



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**"ELABORACIÓN, CONTROL DE CALIDAD Y EVALUACION DE LA
ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA DE LA MIEL DE AGAVE (*Agave americana* L.)"**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

LILIANA GUADALUPE LÓPEZ SÁNCHEZ

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico con mucho amor a mi abuelita Rosa Mercedes que con su ejemplo he llegado a ser la mujer valiente y fuerte y desde el cielo cada día seguirá bendiciéndome; a mis padres que son el motor y la razón de mi vida por todo su apoyo y dedicación, amor y esfuerzo; a mis hermanos que con la palabra justa el abrazo a tiempo llenan mi vida de alegría y de ganas de seguir luchando por lo que sueño y a mi Tía María por sus consejos y todo su apoyo.

AGRADECIMIENTO

A Dios y a la Virgen Guadalupe, por guiarme, bendecirme y regalarme la alegría de cumplir mi sueño de ser profesional.

A mis padres Ángel y Gloria a mis hermanos Paul y Daniela por ser mi razón de seguir adelante y mi fuerza para lograr mis objetivos y superar todo obstáculo.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por ser el lugar donde cumplí mi sueño de ser una BIOQUIMICA FARMACEUTICA.

A la Dra. Olga Lucero, al Bqf Fausto Contero y al Bqf. Diego Vinuesa, por su valiosa colaboración y asesoramiento en la elaboración de la presente Tesis.

A mis amigos por haber llegado a ser la familia que yo elegí tener, en especial a Beatriz Lema y John Quispillo por ser esos amigos casi hermanos los quiero.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “ELABORACIÓN, CONTROL DE CALIDAD Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA DE LA MIEL DE AGAVE (*Agave americana* L.)”, de responsabilidad de la egresada Liliana Guadalupe López Sánchez, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FAC.CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
**DIRECTOR DE
ESCUELA DE BIOQUÍMICA
Y FARMACIA**

Dra. Olga Lucero
DIRECTOR DE TESIS

BQF. Fausto Contero
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Lcdo.Carlos Rodríguez
**DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN**

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Liliana Guadalupe López Sánchez, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

LILIANA GUADALUPE LÓPEZ SÁNCHEZ

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

a.a	aminoácidos
acetil-CoA	acetilcoenzima A
ADA	Asociación Americana de Diabetes
ATPasa	adenosíntrifosfatasa
aw	actividad de agua
CG	carga glicémica
cm	centímetros
CO ₂	dióxido de carbono
DM 1	Diabetes Mellitus 1
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus 2
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
ETA	Enfermedades Transmitidas por alimentos
FAO	La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
g	gramos
HbA1c	Hemoglobina glucosilada
IG	índice Glicémico
ISCI	sistemas de infusión subcutánea continua de insulina
MDI	múltiples dosis de insulina
mL	mililitros
mm	milímetro
Na	sodio
NMP	número más probable
°C	grados celcius
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	potencial de hidrogeno
RI	resistencia insulinica
ufc	unidades formadoras de colonias
VU	vida útil

ÍNDICE GENERAL

INDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1. Marco Teorico	- 1 -
1.1 Diabetes	- 1 -
1.2 Definiciones Generales.....	- 3 -
1.2.1 Glicemia:	- 3 -
1.2.2 Hiperglucemia:	- 3 -
1.2.3 Hipoglucemia:	- 3 -
1.2.5 Insulina	- 4 -
1.3. Tipos De Diabetes	- 7 -
1.3.1 Diabetes De Tipo 1	- 7 -
1.3.2 Diabetes De Tipo 2.....	- 9 -
1.3.3 Tratamientos No Farmacologicos.....	- 13 -
1.3. Índice Glicémico	- 16 -
1.4.1 Ig De Un Alimento	- 18 -
1.4.2 Diferencias Entre Índice Glicémico Y Carga Glicémica.....	- 20 -
1.4.3 Índice Glicémico Y Salud	- 21 -
1.4.4. Índice Glicémico Y Control De La Diabetes Mellitus	- 22 -
1.4.5 Índice Glicémico, Carga Glicémica Y Resistencia Insulínica.....	- 23 -
1.4.6 Importancia Del ConsumoDe Hidratos De Carbono Y Del Ig.....	- 23 -
1.5. Cabuya.....	- 24 -
1.5.1. Historia	- 24 -
1.5.2 Aspectos Agrícolas De La Cabuya Negra	- 25 -
1.5.3 Aspectos Botánicos De La Cabuya Negra.....	- 26 -
1.5.4 Variedades De Cabuyas.....	- 28 -
1.5.5 Etapa De Maduración De La Cabuya	- 29 -
1.5.6 Importancia Y Usos De La Cabuya.....	- 30 -
1.6 Miel/Jarabe De Agave	- 31 -
1.6.1 Definición.....	- 31 -

1.6.2	Características De La Miel De Agave	- 31 -
1.6.3	Especificaciones	- 36 -
1.6.4	Beneficios.....	- 37 -
1.7	Industrialización De La Miel De Agave.....	- 38 -
1.8	Proceso De Elaboración	- 39 -
1.10	Conversión De Azucares	- 41 -
1.11	Control De Calidad.....	- 41 -
1.11.1	Calidad Higiénico-Sanitaria	- 42 -
1.11.2	Calidad Tecnológica.....	- 42 -
1.11.3	Calidad Nutritiva	- 43 -
1.11.4	Calidad Económica.....	- 43 -
1.11.5	Calidad Organoléptica.....	- 44 -
1.12	Análisis Bromatológico.....	- 44 -
1.12.1.	Control De Características Sensoriales.	- 44 -
1.12.2	Determinaciones Físicas.....	- 46 -
1.12.3	Análisis Químicos	- 47 -
1.13	Microbiología.....	- 51 -
1.13.1	Microorganismos Inidcadores De Calidad Sanitaria.....	- 51 -
1.15	Ratones De Laboratorio.....	- 55 -
1.15.1	El Animal De Laboratorio.....	- 55 -
1.15.2	El Ratón, Sutaxonomía Y Uso Como Animal De Laboratorio	- 56 -
1.15.3	Técnicas De Manejo Para Ratones Jóvenes Y Adultos.....	- 57 -
1.16	Vías De Administración	- 58 -
1.17	Técnicas Para La Extracción De Sangre En Animales De Experimentación.....	- 58 -
1.17.1	Vías De Extracción De Sangre En Animales De Experimentación	- 59 -
1.19	Vida Util De Alimentos.....	- 60 -
1.20	Tratamiento Estadístico.....	- 62 -
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	- 64 -
2.1	Lugar De Investigación	- 64 -
2.2	Materiales, Equipos Y Reactivos	- 64 -
2.2.1	Materia Prima.....	- 64 -
2.2.2	Equipos.....	- 64 -
2.2.3	Materiales	- 65 -
2.2.4	Material Biológico.....	- 66 -
2.2.5	Reactivos	- 66 -
2.2.6	Medios De Cultivo	- 67 -
2.3	Métodos.....	- 67 -
2.3.1.	Obtencion De La Materia Prima (Agua Miel) (Anexo I)	- 67 -

2.3.3	Identificación De Azucres Por Tlc.	- 69 -
2.3.4	Comprobación De La Actividad Antidiabetica De Las Tres Muestras De Miel De Agave En Ratonos (<i>Mus Musculus</i>) Método De Cytod, Manual De Técnicas De Investigación	- 69 -
2.3.5	Análisis Sensorial, Fisico, Quimico y Microbiologico de ma Miel De Agave con efecto Antidiabetico.	- 71 -
2.3.6	Vida Util Metodo Condiciones Acelerada. Refrigeracion y Normal.	- 87 -
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 89 -
3.1	Obtención Del Producto A Las Diferentes Temperaturas	- 89 -
3.2	Identificación De Los Fos.	- 90 -
3.3	Actividad Antidiabetica.....	- 91 -
3.3.1	Análisis Estadístico De Los Resultados Obtenidos.....	- 91 -
3.2.	Analisis Bromatologico y Microbiologico de la Miel de Agave con actividad antidibetica.	- 98 -
3.3	Vida Util.....	- 102 -
3.4	Etiquetado.....	- 103 -
4.	CONCLUSIONES	- 104 -
5.	RECOMENDACIONES	- 105 -
6.	RESUMEN	- 106 -
7.	BIBLIOGRAFIA	- 108 -
8.	ANEXOS	- 119 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO No 1	Sobrecarga de Glucosa y tratamiento.....	-94-
GRAFICO No2	Curva de pHvs condicicones normales.....	-127-
GRAFICO No3	Curva de pH vs condiciones aceleradas.....	-128-

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFIA No.1	Cultivos De Agave Americana L. En La Propiedad Del Sr. Catalino Masaquiza, Localizada En La Comuna El Rosario- Manzanapamba Del Cantón Salasaca, Provincia De Tungurahua.....	-26-
FOTOGRAFIA No.2	Tallo floral y flores de <i>Agave americana</i> L.....	-28-
FOTOGRAFIA No.3	Ratones de experimentación ESPOCH 2013.....	-65-
FOTOGRAFIA No.4	Cromatografía de carbohidratos previa hidrolisis.....	-89-
FOTOGRAFIA No.5	Extracción del agua miel (materia prima).....	-119-
FOTOGRAFIA No.6	Concentración del aguamiel.....	-121-
FOTOGRAFIA No.7	Grupos de análisis para la determinación de la actividad antidiabética.....	-121-
FOTOGRAFIA No.8	Administración vía oral de los tratamientos	-122-
FOTOGRAFIA No.9	Medidor de glucemia Accu-Chek Active Roche.....	-122-
FOTOGRAFIA No.10	Toma de muestra de sangre.....	-122-
FOTOGRAFIA No.11	Medición de los niveles de Glucosa.....	-123-
FOTOGRAFIA No.12	Medición de pH.....	-123-
FOTOGRAFIA No.13	Determinación de grados brix e IR.....	-124-
FOTOGRAFIA No.14	Determinación de ceniza.....	-124-
FOTOGRAFIA No.15	Determinación de solidos insolubles.....	-124-
FOTOGRAFIA No.16	Determinación de azucares totales, sacarosa.....	-124-
FOTOGRAFIA No.17	Placa Petriflim del análisis microbiológico al inicio de la vida útil.....	-125-
FOTOGRAFIA No.18	Resultados del análisis microbiológico.....	-126-
FOTOGRAFIA No.19	Placa Petriflim del análisis microbiológico al final de la vida útil y el resultado final.....	-127-

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Objetivos del tratamiento según la INTERNATIONAL SOCIETY PEDIATRIC AND ADOLESCENT DIABETES (ISPAD).....	- 8 -
TABLA No. 2	Farmacocinética de la Metformina.....	- 12 -
TABLA No. 3	Tratamiento no farmacológico de la Diabetes Mellitus tipo 2.....	- 14 -
TABLA No. 4	IG de varios Alimentos.....	- 19 -
TABLA No. 5	Diferencia entre el índice Glicémico (ig) y la carga glicémica (cg) de alimentos seleccionados.....	- 21 -
TABLA No. 6	Características Sensoriales del Jarabe de Agave Tequilana Weber Variedad azul.....	- 36 -
TABLA No. 7	Especificaciones fisicoquímicas del Jarabe de Agave Tequilana Weber Variedad azul.....	- 36 -
TABLA No. 8	Limites Microbiológicos del Jarabe de Agave Tequilana Weber Variedad azul.....	- 37 -
TABLA No. 9	Taxonomía de los animales de experimentación empleados en el estudio Farmacológico.....	- 56 -
TABLA No. 10	Procedimiento de la Elaboración de la Miel de Agave (<i>Agave americana</i> L.....	- 67 -
TABLA No. 11	Detalle de las condiciones de mantenimiento de los Animales de experimentación.....	- 69 -
TABLA No. 12	Detalle de los grupos de experimentación.....	- 70 -
TABLA No. 13	Condiciones de Almacenamiento de la Miel de Agave.....	- 87 -

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Detalle de las temperaturas empleadas en la concentración de la miel de Agave y su respectivo indicador.....	- 88 -
CUADRO No. 2	Resultados de los promedio de las mediciones de Glucosa en los diferentes Grupos.....	- 90 -
CUADRO No. 3	Anova un Factor. Datos agrupados. Glicemia a los 30 minutos.....	- 91 -
CUADRO No. 4	Comparaciones múltiples Tuckey LSD 95% de confianza a los 30 minutos.....	- 91 -
CUADRO No. 5	Anova un Factor. Datos agrupados. Glicemia de a los 60 minutos.....	- 91 -
CUADRO No. 6	Comparaciones múltiples Tuckey LSD 95% de confianza a los 60 minutos.....	- 92 -
CUADRO No. 7	Anova un Factor. Datos agrupados. Glicemia a los 90 min.....	- 92 -
CUADRO No. 8	Comparaciones múltiples Tuckey LSD 95% de confianza a los 90 minutos.....	- 92 -
CUADRO No. 9	Anova un Factor. Datos Agrupados. Glicemia a los 120 minutos.....	- 93 -
CUADRO No. 10	Comparaciones múltiples Tuckey LSD 95% de confianza a los 120 minutos.....	- 93 -
CUADRO No. 11	Anova un factor. Datos agrupados. Glicemia a los 150 minutos.....	- 94 -
CUADRO No. 12	Comparaciones múltiples Tuckey LSD 95% de confianza a los 150 minutos.....	- 94 -
CUADRO No. 13	Resultado del análisis sensorial de la miel de Agave con actividad antidiabética.....	- 95 -
CUADRO No. 14	Resultados de los análisis fisicoquímicos de la miel de Agave con actividad antidiabética.....	- 96 -
CUADRO No. 15	Resultado del análisis sensorial de la miel de Agave con actividad antidiabética.....	- 98 -
CUADRO No. 16	Resultados de la vida útil de la miel de agave con actividad antidiabética.....	- 99 -
CUADRO No. 17	Datos de vida útil en condiciones normales	- 127 -
CUADRO No. 18	Datos de vida útil en condiciones aceleradas	- 128 -

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1	Estructura de la Insulina Humana.....	- 4 -
Figura No. 2	Estructura Química de la Metformina.....	- 11 -
Figura No. 3	Valores de IG.....	- 17 -
Figura No. 4	Índice Glicémico estimado y medido en 14 sujetos sometidos a un desayuno de prueba.....	- 20 -
Figura No. 5	Meta- análisis. Cambios en la hemoglobina glicosilada en sujetos diabéticos sometidos a una dieta con IG alto y bajo.....	- 22 -
Figura No. 6	Correlación entre el índice Glicémico de un alimento con el índice insulinogénico de respuesta de 13 sujetos).....	- 23 -
Figura No. 7	Posibles efectos saludables de la fibra dietética.....	- 33 -
Figura No. 8	Diagrama del procedimiento de elaboración de miel de agave.....	- 40 -

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No 1.	Materia prima.....	- 106 -
ANEXO No 2.	Administración de la solución de glucosa.....	- 106 -
ANEXO No 3.	Obtención de sangre de la vena safena.....	- 107 -
ANEXO No 4.	Determinación de glucosa en sangre.....	- 107 -
ANEXO No 5.	Concentración del aguamiel.....	- 108 -
ANEXO No 6.	Grupos de ratones para la comprobación de la actividad antidiabética.....	- 108 -
ANEXO No 7.	Administración de los tratamientos.....	- 109 -
ANEXO No 8.	Toma de sangre y medición de glucosa.....	- 109 -
ANEXO No 9.	Análisis bromatológico.....	- 110 -
ANEXO No 10.	Análisis microbiológico. al inicio del análisis de vida útil.....	- 111 -
ANEXO No 11.	Análisis microbiológico. al final del análisis de vida útil.....	- 112 -
ANEXO No 12.	Estadístico de vida útil.....	- 112 -
ANEXO No 13.	Norma NTE INEN 1572. Requisitos de miel de abeja.....	- 114 -
ANEXO No 14.	NMX-FF-110-SCFI-2008. alimentos- jarabe de agave 100%- especificaciones y métodos de prueba.....	- 120 -
ANEXO No 15.	NTE INE 1334 parte 1.....	- 138 -

INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La causa principal de la diabetes es el cambio en los estilos de vida y muy especialmente la obesidad. Las cifras que posee la OMS, sobre el número de personas que tienen diabetes en el mundo llegan hasta los 200 millones de afectados. (20)

En el Ecuador la diabetes mellitus está ocupando el segundo lugar en el 2010 (6,51%) en el 2011 ocupa el primer lugar de las causas de mortalidad (7,15%), en la provincia de Chimborazo existen 512 casos reportados de la enfermedad y 46 casos de mortalidad. (96) (32)

Este problema de salud pública obliga a la búsqueda de nuevas alternativas naturales para mejorar la calidad de vida de las personas que lo padecen, una de las opciones es la miel de agave, comúnmente conocida en el Ecuador como miel de Chaguarmishqui, que se obtiene de una planta perenne (*Agave americana* L) originaria de territorios mexicanos, y que ha sido introducida en varias zonas geográficas del mundo entero.

