



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
POSTGRADO EN BIOLOGÍA APLICADA
MENCION MICROBIOLOGÍA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, ESTABILIDAD FÍSICA-QUÍMICA-
BACTERIOLÓGICA Y ACEPTACIÓN SENSORIAL DEL PRODUCTO NATURAL
PAV-L

(Modalidad: Tesis de Grado)

Lcda. Licet Carolina Villamizar Díaz

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al Título de
Magister Scientiarum en Biología Aplicada, Mención Microbiología.

Cumaná, Junio 2023



VICERRECTORADO ACADÉMICO
 CONSEJO DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
 NÚCLEO DE SUCRE
 POSTGRADO EN BIOLOGÍA APLICADA

Nº: 01 /2023

ACTA DE DEFENSA DE TRABAJO DE GRADO

Nosotros, Dra. Ysabel Campos S., Dra Lorena Abadía Patiño y M.Sc. Hernando Herrera, integrantes del Jurado designado por la Coordinación de Estudios de Postgrado del Núcleo de Sucre, para examinar el Trabajo de Grado intitulado: "Actividad antibacteriana y estabilidad físico-química-bacteriológica, y aceptación sensorial del producto natural P4o-L" presentado por la Leda, Licet Carolina Villamizar Díaz con cédula de identidad N° 19.893.998, a los fines de cumplir con el requisito legal para optar al grado de: Magíster Scientiarum en Biología Aplicada, Mención Microbiología, hacemos constar que hemos examinado el mismo e interrogado al postulante en sesión pública celebrada hoy, 14 de julio a las 9:00 A.M., en las instalaciones del edificio de Rectorado II. Finalizada la defensa del trabajo por parte del Postulante, el Jurado decidió APROBADO por considerar, sin hacerse solidario de las ideas expuestas por el autor que el mismo SE ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado de la Institución.

En fe de lo anterior se levanta la presente Acta, que firmamos conjuntamente con la Coordinadora del Postgrado de: NÚCLEO DE SUCRE.

En la ciudad de: Camaná, a los catorce (14) días del mes de julio de 2023.

Jurado Examinador:

Dra. Ysabel Campos Santaella (Tutor)

Dra. Lorena Abadía Patiño

M.Sc. Hernando Herrera

Coordinadora de Estudios de Postgrado del Núcleo de Sucre:
 Dra. Sheyla Isabel Aranda de Marcano



ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	14
Condiciones generales para el desarrollo de la investigación	15
Estabilidad físico-química del producto natural pav-l	15
Determinación del pH	15
Porcentaje de humedad (% H)	16
Contenido de fibra cruda (%FC)	17
Porcentaje de cenizas por el método de incineración directa (% C)	17
Contenido de lípidos totales (% L).....	18
Contenido de proteínas (% P)	20
Detección de Cloruros y Bromuros (Cl y Br).....	22
Detección de azúcares reductores (A _R).....	23
Determinación del nitrógeno básico volátil total (% NBVT)	24
Determinación de la densidad (D)	25
Determinación del Índice de acidez (Ia).....	26
Determinación del Índice de peróxido (Ip)	26
Estabilidad bacteriológica	27
Determinación de aerobios mesófilos y psicrófilos	28
Determinación de coliformes totales y fecales.....	29
Detección de <i>Escherichia coli</i>	29
Detección de <i>Salmonella</i> sp.	29
Detección de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
Detección de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Análisis sensorial	30
Espectros de infrarrojo (ftir) en el producto natural pav-l	31

Detección de la actividad antibacteriana.....	32
Método Cualitativo o de difusión en placas (MDP)	33
Método cuantitativo o concentración mínima inhibitoria (CMI).....	35
Perfil de sensibilidad a los antibióticos	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES	89
RECOMENDACIONES.....	91
BIBLIOGRAFÍA	92
ANEXOS	107
HOJAS DE METADATOS	108

DEDICATORIA

A:

Dios todopoderoso, por darme la fuerza para superar todos los obstáculos durante la realización de mis estudios de postgrado, y por guiar mis pasos por el camino de crecimiento personal y académico, permitiéndome alcanzar así esta meta, que, segura estoy, me abrirá las puertas hacia nuevas oportunidades.

... mis padres, Asunción Villamizar y Belkys Díaz, por su amor, constancia y dedicación en todo momento, especialmente al principio de mi carrera, también por su paciencia, empeño y motivación para continuar, a pesar de las múltiples adversidades que se me presentaron en el camino. Nunca serán suficientes las palabras para agradecerles su lucha por salir adelante y por los valores morales que me inculcaron, los cuales me ayudaron a descubrir fortalezas que ignoraba tenía, desarrollar algunos talentos escondidos y reconocer mis debilidades y limitaciones.

... mis hermanas, Karina y Andreina, por apoyarme tanto, no solo con sus consejos que contribuyeron a mejorar mi perfil profesional, sino por estar conmigo en los momentos más duros, alegrándose y dándome ánimos, en situaciones de angustia y desesperanza, cuando más lo necesité; las amo infinitamente y las admiro mucho.

... mí persona, por resistir los embates de la tormenta, que me fortalecieron, brindándome más confianza en mí misma, gracias a la adquisición de nuevos y más complejos conocimientos, los cuales son y serán herramientas de gran utilidad para el desarrollo de mi formación profesional y personal.

AGRADECIMIENTOS

A

la Universidad de Oriente, especialmente a los laboratorios de Farmacognosia, Microbiología y Ciencia de los materiales, por ofrecerme todas las herramientas y recursos materiales y humanos para desarrollar mi trabajo de investigación; el espacio universitario ha complementado mi educación académica y personal, dándome una perspectiva real de la vida.

... la Dra. Ysabel Campos-Santaella por ofrecer su apoyo incondicional, confianza, paciencia, dedicación, permanente motivación y, sobre todo, por siempre ir más allá del deber, guiándome con su sabiduría y valores humanos acumulados a través de sus años de estudios, investigación, experiencia de vida y extensa trayectoria en docencia e investigación, enriqueciendo mi formación académica y personal, orientadas a nuevos retos y a alcanzar metas con éxito.

... Dr. Govind Rhadarajan, Prof. Investigador en la “School of Pharmaceutical Sciences at Arulmigu Kalasalingam College of Pharmacy” y miembro Ejecutivo de la Corporación “Global Pharmaceuticals L.T.D”, Ludlow India, quien solicitó investigar la estabilidad física-química y bacteriológica del producto terminado PAV-L, y su nivel de aceptación ante el consumidor; así como sus consejos y guía, elementos esenciales en esta investigación.

... los Dres. Hernando Herrera Mata, Vilma Lanza Castillo y William Henríquez, por sus meritorias observaciones y constantes sugerencias a mi proyecto de investigación, elevando la calidad del mismo, en especial, bajo las circunstancias extraordinarias de salud y situación país, que afectaron mi desempeño. Su apoyo fue inconmensurable.

... el Dr. Simón Barreto y todo el personal del Laboratorio de Microbiología de los Alimentos de la Universidad Politécnica Territorial del Oeste de Sucre, Dr. Clodosbaldo Russián, quienes, gracias a su generosidad, dedicación, asesoría y apoyo incondicional, hicieron posible la realización de los análisis físico-químicos del Producto PAV-L. Eternamente agradecida.

... los Dres. Benjamín Hidalgo Prada†, Blanca Rojas de Gascue y Arnaldo Ramírez, adscritos al Departamento de Ciencia de los materiales, Laboratorio de Polímeros, pertenecientes del Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas “Susan Tai” (IIBCA-UDO) por su dedicación, consejos e invaluable apoyo en la preparación de las muestras, procesamiento, desarrollo, lectura e interpretación de la data en el análisis espectroscópico FTIR del producto PAV-L. Infinitas gracias.

... el personal del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, en especial a la Lic. Dianny Martínez, por darme acceso a las

instalaciones a su cargo, uso de los materiales y equipos necesarios para los análisis bacteriológicos, objetivo fundamental de mi trabajo de grado. Por siempre agradecida.

... todos los profesores del Postgrado en Biología Aplicada, especialmente a las doctoras Sonia Nusetti, Mariolga Berrizbeitia, Lorena Abadía-Patiño, Militza Guzmán y María Zulay Sulbarán, quienes me brindaron sus conocimientos, tiempo y ayuda, contribuyendo en gran medida a mi formación académica. Mil gracias.

... mi entrañable amigo, Héctor Mariña, cuya amistad y oportunos consejos, me dieron la fuerza, valor y entusiasmo que requería a cada paso: gracias por ser tan solidario conmigo, siempre estarás en mi mente y corazón, a pesar de la distancia. Te quiero muchísimo.

... mis compañeros de estudio, de quienes he recibido siempre todo el cariño y ayuda que he necesitado, también por permanecer junto a mí en las buenas y malas, dándome ese apoyo vital en mis momentos angustia y debilidad para seguir avanzando, a pesar de las numerosas dificultades. Los llevo en el corazón.

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Especies bacterianas utilizadas como modelos de actividad antibacteriana para el producto natural PAV-L.	33
Tabla II. Valores promedio de pH obtenidos a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	37
Tabla III. Porcentajes de humedad obtenidos a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	38
Tabla IV. Contenido porcentual de fibra cruda obtenida a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E ₀ -E ₆).	39
Tabla V. Porcentaje de cenizas obtenidos por el método de incineración directa a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	40
Tabla VI. Contenido porcentual de lípidos en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	41
Tabla VII. Contenido porcentual de proteínas en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	42
Tabla VIII. Detección de cloruros y bromuros en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	44
Tabla IX. Detección de azúcares reductores en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	44
Tabla X. Contenido porcentual de nitrógeno básico volátil total para el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	45
Tabla XI. Valores promedio de densidad para el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	46
Tabla XII. Índice de acidez en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	46
Tabla XIII. Valores porcentuales del índice de peróxido del producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	47
Tabla XIV. Análisis de la estabilidad bacteriológica del producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).	48
Tabla XV. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica olor, expresada como media y desviación estándar, obtenidos a partir de los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E ₀ - E ₆).	52
Tabla XVI. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica color, expresada como media y desviación estándar, obtenidos a partir de los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E ₀ - E ₆).	54
Tabla XVII. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica sabor, expresada como media y desviación estándar, obtenidos a partir de los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E ₀ - E ₆).	56
Tabla XVIII. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica textura, expresada como media y desviación estándar, obtenido a partir de	

los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E ₀ – E ₆).	58
Tabla XIX. Actividad antibacteriana del producto PAV-L (AA), frente a las especies patógenas en humanos, durante las diferentes etapas de la investigación (E ₀ – E ₆).	76
Tabla XX. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del producto PAV-L obtenida durante las etapas E ₀ y E ₂ , utilizando bacterias patógenas en humanos, como modelo de actividad antibacteriana.	77
Tabla XXI. Perfil de sensibilidad a los antibióticos comerciales específicos para la especie <i>Staphylococcus aureus</i> , utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.	82
Tabla XXII. Actividad antibacteriana del producto PAV-L frente a la especie <i>Staphylococcus aureus</i> , utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación. .	82
Tabla XXIII. Perfil de sensibilidad a los antibióticos comerciales específicos para la especie <i>Escherichia coli</i> , utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.	84
Tabla XXIV. Actividad antibacteriana del producto PAV-L frente a la especie <i>Escherichia coli</i> , utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.	84
Tabla XXV. Perfil de sensibilidad a los antibióticos comerciales específicos para la especie bacteriana <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.	86
Tabla XXVI. Actividad antibacteriana del producto PAV-L frente a la especie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.	86

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1.- Sistema de extracción Soxhlet	20
Fig. 2.- Método de Kjeldahl: A : Digestión de la muestra; B : Destilación.....	21
Fig. 3. Detección de la presencia de bacterias aerobias mesófilas del producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).....	49
Fig. 4. Detección de la presencia de bacterias aerobias psicrófilas del producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E ₀ - E ₆).....	50
Fig. 5. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica olor, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAV-L.....	53
Fig. 6. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica color, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAV-L.....	55
Fig. 7. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica sabor, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAV-L.....	57
Fig. 8. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica textura, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAV-L.	59
Fig. 9. Análisis sensorial de las características organolépticas del producto PAV-L, durante la etapa inicial (E ₀).....	60
Fig. 10. Análisis sensorial del producto PAV-L, durante la etapa (E ₂).	61
Fig. 11. Análisis sensorial del producto PAV-L, durante la etapa inicial (E ₄).....	62
Fig. 12. Análisis sensorial del producto PAV-L, durante la etapa inicial (E ₆).	63
Fig. 13. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E ₀	67
Fig. 14. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E ₂	68
Fig. 15. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E ₄	70
Fig. 16. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E ₆	71
Fig. 17. Actividad antibacteriana del producto natural PAV-L contra la especie <i>Staphylococcus aureus</i>	83
Fig. 18. Actividad antibacteriana del producto natural PAV-L contra la especie <i>Escherichia coli</i>	85
Fig. 19 Actividad antibacteriana del producto natural PAV-L contra la especie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	87

LISTA DE ABREVIATURAS

A	:	Volumen de licor de Fehling gastado
AA	:	Actividad antibacteriana
ABS	:	Agar bismuto sulfito
ABRV	:	Agar bilis rojo violeta
AC	:	Agar Cetrimida
AE	:	Aceites esenciales
ABP	:	Agar Baird-Parker
ACS	:	Agar Citrato de Simmons
AgNO ₃	:	Nitrato de plata
AM	:	Agar movilidad
AMC	:	Agar Mc Conkey
AMH	:	Agar Müeller-Hinton
AP	:	Agua peptonada
APA	:	Agua peptonada alcalina
APs	:	Agar <i>Pseudomonas</i>
ASS	:	Agar <i>Salmonella-Shigella</i>
CaCl ₂	:	Cloruro de calcio
CBVB	:	Caldo Bilis Verde Brillante
CEC	:	Caldo <i>Escherichia coli</i>
CL	:	Caldo lactosado
CMH	:	Caldo Müeller-Hinton
CMI	:	Concentración mínima inhibitoria
CP	:	Caldo <i>Pseudomonas</i>
CST	:	Caldo soya tripticasa
Cl ⁻	:	Cloruro
CO ₃ ⁼	:	Carbonato
DMSO	:	Dimetilsulfóxido

EMB	:	Agar Eosina azul de metileno
FTIR	:	Espectro infrarrojo por transformación de Fourier [según siglas en inglés, Fourier Transformed Infra Red]
HCO ₃ ⁻	:	Bicarbonato
H ₂ SO ₄	:	Ácido sulfúrico
KBr	:	Pastillas de bromuro de potasio
K ₂ CrO ₄	:	Dicromato de potasio
MgO	:	Óxido de magnesio
MRB	:	Mecanismos de resistencia bacteriana
MIR	:	Infrarrojo medio
NBVT	:	Nitrógeno básico volátil total
NIR	:	Infrarrojo cercano
NaOH	:	Hidróxido de sodio
PCA	:	Agar para contaje en placas
PDA	:	Agar papa dextrosa
RAM	:	Resistencia a los antimicrobianos
RM	:	Rojo de Metilo
SMAC	:	Agar Sorbitol Mac Conkey
SO ₄	:	Sulfatos
SP	:	Solución patrón
TSI	:	Agar Hierro y 3 azúcares
VP	:	Voges Proskauer
XLD	:	Agar xilosa lisina Desoxicolato

RESUMEN

PAv-L es un alimento funcional elaborado a base de extractos naturales de origen vegetal. Durante más de una década, este producto natural ha demostrado una notable actividad antiinflamatoria, aliviando diversas afecciones, tales como: migraña crónica, dolor muscular, artritis, inflamación ovárica y prostática (displasia e hiperplasia). En consecuencia, la presente investigación planteó: Evaluar la actividad antibacteriana, estabilidad física-química-bacteriológica y aceptación sensorial del producto natural PAV-L. Los parámetros físico-químicos (pH, Humedad, Fibra Cruda, %Ceniza, L, %Nitrógeno, Cloruros y Bromuros, A_R, NBVT, Densidad, I acidez e I peróxido), se determinaron siguiendo los métodos de Cruz (2015), Hernández (2018) y Arroyave (2017). La estabilidad y confirmación bacteriológica se analizaron, aplicando técnicas microbiológicas convencionales (Koneman *et al.*, 2008). La actividad antibacteriana, el perfil de sensibilidad a los antibióticos y la concentración mínima inhibitoria (CMI) del producto, se determinaron según la metodología descrita por Kirby-Baüer (1966), utilizando las especies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, como modelos de bioactividad. Adicionalmente, se realizó el análisis sensorial para cuantificar el grado de aceptación del producto (Hernández, 2015). Todos los análisis se ejecutaron siguiendo etapas preestablecidas: Etapa inicial (E₀), dos meses (E₂), cuatro meses (E₄) y seis meses (E₆). Los parámetros físico-químicos [pH= 5,28; % Humedad= 64,20; % Fibra Cruda= 7,75; % Ceniza= 1,65; % Lípidos= 8,54; % P= 4,89; % Nitrógeno= 0,78; Densidad= 0,920 e Índices de acidez= 0,09 y peróxido= 2,51, así como la presencia de cloruros, bromuros y los azúcares reductores= lactosa, sacarosa y galactosa, se mantuvieron casi constantes, confirmando que no existe variación significativa en la composición del producto durante el período considerado; así mismo, el análisis bacteriológico demuestra que PAV-L mantiene su inocuidad bacteriológica, durante las distintas etapas de investigación. Los espectros de infrarrojo corroboraron la presencia de dobles enlaces del tipo: C=O, C=C, enlaces sencillos C-O, C-N y grupos hidroxilos (-OH) indicando la presencia de grupos funcionales característicos de familias químicas de comprobada actividad biológica como: aceites esenciales, compuestos azufrados, flavonoides, entre otros. Los resultados de actividad antibacteriana revelan que solo las especies *S. aureus* (11 ± 0,2 mm) y *E. coli* (26 ± 0,3 mm) son susceptibles a la acción del producto hasta la E₂, mientras que *Pseudomonas aeruginosa*, no desarrolló halos de inhibición en ninguna de las etapas evaluadas. El análisis sensorial también evidencia una buena aceptación del producto en relación a sus características organolépticas. Los resultados indican que PAV-L posee una alta estabilidad física-química y bacteriológica, la cual es consistente durante el período estudiado; PAV-L, además de mantener su composición y aceptación sensorial, garantiza la vida útil del producto, su inocuidad bacteriológica, la continuidad de cualidades organolépticas durante el período estudiado. Se concluye que PAV-L reúne importantes propiedades que lo perfilan como un excelente candidato para uso terapéutico como alimento funcional.

INTRODUCCIÓN

La sabia naturaleza dotó a las plantas con un enorme arsenal de compuestos bioactivos cuyas propiedades han sido aprovechadas desde épocas que se remontan a la aparición del ser humano sobre la faz de la tierra; ofreciendo una fuente natural de compuestos capaces de curar una gran variedad de enfermedades. Gracias a ello, el conocimiento etnobotánico de las especies ha evolucionado en el tiempo según las necesidades y eficacia para aliviar o curar ciertas enfermedades; lo cual, a la vez, ha contribuido a incrementar, conservar y difundir estos conocimientos por generaciones (Bhat, 1985; Nates, 2006; Cordell, 2007; Cragg y Newman, 2016; Sabini *et al.*, 2019). Se estima que el 80% de los habitantes de países poco desarrollados, son pioneros en la medicina tradicional, a través de productos elaborados, principalmente a partir de plantas (Campos-Santaella, 1999 y 2006; Schlaepfer y Espinoza, 2010; Sabini *et al.*, 2019).

Las distintas partes de las plantas (hojas, tallos, raíces, flores y frutos) son ricas en principios activos, los cuales, administrados en dosis adecuadas, mejoran o ayudan a contrarrestar enfermedades que afectan a los seres humanos, animales e incluso a las plantas (Bhat, 1981; Albornoz, 1997; Campos-Santaella, 1999; Bonells, 2020); no obstante, existen ciertos riesgos en el uso de la fitoterapia popular, entre los cuales destacan el manejo de la dosis, composición y calidad del producto, pudiendo ocasionar daños temporales o permanentes de la salud (Angell y Kassirer, 1998; Schlaepfer y Espinoza, 2010). La ciencia contemporánea reconoce su acción activa y ha incluido una amplia gama de medicamentos de origen vegetal en la farmacoterapia moderna; de hecho, la riqueza e importancia de esta información etnobotánica es hoy día considerada patrimonio de la humanidad (Sabini *et al.*, 2019; Bonells, 2020).

En cuanto a los principios responsables de la actividad biológica, existe una gran variedad de ellos, pertenecientes a distintas familias químicas, como: antraquinonas, fenoles, cumarinas, flavonoides, saponinas, polisacáridos, etc.; algunos ejercen uno o más tipos de actividad biológica, así por; ejemplo, pueden manifestar acción como

antimicrobianos (bacterias, hongos, virus, parásitos), antioxidantes, antiinflamatorios, citotóxicos y/o anticancerígenos, entre otros (Carles, 2013; Cragg y Newman, 2016).

La utilidad de productos naturales de origen vegetal, cobra mayor importancia al considerar el uso excesivo de ciertos fármacos, como medicamentos controlados (combinados o no con bebidas alcohólicas) analgésicos, antiinflamatorios, y, en especial, los antibióticos (OEA, 2011). El uso indiscriminado de éstos ha conducido a la aparición de mecanismos de resistencia bacteriana (MRB), generando graves problemas de salud pública en muchos países, y, además, tiene impacto en el costo-beneficio que implica tratar las diversas patologías, en humanos y animales, así como en las normas internacionales que rigen su uso (Rodríguez *et al.*, 2016; PAHO, 2021).

En la actualidad, la resistencia a los antimicrobianos (RAM) constituye una verdadera amenaza de salud pública, debido a que pone en peligro la eficacia en el tratamiento y prevención de una serie cada vez mayor de infecciones causadas por bacterias, hongos, parásitos y virus resistentes a menudo compromete el éxito de respuesta a los tratamientos de infecciones (cirugía mayor, quimioterapia, etc.), lo que conlleva altos costos de atención sanitaria, hospitalización prolongada y mayor riesgo de muerte; de allí, que se requiera la intervención de todos los sectores del gobierno y sociedad para evitar la entrada a una era “post-antibiótica”, donde los tratamientos contra infecciones se harán escasos o nulos (WHO, 2021). A pesar de los esfuerzos institucionales para disminuir el impacto de dicha resistencia, ésta continúa emergiendo y proliferando; así como lo demuestra, la resistencia de cepas bacterianas Gram negativas y Gram positivas a múltiples medicamentos (Sharma *et al.*, 2005) y el hecho de que cada 480 000 personas presentan TB multirresistente, y dicha farmacorresistencia complica la lucha contra el VIH y paludismo (PAHO, 2021).

Muchas especies de bacterias poseen información genética que codifican varios MRA en uso y también para aquellos que aún no han sido introducidos en aplicación clínica; es más, cuando carecen de estos mecanismos, tienen la capacidad de adquirirlos por

mutación o a través de transferencias de material genético (Quintana, 2010). *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* son solo algunos ejemplos entre las que afectan el sistema respiratorio (Moreno *et al.*, 2009; PAHO, 2021). En consecuencia, la búsqueda de sustancias bioactivas útiles, se ha reorientado hacia aquellos principios activos que ejercen una acción farmacológica definida, bien de forma individual o sinérgica, lo cual permite contrarrestar el creciente impacto de la resistencia de agentes patógenos y, a la vez, cubrir la urgencia de desarrollar nuevas y más efectivas terapias antimicrobianas (Campos-Santaella *com. pers.*).

Otro punto relevante en el uso de las plantas como fuentes de sustancias naturales es la proliferación de diversos tipos de cáncer dentro de las poblaciones. El cáncer, después de las afecciones cardiológicas, ocupa el segundo lugar de importancia en la causa de muerte en seres humanos. En las últimas décadas, su incidencia y diversidad ha incrementado significativamente a nivel mundial; generando también gran preocupación en salud pública (Campos-Santaella, 2006). De hecho, hace más de 40 años, el Instituto Nacional de Cáncer de EEUU (NCI, Frederick-Washington D.C.), estableció el uso bacterias certificadas, como modelos de actividad biológica o prueba estándar para aislar e identificar compuestos bioactivos (Baüer *et al.*, 1966; Baker *et al.*, 1995; Cragg *et al.*, 1997) y, años más tarde, un panel de líneas celulares cancerosas para determinar la citotoxicidad de estos compuestos, en la búsqueda de sustancias nuevas con potencial antibacteriano y anticancerígeno, respectivamente (Jing *et al.*, 2004; Campos-Santaella, 2018).

La actividad antibacteriana es usada como mecanismo coadyuvante, bien para potenciar la actividad del compuesto anticancerígeno que se evalúa o para facilitar su acceso al blanco de acción (Newman y Cragg, 2016). Entre los diversos tipos de afecciones cancerígenas existentes, el cáncer de seno y cáncer prostático, han adquirido mayor relevancia, considerando que afectan no solo la salud física de los individuos afectados sino también su estado mental; porque está asociado en forma directa a sus efectos sobre

la conducta y función sexual (Berríos y Ribero, 2015; Campos-Santaella, *com. pers.*).

Resulta evidente, que el uso de tecnologías de punta ha acelerado el estudio de sustancias bioactivas novedosas como los metalo-fármacos (Pizarro y Conesa, 2020) y el desarrollo de técnicas nuevas y muy sofisticadas que, incluso, permiten visualizar imágenes 3D del comportamiento de nanomoléculas y, así, seguir en vivo el movimiento de las sustancias activas a través del sistema desde que entra al sistema hasta llegar incluso al sitio blanco (Conesa *et al.*, 2021). Indudablemente, esto representa un gran avance; sin embargo, el elevado costo de tales tecnologías constituye una gran limitante para muchos países, en especial, Latinoamérica.

En años recientes, la medicina tradicional ha renovado su interés en la búsqueda de sustancias naturales con actividad terapéutica (Newman *et al.*, 2015; Sabini *et al.*, 2019). La popularidad del uso de preparaciones naturales es tal, que se ha convertido en un recurso valioso, especialmente si se toma en cuenta que la mayoría de los principios activos de la medicina moderna se obtienen a partir de especies vegetales (Escabilla y Moreno, 2015; Bonells, 2020).

Un producto natural útil es un tesoro para la medicina, ya que permite aprovechar parte de esa fuente inmensa de compuestos activos que, generosamente, la naturaleza se ha encargado de crear, multiplicar, dosificar en una vasta cantidad de estructuras químicas de diversa complejidad (Hakimelahi, 2001). Asimismo, muchos productos naturales actúan como alimentos funcionales; es decir que, aunado a sus propiedades nutricionales, contienen ciertos elementos, que directa o indirectamente, ayudan a combatir distintas enfermedades, a través del fortalecimiento del sistema inmune y restablecimiento de funciones fisiológicas propias del organismo, que han sido disminuidas o deterioradas por el estilo de vida, exposición a condiciones físicas extremas o contaminantes orgánicos y/o químicos (Campos-Santaella, 2018).

Hoy en día, el desarrollo de un nuevo fármaco natural, constituye un verdadero desafío en la medicina; no obstante, ofrece una alternativa accesible para el tratamiento de múltiples enfermedades, inclusive las generadas por microorganismos, a un costo razonable y, por lo tanto, es vital conocer no solo sus componentes, blancos de acción, y efectos metabólicos sobre las células bacterianas (Vivot *et al.*, 2012), sino también que la formulación y sus funciones se mantengan a corto y largo plazo, de manera que garanticen su eficacia y aceptación (Newman y Cragg, 2012).

Ahora bien, encontrar principios activos útiles es importante, pero, una vez comprobada la eficacia de un determinado producto, natural o sintético, que manifieste una actividad farmacológica interesante, también es fundamental que dicha actividad sea estable en el tiempo; de manera que el producto sea de fácil manejo, bajo ciertas condiciones, que garanticen al máximo su eficacia para contrarrestar los síntomas de la enfermedad para la cual fue desarrollado, así como su tiempo de vida útil. En este sentido, se han utilizado con gran éxito y en múltiples ensayos, numerosas especies de bacterias patógenas como modelos de actividad biológica, permitiendo medir actividad antimicrobiana, inhibitoria o bactericida, degradación, cambios en la composición, o como preservativos antimicrobianos en productos farmacéuticos o alimentos (Campos, 1999; Mantilla y Sanabria 2016). La biodiversidad de los microorganismos existente, así como la naturaleza única y sus capacidades biosintéticas, bajo condiciones ambientales específicas, los han convertido en candidatos de preferencia para el diseño de modelos biológicos para resolver problemas de escases de alimentos, control de plagas, biodegradación de los xenobióticos, descomposición de la basura, las pilas de desechos producidas, etc., ya que éstos ofrecen un gran potencial para la exploración de moléculas y procesos, y el conocimiento de las especies no convencionales, especialmente dentro del grupo Archaea, estimulando la investigación molecular de genes de interés, los cuales pueden incorporarse a través de tecnología recombinante en especies biológicamente conocidas, como *E. coli* y *S. cerevisiae*, para la síntesis a gran escala de infinidad de productos (Ostos *et al.*, 2019).

En este mismo orden de ideas, se requiere evaluar tales productos a través del análisis sensorial, el cual es la herramienta que permite determinar la calidad, seguridad y aceptación de un producto nuevo, sea alimento, cosmético o fármaco, ya que provee información sobre las características organolépticas (olor, sabor, consistencia, textura, etc.); éstas definen la aceptación del consumidor y garantizan el éxito que ellos demandan (Posada, 2011). Además, requiere condiciones adecuadas (tiempo, espacio, entorno) para que no haya interferencias que puedan influir en el resultado final; por ello, los catadores deben estar bien entrenados, tener la libertad de desarrollar todos sus sentidos, y así obtener resultados objetivos. Ninguna técnica es capaz de simular las sensaciones de un catador experimentado, por lo que es vital la valoración sensorial del producto mediante un panel de evaluadores (Costell, 2003).

Los estudios de estabilidad proporcionan evidencia de como la calidad, seguridad y/o eficacia de un ingrediente activo o producto farmacéutico terminado puede variar con el tiempo, debido a la influencia de factores ambientales (luz, temperatura, humedad, etc.), permitiendo valorar la interacción entre los principios activos y sus excipientes, con otros ingredientes activos y/o con los sistemas de envase y sellado, además de establecer el tiempo de vida útil del producto terminado, cuánto tiempo el producto conserva sus propiedades y mantiene su calidad desde que el consumidor utiliza el producto (Pastor, 2014) y las condiciones de almacenamiento adecuadas, según la zona de comercialización; mientras más se conozca al respecto, mayor será la posibilidad de manipular ciertos factores para prolongar su tiempo de caducidad (Carrillo y Reyes, 2013), más cuando el objetivo final es obtener el registro sanitario que autoriza su comercialización (Tasici, 2015). De igual forma, un alimento alcanza su estabilidad microbiológica cuando ha sido sometido a técnicas de conservación (simples o combinadas), para eliminar, reducir o prevenir el crecimiento microbiano. Los principales microorganismos que suelen desarrollarse en los alimentos son bacterias, mohos y levaduras, los cuales por distintas rutas metabólicas son capaces de modificar o deteriorar el producto. Los parásitos (protozoos, helmintos, etc.) y virus, en general, no

se reproducen en los alimentos, pero si los utilizan como vehículo para la transmisión de enfermedades (Morales, 2012; Ostos *et al.*, 2019)).

