lactosa con producción de gas a 44 - 45,5 ± 0,2 °C y complementada con la prueba de Indol a esta temperatura, estos ensayos se realizan en caldo brillante-bilis lactosa y en caldo triptona partiendo de un inóculo tomado de cada tubo gas positivo del cultivo para coliformes totales, (ver INEN 1 529-6) e incubados a 45,5 ± 0,2 °C. La confirmación de <i>E. coli</i> y la diferenciación de las especies y variedades del grupo coliforme fecal, se realizan mediante los ensayos para Indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato sódico.</p> <p>4. EQUIPO Y MATERIALES DE VIDRIO</p> <p>4.1 Equipo usual en un laboratorio microbiológico en particular.</p> <p>4.1.1 Citados en numeral 4 de la Norma INEN 1 529-6.</p> <p>4.1.2 Placas porta objetos.</p> <p>4.1.3 Baño de agua regulable a 44 - 45,5 ± 0,2 °C.</p>		

6. MEDIO S DE CULTIVO Y REACTIVOS

6.1 Caldo verde brillante bils-lactosa (BGBL) o similar, ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.

6.2 Caldo triptona; ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.

6.3 Agar eosina azul metileno (EMB); ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.

6.4 Agar de contagio en placa (PCA); ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.

6.6 Caldo MR-VP; ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.

6.8 Reactivos de Kovacs; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

6.7 Solución de Rojo de metilo; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

6.8 Solución de Creatina al 0,5%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

6.8 Solución alcohólica de α -naftol al 6%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

6.10 Solución de hidróxido de Potasio al 40%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

6.11 Agar citrato de Simons; ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.

6.12 Solución alcohol-acetona; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

6.13 Solución fenicada de cristal violeta al 1%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.

6.14 Solución fenicada de fucsina básica al 1%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.

6.16 Solución de Iugol; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Coliformes fecales

8.1.1 Simultáneamente con el ensayo confirmatorio de la Norma INEN 1 529-6 Inocular dos o tres asas de cada uno de los tubos presuntamente positivos en un tubo conteniendo 10 cm³ de caldo BGBL (5.1) y en otro que contenga aproximadamente 3 cm³ de caldo triptona (5.2) (ver esquema 1).

8.1.2 Incubar estos tubos a $45,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (baño María) por 48 horas.

8.1.3 al cabo de este tiempo anotar la presencia de gas en los tubos de BGBL y añadir dos o tres gotas del reactivo de Kovacs a los tubos de agua triptona. La reacción es positiva para el Indol si en cinco minutos se forma un anillo rojo en la superficie de la capa de alcohol amílico; en la prueba negativa el reactivo de Kovacs conserva el color original.

8.1.4 Los cultivos gas positivos en caldo verde brillante bils-lactosa incubados a 30 o 35^oC y a 45,5^oC y que producen Indol a 45,5^oC son considerados coliformes fecales positivos.

8.2 Confirmación de E. coli y diferenciación de las especies del grupo mediante las pruebas IMVIC. En situaciones que justifiquen el esfuerzo y sean necesarias la confirmación de E. coli y la diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal, realizar los ensayos para Indol, rojo de metilo, Voges Praskauer y citrato sódico (Pruebas IMVIC), de la siguiente forma:

8.2.1 De cada tubo de caldo BGBL que sea positivo para coliformes fecales (6.1), sembrar por estria un asa en una placa individual de agar eosina azul de metilo o agar VRB previamente seca e identificada.

6.2.3 Para confirmar la presencia de E. coli, de cada placa escoger 2 - 3 colonias bien aisladas y típicas (negra o nucleada con brillo verde metálico de 2 - 3 mm de diámetro) y sembrar en estría en tubos de agar PCA o agar nutritivo inclinado e incubar los cultivos a 35 - 37^o por 24 horas.

6.2.4 Hacer extensiones a partir de los cultivos en agar PCA o nutritivo inclinado y tefirlos por el método de Gram, si se comprueba la pureza de los cultivos de sólo bacilos Gram. negativos no esporulados, utilizar éstos para la prueba IMVIC.

6.2.5 *Prueba para Indol* Sembrar en un tubo de agua triptona un asa de cultivo puro (6.2.4), incubar 24 horas a 35 - 37^oC. Añadir al tubo 0,5 cm³ del reactivo de Kovacs. La aparición de un color rojo oscuro en la superficie del reactivo, indica una prueba positiva. En la prueba negativa el reactivo conserva el color original.

6.2.6 *Prueba del rojo de metilo (RM)*. Sembrar en un tubo de caldo MR-VP un asa de cultivo puro (6.2.4) incubar 24 horas a 35 - 37^o C, añadir a cada tubo aproximadamente 3 gotas de la solución de rojo de metilo, agitar; si el cultivo se torna rojo la prueba es positiva y negativa si hay viraje a amarillo.

6.2.7 *Prueba de Voges-Proskauer (VP)*. Sembrar en un tubo de caldo MR-VP un asa de cultivo puro (6.2.4) e incubar 24 horas a 35 - 37^oC.

6.2.7.1 Luego de este periodo, añadir los siguientes reactivos cuidando de agitar el tubo después de cada adición:

- solución de creatina al 0,5% : 2 gotas
- solución alcohólica de α -naftol al 6% : 3 gotas
- solución de hidróxido de potasio al 40% : 2 gotas.

6.2.7.2 Observar dentro de 15 minutos. La aparición de un color rosado o rojo brillante, generalmente al cabo de cinco minutos el resultado es positivo.

6.2.8 *Prueba para la utilización del citrato*. Un asa del cultivo puro (6.2.4) sembrar por estría en la superficie de la lengüeta de agar citrato inclinado e incubar 24 horas a 35 - 37^oC. La reacción es positiva si hay crecimiento visible que se manifiesta por lo general en el cambio de color del medio, de verde a azul.

6.2.9 Considerar como E. coli a los microorganismos que presentan las siguientes características: bacilos Gram. negativos no esporulados que producen gas de la lactosa y reacción IMVIC ver Tabla 1.