Entre los usos del agave, el más importante es la obtención de aguamiel, este producto constituye un sustrato rico para la fermentación y formulación de diversos productos como son: bebidas refrescantes, concentrados de frutas, bebidas fermentadas con bajo nivel alcohólico, bebidas lácticas, mieles concentradas, destilados, fermentados funcionales y probióticos, así como condimentos y bases para salsas. En años recientes se ha comercializado un importante número de marcas de jarabe que han sido llamadas “miel de agave”. Estos productos son obtenidos tras la concentración térmica del agua

miel o de los jugos de tallo, lo cual provoca que los fructooligosacaridos que contienen se hidrolicen a moléculas de fructosa, dando como resultado un líquido denso, con alta concentración de fructosa (65%-75%) y de gran poder edulcorante. Por su gran contenido de fructosa, el jarabe de agave no eleva las concentraciones sanguíneas postprandiales de insulina y glucosa, como sucede con la glucosa y sacarosa. (35) (31)

El presente proyecto plantea como objetivo elaborar, controlar la calidad y evaluar la actividad antidiabética de la Miel de Agave (*Agave americana* L.); la que fue elaborada previa recolección, purificación y evaporación del aguamiel, seguido de su análisis sensorial, físico, químico y microbiológico, y la comprobación de su actividad antidiabética *in vivo*. Finalmente se realizó la determinación de la vida útil y con todos los resultados obtenidos se formuló el rotulado de la miel de agave.

La miel obtenida presentó color ámbar oscuro, olor y sabor característicos, pH 4.71, densidad 1.421 g/ml, color 867.47, Grado Brix 64, humedad 17.4%, cenizas 1.35 %, sólidos insolubles 1,02%, acidez 23.56 meq/1000g, HMF 54.6 mg/Kg, Azúcares Totales 73.80%, Sacarosa 5.337% Glucosa 0.028%, Fructosa 73.77%. Además no contiene microorganismos patógenos, lo que evidencia que la temperatura y el tiempo de tratamiento térmico son óptimos y además las condiciones en que se trabajaron fueron con las medidas higiénicas necesarias.

La comprobación de la actividad antidiabética fue realizada *in vivo* en ratones albinos (*Mus musculus*), previa inducción de hiperglucemia mediante la sobrecarga de glucosa, obteniéndose resultados positivos para la miel concentrada a 70 °C, comparable a la del control positivo (metformina) que es un agente anti-hiperglucemiante.

La vida útil se determinó en tres condiciones normales, aceleradas y en refrigeración obteniéndose 358 y 198 días respectivamente. El etiquetado del producto Nutracéutico obtenido se lo estableció en base a las NTE INEN 1334 1:2011.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO

1.1 DIABETES

Balkan,F. (1991). La diabetes es un desorden del metabolismo, el proceso que convierte al alimento que ingerimos en energía. La insulina es el factor más importante en este proceso. Durante la digestión se descomponen los alimentos para crear glucosa, la mayor fuente de combustible para el cuerpo. Esta glucosa pasa a la sangre, donde la insulina le permite entrar en las células. (La insulina es una hormona segregada por el páncreas, una glándula grande que se encuentra detrás del estómago). En personas con diabetes, uno de dos componentes de este sistema falla (2)

- El páncreas no produce, o produce poca insulina (Tipo I)
- Las células del cuerpo no responden a la insulina que se produce (Tipo II).

Los nuevos criterios para su diagnóstico y clasificación fueron desarrollados casi simultáneamente por un comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes(ADA) y por un comité asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Su clasificación se basa fundamentalmente en la etiología y características fisiopatológicas, pero adicionalmente describe la etapa de su historia natural en la que se encuentra el paciente diabético. Es una enfermedad progresiva dual, caracterizada en primer lugar por resistencia a la insulina, pero también por una falla progresiva de la función de las células β de los islotes pancreáticos.(36)

Existen alrededor de 15 millones de personas con DM (Diabetes Mellitus) en Latinoamérica y se estima que esa cifra llegará a 20 millones en los próximos 10 años, mucho más de lo esperado por el simple incremento poblacional. Dicho comportamiento probablemente se deba a varios factores, entre los cuales destacan la raza, el cambio en los hábitos de vida y el envejecimiento de la población. La mayoría de la población latinoamericana es mestiza, aunque hay algunos países como Guatemala, Ecuador, Perú y Bolivia, donde más del 40% de sus habitantes son indígenas. Estudios en comunidades nativas americanas han demostrado una alta propensión al desarrollo de DM y otros problemas relacionados con la resistencia a la insulina, que se manifiesta con el cambio de los hábitos de vida, que está ocurriendo de manera progresiva. Se estima que entre un 20 y 40% de la población centroamericana y andina todavía vive en condiciones rurales, pero su acelerada migración urbana probablemente está influyendo sobre la incidencia de la DM. La prevalencia de la enfermedad en zonas urbanas oscila entre un 7% y 8%, mientras que en las zonas rurales es de 1% a 2%. (39)

El aumento de la expectativa de vida también contribuye con el aumento de la DM. En la mayoría de los países latinoamericanos la tasa anual de crecimiento de la población mayor de 60 años es del 3% al 4%. La prevalencia de DM2 en menores de 30 años es menor del 5%, mientras que en mayores de 60 años sube a más del 20%. Por otro lado, la altura parece ser un factor protector, ya que la prevalencia de DM2 en poblaciones ubicadas a más de 3.000 m sobre el nivel del mar, tienen proporcionalmente una prevalencia que es casi la mitad de la encontrada en poblaciones similares, pero ubicadas a menor altura. Otro factor que influye es que la DM2 se diagnostica tardíamente: alrededor de un 30% a 50% de las personas diabéticas desconocen su enfermedad por meses o años y en zonas rurales puede llegar hasta un 100% de los afectados. Los estudios económicos han demostrado que el mayor gasto en atención médica del paciente diabético se da en hospitalizaciones y el mismo se duplica cuando el paciente tiene complicaciones micro o macrovasculares e incluso es cinco veces más alta cuando tiene ambas. La mayoría de las causas de hospitalización en el diabético se pueden prevenir o por lo menos retardar con una buena educación y un adecuado programa de reconocimiento temprano de las complicaciones. La principal causa de muerte de la persona con DM2 es cardiovascular y prevenirla implica un manejo integral de todos sus

factores de riesgo. Todos ellos, exceptuando el hábito de fumar, son más frecuentes en los diabéticos y su impacto sobre la enfermedad cardiovascular también es mayor. (37)

1.2 DEFINICIONES GENERALES

1.2.1 GLICEMIA: La glicemia se define como el valor de los niveles de glucosa presentes en un litro de sangre. La glucosa que se mide proviene de los alimentos que son ingeridos por el propio organismo, particularmente los carbohidratos. Este nivel de glucosa o glicemia es nivelada por varias hormonas, pero sin duda la principal es la insulina secretada por el páncreas.

La glucosa es trascendental para el desarrollo de las funciones del organismo, pues es una de las fuentes energéticas más importantes. El cerebro y los glóbulos rojos, por ejemplo, dependen totalmente de la glicemia para poder cumplir efectivamente sus roles en el cuerpo. (49)

1.2.2 HIPERGLUCEMIA: Por su parte es la alta presencia de glucosa en la sangre y también es un factor influyente en las personas que tiene diabetes y deberá mantenerse controlada. Algunos síntomas incluyen aumento de sed, de hambre, respiración acelerada, náusea o vómito, visión borrosa y resequedad de la boca (39)

1.2.3 HIPOGLUCEMIA: Es baja presencia de glucosa en la sangre y un factor esencial en las personas con diabetes. Algunos de los indicios de la hipoglucemia son: temblores, mareos, sudoraciones, dolores de cabeza, palidez, cambios repentinos en estados de ánimo, entre otros.

1.2.4 PÁNCREAS: El páncreas es la glándula abdominal y se localiza detrás del estómago; este posee jugo que contribuye a la digestión, y que produce también una secreción hormonal interna (insulina). La mayor parte del páncreas está formado por tejido exocrino que libera enzimas en el duodeno. Hay grupos de células endocrinas, denominados islotes de Langerhans, distribuidos por todo el tejido que secretan insulina y glucagón.

La insulina actúa sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, aumentando la tasa de utilización de la glucosa y favoreciendo la formación de proteínas y el almacenamiento de grasas. El glucagón aumenta de forma transitoria los niveles de azúcar en la sangre mediante la liberación de glucosa procedente del hígado (49)

1.2.5 INSULINA

1.2.5.1 Estructura: La insulina es una proteína formada por dos cadenas peptídicas A y B de 21 y 30 aminoácidos (a.a) unidas, mediante enlaces covalentes, por dos puentes de sulfuro, y un puente intracatenario, y es segregada por las células β del islote pancreático Figura No1. Su importancia viene determinada por el papel determinante de esta hormona en la homeostasis de la glucemia y su relación con la diabetes mellitus (DM). (60)

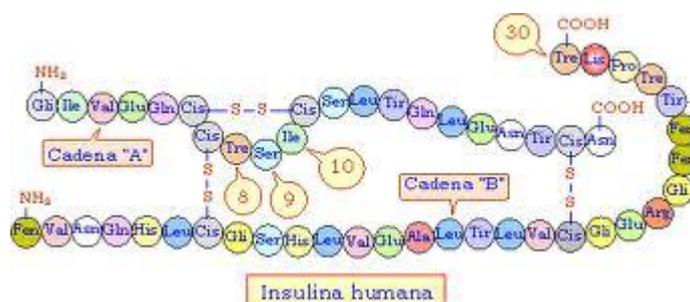


FIGURA No1. ESTRUCTURA DE LA INSULINA HUMANA

FUENTE: <http://agendaquimica.blogspot.com/2011/07/la-insulina-y-la-orina-dulce.html>

1.2.5.2 Acciones Farmacológicas De La Insulina

- **Metabolismo hidrocarbonado:** La insulina estimula el transporte de la glucosa desde el medio extracelular al interior de las células, a través de las membranas celulares.

Esto ocurre en músculo y tejido adiposo (adipocitos) pero no en hepatocitos y por difusión facilitada. Al penetrar en las células, la glucosa se fosforila inmediatamente por acción de la glucoquinasa o hexoquinasa formándose glucosa-6-fosfato, primer paso obligado del metabolismo.

La insulina incrementa, posiblemente por inducción sintética, el número de transportadores específicos de la glucosa y hexosas, necesarios para el mecanismo de la

difusión facilitada, aumentando el índice máximo de transporte. También se ha postulado que la insulina produce una rápida translocación de transportadores específicos de glucosa de un pool intracelular hacia la membrana celular

En los hepatocitos las concentraciones intra y extracelulares de glucosa son similares y la insulina no influye significativamente en el transporte.

La insulina estimula además la actividad de las enzimas que interviene en la síntesis de glucógeno (sistema glucógenosintetasa) en el músculo, tejido adiposo e hígado, incrementándose la glucogenogénesis, el consumo de glucosa y la glucólisis.

El aumento de la glucogenogénesis ocurre también por un estímulo que produce la insulina de la actividad y de la síntesis de las enzimas glucoquinasa, piruvatoquinasa y fosfofructoquinasa. En el adipocito, la glucosa, cuyo transporte al medio intracelular fue incrementado por la insulina, se transforma en lípidos, glucógeno, o entra en el proceso glucolítico formando finalmente CO₂.

El estímulo del transporte de la glucosa en las membranas celulares parece ser selectivo ya que existen células como algunas neuronas cerebrales, glóbulos rojos, leucocitos, y células medulares renales que transportan la glucosa y en forma independiente de la insulina.

La insulina inhibe también los mecanismos enzimáticos responsables de la gluconeogénesis disminuyéndose así, la producción de glucosa. Ello ocurre principalmente en hígado (hepatocitos). Por todos estos mecanismos metabólicos, el efecto neto de la insulina es de disminución de la glucemia y de inhibición de la glucosuria.(60)

- **Metabolismo proteico y mineral:** La insulina inhibe la gluconeogénesis por inhibición de las enzimas piruvato - carboxilasa, glucosa-6 fosfatasa, y fructuosa- 1-6-difosfatasa. La insulina estimula el transporte activo de aminoácidos a través de las membranas celulares con un efecto final de tipo anabólico, ya que también promueve la síntesis proteica e inhibe su degradación metabólica. La insulina favorece el ingreso de

potasio a las células, e inhibe la salida de calcio. También se demostró un aumento intracelular de magnesio y fosfatos inorgánicos.

Aparentemente el estímulo de la incorporación del potasio a las células ocurre por un estímulo de la Na⁺K⁺ ATPasa. El calcio y el potasio intracelular modulan el transporte de glucosa y aminoácidos en la membrana celular y la actividad de las enzimas responsables de la glucogénesis y la lipogénesis.

- **Metabolismo lipídico:** Ha sido claramente demostrado que la insulina inhibe la lipasa específica que interviene en la movilización de los ácidos grasos e incrementa la síntesis de triglicéridos.

Por eso tiene un efecto lipogénico e inhibidor de la lipólisis. Por eso la insulina disminuye rápidamente la hiperlipemia de los estados diabéticos y la producción de cuerpos cetónicos en el hígado. En la diabetes, por el déficit de insulina, el hígado capta grandes cantidades de ácidos grasos libres, que se producen por la acción lipolítica de las hormonas contra-reguladoras, como el glucagón o las catecolaminas y los oxida a acetilcoenzima A.

Como la acetil-CoA no puede seguir su camino metabólico normal, por el desequilibrio hormonal, aumenta finalmente la formación de los cuerpos cetónicos: acetona, acetoacetato, y betahidroxibutirato, capaces de llevar a la acidosis (cetoacidosis) y a la cetonuria. Todos estos procesos metabólicos alterados, presentados en la diabetes, resultan corregidos por la administración de la insulina al inhibir de entrada la lipólisis.(60)

1.3 TIPOS DE DIABETES

1.3.1 DIABETES DE TIPO 1

Sólo cerca de 1 de cada 20 personas diabéticas tiene diabetes tipo I, la cual se presenta más frecuentemente en jóvenes y niños. Este tipo de diabetes se conocía como diabetes mellitus insulino dependiente o diabetes juvenil. En ella el cuerpo produce poco o nada de insulina.