El lanzamiento de un producto nuevo, no se limita únicamente a investigar su estabilidad, implica una serie de ensayos y análisis, desde la concepción de la idea hasta su creación, estrategias de mercado y su lanzamiento; adicionalmente, se aspira a una identificación consumidor-producto, de modo que éste desee adquirirlo con una frecuencia, la cual garantice una retribución económica rentable, en función de la inversión de tiempo-recursos (Barrientos, 2005; Campos *et al.*, 2019).

El producto natural PAV-L es un alimento funcional elaborado a base de 17 especies vegetales, de las cuales se utilizan distintos elementos (polen, aceites esenciales, pericarpios, bulbos, hojas, látex, aceite). Los componentes activos de PAV-L se fusionan en una combinación funcional, que manifiesta una marcada actividad antiinflamatoria, aliviando significativamente migrañas, dolores musculares, artritis, inflamación ovárica y prostática (displasia e hiperplasia), destacando la actividad en próstata, con una disminución de hasta 80 % del valor inicial del antígeno prostático en hombres, entre 40 y 75 años, en un lapso de apenas 45 días, mostrando recuperación de la funciones sistémicas e incluso corrigiendo la disfunción eréctil. En vista de los beneficios que este producto ha evidenciado durante casi 10 años de ensayos, la data hasta ahora registrada en las investigaciones, así como su formulación se encuentra bajo un acuerdo de confidencialidad establecido con la compañía Global Pharmaceuticals L.T.D. (Ludlow, India). La actividad funcional del producto PAV-L, sin duda obedece a la acción sinérgica de los metabolitos secundarios presentes en su formulación, entre los que se encuentran aceites esenciales, pigmentos, aminoácidos, compuestos azufrados, flavonoides, etc.

Los aceites esenciales son mezclas heterogéneas que pueden contener muchos compuestos químicos a diferentes concentraciones, los cuales definen sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Los estudios realizados demuestran que los aceites

esenciales de numerosas especies de uso común exhiben diversos tipos de actividad biológica, así, por ejemplo, acción antibiótica, fungicida, larvicida, antioxidante, analgésica, antiinflamatoria, entre otras, sin producir efectos secundarios; de allí, el gran interés en su estudio con fines terapéuticos (Santos, *et al.*, 2015; Sahu *et al.*, 2019; Mena *et al.*, 2020). De hecho, la actividad antioxidante y antibacteriana de los aceites esenciales se debe fundamentalmente a la presencia de terpenos fenólicos como: alcanfor, limoneno, eucaliptol, α -pineno, linalool, carvacrol, borneol, β -pineno que trabajan sinérgicamente entre sí para producir mecanismos de defensa frente a radicales libre o microorganismos patógenos (Mena *et al.*, 2020).

Los pigmentos han sido utilizados desde hace varios siglos en forma de tintes, colorantes para alimentos, en la elaboración de cosméticos y productos de uso medicinal; sin embargo, cumplen funciones vitales para numerosos procesos esenciales como fotosíntesis (clorofila a y b principalmente), polinización (polen de las flores), color de las plantas en general, también existen los carotenoides que son pigmentos accesorios coadyuvantes de la fotosíntesis al absorber ciertas longitudes de onda, entre ellos: carotenos, luteína y licopenos, responsables del color de frutas y hortalizas, produciendo colores naranja, amarillo y rojo, respectivamente; éstos ejercen actividad antioxidante y promueven una visión saludable. Por otra parte, en todos los tejidos de plantas superiores se encuentran las antocianinas (pigmento de rojo a azul, según el pH) que brindan color a hojas, tallos, raíces, frutos, flores son flavonoides hidrosolubles que pueden variar en su concentración, pero son más visibles en pétalos de flores. Las betalaínas también son pigmentos hidrosolubles exclusivos de plantas angiospermas del orden Caryophyllales (Espinaca, acelgas, amaranto, cactus), que carecen de antocianinas, le dan ese color característico a la remolacha y se utilizan comercialmente en alimentos (Aguilera *et al.*, 2011).

Los consumidores se inclinan cada día más hacia los productos con componentes naturales, debido a las múltiples reacciones adversas desarrolladas a partir del uso de

pigmentos sintéticos y otras sustancias usadas como aditivos por sus propiedades antioxidantes y conservantes (Narváez, et al, 2021 y Mena, *et al*, 2021).

Existen algunas mezclas de compuestos en la naturaleza que cobran tal importancia en el ámbito científico y tecnológico para el desarrollo de suplementos naturales, que cada día surgen nuevas patentes. En particular, el polen es rico en carbohidratos, proteínas y lípidos, además de diversos minerales y compuestos fenólicos. Sus propiedades biológicas funcionales se atribuyen principalmente al alto contenido de flavonoides y polifenoles, más aún, su considerable capacidad antioxidante y actividades antimicrobiana y contra el cáncer (Saraiva *et al.*, 2018).

Por otra parte, ciertas especies vegetales poseen compuestos bioactivos cuya actividad está asociada a la presencia de átomos de azufre enlazados a átomos de carbono, como ocurre con especies de la Familia Liliaceae (ajo, cebolla, etc.), que contienen compuestos azufrados como: alixina, alicina, aliina, adenosina, alil metanotiosulfinato, dialil disulfuro, dialil trisulfuro, alil metil triosulfinato, S-alil mercaptocisteína, 2-vinil-4H-1,2-ditiina y 5-alilcisteína (Luego, 2007); como muestra, la alicina exhibe un amplio espectro de actividad antibacteriana contra bacterias Gramnegativas (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus* y *Mycobacterium tuberculosis*) y Grampositivas *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium* (Ledezma y Apitz, 1998). El efecto antimicrobiano de alicina se debe a su reacción química con los grupos tiol de las diferentes enzimas; las enzimas alcohol deshidrogenasa, la tiorredoxina reductasa y ARN polimerasa, afectan el metabolismo esencial de la actividad de la cisteína (Calixto, 2006). Además, se ha sugerido que los compuestos organosulfurados afectan directamente a las arqueas metanogénicas del rumen a través de la inhibición de la enzima 3 - hidroxil-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA), lo que disminuye la síntesis de las unidades de isoprenoides y afecta la formación de la membrana lipídica característica de las arqueas (Patra y Saxena, 2010).

Ahora bien, los fructanos son polímeros de fructosa, derivados de la molécula de sacarosa presentes en la fracción hidrocarbonada de estos bulbos, los cuales poseen diferentes estructuras y longitudes de cadena; los fructooligosacáridos tienen un grado de polimerización de 2 a 10 (Ulloa *et al.*, 2017) y se destacan por su importante función como agentes prebióticos, incluidos dentro de la fracción fibra de los alimentos, ya que facilitan el desarrollo de la flora intestinal y previenen numerosas enfermedades (Torija Isasa, 2011); por ello, muchos autores asignan a este tipo de especies el carácter de alimentos funcionales (Hansen, 1999; García y Gómez Sánchez Muñoz, 2000; Jaime *et al.*, 2000; Galmarini 2005; Ramírez *et al* 2013, 2009; Rodríguez *et al.*, 2008).

Por otro lado, los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente. Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Robbins, 2003; Kähkönen *et al*, 2001).

Los flavonoides son derivados fenólicos sintetizados en cantidades substanciales por las plantas. Comprenden alrededor de 4000 compuestos identificados, son derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados de la 2 fenil benzo γ pirano, que consiste en dos anillos benceno combinados por mediación del oxígeno contenido en el anillo pirano. Estos compuestos poseen actividad antioxidante y capacidad para capturar radicales libres (Vinson *et al.*, 1995).

La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de oxidrilos sustituyentes, así como del peso molecular. En los

flavonoides, esta característica se asocia con la presencia en la molécula de grupos orto dihidroxi en el anillo B, un doble enlace entre el C2 y C3 en conjunto con la posición 4-oxo en el anillo C, y grupos 3-5 hidroxilo, y la función 4 – oxo en los anillos A y C (Velioglu *et al*,1998). Los taninos poliméricos tienen mayor actividad antioxidante que los fenoles monoméricos simples (Hagerman *et al*, 1998).

Asimismo, los flavonoides, pueden inhibir la peroxidación lipídica, poseen efectos antimutagénicos y tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas. Su acción antioxidante depende principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres. Este metabolito tiene, además, función antibacteriana, debido a que éstos penetran fácilmente la membrana celular bacteriana, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos (Puupponen *et al.*, 2001).

De la misma forma, los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas de metabolitos secundarios volátiles lipofílicos, obtenidos a partir de fracciones volátiles de las plantas por procesos de destilación a vapor (Patra y Saxena, 2010). Estos aceites son específicos de las plantas y son responsables del sabor y fragancia. Puede existir una gran variación en la producción y composición de los aceites esenciales entre plantas de una misma especie y en diferentes partes de una misma planta. Por su parte, la composición de los aceites varía de acuerdo a la temporada del año y las locaciones geográficas (Benchaar y Greathead, 2011).

Los AE presentan diversas composiciones químicas, naturales y propiedades biológicas. Los compuestos activos más importantes están incluidos en 2 grupos químicos: terpenoides (monoterpenoides y sesquiterpenoides) y fenilpropanoides, estos 2 grupos provienen de diferentes precursores del metabolismo primario y se sintetizan a través de diferentes vías metabólicas (Calsamiglia *et al.*, 2007).

Los AE poseen una fuerte actividad antimicrobial que inhibe el crecimiento y la supervivencia de la mayoría de microorganismos en especial de bacterias. A pesar de que los AE pueden reducir la metanogénesis ruminal, se cree que esta reducción se produce dependiendo de la dosis en la dieta. Con dosis altas se puede observar una reducción en la producción de metano, pero también se afecta la fermentación ruminal y por lo tanto la formación de otros productos finales (Bodas *et al.*, 2012; Benchaar *et al.*, 2008); sin embargo, existen algunos AE que han demostrado reducir la metanogénesis entre 20-60% sin afectar la fermentación. Entre los más estudiados están: timol (tomillo), carvacrol (orégano), eugenol (clavo, canela), cinamaldehído (canela), anetol (anís, hinojo), bayas de enebro y aceite de menta (Calsamiglia *et al.*, 2007; Bodas *et al.*, 2012; Benchaar y Greathead, 2011). El efecto de los AE sobre los microorganismos ruminales se produce dado su naturaleza lipofílica la cual genera una alta afinidad por las membranas celulares de los microbios en donde los grupos funcionales de los AE interactúan con los componentes de las membranas y como resultado se altera el transporte normal de iones (electrones) generando fallas en algunos procesos (translocación de proteínas, fosforilación, reacciones enzima dependientes), de esta manera la membrana se altera y las enzimas microbianas son inactivadas, el principal problema es que también se afecta la actividad de algunos microorganismos benéficos para la fermentación. Los AE afectan en mayor proporción a las bacterias Grampositivas que las Gramnegativas. En general, se ha encontrado que los metanógenos ruminales parecen ser más afectados por los AE, cuando éstos se suministran en altas concentraciones dentro de la dieta (Calsamiglia *et al.*, 2007; Bodas *et al.*, 2012; Benchaar y Greathead, 2011).

Los triterpenoides son compuestos con esqueleto carbonado conformado por seis unidades de isopreno, que derivan biogénicamente del escualeno; poseen una estructura relativamente compleja, son generalmente tetracíclicos o pentacíclicos y pueden contener grupos hidroxilo cetona o aldehído y ácido carboxílico (Lock, 1988). Muchas de las plantas deben a sus compuestos terpénicos, sus propiedades aromáticas inmersas en los aceites esenciales. Estos compuestos tienen gran importancia por la

variada acción biológica que han demostrado: acción citotóxica, antitumoral, analgésica, antiinflamatoria, antiséptica, inhibidoras del crecimiento bacteriana, entre otras (Villacís, 2009). Los esteroides, biogénicamente muy relacionados a los triterpenoides y con un esqueleto cíclico base similar a los triterpenoides tetracíclicos, pueden ser clasificados como esteroides, saponinas esteroidales, glucósidos cardíacos, esteroalcaloides y las llamadas hormonas esteroidales (Lock, 1988).

Lo antes expuesto, sumado a la estabilidad física, química y bacteriológica de los componentes de la formulación en el producto natural PAV-L, así como el potencial antibacteriano contra especies patógenas en humanos, inocuidad y grado de aceptación, encontrados en la presente investigación, indican que PAV-L es, definitivamente, un excelente candidato como alimento funcional para contrarrestar algunas de las principales afecciones en seres humanos, que involucran intrínsecamente procesos antiinflamatorios, ofreciendo a la vez un tratamiento alternativo eficiente, seguro, de calidad y más accesible.

METODOLOGÍA

La presente investigación se enfocó en el análisis de las propiedades antibacterianas y la estabilidad físico-química y bacteriológica del producto natural PAv-L, de interés farmacológico por sus propiedades antiinflamatorias, especialmente, su notable efecto reductor sobre el antígeno prostático. Adicionalmente, se realizó el análisis sensorial del producto, a fin de establecer su grado de aceptación y descartar posibles cambios en la percepción de las características organolépticas del mismo.

En consecuencia, esta investigación planteó la siguiente hipótesis: “Si el producto PAv-L manifiesta actividad antibacteriana, sin mostrar cambios significativos en los parámetros físico-químicos y bacteriológicos durante un período de 6 meses, se confirma que la estabilidad del producto se mantiene debido a propiedades perseverantes intrínsecas de la fusión de sus constituyentes; entonces, el producto PAv-L es un candidato de primera línea para evaluar actividad anticancerígena coadyuvada por antibiosis”.

La fórmula del producto natural PAv-L fue desarrollada por la Dra. Ysabel Campos-Santaella, quien desde el año 2010 hasta la fecha, ha realizado numerosas investigaciones que condujeron a la formulación del producto y a comprobar su eficacia como antiinflamatorio. La formulación del producto se encuentra sujeta a registro de patente, bajo acuerdo de confidencialidad preexistente con la empresa Global Pharmaceuticals L.T.D. Ludlow (India) desde finales del año 2016; por lo tanto, no es posible revelar la información concerniente a las especies vegetales utilizadas, su composición y el protocolo de elaboración de la fórmula, ni se autoriza la publicación de los resultados obtenidos sobre su actividad, hasta que culminen las investigaciones y se realice el debido registro de patente. Honrando este acuerdo de confidencialidad, la Dra. Campos-Santaella se encargó personalmente de la preparación del alimento funcional PAv-L; todas las muestras del producto se elaboraron el mismo día, bajo estrictas normas de higienización, tanto de las especies vegetales, materiales y equipos utilizados

e iguales condiciones de procesamiento. Asimismo, los diferentes ensayos y análisis realizados se llevaron a cabo en 4 etapas, definidas por ciertas condiciones generales preestablecidas en esta investigación, para reducir a su mínima expresión, la posible interferencia de variables ajenas y, así, garantizar la robustez de la data obtenida.

Condiciones generales para el desarrollo de la investigación

Todos los parámetros físicos, químicos y bacteriológicos, se analizaron en 4 etapas, según se describe a continuación:

- 1) E_0 = El producto recién elaborado;
- 2) E_2 = El producto 2 meses después de su elaboración;
- 3) E_4 = El producto 4 meses después de su elaboración;
- 4) E_6 = El producto 6 meses después de su elaboración.

Estabilidad físico-química del producto natural pav-l

Los parámetros físico-químicos considerados a los efectos de estos análisis, se describen a continuación:

Determinación del pH

Los niveles de pH determinan el tipo de reacciones químicas y biológicas presentes en un alimento (Aconsa, 2021); el parámetro pH es un indicador esencial de su calidad, seguridad y uniformidad. Asimismo, la variabilidad del pH en la producción de alimentos conlleva a diferencias críticas en su sabor, frescura y tiempo de conservación de un producto final (Toledo, 2021); de allí, su gran importancia en la industria.

Al momento de realizar esta prueba, se seleccionaron 3 muestras del producto PAV-L, en forma aleatoria. Luego, se determinaron los valores de pH para cada una de las muestras seleccionadas, mediante un potenciómetro (Conductronic Model pH-120), previamente calibrado, con soluciones buffer a pH 4 y 10, y siguiendo las pautas establecidas en la Norma Oficial Mexicana (NMX-f-317-NORMEX 2013).

Porcentaje de humedad (% H)

Todos los alimentos contienen agua en mayor o menor proporción, bien en forma libre o conjugada, siendo la forma libre la predominante y más fácil de liberar por evaporación o secado, mientras que la forma ligada suele estar unida a proteínas moléculas de sacáridos, absorbida a partículas de sustancias coloidales (Pearson, 1993; García Martínez y Fernández-Segovia, 2012). El control de la humedad en un producto alimenticio, sea crudo o procesado, es indispensable por múltiples razones, desde la optimización económica de los recursos alimentarios para impedir la proliferación de microorganismos que pudieran interferir con su calidad y vida útil, hasta la mejora de los procesos de producción y almacenamiento (Benejam-Botella, 2019).

En los ensayos realizados al producto natural PAV-L, primero se lavaron dos cápsulas de porcelana, las cuales se colocaron en una estufa marca (Precision Scientific Model 14-EG), 0,1 mg de precisión, ajustada a una temperatura de 100 ± 2 °C. Una vez secas las cápsulas, se dejaron en el desecador para eliminar los restos de humedad y, luego, se les determinó su peso; después, con la ayuda de una pipeta, se transfirieron 5 ml del producto PAV-L a cada una de las cápsulas. Posteriormente, éstas se colocaron en baño de María, durante 30 min, de tal manera que, la base de cada cápsula estuvo en contacto directo con el vapor de agua. Hecho esto, las cápsulas se colocaron en una estufa a 100 ± 2 °C, hasta alcanzar sequedad total. Transcurrido el tiempo prudencial, las cápsulas se llevaron cuidadosamente hasta el desecador, donde se dejaron enfriar por espacio de 30 min. Finalmente, se determinó el peso de cada una para obtener su masa residual, aplicando el método de desecación a presión atmosférica en estufa 30-18L (COVENIN 1553-80, 1994).

El porcentaje de humedad se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{[(M_1 - M_0)] - [(M_2 - M_0)]}{\text{Masa de muestra: } (M_1 - M_0)} \times 100$$

donde:

M_0 = Masa de la cápsula (g);

M_1 = Masa de la cápsula y muestra húmeda (g);

M_2 = Masa de la cápsula y muestra seca (g).

Contenido de fibra cruda (%FC)

El contenido de fibra cruda en el producto PAV-L se determinó por el método de digestión ácido-básica e incineración, que consistieron en someter a digestión 2 g del producto desgrasado, con 25 ml de una solución de ácido sulfúrico 1,2 % (m/v), los cuales se lavaron, filtraron y digirieron con 250 ml de hidróxido de sodio 2,5 % (m/v). A continuación, la muestra se lavó con agua destilada caliente y etanol 95 %, hasta alcanzar neutralidad. Finalmente, se calcinaron en una mufla marca Felisa, modelo FE-340, hasta la destrucción completa de la materia orgánica presente. La pérdida de peso después de la calcinación representa el contenido de fibra cruda del producto PAV-L (COVENIN 1789-81, 1989), descrita en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ FC} = \frac{\text{mrs} - \text{mri}}{\text{mm}} \times 100$$

donde:

FC = Porcentaje de fibra cruda (g);

mrs = Masa del residuo seco (g);

mri = Masa del residuo incinerado (g);

mm = Masa de la muestra (g).

Porcentaje de cenizas por el método de incineración directa (% C)

Las cenizas representan la cantidad de materia orgánica contenida en el alimento, la cual se obtiene al restar lo cantidad de residuos una vez incinerada la muestra; éstos residuos minerales (calcio, fósforo, magnesio, manganeso, entre otros) también son de interés nutricional por ser microelementos esenciales, ya que participan en múltiples funciones

metabólicas vitales para el funcionamiento adecuado del organismo y, además, la relación entre ambos elementos, orgánicos e inorgánicos, permite medir la calidad del producto (Badui, 2006; FEIQUÉ, 2022).

El contenido de cenizas se determinó, por el método de incineración directa en mufla, siguiendo la metodología descrita en la norma COVENIN 1783-81 (2001). En esta oportunidad, se pesaron 2 g de cada muestra (3 réplicas) en una balanza analítica marca Sartorius, modelo BL120S, éstas se calentaron en una platina de calentamiento marca Corning, modelo PC-353. Posteriormente, las muestras se llevaron a una mufla marca Felisa, modelo FE - 340, a 550 ± 50 °C, durante un tiempo aproximado de 4 h; es decir, hasta su incineración total. La muestra se dejó enfriar y se pesó el residuo. El porcentaje de cenizas se estimó por medio de la ecuación:

$$\% C = \frac{(M_2 - M_0)}{\text{Masa de muestra } (M_1 - M_0)} \times 100$$

donde:

%C = Cenizas

M_0 = Masa del crisol vacío [Previamente secado] (g);

M_1 = Masa del crisol más muestra [Antes de colocarlo en la mufla] (g);

M_2 = Masa del crisol más muestra [Después de la incineración] (g).

Contenido de lípidos totales (% L)

Los lípidos son moléculas orgánicas que están constituidas, principalmente, por hidrógeno, oxígeno y carbono, son conocidas como aceites y grasas. Las grasas buenas son necesarias para la salud del cerebro, células, corazón y nervios de manera que garantizan el buen funcionamiento del cuerpo. Además de proporcionar energía y mantener la temperatura corporal, también reduce el índice glicémico protegen los órganos contra choques y propician la absorción de vitaminas liposolubles como la A, D, E y K.

Determinar y cuantificar grasas/lípidos presentes en los alimentos es de vital importancia, tanto para industria alimenticia en general como para el área de nutrición.

El conocimiento sobre el contenido exacto de los componentes, facilita un etiquetado nutricional más preciso, dando al consumidor la oportunidad de conocer su composición, revisar esta información y elegir de acuerdo a sus requerimientos nutricionales, y estar más consciente respecto a cuanta grasa está ingiriendo al consumir el producto; además de contribuir a mejorar su forma de alimentación, mantener los niveles de sus valores hematológicos en el rango adecuado, mediante la elaboración de dietas balanceadas, mientras coadyuva al proceso de nutrición y salud integral del organismo (Tecnal, 2019).

El contenido de lípidos totales en esta investigación se determinó a través del método de extracción con Soxhlet (Fig.1), el cual consistió en pesar 5 g del producto PAv-L en una balanza analítica marca Precisión Scientific modelo 14-EG, luego se disolvió la muestra en 5ml de hexano, se agitó para ayudar a disolver la muestra y se añadió en un dedal de celulosa, que luego se colocó en la cámara del sistema Soxhlet. Se agregaron 160 ml de hexano al 98% en un balón con capacidad de 500 ml y boca esmerilada, y éste se conectó al sistema Soxhlet, sobre una manta de calentamiento a una temperatura de 45 °C, por espacio de 2-3 h (Fig. 1). Este procedimiento permitió la evaporación gradual del solvente y la obtención del residuo (grasas), el cual se secó hasta peso constante, a 103 ± 2 °C, en una estufa marca Precision Scientific, Model 14-EG, (COVENIN 1785-81, 1998).

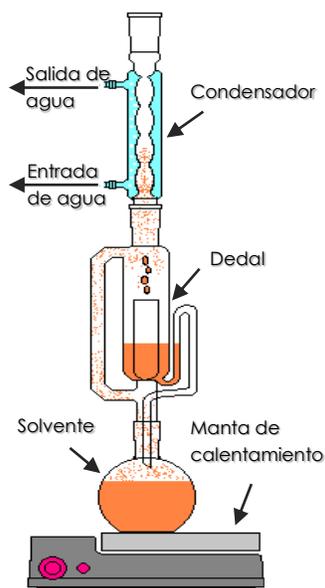


Fig. 1.- Sistema de extracción Soxhlet

El contenido de lípidos totales se determinó por diferencia de masas, según la siguiente ecuación:

$$\% L = \frac{(M_2 - M_1)}{\text{Masa de muestra } (M_0)} \times 100$$

donde:

M_0 = Masa inicial de la muestra (g);

M_1 = Masa del balón con boca esmerilada vacío (g);

M_2 = Masa del balón de boca esmerilada más la grasa extraída (g).

Contenido de proteínas (% P)

Las proteínas son macromoléculas que desempeñan el mayor número de funciones en las células de los seres vivos. Ellas forman parte de la estructura básica de tejidos (músculos, tendones, piel, uñas, etc.), crean, reparan y mantienen los tejidos corporales durante los procesos de desarrollo, crecimiento, diferenciación, mantenimiento, entre otras, a través de enzimas, hormonas, anticuerpos, etc., regulando funciones metabólicas vitales, a saber: asimilación de nutrientes, transporte de oxígeno y de grasas en la sangre,

eliminación de materiales tóxicos, regulación de vitaminas liposolubles y minerales, etc. (González *et al.*, 2007).

En esta investigación se aplicó el método Kjeldahl (1883), especialmente diseñado para la determinación del contenido de proteínas, y comprende 3 pasos: digestión, destilación y valoración (COVENIN 1195-80, 1990). Una muestra de 50 g del producto se homogeneizó; de ésta, se tomó una alícuota de 1,5 g, se colocó en un matraz y se sometió a digestión, agregando lentamente gotas de ácido sulfúrico concentrado, para luego, someterla a calentamiento, a 300 °C, en posición inclinada, hasta digestión total; cuando la solución se hace transparente o un tenue azul-verdoso. Se utilizaron 15 g de sulfato de potasio (K_2SO_4) para acelerar la ebullición (Fig.2A).

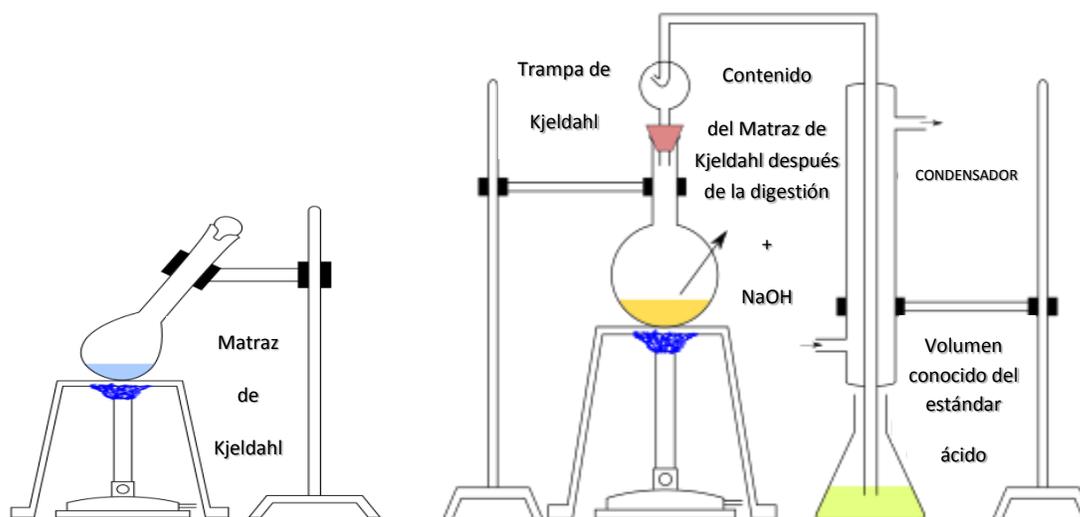


Fig. 2.- Método de Kjeldahl: **A**: Digestión de la muestra; **B**: Destilación

Este proceso se activó mediante la adicción de 300 mg de sulfato cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) y 0,5 g óxido de mercurio (Hg_2O); como agentes catalíticos, el cual permitió transformar el nitrógeno orgánico en sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$. Seguido, se procedió a su destilación, agregando con hidróxido de sodio (NaOH al 40 %) para liberar el amoníaco por la acción de una solución alcalina y, después, se tituló con una solución de ácido clorhídrico 0,1 N, en presencia de azul de bromocresol (Fig.2B).

El contenido de proteínas se determinó mediante la ecuación:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(a-b) \times N_o \times M_e}{P} \times 100$$

$\% \text{ Proteínas} = K \times \% \text{ N}$ donde:

a = Volumen del ácido gastado en la titulación de la muestra (ml);

b = Volumen de ácido gastado en la titulación del blanco (ml);

No = Normalidad del ácido;

Me = Masa equivalente del nitrógeno [14];

P = Masa de la muestra (g).

K = Factor de conversión de nitrógeno a proteínas de 6,25.

Detección de Cloruros y Bromuros (Cl y Br)

La valoración exacta del contenido de cloruros y bromuros, es un paso importante en la industria alimenticia, ya que permite controlar los niveles de sal en los alimentos procesados. El porcentaje total de estas sales deriva de la suma de las concentraciones de todos los sólidos disueltos en la solución, conformada por agua y la mezcla de los alimentos, donde la mayoría de dichas sales son compuestos inorgánicos, como sulfatos (SO_4^-), cloruros (Cl^-), carbonatos (CO_3^-), bicarbonatos (HCO_3^-), sales de Ca, Mg y Na. Ocasionalmente, estas sales pueden estar presentes en exceso y su cantidad, es determinante en el sabor del producto, por lo que deben ajustarse ciertos parámetros (COVENIN 2138-84, 1994; Pinto, 2016). En esta investigación, los iones cloruro y bromuro se determinaron por el método estándar descrito por Möhr; para ello, se tomaron exactamente 10 ml del producto, los cuales se trasvasaron a un balón aforado de 250 ml, cuyo volumen final se complementó con agua destilada, incluyendo las aguas de enjuague de la pipeta con la cual se tomó el producto. La solución así obtenida, se filtró y dicho filtrado se neutralizó con unas gotas de bicarbonato de sodio; luego, se tomaron de 25 a 50 ml de la solución neutralizada y se le agregó 1 ml de dicromato de potasio (K_2CrO_4). Inmediatamente, esta mezcla se agitó y tituló, con una solución de nitrato de plata (AgNO_3 al 0,05 N), hasta observar la aparición de un color persistente de amarillo

a rojizo; el blanco se trató de la misma forma excepto que la solución inicial contenía solo agua destilada (COVENIN 2138-84, 1994).

Detección de azúcares reductores (A_R)

Los azúcares reductores (mono o disacáridos) son aquellos que reaccionan con otras moléculas cediendo electrones actuando como agente reductor, lo que les permite unirse en forma inespecífica a otras moléculas (Julián y Martínez, 2003).