7. CALCULO 8

7.1 Coliformes fecales

7.1.1 Calcular la densidad de coliformes fecales sólo en base del número de tubos que a 45,5^oC presentan gas en el caldo BEGL e Indol en el caldo triptona, seguir las instrucciones de los numerales 8, 9 y 10 de la Norma INEN 1 529-6

7.2 E. coli. Para determinar el NMP de E. coli proceder según las instrucciones de los numerales 8, 9 y 10 de la Norma INEN 1 529-6 basándose únicamente en todos los tubos que presentan bacilos con las características indicadas en el numeral 6.2.9.

8. INFORME DE RESULTADO 8

8.1 Coliformes fecales. Reportar NMP de coliformes fecales/g ó cm³ de muestra.

8.2 E. coli.

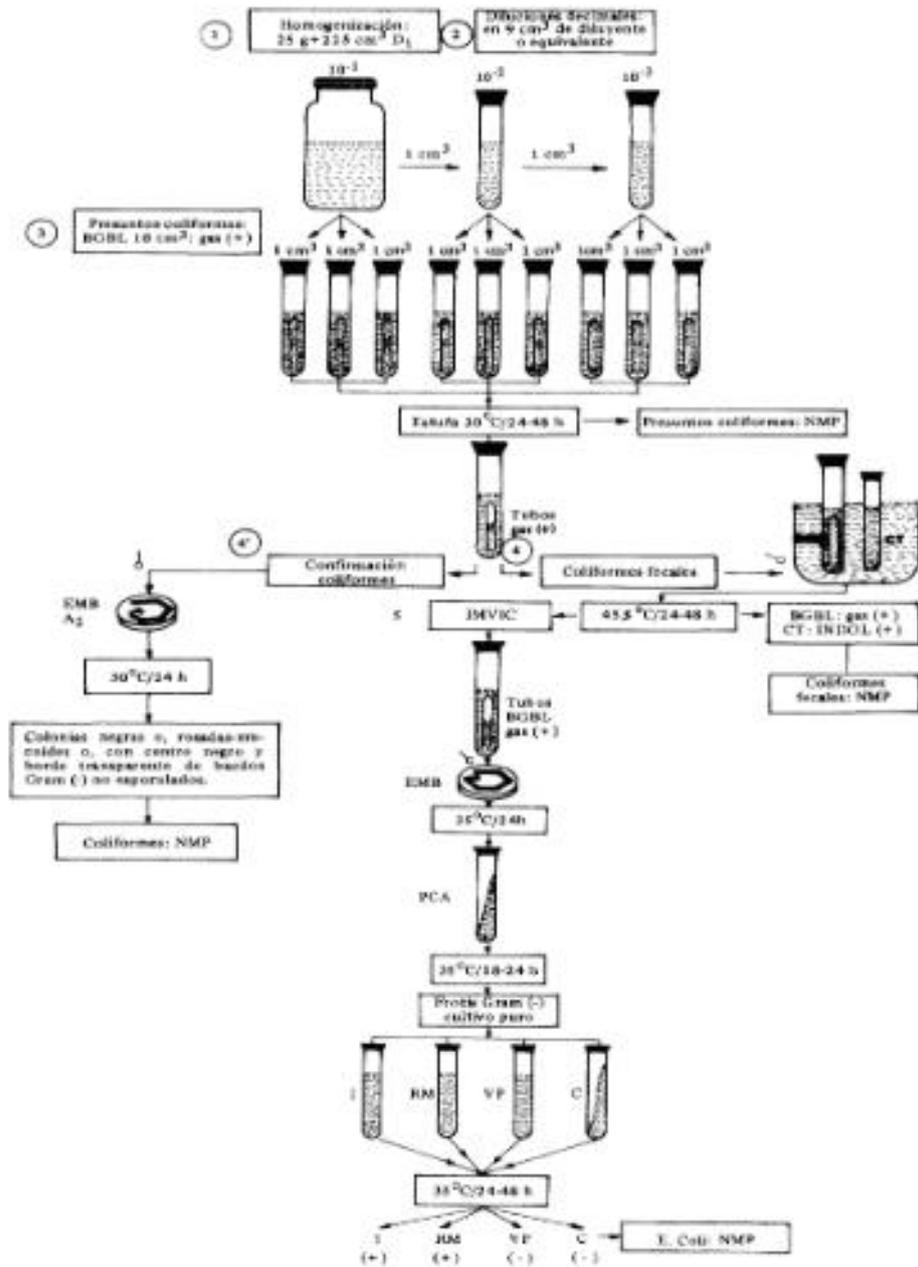
8.2.1 Reportar NMP de E. coli/g ó cm³ de muestra

TABLA 1

CLASIFICACION DE LOS COLIFORMES POR LAS PRUEBAS "IMVIC"					
	Gas en caldo B.G.B.L. 44 - 45,5°C	Prueba del Indol 44 - 45,5°C	MR	VP	Creclimiento en Citrato
E. coli					
- Tipico (tipo I)	+	+	+	-	-
-Atipico (tipo II)	-	-	+	-	-
Intermedios					
Tipicos (tipo II)	-	+	+	-	+
Atipicos (tipo I)	-	-	+	-	+
Enterobacter-aerógenas:					
Tipico (tipo I)	-	-	-	+	+
Atipico (tipo II)	-	+	-	+	+
Enterobacter-cloacae	-	-	-	+	+
Irregulares:					
- Tipo I	-	-	-	-	-
- Tipo II	+	-	-	-	-
- Tipo V I	+	-	+	+	+
Irregulares, otros tipos	V ⁻	V ⁻	V ⁻	V ⁻	V ⁻

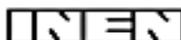
ESQUEMA

COLIORMES TOTALES, FECALES, E. COLI



ANEXO N° 19 NTE INEN 1529-10:98. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS, MOHOS Y LEVADURAS VIABLES.