Las personas que la padecen deben recibir inyecciones diarias de esta hormona. La diabetes tipo I tiene mayor probabilidad de conducir a insuficiencia renal. Cerca del 40 por ciento de las personas con diabetes tipo I presentan nefropatía severa e insuficiencia renal antes de los 50 años. Algunas presentan insuficiencia renal antes de los 30. (25)

1.3.1.1 Tratamiento

R Barrio & P Ros Pérez (2007). El principal objetivo del tratamiento es conseguir un control metabólico óptimo; es decir, obtener unas glucemias próximas a la normalidad evitando las hipoglucemias. Para ello, hay que aportar la insulina de manera que controle la glucemia de un modo semejante a lo que ocurre en un sujeto sin diabetes. Esto es difícil de conseguir con las insulinas con las que se cuenta en la actualidad. No obstante, si se emplean múltiples dosis de insulina (MDI) o sistemas de infusión subcutánea continua de insulina (ISCI), se posibilita un mejor ajuste de la dosis a las necesidades del paciente a lo largo del día.

Además de garantizar un crecimiento y desarrollo adecuados y obtener una buena calidad de vida, el objetivo final de este tratamiento es prevenir las complicaciones crónicas de la diabetes, a través un adecuado control metabólico.

Los objetivos glucémicos deben de ser individualizados para cada paciente según la edad y características; sin embargo y, en términos generales, se aconseja mantener una glucemia en ayunas y antes de las comidas entre 80 y 140 mg/dl; entre 100 y 180 mg/dl dos horas post-ingesta y, superior a 100 mg/dl a las tres de la madrugada (**Tabla No. 1**). (13)

TABLA No. 1 OBJETIVOS DEL TRATAMIENTO SEGÚN LA INTERNATIONAL SOCIETY PEDIATRIC AND ADOLESCENT DIABETES (ISPAD)

	Ideales	Óptimos	Subóptimos	Alto riesgo
GC basal y preprandial (mg/dl)	65-100	90-145	145	> 162
GC dos horas postprandial (mg/dl)	80-126	90-180	180-250	> 250
GC al acostarse (mg/dl)	80-100	120-180	< 120 o 180-200	< 80 o > 200
GC nocturna (mg/dl)	65-100	80-162	< 75 o > 162	< 70 o > 200
HbA1c (%)	< 6,05	< 7,5	7,5-9	> 9
GC: glucemia capilar.				

Fuente: http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/06_insulinoterapia_en_la_diabetes_tipo_1_en_la_edad_pediatica.pdf

- **Insulinoterapia**

La célula del páncreas consigue un balance adecuado del metabolismo hidrogenado con un ajuste estrecho entre la secreción de insulina y los niveles de glucosa, a través de una secreción continua de insulina entre comidas (secreción basal) y una secreción aguda en respuesta a los alimentos (secreción prandial).

La respuesta rápida de la insulina a la ingesta es muy importante para la inhibición de la producción endógena de glucosa por el hígado, así como para la utilización de la glucosa, limitando la hiperglucemia postprandial. La insulinoterapia es uno de los pilares básicos del tratamiento y el objetivo es remedar su secreción fisiológica.

El tratamiento con insulina debe comenzarse lo antes posible tras diagnóstico (habitualmente dentro de las seis horas si hay cetosis) para prevenir la descompensación metabólica y la cetoacidosis diabética.

En la actualidad, además del efecto positivo de mantener unos niveles adecuados de HbA1c como exponente del nivel medio de glucemia de los 2-3 meses previos, se da una gran importancia a la variabilidad glicémica que parece jugar un papel clave en la génesis y evolución de las complicaciones crónicas de la DM.

Para un tratamiento adecuado (que debe ser eficaz y seguro) se precisa contar con insulinas que se ajusten lo más posible a la secreción fisiológica para evitar las hiperglucemias postprandiales y las hipoglucemias tardías. (13)

1.3.2 DIABETES DE TIPO 2

Alrededor del 95 por ciento de los diabéticos tienen diabetes tipo II, conocida antes como diabetes mellitus no insulino dependiente o diabetes de comienzo en la edad adulta. Muchas personas con diabetes tipo II no responden normalmente a su propia insulina o a la que se les inyecta. Esto se conoce como resistencia a la insulina. La diabetes tipo II se presenta más frecuentemente en personas mayores de 40 años. Muchos de los pacientes que la sufren son obesos. Muchos no saben que tienen diabetes. Algunas personas con diabetes tipo II controlan sus concentraciones sanguíneas de azúcar planeando las comidas y haciendo ejercicio. Otras deben tomar tabletas que estimulan la producción de insulina, disminuyen la resistencia a la misma, disminuyen la salida de glucosa del hígado o reducen la velocidad de absorción de los hidratos de carbono en el tracto gastrointestinal. Otras personas requieren además inyecciones de insulina. (48)

1.3.1.2 **Tratamientos**

En la mayoría de las personas con diabetes tipo 2, el tratamiento comienza con la reducción de peso por medio de dieta y ejercicio. Una dieta saludable para una persona con diabetes debe ser baja en colesterol y en calorías totales y equilibrada desde el punto de vista nutricional, con gran cantidad de alimentos integrales, aceites monoinsaturados, frutas y verduras. Se recomienda a la mayoría de las personas con diabetes una multi-vitamina diaria.

La diabetes tipo 2 puede controlarse con medicamentos tomados por la boca (medicamentos orales) o medicina inyectada (generalmente insulina, aunque no es la única medicina inyectada que puede utilizarse para la diabetes). Las medicinas para la diabetes tipo 2 incluyen:

- Sulfonilureas: incluyendo gliburide (DiaBeta, Glynase, Micronase), glipizide (Glucotrol) y otros, los cuales aumentan la cantidad de insulina que el páncreas produce y libera

- Repaglinide (Prandin) y nateglinide (Starlix): causan un brote de insulina con cada comida
- Acarbose (Precose) y miglitol (Glyset): retrasa la absorción de azúcares del el intestino
- Exanatide (Byetta) y pramlintide (Symlin): retrasan la digestión y reducen el apetito, lo que facilita el manejo del azúcar en sangre. El Exanatide también hace que el páncreas libere insulina con cada comida. Ambas medicinas están disponibles en inyección solamente.
- Insulina: contribuye con el propio suministro de insulina generado por el cuerpo. Cuando usted cuenta con suficiente insulina puede, de manera adecuada, procesar glucosa aunque tenga resistencia a la insulina.
- Tiazolidinediones: incluyendo rosiglitazone (Avandia) y pioglitazone (Actos), que disminuyen la conversión de grasa a glucosa y mejoran la resistencia a la insulina. Investigaciones recientes que relacionaban una medicina de este grupo con enfermedades de corazón recomiendan no utilizar medicamentos de este grupo como primera elección para este tratamiento. (48)

1.3.2.2 Metformina

La metformina, o el preparado comercial clorhidrato de metformina, es un medicamento antidiabético de aplicación oral del tipo biguanida. Se lo utiliza comúnmente en el tratamiento y la prevención de la diabetes mellitus tipo 2, también conocida como diabetes no insulino dependiente, particularmente en pacientes con sobrepeso, así como en niños y personas que presentan una función renal normal. Se indica por si sola como adyuvante del ejercicio físico y la dieta en pacientes, cuya hiperglicemia no puede ser controlada solo con modificaciones en la dieta. (64)

- ESTRUCTURA QUÍMICA



FIGURA No2. ESTRUCTURA DE LA METFORMINA

FUENTE: <http://www.info-farmacia.com/medico-farmaceuticos/informes-tecnicos/metformina>

- MECANISMO DE ACCIÓN

Es un agente anti-hiperglucemiante, ya que no aumenta la secreción de insulina y muy raramente causa hipoglucemia. Mejora la sensibilidad a la insulina y así disminuye la resistencia a la insulina, que es prevalente en la DM tipo 2. Disminuye la producción hepática de glucosa y aumenta la utilización periférica (fundamentalmente muscular) de glucosa. La metformina reduce la insulinemia basal y postprandial, reflejo de la sensibilidad aumentada a la insulina y de la ausencia de un efecto directo sobre la célula beta pancreática. En el tejido adiposo aumenta la captación y oxidación de glucosa y la lipogénesis.(64)

- FARMACOCINÉTICA

Es una dimetil-biguanida de administración oral.

Se absorbe principalmente de forma rápida en el intestino delgado y se elimina fundamentalmente por vía renal. La farmacocinética de la metformina se describe en la Tabla No. 2

TABLA No. 2 FARMACOCINÉTICA DE LA METFORMINA

	50-60%. Absorción
Biodisponibilidad	principalmente en intestino delgado.
	Máxima 1-2 horas
Concentración Plasmática	después de una dosis oral.
Vida media plasmática	1,5-4,9 horas
	90% eliminada en orina
Eliminación	en 12 horas.
Distribución tisular	En la mayoría de los tejidos en concentraciones similares

FUENTE:<http://www.mgyf.org/medicinageneral/abril2000/350-357.pdf>

- **DOSIS**

Debe tomarse con las comidas. La dosis inicial es de 500-850 mg en el desayuno, o 500 mg en el desayuno y en la cena. La dosis debe incrementarse lentamente, a intervalos de 1-2 semanas. La dosis máxima es de 2.550 mg/día (3 tabletas de 850 mg) fraccionada en 2-3 tomas. La glucemia basal comienza a disminuir a los 3-5 días de iniciar el tratamiento y el nadir se alcanza en 1-2 semanas, aunque el efecto puede no ser evidente hasta la 2-3 semana. La dosis debería incrementarse en 500 mg/día cada 2 semanas hasta alcanzar el objetivo terapéutico.

El coste de la metformina es aproximadamente el doble del coste de las sulfonilureas de segunda generación.

Alrededor de una de cada tres personas con diabetes tipo 2 usan insulina inyectable regularmente. La insulina se utiliza generalmente en pequeñas dosis antes de ir a dormir para ayudar a prevenir que el hígado produzca y libere glucosa durante el sueño. En la diabetes tipo 2 avanzada, o para personas que quieren tener un control estricto de los

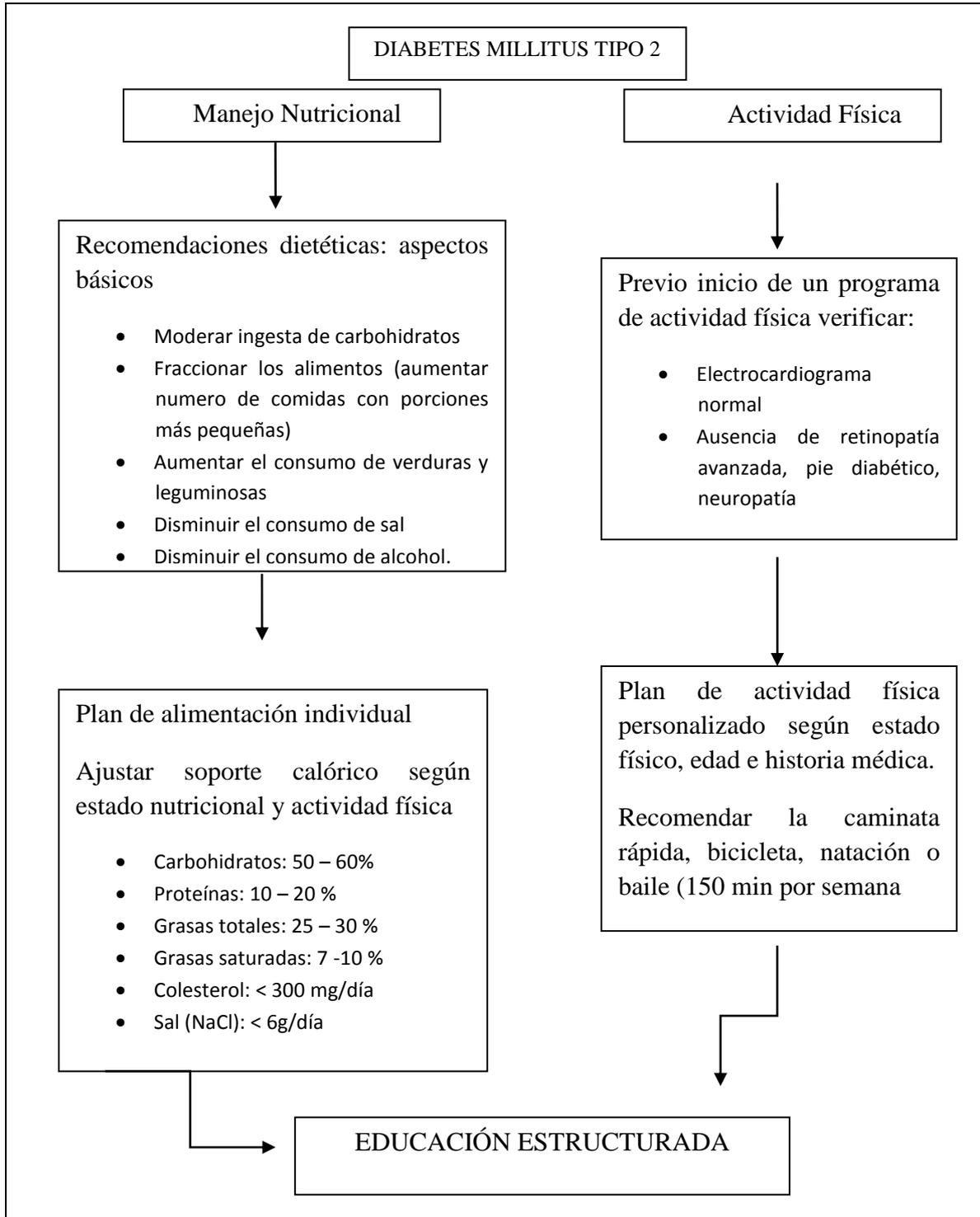
niveles de glucosa, puede ser necesario utilizar insulina más de una vez por día y en dosis más altas.