La detección de azúcares reductores en PAV-L, se determinó por el método de Fehling (1849), disolviendo 10 mg del producto PAV-L en 100 ml de agua destilada, esta solución se sometió a calentamiento en baño de María por 20 min y se hidrolizó agregando unas gotas de HCl, se dejó enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente; luego, la muestra se neutralizó con unas gotas de NaOH al 10 % hasta pH 7,2 y se colocó en una bureta. Adicionalmente, se preparó el licor de Fehling, que consta de la solución A (3,5 g de sulfato de cobre cristalizado y agua destilada hasta completar 100 ml) y la solución B (174 g de sal de Seignette - tartrato mixto de potasio y sodio 1:1-, 3 ml de solución de hidróxido de sodio al 40 % y agua hasta completar 500 ml) en partes iguales. El licor de Fehling se preparó justo en el momento de realizar el ensayo; para ello, se colocaron 10 ml de la solución A y 10 ml de la solución de Fehling B en un Erlenmeyer de 50 ml. Después, el licor de Fehling se llevó al punto de ebullición, se le añadieron 2-3 gotas de azul de metileno y se tituló, registrando el volumen gastado del producto hidrolizado hasta el punto donde se produjo el viraje de azul a amarillo. El poder reductor de los azúcares no es el mismo cuando el producto contiene tipos de azúcares distintos a la glucosa, en cuyo caso, el título del licor de Fehling (A) requiere del ajuste correspondiente, multiplicando por el factor de corrección según el tipo de azúcar, como se indica a continuación:

Lactosa: $A \times 1,57900$

Sacarosa: $A \times 1,60500$

Galactosa: $A \times 1,60549$

Determinación del nitrógeno básico volátil total (% NBVT)

El término general de nitrógeno básico volátil total incluye a todas aquellas bases nitrogenadas volátiles, como son la trimetilamina (producida por el deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros. Su determinación expresa cuantitativamente el contenido de bases volátiles de bajo peso molecular. La determinación de las bases volátiles es uno de los análisis más utilizados, por ser relativamente sencillo y rápido de realizar. Estos compuestos volátiles aparecen en los últimos estadios del deterioro, por lo cual solo resultan útiles para descartar estados de deterioro avanzado en ciertos productos principalmente de origen animal, ya que contienen altas proporciones de proteínas (García Martínez y Fernández-Segovia, 2012).

En esta investigación se empleó el método de macrodestilación de Lücke y Geidel (1935) modificado, que consiste en pesar 10 g del producto y mezclarlo con 40 ml de agua destilada en un balón con boca esmerilada, donde se le añadieron de 1 a 3 g de óxido de magnesio (MgO), 1 ml de la solución de cloruro de calcio (CaCl_2) al 10% y 2 a 3 gotas de antiespumante (2-propanol); se lavó con mucha delicadeza el cuello del matraz utilizando una pizeta con agua destilada un poco de agua destilada antes de conectar el aparato. Adicionalmente, se agregaron 25 ml de solución de ácido bórico al 3 % en otro balón de boca esmerilada que se conectó al sistema, de tal forma, que el extremo inferior del condensador permanezca sumergido en la solución de ácido bórico, de inmediato, se encendió la fuente de vapor hasta que el agua hierva, se dejó hervir durante 10 min y se prosiguió la destilación a una velocidad constante de calentamiento por 25 min. Una vez terminada la destilación, se lavó, a la brevedad posible, el extremo inferior del condensador con un poco de agua destilada y se retiró el Erlenmeyer donde

se conectó el destilado que contendrá las bases volátiles. El destilado se tituló hasta su neutralización, con ácido sulfúrico (H_2SO_4 0,1 N), hasta observar un viraje del color verde a rojo violeta, mientras que el punto neutro de la solución tomará un color gris. El contenido de nitrógeno se estimó según la ecuación:

$$\text{NBVT} = \frac{(a - b) \times N_0 \times M_{e(\text{NH})_3}}{M_m} \times 100$$

donde:

a = Volumen del ácido gastado en la titulación de la muestra (ml);

B = Volumen de ácido gastado en la titulación del blanco (ml);

No = Normalidad del ácido.

Me = Masa equivalente del amónico [17].

Mm = Masa de la muestra (g).

Determinación de la densidad (D)

La densidad permite comprobar la pureza y concentración de un líquido; además, ofrece información sobre su composición (Toledo, 2018). La medición de la densidad se remonta a la época de Arquímedes (287-212 a. C.) y el principio de Arquímedes, en Sicilia, Italia; pero fue gracias a Abu Raihan Al-Biruni (973-1048, Afganistán), quien diseñó el primer picnómetro de cristal, a partir del cual, Mendeléiev desarrolló el método basado, en el principio de Arquímedes, que se lograron mediciones precisas de la densidad. En este procedimiento, se utilizó un picnómetro, el cual se lavó con cuidado y se colocó en el desecador; luego, se pesó vacío y se registró su peso, volumen y apreciación. Posteriormente, el picnómetro se llenó con agua destilada a una temperatura de 20 °C, se tapó y se eliminó, inmediatamente, el agua superficial presente en el exterior del mismo. Hecho esto, se procedió a pesar, vaciar y colocar la muestra a analizar, a la temperatura de referencia (20°C), la muestra se volvió a pesar para evitar posibles fluctuaciones por efecto de la temperatura, después se vació el picnómetro y se llenó con la muestra a analizar, aplicando la misma temperatura de referencia; por último, se lavó el picnómetro. La densidad se estimó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$D = \frac{M_{pm} - M_{pv}}{M_{pa} - M_{pv}}$$

donde:

D = Densidad obtenida por gravedad específica a temperatura de 20 °C

M_{pv} = Masa del picnómetro vacío (g);

M_{pm} = Masa del picnómetro más muestra (g);

M_{pa} = Masa del picnómetro más agua (g).

Determinación del Índice de acidez (Ia)

En productos alimenticios, el grado de acidez indica el contenido en ácidos libres presentes; es decir, el grado de acidez que posee un determinado producto o sustancia procesada (Sandoval, 2009). En un Erlenmeyer de 125 ml, se agregaron 10 ml del producto PAV-L, 50 ml de alcohol neutralizado (etanol), precalentado a 45 ° y 2 ml de fenolftaleína al 0,1% como indicador; inmediatamente, se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N (Boekenoogen, 1964). El índice de acidez se determinó a través de la siguiente fórmula:

$$Ia = \frac{V \times N \times FC}{M} \times 100$$

donde:

Ia = Índice de acidez.

V = Volumen de NaOH 0,1 N utilizado en la titulación (ml);

N = Normalidad del NaOH.

FC = Factor de corrección equivalente a la masa molar del ácido oleico [282];

M = Volumen de la muestra en (ml).

Determinación del Índice de peróxido (Ip)

Este índice expresa el estado de oxidación primario en aceites o grasas, ya que permite

estimar el contenido de sustancias como peróxidos e hidroperóxidos, cuya presencia revela si ha ocurrido un deterioro por oxidación; un índice superior al 0,0 MEqO₂/kg hasta un 25 % en ciertos productos alimenticios, puede indicar el inicio del proceso de deterioro (HANN, 2022). Se aplicó el método volumétrico (Nilsen, 1998), el cual requirió un blanco y la muestra a analizar. La muestra se preparó en un Erlenmeyer de 125 ml donde se pesaron 2 g del producto PAV-L, se le agregaron 10 ml de cloroformo, 15 ml de ácido acético y 1 ml de Ioduro de potasio al 10 % m/v; luego, se tapó y colocó en oscuridad durante 5 min. A continuación, se le añadieron 75 ml de agua destilada hervida y enfriada, se agitó y se tituló con tiosulfato de sodio al 0,01 N; por último, se agregó 1ml de solución de almidón como indicador y se continuó la titulación hasta que desapareció el color azul. Al blanco se le aplicó este mismo procedimiento, con la salvedad, de que no se le añadió muestra. Cabe destacar que, el índice de peróxido se obtuvo calculando los miliequivalentes de tiosulfato de sodio gastados en la titulación por kilogramo de muestra, mediante la ecuación:

$$I_p = \frac{N \times (V - V_1)N}{M} \times 1000$$

donde:

I_p = Índice de peróxido expresados en meq O₂/Kg.

N = Normalidad del tiosulfato de sodio.

V = Volumen inicial de la muestra [PAV-L] (ml);

V_1 = Volumen de tiosulfato gastado en el blanco (ml);

M = Masa de la muestra (g).

Estabilidad bacteriológica

La estabilidad bacteriológica se evaluó mediante una serie de parámetros estándar, comúnmente utilizados en microbiología para medir deterioro por acción bacteriana o valorar la inocuidad del producto PAV-L, basada en la ausencia o presencia de

microorganismos, lo que permite no solo verificar el tiempo de vida útil, sino también que se mantiene la calidad del mismo.

Determinación de aerobios mesófilos y psicrófilos

Se seleccionó, aleatoriamente, una muestra del producto natural PAV-L por cada etapa, se tomó una alícuota de 10 ml del producto PAV-L y se disolvió en un Erlenmeyer conteniendo 90 ml de agua peptonada estéril al 0,1%; obteniendo así una concentración equivalente a 10^{-1} . Esta dilución se homogeneizó y, a partir de ésta, se hicieron diluciones seriadas, colocando 1 ml de la muestra diluida 10^{-1} en un tubo con 9 ml de agua peptonada estéril al 0,1% (10^{-2}). Este procedimiento se repitió hasta alcanzar la dilución 10^{-5} . Todas las diluciones se incubaron a 37 °C por 24 h. Los resultados se expresan en función de unidades formadoras de colonias (UFC), y se consideraron negativas aquellas cuyo número de colonias resultó ≤ 100 UFC.

Transcurrido este período, se tomó con pipeta estéril 0,1 ml de cada dilución y se inoculó, por duplicado y por cada dilución, en placas de agar para contaje en placas (APC). El inóculo se extendió con la ayuda de una espátula de Drigalsky estéril. Esta siembra se hizo también por duplicado y para cada dilución. Las placas una vez inoculadas, se dividieron en 2 grupos; el primer grupo se incubó a 37 °C por 24 h para la detección de aerobios mesófilos, mientras que el segundo grupo se colocó en la nevera a 5 °C por 24 h para detectar la presencia de bacterias psicrófilas., si en este tiempo no se desarrollaron colonias psicrófilas, las placas se colocaron en la estufa a 37 °C por 24 h, para corroborar los resultados. Al cabo de 24 h, se procedió al contaje y registro del número de colonias que se desarrolló en el medio por cada grupo y dilución. El producto se consideró microbiológicamente aceptable, cuando el contaje de colonias por placa y dilución, fue inferior a 100 UFC/placa. En ausencia de colonias representativas de bacterias psicrófilas, las placas se incubaron ahora a 37 °C por 24 h, para confirmar la siembra, mediante el desarrollo de bacterias mesófilas (Koneman *et al.*, 2008).

Determinación de coliformes totales y fecales

A partir de las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , se inocularon, por cada dilución, 2 tubos conteniendo caldo lactosado doble concentración con tubo de Durham invertido, los cuales se incubaron a 37 °C por 24 h. La presencia de coliformes totales se evidenció por la aparición de turbidez en el caldo lactosado y la presencia de gas en el tubo de Durham; éstos se consideraron como positivos. Las diluciones que resultaron positivas para coliformes totales se inocularon, también por duplicado y dilución, en tubos con Caldo Bilis Verde Brillante (CBVB) con tubos de Durham y se incubaron a 44 – 55 °C por 24 – 48 h. Se consideró positiva la prueba para coliformes fecales cuando los tubos presentaron turbidez y evidencia de formación de gas. La presencia de coliformes fecales es un indicio de contaminación y, por lo tanto, se hicieron pruebas de identificación adicionales para las especies de coliformes fecales *Escherichia coli* y *Salmonella* sp (Camacho *et al.*, 2009).

Detección de *Escherichia coli*

A partir de los tubos que resultaron positivos de la prueba de coliformes fecales en CBVB, se inocularon en caldo de enriquecimiento para *E. coli* (EC) y éstos se incubaron a 44 - 55 °C por 24 h. A continuación, se inocularon con asa en agar Eosina azul de metileno (EMB) y agar Sorbitol Mac Conkey (SMAC) y se incubaron de 44 - 55 ° por 24 h; para la determinación de especies de *E. coli* y *E. coli* O157:H7 (*E. coli* enterohemorrágica), respectivamente. Además, se hizo frotis a partir de las colonias que se desarrollaron en los medios sólidos EMB y SMAC, a éstos se les aplicó la tinción de Gram y se examinaron al microscopio para confirmar sus características morfológicas (Koneman *et al.*, 2008).

Detección de *Salmonella* sp.

A partir de la dilución 10^{-1} de PAV-L preparada inicialmente, se inocularon con asa, por triplicado, en tubos con caldo tetrionato y caldo Rappaport, los cuales se incubaron a 37 °C por 24 h. Los tubos que manifiestan crecimiento se inoculan en placas de agar

bismuto sulfito (ABS), agar *Salmonella-Shigella* (ASS), agar xilosa lisina Desoxicolato (XLD) o agar bilis rojo violeta (BRV), y se incuban a 37 °C por 24 h. Las colonias típicas de *Salmonella* se siembran en tubos de agar hierro y tres azúcares; a partir de éstos, se realizaron los frotis correspondientes, se les aplica la coloración de Gram, y se estudian sus características morfológicas al microscopio óptico (Koneman *et al.*, 2008).

Detección de *Pseudomonas aeruginosa*

A partir de la dilución 10^{-1} en agua peptonada al 0,1 %, se inoculó con asa y por duplicado cada dilución en agar *Pseudomonas* (AP) y agar Cetrimida (AC). Una vez inoculadas, se incubaron a 37 °C por 24 h; se le realizaron frotis y tinción de Gram a las colonias que se desarrollaron (Koneman *et al.*, 2008).

Detección de *Staphylococcus aureus*

A partir de las diluciones 10^{-2} , elaboradas previamente en agua peptonada al 0,1 %, se inoculó con asa y por duplicado, cada dilución en placas de agar Baird-Parker, éstas se incubaron a 37 °C por 24 h; la aparición de colonias doradas con centro negro será indicativa de la presencia de colonias de *S. aureus*. Posteriormente, se inocularon placas con agar DNAsa, a partir de las cuales se realizaron frotis y tinción de Gram para confirmar las características morfológicas típicas (Koneman *et al.*, 2008).

Análisis sensorial

Tilgner (1971) define las pruebas sensoriales como el conjunto de medida y evaluación de determinadas propiedades en un producto alimenticio, que implican el uso de uno o más sentidos humanos para la percepción de sus características organolépticas: olor, sabor, color, textura, etc.; éstas se asocian a la calidad del producto (Cordero, 2013). Previo a este análisis, se elevó un comunicado a través de las redes sociales, invitando a participar en el estudio. Una vez reunido cada grupo, se les informó todo lo referente al análisis, se aclararon las dudas y se procedió a recolectar los datos personales de los participantes. En cada una de las 4 etapas, se suministró a cada participante una muestra

y la respectiva forma del análisis sensorial; donde el participante calificó el producto objeto de estudio, en cuanto a sus características organolépticas, de acuerdo a las sensaciones que perciba del mismo. Para ello, se aplicó la metodología de Hernández (2015), según se describe a continuación:

El desarrollo de las pruebas se llevó a cabo en un lugar privado, que cumplió con las condiciones idóneas (espacio, limpieza, paredes de color claro, comodidad, ambiente con temperatura agradable y buena iluminación); lo cual favoreció la concentración de los participantes, su mejor disposición para realizar la prueba y, por ende, la obtención de resultados más fidedignos. Este sitio consistió de un área de recepción, donde los participantes aguardaron su llamado, y una sala de cata, destinada a la prueba sensorial del producto, así como los elementos necesarios para preparar y presentar las muestras a los participantes.

Inicialmente, los participantes se ubicaron en el área de recepción, donde se les entregó el formulario con las pautas a seguir en el análisis sensorial (anexo 1), para su revisión. Dado un tiempo prudencial, se le explicaron las bases de la prueba y se les aclararon cualquier duda que pueda surgir al respecto. En el momento de realizar la prueba, se les hizo pasar a la sala de cata, donde se le entregó a cada participante una muestra del producto, un vaso de agua, una galleta de soda, una servilleta, un lápiz con borrador (por si fuera necesario hacer alguna enmienda) y demás elementos necesarios (Arroyave, 2017).

Espectros de infrarrojo (ftir) en el producto natural pav-1

Esta técnica permite identificar los grupos funcionales presentes en un compuesto, o mezcla de ellos, mediante su espectro de absorción o reflexión en el rango infrarrojo (IR) del espectro electromagnético. La técnica se basa en el principio de que cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, la vibración intramolecular, con frecuencia igual a la de la radiación, aumenta en intensidad y genera señales a frecuencias que

corresponden a la vibración de un enlace específico; permitiendo así, la identificación de compuestos químicos a través de la frecuencia a la cual los distintos grupos funcionales muestran sus bandas de absorción, expresadas en cm^{-1} , en la región IR [1200-4000], (Pintado, 2015). La región infrarroja se divide en tres regiones denominadas infrarrojo cercano [NIR], infrarrojo medio [MIR] e infrarrojo lejano [FIR], (Cruz, 2015).

Los espectros de infrarrojo para el producto natural PAV-L, se realizaron a partir de pastillas elaboradas con la muestra y bromuro de potasio (KBr) grado analítico, lo que permitió obtener registros las lecturas sólido-KBr vs KBr-aire con 24 barridos, a una resolución de 2 cm^{-1} , en un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo 16 PC. El procedimiento consistió en mezclar una pequeña cantidad del producto natural PAV-L con KBr anhídrido, previamente triturado en un mortero de ágata, éste se combinó con la muestra del producto natural PAV-L y se continuó macerando hasta homogeneizar la mezcla. Luego, ésta se compactó en una prensa a $1,05 \times 10^9 \text{ kg/m}^2$ de presión, hasta obtener las pastillas (Skoog *et al.*, 2001). La elaboración de las pastillas, así como la lectura y análisis de los espectros se llevaron a cabo en Departamento de Ciencias de los materiales, Laboratorio de Polímeros, pertenecientes del Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA-UDO).

Detección de la actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de PAV-L, se le determinó tanto al producto recién elaborado (E_0) como a las etapas subsiguientes (E_2 , E_4 y E_6). Las propiedades antibacterianas de producto natural PAV-L, se analizaron utilizando tres (3) especies bacterianas patógenas en humanos, pertenecientes a la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, por sus siglas en inglés), como modelos de bioactividad, las mismas fueron obtenidas en el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”, Caracas, Distrito Capital, y suministradas por la Profa. Dianny Martínez, Coordinadora del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Antonio Patricio de Alcalá (HUAPA), de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre (Tabla I).

Tabla I. Especies bacterianas utilizadas como modelos de actividad antibacteriana para el producto natural PAV-L.

ESPECIES BACTERIANAS	GRAM	CÓDIGO	ANTIBIÓTICOS COMERCIALES
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 25923	Penicilina, oxacilina, cefoxitina, clindamicina, eritromicina, gentamicina
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC 25922	Aztreonam, amoxicilina clavulánico, ceftazidima, cefepima, amikacina, meropenem, imipenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC 27853	Amikacina, ciprofloxacina, piperacilina y tazobactam imipenem, meropenem, cefepima, aztreonam, gentamicina

El potencial antibacteriano se determinó a través de los métodos cualitativo, mejor conocido como método de difusión en placas (MDP) o antibiograma y también por el método cuantitativo o Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), ambos descritos por Kirby-Baüer (Baüer *et al.*, 1966).

Método Cualitativo o de difusión en placas (MDP)

Este método consiste en impregnar discos estériles de 5 mm de diámetro (elaborados con papel Whatman N° 3), los cuales, para efectos de esta investigación, se dosificaron con 10 µl de la suspensión del producto a concentraciones conocidas, preparadas en base a una concentración de 30 µg/ml en DMSO; tal como lo establece el panel de estudios de bioactividad del Instituto Nacional del Cáncer (NCI), Frederick-Washington, D.C.-EEUU, para extractos crudos con potencial bioactivo (Newman y Cragg, 2012). Los ensayos incluyeron 2 discos controles; uno impregnado con el solvente utilizado en la fórmula original del producto PAV-L y otro con DMSO, solvente utilizado en la preparación del producto. Igualmente, se impregnaron discos con concentraciones

conocidas del producto PAV-L, previamente secado a peso constante y Los discos previamente impregnados, se colocaron cuidadosamente sobre la superficie de placas de Petri con agar Müeller–Hinton, previamente inoculadas con una suspensión bacteriana, ajustada a patrón Mac Farland 0,5 (equivalente a $1,5 \times 10^8$ células/ml). Las placas se colocaron en la nevera, a 5 °C durante 12-18 h, para inhibir el desarrollo de las bacterias y permitir la difusión del producto; al cabo de este período, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. El efecto inhibitorio se confirmó mediante la aparición de halos de inhibición alrededor del disco; se registró el diámetro de éstos en milímetros. La determinación de la actividad antibacteriana siguió el esquema de etapas, descrito anteriormente en la sección de las condiciones generales de la investigación, hasta cubrir el período de seis (6) meses preestablecido.

A continuación, se explica cómo se procedió a la preparación de la suspensión de cada muestra a analizar de PAV-L, para este ensayo. Previamente, se tomaron 3 muestras del producto (20 ml) por cada una de las etapas (E₀, E₂, E₄ y E₆) y se colocaron en placas de Petri estériles, las cuales se llevaron a la estufa a 45°C, hasta alcanzar peso constante. Una vez transcurrido este tiempo, cada una de las muestras se maceró manualmente, por separado, con la ayuda de un mortero; luego, se unieron según la etapa correspondiente. Seguidamente, se preparó una suspensión con 60 mg del producto y se disolvieron en 120µl de DMSO, la cual se denominó SP1 (5000µg/ml), a partir de ésta (SP1), se tomaron 10µl de suspensión y se diluyeron en 1 ml de caldo Müeller-Hinton estéril para obtener SP2 (4950 µg/ml). A partir de ésta se hicieron diluciones seriadas en tubos que contenían 1 ml de caldo Müeller-Hinton estéril; al primer tubo (T₁) se le añadió 1 ml de SP2, la mezcla se homogeneizó y se transfirió 1ml al siguiente tubo (T₂) y, así sucesivamente, hasta llegar a la dilución 10 (T₁₀), al cual se le descartó 1 ml, quedando todos los tubos con igual volumen. Previamente, se prepararon las suspensiones bacterianas para cada una de las especies patógenas utilizadas como modelo de actividad, tomando desde cultivos frescos pequeñas porciones de cada colonia bacteriana con aguja de inoculación y disolviéndola cuidadosamente en tubos de solución fisiológica estéril (0,85 % NaCl), ajustadas al patrón Mc Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ cél./ml).

A cada uno de los tubos de las diluciones seriadas preparadas a partir del producto natural PAV-L, se le añadieron 2 gotas de la suspensión bacteriana correspondiente (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y todos los tubos se incubaron a 37 °C por 24 h. Transcurrido las 24 horas, se procedió a determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI). Cada ensayo se realizó con 3 réplicas.

Cada ensayo incluyó 2 discos controles; uno impregnado con DMSO y otro con el solvente utilizado en la fórmula original del producto PAV-L. Los discos se impregnaron con concentraciones conocidas del producto, elaboradas a partir de la suspensión SP2 del producto se describió en el aparte superior; los discos impregnados, se colocaron cuidadosamente sobre la superficie de placas de Petri conteniendo agar Müeller–Hinton, las cuales fueron inoculadas previamente con una suspensión bacteriana, ajustada a patrón Mac Farland 0,5 (equivalente a $1,5 \times 10^8$ células/ml). Las placas se colocaron en la nevera, a 5 °C durante 12-18 h, para inhibir el desarrollo de las bacterias y permitir la difusión del producto; al cabo de este período, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. El efecto inhibitorio se confirmó mediante la aparición de halos de inhibición alrededor del disco; en cuyo caso, se registró el diámetro de éstos en milímetros. La determinación de la actividad antibacteriana seguirá el esquema de etapas, descrito anteriormente en condiciones generales de la investigación, hasta cubrir el período de seis (6) meses preestablecido.

Método cuantitativo o concentración mínima inhibitoria (CMI)

Este método es de uso convencional en microbiología y expresa el grado de sensibilidad de una bacteria a la acción de una sustancia o mezcla de ellas y consistió en preparar diluciones en serie del producto natural PAV-L, a partir de una concentración conocida, que permitió determinar la concentración mínima requerida para inhibir el desarrollo de las 3 especies bacterianas, usadas como modelo de bioactividad. Para ello, se tomaron 3mg del producto y se disolvieron en 10ml de caldo Müeller-Hinton (CMH), a partir de esta solución se hicieron diluciones seriadas en tubos con 9 ml de CMH; se transfirió 1ml de la solución al primer tubo, se homogenizó por agitación manual, y se repitió

sucesivamente el procedimiento con los tubos restantes. Luego, se preparó una suspensión de la especie bacteriana a probar, ajustando la concentración a patrón Mc Farland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ cél.), se inoculó asépticamente cada tubo con 02 gotas de la suspensión y se incubó a 37 °C por 24 h. Al cabo de este período, se verificó si hubo inhibición y a que concentración ocurrió para cada especie bacteriana; esta representó la CMI. Como se desconocía el grado de actividad del producto PAV-L se estableció un máximo de 10 tubos por serie. Igualmente, se determinó la CMI utilizando antibióticos de referencia adecuados para cada especie bacteriana y se comparó la eficiencia del producto PAV-L, cuando se manifestó actividad inhibitoria. Previendo que el producto generara turbidez en el medio de cultivo, que pudiera interferir con los resultados, se aplicó en método de inclusión, que consistió en colocar un inóculo de cada dilución en placas estériles y cubrir con AMH fundido y enfriado a 45 °C, mezclando suavemente para asegurar la distribución homogénea en cada placa antes de que el agar se solidificara. Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h y, posteriormente, se procedió a determinar la CMI; aquella a partir de la cual no aparecieron colonias en el agar (Koneman *et al.*, 2008).

Perfil de sensibilidad a los antibióticos

Los perfiles de susceptibilidad a los antibióticos se determinaron para cada cepa bacteriana, utilizada como modelo de actividad biológica. Para ello, se colocaron discos de antibióticos comerciales según la especie bacteriana (Tabla 1), sobre placas de agar Müeller-Hinton, previamente inoculadas con la cepa a probar, ajustada al patrón Mc Farland 0,5, aplicando la técnica de diseminación en 3 direcciones con hisopo estéril. Los resultados se utilizaron como valores de referencia para comparar una vez detectada la actividad antibacteriana en el producto natural PAV-L. El grado de sensibilidad de cada antibiótico comercial, se determinó por comparación con los estándares interpretativos de las zonas de inhibición, establecidos por las respectivas casas fabricantes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ESTABILIDAD FÍSICO-QUÍMICA DEL PRODUCTO NATURAL PAV-L

Determinación de pH:

PAV-L mostró pequeñas variaciones en los niveles de pH entre etapas (0,16); en promedio representó solo un 2,96% respecto a su valor inicial, y se mantuvo dentro del rango de pH ácido, con un valor mínimo de 5,06 y un máximo de 5,40, durante las cuatro etapas de análisis del producto PAV-L, lo cual indica que coadyuvó en su estabilidad física, química y microbiológica. El pH observado guarda relación con los elementos que lo constituyen, coincidiendo con lo señalado por Casaubon, *et al.* (2018), quienes afirman que un producto elaborado a partir de una serie de compuestos con pH ácido, se mantendrá en niveles de pH ácido. Chavarría (2012) explica que cuando los niveles de pH están en el rango de acidez, contribuyen a preservar la estabilidad de los alimentos, disminuyendo la posibilidad de deterioro de los mismos, prolongan su vida útil y, por ende, los beneficios del alimento *per sé* (Tabla II).

Tabla II. Valores promedio de pH obtenidos a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	pH
E ₀	5,40 ± 0,05
E ₂	5,31 ± 0,11
E ₄	5,06 ± 0,08
E ₆	5,36 ± 0,06

Variación de pH entre etapas: 2,96 %

Porcentaje de humedad (% H):

La Tabla III muestra los valores de humedad obtenidos en las distintas etapas de la investigación. Como se puede apreciar, a medida que transcurrió el tiempo la humedad del producto disminuyó ligeramente (2,37 %), lo que es una buena noticia, ya que el

contenido de agua es una de las técnicas de mayor importancia en las buenas prácticas de manufactura de productos alimenticios, reduciendo cualquier posibilidad de alteración en la fórmula y, además, contribuye a mantener su estabilidad en el tiempo; es decir su vida útil. El grado de humedad depende de diversos factores principalmente de la naturaleza del producto alimenticio (jugos, salsas, cremas, pasta, etc.), sobre todo si se trata de un alimento individual o mezcla de 2 o más alimentos. Resultados similares se han obtenido en numerosos productos alimenticios. Así, Mella *et al.* (1976) realizaron un estudio químico en salsas de tomate, elaboradas por tres industrias nacionales, cuyos valores de humedad oscilaron entre 70,5 % y 81,7 %, indicando que dichas salsas de tomate estaban bastante concentradas.

Tabla III. Porcentajes de humedad obtenidos a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	HUMEDAD (%)
E ₀	66,03 ± 0,01
E ₂	64,61 ± 0,10
E ₄	63,20 ± 0,08
E ₆	63,18 ± 0,06

Variación de pH entre etapas: 2,37 %

Contenido de fibra cruda (% FC):

Los resultados del contenido de fibra del producto PAV-L, revelan que la variación observada representó apenas un 0,33 %, valor que se corresponde con la ligera pérdida de humedad durante el periodo de 6 meses, indicando que el contenido de fibra húmeda se conservó prácticamente inalterado; lo que evidencia que se mantiene la estabilidad del producto en función del tiempo (Tabla IV).

Tabla IV. Contenido porcentual de fibra cruda obtenida a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E₀-E₆).

ETAPAS	FIBRA CRUDA (%)
E ₀	8,00 ± 0,09
E ₂	8,00 ± 0,10
E ₄	7,50 ± 0,85
E ₆	7,50 ± 0.07

Pérdida total fibra cruda vs tiempo = 0,33 %

La determinación del contenido fibra en un alimento es de suma importancia, dado que la fibra mantiene la humedad y, en consecuencia, facilita la digestión de los alimentos, favorece la absorción de nutrientes y mejora el tránsito intestinal lo que contribuye a mantener un sistema digestivo saludable y a prevenir múltiples enfermedades que van desde un simple estreñimiento hasta cáncer (Mendoza, y Bautista, 2008). En otros alimentos de naturaleza similar como: salsas, compotas, papillas, etc., se han encontrado resultados parecidos. Por ejemplo, Moreiras *et al.* (2013) analizaron el contenido de fibra de un producto elaborado en base a la especie *Solanum lycopersicum*, encontrando una variación de 3,0 % de fibra, este porcentaje está muy por encima al obtenido en esta investigación, sugiriendo una asociación intrínseca de los componentes de PAV-L, los cuales aportan mayor cantidad de fibra conservando significativamente el porcentaje total de fibra. La mayoría de los productos en la industria alimenticia contienen un máximo 5 componentes vegetales simultáneamente, cada uno de ellos contribuye al contenido de fibra del producto final y se obtiene el valor acumulado, lo mismo sucede con PAV-L, solo que en este caso por ser un alimento funcional de uso terapéutico contienen 17 elementos y como es de esperar el aporte de fibra es la sumatoria de la contribución de todos los ingredientes.

Porcentaje de cenizas por el método de incineración directa (% C):

La Tabla V muestra los porcentajes de cenizas obtenidos para el producto PAV-L, como se puede observar la variación de dichos porcentajes es mínima, representando una

pérdida total casi imperceptible de solo de 0,07 %; lo que indica que el contenido de cenizas se mantuvo prácticamente igual desde el momento de su elaboración, reafirmando la elevada estabilidad del producto en el tiempo.