CDU: 614.31:579.67:582.28
ICS: 07.100.30



CIU: 9320
AL 01.05-308

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno Es-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

Norma Técnica Ecuatoriana Opcional	CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECUENTO EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD	NTE INEN 1 529-10:98 1998-01
<p>1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma describe el método para cuantificar el número de unidades propagadoras de mohos y levaduras en un gramo ó centímetro cúbico de muestra.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma especifica el método de recuento, en placa, por siembra en profundidad, para el recuento de mohos y levaduras.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Mohos. Son ciertos hongos multicelulares, filamentosos, cuyo crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. Están constituidos por filamentos ramificados y entrecruzados, llamados "hifas", cuyo conjunto forma el llamado "micelio" que puede ser coloreado o no. Los mohos pueden formar, sobre ciertos alimentos, toxinas, llamadas micotoxinas. Provocan la alteración de productos alimenticios, especialmente los ácidos: yogur, jugos, frutas, etc., o los de presión osmótica elevada: productos deshidratados, jarabes, algunos productos salados, etc.</p> <p>3.2 Levaduras. Son hongos cuya forma de crecimiento habitual y predominante es unicelular. Poseen una morfología muy variable: esférica, ovóidea, piriforme, cilíndrica, triangular o, incluso, alargada, en forma de micelio verdadero o falso. Su tamaño supera al de las bacterias. Al igual que los mohos, causan alteraciones de los productos alimenticios, especialmente los ácidos y presión osmótica elevada.</p> <p>3.3 Recuento de mohos y levaduras viables. Es la determinación del número de colonias típicas de levaduras y mohos que se desarrollan a partir de un gramo o centímetro cúbico de muestra, en un medio adecuado e incubado entre 22°C y 25°C.</p> <p style="text-align: center;">4. RESUMEN</p> <p>4.1 Este método se basa en el cultivo entre 22°C y 25°C de las unidades propagadoras de mohos y levaduras, utilizando la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad y un medio que contenga extracto de levadura, glucosa y sales minerales.</p> <p style="text-align: center;">5. MATERIAL Y MEDIOS DE CULTIVO</p> <p>5.1 Materiales. La vidriería debe resistir esterilizaciones repetidas y todo el material debe estar perfectamente limpio y estéril.</p>		
<p>DESCRIPTORES: Productos alimenticios. Análisis microbiológico, conteo, mohos y levaduras</p>		<p><i>(Continúa)</i></p>

5.1.1 Placas Petri

5.1.2 Pipetas serológicas de boca ancha de 1; 5 y 10 cm³ graduadas en 1/10 de unidad.

5.2 Medio de cultivo

5.2.1 Agar sa-levadura de Davis o similar. Ver NTE INEN 1 529-1.

6. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

6.1 Preparar la muestra según su naturaleza, utilizando uno de los procedimientos indicados en la NTE INEN 1 529-2.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Utilizando una sola pipeta estéril, pipetear, por duplicado, alícuotas de 1 cm³ de cada una de las diluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración.

7.2 Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas, aproximadamente 20 cm³ de agar sa-levadura de Davis (SLD) fundido y templado a 45 ± 2°C. La adición del medio de cultivo no debe pasar más de 15 minutos, a partir de la preparación de la primera dilución.

7.3 Delicadamente, mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo, imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, 5 veces en una dirección; hacerla girar cinco veces en sentido de las agujas del reloj. Volver a imprimir movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y hacerla girar cinco veces en sentido contrario a las agujas de reloj.

7.4 Utilizar una placa para el control de la carga microbiana del ambiente, la cual no debe exceder de 15 colonias/placa, durante 15 minutos de exposición. Este límite es mantenido mediante prácticas adecuadas de limpieza y desinfección.

7.5 Como prueba de esterilidad del medio, en una placa sin inóculo verter aproximadamente 20 cm³ del agar.

7.6 Dejar las placas en reposo hasta que se solidifique el agar.

7.7 Invertir las placas e incubarlas entre 22°C y 25°C, por cinco días.

7.8 Examinarlas a los dos días de incubación y comprobar si se ha formado micelio aéreo. Las primeras colonias que se desarrollan son las de levaduras, que suelen ser redondas, cóncavas, estrelladas. La mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son húmedas y algo mucosas, también pueden ser harinosas, blanquecinas y algunas cremosas y rosadas. En ciertos casos, apenas cambian al envejecer, otras veces se desecan y encogen. Las colonias de mohos tienen un aspecto algodonoso característico.

7.9 Cuando el micelio aéreo de los mohos amenace cubrir la superficie de la placa, dificultando las lecturas posteriores; pasados dos días, realizar recuentos preliminares en cualquier placa que se pueda distinguir las colonias.

(Continúa)

7.10 A los cinco días, seleccionar las placas que presenten entre 10 y 150 colonias y contarlas sin el auxilio de lupas. A veces pueden desarrollarse colonias pequeñas, éstas son de bacterias acidófilas y, por tanto, deben excluirse del recuento. Las colonias de levaduras deben ser comprobadas por examen microscópico

7.11 Contar las colonias de mohos y levaduras en conjunto o separadamente. Si las placas de todas las diluciones contienen más de 150 colonias, contar en las placas inoculadas con la menor cantidad de muestra.

7.12 Cálculos

7.12.1 *Cálculo del número (N) de unidades propagadoras (UP) de mohos y/o levaduras por centímetro cúbico ó gramo de muestra.* Calcular según la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\text{número total de colonias contadas o calculadas}}{\text{cantidad total de muestra sembrada}}$$

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

Donde:

$\sum C$ = suma de las colonias contadas o calculadas en todas las placas elegidas;

n_1 = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada;

n_2 = número de placas contadas de la segunda dilución seleccionada;

d = dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos, por ejemplo 10^{-2} ;

V = volumen del inóculo sembrado en cada placa.

Ejemplo:

$$\begin{aligned} \text{Volumen sembrado} &= 1 \text{ cm}^3 \\ \text{Dilución } 10^{-2} &= 83 \text{ y } 97 \text{ colonias} \\ \text{Dilución } 10^{-3} &= 33 \text{ y } 28 \text{ colonias} \\ \text{Número} &= \frac{83 + 97 + 33 + 28}{1(2 + 0,1 \times 2)10^{-2}} \\ &= \frac{241}{0,022} \\ &= 10\ 954 \text{ expresado como } 1,1 \times 10^4 \end{aligned}$$

7.12.2 *Redondeo.* El valor obtenido redondear a dos cifras significativas de la siguiente manera (NTE INEN 52):

7.12.2.1 Si el tercer dígito, empezando por la izquierda es menor de cinco, mantener inalterado el segundo dígito y reemplazar por ceros los restantes. Por ejemplo, si el valor calculado fuere 553 000, redondeado a 550 000 y expresar como $5,5 \times 10^5$. Si el tercer dígito, empezando por la izquierda es superior a cinco, añadir una unidad al segundo dígito; por ejemplo, si el valor obtenido fue 10 954, redondearlo a 11 000 y expresar $1,1 \times 10^4$.