Los planes de tratamiento que incluyen insulina glargine de acción muy prolongada (Lantus) e insulina lispro de acción muy corta (Humalog) o insulina aspart (Novolog) son, con frecuencia, los tratamientos más exitosos para controlar el azúcar en la sangre en personas con diabetes tipo 2. Para acomodar los patrones de alimentación variables, la dosis de insulina de acción muy corta puede modificarse, dependiendo de la cantidad de carbohidratos que se consumen en cada comida. (65)

1.3.3 TRATAMIENTOS NO FARMACOLOGICOS

AMOROSO,A. (2007). El tratamiento no farmacológico de la diabetes mellitus comprende: un plan de alimentación, ejercicio físico y hábitos saludables, (Tabla No3), con el objeto de reducir el peso en la diabetes mellitus tipo 2 lo disminuye la glicemia, el perfil lipídico y la hipertensión arterial incrementando la sensibilidad a la insulina, es decir reduce los factores de riesgo cardiaco.(10)

TABLA No.3 TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2



a. EJERCICIO FÍSICO DIARIO:

- Es muy importante practicar ejercicio físico con regularidad, todos los días andar o correr o practicar cualquier deporte, los que se ponen insulina deben tenerlo en cuenta para comer antes del ejercicio y tomar productos con azúcar. El ejercicio favorece el normal funcionamiento del páncreas segregando la insulina necesaria y por tanto regulando los niveles en sangre de la glucosa.

b. RELAJACIÓN

- Practicar todos los días, un par de veces, ejercicios de relajación profunda, Uno se retira a un lugar donde nadie lo moleste, se sienta cómodo o se tumba en la cama, con los ojos cerrados, se relaja concentrado en la propia respiración, inspira lentamente, y uno siente cómo va entrando el aire hasta llegar a la tripa y siente el aire llegar ahí, luego va subiendo y sintiendo como el aire entra a la parte baja de los pulmones, la media y la alta. Al soltar el aire se debe hacer también muy lentamente.
- Uno puede relajarse también imaginando que al inspirar penetra por su cabeza e inunda todo su cuerpo una luz blanca azulada y al espirar o soltar el aire sale de uno un humo negro (éste humo puede simbolizar cualquier aspecto que uno no quiera en su interior: el estrés, cualquier preocupación, la enfermedad, cualquier dolor que se tenga en el cuerpo, etc). (46)

c. PLANTAS MEDICINALES:

- Vaina de las judías: 7 vainas en un vaso de agua. Se hacen en infusión y se toma de 1 a 3 veces al día
- Hojas de nogal (2) y hojas de eucalipto (8) en un litro de agua. Tomar tres tacitas al día antes de las comidas.
- Aloe vera: se licúan dos hojas grandes de aloe con ½ kilo de melaza y tres cucharadas de licor. Ahora también se puede conseguir el aloe vera puro sin azúcar en los herbolarios. Tomar una cucharada media hora antes de las comidas. Hacerlo durante diez días

- Otra alternativa natural en el tratamiento de la diabetes es la miel o néctar de agave es una de las interesantes maneras de endulzar naturalmente cualquier tipo de preparación, pero sin que se alteren los niveles de azúcar en sangre de manera significativa. De esta manera, es muy empleado entre diabéticos y personas que no quieren sufrir una alta carga de carbohidratos.

Los endulzantes naturales cada vez toman más importancia dentro de la dieta de algunas personas. Es que suelen ser mucho más sanos (y aportan una energía de mejor calidad) que los azúcares refinados o los edulcorantes industriales. Así es como, por ejemplo, la miel o néctar de agave ha ganado muchos enteros dentro de los consumidores de productos alternativos.

La miel de agave se obtiene a partir de cactus de agave azul. La misma planta desde donde, por ejemplo, se elabora el tequila. Se caracteriza por ser una planta con un gran contenido de fructooligosacáridos (FOS).

Los FOS son muy valorados, ya que estimulan el crecimiento de la flora intestinal, son reducidos en calorías, inhibe el crecimiento de bacterias patógenas, son tolerados sin problemas por los diabéticos (y además ayudan a regular niveles de insulina), no forman caries y disminuye los niveles de colesterol y triglicéridos. En este caso, la miel de agave se destaca por tener el doble poder endulzante que el azúcar convencional, con lo cual se requiere mucho menos de usos para la cantidad que se desea endulzar. Su composición, se estima, es de un 90% de fructosa, con un muy bajo nivel de glucosa.(69)

1.3 ÍNDICE GLICÉMICO

Jenkins DJ. (1981) El índice Glicémico (IG) fue concebido y comunicado el año 1981 por David Jenkins y cols., en la Universidad de Toronto Canadá, como un arma para el manejo dietético de la Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1). En base al concepto de que los hidratos de carbono simples (mono y disacáridos) inducían un incremento de la glicemia más rápido y mayor que los complejos (polisacáridos) y que los distintos alimentos

independiente de su contenido total, presentaban una diferente proporción de hidratos de carbono simples y complejos. (10)

El IG categoriza a los alimentos que contienen hidratos de carbono en relación a su capacidad de incrementar los niveles de glicemia (velocidad y magnitud). Se mide comparando el incremento de la glicemia inducido por un alimento aislado, en condiciones isoglucídicas (50 g hidratos de carbono), con el inducido por un alimento de referencia, siendo los más utilizados una solución de glucosa pura o el pan blanco. La comparación de las sumatorias de los valores de glicemia o el área bajo la curva en las dos horas siguientes a la ingesta del alimento estudiado con los cambios observados con el alimento elegido como referencia, define el IG.

A la respuesta frente al alimento utilizado como referencia, se le da el valor de 100, y todos los alimentos se comparan con este valor, usando como expresión el valor porcentual (10)

Los valores del IG se agrupan en tres categorías. IG alto ≥ 70 , IG intermedio 56-69, IG bajo de 0-55. Figura No. 3 Se observan los valores de IG.

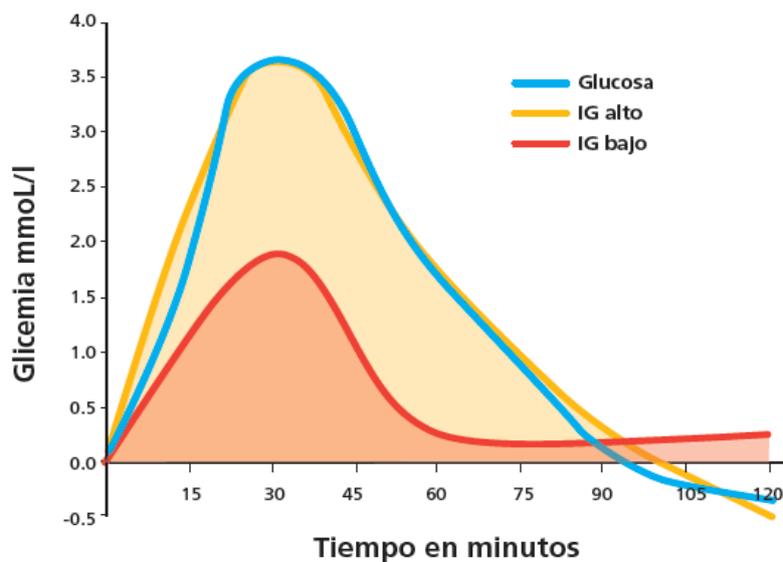


FIGURA No. 3 VALORES DEL IG.

En el año 2002, Foster y cols., publicaron una tabla Internacional de valores de IG y de carga glicémica de los alimentos (CG), con la finalidad de iniciar su evaluación y eventual aplicación a nivel poblacional y clínico.(57)

1.4.1IG DE UN ALIMENTO

La respuesta glicémica de un alimento puede variar por diversos factores, tales como:

d. Factores del alimento:

- a) Tipo de hidrato de carbono - (IG en orden decreciente: glucosa > maltosa > sacarosa >fructosa)
- b) Propiedades fisicoquímicas: contenido de fibra, tipo de almidón, cantidad de agua, pH).
- c) Modo de preparación de los alimentos.
- d) Procesamiento: en general a mayor procesamiento, mayor es el IG (ej.: el jugo tiene IG más alto que la fruta entera; el puré de papas tiene IG más alto que una papa entera horneada)
- e) Cocción: habitualmente a mayor cocción, mayor es el IG (ej.: la pasta al dente tiene un IG menor que la pasta más cocida)
- f) Otros alimentos acompañantes: las grasas, la fibra y la utilización de vinagre o limón tienden a bajar el IG de los alimentos (57)

e. Factores del individuo:

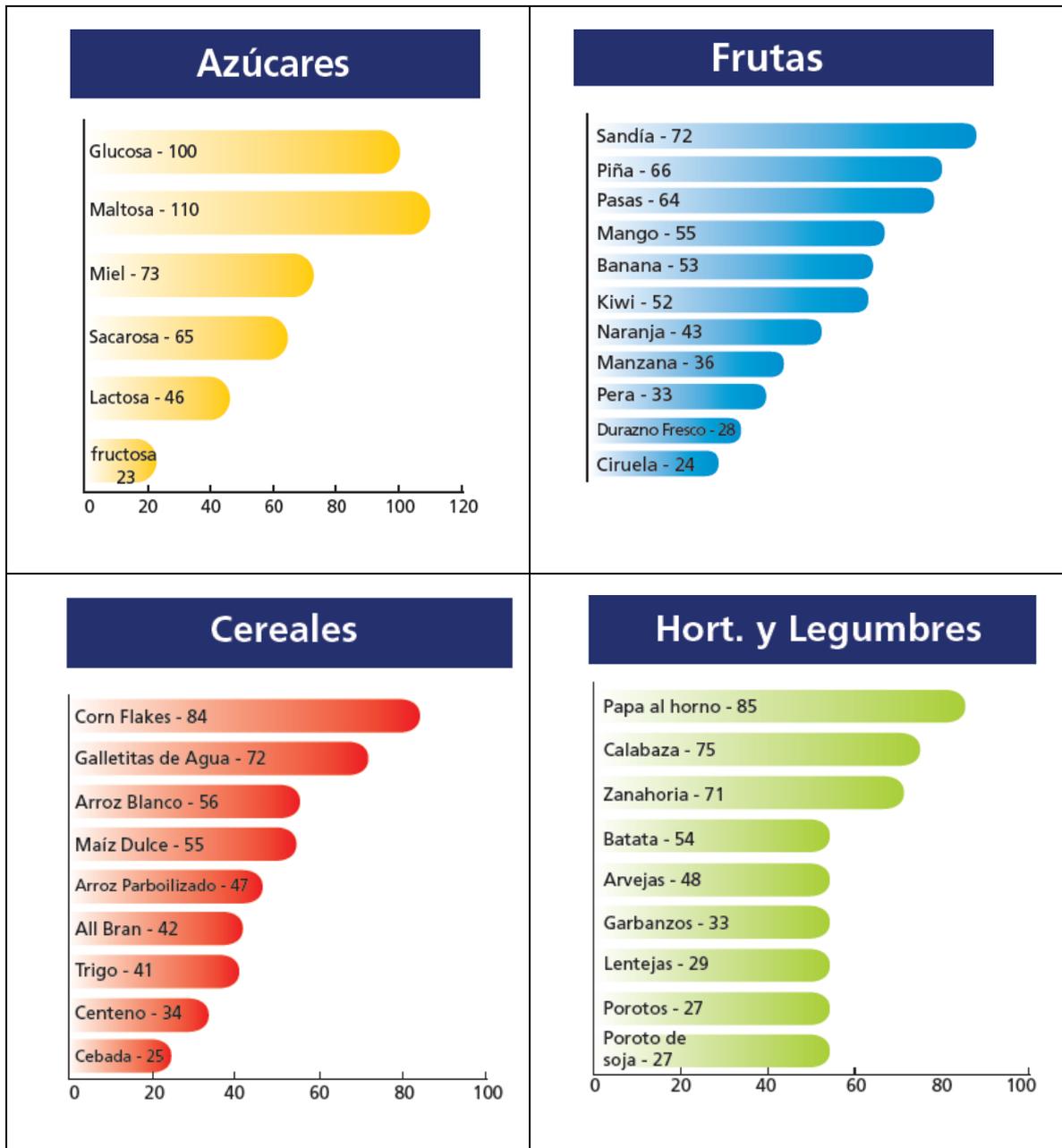
- a) Variabilidad interindividual o en un mismo individuo (ej.: condición de estrés el día de la medición)
- b) última comida consumida antes de medir el alimento en cuestión
- c) velocidad de tránsito intestinal, etc.

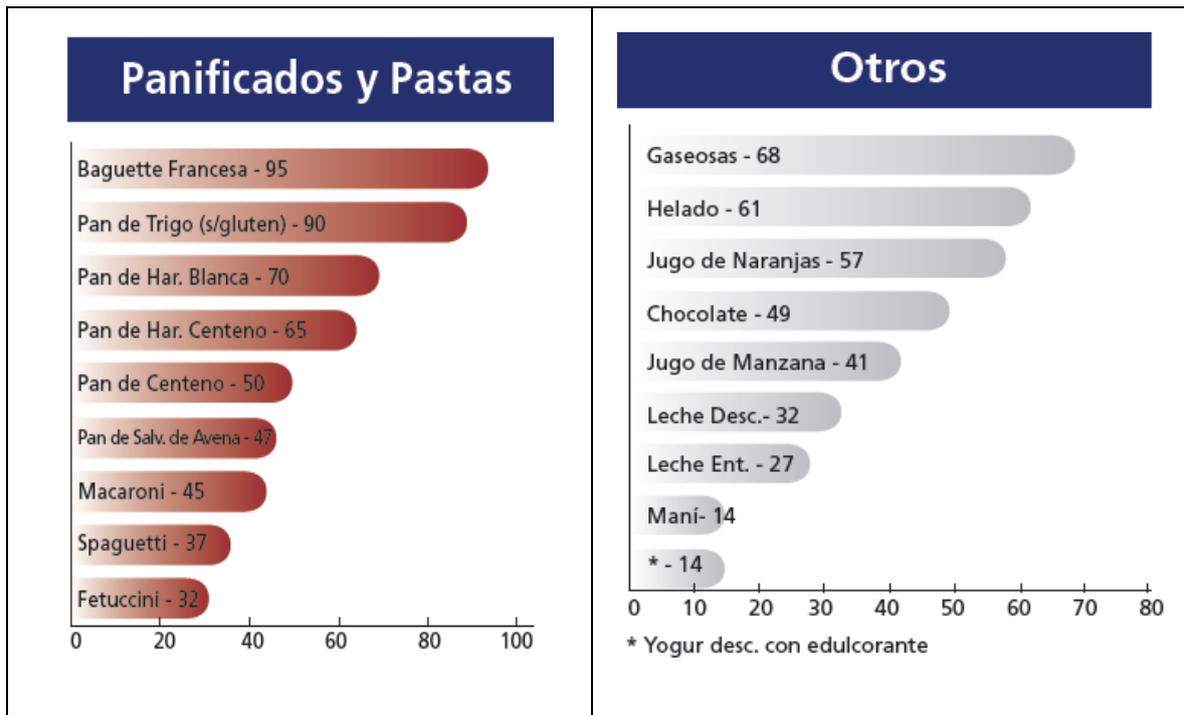
f. Otros factores:

Tipo de medición utilizada (ej. uso de sangre capilar o venosa; periodos de tiempo experimentales distintos; porciones diferentes de alimentos, etc.)

En la tabla 4 se observa IG de algunos alimentos.