Tabla V. Porcentaje de cenizas obtenidos por el método de incineración directa a partir del producto natural PAV-L, en las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	CENIZAS (%)
E ₀	1,71 ± 0,01
E ₂	1,70 ± 0,01
E ₄	1,61 ± 0,01
E ₆	1,60 ± 0,02

— Pérdida total de cenizas vs tiempo = 0,07 %

En un estudio realizado en Venezuela por Monsalve y Machado (2007), donde se comparan los porcentajes de cenizas aplicando dos métodos de deshidratación (deshidratación simple y a peso constante) en el tomate var. manzano de la especie *Lycopersicon esculentum* Millër, encontraron que las cenizas totales por el método simple al día cero fue de 11,95 % y de 10,72 % al día 60, con una pérdida total de 1,23 %, mientras que por el método de peso constante se obtuvieron valores de 10, 25% y 9,31 %, respectivamente, con pérdida del 0,94 %. La diferencia encontrada respecto al porcentaje de cenizas de PAV-L, era de esperarse ya que este producto incluye 17 componentes vegetales en su formulación y su forma de presentación es un líquido denso, mientras que los anteriores corresponden a una sola especie vegetal medida directamente al fruto; se cita solo como referencia, ya que no existe hasta el momento un producto que reúna cualidades comparables a PAV-L.

Contenido de lípidos totales (% L):

El contenido de lípidos del producto natural PAV-L, no manifestó casi variación; de hecho, su proporción de lípidos se mantuvo a medida que transcurrió el período de 6 meses establecido, con una pérdida mínima de apenas 0,07 % (Tabla VI).

Tabla VI. Contenido porcentual de lípidos en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	LÍPIDOS (%)
E ₀	8,60 ± 0,01
E ₂	8,60 ± 0,02
E ₄	8,59 ± 0,01
E ₆	8,40 ± 0,05

Pérdida total grasas vs tiempo= 0,07 %

En esta ocasión y a pesar de ser una combinación de elementos de origen vegetal, los valores registrados muestran una proporción promedio respecto al rango encontrado en especies de la misma naturaleza, si se compara con los valores individuales de cada uno de los ingredientes de la fórmula. Uno de ellos es un aceite, que funge como solvente para concentrar los compuestos bioactivos liposolubles responsables de la mayor parte de la actividad antiinflamatoria; en su mayoría, aceites esenciales, vitaminas y otros compuestos liposolubles presentes en los componentes de la fórmula. Simultáneamente, algunos de estos sonos más ricos en azúcares (principalmente monosacáridos-glucosa, fructuosa, sacarosa-), mientras otros presentan mayor contenido de fibra o combinaciones variables de fibras y azúcares (Giacopini de Z. *et al.*, 2013), coincidiendo este criterio con los resultados obtenidos por Arroyo *et al.* (2018), donde señalan los valores del contenido de grasas de numerosas hortalizas y verduras analizadas. También se puede apreciar en la tabla de resultados (Tabla VI).

Contenido de proteínas (% P):

En esta oportunidad, el contenido de proteínas vs del tiempo se mantuvo prácticamente constante, mostrando una pequeña variación (0,02 %), desde su elaboración hasta cumplir los 6 meses (Tabla VII).

Tabla VII. Contenido porcentual de proteínas en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	% PROTEÍNAS
E ₀	4,91 ± 0,02
E ₂	4,91 ± 0,01
E ₄	4,90 ± 0,03
E ₆	4,87 ± 0,05

Pérdida total de proteínas vs tiempo = 0,02 %

En alimentos de origen vegetal, la cantidad de proteínas es mucho menor comparado con los cárnicos; no solo en la proporción, sino el tipo de proteínas presentes; así mientras los vegetales contribuyen mayoritariamente a la formación de compuestos hidrosolubles, por ejemplo vitamina C, las de origen animal conllevan a la síntesis de sustancias funcionales de naturaleza muy distintas como las hormonas, cuyas funciones son vitales para regular todos los procesos bioquímicos en los organismos (Nelson *et al.*, 2013). En cambio, las verduras y hortalizas aportan cantidades variables que, aunque llegaran a igualar la proporción, nunca ejercerían los mismos efectos que las de origen animal; sin embargo, la ingesta excesiva de algunos vegetales ricos en carotenos, taninos pueden actuar como inhibidores competitivos, bien inactivando directa o indirectamente alguna función esencial (como la síntesis de alguna hormona o vitamina) o produciendo una alteración temporal y/o irreversible e incluso manifestarse como caracteres fenotípicos (Meléndez *et al.*, 2004).

En alimentos de origen vegetal, la cantidad de proteínas es mucho menor comparado con los cárnicos; no solo en la proporción, sino el tipo de proteínas presentes; así mientras los vegetales contribuyen mayoritariamente a la formación de compuestos hidrosolubles, por ejemplo vitamina C, las de origen animal conllevan a la síntesis de sustancias funcionales de naturaleza muy distintas como las hormonas, cuyas funciones son vitales para regular todos los procesos bioquímicos en los organismos (Nelson *et al.*, 2013). En cambio, las verduras y hortalizas aportan cantidades variables que, aunque llegaran a

igualar la proporción, nunca ejercerían los mismos efectos que las de origen animal; sin embargo, la ingesta excesiva de algunos vegetales ricos en carotenos, taninos pueden actuar como inhibidores competitivos, bien inactivando directa o indirectamente alguna función esencial (como la síntesis de alguna hormona o vitamina) o produciendo una alteración temporal y/o irreversible e incluso manifestarse como caracteres fenotípicos (Meléndez *et al.*, 2004).

En un estudio sobre el contenido de proteínas de una gran variedad de especies vegetales, se encontró que los porcentajes de proteínas en la mayoría de las hortalizas analizadas era relativamente bajo en comparación a los de origen animal reportados, comparable a los resultados obtenidos en PAV-L en esta investigación (Arroyo y Carrete, 2018).

Detección de cloruros y bromuros (Cl y Br):

Al analizar los resultados en PAV-L, se aprecia la presencia tanto de cloruros como bromuros los cuales se mantienen durante el período considerado (Tabla VIII). La mayoría de productos alimenticios de origen vegetal muestran y conservan sus proporciones de cloruros y bromuros durante largos períodos de tiempo, años inclusive, ya que le son adicionados para saborizar y conservar la vida útil del alimento e inhibir o regular el desarrollo de microorganismos que pueda modificar la composición nutricional o funcional del alimento, que pueda traducirse en el deterioro parcial o total del alimento, lo que, a la vez, generaría grandes pérdidas económicas (Echarrys y Ramírez 2002; Fernández *et al.*, 2007; Fermín *et al.*, 2009). La diferencia en relación a la presencia de cloruros y bromuros de PAV-L respecto a otros productos procesados de origen vegetal, sean nutricionales o funcionales, es que al producto PAV-L no se le agregaron conservantes distintos a los componentes que lo conforman; muchos de los cuales aportan elementos (aceites esenciales, flavonoides, etc.) que ,intrínsecamente, se combinan para ejercer una actividad no solo antiinflamatoria sino también antimicrobiana, indicando que la fusión de dichos elementos vegetales es el factor

responsable de mantener su inocuidad, valor nutritivo, valor terapéutico y prolongar su vida útil (Campos-Santaella, *com pers.*).

Tabla VIII. Detección de cloruros y bromuros en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	CLORUROS Y BROMUROS
E ₀	Presentes
E ₂	Presentes
E ₄	Presentes
E ₆	Presentes

Detección Azúcares reductores (A_R):

En la tabla IX, se muestran los resultados cualitativos correspondientes a los azúcares en el producto PAV-L, como se puede apreciar se detectó la presencia de azúcares reductores en cada una de las etapas, indicando que dicho contenido se mantiene estable durante todo el período de estudio.

Tabla IX. Detección de azúcares reductores en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	AZÚCARES REDUCTORES
E ₀	Presente
E ₂	Presente
E ₄	Presente
E ₆	Presente

Martínez y Blanco (2011) determinaron la presencia de azúcares reductores en salsas de tomate, provenientes de distintos centros de abastecimiento en Ciudad de León (Nicaragua), los cuales coinciden con los datos observados en el producto PAV-L en esta investigación. Muchos productos de producción casera e industrial, presentan azúcares

reductores como resultado de su adición para realzar ciertos sabores de sus componentes, regular su acidez, especialmente en salsas y jugos y también para mantener su estabilidad y prolongar su vida útil (Arroyave, 2017; Aconsa, 2021).

Contenido del nitrógeno básico volátil total (% NBVT):

En esta investigación se determinó el NBVT, tomando en cuenta que muchos de los componentes de la fórmula son ricos en proteínas y, aunque su naturaleza y proporción son mucho menores respecto a los alimentos de origen animal, permitió confirmar la estabilidad de las proteínas presentes en el producto PAV-L en función del tiempo. El NBVT mostró una variación poco significativa (0,002 %); es decir que se mantuvo desde el momento de su elaboración hasta completar los 6 meses de estudio (Tabla X).

Tabla X. Contenido porcentual de nitrógeno básico volátil total para el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	NITRÓGENO BÁSICO VOLÁTIL TOTAL (%)
E ₀	0,781 ± 0,001
E ₂	0,780 ± 0,001
E ₄	0,785 ± 0,001
E ₆	0,783 ± 0,001

— Pérdida total de nitrógeno básico volátil total vs tiempo = 0,002 %

Determinación de la densidad (D):

PAV-L mostró una densidad promedio de 0,920, este valor es ligeramente menor a 1, que es el valor de referencia utilizado en la industria de alimentos (Tabla XI). La densidad del producto se mantuvo constante durante las 4 etapas consideradas, otro elemento que confirma la estabilidad físico-química del mismo. PAV-L posee una composición única, muy distinta a la que presentan otros productos alimenticios de disponibles, así: pastas, salsas, sopas, cremas o papillas, etc.; sin embargo y a modo de referencia, los valores de densidad en tales productos oscilan entre 0,800 y 1,600 en sopas para niños en edad

preescolar (Araya *et al.*, 1991), 4,600 y 12,000 en pastas de tomate (Sánchez *et al.*, 2019) y 1,010-1,060 en salsa de ajo (Mida, 2020).

Tabla XI. Valores promedio de densidad para el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	DENSIDAD
E ₀	0,920 ± 0,010
E ₂	0,920 ± 0,011
E ₄	0,920 ± 0,008
E ₆	0,920 ± 0,005

Índice de acidez (Ía):

El contenido de ácidos libres del producto PAV-L muestra cierto grado de acidez (Tabla XII). Estudios similares muestran valores de acidez muy superiores a los encontrados en este estudio.

Tabla XII. Índice de acidez en el producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	ÍNDICE DE ACIDEZ (%)
E ₀	0,09 ± 0,01
E ₂	0,09 ± 0,01
E ₄	0,10 ± 0,01
E ₆	0,10 ± 0,01

Índice de peróxido (% Ip):

En la presente investigación, se pudo observar que a medida que transcurrió el tiempo, el índice de peróxido en PAV-L incrementó ligeramente, apenas un 0,28 %, valor que se encuentra dentro del rango estándar internacional (0-25 meq O₂/Kg) utilizado en la industria de alimentos (Tabla XIII), indicando que el producto se mantiene bastante estable en su composición; aun cuando éste se almacenó a temperatura ambiente, la cual

oscilaba durante el día y excedía los 25 grados que se utiliza para almacenaje industrial de alimentos funcionales y medicamentos. Numerosos estudios se han realizado a una amplia gama de productos, entre ellos un importante grupo de aceites vegetales, en su mayoría poliinsaturados (Oliva, palma, nuez y otros frutos secos), registrando valores menores (1,00 meq O₂/Kg) a los encontrados en el producto PAV-L (FoodLab, 2022). Estos resultados demuestran, una vez más, que no se ha iniciado el proceso de deterioro del producto PAV-L, el cual usualmente se manifiesta en valores del índice de peróxido superiores al 25 meq O₂/Kg, indicando un riesgo mínimo de que el producto se torne rancio y cambie, en mayor o menor grado, las características organolépticas o la actividad terapéutica para la que fue creado. Meneses (2009), evaluó la composición fisicoquímica de un aderezo, elaborado a base de tomate y aceite de oliva, encontrando que el índice de peróxido aumentaba ligeramente en función del tiempo (3.0 a 7.9 meq O₂/Kg), al ser sometido a temperaturas de 20 °C a 40 °C por periodos de hasta 32 días. A pesar de que el producto PAV-L no se sometió, en forma directa, a ningún calentamiento adicional una vez elaborado, solo durante su preparación, si se mantuvo expuesto al cambio de temperatura ambiente durante el período de investigación, con temperaturas variables que oscilaron entre 22-32°C.

Tabla XIII. Valores porcentuales del índice de peróxido del producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

ETAPAS	ÍNDICE DE PERÖXIDO (MEq/Kg)
E ₀	2,23 ± 0,30
E ₂	2,23 ± 0,35
E ₄	2,50 ± 0,32
E ₆	2,80 ± 0,50

Incremento del índice de Peróxido vs tiempo = 0,28 %

En otro estudio, sobre la estabilidad oxidativa de un aderezo a base de quinoa, sometido a diferentes temperaturas, 16 ± 5°C, 37°C y 47°C, durante 120, 48 y 28 días, respectivamente, los valores de los peróxidos decrecieron en el tiempo y, en

consecuencia, también disminuyó el proceso de oxidación lipídica; este comportamiento es inusual, por lo que es factible que parte de los peróxidos se transformaron en productos secundarios de oxidación como hidroperóxidos, cetonas, entre otros, los cuales no se consideraron en el producto PAv-L, ya que el cambio en el índice de peróxido en PAv-L en esta investigación, permaneció dentro de los estándares internacionales (Rojas, 2021).

ESTABILIDAD BACTERIOLÓGICA

La Tabla XIV, compila todos los resultados obtenidos en los diferentes análisis bacteriológicos realizados para detectar la presencia de bacterias aerobias mesófilas y psicrófilas, coliformes totales y fecales.

Tabla XIV. Análisis de la estabilidad bacteriológica del producto natural PAv-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

Microorganismos	E₀	E₂	E₄	E₆
Aerobios mesófilos	-	-	-	-
Aerobios psicrófilos	-	-	-	-
Coliformes totales	-	-	-	-
Coliformes fecales:				
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> sp.*	-	-	-	-
<i>Shigella</i> sp.	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> **	-	-	-	-

*: Especie bacteriana de tolerancia cero

** : Especie bacteriana de tolerancia cero, no coliforme

-: No hubo crecimiento

Los ensayos para aerobios mesófilos y psicrófilos del producto PAv-L, mostraron que no hubo crecimiento bacteriano en ninguna de las diluciones seriadas (≤ 100 UFC), indicando ausencia de bacterias aerobias mesófilas o psicrófilas. Tampoco se desarrollaron colonias bacterianas en ninguna de las etapas de la consideradas en esta

investigación (Figuras 3 y 4). Adicionalmente, la siembra a través del método de inclusión de todas las diluciones seriadas permitió corroborar, la ausencia total de crecimiento bacteriano, al no desarrollarse colonias bacterianas en ninguna de las placas inoculadas. Estos resultados son muy alentadores, ya que sugieren que la fusión de los componentes bioactivos en el producto natural PAV-L inhiben el desarrollo de bacterias, evitando alteraciones en la fórmula original; lo que contribuyen a prolongar la vida útil del mismo y a conservar intactas sus propiedades benéficas, por al menos 6 meses sin siquiera aplicar el usual almacenamiento a la temperatura usual de 25°C, confirmando la estabilidad e inocuidad bacteriológica del producto PAV-L y, *per sé*, su actividad biológica intrínseca de sus componentes.

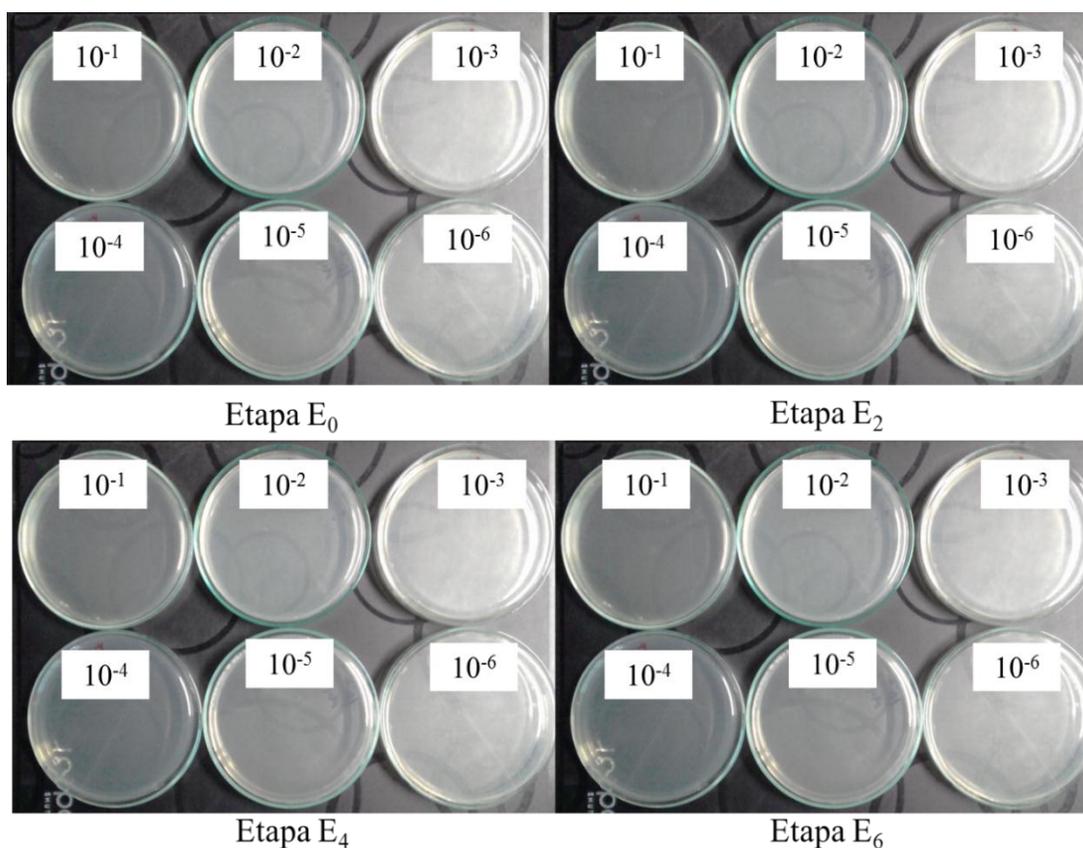


Fig. 3. Detección de la presencia de bacterias aerobias mesófilas del producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E_0 - E_6).

Por otra parte, también se pudo comprobar la ausencia de coliformes totales y fecales (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp.), así como tampoco se desarrollaron otras especies de microorganismos patógenos en humanos como *Staphylococcus aureus*, que igualmente pudieran desmejorar la calidad del producto por deterioro en sí o por el desarrollo y acumulación de toxinas entéricas y, por ende, generar problemas de salud pública (enfermedades diarreicas y/o intoxicaciones). Contreras y Méndez (2019), quien analizó el tiempo de vida media de una salsa para barbacoa (BBQ) en anaquel, comprobó la calidad de la salsa BBQ, mediante la caracterización microbiológica a temperaturas de incubación de 35 °C a 52 °C, al demostrar que éstos se encontraban por debajo de ≤ 100 UFC, durante los 90 días del estudio, ya que los parámetros estándar de calidad del producto se mantuvieron dentro de los requisitos exigidos para garantizar la calidad del producto; estos resultados coinciden con los reportados en la presente investigación.

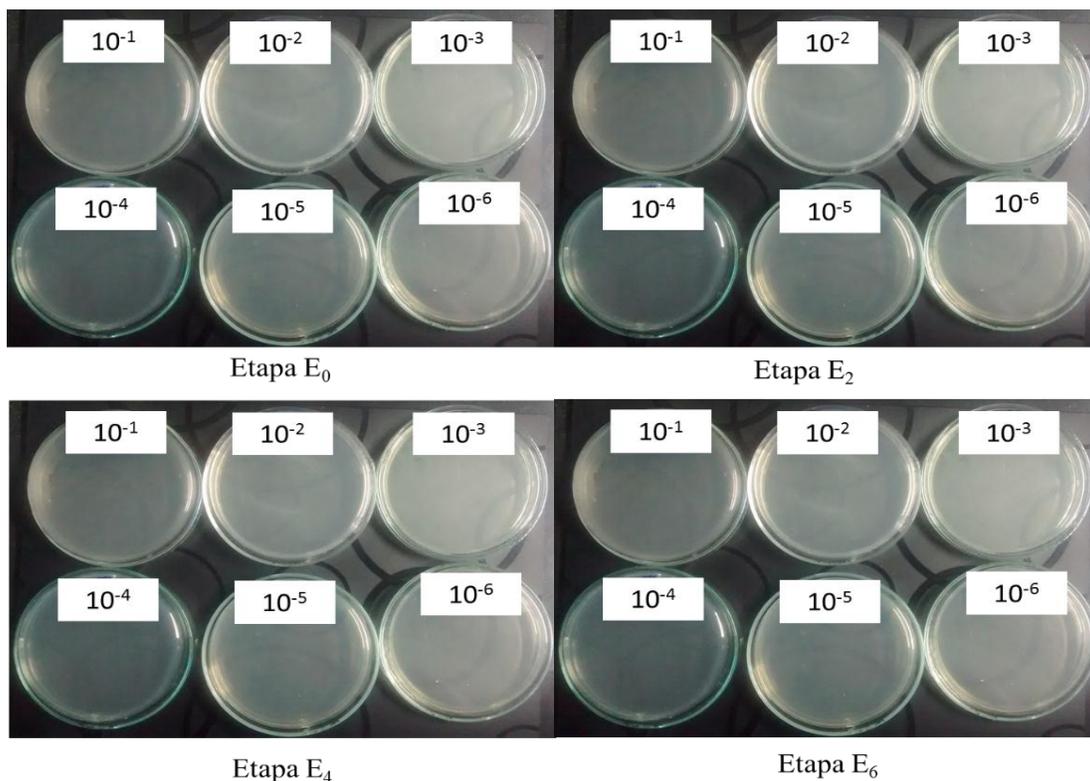


Fig. 4. Detección de la presencia de bacterias aerobias psicrófilas del producto natural PAV-L, durante las diferentes etapas de investigación (E₀ - E₆).

En otra investigación realizada por Sánchez (2011), sobre la fibra de zanahoria para sustituir gomas y almidones en la elaboración de salsa de tomate, en la empresa MARCSEAL S.A., los análisis de estabilidad microbiológica mostraron igualmente que no hubo presencia de microorganismos asociados a deterioro; aunque estos resultados son similares a los obtenidos para PAV-L, es oportuno aclarar que éstos son productos industriales a los que se les añaden sustancias conservantes para prolongar su vida útil, mientras que la ausencia de proliferación bacteriana observada en el producto natural PAV-L responde, exclusivamente, a la interacción de los componentes presentes la fórmula, demostrando que la combinación de sus ingredientes y el protocolo de elaboración de la fórmula ejercen actividad inhibitoria. PAV-L parece un excelente candidato útil como terapia complementaria para tratar ciertas enfermedades en la población.

ANÁLISIS SENSORIAL:

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el análisis sensorial del producto natural PAV-L; primero, se discuten las variaciones encontradas en cada característica organoléptica (Olor, Color, Sabor y Textura), durante las 4 etapas de investigación y, posteriormente, se hace una comparación de como dichas características variaron entre sí, durante ese período de tiempo.

La Tabla XV, condensa los valores obtenidos (Individuales, Media \pm SD) para la percepción de la característica olor. Como se puede, observar algunos valores de la escala considerada para el análisis (ANEXO 1), no fueron seleccionados y, por ello, la media y desviación estándar aparecen expresados como cero (0). El comportamiento de la data se aprecia mejor en la Figura 4, más abajo.

Tabla XV. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica olor, expresada como media y desviación estándar, obtenidos a partir de los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E₀ – E₆).

Puntaje	E₀	E₂	E₄	E₆	Media ± (SD)
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00
2	0,00	0,00	3,30	0,00	0,83 ± 1,43
3	3,30	0,00	6,60	3,30	3,30 ± 2,33
4	3,30	6,60	3,30	3,30	3,31 ± 0,56
5	6,60	16,60	3,30	20,00	11,63 ± 6,88
6	10,00	13,30	10,00	26,60	14,98 ± 6,85
7	23,30	30,00	46,60	26,60	31,63 ± 8,96
8	36,60	20,00	23,30	13,30	23,30 ± 8,48
9	26,60	13,30	3,30	6,60	12,45 ± 8,93

La Figura 5, muestra los resultados de la característica Olor en las diferentes etapas, se registraron valores solo entre los puntajes 3 (Me disgusta moderadamente) y 9 (Me encanta), con un valor máximo (46,60 %) en el puntaje 7 (Me gusta moderadamente) de la etapa E₄ y un valor mínimo (3,30 %) en los puntajes 3 y 4 (Me disgusta levemente) en la etapa E₀, puntajes 2 (Me disgusta mucho), 4, 5 (Ni me gusta ni me disgusta) y 9 en la etapa E₄, y el puntaje 3 y 4 en la E₆, respectivamente, que pertenece al puntaje 3 (me disgusta moderadamente). En la característica organoléptica Olor, resultó evidente la variabilidad en la apreciación de los participantes, quienes conformaban grupos muy heterogéneos en cuanto a las variables edad, género, gustos personales y la novedad del producto, entre los principales factores que pudieran haber influido en su percepción; sin embargo, aunque en el momento no se hizo diferenciación en cuanto a estas variables, debido a las situación país que realmente hizo imposible conformar grupos más homogéneos, también fue evidente que a la población más joven de los participantes les agrado más el aroma del producto PAV-L desde la E₀, siendo más notable en la etapa 4 donde se encontró en una proporción elevada. (Figura 5).

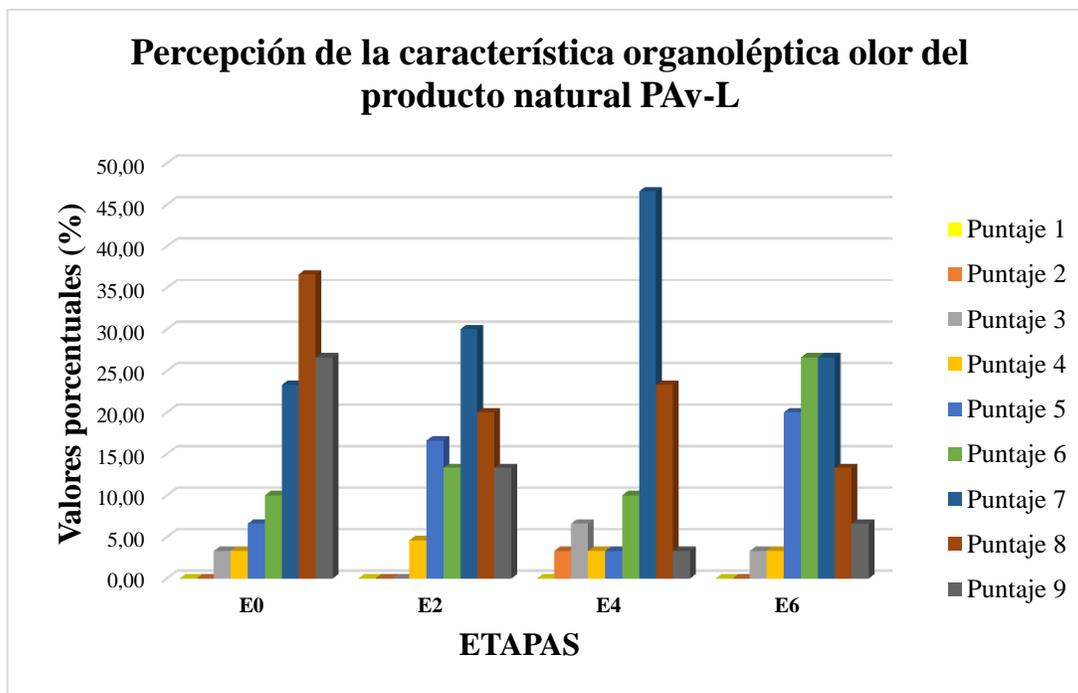


Fig. 5. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica olor, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAV-L.

Es oportuno agregar, que en la característica olor se obtuvo el registro medio más alto de los participantes (46,40%), siendo este asignado al puntaje 7 (entre los de más alta valoración) y en la etapa E₄ (grupo con mayor población joven), sugiriendo que esta característica, en particular, es de primaria importancia para el consumidor, entre las 4 características organolépticas consideradas en esta investigación; especialmente para la población joven. Esto podría ser una ventaja ya que, al ser un alimento funcional, sería ideal que las personas lo consumieran desde edad temprana, así no solo se podría prevenir los efectos de enfermedades inflamatorias, sino que también contribuiría a desarrollar buenos hábitos para alimentación saludable.

En la Tabla XVI, muestra los valores registrados para la característica organoléptica Color. De acuerdo a la escala utilizada (ANEXO 1), los puntajes variaron entre 2 y 9, con valores de apreciación que oscilaron entre un mínimo de 3,30 y un máximo de 33,30%. El color es fundamental en la percepción del producto por parte del consumidor. Es lo primero que detectamos y nos indica qué reacciones químicas han

sucedido durante la vida útil del alimento, que empieza a contar desde su fabricación hasta su consumo. Los cambios de color en los alimentos pueden verse afectados por ejemplo por la exposición a la luz, o el aire ambos catalizadores en la reacción bioquímica de formación de peróxidos que son responsables de las oxidaciones.

Tabla XVI. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica color, expresada como media y desviación estándar, obtenidos a partir de los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E₀ – E₆).

Puntaje	E₀	E₂	E₄	E₆	Media ± (SD)
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00
2	0,00	0,00	3,30	6,60	2,48 ± 0,00
3	0,00	6,60	0,00	6,60	3,30 ± 3,81
4	10,00	0,00	13,30	16,60	9,98 ± 5,68
5	10,00	16,60	16,60	20,00	15,80 ± 3,30
6	16,60	13,30	13,30	26,60	17,45 ± 6,30
7	23,30	20,00	33,30	13,30	22,48 ± 8,33
8	26,60	13,30	13,30	13,30	16,63 ± 6,62
9	20,00	33,30	6,60	16,60	19,13 ± 11,03

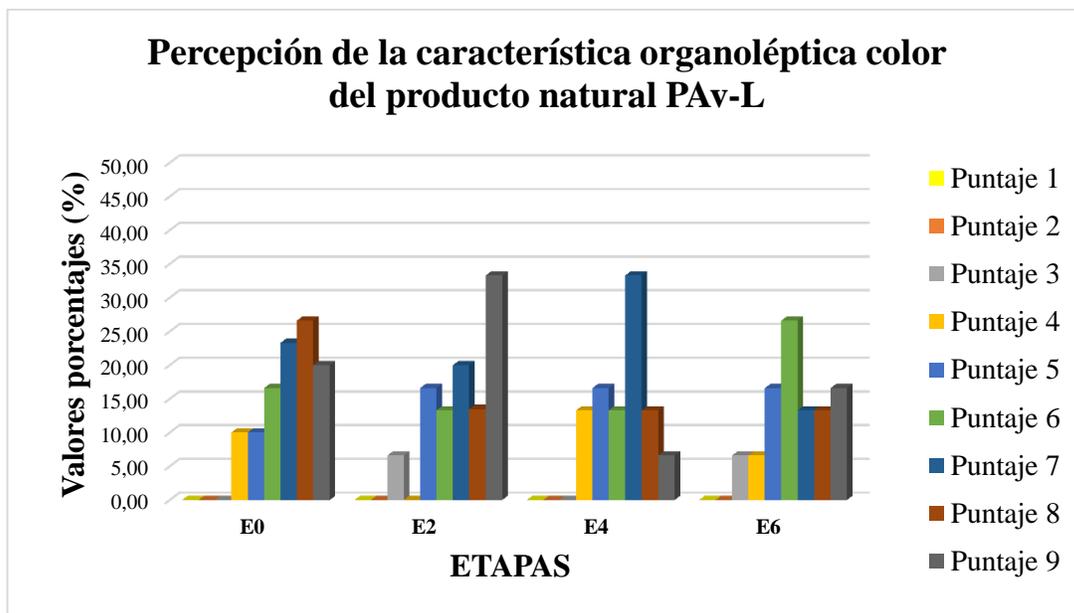


Fig. 6. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica color, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAV-L.