(Continúa)

7.12.2.2 Si el tercer dígito empezando por la izquierda es cinco y es seguido de, por lo menos, un dígito, añadir una unidad al segundo dígito y reemplazar por ceros a los restantes. Por ejemplo, si el valor obtenido fue 31 554, redondearlo a 32 000 y expresar como $3,2 \times 10^4$. Si el tercer dígito es cinco y no es seguido de otro (s) dígito (s) ó lo es únicamente por ceros, añadir una unidad al segundo dígito, si éste es impar; si es par ó cero conservarlo inalterado, ejemplo: 235 redondear a 240 y expresar como $2,4 \times 10^2$, 24 500 redondear a 24 000 y expresar como $2,4 \times 10^4$.

7.12.3 Presentación de resultados

7.12.3.1 Presentar el resultado como número, N, de unidades propagadoras UP de mohos y/o levaduras /cm³ ó g de muestra utilizando solo dos cifras significativas multiplicadas por 10^x (x es la respectiva potencia de 10). Las cifras significativas corresponden al primero y segundo dígitos (empezando por la izquierda) del número de las colonias calculadas (7.12.1).

7.12.3.2 Si no hay desarrollo de colonias en las placas de la suspensión 10⁻¹, presentar como número estimado (N_e), de la siguiente forma:

$$N_e \text{ de UP de mohos y/o levaduras/cm}^3 \text{ ó g} = < 1,0 \times 10^1$$

7.12.3.3 Si no hay desarrollo de colonias en las placas sembradas con 1 cm³ de muestra no diluida (producto original líquido), expresar el resultado de la siguiente manera:

$$N_e \text{ de UP de mohos y/o levaduras/cm}^3 = < 1,0 \times 10^0$$

7.12.3.4 Si todas las placas sembradas presentan más de 150 colonias, calcular el resultado a partir de las placas sembradas con la dilución más alta y expresar de la siguiente manera:

$$N_e \text{ de UP de mohos y/o levaduras/cm}^3 \text{ ó g} = > \text{ al valor obtenido } \times f$$

f = factor de dilución (valor inverso de la dilución de la muestra).

Indicar entre paréntesis la dilución utilizada. Este resultado sirve como guía para decidir el número de diluciones que se han de realizar en ensayos posteriores y, la decisión de aceptación o rechazo de una partida de alimentos debe basarse solo en valores N.

8. PRECISIÓN DEL MÉTODO

8.1 Repetibilidad del recuento de colonias y error personal.

8.1.1 Los resultados obtenidos por la misma persona al contar por segunda vez las colonias de una misma placa, no deben variar en más del 5% y del 10% cuando es realizado por otra persona.

8.1.2 Por razones estadísticas, el intervalo de confianza para este método varía, en el 95% de los casos, desde ± 16% a ± 52%. En la práctica, es posible observar variaciones mayores, especialmente entre resultados obtenidos por diferentes analistas.

(Continúa)

9. INFORME DEL ENSAYO

9.1 En el Informe del ensayo indicar la norma de referencia, la temperatura de incubación, los resultados obtenidos, todas las condiciones operativas no especificadas en esta norma o aquellas consideradas como opcionales y los incidentes que puedan haber influenciado en el resultado. Además, se debe incluir toda la información necesaria para la completa identificación de la muestra

(Continua)

**ANEXO N° 20 INFORME DE RESULTADOS DE DETERMINACIÓN DE CALCIO
(Ca) EN EL NÉCTAR DE GUATILA (*Secium edule*)**

 LABCESTTA Tecnología & Soluciones SGC	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Teléf.: (03)2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR
---	--

INFORME DE ENSAYO No:	2431
ST:	13-92 ANÁLISIS DE ALIMENTOS
Nombre Peticionario:	NA
Atn.	Adriana Cando
Dirección:	Cdla. Sixto Duran
FECHA:	21 de Noviembre del 2013
NUMERO DE MUESTRAS:	1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:	2013 / 11/ 13 – 13:00
FECHA DE MUESTREO:	2013 / 11/ 13 – 07:30
FECHA DE ANÁLISIS:	2013/ 11/ 13 – 2013 /11 / 21
TIPO DE MUESTRA:	Nectar
CÓDIGO LABCESTTA:	LAB-Alm 204-13
CÓDIGO DE LA EMPRESA:	NA
PUNTO DE MUESTREO:	Facultad de ciencias
ANÁLISIS SOLICITADO:	Calcio
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA:	Adriana Cando
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS:	T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C

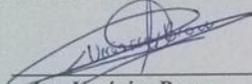
RESULTADOS ANALÍTICOS:

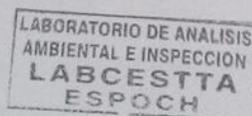
PARÁMETRO	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE PERMISIBLE
Calcio	PEE/LABCESTTA/174 EPA 200.7/ EPA 3015a ICP	mg/L	135,60	-

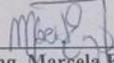
OBSERVACIONES:

- Muestra receptada en laboratorio.

RESPONSABLES DEL INFORME:


 Ing. Verónica Bravo
 RESPONSABLE TÉCNICO




 Ing. Marcela Erazo
 JEFE DE LABORATORIO

ANEXO N° 21 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLÉMICA DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE 2013.