TABLA No. 4IG DE VARIOS ALIMENTOS





Fuente: http://www.proslo.cl/data/archivos/archivo_2012_07_02_23_11_53_95322900.pdf

El IG de un alimento difiere cuando se mide en forma aislada o en el contexto de una comida mixta que el ser humano consume habitualmente.(8)

Flint y cols. (2004) en un estudio en 14 individuos demostraron que el IG de una comida mixta (desayuno) calculada por tabla no predice el GI real medido y, aún más, observaron que los hidratos de carbono no juegan un papel importante en la determinación del IG de una comida mixta (fig. 4) (8)

1.4.2 DIFERENCIAS ENTRE ÍNDICE GLICÉMICO Y CARGA GLICÉMICA

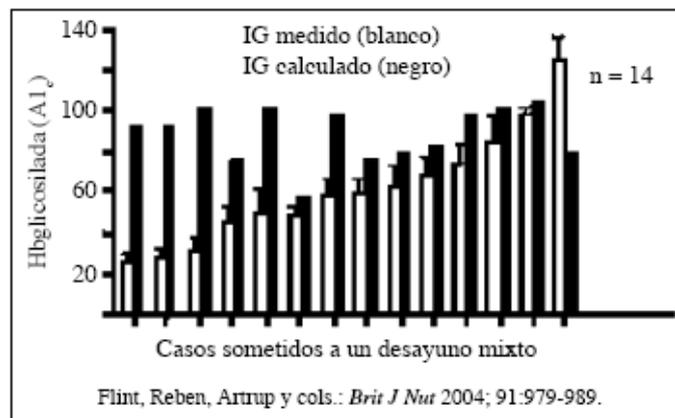


FIGURA No. 4 INDICE GLICEMICO ESTIMADO Y MEDIDO EN 14 SUJETOS SOMETIDOS A UN DESAYUNO DE PRUEBA

Existen una serie de razones que explican por qué el IG es tan controvertido: la gran variabilidad de la respuesta en la misma persona y entre individuos, por no tomar en cuenta la cantidad de glúcidos presentes en el alimento, por el hecho que la asociación con otro alimento en la dieta mixta cambia los resultados, por la falta de estandarización de la técnica y el uso de diferentes estándares de referencia y porque en ocasiones la aplicación de este concepto lleva a recomendaciones nutricionales desequilibradas. (58) En 1997 Salmeron y cols., investigadores de la Universidad de Harvard, definieron un nuevo concepto, el de la carga glicémica (CG) que cuantifica el impacto de una porción habitual de un alimento con determinado IG. Su estimación puede hacerse según la siguiente fórmula $CG = IG \times \text{contenido neto de hidratos de carbono por porción en g/100}$, los valores resultantes han sido categorizados CG alta ≥ 20 , CG media 11-19 y CG baja ≤ 10 .(59)

En la tabla 5 se exponen las diferencias que existen entre el IG y CG de determinados alimentos.

TABLA No.5 DIFERENCIA ENTRE EL ÍNDICE GLICÉMICO (IG) Y LA CARGA GLICÉMICA (CG) DE ALIMENTOS SELECCIONADOS

	<i>IG bajo</i>	<i>IG medio</i>	<i>IG alto</i>
CG baja	Cereales integrales Maní Fresas (frutillas)	Veterana Piñas Melones	Palomitas de maíz Sandía Pan integral
CG media	Plátanos Fetuccini Pan blanco	Cereales refinados Camote Arroz integral	Cerezas Harina tostada
CG alta	Fideos Macarrones Espaguetis	Cuscus Arroz refinado	Papas Cornflakes

FUENTE: Salmerón J, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA Wing AL y cols

1.4.3 ÍNDICE GLICÉMICO Y SALUD

Se ha postulado que una dieta con GI alto, llevaría a un incremento de los niveles de glucosa e insulina sérica y a través de ello induciría patologías como obesidad, diabetes Mellitus (DM), cardiovasculares y cáncer. Si bien esta teoría es interesante, y merece ser investigada, aún no ha sido probada.

1.4.4. ÍNDICE GLICÉMICO Y CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS

La Asociación de Diabetes Americana (ADA) en sus recomendaciones para el año 2005 señala textualmente: *"La cantidad total de hidratos de carbono consumidos constituye el mejor predictor de la respuesta glicémica, y se mantiene como una estrategia clave para el manejo dietético de los pacientes con DM, sin embargo un meta-análisis reciente de trabajos casos-contrroles, aleatorizados, muestra que el IG puede aportar beneficios adicionales al control de la DM".* (15)

En la figura 5 se expone el resultado del meta-análisis publicado, en que se expresa el control de la DM a través del % de cambio de la hemoglobina glicosilada A_{1c}. En 11 estudios, con un máximo de 12 meses de observación, con dietas entre 40-60% de las calorías como glúcidos, estratificados con IG alto y bajo. Las diferencias medias ponderadas demuestran que los sujetos que consumían dietas con IG bajos tenían una significativa mayor reducción de la hemoglobina glicosilada (8,0 a 7,2%) que la observada para los que consumían una dieta con IG alto.(15)

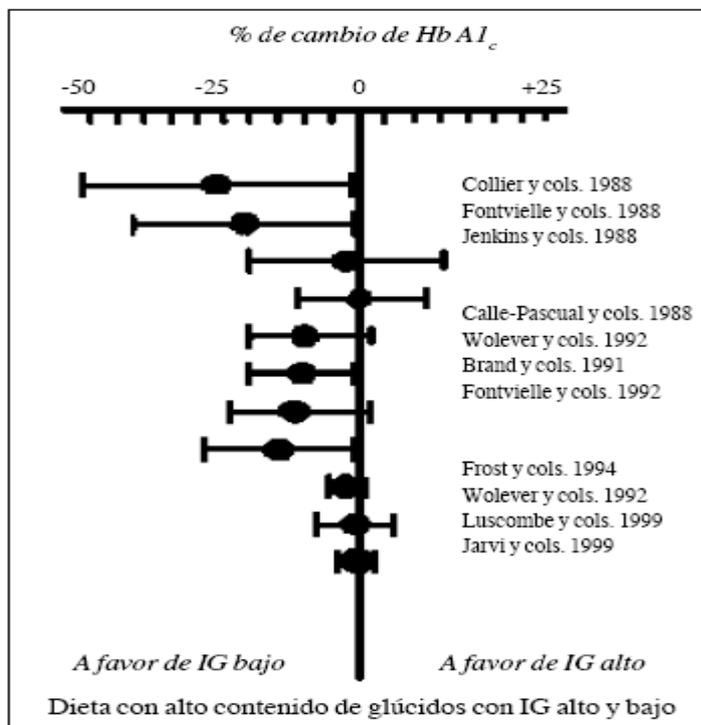


FIGURA No 5 META- ANÁLISIS. CAMBIOS EN LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN SUJETOS DIABETICOS SOMETIDOS A UNA DIETA CON IG ALTO Y BAJO

1.4.5 ÍNDICE GLICÉMICO, CARGA GLICÉMICA Y RESISTENCIA INSULÍNICA

Se ha postulado que una dieta con IG alto, induciría resistencia insulínica (RI), al asociarse con mayores niveles insulinémicos de respuesta a una carga de glucosa.

En la figura 6 se muestra la ausencia de correlación significativa entre el índice glicémico de la dieta y el índice insulinémico (expresión de resistencia insulínica) en 13 individuos, lo que tiende a rechazar la hipótesis de que el IG pudiera inducir resistencia insulínica. (15)

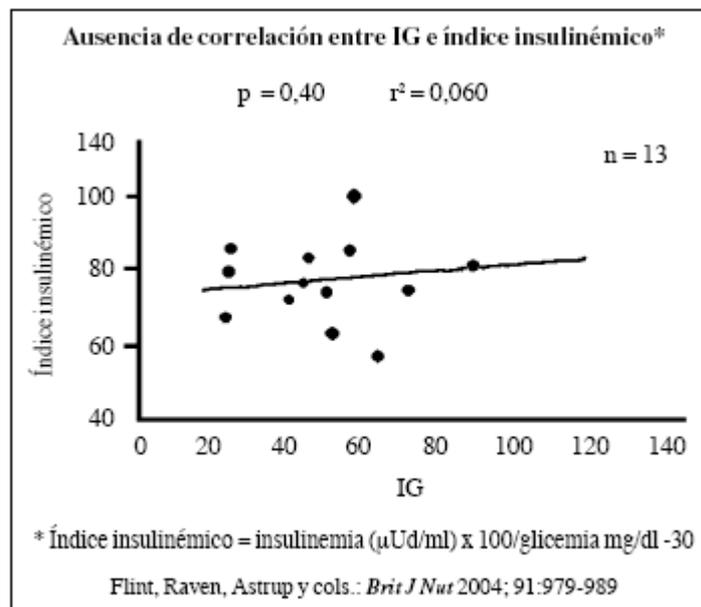


FIGURA No. 6 CORRELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE GLICÉMICO DE UN ALIMENTO CON EL ÍNDICE INSULINOGENICO * DE RESPUESTA DE 13 SUJETOS

1.4.6 IMPORTANCIA DEL CONSUMO DE HIDRATOS DE CARBONO Y DEL IG

Los carbohidratos constituyen la mayor fuente de energía en la dieta, y poseen un amplio margen de efectos fisiológicos importantes para la salud, como la homeostasis de la glicemia y control sobre la saciedad y el vaciado gástrico. Según las recomendaciones realizadas por el comité de expertos pertenecientes a “La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y a la Organización Mundial de la

Salud (OMS)”, una dieta óptima debería ser aquella en la que, como mínimo, un 55% de la energía total procediese de carbohidratos obtenidos de distintas fuentes, de bajo IG 7.

La planificación de comidas consiste en elegir alimentos que tengan un IG medio o bajo; si se ingiere un alimento con un IG alto se podría combinar con alimentos con IG bajo para ayudar a balancear la alimentación, o se podría disminuir ya sea agregándole vinagre, jugos ácidos, grasa, proteínas, o adecuando el modo de preparación de los alimentos.

Las dietas de bajo IG se basan en disminuir el consumo de hidratos de carbono refinados y de alimentos procesados, y se consideran saludables debido a que previenen el riesgo de obesidad, diabetes mellitus 2 y enfermedades cardiovasculares. (13)

1.5 CABUYA

1.5.1 HISTORIA

En el Ecuador, la cabuya es una planta vital para la supervivencia de los indígenas, ellos la llamaban la planta de las mil maravillas y lo consideran hasta el día de hoy como un árbol sagrado ya que les provee de alimento y vestimenta; este árbol en el territorio ecuatoriano ha existido desde hace cientos de miles de años además de estar extensamente cultivado, crece de modo perenne en las regiones áridas y semiáridas. Las plantas de cabuya, también denominadas "pencos", se utilizan para marcar los linderos de las propiedades campesinas y para contener la erosión en quebradas y tierras laderasas. Las pencas u hojas de la cabuya negra se utilizan para lavar ropa, pues producen, al ser machacadas, abundante saponina. Las hojas cortadas se usan para alimento del ganado vacuno, sobre todo en los valles cálidos y secos del callejón interandino de las provincias de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, así como en las estribaciones occidentales de la cordillera andina. Al cortar el centro de la cabuya negra, se obtiene una bebida rica en nutrientes como la vitamina C, hierro, fósforo, y sobretodo calcio denominada "chaguarmishqui" o dulce de cabuya (del quichachawarmishki) cuyo significado en español es *sangre dulce*, que fermentado es similar al pulque mexicano. El chawarquero es el tallo del penco, delgado algo flexible y muy resistente usado como material de

construcción, para el madera en de los techos de las viviendas campesinas; puede medir hasta 10 metros, haciendo de esta planta la más alta del mundo. (22)

Las fibras que se extraen de sus pencos sirven para unir y reforzar diversos elementos constructivos en las viviendas, además de la fabricación de hermosos muebles, artesanías, todo tipo de bisutería e inclusive instrumentos musicales, se utiliza igualmente para elaborar tejidos resistentes como costales y sacos así como para material de cordelería. Las sogas de esta fibra tienen múltiples usos desde hace miles de años; con ellas se construían los famosos puentes colgantes de los caminos incaicos, para ligar los troncos y sostener el velamen de la "balsas manteñas"; en época colonial se produjeron en gran cantidad para ser usadas en el cordaje de los navíos construidos en el astillero de Guayaquil y en otros puertos del litoral pacífico sudamericano. Las raíces del cabuyo son de gran utilidad, al machacarlas se obtiene un rico líquido que sirve como el más efectivo shampoo para mantener limpio el cabello y curar la caspa. El lavar el cabello con esta raíz produce resultados evidentes. (22)

1.5.2 ASPECTOS AGRÍCOLAS DE LA CABUYA NEGRA

Cueva E.,(1999)En el Ecuador ala cabuya negra se la encuentra a lo largo del callejón interandino de la región sierra, frecuentemente como cercas vivas. El nombre científico correspondiente de esta planta es *Agave americana* L. (4)

El *Agave americana* ha sido una planta difundida desde hace ya muchos siglos en el continente Americano por razones alimenticias, artesanales, ornamentales, religiosas y otros múltiples usos; por lo que su origen y área de distribución natural es en cierto grado especulativa. Sin embargo según diversos estudiosos coinciden en afirmar que México es el centro y origen de dispersión del genero *Agave* al resto del continente en épocas prehispánicas, y posteriormente al mundo entero, ya que aún se hallan *Agaves* en estado silvestre (1)

El nombre científico *Agave americana* Linné, fue publicado por primera vez en "Speciesplantarum" por Carl Linné (1753), y su clasificación científica es:

Reino: *Plantae*

Filo: *Magnoliophyta*

Clase: *Lilopsida*

Orden: *Asparagales*

Familia: *Agavaceae*

Género: *Agave*

Especie: *Agave americana* Linné

Variedades: *americana, margarita, medio-picta, expanda, latifolia, oaxacensis*(10)



FOTOGRAFIA No.1 CULTIVOS DE *Agave americana* L. EN LA PROPIEDAD DEL Sr. CATALINO MASAQUIZA, LOCALIZADA EN LA COMUNA EL ROSARIO- MANZANAPAMBA DEL CANTÓN SALASACA, PROVINCIA DE TUNGURAHUA

1.5.3 ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA CABUYA NEGRA

El *Agave americana* es un planta perenne acaule (latín: sin tallo), donde su corazón o meristemo está cubierto por grandes hojas dispuestas en forma de roseta. (10)

Hristov,A., (2004)El meristemo de *Agave americana* es rico en carbohidratos no estructurales de reserva, los cuales constituyen el aguamiel que exuda la hacer una herida en este. (13)

Bautista, N., (2006) Las hojas son de color verde grisáceo, en una planta madura miden 1.20 a 2.00 m de largo, son lanceoladas y carnosas, ligeramente cóncavas hacia arriba, sin peciolo y con un ancho en la base de hasta 30 cm, poseen bordes firmes con un hilera de espinas, terminado en el vértice con una espina de 3cm a 5 cm de largo. La superficie de las hojas está cubierta de una membrana resistente y blanquecina. En el espesor de las hojas se encuentra fibras longitudinales muy resistentes y maleables, las que son utilizadas como fibra para la fabricación de artesanías, saquillos y otros usos. (18)

Flores, E., (2005) La gigantesca floración se dispone en un tallo floral de aproximadamente 10 metros de altura y desde los 10 cm de diámetro en la parte alta, hasta los 40 cm de la parte baja; de él y desde más de la mitad de su longitud van saliendo pequeñas ramas en forma de candelabro (20 a 30 ramas), terminado cada una de un grupo de flores de color amarillo-verdoso. Estas flores son mixtas, tubulares de 5 cm de largo, formada por 6 pétalos, 6 estambres largos, pistilo alargado, estigma alargado y ovario triocular. (5)

El fruto es una capsula triangular, prismática oblonga, de 4 cm de largo y lleno de semilla. Al secarse los frutos quedan ligeramente abiertos. Las semillas son planas de color negro, miden aproximadamente de 6 a 8 mm. (5, 18)

Los Agaves se pueden propagar mediante bulbillos que son brotes vegetativos que se generan en los pedúnculos florales, en el tallo y entre una hoja y otra (brote axial), sin embargo para el *Agave americana* principalmente se utilizan los hijuelos que nacen desde los rizomas de la planta madre, para posteriormente ser transplantados cuando alcanzan una hasta de 50 cm (5,18)



FOTOGRAFIA No.2 TALLO FLORAL Y FLORES DE *Agave americana* L.