Los resultados de la percepción de la característica organoléptica Color en las diferentes etapas, enfatizan el hecho de que los mayores puntajes (9= Me encanta) se encuentran distribuidos principalmente entre las etapas E₂ y E₄, con un valor máximo (33,3%); no obstante, también se aprecia un nivel de aceptación considerable (26,6%) en las etapas E₀ y E₆, sugiriendo que el color es un elemento atractivo para los participantes y que el producto PAV-L les resulta agradable a sus sentidos (Figura 6).

En relación a la característica organoléptica sabor, se pudo constatar que, entre todas las características del producto, el sabor fue siempre la más comentada y apreciada durante todo el período de evaluación, incluso solicitaban que les dieran un poco más o ¿Con quién debían hablar para adquirirla ?, ¿Cuánto costaba ?, ¿Cuándo estaría disponible?, entre otras. Esta respuesta, por parte de los posibles consumidores, es un valor agregado muy importante en el producto, y definitivamente sugiere que sería una propuesta de gran aceptación, aun si no tuviese las propiedades terapéuticas para las que fue diseñado.

Los resultados para el sabor, revelan según la escala de valoración, un rango de variabilidad en el puntaje que va de 1 (Lo detesto) a 9, con registros mínimo y máximo de 3,30 a 40 %, en orden respectivo (Tabla XVII).

Tabla XVII. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica sabor, expresada como media y desviación estándar, obtenidos a partir de los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E₀ – E₆).

Puntaje	E₀	E₂	E₄	E₆	Media ± (SD)
1	0,00	0,00	3,30	0,00	0,83 ± 1,65
2	3,30	0,00	3,30	0,00	1,65 ± 1,91
3	0,00	0,00	3,30	3,30	1,65 ± 1,91
4	3,30	0,00	10,00	6,60	4,98 ± 4,30
5	0,00	10,00	3,30	10,00	5,83 ± 5,01
6	3,30	16,60	16,60	30,00	16,63 ± 10,90
7	30,00	26,60	40,00	20,00	29,15 ± 8,34
8	26,60	26,60	10,00	20,00	20,80 ± 7,84
9	36,60	10,00	10,00	20,00	19,15 ± 12,55

Por otra parte, la Figura 7 ilustra el comportamiento de los datos para la característica Sabor en las diferentes etapas, donde se observó que los valores estuvieron distribuidos entre 1-9 con el valor superior (40,0 %) en la etapa E₄ en el puntaje 9, además, mostró su mínimo valor en la misma etapa en el puntaje 1 (“Lo detesto”).

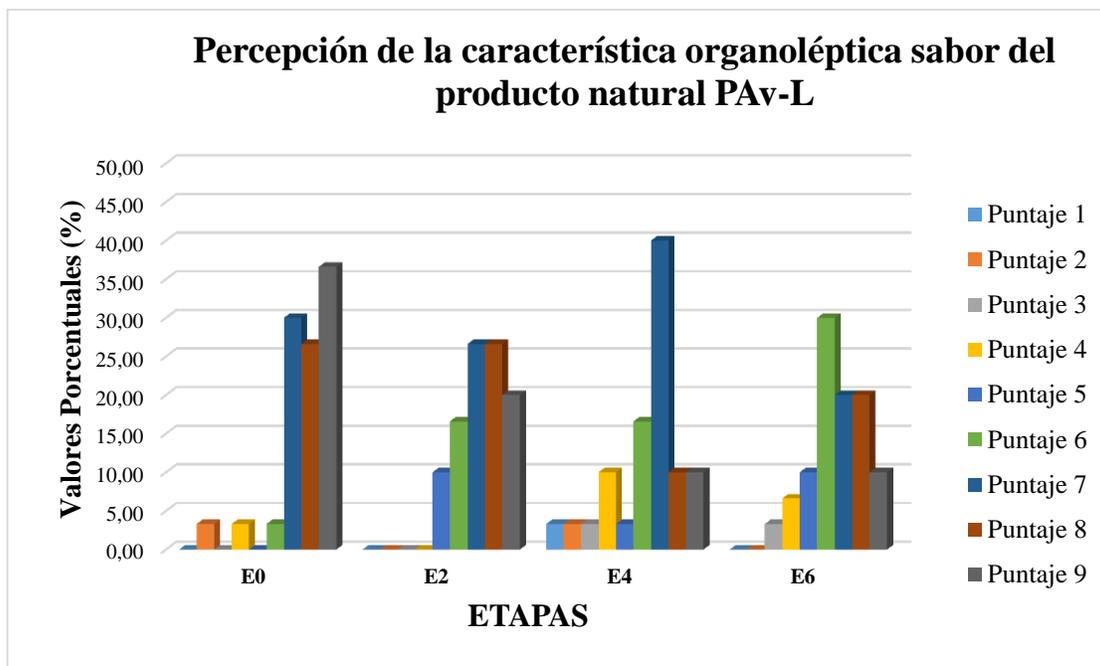


Fig. 7. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica sabor, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAv-L.

Cabe mencionar, que solo una persona durante toda la investigación manifestó detestar el sabor del producto, este registro dista de los obtenidos en la población por etapas y periodo total de evaluación; al conversar con este participante, expresó que le desagradaba no el sabor en sí mismo, sino el hecho de su alto contenido de aceite. Entonces, se le explicó que la actividad biológica del producto reside principalmente en aceites esenciales de sus componentes y que dicho aceite es poliinsaturado, en otras palabras, también provee beneficios a la salud. En virtud de ello, se estimó en un principio descartar este registro por su influencia en el análisis estadístico de los resultados; no obstante, se tomaron todos los registros, considerando su posible ocurrencia en la población general. Gracias a ello, se hizo la aclaratoria al resto de los participantes, quienes ya habían realizado la evaluación ese día, y a los grupos posteriores para que no afectara su percepción. La textura es otro factor que hay que tener presente puesto que es una primera interacción con el producto y usamos el sentido del tacto para evaluar su estado y elegir el que más se adapta a nuestros propios criterios de preferencia. El consumidor sabe detectar cuándo este parámetro se vuelve indeseable,

y automáticamente se relaciona con una alteración microbiológica que nos hace evitar su consumo.

Tabla XVIII. Análisis sensorial del producto natural PAV-L para la característica organoléptica textura, expresada como media y desviación estándar, obtenido a partir de los puntajes de percepción de los participantes en la degustación, durante las cuatro etapas de la investigación (E₀ – E₆).

Puntaje	E₀	E₂	E₄	E₆	Media ± (SD)
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00
2	10,00	3,30	16,60	3,30	8,30 ± 6,37
3	0,00	16,60	0,00	10,00	6,65 ± 8,14
4	3,30	10,00	13,30	10,00	9,15 ± 4,20
5	6,60	13,30	16,60	13,30	12,45 ± 7,37
6	13,30	20,00	16,60	10,00	14,98 ± 4,30
7	16,60	26,60	36,60	30,00	27,45 ± 8,34
8	26,60	10,00	16,60	13,30	16,63 ± 6,99
9	30,00	13,30	16,60	10,00	14,98 ± 10,38

La característica textura manifiesta un comportamiento ligeramente distinto a las demás características organolépticas hasta ahora discutidas; en esta ocasión, la variabilidad fluctúa no solo entre las diferentes etapas, sino también entre los registros correspondientes a cada etapa, indicando una alta variabilidad en la apreciación de la característica textura del producto PA-L por los distintos grupos de participantes (Figura 8).

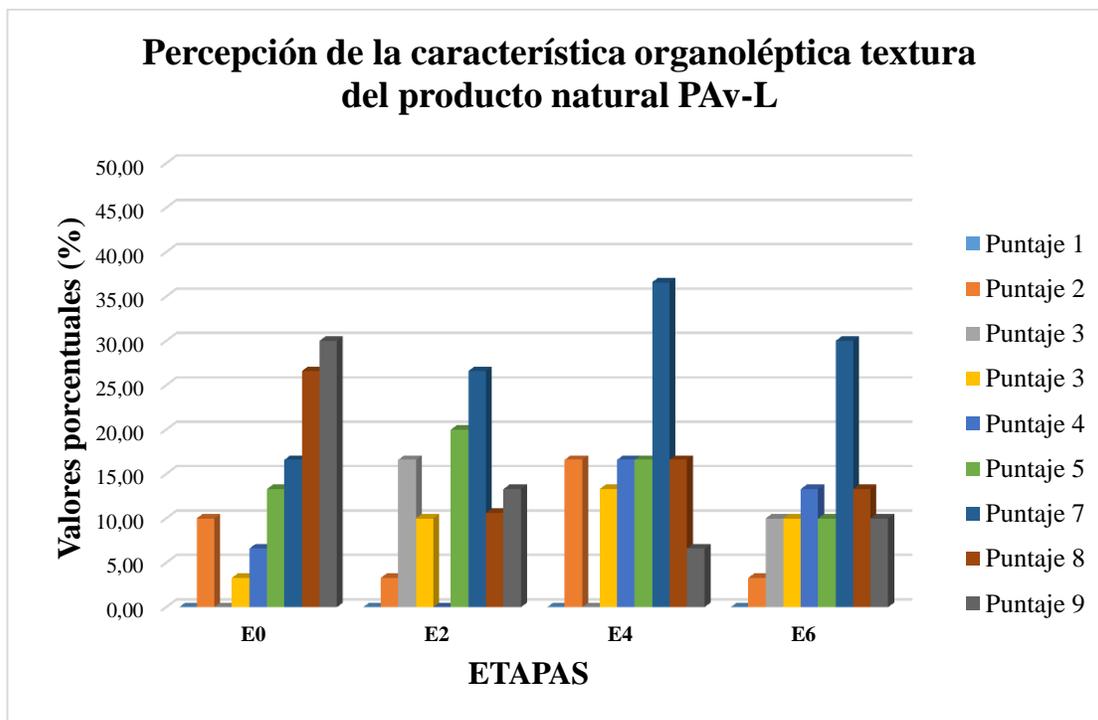


Fig. 8. Porcentajes de la percepción para la característica organoléptica textura, obtenidos de los participantes en el análisis sensorial del producto natural PAV-L.

Aunque la heterogeneidad en la conformación de los grupos de personas sigue siendo un elemento de peso en los valores registrados, pareciera que a los distintos grupos les costó decidir, según su percepción, el puntaje a asignar en cuanto a la textura del producto. Indagando al respecto, se pudo descifrar que, aunque a la mayoría le gustaba mucho el producto, al consumirlo se encontraban trocitos de los componentes, los cuales fueron del agrado de muchos y no tanto de otros pocos, mientras que algunos no estaban seguros de como juzgar la característica textura y reasignaban uno u otro valor en la escala (se notaba que habían borrado varias veces en ese renglón). A partir de estos resultados se dedujo que probablemente cuando el producto esté disponible en el mercado, tendrá al menos dos presentaciones; una totalmente homogeneizada donde no se sientan trocitos y otra con trocitos, a fin de complacer a todos los gustos, en lo posible. Con la finalidad que el producto sea todo un éxito y pueda satisfacer las necesidades de nuestros consumidores además este producto se perfila como un excelente candidato.

Hasta ahora se ha considerado cada característica y su variación individual desde el momento de su elaboración y durante los 6 meses establecidos para su evaluación, ahora se comparará el comportamiento de las características en conjunto y como éstas varían entre las distintas etapas de la investigación (E₀, E₂, E₄ y E₆).

Los resultados del análisis sensorial correspondiente a la Etapa inicial (E₀) se condensan en la Figura 9. Los valores registrados se distribuyeron entre los puntajes de 3 a 9 para la característica olor, con un valor máximo (36,6%) en el puntaje 8 (“Me gusta mucho”). En cuanto a la característica color, el puntaje osciló entre 4 y 9, concentrándose el mayor valor nuevamente en el puntaje 8 (26,6%), mientras que las características sabor y textura, los puntajes estuvieron entre 4 y 9; ambas categorías, con máximas en el puntaje 9 (“Me encanta”, 36,6 y 30%, respectivamente).

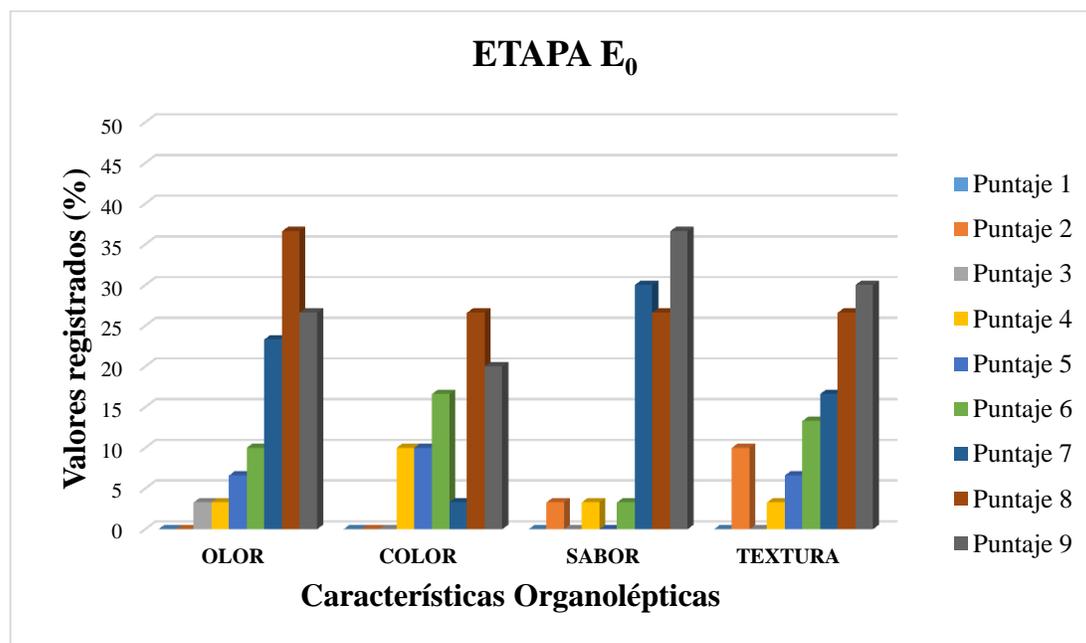


Fig. 9. Análisis sensorial de las características organolépticas del producto PAV-L, durante la etapa inicial (E₀).

El análisis sensorial se caracteriza por medir los atributos que involucran a los cinco sentidos: vista, oído, gusto, olfato y tacto. Además, es muy importante considerando que

son estas características las que van a determinar la elección de un producto y más importante aún, la decisión de comprarlo por parte del consumidor.

En la Figura 10, se visualizan los resultados obtenidos para la etapa (E_2), dos meses después de su elaboración, los valores registrados se encuentran distribuidos entre los puntajes 4 a 8 para la característica olor, con el valor máximo (30,0 %) en el puntaje 7 (me gusta moderadamente). En cuanto al color, el puntaje osciló entre 3 a 9 encontrándose el mayor valor en el puntaje 9 (33,3 %), en cambio, para el sabor el puntaje estuvo entre 5 a 9, centrándose el mayor valor en el puntaje 8 (26,6 %). En cuanto a la textura, el puntaje fluctuó entre 2 a 9, localizándose el mayor valor en el puntaje 7 (26,6 %).

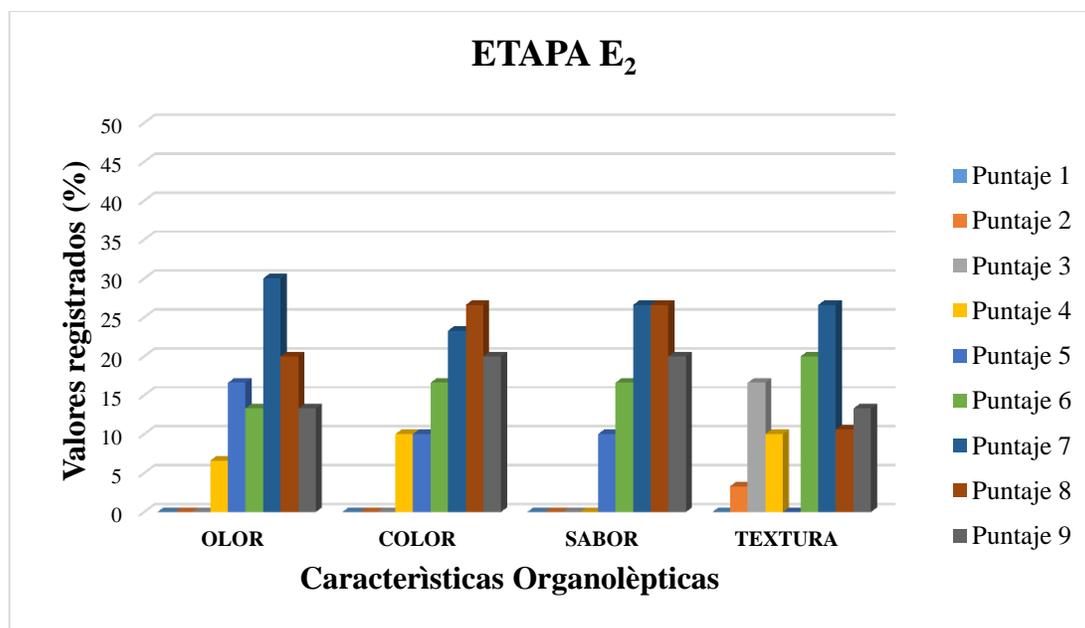


Fig. 10. Análisis sensorial del producto PAV-L, durante la etapa (E_2).

La Figura 11, ilustra los resultados del análisis sensorial correspondiente la etapa E_4 , en esta oportunidad, los valores registrados para la característica olor se distribuyeron principalmente entre los puntajes de 2 a 9, donde el valor superior (46,6%) se ubicó en el puntaje 7. Ahora bien, para la característica color, el puntaje varió entre 4 y 9,

observándose el valor máximo en el puntaje 7; así mismo, la característica sabor agrupó su mayor valor en el puntaje 7 y los valores estaban distribuidos en el puntaje de 1 a 9. También la característica textura los datos registrados estaban distribuidos entre el puntaje 2 a 9 obteniéndose su máximo valor en el puntaje 7.

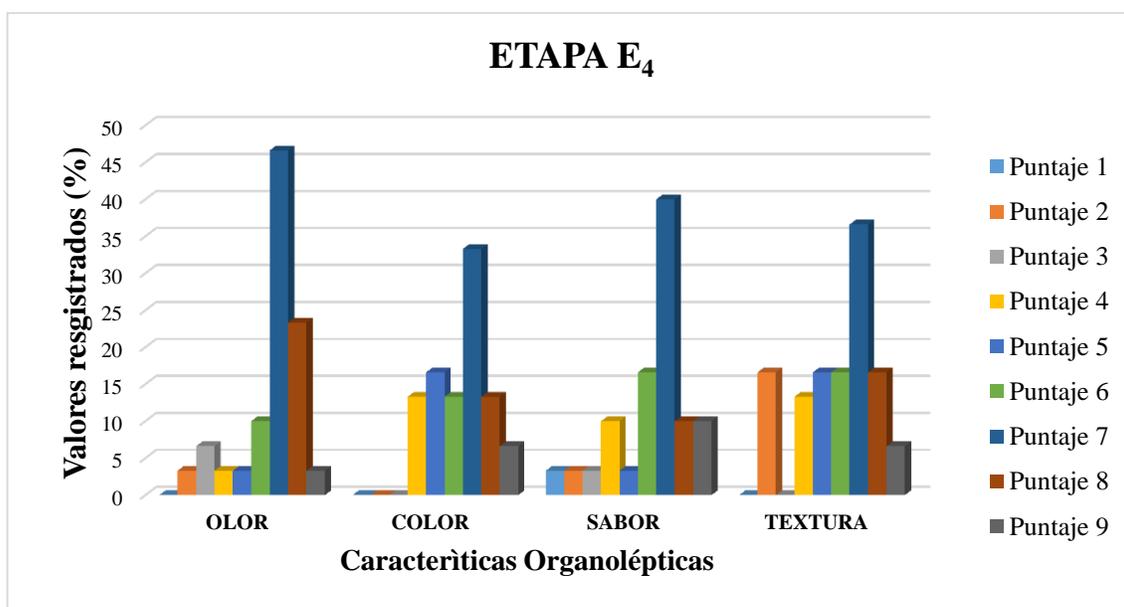


Fig. 11. Análisis sensorial del producto PAV-L, durante la etapa inicial (E₄).

En el análisis sensorial de la etapa E₆, se observó que los valores registrados para la característica olor, estaban distribuidos entre los puntajes de 3 a 9, alcanzando su valor máximo (26,6%) en el puntaje 6 y 7, en orden respectivo (Figura 12).

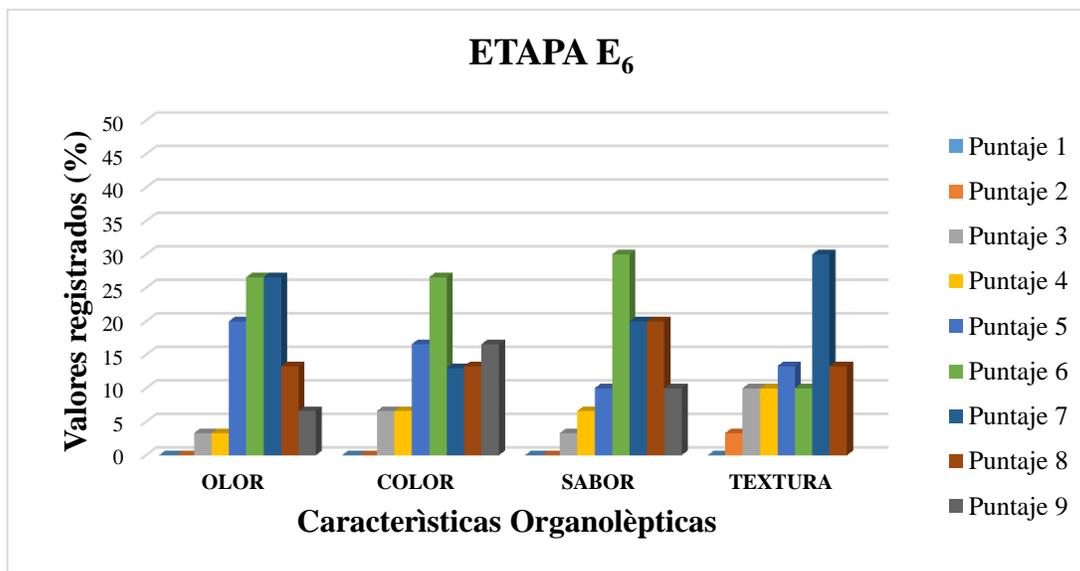


Fig. 12. Análisis sensorial del producto PAV-L, durante la etapa inicial (E₆).

En la característica organoléptica color, el puntaje osciló entre 3 y 9, obteniéndose el máximo valor (26,6 %) en el puntaje 6 (Me gusta poco). De igual manera, se alcanzó un valor superior (30,0 %) en el puntaje 6 para la característica sabor, donde los valores registrados fluctuaron de 3 a 9. Por último, la característica textura presentó registros que oscilaron entre 2 y 3; observándose el valor máximo en el puntaje 7 (30,0 %).

Durante las cuatro etapas de análisis sensorial del producto PAV-L, los mayores puntajes lo obtuvieron las características organolépticas olor y sabor; es muy posible, que esto sea una respuesta a la fusión de los aceites esenciales presentes que le proveen un aroma atractivo, que directamente se asocia a la percepción de un buen sabor. En cambio, las pocas veces que se registraron valores de baja aceptación, evidentemente, guardó relación con el aceite vegetal utilizado en su preparación, donde se concentran la mayoría de los componentes bioactivos (aceites esenciales) de naturaleza liposoluble y es poliinsaturado. Ese mismo aroma, en alguna oportunidad tuvo un efecto inverso en pocos participantes, lo que pudiera estar relacionado con la presencia de compuestos azufrados de ciertas especies en la formulación, los cuales, en ocasiones y a pesar de sus propiedades benéficas, pueden no resultar del agrado de algunos participantes, según sus gustos personales o nivel de tolerancia. Además, en estudios químicos de los

constituyentes de algunas de las plantas utilizadas en la elaboración del PAV-L, se han identificado tiosulfatos y óxido de tiopropanal como una de las moléculas responsables del olor (Ferary y Auger, 1996). Asimismo, el aroma depende en un 58 % de los ésteres y alcoholes de cadena larga, un 32 % de las cetonas y aldehídos, mientras el 10 % restante son alcoholes de cadena corta (Eskin, 1979), presentes en algunas de las especies vegetales constituyentes del producto. Por otro lado, el sabor también depende de las clases de azúcares (fructosa y glucosa), aminoácidos libres (glutamato) y ácidos orgánicos (ácido cítrico), pero en mayor medida por la amplia variedad de compuestos volátiles que proporcionan su aroma (Maneerat *et al.*, 2002; Anza *et al.*, 2006; Narain *et al.*, 2010; Sorrequieta *et al.*, 2010).

La percepción del color de los alimentos es un indicador de su composición química y de la estabilidad de sus componentes. Las tonalidades rojizas en un alimento se asocian con la presencia de frutos rojos como: que usualmente se encuentran en pimentones, tomates, remolacha, tomate, la sandía o la fresa, los cuales, por lo general, son gustosos, muy apreciados y característicamente implican un alto contenido de sustancias antioxidantes (carotenos, vitaminas, taninos, flavonoides, etc.). De igual forma, los colores naranja y amarillo sugieren la presencia de una elevada proporción de betacarotenos, como sucede con la naranja, zanahoria, jobito, durazno, entre otros. Por otra parte, algunas personas asocian el color rojo con sustancias calientes o picantes y, quizás por ello, el puntaje disminuyó, ya que no muchas personas les agradan las comidas picantes.

En cuanto a la textura, cada variedad de alimento tiene una elasticidad y una consistencia particular, que se define principalmente por la viscosidad, así como por la presencia o ausencia de pulpa. Vale mencionar, que la textura del PAV-L es líquida, viscosa y aceitosa, siendo esta última cualidad mal interpretada por los consumidores, ya que la mayoría prefiere evitar la ingesta de productos que contengan aceites o grasas, porque suele ser asociado con incremento de peso corporal o en los niveles de colesterol, trastornos digestivos, entre otros factores de salud; sin embargo, los aceites en el

producto PAV-L son poliinsaturados, y por el contrario, contribuyen a mejorar la salud, especialmente del sistema vascular.

Como se puede apreciar, existen ciertas variaciones en la forma de apreciación de las características organolépticas estudiadas para el producto PAV-L, en cada una de las etapas. Al comparar los resultados de cada característica estudiada entre etapas, se observan variaciones particulares no solo relacionadas con los gustos personales de cada participante, sino también con las apreciaciones de cada uno y sus expectativas sobre el producto. Por ejemplo, la Figura 5 que agrupa los resultados en las distintas etapas para olor, evidencia que los valores se distribuyeron entre 2 y 9, alcanzando su mayor expresión en la etapa E₄ con un total (46,6%) que corresponde al puntaje 8 y su valor menor en la misma etapa con (3,3%) que pertenece al puntaje 2 (me disgusta mucho). En esta oportunidad solo un participante seleccionó la opción de puntaje 2; sin embargo, su selección influyó significativamente en el valor promedio de esa característica para esa etapa. Al indagar sobre la razón de su selección, el participante aludió el alto contenido de aceite, aunque se le explicó que era un aceite poliinsaturado, la data ya había sido registrada así.

En líneas generales, se observó que los participantes manifestaron un alto grado de aceptación de las características organolépticas del producto, en especial sabor y olor, incluso expresaron su deseo de adquirir el producto sin aún estar disponible para la venta y solicitaron ser informados cuando éste estuviese a la venta. Asimismo, hicieron la acotación sobre la posibilidad de disminuir la proporción de aceite y mejorar la textura, por lo cual se les aclaró que el aceite utilizado es poliinsaturado, lo que es un valor agregado para un alimento funcional y se tomaría en cuenta su sugerencia de homogeneización del producto para mejorar su textura.; sin embargo, esta aclaratoria vino luego de haber concluido las encuestas. se detectó que a medida que pasó el tiempo el aroma característico del producto parece mermar ligeramente estos se puede visualizar en las etapas 2, 4 y 6 esto puede deberse a medida que pasa el tiempo el producto concentro su esencia ya que este producto presenta compuestos sulfurados además se puede deber también que a medida que pasan los meses el producto se va deteriorando

también se visualizó en las gráficas que el color se produjo un ligero cambio de color de un tono brillante a uno más oscuro esto se debe pasen de estar frescos a estar expuestos al contacto con la luz y el aire. Los cambios en los pigmentos pueden indicar que se ha dado un proceso de oxidación que ha originado el cambio, pero en ningún caso se trata de alteraciones perjudiciales a la salud ni de un deterioro. Se debe acotar también que el sabor a veces era amargo debido que el producto presenta compuestos alitiolanos, además, el producto presenta grasas que son insaturadas hay mayor riesgo de rancidez también la textura se mantuvo igual al paso de los meses.

ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (FTIR) DEL PRODUCTO NATURAL PAV-L, DURANTE LAS CUATRO ETAPAS DE INVESTIGACIÓN (E₀-E₆)

En este análisis se realizaron varias corridas de cada muestra por etapa (E₀, E₂, E₄ y E₆); en cada ocasión, los valores se normalizaron para garantizar que la proporción final de los grupos funcionales encontrados fuera representativa independientemente de la cantidad de muestra procesada. A continuación, se detallan los grupos de elementos químicos encontrados, según su elemento químico y combinación de enlaces (simples dobles, triples, etc.), lo que permitió predecir los posibles grupos funcionales presentes en el producto y detectar que éstos no variaron en función del tiempo durante el período de 6 meses considerado.