FOTOGRAFÍA N° 29 AMBIENTACIÓN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES



FOTOGRAFÍA N° 30 INDUCCIÓN DE LA PATOLOGÍA



FOTOGRAFÍA N° 31 TOMA DE PESOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



FOTOGRAFÍA N° 32 ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL DE LA SOLUCIÓN DE ATORVASTATINA Y NÉCTAR DE GUATILA (Sechium edule)



Tabla de Resultados	<p>De colesterol por debajo de 130 mg / dL (3,3 mmol / L) = LO *</p> <p>De colesterol entre 130 mg / dL (3,3 mmol / L) y 400 mg / dL (10,2 mmol / L) = el resultado numérico</p> <p>De colesterol por encima de 400 mg / dL (10,2 mmol / L) de la pantalla = HI **</p> <p>* Repita la prueba.</p> <p>** Estos resultados significan que la concentración de triglicéridos en la muestra es muy elevado y supone un riesgo grave. Avise de inmediato un médico.</p>
Valores de colesterol	<p>Menos de 200 mg / dL (5,1 mmol / L) = los valores deseables</p> <p>De 200 mg / dL (5,1 mmol / L) a 239 mg / dL (6,1 mmol / L) = factor de alto riesgo</p> <p>Mayor o igual a 240 mg / dL (6,1 mmol / L) = colesterol alto</p> <p>Los resultados analíticos han de comunicarse a su Médico.</p> <p>El auto-control puede ser útil para su Médico a fin de formular un diagnóstico.</p>



FOTOGRAFÍA N° 33 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE COLESTEROL TOTAL

ANEXO N° 22 TABLA DE VALORACIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA

SIGNO	VALORACIÓN			SIGNO	VALORACIÓN		
	A	N	D		A	N	D
Actividad general	8	4	0	Reflejo pineal	8	4	0
Grito	8	4	0	Tremores	8	4	0
Irritabilidad	8	4	0	Convulsiones	8	4	0
Respuesta al toque	8	4	0	Estimulaciones	8	4	0
Huida	8	4	0	Hipnosis	8	4	0
Contorsiones	8	4	0	Anestesia	8	4	0
Patas posteriores	8	4	0	Lagrimación	8	4	0
Enderezamiento	8	4	0	Ptosis	8	4	0
Tono corporal	8	4	0	Micción	8	4	0
Actividad prensil	8	4	0	Defecación	8	4	0
Ataxia	8	4	0	Hipotermia	8	4	0
Piloerección	8	4	0	Cianosis	8	4	0
Respiración	8	4	0	Muerte	8	4	0

A = AUMENTADO N = NORMAL D = DISMINUIDO

ANEXO N° 23 FÓRMULA PARA OBTENER DL50

$$DL_{50} = D_f \frac{\sum(a \times b)}{n}$$

Donde:

DL₅₀ = Dosis letal media.

D_f = Primera dosis que mata a todos los animales de un grupo.

a = Suma de muertes de dos lotes consecutivos.

b = Diferencia entre dosis consecutivas entre lotes, expresada en mg.

n = Número de animales por lote.

**ANEXO N° 24 EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL NÉCTAR DE GUATILA
(*Sechium edule*)**

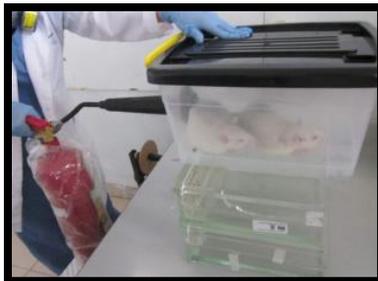


**FOTOGRAFÍA N° 34 ADMINISTRACIÓN ORAL DE LA CONCENTRACIÓN
MÁXIMA DEL NÉCTAR DE GUATILA 4g/Kg**

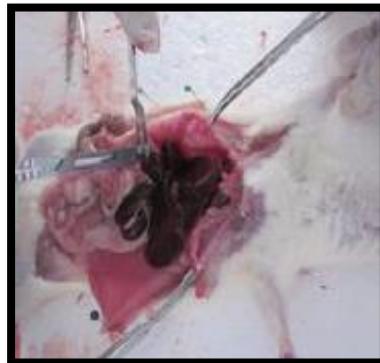




FOTOGRAFÍA N° 35 OBSERVACIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD



FOTOGRAFÍA N° 36 EUTANASIA CON CO2



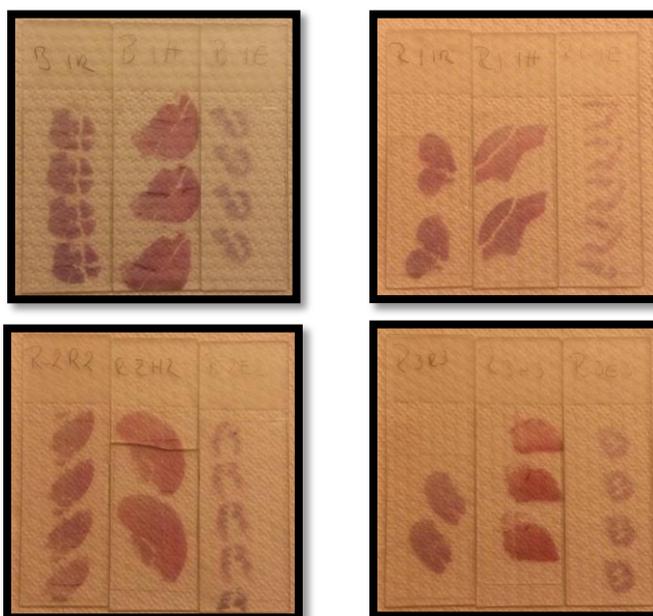
FOTOGRAFÍA N° 37 DISECCIÓN DE RATAS



FOTOGRAFÍA N° 38 ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES DE LOS 4 GRUPOS EN FORMOL 10%



FOTOGRAFÍA N° 39 CORTES HISTOLÓGICOS DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑÓN



FOTOGRAFÍA N° 40 PLACAS PARA EL EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DEL ESTÓMAGO, HÍGADO Y RIÑONES.