1.5.4 VARIEDADES DE CABUYAS.

Existen algunas variedades de *Furcraea* que corresponden a la cabuya “blanca” en el país tales como:

- ***Furcraea macrofilia*:** Posee un tronco corto, cerca de treinta centímetros, cóncava con aguijones marginales prominentes, curvados y sencillos, de 5 a 7mm de largo, color rojo.
- ***Furcraea andina*:** Tiene un tronco muy corto, sus hojas son un tanto cóncavas o casi planas de 120 a 170 centímetros de largo por 10 a 15 centímetros de ancho y estrechas hacia la base. Posee espinas en forma de gancho hacia arriba. Es la especie más común en la Sierra Ecuatoriana.

- ***Furcraea humboldtiana***: Goza de un tronco largo, sus hojas son casi planas, grisáceas, aguijones marginales divergentes localizados de la mitad de la hoja hacia la base y sencillos hacia el extremo, separados de 25 a 65 centímetros.

Hay variedades sin espinas. Se conoce otro tipo de cabuya en la Sierra Ecuatoriana que corresponde al género *Agave*, se lo conoce también como cabuya “negra”; éste tipo de planta no se la utiliza para la extracción de fibras seguramente por la gran cantidad de pulpa y jugo de la hoja, por lo tanto dificultaría el tallado o la extracción de la fibra a mano. El principal uso de la cabuya negra es la extracción del “chaguarmishque” o dulce; además del chaguarquero se puede obtener sus frutos que son las alcaparras. (18)

En México existe una gran variedad de agaves de los cuales se va a mencionar algunos.

- ***Agave attenuata***: Planta unos 50 cm. de longitud, hasta 1 m, es la única especie del género *Agave* que forma tronco (corto), sus hojas son de un color verde glauco, sin espinas en los bordes, florece una sola vez en su vida y luego muere.
- ***Agave filifera***: Se distingue de un primer vistazo por los numerosos filamentos que salen de sus hojas, es una planta muy apreciada por su aspecto decorativo. Especie muy bella y compacta.
- ***Agave potatorum***: Forma una roseta muy proporcionada y regular de hasta 80 hojas con un color que puede ir del verde gris al blanco, sus hojas son casi la mitad de anchas que largas, de hasta 35 por 15 cm. de ancho; los bordes de las hojas son extremadamente ondulados y disponen de espinas de color marrón rojizo. En México es muy apreciado para la obtención de mezcal. (18)

1.5.5 ETAPA DE MADURACIÓN DE LA CABUYA

Una vez que se ha sembrado la planta tarda aproximadamente cinco años en crecer y estar apta para recoger su dulce, el mismo que ofrecerá durante siete meses. Con el corte sucesivo de las hojas del penco se va formando un tronco denominado chaguarquero. Hay que evitar que crezca dicha flor puesto que no se podría recoger el chaguarmishqui, además que determinaría el ciclo final vegetativo de la planta.(5)

1.5.6 IMPORTANCIA Y USOS DE LA CABUYA

La cabuya se ha explotado en el Ecuador desde tiempos inmemoriales en diversas partes de la Sierra; el mayor porcentaje de cabuya que se corta en el país viene de linderos y cercas ya que éste suelo árido es donde se puede encontrar al penco azul en grandes cantidades, que con sus fuertes raíces, contribuye a evitar la erosión de sus secas pendientes.

González, R., (1965) Los numerosos usos que tiene esta planta se lo emplea en el campo y son:

La fibra hace las veces de jabón, leña, alimento para ganado; el jugo como fijador de colores, las indias lo emplean para teñirse el pelo, para blanquear las casas, para hacer divisiones entre las piezas de las casas; la hoja cortada como canales de agua, se la usa en vez de tejas; para cercas, divisiones de potreros; sacando las fibras y con la punta de la hoja hacen de aguja e hilo; las hojas secas del cabuyo sirven perfectamente como leña. Una vez al año el penco macho ofrece sus sabrosos frutos conocidos como alcaparras. De la cabuya negra se obtiene el “chaguarmishque” que una vez fermentado toma el nombre de pulque el cuál toman los indígenas. El mismo jugo sin fermentar o “dulce”, se lo toma en las comidas y sirve para hacer postres. El dulce hervido por varias horas da como resultado una exquisita miel. El residuo de la cabuya, después de desfibrada, constituye fertilizante rico en potasio, magnesio y en especial calcio. Tiene según análisis de Instituto Nacional de Nutrición, cuatro veces más calcio que la leche. De la cabuya hembra, con un color verde más intenso que el azul plumizo del macho, se extrae de sus hojas duras fibras que deberán ser secadas al sol por varios días hasta que estén listas para ser usadas en distintas confecciones como sogas, rodapiés, alfombrillas, arpillera, sacos, alpargatas, bolsas de mano e infinidad de tejidos finos como cortinas, manteles, puestos de mesas y demás confecciones textiles. Por su gran sistema radicular, así como por la habilidad de crecer en laderas pobres, constituye uno de los sistemas ideales y más baratos para hacer conservación de suelos. (7)

1.6 MIEL/JARABE DE AGAVE

1.6.1 DEFINICIÓN

Según el CODEX ALIMENTARIO es un endulzante de baja viscosidad y altamente soluble que gracias a su alta concentración de Fructosa tiene un nulo crecimiento de bacterias y hongos. Por lo tanto tiene una larga vida en anaquel.

En la norma NMX-FF-110-SCFI-2008 se establecen las siguientes definiciones:

- **Jarabe de Agave:** Es la sustancia dulce proveniente de la hidrólisis de los oligosacáridos del Agave
- **Jarabe de Agave 100 % (Jarabe 100% de Agave):** Es la sustancia dulce natural producida por hidrólisis a partir de los oligosacáridos del agave. (30)

1.6.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MIEL DE AGAVE

Se reporta que el jarabe de agave es una melaza transparente color ámbar, de sabor dulce. Tiene un poder endulzante 30% mayor que el azúcar comercial y es utilizado, actualmente, como un edulcorante natural en alimentos y bebidas. Con bajo índice glicémico, reduce los lípidos en la sangre, el riesgo de enfermedades en el corazón y minimiza el efecto de la hipoglucemia (62)

Entre los usos que cuentan el cultivo, el más importante es la obtención de aguamiel, este producto contiene grandes cantidades de fructosa y pocas cantidades de glucosa, es primordial mencionar que la glucosa es prohibida en grandes cantidades para el diabético, pero en el caso de la fructosa es el azúcar que más se recomienda para este tipo de pacientes. (62)

La **Miel De Chaguarmishqui** que es denominada científicamente **Miel de Agave**, rico en contenido de Inulina, que es una fibra líquida dietética de gran valor nutritivo.

El papel de la fibra dietética en la salud humana es objeto de discusión entre la comunidad científica desde hace unas cuantas décadas. En el este de África, hace ya más

de 30 años, Trowell realizó unas observaciones, confirmadas más tarde por Burkitt, sugiriendo que una alimentación rica en fibra e hidratos de carbono no refinados protegía frente a numerosas patologías propias de los países occidentales como la enfermedad cardiovascular, la diabetes mellitus, el cáncer de colon, la obesidad, la hipercolesterolemia, la enfermedad diverticular y el estreñimiento, entre otras.

Desde entonces, numerosos estudios han intentado evaluar la importancia del consumo de la fibra dietética para nuestra salud y, en muchos casos, los resultados obtenidos han sido contradictorios.

Es importante reconocer que, desde que Hipsley aplicó en 1953 el término “fibra dietética” como una forma sencilla de referirse a los constituyentes no digeribles que forman la pared celular vegetal, el concepto de fibra dietética ha ido evolucionando de forma continuada hasta el presente. De hecho, la definición exacta del término es todavía hoy motivo de controversia, debido a las diferentes aproximaciones realizadas por la comunidad científica a diversos aspectos de la fibra dietética y su impacto en la salud. El consenso actual de la American Association of Cereal Chemists (AACC) define a la fibra dietética como “la parte comestible de los vegetales y los análogos de carbohidratos, que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, y que son fermentados parcial o totalmente en el intestino grueso”. Según la AACC, la fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y otras sustancias vegetales asociadas. (53)

A pesar de las evidencias acumuladas a favor del consumo de fibra, las recomendaciones actuales sobre qué tipo de fibra consumir y cuál es la cantidad óptima están aún por definir. La ingestión de una cantidad elevada de fibra (>25-30 g/día), a partir de diferentes fuentes alimentarias (frutas, verduras, legumbres y cereales) parece ser la única manera de prevenir muchas de las enfermedades enumeradas, ya que esta aproximación supone beneficios adicionales como la consecuente reducción en la ingesta lipídica y el aumento en la ingesta de sustancias antioxidantes (figura No.7) El consumo de un tipo determinado de fibra (soluble o insoluble) queda limitado al tratamiento de ciertos procesos, porque su relación individual con muchas enfermedades está aún pendiente de determinar. Así, se ha renovado el interés por la posibilidad de emplear fibra soluble en el tratamiento de la diabetes, la dislipemia y la obesidad.

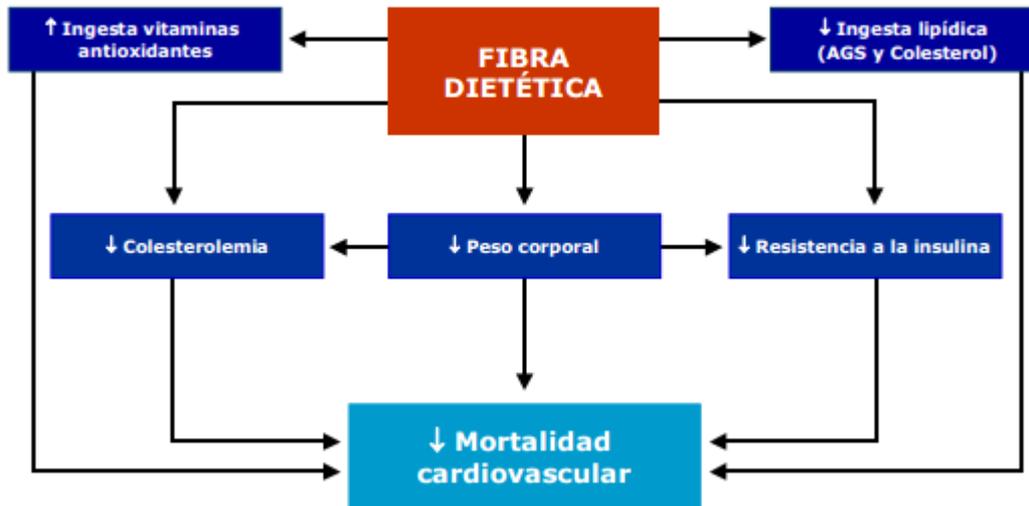


Figura No. 7 POSIBLES EFECTOS SALUDABLES DE LA FIBRA DIETETICA.

El enorme y creciente coste económico y social de la DM-2 hace imprescindible intentar conseguir una reducción del riesgo de desarrollar la enfermedad, así como un correcto control metabólico de la enfermedad adquirida. La modificación del estilo de vida es un aspecto primordial tanto en la prevención como en el tratamiento de la DM-2. La DM-2 representa la mayoría de casos de diabetes en todo el mundo. Este tipo de diabetes se origina de la interacción entre factores genéticos y ambientales. Sin embargo, el rápido incremento observado en las tasas de incidencia, sugieren un papel especialmente importante de los factores ambientales. Los incrementos más dramáticos de la DM-2 están ocurriendo en sociedades en las que ha habido cambios importantes en el tipo de dieta consumida, reducciones en la actividad física e incrementos en la prevalencia de sobrepeso y obesidad.

Entre las estrategias dietéticas que consiguen unos niveles de glicemia post-prandiales más aceptables tenemos el uso de dietas ricas en fibra y con bajos índices glicémicos, que actuarían posiblemente a través del enlentecimiento de la absorción de los hidratos de carbono. Estudios poblacionales han demostrado que este tipo de dietas ricas en fibra podrían tener un papel protector en la prevención de la DM-2 y la enfermedad cardiovascular. Una reciente meta-análisis realizada sobre 7 estudios prospectivos

demuestra que el consumo elevado de fibra en forma de cereales completos, supone una disminución en el riesgo de padecer diabetes. (54)

1.6.2.1 Fructooligosacaridos

Los fructooligosacáridos (FOS) son un tipo de fibra soluble compuesta de unidades de fructosa. Al igual que ocurre con otros tipos de fibra, nuestro cuerpo no es capaz de digerirlos ni de asimilarlos. No obstante, una porción de esta fibra es fermentada por bacterias, en especial por las bífido bacterias que colonizan el intestino grueso. Esta es la particularidad de la que derivan los efectos positivos de los fructooligosacáridos sobre la salud.

Los FOS se encuentran en gran variedad de alimentos vegetales como la achicoria, la alcachofa, el espárrago, el ajo, la cebolla, el puerro, el tomate o el plátano entre otros, pero en cantidades más bien pequeñas. Por esta razón se considera adecuado introducir en la dieta, además de los citados alimentos, aquellos que presenten fructooligosacáridos como ingredientes añadidos. Éste es el caso de algunos preparados lácteos, bebidas, alimentos infantiles, productos de repostería y complementos dietéticos.(56)

• EFECTOS SALUDABLES DE LOS FOS

Los efectos saludables atribuidos a los fructooligosacáridos se asocian a su capacidad para modificar la composición de la microflora del colon, motivo por el cual se les denomina también componentes prebióticos. Entre sus funciones destacan:

- Favorecen el crecimiento de las bífido bacterias (flora benéfica) e inhiben el de las bacterias patógenas como la *Escherichia coli*, la *Shigella* o la *Salmonella*.
- Estimulan la función inmunológica y la síntesis de ciertas vitaminas.
- Contribuyen a reducir el desarrollo de trastornos digestivos como el exceso de gases, ya que equilibran la flora intestinal reduciendo el desarrollo de bacterias que los generan.
- Mejoran el tránsito intestinal, lo que resulta beneficioso en caso de estreñimiento y de diarrea.
- Contribuyen a reducir el riesgo de cáncer de colon mediante diferentes mecanismos:
- La fibra envuelve sustancias cancerígenas presentes en la dieta, reduciendo el tiempo de contacto de las mismas con la capa que recubre el intestino grueso.

- La fermentación a cargo de las bacterias intestinales de los FOS produce un medio ácido en el colon que inhibe la formación de metabolitos creados a partir de ácidos biliares de la bilis y de ciertos ácidos grasos, los cuales favorecen el crecimiento de células tumorales.

-El consumo de FOS se asocia a un mejor aprovechamiento, por parte de nuestro organismo, de diversos minerales como el calcio y el magnesio, componentes fundamentales en los huesos y dientes.(55)

Consumir de 10 a 15 gramos por día de fructanos de agave, disueltos en un vaso de agua, ayuda a aumentar los niveles reguladores del apetito, generando una sensación de saciedad, y por lo tanto, al consumir menos alimento, se puede perder peso o controlar el mismo.

Aumenta la absorción del calcio y del magnesio, siendo un auxiliar en la prevención de osteoporosis.

Facilita la motilidad intestinal, y se recomienda a las personas con estreñimiento.

La miel de Agave tiene un alto contenido de fructooligosacáridos, (FOS, fibra dietética soluble) que mejoran el sistema digestivo y la capacidad de eliminación de grasas y toxinas que dañan al cuerpo humano; componentes que facilitan el buen funcionamiento del sistema intestinal, así como del organismo en general, gracias a sus efectos directos sobre la producción de las bifidobacterias. Además inhiben el crecimiento de bacterias patógenas, como *E. Coli*, *Listeria*, *Shigella* y *Salmonella*.