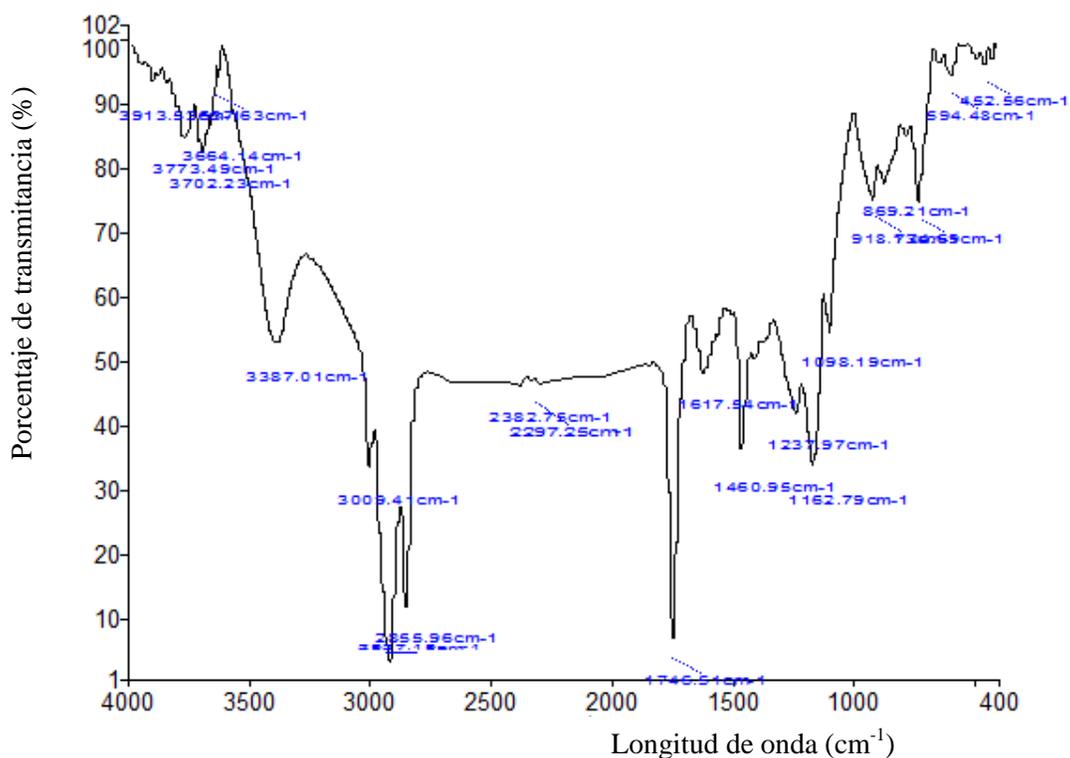


Fig. 13. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E₀

Ahora bien, en el espectro infrarrojo de la muestra de PAV-L correspondiente a la etapa E₀ (Figura 13), se pudieron apreciar las siguientes bandas: a) 3914 cm⁻¹, 3773 cm⁻¹ y 3702 cm⁻¹, dentro del rango donde aparecen grupos funcionales usualmente asociados a moléculas del tipo heteroátomos [grupo de átomos diferentes unidos entre sí por enlaces covalentes, a otros átomos distintos al carbono], mostrando una intensidad de 15%; aunque esta intensidad es baja respecto a la proporción obtenida para la banda representativa de los grupos funcionales hidroxilo [OH, característico de alcoholes, fenoles y ácidos carboxílicos] y amidas [NH₂], con una intensidad de 50%; b) 3664 cm⁻¹ y 3638 cm⁻¹, región donde se ubicaron señales típicas de grupos hidroxilos [O-H] asociado a un anillo aromático, siendo más indicativo de la presencia de un grupo tipo fenólico; c) 3387 cm⁻¹, 3009 cm⁻¹, 2927 cm⁻¹ y 2856 cm⁻¹, en esta zona se registraron señales representativas para enlaces Carbono-Hidrógeno [C-H], también anillos aromáticos y dobles enlaces Carbono-Carbono [C=C] que demuestran la presencia de alquenos o anillos aromáticos (reportada por Commons, 2014 a 3070 cm⁻¹) y también

de grupos aldehídos; d) 2383 cm^{-1} y 2297 cm^{-1} ; e) 1747 cm^{-1} , donde se observan señales representativas de dobles enlaces Carbono-Oxígeno [C=O, características de los grupos carbonilo]; f) 1618 cm^{-1} , corresponde a enlaces dobles Carbono-Carbono [C=C, típicos de alquenos]; g) 1461 cm^{-1} sugirió la presencia de dobles enlace Carbono-Carbono [C=C, conforman anillos aromáticos]; h) 1238 cm^{-1} , 1163 cm^{-1} y 1098 cm^{-1} , propios de enlaces sencillos Carbono-Oxígeno [C-O] y también de grupos hidroxilos [OH, tipo fenol]; i) 919 cm^{-1} ; 725 cm^{-1} , lo que indica que se trata de enlaces sencillos Carbono-Hidrógeno [C-H]; j) 594 cm^{-1} , se detectaron otros tipos de heteroátomos; k) 869 cm^{-1} , Carbono-Hidrógeno [C-H] de anillos disustituídos.

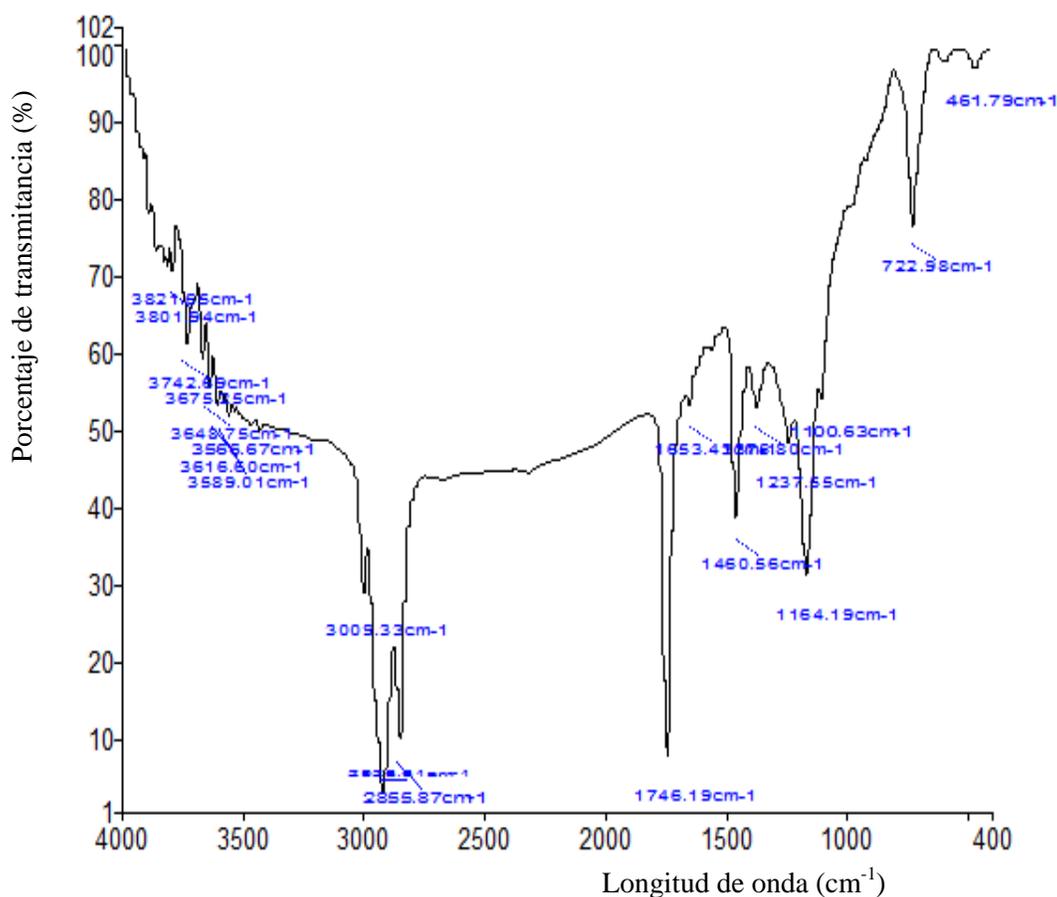


Fig. 14. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E₂

El producto natural PAV-L en la etapa E₂ (Figura 14), generó un espectro donde se evidenciaron las siguientes bandas: a) 3822 cm⁻¹, 3802 cm⁻¹ y 3743 cm⁻¹, aparecieron en la región asociada a los grupos de heteroátomos, como se señaló anteriormente; b) 3675 cm⁻¹; 3649 cm⁻¹; 3617 cm⁻¹, 3589 cm⁻¹ y 3567 cm⁻¹, donde se observaron señales relacionadas a grupos O-H, que caracterizan a los compuestos alcohólicos; c) 3009 cm⁻¹; 2927 cm⁻¹ y 2856 cm⁻¹, entre las cuales se distribuyeron las señales que tipifican a los enlaces C-H; d) 1746 cm⁻¹, mostraron señales correspondientes a dobles enlaces C=O; e) 1653 cm⁻¹, que representaron a los dobles enlaces C=C; f) 1461 cm⁻¹, señales propias de dobles enlaces C=C; g) 1376 cm⁻¹, también representativa de heteroátomos vinculados a anillos aromáticos y/o ácidos carboxílicos; h) 1238 cm⁻¹, donde se encontraron señales típicas de enlaces C-H; i) 1164 cm⁻¹ y 1101 cm⁻¹, que se ajustan a enlaces sencillos C-O posiblemente asociados a éteres; j) 723 cm⁻¹, se observaron señales que describen enlaces simples C-H; k) 462 cm⁻¹, donde se suele ubicar otros grupos como los heteroátomos de moléculas más pequeñas.

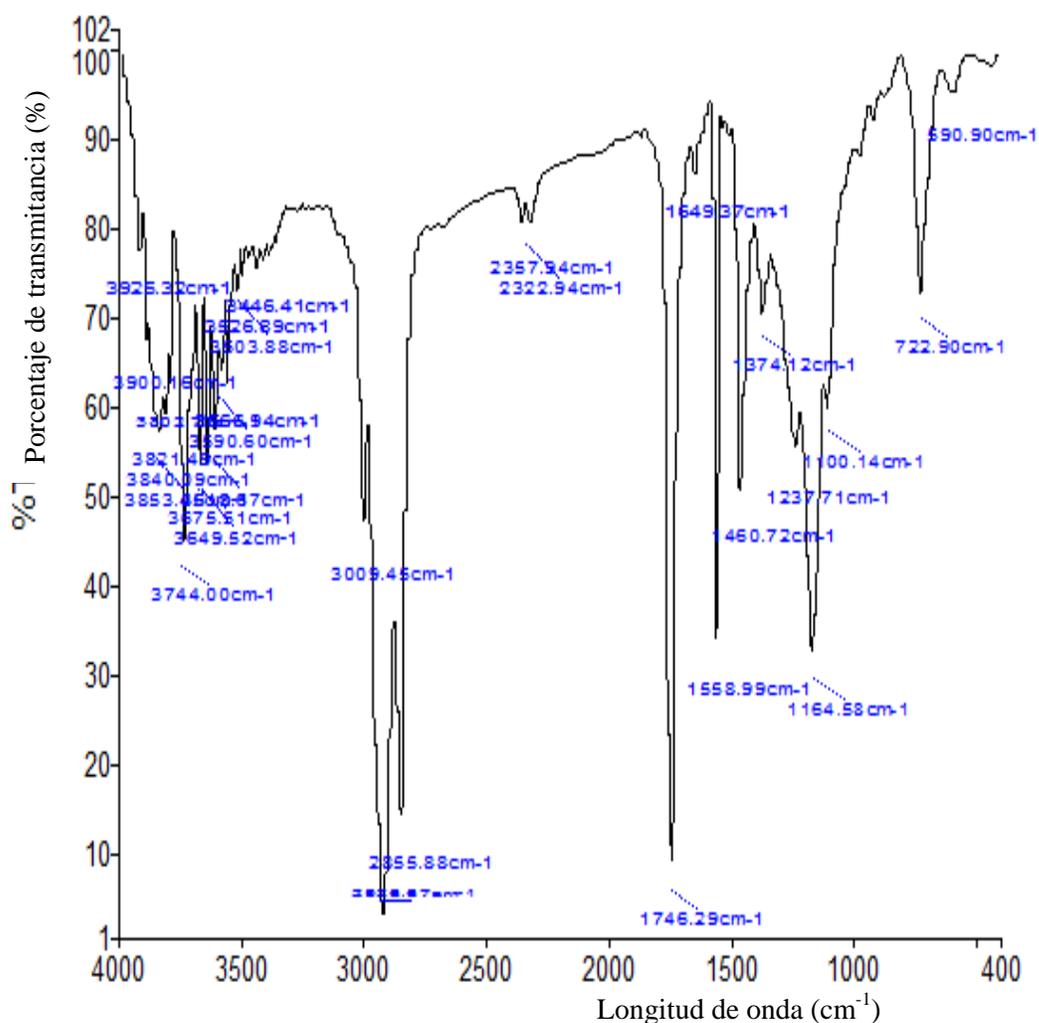


Fig. 15. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E₄.

En la etapa E₄ (Figura 15), el espectro generado mostró las siguientes bandas: a) 3925 cm⁻¹; 3840 cm⁻¹; 3822 cm⁻¹; 3803 cm⁻¹ y 3744 cm⁻¹, las cuales se encuentran asociadas a grupos de heteroátomos, un resultado muy similar a lo registrado en los espectros de las etapas E₀ y E₂; b) 3676 cm⁻¹; 3650 cm⁻¹; 3619 cm⁻¹; 3567 cm⁻¹; 3527 cm⁻¹; 3504 cm⁻¹; 3446 cm⁻¹, donde se detectaron señales que demuestran la presencia de grupos hidroxilos; c) 3009 cm⁻¹; 2927 cm⁻¹; 2856 cm⁻¹; 2358 cm⁻¹, en este punto se hallaron señales relacionadas a enlaces Carbono-Hidrógeno; d) 1746 cm⁻¹, una vez más, el espectro muestra señales correspondientes a dobles enlaces Carbono-Oxígeno; e) 1649 cm⁻¹, denota la existencia de dobles enlaces Carbono-Carbono; f) 1559 cm⁻¹ y 1461 cm⁻¹,

este rango evidenció a dobles enlace Carbono-Carbono (C=C); g) 1374 cm^{-1} , acá se visualizan nuevamente heteroátomos; h) 1238 cm^{-1} , esta banda muestra señales de enlaces Carbono-Hidrógeno; i) 1165 cm^{-1} y 1100 cm^{-1} en este rango se encontraron enlaces sencillos Carbono-Oxígeno; j) 723 cm^{-1} se hallan señales correspondientes a enlaces Carbono-Hidrógeno.

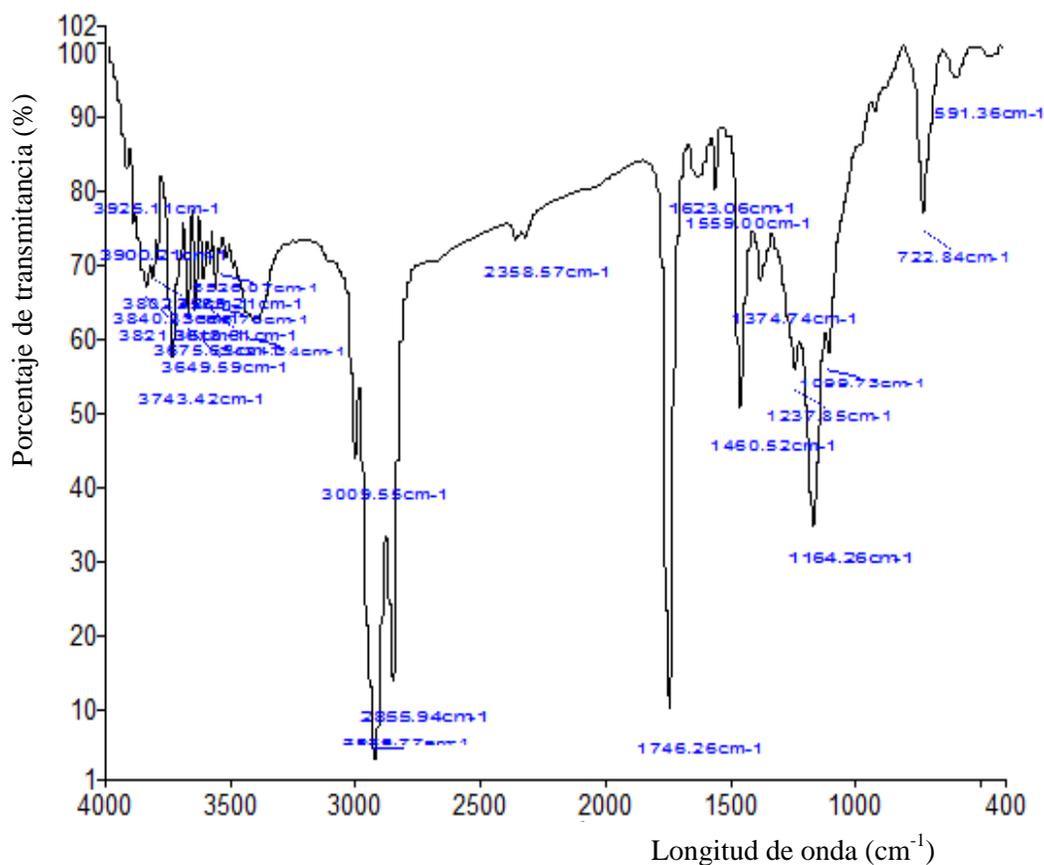


Fig. 16. Espectro infrarrojo del producto natural PAV-L durante la etapa inicial E₆.

El espectro infrarrojo de la etapa E₆ (Figura 16), desarrolló las bandas: a) 3925 cm^{-1} , 3900 cm^{-1} , 3840 cm^{-1} , 3821 cm^{-1} , 3802 cm^{-1} y 3743 cm^{-1} , éstas revelaron otra vez señales asociadas a grupos de heteroátomos; b) 3676 cm^{-1} , 3650 cm^{-1} , 3619 cm^{-1} , 3589 cm^{-1} , 3567 cm^{-1} , 3526 cm^{-1} , 3421 cm^{-1} , este rango mostró señales características de grupos O-H; c) 3010 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2856 cm^{-1} , estas tres bandas se asocian a señales típicas de enlaces C-H; d) 1746 cm^{-1} , esta banda mostró señales propias de enlace doble

C=O; e) 1623 cm^{-1} y 1461 cm^{-1} , indican la presencia de dobles enlaces C=C típicos de alquenos; f) 1375 cm^{-1} , en esta banda se visualizan heteroátomos a secuencias aromáticas y COOH; g) 1238 cm^{-1} ; 1164 cm^{-1} y 1100 cm^{-1} , en este rango se encontraron enlaces sencillos C-O; i) 723 cm^{-1} , esta banda describe señales de enlaces C-H; j) 591 cm^{-1} , esta última banda se asocia a grupos de heteroátomos.

Como se puede observar, los espectros del producto natural PAV-L durante las cuatro etapas consideradas, confirman la presencia de grupos funcionales (-OH, -NH₂, -CH₃, -COH, -CO, -COOH, etc.) característicos de compuestos como alcoholes, anillos aromáticos, aceites esenciales, ácidos, antraquinonas, amidas, azúcares, compuestos organosulfurados, ácidos grasos, fenoles, flavonoides, taninos y otros pigmentos, etc., los cuales coinciden con los compuestos detectados en otras investigaciones para las especies vegetales que constituyen la fórmula del producto PAV-L. Además de esta coincidencia, también resulta evidente que su presencia y proporción dentro de la mezcla se mantiene en todas las etapas de la investigación, indicando que los compuestos bioactivos presentes en este alimento funcional permanecen inalterados durante los 6 meses. En el presente, no existe ningún alimento funcional comparable con PAV-L; sin embargo, algunos estudios realizados por otros investigadores en especies a las cuales se les atribuyen propiedades biológicas similares (antioxidantes, antiinflamatorias, antibióticas, etc.) se utilizarán como referencia. Guillamón (2018) detectó, mediante espectros IR, la presencia de flavonoides (Flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas e isoflavonoides) que benefician la salud a través de su influencia positiva sobre la microbiota intestinal, mejorando el tránsito intestinal y la absorción de nutrientes; aunado a ello, encontró compuestos organosulfurados (ajoene, alicina, aliina y sulfuros de dialilo) en la especie *Allium sativum*, los cuales actúan como inmunomoduladores y potencia de la respuesta inmune. Asimismo, se reportó la presencia de flavonoides y metabolitos oxigenados (polifenoles, flavonoides, etc.), en el extracto acuoso de otras especies del género *Allium* (Suárez *et al.*, 2014).

Otra especie que ha sido muy estudiada por sus propiedades bioactivas es *Solanum lycopersicum* L., considerada como una importante fuente de nutrientes y antioxidantes, como lo demuestra un estudio similar, realizado en España donde se detectó la presencia de polifenoles (Navarro y Periago, 2016); compuestos que han demostrado su poderosa acción antioxidante protegiendo a los lípidos, proteínas y ADN de la acción de los radicales libres y de esta manera, contribuye a contrarrestar enfermedades degenerativas y crónicas como cáncer y Parkinson, problemas cardiovasculares y circulación venosa. Más aún, diversos autores han cuantificado los compuestos bioactivos de *S. lycopersicum*, en especial, los de tipo fenólico y consideran que el mayor beneficio del consumo de esta especie, en cualquiera de sus presentaciones, se produce por el efecto sinérgico al fusionarse varios de sus componentes (Weisburger, 2002; Raffo *et al.*, 2006; Vallverdú *et al.*, 2012). Gutiérrez *et al.* (2019), analizando el contenido de los compuestos bioactivos y su actividad antioxidante, detectaron alto contenido de licopenos, ácido ascórbico, β -carotenos, fenoles y flavonoides totales en la misma especie, sometida a distintas técnicas de cocción (rehogado, hervido, asado y control), donde el método de rehogado fue el más eficiente para obtener la mayor concentración de compuestos antioxidante.

Otro grupo de compuestos bioactivos que cada día cobra mayor protagonismo, en la industria cosmética, farmacéutica y alimenticia, es el de los aceites esenciales, que a pesar de su nombre se refiere a compuestos muy volátiles que concentran la esencia de las plantas y ejercen diversos efectos benéficos para la salud bien inhalados, frotados directamente en la piel o ingeridos (Arancibia *et al.* Wagner, 2016).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de múltiples componentes que van desde compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos) hasta terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos), los cuales son volátiles e insolubles en agua, por lo que manifiestan sensibilidad a temperaturas extremas y los rayos UV. De hecho, las fracciones líquidas volátiles presentes en varias partes de la

planta son las responsables de su aroma y, con frecuencia, les sirven como mecanismo de defensa contra predadores (Martínez, 2003).

Existen numerosos estudios de actividad biológica, en especial, aceites esenciales en vegetales a las que se le atribuyen propiedades medicinales. En Argentina, se determinó la actividad antibacteriana de los aceites tremetona, p-cimeno, α y β -pineno de *Senecio neaei* (Asteraceae) contra las especies bacterianas *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, encontrando bioactividad a 6 μ l/ml solo para *P. aeruginosa* (Arancibia *et al.*, 2016); un resultado similar a la bioactividad obtenida en esta investigación, pero inversa en cuanto a la especie bacteriana sobre la que ejerce la actividad.

En Colombia, se analizó la influencia de factores humedad, presión, temperatura y flujo de extracción, mediante el uso de CO₂ supercrítico, en la extracción de los aceites esenciales de las hojas de *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Coriandrum sativum* (Cilantro), encontrando moléculas de alto interés, como el linalool, de utilidad en la formulación de diversos productos farmacéuticos, cosméticos y alimentarios por su excelente potencial antimicrobiano, antifúngico, antioxidante, aromatizante y antiparasitario (Cáliz *et al.*, 2020). En Venezuela, Martínez *et al.* (2003) estudiaron las propiedades del aceite esencial de la mandarina (*Citrus reticulata* Blanco), variedades Dancy (silvestre) y Gerch (comercial), las cuales mostraron actividad bactericida contra las cepas patógenas Gram positivas de origen clínico: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*.

En las últimas décadas, muchos compuestos orgánicos de origen vegetal se han popularizado gracias a la diversidad de propiedades bioactivas que manifiestan como: nutrientes (vitaminas, minerales, etc.) antioxidantes, antimicrobianos, adquiriendo gran relevancia en las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria, donde se aprovechan sus cualidades aromatizantes, saborizantes, antibióticas, antioxidantes, entre otras. En la actualidad, su importancia la ha convertido en una herramienta indispensable para contrarrestar los efectos nocivos de la contaminación por sustancias tóxicas derivadas del estilo de vida moderno, las cuales han contribuido a deteriorar el medio ambiente,

desmejorar la salud de plantas, animales y seres humanos, así como también al incremento de la resistencia a diversas enfermedades, principalmente de origen microbiano, por uso indiscriminado de medicamentos (Cáliz *et al.*, 2020).

Otros investigadores hacen mayor énfasis en la relevancia de las vitaminas, minerales, aminoácidos, etc., presentes en diversos alimentos y señalan que la ingesta frecuente de éstos, hoy denominados superalimentos, o productos naturales que fusionan una o más especies vegetales, proveen requerimientos esenciales que favorecen el mantenimiento fisiológico y, por ende, un mejor estado de salud.

La vitamina C, en particular, desempeña un papel clave en el retraso de la patogénesis de una gran variedad de enfermedades degenerativas (cardiovasculares, cáncer, cataratas, neurodegenerativas, asma, autoinmune y algunas producidas por mutación del ADN inducidas por estrés oxidativo), siendo el principal mecanismo de acción su actividad antioxidante (Cameron y Pauling, 1993). Así, se ha reportado un alto contenido de vitamina C y cierta cantidad de vitamina E en cultivos de *Solanum lycopersicum*, cuyo contenido varía en función de la variedad, cambios estacionales, intensidad, duración y calidad de la luz. Aunque el aporte de Vit E es bajo en relación a la Vit C en *S. lycopersicum*, la ingesta regular de pequeñas cantidades de Vit E ejerce interacción sinérgica con la Vit C durante el proceso de peroxidación de lípidos, evidenciando la complementariedad en la actividad inflamatoria de los licopenos (Dorais *et al.*, 2008).

Un estudio más reciente, al comparar el efecto de la acción sinérgica de carotenoides, retinol y Vit E, demostró que existe una relación inversa entre los licopenos y la vitamina E, respecto a la probabilidad de sufrir cáncer de próstata, observándose una disminución significativa en el riesgo de dicha patología (Key *et al.*, 2015).

El hecho de encontrar en múltiples especies de origen vegetal, no solo grupos funcionales propios de componentes bioactivos reconocidos, sino el hecho comprobado de que éstos no sufren variación durante largos períodos, es una prueba más de la

estabilidad del producto, su larga vida útil y fundamentalmente de la preservación de sus propiedades bioactivas.

DETECCIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Método Cualitativo o de difusión en placas (MDP):

Los resultados revelaron que la actividad antibacteriana (AA) solo se manifestó durante las etapas E₀ y E₂, contra las especies *S. aureus* y *E. coli*, con halos de inhibición de 11 y 26 mm, respectivamente (Tabla XIX).

Tabla XIX. Actividad antibacteriana del producto PAV-L (AA), frente a las especies patógenas en humanos, durante las diferentes etapas de la investigación (E₀ – E₆).

ESPECIES BACTERIANAS			
ETAPAS	Gram positivas (G+)		Gram negativas (G-)
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)
E ₀	11,0 ± 0,20	26,0 ± 0,30	-
E ₂	11,0 ± 0,20	25,8 ± 0,25	-
E ₄	-	-	-
E ₆	-	-	-

Concentración PAV-L en el disco: 49,5µg (en 10µl)

Diámetro halo de inhibición (mm) ± SD = AA - = No se observó actividad

Método Cualitativo o Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):

Una vez detectada la presencia de AA por el método de difusión en placas, se procedió a cuantificar el grado de actividad mediante la determinación de la CMI, a partir de la cual se manifestó la actividad. Los resultados se condensan en la siguiente Tabla XX.

La determinación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (C.M.I.), para los patógenos específicos, provee datos robustos, que, unidos a los parámetros

farmacocinéticos de los agentes antibacterianos, permiten predecir la eficacia *in vivo* del compuesto para el tratamiento de una enfermedad específica. Aunque existen regímenes terapéuticos para muchos de estos agentes antibacterianos, la sensibilidad del germen puede variar, a tal punto, que sea necesario replantear el esquema terapéutico (Watt *et al.*; 1995).

Tabla XX. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del producto PAV-L obtenida durante las etapas E₀ y E₂, utilizando bacterias patógenas en humanos, como modelo de actividad antibacteriana.

TUBO	CONCENTRACIÓN TOTAL (µg/ml)	Especies Bacterianas		
		G+	G-	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
T ₁	2475,25	-	-	-
T ₂	1237,62	-	-	-
T ₃	618,81	-	-	-
T ₄	309,41	-	-	-
T ₅	154,70	-	-	-
T ₆	77,35	-	77,35	-
T ₇	38,68	38,68	38,68	-
T ₈	19,33	19,33	19,33	-
T ₉	9,67	9,67	9,67	-
T ₁₀	4,83	4,83	4,83	-

Concentración Solución Madre (SP1): 500 µg/µl
 Concentración Segunda dilución (SP2): 4,95 µg/µl
 No mostró actividad inhibitoria: -
 CMI *S. aureus*: 38,68 µg/µl
 CMI *E. coli*: 77,35 µg/µl
 CMI *P. aeruginosa*: No hubo actividad

Los resultados obtenidos sugieren que existe una actividad antibacteriana importante, tomando en cuenta que inhibió la proliferación de dos especies bacterianas altamente patógenas, las cuales suelen manifestar resistencia a los tratamientos antibióticos convencionales (Cárdenas *et al.* 2014); lo que es una buena noticia, dado que una

especie bacteriana es G+ y la otra G-, pero esta actividad pareciera desaparecer a partir del cuarto mes de la elaboración del producto. A este respecto, hay que hacer varias consideraciones, una de ellas es la naturaleza del producto PAV-L y la especificidad de unión de los compuestos bioactivos presentes en dicha mezcla a los receptores de la membrana celular y, de esta manera, su posterior penetración a otros sitios activos de la célula bacteriana según su afinidad. Otro factor a considerar es la concentración a la que tales compuestos ejercen su actividad, así como también si éstos actúan en forma individual o sinérgica, en cuyo caso, podría requerir una mayor o menor proporción de alguno de los elementos constituyentes para mantener su actividad inhibitoria (Daza, 1998).

El producto natural PAV-L es una mezcla de compuestos hidrosolubles y liposolubles; es decir, compuestos de polaridades muy distintas que pueden ganar acceso a diferentes sitios activos de la célula bacteriana según su afinidad; en principio, la membrana celular de las bacterias tanto en la matriz lipídica ($\geq 70\%$) como en los poros unidos a moléculas de glúcidos y proteínas, dependiendo de el o los compuestos que ejerzan la actividad inhibitoria será también su capacidad de difundir en la matriz del agar Müller-Hinton I, en especial, si la actividad es sinérgica. Ahora, es esencial determinar todo lo relacionado a la farmacocinética involucrada en el proceso de toma oral del producto, para garantizar que los compuestos bioactivos presentes en la fórmula de PAV-L, alcancen los sitios activos y puedan ejercer la actividad eficientemente.