ANEXO N° 25 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DEL COLESTEROL TOTAL DE RATAS (*Rattus norvegicus*) CON LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

CONTROL NEGATIVO(PATOLOGÍA)						
	Colesterol inicial	1hora	3horas	6horas	144 horas	D. C
RATA1	144	144	144	144	145	-1
RATA2	137	137	137	137	137	0

RATA3	147	147	147	147	149	-2
PROMEDIO	142,6666667	142,6666667	142,6666667	142,6666667	143,6666667	-1
D.S	5,131601439	5,131601439	5,13160144	5,13160144	6,110100927	
CONTROL POSITIVO						
	Colesterol inicial	1hora	3horas	6horas	144 horas	D.C
RATA1	152	147	142	131	98	54
RATA2	147	141	138	130	95	52
PROMEDIO	149,5	144	140	130,5	96,5	53
D.S	3,535533906	4,242640687	2,82842712	0,70710678	2,121320344	
rata3: eutanacia x tumor y ceguera						
GRUPO EXPERIMENTAL [1g/kg]						
	Colesterol inicial	1hora	3horas	6horas	144 horas	D.C
RATA1	136	134	131	-	120	16
RATA2	135	132	131	-	121	14
RATA3	132	131	129	-	118	14
PROMEDIO	134,3333333	132,3333333	130,3333333	-	119,6666667	14,666
D.S	2,081665999	1,527525232	1,15470054	-	1,527525232	
GRUPO EXPERIMENTAL [2g/kg]						
	Colesterol inicial	1hora	3horas	6horas	144 horas	D.C
RATA1	144	138	132	-	115	29
RATA2	150	147	135	-	118	32
RATA3	141	136	130	-	112	29
PROMEDIO	145	140,3333333	132,3333333	-	115	30
D.S	4,582575695	5,859465277	2,51661148	-	3	
GRUPO EXPERIMENTAL [4g/kg]						
	Colesterol inicial	1hora	3horas	6horas	144 horas	D.C
RATA1	159	145	134	-	106	53
RATA2	152	142	130	-	102	50
RATA3	156	146	132	-	99	57
PROMEDIO	155,6666667	144,3333333	132	-	102,3333333	53,333
D.S	3,511884584	2,081665999	2	-	3,511884584	

D.C: DIFERENCIA DE COLESTEROL

ANEXO N° 26 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DEL PESO CORPORAL DE RATAS (*Rattus norvegicus*) CON LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*).

CONTROL NEGATIVO							
	12.dic	13-dic	14-dic	16-dic	17-dic	18-dic	D.W
RATA1	377,5	377,6	381,9	382,9	385,4	388,6	-11,1
RATA2	402,3	406,2	407,9	410	419,2	419,6	-17,3

RATA3	415,9	416,3	417	418,5	420,1	421,2	-5,3
PROMEDIO	398,566667	400,033333	402,266667	403,8	408,233333	409,8	-11,2
D.S	19,4703193	20,0734485	18,2154696	18,5922027	19,7793664	18,3771597	
CONTROL POSITIVO							
	12-dic	13-dic	14-dic	16-dic	17-dic	18-dic	D.W
RATA1	431	431	430,9	430,9	430,8	430,8	0,2
RATA2	399,9	399,9	399,8	399,7	399,7	399,6	0,3
PROMEDIO	415,45	415,45	415,35	415,3	415,25	415,2	0,25
D.S	21,9910209	21,9910209	21,9910209	22,0617316	21,9910209	22,0617316	
rata3: eutancia x tumor y ceguera							
GRUPO EXPERIMENTAL [1g/kg]							
	12.dic	13-dic	14-dic	16-dic	17-dic	18-dic	D.W
RATA1	409,3	409,1	409	408,9	408,8	408,6	0,7
RATA2	407,1	406,9	406,8	406,5	406,3	406,2	0,9
RATA3	373,9	373,8	373,6	373,5	373,2	373	0,9
PROMEDIO	396,766667	396,6	396,466667	396,3	396,1	395,933333	0,83
D.S	19,8336415	19,7759956	19,8336415	19,7818098	19,8713361	19,8970685	
GRUPO EXPERIMENTAL [2g/kg]							
	12.dic	13-dic	14-dic	16-dic	17-dic	18-dic	D.W
RATA1	400,9	400,4	399,2	398,7	398,1	397	3,9
RATA2	421,6	420,6	420,3	419,4	418,3	417,7	3,9
RATA3	385,2	384,9	379	376,1	374,4	371,9	13,3
PROMEDIO	402,566667	401,966667	399,5	398,066667	396,933333	395,533333	7,03
D.S	18,2571447	17,9014897	20,6516343	21,6569465	21,9732413	22,9351986	
GRUPO EXPERIMENTAL [4g/kg]							
	12.dic	13-dic	14-dic	16-dic	17-dic	18-dic	D.W
RATA1	420,8	407	406,3	405,8	405,1	404,3	16,5
RATA2	379,1	378,5	378	377,6	371,8	370	9,1
RATA3	388,5	385,1	385	384,7	383,5	382	6,5
PROMEDIO	396,133333	390,2	389,766667	389,366667	386,8	385,433333	10,7
D.S	21,8728904	14,9187801	14,7398553	14,6677651	16,8934899	17,4058419	

D.W: DIFERENCIA DE PESO

ANEXO N° 27 REGISTRO DE LAS MEDICIONES DEL PESO CORPORAL DE RATAS (*Rattus norvegicus*) EN EL ESTUDIO DE LA TOXICIDAD AGUDA.

PESO RATAS

	BLANCO	RATA 1	RATA 2	RATA 3	PROMEDIO	D.S
4.DICIEMBRE	341	377,5	364,6	368	362,775	15,5092177
7 DICIEMBRE	341,2	374,1	361,8	360,7	359,45	13,5986519
12 DICIEMBRE	341,5	371	358,3	353,4	356,05	12,2105146
13 DICIEMBRE	341,5	369	351	340	350,375	13,3377597
14 DICIEMBRE	341,6	367,9	348	339,1	349,15	13,0497765
16DICIEMBRE	341,8	366,7	346,7	338,6	348,45	12,6144097
17 DICIEMBRE	342	365,4	346,1	338	347,875	12,1423158
18 DICIEMBRE	342	363,1	342,1	337,3	346,125	11,5361389
DIFERENCIA DE PESO	-1	14,4	22,5	30,7	16,65	3,9730788

ANEXO N° 28 PRUEBA TUKEY DE LA CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL TOTAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*) EN LA ADMINSITRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO.