Una característica muy interesante de la MIEL DE CABUYA es que es tolerada por personas diabéticas y es ideal para los hipoglucémicos.

Tiene un alto contenido de fructosa, azúcar que no estimula la secreción digestiva como otros azúcares. Su índice glicémico es de 11, por lo que no necesita insulina para ser digerida.(56)

1.6.3 ESPECIFICACIONES

El producto objeto de esta Norma Mexicana (NMX-FF-110-SCFI-2008) debe cumplir con las especificaciones que se indican a continuación:

1.6.3.1 Sensoriales

TABLA No. 6 CARACTERISTICAS SENSORIALES DEL JARABE DE AGAVE TEQUILENA WEBER VARIEDAD AZUL.

Color	Olor	Sabor	Consistencia
Propio característico variable de: Cristalino agua, extra a cristalino, cristalino, extra claro ámbar, ámbar claro, ámbar y oscuro	Propio característico	Dulce característico	Ligeramente viscoso

FUENTE: NMX-FF-110-SCFI-2008

1.6.3.2 Físico - Químicas (30)

El Jarabe de Agave 100 % o Jarabe 100% de Agave, debe cumplir con las especificaciones fisicoquímicas establecidas en la siguiente tabla:

TABLA No.7 ESPECIFICACIONES FISICO-QUIMICAS DEL JARABE 100% DE AGAVE TEQUILANA WEBER VARIEDAD AZUL.

ESPECIFICACIONES	BASE SECA		MÉTODO DE ENSAYO (PRUEBA)
	MÍNIMO	MÁXIMO	
Contenido de azúcar reductor, %	90,00	-	Punto 8.10 de esta norma
Contenido de sacarosa (sucrosa), %	-	4,00	
Contenido de Dextrosa (glucosa), %	-	15,00	
Fructosa, %	80,00	-	NMX-F-103-SCFI-1982
Grados° Brix	74	-	
Manitol, %	AUSENTE		
Maltosa (Isolmatosa), %			
Rafinosa, %			
Otros azúcares %		2,5	
Inulina (oligofructosa), %	0,5	-	
Cenizas %	0.05	0.5	Punto 8.6 de esta norma
Hidroximetilfurfural (HMF), expresado en mg/kg	-	40	Puntos 8.8 y 8.9 de esta norma
pH	4,0	6,0	8.4 y 8.5 de esta norma
Índice Glucémico	ISO CD 26642		

FUENTE: NMX-FF-110-SCFI-2008

- Jarabe de Agave, parcialmente hidrolizado: Es aquel producto diferente al Jarabe de Agave 100% o Jarabe 100% DE AGAVE, en el que el contenido de fructosa es menor a 80 % como resultado de la hidrólisis parcial debiendo ser el contenido de inulina (oligofructosa) de Agave, proporcional a la fructosa existente y estando en todo caso ausente Maltosa, Rafinosa y todos aquellos azúcares que no se encuentran en la especie de Agave utilizada. Su pH es de 4,0 a 6,0. (30)

1.6.3.3 Microbiológicas (30)

El producto objeto de esta norma debe cumplir con las especificaciones microbiológicas indicadas en tabla 8:

**TABLA No.8 LÍMITES MICROBIOLÓGICOS DEL JARABE 100% DE AGAVE TEQUILANA WEBER
VARIEDAD AZUL**

PARAMETRO	LIMITES PERMISIBLES	METODO DE ENSAYO (PRUEBA)
Cuenta bacteriana total	máximo 100 UFC/g	NOM-092-SSA1
Hongos	<10 UFC/g	NOM-111-SSA1
Levaduras	<10 UFC/g	NOM-111-SSA1
Coliformes	Ausente	NOM-112-SSA1
<i>Salmonella</i>	Negativo en 25 g	NOM-114-SSA1
<i>E coli</i>	Negativo	NOM-113-SSA1

FUENTE: NMX-FF-110-SCFI-2008

1.6.4 BENEFICIOS

Los beneficios potenciales del agave son los siguientes:

- Disminución del colesterol
- Evita estreñimiento
- Evita el cáncer de colon
- Puede ayudar en úlceras, colitis
- Ayuda al funcionamiento intestinal
- Aporta microorganismos benéficos
- Ayuda al sistema inmune.

- De igual forma ayuda a evitar el estreñimiento y mala digestión
- Bajo vigilancia médica la pueden consumir los diabéticos por su bajo índice glicérico.
- No causa caries a diferencia del azúcar comercial
- Estimula la flora intestinal debido a la presencia de bífidos y oligo-fructuosa.
- No existe ningún riesgo que bebes o mujeres embarazadas consumen la miel sin importar la cantidad consumida.
- Mejora la absorción de los metales necesarios para el ser humano como calcio. Hierro y magnesio. (62)

1.7 INDUSTRIALIZACIÓN DE LA MIEL DE AGAVE

En varios países la comercialización de la miel de agave se está extendiendo como es el caso de México, los cultivos de agave en su mayor parte están destinados a la elaboración del tequila que tiene gran aceptación a nivel mundial y se ha convertido en una fuente de negocios de gran alcance, pero en la actualidad varios distritos como Michoacán en donde existen 160 productores; anuncia a través del presidente del Consejo Regulador de la Miel de Agave y sus Derivados, Salvador Cruz Núñez la posibilidad de comenzar a industrializar el agave del estado, convirtiéndolo en miel de agave, mejor conocida como jarabe, con el objetivo de darles opción a los productores estatales para ofertarlo a los mercados nacionales y en el extranjero como Estados Unidos y Canadá. (Periódico CAMBIO Jueves 19 Julio de 2012). (23)

La comercialización en México según Juan Villalvazo Naranjo jefe del Departamento de Ingeniería de Proyectos, del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI), “Las mieles de origen cuentan con un mercado propio que puede resultar atractivo en los próximos 10 años, ya que es sabido que tanto el azúcar como la sacarosa son dañinos para los dientes y la salud de los seres humanos. Durante 2003 la miel y la inulina apenas alcanzaron una participación del 6 por ciento en las transacciones comerciales realizadas en el ámbito mundial, las cuales equivalían a tres mil 300 millones de dólares. Para 2010 el mercado mundial aumentará su capacidad a 12 mil millones de dólares y el comercio de mieles de agave tendrá una participación del tres

por ciento, por lo que hay grandes oportunidades para nuestros productos.” En México se reconoce la importancia de estos productos, en efecto el jarabe de agave se encuentra ya normalizado según la NMX-FF-110-SCFI-2008.(71).

En ciertos países de Sudamérica al agave lo han destinado para diferentes formas de comercialización así, en el Perú la chancaca de maguey se encuentra y se vende abiertamente en los mercados de Ayacucho, Huancavelica e incluso de Huancayo, lo que demuestra que el producto hace parte de una tradición que aún se conserva. La chancaca de maguey es un pan que se obtiene de la concentración del agua miel de cabuya y se la coloca en moldes para su posterior comercialización. (72)

Otro de los países es Ecuador donde al agave se lo conoce como “cabuya” o “penco” los mismos que son principalmente destinados para la elaboración de cuerdas y cordajes, El cultivo de la cabuya o penco en el Ecuador se localiza en las provincias del Carchi, Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Chimborazo, Azuay, Cañar, Loja, Guayas y Manabí. Muchos de los productores no conocen los beneficios nutraceuticos de la cabuya, por lo que prefieren exportarla como material para la elaboración de sogas y cordelería, y dentro de nuevas tendencias se usa para la elaboración de papel, filtros, colchones, tapetes y tapicería. Se usa cada vez más para reforzar materiales compuestos de plástico, en particular para partes de automóviles. (41)

En nuestro país también se comercializa el chaguarmishqui, como es el caso de Aída Estrella que vende en el patio de comidas de Pujilí chaguarmishqui aun valor de 0.50 ctv, y Doña Fernanda de Latacunga que comercializa la miel de cabuya (73)

1.8 PROCESO DE ELABORACIÓN

La miel de agave se obtiene al exprimir el jugo de la base de una planta de agave, luego es calentado a 118 grados Fahrenheit y después filtrado. Después de calentarse, el jugo se convierte en un líquido dorado como jarabe (figura No8). A pesar que la miel de agave se produce con un calentamiento moderado, todo el proceso de producción no implica altos niveles de calor. (51)



FIGURA No. 8 DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE MIEL DE AGAVE

1.9 CONCENTRACIÓN DE AZUCARES

(Ibarz, 2005) La concentración de azúcares se da por un proceso de evaporación que consiste en la eliminación de agua de un alimento fluido mediante vaporización o ebullición. La evaporación es uno de los métodos más utilizados para concentrar, cuyo efecto en sistemas homogéneos es aumentar la viscosidad o consistencia (9)

El porcentaje de agua a eliminarse en una solución dependerá de la consistencia que se le quiere dar al producto final. Considerando características organolépticas y físicas. Debido a que la concentración en el caso de la miel de agave ayudara al aumento de vida útil.

Caps y Abril,(2003) Una jalea con alto contenido de azúcares (alrededor de 65° brix), no es susceptible al ataque por bacterias, ya que resultan un medio hostil para su supervivencia, pero es sensible al ataque de mohos y levaduras. Así también un alimento con pH ácido no es alterado fácilmente por bacterias, pero puede permitir la formación de mohos y levaduras.(3)

1.10 CONVERSIÓN DE AZUCARES

Flores., (1996) agua miel del agave es un fluido rico en carbohidratos como la fructosa, sacarosa y glucosa, además contiene pequeñas cantidades de vitaminas y minerales (5)

Rendon., (2007) Los carbohidratos de reserva presentes en el agua miel de agave, son susceptibles a cambios físicos-químicos en los procesos de fermentación, concentración y pardeamiento; procesos que son necesarios para la obtención de la miel de cabuya. (14)

1.11 CONTROL DE CALIDAD

La calidad es un concepto que viene determinado por la conjunción de distintos factores relacionados todos ellos con la aceptabilidad del alimento.

En definición:

"Conjunto de atributos que hacen referencia de una parte a la presentación, composición y pureza, tratamiento tecnológico y conservación que hacen del alimento algo más o menos apetecible al consumidor y por otra parte al aspecto sanitario y valor nutritivo del alimento"

En la práctica es preciso indicar la calidad a la que nos referimos:

- Calidad nutritiva
- Calidad sanitaria
- Calidad tecnológica
- Calidad organoléptica
- Calidad económica

Son determinantes de la calidad:

- color
- olor

- aroma
- sabor
- textura
- ausencia de contaminantes

1.11.1 CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA

Es una de las cualidades exigidas a los procesos de manufactura alimentaria, debido a que el destino final de los productos es la alimentación humana y los alimentos son susceptibles en todo momento de sufrir cualquier forma de contaminación. Es imprescindible que los alimentos no sean considerados un riesgo para la salud del consumidor, esto es, que no posean vestigios de antibióticos, hormonas, pesticidas, contaminantes, etc.

Es por este motivo que todos los alimentos que existen en el mercado legal pasan exhaustivos y rigurosos controles de calidad sujetos a unas normas descritas en el Codex alimentarius y amparadas por la FAO (Food and Agriculture Organization) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) (40)

1.11.2 CALIDAD TECNOLÓGICA

Es la calidad que refiere al cuidado, cultivo o crianza, y a los procesos de elaboración o producción. También, si provoca o no impacto en el medio ambiente. De esta manera, un producto con una buena “calidad tecnológica” sería aquel elaborado sin abusar de los recursos naturales, sin utilizar productos de síntesis química o tóxicos con riesgos reales o potenciales para la salud humana, sin crueldad ni “maltrato” del ganado ofreciendo tanto una vida como una muerte digna y con el menos sufrimiento posible, y, por último, que su producción mantenga o incremente la fertilidad de los suelos.

Así, los métodos de elaboración tradicional, la producción orgánica, biológica o ecológica son sistemas de producción cuyo objetivo principal es ofrecer este tipo de calidad al consumidor, aparte de todas las demás.

1.11.3 CALIDAD NUTRITIVA

Esta calidad está íntimamente relacionada con el tipo de nutrientes que contiene un alimento y cuál va a ser su efecto, tanto beneficioso como perjudicial, en el consumidor: ¿aporta gran cantidad de vitaminas y minerales? ¿Contiene mucho colesterol o grasa saturada (grasa “mala”)? ¿Tiene muchas calorías o azúcares y pocos nutrientes esenciales? Para ejemplificar, el pescado tiene un gran valor nutricional ya que nos aporta proteínas de buena calidad, vitaminas del grupo B y minerales, grasas “buenas”, omega 3 y pocas calorías.

También, para saber si un producto alimentario tiene o no calidad nutritiva, se tiene en cuenta si el tratamiento tecnológico ha producido algún tipo de pérdida o modificación en el valor nutritivo de éste en el transcurso de la cadena alimentaria, ya sea durante la producción, la elaboración, la transformación, el almacenaje, o bien durante la preparación final de un alimento. Por lo tanto, poseerán mayor calidad nutritiva alimentos poco tratados y que no formen parte de producciones masivas de alguna multinacional y alimentos como la fruta, los productos de origen animal, cereales como el arroz incluso dulces como los turrónes ahora que llega la Navidad, serán no solo más sabrosos sino más sanos y nutritivos si provienen de métodos tradicionales y poco agresivos. (40)

1.11.4 CALIDAD ECONÓMICA

Es la calidad que valora por un lado la accesibilidad a los consumidores y, por otro, la relación calidad/precio. El consumidor quiere un producto de calidad a un precio razonable, sobre todo en tiempos tan importantes de crisis como el que vivimos actualmente.

1.11.5 CALIDAD ORGANOLÉPTICA

Es determinada tras analizar diferentes factores relativos al tamaño, grado de maduración, viscosidad, elasticidad, tenacidad. Los alimentos sufren continuamente procesos enzimáticos (descomposición) y químicos (agregado de aditivos tales como: conservantes, colorantes, etc.) que repercuten en el estado y características organolépticas de los mismos, es decir, en el olor, la textura, el sabor y el aroma.

En resumen, podemos determinar la calidad de un alimento según unos valores objetivos cuantificables, pero al final, el subjetivismo del paladar de cada consumidor, el bolsillo de cada uno y la importancia de valorar si está elaborado de forma tradicional o bien muy tratado químicamente (aunque sea sin riesgo para la salud) son realmente los tres factores que dictarán la sentencia final y personal de si un alimento es o no es de calidad. (40)

1.12 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

La complejidad que se advierte en los análisis bromatológicos se debe fundamentalmente al hecho de que los alimentos son materiales biológicos con sistemas enzimáticos y cargas microbianas que afectan su estabilidad en mayor o menor grado. Estos productos, además, se caracterizan por presenta una gran variabilidad en su composición. Factores tales como suelo, clima, grado de maduración, especie, raza, edad, alimentación, etc. Influyen en la materia prima vegetal o animal y, por lo tanto, en el producto final. Es por esta razón que no existen constantes físicas ni químicas para un determinado tipo de alimento, sólo pueden especificarse rangos de variación de las distintas propiedades. Por ejemplo: rango de difusión, rango de índice de yodo, rango de contenido acuoso. (75)

1.12.1. CONTROL DE CARACTERISTICAS SENSORIALES.

Cada alimento posee un color, olor, gusto, forma y tamaño que lo caracterizan. Modificaciones en estas propiedades pueden indicar una mala elaboración, alteraciones, sustituciones de materias primas, etc.