Otro aspecto fundamental a tomar en cuenta son los mecanismos de acción que utilizan las bacterias (Calvo y Martínez 2009; Cárdenas *et al.*, 2014) para vencer las barreras celulares, los mecanismos de defensa propios del sistema inmune y como ambos pueden ser influenciados por los componentes bioactivos del producto natural PAV-L. Por ejemplo, una cepa bacteriana puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos por diversas especies bacterianas (Daza, 1998).

Ahora bien, los aceites esenciales son compuestos más volátiles y, por lo tanto, más susceptibles a la evaporación; además, su naturaleza liposoluble limita su afinidad al medio de cultivo, que es hidrosoluble; por ello, difunde más lentamente y es muy factible que su concentración disminuya en el tiempo y, al ser los aceites esenciales una parte muy importante en la actividad del producto, ésta no se logre detectar, aun cuando se haya disuelto la mezcla en DMSO para aumentar dicha afinidad. El desarrollo de este ensayo implicó secar el producto a peso constante utilizando calor (45 °C) y macerarlo posteriormente, es probable que una parte de los aceites esenciales se haya volatilizado durante ambos procesos, de manera que su proporción en la mezcla también haya disminuido gradualmente, incluso durante el período de 6 meses del estudio y, por tanto, dicha concentración continuara mermando entre los 4 y 6 meses de prueba. Sería adecuado repetir el experimento bien aplicando las técnicas de secado por liofilización y pulverización al producto, o probando las dos fases del mismo por separado; esto garantizaría la proporción de los compuestos bioactivos en la mezcla y, por tanto, que se prolongue el grado de actividad.

Por otra parte, el análisis espectroscópico del producto demostró que la composición cualitativa de la mezcla en PAV-L se mantiene en el tiempo, a pesar de no haber sido conservado bajo las condiciones de almacenamiento (25 °C) aplicadas en la industria de alimentos; no obstante, es común esperar que existan mínimas variaciones en la composición y proporción de elementos en el producto, que quizás la sensibilidad del equipo no haya podido definir y, de alguna manera, haya podido interferir con el mecanismo de acción en las bacterias. Por otra parte, ciertos compuestos, en especial de los más volátiles, detectados en los espectros, también permite observar una pérdida cuantitativa al mermar el tamaño de los picos, indicando que, aunque se mantiene la composición cualitativa de los elementos su cantidad disminuyó; sin embargo, se requieren estudios posteriores para confirmar la magnitud de dicha pérdida y cómo ésta afecta la actividad biológica en conjunto. De acuerdo a las 17 especies vegetales que aportan a la actividad del producto, es notable que la mayor parte de esta actividad

reside en compuestos de menor polaridad como los flavonoides, aceites esenciales (Granado *et al.*, 2007; Morales *et al.*, 2015).

Numerosas investigaciones han demostrado que existe una estrecha relación entre los alimentos y la salud destacando los beneficios de las vitaminas minerales ácidos grasos poliinsaturados probióticos prebióticos o fitoquímicos. así por ejemplo sustancias de origen vegetal como carotenoides, alcaloides, compuestos fenólicos, nitrogenados organosulfurados ejercen una influencia positiva sobre la microbiota, salud intestinal y sistema inmunológico, favoreciendo un mejor estado de salud (Guillamón, 2018).

En este punto, es bueno recordar que un componente o compuesto bioactivo es aquel alimento que aporta un beneficio a la salud más allá de su aporte nutricional, lo que se traduce en el mejor funcionamiento fisiológico y/o disminución significativa del riesgo a padecer una determinada enfermedad (Granado *et al.*, 2007). En los vegetales, los compuestos bioactivos tales como vitaminas (A, B, C, E, K), ácido fólico, minerales (hierro, zinc, calcio, selenio, magnesio), compuestos fenólicos, glucosinolatos y fitoesteroles éstos se encuentran en pequeñas cantidades y, por ello, es necesario su ingesta frecuente o el uso de suplementos adicionales para cubrir los requerimientos nutricionales que garanticen el funcionamiento fisiológico adecuado del organismo.

La actividad biológica observada en las etapas E₀ y E₂ están asociadas principalmente a la presencia de compuestos fenólicos tipo aceites esenciales, como lo demuestran los grupos funcionales detectados en el análisis espectrofotométrico de infrarrojo. También es muy probable que sean esos compuestos los responsables de la actividad antibacteriana del producto, debido a su baja polaridad y, por ende, su tendencia a volatilizarse, pudiendo bien penetrar más fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, o combinarse y precipitar con las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como tóxicos protoplasmáticos (Puupponen *et al.*, 2001). Igualmente, se ha demostrado que los flavonoides inhiben el desarrollo de *S. aureus*, por efecto de la disminución de la secreción de la proteína alfa toxina (López y Castañón,

2018); en cambio, en *E. coli*, esta clase de compuestos intervienen en los procesos de expresión de las fimbrias presentes en la envoltura celular de las bacterias, que cumplen funciones de adhesión y resistencia a la acción de ciertos agentes químicos (antibióticos, pigmentos, alcoholes, entre otros), limitando los procesos de colonización, lo que contribuye a inhibir o reducir su capacidad de infección y virulencia (Rijavec *et al.*, 2008). Recientemente, se han descrito bacterias anaerobias estrictas o facultativas (*Clostridium perfringens* y *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente), las cuales han adaptado sus fimbrias a procesos metabólicos únicos, como la captura de metales pesados o el anclaje de proteínas que intercambian electrones, permitiéndoles actuar como auténticos nanocables metálicos, capaces de transferir corrientes eléctricas (Sure *et al.*, 2016). Cabe resaltar que la ausencia de actividad antibacteriana observada en la especie *Pseudomonas aeruginosa* probablemente guarde más relación con el alto contenido de guanina-citosina presente en su ADN, que con la naturaleza misma de su envoltura celular (Thanassi *et al.*, 2007).

Lo anterior, también explica el comportamiento de los datos obtenidos en los análisis de la concentración mínima inhibitoria realizados.

Perfil de sensibilidad a los antibióticos

Staphylococcus aureus:

Los valores estándar de actividad inhibitoria de los antibióticos comerciales específicos utilizados para la especie bacteriana *S. aureus* (CLSI, 2022), y valores de actividad antibacteriana del producto natural PAV-L, se muestran en las Tablas XXI y XXII, respectivamente; al comparar estos valores con los valores de referencia obtenidos para los antibióticos comerciales, se observó que el producto PAV-L solo manifiesta una actividad inhibitoria intermedia para Teicoplanina, mientras que cae en el rango de resistente frente a Cloramfenicol y Gentamicina, con un halo de inhibición de 11 mm.

Tabla XXI. Perfil de sensibilidad a los antibióticos comerciales específicos para la especie *Staphylococcus aureus*, utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.

ANTIBIÓTICO COMERCIAL	CONCENTRACIÓN EN EL DISCO	DIÁMETRO (mm)		
		Resistente	Intermedio	Sensible
Cloramfenicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18
Gentamicina	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
Teicoplanina	30 µg	≤ 10	11-13	≥ 14

Tabla XXII. Actividad antibacteriana del producto PAV-L frente a la especie *Staphylococcus aureus*, utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.

PRODUCTO	CONCENTRACIÓN DEL PRODUCTO EN EL DISCO	HALO DE INHIBICIÓN
PAV-L	49,5 µg	11 mm

A continuación, se muestran las fotografías representativas de la actividad antibacteriana para *Staphylococcus aureus*; aun cuando los análisis físico-químicos y espectroscópicos demostraron que no hubo cambios en la composición del producto, solo se observó actividad antibacteriana en las etapas E₀ y E₂, sugiriendo una posible variación intrínseca en la afinidad del extracto al medio de cultivo. Asimismo, se pudo constatar que el disco control impregnado con DMSO, así como el control con el aceite vegetal utilizado en la elaboración del producto, no desarrollaron halos de inhibición, confirmando que éstos no interfieren con la actividad antibacteriana del producto.

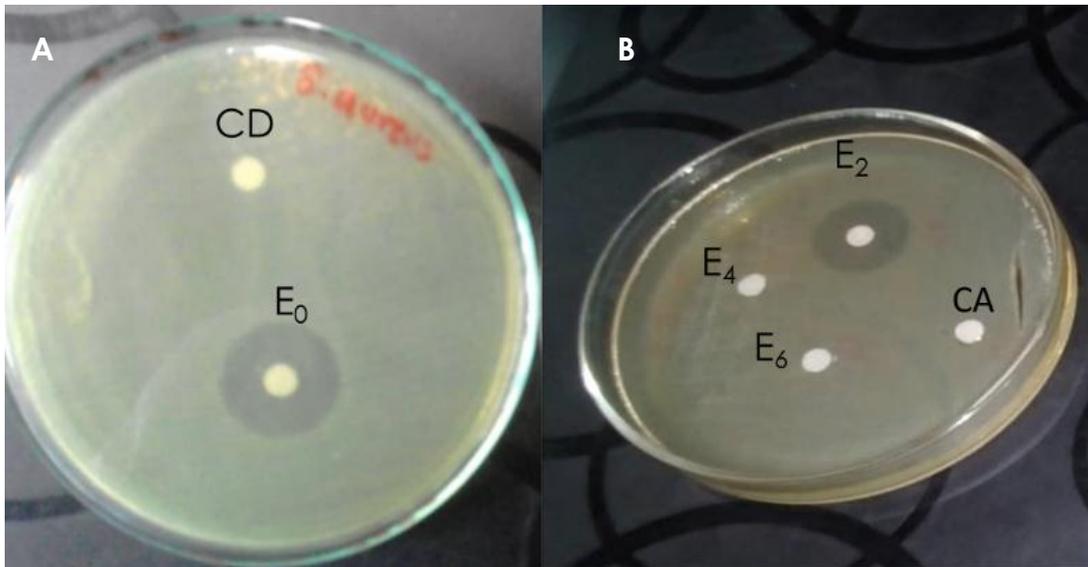


Fig. 17. Actividad antibacteriana del producto natural PAV-L contra la especie *Staphylococcus aureus*, donde A) CD = Control DMSO, E₀ = El producto recién elaborado y B) CA = Control con aceite vegetal, E₂ = El producto dos meses después de su elaboración, E₄ = El producto cuatro meses después de su elaboración y E₆ = El producto seis meses después de su elaboración.

Escherichia coli:

Los perfiles de sensibilidad a los antibióticos comerciales específicos para la especie *Escherichia coli* (CLSI, 2022), usados como estándar de referencia se muestran en la Tabla XXIII. Los rangos de sensibilidad para esta selección de antibióticos comerciales aplicados a *E. coli*, (Ciprofloxacina, Aztreonam y Piperacilina), oscilaron entre 16 y 21 mm de inhibición.

Tabla XXIII. Perfil de sensibilidad a los antibióticos comerciales específicos para la especie *Escherichia coli*, utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.

ANTIBIÓTICO COMERCIAL	CONCENTRACIÓN EN EL DISCO	DIÁMETRO (mm)		
		Resistente	Intermedio	Sensible
Ciprofloxacina	5 µg	≤ 16	17-20	≥ 21
Aztreonam	30 µg	≤ 17	18-20	≥21
Piperacilina	10 µg	≤ 13	14-16	≥17

La Tabla XXIV muestra la actividad antibacteriana del producto natural PAV-L frente a la especie *Escherichia coli*; como se puede apreciar, el producto desarrolló un halo de inhibición de 25 mm, que demuestra una acción antibacteriana superior a la evidenciada con los antibióticos comerciales específicos para *E. coli*, que de acuerdo a los valores estándar usados como referencia para los antibióticos comerciales probados (Ciprofloxacina, Aztreonam y Piperacilina), la posiciona en el grado sensible (Tablas XXIII y XXIV)..

Tabla XXIV. Actividad antibacteriana del producto PAV-L frente a la especie *Escherichia coli*, utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.

PRODUCTO	CONCENTRACIÓN DEL PRODUCTO EN EL DISCO	HALO DE INHIBICIÓN
PAV-L	49,5 µg	25 mm

La Figura 18 muestra las fotografías representativas de la actividad antibacteriana para *Escherichia coli*; donde solo se detectó actividad antibacteriana del producto PAV-L en las etapas E₀ y E₂, mostrando un comportamiento muy similar al descrito anteriormente para la especie *S. aureus*, lo que pareciera indicar una posible variación intrínseca en la afinidad del extracto con el medio de cultivo. Además, los discos controles no

desarrollaron halos de inhibición, comprobando que ninguno de los solventes utilizados interfiere con la actividad antibiótica del producto natural PAV-L.

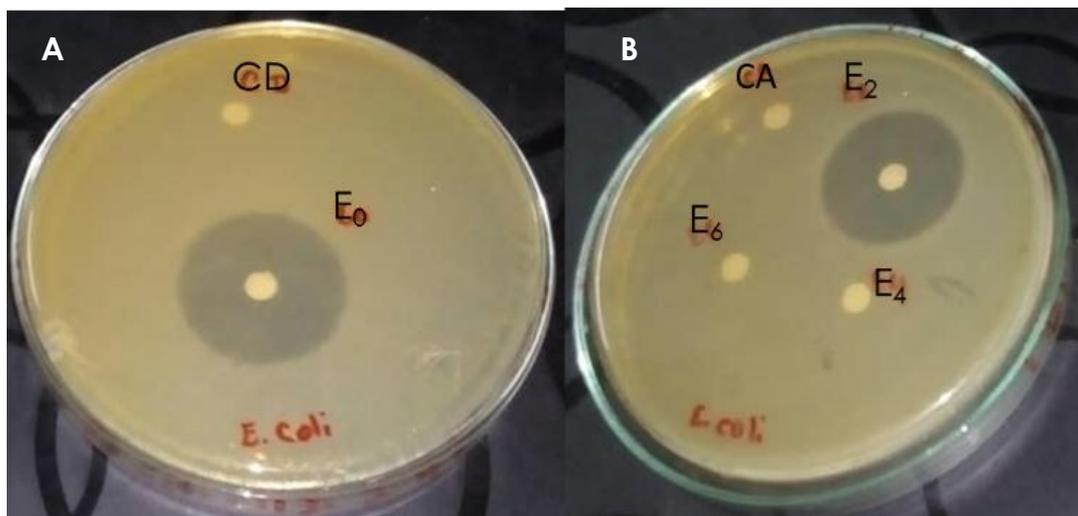


Fig. 18. Actividad antibacteriana del producto natural PAV-L contra la especie *Escherichia coli*, donde A) CD = Control DMSO, E₀ = El producto recién elaborado y B) CA = Control con aceite vegetal, E₂ = El producto dos meses después de su elaboración, E₄ = El producto cuatro meses después de su elaboración y E₆ = El producto seis meses después de su elaboración.

Pseudomonas aeruginosa:

Aunque el producto no mostró actividad inhibitoria contra la especie bacteriana *Pseudomonas aeruginosa*, se incluyen sus valores de referencia de los antibióticos comercial específicos utilizados (CLSI, 2022) como información adicional, ya que no se observaron halos de inhibición y, por lo tanto, no se pudo asignar un rango de sensibilidad (Tablas XXV y XXVI).

Tabla XXV. Perfil de sensibilidad a los antibióticos comerciales específicos para la especie bacteriana *Pseudomonas aeruginosa*, utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.

ANTIBIÓTICO COMERCIAL	CONCENTRACIÓN EN EL DISCO	DIÁMETRO (mm)		
		Resistente	Intermedio	Sensible
Doripenem	10 µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Imipenem	10 µg	≤ 15	16-18	≥ 19
Meropenem	10 µg	≤ 15	16-18	≥ 19

Tabla XXVI. Actividad antibacteriana del producto PAV-L frente a la especie *Pseudomonas aeruginosa*, utilizada como modelo de bioactividad en esta investigación.

Producto	Concentración del Producto en el disco	Halo de Inhibición
PAV-L	49,5 µg	0 mm

En la Figura 19, las fotografías representativas de la actividad antibacteriana para *Pseudomonas aeruginosa*, muestran que no hubo actividad antibacteriana en ninguna de las etapas (E₀, E₂, E₄ y E₆), tampoco en ninguno de los discos controles evaluados.

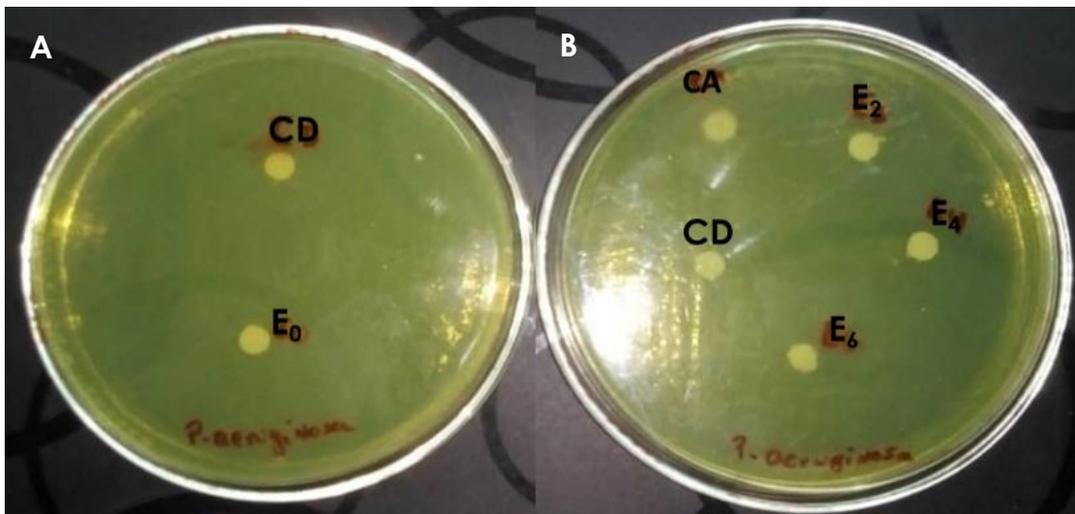


Fig. 19 Actividad antibacteriana del producto natural PAV-L contra la especie *Pseudomonas aeruginosa*, donde A) CD = Control DMSO, E₀ = El producto recién elaborado y B) CA = Control con aceite vegetal, E₂ = El producto dos meses después de su elaboración, E₄ = El producto cuatro meses después de su elaboración y E₆ = El producto seis meses después de su elaboración.

En general, un compuesto bioactivo en estado puro manifiesta su actividad de manera casi inmediata; sin embargo, no ocurre igual cuando se trata de una mezcla de compuestos como el producto natural PAV-L, cuya actividad es el compendio de la suma de las actividades individuales que aporta cada uno de los elementos presentes en la fórmula; es decir que su actividad se expresa de forma acumulativa a través del consumo regular del producto. Los productos naturales, en especial, del grupo de alimentos funcionales ejercen su actividad de forma sinérgica, producto de la fusión de varios de sus componentes, los cuales al combinarse potencia la acción de los componentes individuales. De hecho, se ha comprobado que el riesgo de toxicidad es considerablemente menor cuando los compuestos bioactivos se encuentran como arte de una mezcla en comparación a cuando responden a un compuesto individual o están en forma pura; este fenómeno se denomina *buffering* (Smith, 1999; Poppenga, 2001). Obviamente, se debe considerar que los compuestos, independientemente de su naturaleza, funcionan de acuerdo a una dosis definida; razón por la cual algunas sustancias antes consideradas tóxicas, como secreciones de ciertas plantas (capsaicina) y animales (Tetrodotoxina) utilizadas como medicinas (Campos-Santaella, 2006).

En cuanto a las propiedades antimicrobianas del producto natural PAV-L detectadas en esta investigación, es muy factible que se encuentre asociada a la presencia de compuestos en la fórmula, entre los que destacan: terpenos, aceites esenciales cumarinas y flavonoides; sustancias que han sido descritas por diversos autores en la composición química de las especies utilizadas en su elaboración (Kim *et al.*, 1995; Lis *et al.*, 1998; Vargas *et al.*, 1999; Cutter, 2000; Mau *et al.*, 2001), aunado a al método de preparación, que contribuye a potenciar su actividad antiinflamatoria.

Por otra parte, a pesar de los grandes esfuerzos, inversión y avances tecnológicos, solo se ha logrado dilucidar parcialmente algunos de los mecanismos de acción de ciertos compuestos bioactivos; sin embargo, en lo que se refiere a actividad antibiótica, se sabe que la mayoría debe su actividad, bacteriostática o bactericida, a la alteración de la permeabilidad de la membrana celular de las bacterias, hecho que genera la pérdida de la regulación en el transporte activo y pasivo hacia dentro y fuera de la célula bacteriana y conlleva a la pérdida de sustancias vitales y/o entrada de sustancias toxicas, lo que a su vez determina que la célula pierda su control e integridad.

CONCLUSIONES

Hoy en día, numerosos productos naturales, sintéticos o semisintéticos, invaden los mercados prometiendo curas milagrosas. La mayoría de las empresas farmacéuticas suelen promoverlos bajo estrictas regulaciones, tras décadas de investigación, aunque en los últimos años, las nuevas tecnologías han permitido acelerar este proceso; sin embargo, las reglas que aplican a los productos llamados naturales suelen ser menos estrictas, en cuanto a su distribución y comercialización, principalmente por el hecho de que su eficiencia depende del consumo regular del producto.

La estabilidad observada en los parámetros físico-químicos y bacteriológicos del producto natural PAV-L, demuestran que el éste mantiene su composición e inocuidad bacteriológica, aun cuando el producto estuvo expuesto a las fluctuaciones diarias de las condiciones donde se encontraba almacenado. En consecuencia, se espera que el producto mantenga su estabilidad e inocuidad por períodos mucho más prolongados si se mantiene bajo las normas establecidas en la industria alimenticia, sin adicionar sustancias conservantes o ideando empaques especiales.

El análisis espectrofotométrico, confirma la presencia de grupos funcionales característicos de compuestos bioactivos, propios de las especies vegetales utilizadas en la preparación del producto natural PAV-L (metilo, hidroxilo, carbonilo, amino, compuestos azufrados, etc.), corroborando su estabilidad y permanencia de dichos elementos, desde su elaboración hasta completar 6 meses de almacenamiento.

En cuanto a la aceptación del producto PAV-L, se observaron variaciones particulares relacionadas con los gustos personales de los participantes, así como también sus expectativas al conocer el potencial terapéutico de PAV-L; no obstante, se detectó un alto grado de aceptación al degustar el producto, en especial del sabor y olor, al punto de que los participantes expresaron su deseo de adquirirlo, sin aún estar disponible para la venta, y solicitaron ser informados sobre los avances en la investigación.

El hecho de que el producto manifieste actividad antibacteriana contra especies indicadoras como *E. coli*, podría ser una buena noticia si se logra demostrar que el consumo regular de PAV-L controla su proliferación, favoreciendo el equilibrio del microbiota intestinal y, con ello, los efectos que dichas alteraciones promueven,

en personas quienes presentan afecciones en el tracto digestivo, bien por herencia (Síndrome de Crohn, colon irritable, pacientes celíacos, etc.) o por hábitos de alimentación inadecuados (comer a deshoras, engullir los alimentos, tomar poca o demasiada agua, entre otros).

En líneas generales, se concluye que el producto natural PAV-L reúne una serie de características intrínsecas derivadas de la fusión de sus componentes y técnicas de elaboración, las cuales, aunadas a su estabilidad e inocuidad bacteriológica, lo perfilan como una excelente alternativa de alimento funcional para uso terapéutico en el control y mejoramiento de diversas afecciones, que suelen hacer difícil el modo de vida de muchas personas, mientras disfrutan el proceso.

RECOMENDACIONES

Los resultados de esta investigación despiertan una serie de inquietudes en lo que respecta al desarrollo de alimentos funcionales, y abre un mundo de posibilidades sobre otros beneficios que el consumo regular de este producto, pudiera ejercer a través de diversos tipos de actividad biológica y adaptar su uso como estrategia para mejorar la salud; es por ello, que resultaría interesante:

Determinar actividad antimicrobiana, aplicando distintos modelos de actividad biológica (antiviral, antimicótico, antihelmítico).

Estudiar la actividad antibacteriana y fototóxica de PAv-L, aplicando las técnicas de secado por liofilización y pulverización a las dos fases del producto, para demostrar que los compuestos bioactivos en la mezcla se encuentren en la proporción adecuada y que dicha actividad se mantiene vigente durante el tiempo de vida útil del producto.

Identificar, en lo posible, los mecanismos y blancos de acción que ejerce la combinación de los compuestos bioactivos presentes en PAv-L, a nivel celular.

Analizar la farmacocinética involucrada en el proceso desde toma oral del producto, para asegurar que los compuestos bioactivos presentes en la fórmula de PAv-L, alcancen los sitios activos y ejerzan la actividad en forma adecuada y eficiente.

Evaluar la posible actividad anticancerígena, utilizando líneas celulares humanas como modelos de actividad.

BIBLIOGRAFÍA

- Aconsa, L. 2021. pH en alimentos: su importancia en la seguridad alimentaria. "Aconsa". <<https://aconsa-lab.com/ph-en-alimentos-importancia/>> (30/9/2022).
- Aguilera, M.; Reza, M.; Chew, R. y Meza, J. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 8 (2): 16-22.
- Albornoz, A. 1997. Medicina Tradicional Herbaria. *Instituto Farmacoterápico Latino S. A. División de Fitoterapia y Productos Naturales*, 2:1-564.
- Angell, M. y Kassirer, J. 1998. Alternative medicine X the risks of untested and unregulated remedies. *New England Journal of Medicine*, 339: 839-841.
- Anza, M.; Riga, P y Garbisu, C. 2006. Effects of variety and growth season on the organoleptic and nutritional quality of hydroponically grown tomato. *Journal of Food Quality*, 29(1):16–37.
- Arancibia, L.; Quiñoa, G.; Campos, S.; Mallea, A.; Pucci, G. y Arce, M. 2016. Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Senecio neaei*. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de La Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia.
- Araya, H.; Alviña, M.; Vera, G. y Pak, N. 1991. Valores recomendables de densidad energética en preparaciones de consistencia tipo sopa o crema espesa, destinada a la alimentación del preescolar. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 41(1):53-61.
- Arroyave, N. 2017. El análisis sensorial de alimentos como herramienta para la caracterización y control de calidad de derivados lácteos. Trabajo de postgrado. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Arroyo, P. y Carrete, L. 2018. Intervención orientada a modificar prácticas alimentarias en adolescentes mexicanos. *Pontificia Universidad Javeriana*, 17(35):1-52.
- Arroyo P.; Mazquiaran, L.; Rodríguez, P.; Valero, T.; Ruiz, E.; Ávila, J. y Varela, G. 2018. Informe de Estado de Situación sobre "Frutas y Hortalizas: Nutrición y Salud en la España del S. XXI" *Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD)*, 1-198
- Badui-Dergal, S. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Pearson Addison Wesley, México.

Baker, J.; Borris, R.; Cragg, G.; Gupta, M.; Iwu, M.; Madulid, D. y Tyler, V. 1995. Natural product drug discovery and development: New perspectives on international collaboration. *Journal of Natural Products*, 58: 1325-1357.

Barrientos, N. 2005. Propuesta para la creación y lanzamiento de productos nuevos en la industria cosmética guatemalteca, Trabajo de Pregrado. Universidad de san Carlos de Guatemala, Escuela de Ingeniería Química, Guatemala.

Baüer, A.; Kirby, W.; Sherris, J.; Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single-disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4):493-496.

Benejam-Botella, A. 2019. Control de humedad en alimentos. Sistemas de Control en Línea SCL <<https://scl.es/blog/control-de-humedad-6/>> (18/10/2022).

Berríos, R. y Rivero, A. 2015. El cáncer prostático en la experiencia de pareja: la mujer como guardiana de la salud. *Interamerican Journal of Psychology*, 49(3):387-398.

Bhat, K. 1981. *Herbolario Tropical: Una manera sencilla de vivir mejor*. Primera Edición. Texto. Venezuela.

Bhat, K. 1985. *Herbolario Tropical: Una manera sencilla de vivir mejor*. Segunda Edición. Texto. Venezuela.

Benchaar, C., Greathead, H. 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 166– 167.

Bodas, R.; Prieto, N.; García, R.; Andrés, S.; Giráldez, F. y López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176:78– 93.

Boekenoogen, H. 1964. *Analysis and characterization of oils, fat, and fat products*, Primera Edición. Interscience Publishers. London.

Bonells, J. E. 2020. Historia del uso de las plantas medicinales. “Jardines sin fronteras” <<https://jardinessinfronteras.com/2020/05/26/historia-del-uso-de-las-plantas/>> (18/11/2021).

Camacho, A., Giles, M.; Ortigón, A.; Palao, M.; Serrano, B. y Velázquez, O. 2009. *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. Segunda edición. UNAM. México.

Campos-Santaella, Y. 1999. Sustancias biológicamente activas presentes en la especie *Aloe vera* L. Familia Aloaceae. Trabajo de Ascenso. categoría Profesor Agregado, Universidad de Oriente, Cumaná.

Campos-Santaella, Y. 2006. Bioactive secondary metabolites from plants and marine organisms. PhD Thesis. King's College London, London.

Campos-Santaella, Y. 2018. Marine sponges as promising sources of novel compounds with anticancer activity. Conferencia magistral 59vo Aniversario Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná.

Calixto M. 2006. Plantas medicinales utilizadas en odontología. *Nature Reviews Microbiology*. 3(2): 80-86.

Cáliz, J.; Estrada, J.; Jiménez, H. y Meneses, E. 2020. Extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) con CO₂ supercrítico y sus posibles aplicaciones. Facultad de Ciencias y Biotecnología, Trabajo de Postgrado Universidad CES, Medellín.

Calsamiglia, S.; Busquet, M.; Cardozo, P.; Castillejos, L. y Ferret, A. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90:2580–2585.

Calvo, J. y Martínez, L. 2009. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1):44–52.

Cameron, E. y Pauling, L. 1993. Cancer and vitamin C: a discussion of the nature, causes, prevention and treatment of cancer, with special reference to the value of vitamin C. Revised Edition, Camino Books, Philadelphia.

Cárdenas M.; Cruz, O.; López, R.; Gándara, J. y Pérez, M. 2014. Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. *Elementos*, 94:35-43

Carles, N. 2013. Las plantas medicinales como fuente de compuestos antineoplásicos. Trabajo de pregrado. Departamento de Farmacia, Universidad nacional de Colombia, Colombia.

Carrillo, M. y Reyes, A. 2013. Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2 (3):1-27.

Casaubon, P.; Lamshing, P.; Isoard, F.; Lemen, S.; Delgado, D. y Pérez, A. 2018. pH de los alimentos: ¿una herramienta para el manejo de los pacientes con reflujo gastroesofágico?. *Revista Mexicana de Pediatría*, 85(3):89-94.

Castillo, M.; Alfonso, I. y Lambert, J. Consumo de antimicrobianos seleccionados en el Cardiocentro Pediátrico “William Soler” durante el periodo 2011-2015. *Revista Cubana Salud Pública*, 45 (1): 1-15.

Chavarrías, M. 2012. ¿Por qué se deterioran los alimentos? Consumer Eroski <<https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/por-que-se-deterioran-los-alimentos.html>> (25/10/2022)

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1976. Norma Venezolana de Alimentos. Determinación de cloruros. Método 2138-84

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1989. Norma Venezolana de alimentos. Determinación de fibra cruda. Método 1789-81

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1990. Alimentos. Norma Venezolana de alimentos. Determinación de proteínas. Método 1195-80.