Datos1

HSD de Tukey

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
G.E 1g/Kg	3	134,3333		
Control -	3	142,6667	142,6667	
G.E 2g/Kg	3	145,0000	145,0000	145,0000
Control +	2		149,5000	149,5000
G.E 4g/Kg	3			155,6667
Sig.		,068	,330	,068

ANOVA de un factor

Descriptivos

Datos1

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
Control +	2	149,5000	3,53553	2,50000	117,7345	181,2655	147,00
G.E 1g/Kg	3	134,3333	2,08167	1,20185	129,1622	139,5045	132,00
G.E 2g/Kg	3	145,0000	4,58258	2,64575	133,6163	156,3837	141,00
G.E 4g/Kg	3	155,6667	3,51188	2,02759	146,9427	164,3907	152,00
Control -	3	142,6667	5,13160	2,96273	129,9191	155,4143	137,00
Total	14	145,1429	8,22620	2,19854	140,3932	149,8925	132,00

Descriptivos

Datos1

	Máximo
Control +	152,00
G.E 1g/Kg	136,00
G.E 2g/Kg	150,00
G.E 4g/Kg	159,00
Control -	147,00
Total	159,00

ANOVA de un factor

Datos1

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	739,214	4	184,804	11,838	,001
Intra-grupos	140,500	9	15,611		
Total	879,714	13			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Datos1

HSD de Tukey

(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control +	2.00	15,16667 [*]	3,60684	,015	3,0384	27,2949
	3.00	4,50000	3,60684	,726	-7,6283	16,6283
	4.00	-6,16667	3,60684	,474	-18,2949	5,9616
	5.00	6,83333	3,60684	,384	-5,2949	18,9616
G.E 1g/Kg	1.00	-15,16667 [*]	3,60684	,015	-27,2949	-3,0384
	3.00	-10,66667	3,22605	,054	-21,5145	,1812
	4.00	-21,33333 [*]	3,22605	,001	-32,1812	-10,4855
	5.00	-8,33333	3,22605	,155	-19,1812	2,5145
G.E 2g/Kg	1.00	-4,50000	3,60684	,726	-16,6283	7,6283
	2.00	10,66667	3,22605	,054	-,1812	21,5145
	4.00	-10,66667	3,22605	,054	-21,5145	,1812
	5.00	2,33333	3,22605	,946	-8,5145	13,1812
G.E 4g/Kg	1.00	6,16667	3,60684	,474	-5,9616	18,2949
	2.00	21,33333 [*]	3,22605	,001	10,4855	32,1812
	3.00	10,66667	3,22605	,054	-,1812	21,5145
	5.00	13,00000 [*]	3,22605	,019	2,1521	23,8479
Control -	1.00	-6,83333	3,60684	,384	-18,9616	5,2949
	2.00	8,33333	3,22605	,155	-2,5145	19,1812
	3.00	-2,33333	3,22605	,946	-13,1812	8,5145
	4.00	-13,00000 [*]	3,22605	,019	-23,8479	-2,1521

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

ANEXO N° 29 PRUEBA DE TUKEY DE LA CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL TOTAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*) EN LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO. UNA HORA DESPUÉS

ANOVA de un factor

Descriptivos

Datos2

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
1.00	2	144,0000	4,24264	3,00000	105,8814	182,1186	141,00
2.00	3	132,3333	1,52753	,88192	128,5388	136,1279	131,00
3.00	3	140,3333	5,85947	3,38296	125,7776	154,8891	136,00
4.00	3	144,3333	2,08167	1,20185	139,1622	149,5045	142,00
5.00	3	142,6667	5,13160	2,96273	129,9191	155,4143	137,00
Total	14	140,5000	5,78792	1,54689	137,1582	143,8418	131,00

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

Descriptivos

Datos2

	Máximo
1.00	147,00
2.00	134,00
3.00	147,00
4.00	146,00
5.00	147,00
Total	147,00

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

ANOVA de un factor

Datos2

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	282,833	4	70,708	4,168	,035
Intra-grupos	152,667	9	16,963		
Total	435,500	13			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Datos2

HSD de Tukey

(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1.00	2.00	11,66667	3,75976	,073	-,9758	24,3092
	3.00	3,66667	3,75976	,860	-8,9758	16,3092
	4.00	-,333333	3,75976	1,000	-12,9758	12,3092
	5.00	1,333333	3,75976	,996	-11,3092	13,9758
2.00	1.00	-11,66667	3,75976	,073	-24,3092	,9758
	3.00	-8,00000	3,36283	,206	-19,3078	3,3078
	4.00	-12,00000	3,36283	,037	-23,3078	-,6922
	5.00	-10,333333	3,36283	,076	-21,6411	,9745
3.00	1.00	-3,66667	3,75976	,860	-16,3092	8,9758
	2.00	8,00000	3,36283	,206	-3,3078	19,3078
	4.00	-4,00000	3,36283	,757	-15,3078	7,3078
	5.00	-2,333333	3,36283	,953	-13,6411	8,9745
4.00	1.00	,333333	3,75976	1,000	-12,3092	12,9758

	2.00	12,00000	3,36283	,037	,6922	23,3078
	3.00	4,00000	3,36283	,757	-7,3078	15,3078
	5.00	1,66667	3,36283	,986	-9,6411	12,9745
	1.00	-1,33333	3,75976	,996	-13,9758	11,3092
5.00	2.00	10,33333	3,36283	,076	-,9745	21,6411
	3.00	2,33333	3,36283	,953	-8,9745	13,6411
	4.00	-1,66667	3,36283	,986	-12,9745	9,6411

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Datos2

HSD de Tukey

grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
2.00	3	132,3333	
3.00	3	140,3333	140,3333
5.00	3	142,6667	142,6667
H1.00	2	144,0000	144,0000
4.00	3		144,3333
Sig.		,054	,786

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

ANEXO N° 30 PRUEBA TUKEY DE LA CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL TOTAL EN RATAS (*Rattus norvegicus*) EN LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO. TRES HORAS DESPUÉS.

ANOVA de un factor

Descriptivos

Datos3

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
1.00	2	140,0000	2,82843	2,00000	114,5876	165,4124	138,00
2.00	3	130,3333	1,15470	,66667	127,4649	133,2018	129,00
3.00	3	132,3333	2,51661	1,45297	126,0817	138,5849	130,00
4.00	3	132,0000	2,00000	1,15470	127,0317	136,9683	130,00
5.00	3	142,6667	5,13160	2,96273	129,9191	155,4143	137,00
Total	14	135,1429	5,70906	1,52581	131,8465	138,4392	129,00

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

Descriptivos

Datos3

	MAXIMO
1.00	142,00
2.00	131,00
3.00	135,00
4.00	134,00
5.00	147,00
Total	147,00

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

ANOVA de un factor

Datos3

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	339,714	4	84,929	9,099	,003
Intra-grupos	84,000	9	9,333		
Total	423,714	13			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Datos3

HSD de Tukey

(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1.00	2.00	9,66667	2,78887	,043	,2889	19,0445
	3.00	7,66667	2,78887	,122	-1,7111	17,0445
	4.00	8,00000	2,78887	,103	-1,3778	17,3778
	5.00	-2,66667	2,78887	,868	-12,0445	6,7111
2.00	1.00	-9,66667 [*]	2,78887	,043	-19,0445	-,2889
	3.00	-2,00000	2,49444	,924	-10,3877	6,3877
	4.00	-1,66667	2,49444	,959	-10,0544	6,7211
3.00	5.00	-12,33333 [^]	2,49444	,005	-20,7211	-3,9456
	1.00	-7,66667	2,78887	,122	-17,0445	1,7111
	2.00	2,00000	2,49444	,924	-6,3877	10,3877
	4.00	,33333	2,49444	1,000	-8,0544	8,7211
4.00	5.00	-10,33333 [^]	2,49444	,016	-18,7211	-1,9456
	1.00	-8,00000	2,78887	,103	-17,3778	1,3778

	2.00	1,66667	2,49444	,959	-6,7211	10,0544
	3.00	-,33333	2,49444	1,000	-8,7211	8,0544
	5.00	-10,66667*	2,49444	,013	-19,0544	-2,2789
	1.00	2,66667	2,78887	,868	-6,7111	12,0445
5.00	2.00	12,33333*	2,49444	,005	3,9456	20,7211
	3.00	10,33333*	2,49444	,016	1,9456	18,7211
	4.00	10,66667*	2,49444	,013	2,2789	19,0544

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Datos3

HSD de Tukey

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
2.00	3	130,3333		
4.00	3	132,0000	132,0000	
3.00	3	132,3333	132,3333	
1.00	2		140,0000	140,0000
5.00	3			142,6667
Sig.		,935	,078	,841

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

ANEXO N° 31 PRUEBA TUKEY DE LA CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL EN RATAS (*Rattus norvegicus*) EN LA ADMINISTRACIÓN DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*) COMO TRATAMIENTO HIPOCOLESTEROLÉMICO. 144 HORAS DESPUÉS

ANOVA de un factor

Descriptivos

Datos4

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
1.00	2	96,5000	2,12132	1,50000	77,4407	115,5593	95,00
2.00	3	119,6667	1,52753	,88192	115,8721	123,4612	118,00
3.00	3	115,0000	3,00000	1,73205	107,5476	122,4524	112,00
4.00	3	102,3333	3,51188	2,02759	93,6093	111,0573	99,00
Total	11	109,4545	9,71971	2,93060	102,9248	115,9843	95,00

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

Descriptivos

Datos4

	MÁXIMO
1.00	98,00
2.00	121,00
3.00	118,00
4.00	106,00
Total	121,00

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg; 5.00: Control -

ANOVA de un factor

Datos4

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	892,894	3	297,631	40,195	,000
Intra-grupos	51,833	7	7,405		
Total	944,727	10			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Datos4

HSD de Tukey

(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1.00	2.00	-23,16667	2,48408	,000	-31,3894	-14,9440
	3.00	-18,50000	2,48408	,001	-26,7227	-10,2773
	4.00	-5,83333	2,48408	,176	-14,0560	2,3894
2.00	1.00	23,16667	2,48408	,000	14,9440	31,3894
	3.00	4,66667	2,22183	,241	-2,6879	12,0213
	4.00	17,33333	2,22183	,000	9,9787	24,6879
3.00	1.00	18,50000	2,48408	,001	10,2773	26,7227
	2.00	-4,66667	2,22183	,241	-12,0213	2,6879
	4.00	12,66667	2,22183	,003	5,3121	20,0213
4.00	1.00	5,83333	2,48408	,176	-2,3894	14,0560
	2.00	-17,33333	2,22183	,000	-24,6879	-9,9787
	3.00	-12,66667	2,22183	,003	-20,0213	-5,3121

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Datos4

HSD de Tukey

grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1.00	2	96,5000	
4.00	3	102,3333	
3.00	3		115,0000
2.00	3		119,6667
Sig.		,149	,280

1.00: Control +; 2.00: G.E 1g/Kg; 3.00: G.E 2g/Kg; 4.00: G.E 4g/Kg

ANEXO N° 32 RESULTADOS DEL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL FRUTO FRESCO DE GUATILA (*Sechium edule*)

FRUTO GUATILA							
	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEÍNAS	E. ETÉREO	FIBRA	ELnN	PESO
FRUTO1	93,53	0,18	0,82	0,185	0,82	4,465	268,74
FRUTO 2	93,68	0,25	0,78	0,175	0,75	4,365	269,16
PROM	93,605	0,215	0,8	0,18	0,785	4,415	268,95
D.S	0,106066017	0,049497475	0,02828427	0,007071068	0,04949747	0,07071068	0,29698485

ANEXO N° 33 RESULTADOS DEL ANÁLISIS FÍSICO Y BROMATOLÓGICO DEL NÉCTAR DE GUATILA (*Sechium edule*)

NÉCTAR DE GUATILA			
	pH	DENSIDAD	SÓLIDOS TOTALES
NÉCTAR 1	3,88	1,0352	5,66
NÉCTAR 2	3,76	1,0359	5,69
PROMEDIO	3,82	1,03555	5,675
D.S	0,08485281	0,00049497	0,0212132