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1994. Alimentos. Productos de Cereales y legumbres. Determinación de humedad. Método 1553-80

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1998. Alimentos. Productos de cereales y leguminosas. Determinación de lípidos. Método 1785-81

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 2001. Alimentos. Productos de cereales y leguminosas. Determinación de cenizas. Método 1783-81.

Conesa, J.; Carrasco, A. C.; Rodríguez, V.; Yang, Y.; Carrascosa, J.; Cloetens, P.; Pereiro, E. y Pizarro, A. 2021. Unambiguous intracellular localization and quantification of a potent iridium anticancer compound by correlative 3D Cryo X-Ray imaging. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(3):1270-1278.

Constain, C.; Espinosa, C.; Narváez, J.; Ramírez, M. y Vallejo, K. 2016. Evaluación de la estabilidad de la emulsión tipo salsa de ajo sometida a dos tipos de agitación y dos tiempos de almacenaje. <<https://es.scribd.com/document/345075896/Salsa-de-ajo>> (12/10/ 2022).

Contreras, R. y Méndez, S.2019. Tiempo de vida media en anaquel de una salsa barbacoa con base de salsa de tomate. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 4(2): 111–118.

Cordell, G. 2007. A vision for medicinal plants. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 6(4): 89-91.

Costell, E. 2003. El análisis sensorial en el control y aseguramiento de la calidad de los alimentos: una posibilidad real. *Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia*, 73(1):1-10.

Cragg, G. y Newman, D. 2012. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3):311-335.

- Cragg, G. y Newman, D. 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79(3):629-661.
- Cragg, G.; Newman, D.; Snader, K. 1997. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*, 69 (1): 52 – 60.
- Cruz, L. 2015. Espectroscopía de Infrarrojo/ATR. *Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable, 1*: 1-187.
- Contreras, Q. y Méndez, S. 2019. Tiempo de vida media en anaquel de una salsa barbacoa con base de salsa de tomate. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 4(2):111-118.
- Cordero, G. 2013. Aplicación del Análisis Sensorial de los Alimentos en la Cocina y en la Industria Alimentaria. Trabajo de postgrado Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica. Universidad Pablo de Olavide, Sevilla
- Daza, R. 1998. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 22(3):57-67.
- Dorais, M.; Ehret, D. y Papadopoulos A. 2008. Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. *Phytochemistry Reviews*, 7(2): 231.
- Echarrys, K. y Ramírez, A. 2002. Evaluación física y química de siete pastas de tomates para la obtención de salsa tipo ketchup. *Agronomía Tropical*, 52(3):363-374.
- Escabilla, B. y Moreno, P. 2015. *Plantas medicinales*. Primera edición. Instituto Literario de Veracruz. México.
- Eskin, N. 1979. *Aldehydes, alcohols, and esters: Biogenesis*. In: *Plant Pigments, Flavors and Textures*. The Chemistry and Biochemistry of Selected Compounds. Primera Edición. Academic Press. New York.
- Fehling, H. 1849. Die quantitative Bestimmung von Zucker und Stärkmehl mittelst Kupfervitriol. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 72(1): 106-113.
- FEIQUE (Federación Empresarial de la Industria Química Española). 2022. “Foro Química y Sociedad”. <http://www.quimicaysociedad.org> (5/5/2022).
- Ferary, S. y Auger J. 1996. What is the true odour of cut *Allium*? Complementarity of various hyphenated methods: Gas chromatography-mass spectrometry and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry with particle beam and atmospheric pressure ionization interfaces in sulphenic acids rearrangement components discrimination. *Journal of Chromatography A*, 750 (1-2), 63-74.

- Fermín, J.; Valdiviezo, M.; Orlandoni, G. y Barreto, S. 2009. Control estadístico de procesos multivariantes en la industria alimentaria: implementación a través del estadístico T₂-Hotelling. *Agroalimentaria*, 15(28):1-12.
- Fernández, C., Pitre, A., Llobregat, M, Rondón, Y. 2007. Evaluación del contenido de licopeno en pastas de tomate comerciales. *Información Tecnológica*, 18(3): 31-38.
- Galmarini, C. 2005. La cebolla como alimento funcional. *Revista Pilquen-sección Agronomía*, 5 (7): 1-5.
- García, L. y Sánchez, F.2000. Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo *Allium sativum* *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 50 (3):219-229.
- García-Martínez, E. y Fernández-Segovia, I. 2012. Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación. *Univèrsitat Politècnica de València*.
- Giacopini de Z.; Alonso, H.; Ruíz, N.; Ocanto, A.; Martínez, B.; Bosch, V. 2013. Valores de referencia de grasas para la población venezolana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(4):293-300.
- Gómez, M. 2015. *Estabilidad Natural*. “Proquifar”. <<http://www.proquifar.com/sitio/detalles/estabilidad-natural#.WtsR0jO-nIU>> (26/04/2018).
- González, H. B. 2005. ¿Posee propiedades médicas el ajo? *Revista de Investigación Médica Sur*, 12 (4):224-225.
- González, L.; Téllez, A.; Sanpedro, J. y Nájera, H. 2007. Las proteínas en la nutrición. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 8(2):1-7.
- Gorzynski, S. 2011. *Organic chemistry*. Tercera edición. McGraw-Hill. New York.
- Granado, F.; Blásquez, S. y Olmedilla, B. 2007. Changes in carotenoids intake from fruits and vegetables in the Spanish population over the period 1964-2004. *Public Health Nutrition*, 10(10): 1018-1023.
- Gutiérrez, J.; Santiago, Y.; Hernández, A.; Pinedo, J.; López, G y López, C. 2019. Influencia de los métodos de cocción sobre la actividad antioxidante y compuestos bioactivos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Nova scientia*, 11(22):53-68.
- Guillamón, E. 2018. Effect of phytochemical compounds of the genus *Allium* on the immune system and the inflammatory response. *Ars Pharmaceutica*, 59(3): 185-196.

Hansen, S. 1999. Content and Composition of Dry Matter in Onion (*Allium cepa* L.) as Influenced by Developmental Stage at Time of Harvest and Longterm Storage. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Soil & Plant Science*, 49(2): 103-109.

Hagerman, A.; Riedl, K.; Alexander Jones, G.; Sovik, K.; Ritchard, N.; Hartzfeld, P. y Reichel, T. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5):1887-1892.

Hakimelahi, H. 2001. Synthesis and biological evaluation of purine-containing butenolides. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(1): 1749-1757.

Hann instruments 2022. Determinación del índice de peróxidos. “Hann instruments” <<https://www.hannainst.es/blog/116/determinacion-del-indice-de-peroxidos>> (1/3/2022)

Hernández, E. 2015. Evaluación sensorial. Trabajo de pregrado. Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Nacional Abierta, Bogotá.

Himanshu, G.; Rai, N.; Singh, R. y Singh, D. 2008. Expression of Heterosis and Combining Abilities (Gca y Sca) in Inter-Specific Crosses of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.syn. (*Solanum lycopersicum*) *Indian Journal of Plant Genetic Resources* 21(3):221-224.

Jaime, L.; Martínez, F.; Martín, M.; Mollá, E.; López, F.; Waldron, K. y Esteban, R. 2001. Study of total fructan and fructooligosaccharide content in different onion tissues. *Journal Science Food and Agriculture*, 81(2): 177-182.

Jing, Y.; Mani, S. Donaher, J.; Ramaswamy, R.; Come, S.; Savagner, S.; Gitelman, I.; Richardson, A. y Weinberg, R. 2004. "Twist, un regulador de la morfogénesis, desempeña un papel esencial en metástasis tumoral". *Cell*, 117 (7): 927-39.

Julián, I. y S. Martínez. 2003. *Diccionario de química*. Diccionarios Oxford/Complutense. Editorial Complutense, Madrid. 656 p.

Kähkönen, M.; Copia, A. I. y Heinonen, M. 2001. Berry fenolics and their Antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8): 4076-4082.

Key, T.; Appleby, P.; Travis, R.; Albanés, D.; Alberg, A. y Barricarte A. 2015. Carotenoids, retinol, tocopherols, and prostate cancer risk: pooled analysis of 15 studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 102(5): 1142-57.

Kjeldahl J. 1883. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z. Analytische Chemie*, 22: 366-382.

Koneman, E.; Allen, S.; Jana, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 2008. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

- Ledezma, E y Apitz, R. 1998. Del folklora al mecanismo molecular: el ejemplo del ajoene. *Interciencia*, 23(4): 227-31.
- Lock de Ugaz O. 1988. *Investigación Fitoquímica: Métodos de Estudios de Productos Naturales*. Primera Edición. Pontifical Catholic University of Perú (PUCP). Lima.
- López, G. y Castañón, C. 2018. Quercetina atenúa la virulencia de *Staphylococcus aureus* al disminuir la secreción de alfa toxina. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2):131-135.
- Lücke, F. y Geidel, W. 1935. Bestimmung des flüchtigen basischen stickstoffs in fischen als Masstabb für ihren frischezustand. *Z. Untersuch. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 70:441-458.
- Luengo, L. 2007. El ajo, propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas, ámbito farmacéutico. *Revista de Fitoterapia*, 26(1): 1-4.
- Maneerat, C.; Hayata, Y.; Hiroshi, K.; Sakamoto, K y Gosajima. 2002. Application of the Porapak Q column extraction method for tomato flavor volatile analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:3401-3404.
- Mantilla, J. y Sanabria, A. 2016. Actividad antibacteriana de plantas superiores colombianas. Trabajo de postgrado. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Martínez, A. 2003. Aceites Esenciales. Trabajo de Pregrado. Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.
- Martínez, I. y Blanco, R. 2011. “Determinación y comparación de parámetros físico-químicos de salsas de tomates obtenidas en centros de abastecimiento de la ciudad de León”. Trabajo de Pregrado. Departamento de Química, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, León.
- Martínez, J.; Sulbarán de Ferrer, B.; Ojeda de Rodríguez, G.; Ferrer, A y Naval, R. 2003. Propiedades del aceite esencial de la especie de mandarina *Citrus reticulata*, variedades Dancy (silvestre) y Gerch (comercial), contra las cepas patógenas Gram positivas de origen clínico: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*. *Revista de la facultad de agronomía*, 20(4). 1-11.
- Meléndez, A.; Vicario, I. y Heredia, F. 2004. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(2):149-155.
- Mella, A.; Pennacchiotti, I.; Saenz, C.; Scapparone, C.; Schmidt, H.; Zuccarelli, T. 1976. Estudio químico comparativo de salsas de tomate elaboradas por tres industrias nacionales. *Alimentos*, 1(1):1-11.

Mendoza, A. y Bautista, L. 2008. “Determinación de fibra cruda”. “Análisis de los alimentos”. <<http://qfbalimentoslaboratory.blogspot.com/2008/11/determinacion-de-fibra-cruda.html>> (2/4/2022)

Meneses, M. 2009. Formulación de un aderezo a base de tomate y aceite de oliva, evaluación fisicoquímica, microbiológica, sensorial y licopeno presente. Instituto de ciencias básicas Trabajo de postgrado. Universidad Veracruzana. México.

Mena, C.; Silva, B. y Medina, A.2020. Composición química y actividad biológica de los aceites esenciales de *Lamiaceas*, *Asteraceas*, *Verbenáceas*: una revisión *Infoanalítica*, 8(2):47-68.

Mena, Y.; Ramírez, L. y Arango, A.2021. Actividad antibacteriana y antioxidante del hongo *Phanerochaete* spp. *Información tecnológica*, 32(1): 69-78.

MIDA (Alimentos Mida). 2020. Salsa de ajo: Descripción, composición, información nutricional, parámetros fisicoquímicos y características organolépticas, formas de consumo y consumidores potenciales. Valores de referencia de energía y nutrientes para la población venezolana. “Salsa de ajo” <<https://www.alimentosmida.com/wp-content/uploads/2022/02/FT-PTS-002-Salsa-de-Ajo.pdf>> (3/4/2021).

Monsalve, J. y Machado, M. 2007. Evaluación de dos métodos de deshidratación del tomate (*Lycopersicon esculentum* Millër) variedad manzano. *Multiciencias*, 7(3): 256-265.

Morales. J. 2012. *Métodos de conservación de alimentos*. Primera edición. Red tercer milenio, México.

Morales, P.; Sánchez, M. y Cámara, M. 2015. Importancia de la presencia de compuestos bioactivos en los vegetales. Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

Moreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, L. y Cuadrado, C. 2013. *Tablas de composición de alimentos*. Dieciséis ediciones. Novedades pirámides. Salamanca

Moreno, M.; González, E. y Beltrán, C. 2009. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Revista de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello*, 69(2): 185-192.

Narain, N.; Galvao, M.; Santana, K. y Silveira J. 2010. Volatile compounds in naturales. *Drying Technology an International Journal* 28:232–239.

Nates, B. 2006. De lo Etno a lo botánico: algunas reflexiones sobre la etnobotánica dentro del marco “etnociencias”. <<http://lunaazul.ucaldas.edu.com>> (25/10/2019).

- Narváez, J.; Soto, C. y Delgado, G. 2021. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 54(4): 240-244.
- Navarro, I. y Periago, M. 2016. El tomate, ¿alimento saludable y/o funcional? *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 20(4):323-335.
- Nelson, D.; Lehninger, A. y Cox, M. 2013. *Principios de bioquímica*. Sexta edición. Omega, EEUU.
- Newman, D. y Cragg, M. 2012. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2011. *Journal of Natural Products*, 75 (3): 311–335.
- Newman, D. y Cragg, G. 2014. In: *Macrocycles in Drug Discovery*; RSC Drug Discovery. *Royal Society of Chemistry*, 40 (1): 1–36.
- Newman, D.; Cragg, G. y Kingston, D. 2015. In: *The Practice of Medicine*. *Royal Society of Chemistry*, 43:101–139.
- Newman, D y Cragg, G. 2016. Productos naturales como fuentes de nuevas drogas de 1981 a 2014. *Journal of Natural Products*, 79 (6): 629-661.
- Nielsen, S. 1998. *Análisis de los alimentos*, Segunda edición. An Aspen Publication, Gaithersburg, USA.
- Nuez, F. 1995. *El cultivo del tomate*. Mundi-Prensa, Madrid, 13- 741.
- OEA (Organización de Estados Americanos). 2011. El problema de las drogas en Las Américas, Capítulo 2: Drogas y Salud Pública. 79 p. En: Informe del Uso de Drogas en las Américas 2011, Washington, D.C.: OEA/CICAD Observatorio Interamericano de Drogas, 2011).
- Ostos, O.; Rosas, S. y González, J. 2019. Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *Nova*, 17(31): 129-163.
- PAHO (Pan American Health Organization). 2021. Resistencia a los Antimicrobianos. “Organización panamericana de la salud” <<https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos>> (3/03/2021).
- Pastor, S. 2014. “Conocer la opinión del consumidor para estimar la vida útil sensorial de los alimentos. “Ainia”. <http://www.ainia.es/tecnoalimentaria/consumidor/conocer-la-17opinion-del-consumidor-para-estimar-la-vida-util-sensorial-de-los-alimentos/> (20/04/2018).

- Patra, A., Saxena, J., 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 24–37.
- Pearson, D. 1993. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Editorial Acirbia, Madrid, España.
- Pintado, F. 2015. Instituto nacional del carbón. “INCAR”. <<http://sitios.csic.es/web/incar-instituto-nacional-del-carbon/espectroscopia-ir>>. (21/10/20 20).
- Pinto, V. 2016. Determinación de cloruros: Técnicas de análisis de Cloruros, métodos de Möhr y Völhard. <<https://Prezi.com/cfv4wuqdvz2o/Determinacion-de-cloruros/>> (07/04/2021).
- Pizarro, A. y Conesa, J. 2020. Observan cómo compuestos anticancerígenos se mueven en el interior de las células. “Alba” <https://www.albasynchrotron.es/es/actualidad/noticias/observan-como-compuestos-anticancerigenos-se-mueven-en-el-interior-de-las-celulas>, (19/11/ 2021).
- Posada, C. 2011. Recopilación de estudios de tiempos de vida útil de productos nuevos y ya existentes de la compañía de galletas Noel S.A.S. Trabajo de pregrado, Universitaria lasallista, Caldas.
- Puupponen, P.; Nohynek; L.; Meier, C.; Kähkönen, M.; Heinonen, M.; Hopia, A. y Oksman, K. 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90(4): 494-507.
- Quintana, A. 2010. Bases Microbiológicas del uso de Antimicrobianos. *Antibióticos*, 7(2):1-21.
- Raffo, A.; La Malfa, G.; Flogiano, V.; Maiani, G. y Qualia, G. 2006. Variaciones estacionales en los componentes antioxidantes de los tomates cherry (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *Revista de Composición y Análisis de Alimentos*, 19(1):11-19.
- Ramírez, G.; Reyes, M. y Cruz, A.2013. Estudio del nejayote como medio de crecimiento de probióticos y producción de bacteriocinas. *Revista mexicana de ingeniería química*,12(3): 463-471.
- Rijavec, M.; Müller, M.; Zakotnik, B. y Žgur, D. 2008. Virulence factors and biofilm production amongst *Escherichia coli* strains causing bacteraemia of urinary tract origin. *Journal of Medical Microbiology*, 57(11):1329-1334.
- Rodríguez, C.; Zarate, A. y Sánchez, L. 2016. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *Nova*, 15 (27): 119-129.

- Robbins, R. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:2866-2887.
- Rodríguez, B.; Rodríguez, E. y Díaz, C. 2008. Flavonoids in Onion Cultivars *Allium cepa* L. *Journal of Food Science*, 73 (8): C599–C605.
- Rojas, K. 2021. Evaluación de la estabilidad oxidativa y las propiedades fisicoquímicas de un aderezo de quinoa (*Chenopodium quinoa*. Wild) con vegetales producido en Cundinamarca. Trabajo de Pregrado. Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería, Universidad Nacional Abierta a Distancia, Bogotá.
- Sabini, M.; Menis Candela, F.; Beoletto, V. 2019. Historia de las plantas medicinales. Editorial Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba, 2:11-20.
- Sahu, P.; Chakradhari, S.; Patel, K.; Martín, J.; Towett, E., y Martín, P. 2019. Nutritional, Spectral and Thermal Characteristic of Lamiaceae Seeds. *European Journal of Medicinal Plants*, 28(3): 1–13.
- Sánchez, M., Sánchez J., Zamora, W. 2019. Consistencia de algunas pastas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Millër) del mercado de Piura. *Revista de Investigación y Cultura*, 8(3):11-16.
- Sánchez, T. 2011. “Fibra de zanahoria para sustituir gomas y almidones en la elaboración de salsa de tomate en la empresa Marcseal S.A. 2011”. Trabajo de pregrado. Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito.
- Sandoval, R. 2009. Determinación de pH y acidez titulable en los alimentos. Trabajo de pregrado. Facultad de ingeniería química e industrias alimentarias, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque.
- Santos, T.; Laemmle, J.; Rebelo, R.; Dalmarco, E.; Cruz, A.; Schmit, A.; Cruz, R. y Zeni, A. 2015. Chemical composition and antimicrobial activity of *Aloysia gratissima* (Verbenaceae) leaf essential oil, *Journal of Essential Oil Research*, 27(2): 125–130.
- Schlaepfer, L. y Espinoza, J. 2010. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41 (4)18-27.
- Sharma, R.; Sharma, C. y Kapoor, B. 2005. Antibacterial resistance: current problems and possible solutions. *Indian journal of medical sciences*, 59: 120-129.
- Skoog, D.; West, D.; Holler, F. y Crouch, S. 2001. *Química analítica*. Séptima edición. Venezuela.

Sorrequieta, A.; Ferraro, G.; Boggio, S. y Valle, M. 2010. Free amino acid production during tomato fruit ripening: a focus on L-glutamate. *Plant & Cell Physiology*, 38:1523–1532.

Suárez, S.; Castro, A. y Ale, N. 2014. Actividad antioxidante in vitro de un extracto acuoso de *Allium sativum* var. Huaralino. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 4 (80):308-316.

Sure, S.; Ackland, M.; Torriero, A.; Adholeya, A. y Kochar, M. 2016. Microbial nanowires: An electrifying tale. *Microbiology*, 162(12):2017-2028.

Tasici, A. 2015. Evaluación de estabilidad de formulación de comprimidos. Trabajo de pregrado, Facultad de farmacia Universidad Complutense, Madrid.

Tecnal. 2019. Determinación de grasas y lípidos. “Tecnal”. < https://tecnal.com.br/es/blog/82_la_determinacion_de_lipidos_presentes_en_alimentos_auxilia_en_la_elaboracion_de_dietas_balanceadas> (20/07/2022).

Thanassi, D. G.; Nuccio, S. P.; Shu Kin So, S. y Bäumier, A. J. 2007. Fimbriae: Classification and Biochemistry. *EcoSal Plus Cellular and Molecular Biology of E. coli, Salmonella, and the Enterobacteriaceae. ASM Journal*, 2(2): <http://doi.org/10.1128/ecosalplus.2.4.2.1>.

Tilgner, J. 1971. A retrospective view of sensory analysis and some considerations for the future. *Advances of Food Research*, 19: 215-277.

Toledo, M.2020. “pH en la producción de alimentos y bebidas”. “Mettler Toledo”. <<https://www.mt.com/es/es/home/library/collections/lab-analytical-instruments/pH-in-food-and-beverage-production.html~:text=La%20variabilidad%20del%20pH%20en-inspección%20antes%20de%20la%20distribución>> (22/4/2022).

Toledo, M. 2018. “Medición de la densidad”. “Mettler Toledo”. https://www.mt.com/es/es/home/applications/Laboratory_weighing/density-measurement.html (20/3/2022).

Thompson, K.; Marshall, M.; Sims, C.; Wei, S.; Sargent, J. y Scott. W. 2000. Cultivar, maturity, and heat treatment on lycopene content in tomatoes. *Journal of Food Science* 65 (5): 791-795.

Torija, I. 2011. Fibra dietética y salud. Concepto y composición de la fibra dietética. Los alimentos como fuente de fibra. *Cátedra Kellogg's. Alimentando el conocimiento*. 1(1):1-11.

Urdaneta, J. y Borges J. 2011. Características organolépticas, fermentativas y nutricionales de ensilajes mixtos de *Pennisetum* spp. *hibridum*. San Felipe (VZ). *Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA)*, 2: 58–63.

Ulloa, C.; Acevedo, P.; Beck, S.; Belgrano, M.; Bernal, R.; Berry, P.; Brako, L.; Celis, M.; Davidse, G.; Forzza, R.; Gradstein, R.; Hokche, O.; León, B.; León, S.; Magill, R.; Neill, D.; Nee, M.; Raven, P.; Stimmel, H.; Strong, M.; Villaseñor, J.; Zarucchi, L.; Zuloaga, F. y Jørgensen, P. 2017. An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. *Science*, 358: 1614-1617.

Vallverdú, A.; Medina, A.; Martínez, M.; Jauregui, O.; Andrés, A.; La Muela, R. 2012. Evaluation of a method to characterize the phenolic profile of organic and conventional tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(2):3994-4001.

Vanegas, J.; Jiménez, J. 2020. Resistencia antimicrobiana en el siglo XXI: ¿hacia una era post-antibiótica? *Revista de la Facultad de Salud Pública*, 38(1).

Vasoo, S.; Barreto, J. y Tosh, P. 2015. Emerging issues in Gram-negative bacterial resistance: An update for the practicing clinician. *Mayo Clinic Revista Conference Proceedings*, 90(3):395-403.

Velioglu, Y.; Mazza, G.; Gao, L. y Oomah, B. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117.

Villacís, J. 2009. Temas de Medicina Natural: Fitomedicina. Ambato. Trabajo de pregrado, Universidad Técnica de Ambato, San Juan Bautista de Ambato.

Vinson, J.; Yousef A.; Mamdouh, M. y Jinhee, J. 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11): 2800-2802.

Vivot, E.; Sánchez, C.; Cacik, F. y Sequin, Christian. 2012. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 23(45):165-185.

Wagner, M. 2016. Principios Activos y bioactividad. V Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales. *Dominguezia*, 32(2): 1-43.

Watts, J.; Salmon, S. y Yancey, J. 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers. *Journal Dairy Science*, 78 (7): 1637 – 1648.

Weisburger, J. 2002. Lycopene and tomato products in health promotion. *Biological Research*, 227(10):928-937.

WHO (World Health Organization). 2019. “Antibiotic resistance” <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>> (19/6/2021).

Yu-Ting, G.; Kondo, S.; Katsumura, S.; Nakatani, K. e Isoe, S. 1993. Absolute configuration of novel marine diterpenoid udoteatrial hydrate synthesis and cytotoxicities of ent-udoteatrial hydrate and its analogues. *Tetrahedron*, 49 (2): 10555–10576.

ANEXOS

ANEXO 1: Formato del análisis sensorial del producto natural terminado PAV-L:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
GRUPO FARMACOGNOSIA
CUMANÁ-VENEZUELA

Análisis sensorial dirigido a los participantes en el trabajo de investigación: **Actividad antibacteriana, estabilidad física-química-bacteriológica y aceptación sensorial del producto natural PAV-L**

Nombre: _____ Fecha: _____ Cédula: _____
Número de contacto: _____ Dirección: _____

Instrucciones:

Frente a Ud. se presenta una muestra del producto natural terminado PAV-L. Por favor, observe y pruebe la muestra del producto. Expresar la medida de agrado o desagrado de cada atributo de la muestra, de acuerdo al puntaje por categoría que refleje su sentir, escribiendo el número correspondiente en la línea del código de la muestra en la siguiente Tabla:

PUNTAJE	CATEGORÍA	PUNTAJE	CATEGORÍA
1	Lo detesto	6	Me gusta poco
2	Me disgusta mucho	7	Me gusta moderadamente
3	Me disgusta moderadamente	8	Me gusta mucho
4	Me disgusta levemente	9	Me encanta
5	Ni me gusta ni me disgusta		

CÓDIGO	CALIFICACIÓN PARA CADA ATRIBUTO			
	Olor	Color	Sabor	Textura
PAV-L				
Observaciones:				

Gracias por su colaboración

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Actividad antibacteriana, estabilidad física-química-bacteriológica y aceptación sensorial del producto natural PAV-L
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Villamizar L. Díaz. C	CVLAC	19.893.998
	e-mail	licetvillamizar@gmail.com
	e-mail	labeba_palocet@hotmail.com

Palabras o frases claves:

<i>PAV-L</i>
Estabilidad físico-química
Actividad antibacteriana, inocuidad bacteriológica, espectrometría, Flavonoides.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Microbiología – Bioanálisis

Resumen (abstract):

PAv-L es un alimento funcional elaborado a base de extractos naturales de origen vegetal. Durante más de una década, este producto natural ha demostrado una notable actividad antiinflamatoria, aliviando diversas afecciones, tales como: migraña crónica, dolor muscular, artritis, inflamación ovárica y prostática (displasia e hiperplasia). En consecuencia, la presente investigación planteó: Evaluar la actividad antibacteriana, estabilidad física-química-bacteriológica y aceptación sensorial del producto natural PAV-L. Los parámetros físico-químicos (pH, Humedad, Fibra Cruda, %Ceniza, L, %Nitrógeno, Cloruros y Bromuros, AR, NBVT, Densidad, I acidez e I peróxido), se determinaron siguiendo los métodos de Cruz (2015), Hernández (2018) y Arroyave (2017). La estabilidad y confirmación bacteriológica se analizaron, aplicando técnicas microbiológicas convencionales (Koneman *et al.*, 2008). La actividad antibacteriana, el perfil de sensibilidad a los antibióticos y la concentración mínima inhibitoria (CMI) del producto, se determinaron según la metodología descrita por Kirby-Baier (1966), utilizando las especies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, como modelos de bioactividad. Adicionalmente, se realizó el análisis sensorial para cuantificar el grado de aceptación del producto (Hernández, 2015). Todos los análisis se ejecutaron siguiendo etapas preestablecidas: Etapa inicial (E0), dos meses (E2), cuatro meses (E4) y seis meses (E6). Los parámetros físico-químicos [pH= 5,28; % Humedad= 64,20; % Fibra Cruda= 7,75; % Ceniza= 1,65; % Lípidos= 8,54; % P= 4,89; % Nitrógeno= 0,78; Densidad= 0,920 e Índices de acidez= 0,09 y peróxido= 2,51, así como la presencia de cloruros, bromuros y los azúcares reductores= lactosa, sacarosa y galactosa, se mantuvieron casi constantes, confirmando que no existe variación significativa en la composición del producto durante el período considerado; así mismo, el análisis bacteriológico demuestra que PAV-L mantiene su inocuidad bacteriológica, durante las distintas etapas de investigación. Los espectros de infrarrojo corroboraron la presencia de dobles enlaces del tipo: C=O, C=C, enlaces sencillos C-O, C-N y grupos hidroxilos (-OH) indicando la presencia de grupos funcionales característicos de familias químicas de comprobada actividad biológica como: aceites esenciales, compuestos azufrados, flavonoides, entre otros. Los resultados de actividad antibacteriana revelan que solo las especies *S. aureus* ($11 \pm 0,2$ mm) y *E. coli* ($26 \pm 0,3$ mm) son susceptibles a la acción del producto hasta la E2, mientras que *Pseudomonas aeruginosa*, no desarrolló halos de inhibición en ninguna de las etapas evaluadas. El análisis sensorial también evidencia una buena aceptación del producto en relación a sus características organolépticas. Los resultados indican que PAV-L posee una alta estabilidad física-química y bacteriológica, la cual es consistente durante el período estudiado; PAV-L, además de mantener su composición y aceptación sensorial, garantiza la vida útil del producto, su inocuidad bacteriológica, la continuidad de cualidades organolépticas durante el período estudiado. Se concluye que PAV-L reúne importantes propiedades que lo perfilan como un excelente candidato para uso terapéutico como alimento funcional.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Dra. Ysabel Campos Santaella	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8.309.182
	e-mail	Ysabelita63@yahoo.co.uk
	e-mail	
Dra. Lorena Abadía	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> X
	CVLAC	10.952.465
	e-mail	labadia@udo.edu.ve
	e-mail	
Herrera Mata Hernando, M.Sc	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> X
	CVLAC	5. 872. 352
	e-mail	hherrera.mata@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2023	07	14

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis- Villamizar L.	Application/word

Alcance:

Espacial: UNIVERSAL

Temporal: INTEMPORAL

Título o Grado asociado con el trabajo: Magister Scientiarum en Biología Aplicada

Nivel Asociado con el Trabajo: Magister

Área de Estudio: Microbiología

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Postgrado Biología Aplicada
Universidad de Oriente**

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

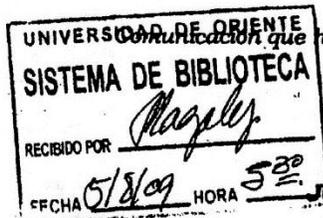
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Letido el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNPELE
Secretario



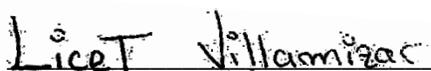
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

El autor garantiza en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir, por cualquier medio, contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar a la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. El autor se reserva los derechos de propiedad intelectual, así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.



Licet Villamizar

Autor



Dra. Ysabel Campos Santaella

Tutora