Existen dos metodologías para el estudio de la calidad sensorial:

- Evaluaciones subjetivas: Realizadas por un experto o, preferiblemente, por un conjunto de personas (panel adiestrado) que juzga la propiedad en cuestión a través de sus sentidos.
- Determinaciones objetivas: de naturaleza física o química, cuyos resultados son independientes de la apreciación del operador.
- Las evaluaciones subjetivas (o “análisis sensoriales”) resultan largas, cansadoras y poco precisas, pero reflejan bien la opinión de los consumidores. Las determinaciones objetivas son especialmente apropiadas para controles rutinarios pues no causan fatiga, son más sencillas, rápidas y precisas.

1.12.1.1 CONTROLES DE COLOR.

Las sustancias que confieren color a los alimentos son:

A- Componentes naturalmente presentes en la materia prima (clorofilas, carotenos, antocianos, flavonoides, mioglobinas).

B- Aditivos colorantes que se agregan de acuerdo a la legislación vigente.

C- Sustancias originadas durante la elaboración o almacenamiento del producto, por reacciones de pardeo o de curado. Los controles objetivos de color se realizan utilizando espectrofotómetros y colorímetros diferenciales, especialmente diseñados para expresar el color a través de tres números relacionados con los primarios que lo componen. El análisis sensorial se basa en comparaciones visuales contra colores patrones pintados en vidrios, cartones o modelos de cera.(75)

1.12.1.2 CONTROL DE TEXTURA.

La textura de un alimento depende de las características estructurales que posee. Es resultado de la disposición e interpretación de las partículas o células que lo componen, incluyendo a los productos con estructura celular (carne, verduras, frutas) y a las que no la poseen (harinas, mieles, leches, vinos, mantecas, jaleas, etc.). Hay muchísimos tipos de texturas, si bien pueden reducirse a cuatro grandes grupos (alimentos líquidos, sólidos, plásticos y viscoelásticos). El principio que rige todo estudio o control de texturas se basa

en aplicar fuerzas de deformación al alimento y medir la resistencia que este opone. Para ello se cuenta con prensas, émbolos, cuchillos, cizallas, etc. (75)

1.12.1.3 CONTROL DE GUSTO.

Los gustos principales (salado, ácido, dulce y amargo) son conferidos por diversos tipos de sustancias (sales, ácidos orgánicos, azúcares, péptidos, alcaloides, glucósidos, etc) el control objetivo se encara, generalmente, a través de análisis químicos específicos para el componente que origina el gusto estudiado.(75)

1.12.1.4 CONTROL DE OLOR.

Es el más complejo de todos los análisis porque intervienen muchísimos componentes simultáneamente, están en muy bajas concentraciones, se pierden fácilmente e interaccionan entre ellos. El control objetivo se realiza analizando el vapor de “cabeza” del alimento en un cromatógrafo de gases.

1.12.2 DETERMINACIONES FÍSICAS

1.12.2.1 Densidad

Se determina para controlar la genuinidad de productos generalmente líquidos (leche, vinos, aceites, etc.

1.12.2.2 Potencial Hidrogeno (pH)

Se controla con el equipo correspondiente o usando indicadores de pH y soluciones patrones. Es un importante índice de estabilidad del alimento pues condiciona:

- la actuación de microbios y enzimas.
- Reacciones químicas (pardeos, hidrólisis)
- Alteraciones físicas (coagulaciones)

También se lo mide para controlar operaciones y procesos tecnológicos:

- Panificación
- Gelificación de pectinas en las jaleas.
- preparación de aislados proteicos.
- curado de carnes.

1.12.3 ANÁLISIS QUÍMICOS

1.12.3.1 Contenido Acuoso.

- Determinar la composición del alimento y su valor nutritivo.
- Tener idea de la estabilidad del mismo frente a alteraciones enzimática, microbiológica, química y física.
- Obtener índices de textura, por ejemplo, en productos “crackers”.
- Controlar si la humedad del material es la óptima para determinadas operaciones tecnológicas, por ejemplo: molienda de granos.
- Detectar adulteraciones en miel, manteca, chacinados, etc.(75)

1.12.3.2 Materias Minerales – Cenizas

Todos los alimentos contienen minerales en pequeñas concentraciones, los cationes y aniones más abundantes son K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , $SO_4^{=}$, Cl^- , $CO_3^{=}$, y $H_2PO_4^-$.

FINALIDADES DE LOS ANÁLISIS:

- 1) Conocer valores nutritivos del alimento.
- 2) Determinar genuinidad (Ej: máximo de cenizas en dulce de leche)
- 3) Detectar contaminaciones químicas (Hg, As, Pb, Se, etc.).
- 4) Obtener índices de contaminación microbiana (NO_3^- , NO_2^- , en aguas)
- 5) Clasificar ciertos alimentos según su pureza (harinas, azúcares).

Además de los minerales presentes en las materias primas, se agregan otros durante la elaboración para que cumplan diversas funciones tecnológicas: leudantes, saborizantes, conservantes, mejoradores, estabilizantes, texturizantes.

A veces se encara el análisis particular de algún anión, catión o sal, químicamente o por absorción atómica (Ej: $KBrO_3$, $NaCl$, $NaNO_2$, Hg, Pb, As).

Generalmente se realiza la cuantificación total de las sustancias minerales por oxidación de la materia orgánica a temperatura superior a 500°C. El residuo de esta incineración o calcinación recibe el nombre de “cenizas”. Se reserva la denominación “sustancias minerales” para aquellas que se encuentran en el alimento tal cual, previa incineración. (75)

1.12.3.3 Hidratos de Carbono

Los hidratos de carbono son los constituyentes más abundantes y ampliamente distribuidos de los alimentos.

En plantas y animales hay monosacáridos desde triosas hasta heptulosas, pero la gran mayoría están en cantidades del orden de trazas. Algunos de éstos son importantes en el metabolismo, pero rara vez lo son en el análisis de alimentos. Los de importancia en nutrición, composición y análisis de alimentos son pocos. (75)

1.12.3.4 Refractometría

El índice de refracción de una solución de azúcar tiene relación directa con la concentración (p/v).

Dentro de cierto rango la relación es lineal, pero existen tablas que relacionan ambos valores en un rango más amplio.

Los índices de refracción de los azúcares son bastante similares, de modo que aún en una mezcla es posible conocer con bastante exactitud la concentración de azúcares en una solución.

La Refractometría es un método rápido y sencillo que se utiliza en la industria especialmente para control de elaboración en la planta. La expresión de resultados es arbitraria: en un azúcar o en sólidos solubles. El uso principal es comparativo. (52)

1.12.3.5 Espectrofotometría

Se refiere a la medida de cantidades relativas de luz absorbida por una muestra, en función de la longitud de onda.

La absorción de las radiaciones ultravioletas, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas y es característica para cada sustancia química.

Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante puede producir ningún efecto sin ser absorbida.

La espectrofotometría ultravioleta –visible usa haces de radiación del espectro electromagnético, en el rango UV de 80 – 400nm, principalmente de 200 – 400 nm y en el de la luz visible de 400 a 800 nm.

Las aplicaciones principales son:

- 1) Determinar la cantidad de concentración en una solución de algún compuesto.
- 2) Para la determinación de estructuras moleculares
- 3) La identificación de unidades estructurales específicas ya que estas tienen distintos tipos de absorbancia (grupos funcionales o isomerías) (52)

1.12.3.6 Cromatografía

La cromatografía es un método de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación, en todas las ramas de la ciencia. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

Las técnicas cromatográficas son muy variadas, pero en todas ellas hay una fase móvil que consiste en un fluido (gas, líquido o fluido súper-crítico) que arrastra a la muestra a través de una fase estacionaria que se trata de un sólido o un líquido fijado en un sólido.

Los componentes de la mezcla interactúan en distinta forma con la fase estacionaria y con la fase móvil. De este modo, los componentes atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades y se van separando. Después que los componentes hayan pasado por

la fase estacionaria, separándose, pasan por un detector que genera una señal que puede depender de la concentración y tipo de compuesto. (52)

- **Determinación del Rf**

La retención se puede explicar en base a la competencia que se establece entre el soluto a separar y la fase móvil por adsorberse a los centros activos polares de la fase estacionaria. Así, las moléculas de soluto se encuentran adsorbidas en la fase estacionaria y a medida que se produce la elución van siendo desplazadas por la fase móvil. La retención y la selectividad en la separación dependen de los valores respectivos de las constantes de los diferentes equilibrios químicos que tienen lugar, que están en función de:

La polaridad del compuesto, determinada por el número y naturaleza de los grupos funcionales presentes. Los solutos más polares quedarán más retenidos puesto que se adsorben más firmemente a los centros activos de la fase estacionaria, mientras que los no polares se eluirán con mayor facilidad.

Naturaleza del disolvente. Así, para un mismo compuesto, un aumento en la polaridad del disolvente facilita su desplazamiento en la placa.

La relación entre las distancias recorridas por el soluto y por el eluyente desde el origen de la placa se conoce como Rf, y tiene un valor constante para cada compuesto en unas condiciones cromatografías determinadas (adsorbente, disolvente, tamaño de la cubeta, temperatura, etc.).

Debido a que es prácticamente imposible reproducir exactamente las condiciones experimentales, la comparación de una muestra con otra debe realizarse eluyendo ambas en la misma placa.

Para calcular el Rf se aplica la siguiente expresión:

$$R_f = \text{distancia recorrida por el compuesto (X)} / \text{distancia recorrida por el eluyente (Y)}$$

La distancia recorrida por el compuesto se mide desde el centro de la mancha. Si ésta es excesivamente grande se obtendrá un valor erróneo del Rf.

Se recomienda elegir un eluyente en el que los componentes de la mezcla presenten un Rf medio entorno a 0.3-0.5. Para compuestos poco polares, se debe utilizar un disolvente apolar como el hexano. En el caso de compuestos con polaridad media, se aconseja utilizar mezclas hexano/acetato de etilo en distintas proporciones. Los productos más polares, requieren disolventes más polares como mezclas de diclorometano/metanol en distintas proporciones. (69)

1.13MICROBIOLOGÍA

Los microorganismos son utilizados para obtener una gran variedad de alimentos, son causa de su deterioro y pueden provocar enfermedad en el hombre. Producir, distribuir y consumir alimentos de buena calidad sanitaria, crudos, preparados para consumo inmediato o procesado, forma parte de los intereses de cualquier comunidad. Diversas circunstancias han hecho necesario el control microbiológico de los alimentos: el aumento del comercio internacional de estos productos, el posible riesgo derivado del empleo de nuevas técnicas en su producción en masa, su rápida y amplia distribución y el consumo en ciertas áreas o países de alimentos procedentes de zonas en las que prevalecen las enfermedades entéricas. Según la Organización Mundial de la Salud las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) constituyen el problema de salud pública más extendido en el mundo actual. (67)

1.13.1 MICROORGANISMOS INIDCADORES DE CALIDAD SANITARIA

Desde que en 1882 Schardinger determinó la calidad sanitaria atendiendo a la presencia del que hoy conocemos como *E.coli*, en lugar de hacerlo según *Salmonellatyphi* los microorganismos indicadores nos han sido de gran utilidad. Los grupos o especies utilizados con estos fines se denominan "Microorganismos Indicadores", y sirven para evaluar tanto la seguridad que ofrecen los alimentos en cuanto a microorganismos y sus toxinas como su calidad microbiológica. El principal objetivo de la utilización de microorganismos como indicadores de prácticas no sanitarias es revelar defecto de

tratamiento que llevan consigo un peligro potencial que no está necesariamente presente en la muestra particular examinada, pero que es probable pueda encontrarse en muestras paralelas. (67)

Los indicadores de calidad sanitaria más utilizados son:

- Determinación de aerobios mesófilos
- Determinación de coliformes
- Determinación de *Escherichia coli*
- Determinación de hongos y levaduras

1.13.1.1 Aerobios mesófilos

En este recuento se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la materia prima. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados.(67)

Un recuento elevado puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración
- La posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos
- La inmediata alteración del producto

El recuento de mesófilos nos indica las condiciones de salubridad de algunos alimentos.(70)

1.13.1.2 Coliformes.

Los organismos coliformes son el grupo indicador con mayor tradición en la microbiología sanitaria. Se trata de una definición totalmente convencional sin validez taxonómica, que pretende involucrar bacterias de hábitat típicamente intestinal, si bien existen microorganismos que satisfacen la definición y que frecuentemente se localizan en ambientes extra-intestinales. Su hábitat natural es el contenido intestinal del hombre y animales superiores. En la materia fecal alcanzan cifras de 10^6 a 10^9 ufc/g. Debido a su capacidad de sobrevivencia y a su potencial para desarrollarse en la materia orgánica, pueden recuperarse de una diversidad de sustratos extra-intestinales. Los alimentos no son la excepción y el hallazgo de coliformes puede estar determinado por una contaminación seguida o no de un activo desarrollo. Por razones prácticas se mantienen agrupadas bajo la denominación de grupo coliformes, principalmente, a especies de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* y otras especies de enterobacterias que sean capaces de fermentar la lactosa con producción de gas. Se definen como bacilos Gram negativos no formadores de esporas, aeróbicos o facultativamente anaeróbicos, que fermentan la lactosa con formación de gas dentro de las 48 horas a 35.

Con excepción de *E. coli* ninguno de ellos indican necesariamente contaminación fecal ya que pueden encontrarse en el suelo y en los vegetales y de allí tener acceso a los alimentos. Los coliformes se encuentran en todas partes de las plantas (hojas, raíces, flores). El género *Klebsiella* predomina en muestras obtenidas de medios forestales y de productos frescos de granja. La mayoría de las hortalizas frescas examinadas presentan niveles de coliformes de 10^6 a 10^7 /g; también se pueden encontrar en las cáscaras de huevos recién puestos y pueden penetrar a través de los poros si la superficie de ella está dañada. Estos microorganismos pueden encontrarse en la leche fresca por contaminación de los conductos lactóforos por el pienso o el estiércol, pueden estar presentes en las plumas de las aves de corral y en la piel pezuñas y pelos de otros animales.

Los coliformes son bastante resistentes en condiciones naturales y soportan la desecación; en cambio no resisten bien los rigores del frigorífico o de lacio-conservación, son inactivados por tratamientos térmicos relativamente moderados, como

la pasteurización. La luz ultravioleta, en las condiciones empleadas en la desinfección del agua, inactiva a los coliformes. Los germicidas como los yodóforos y los compuestos clorados también son letales a las concentraciones usuales en las plantas de alimentos. Se han utilizado muchos métodos para detectar coliformes, siendo la fermentación de la lactosa el primer paso en la identificación de un microorganismo como coliformes. Existe un método que consiste en el uso del Número Más Probable (NMP). Esta es una técnica laboriosa, lenta y requiere de mayor volumen de material de laboratorio, pero es mucho más sensible es muy utilizada en el estudio de agua potable y de alimentos, tales como mariscos y pescados. Es además muy apropiada para detectar células fisiológicamente dañadas que frecuentemente están en los alimentos procesados. La mayoría de las investigaciones realizadas en alimentos sobre coliformes son practicadas utilizando el método de placa vertida en agar bilis rojo-violeta. Este método es más rápido, económico y reproducible que el NMP; pero no permite la recuperación directa de bacterias dañadas fisiológicamente, ni la detección de concentraciones bajas del producto. Otro método empleado para la determinación de coliformes es el de filtración por membrana, fundamentalmente empleada en análisis de aguas.(66)

1.13.1.3 Escherichia coli

Es el representante genuino de origen fecal por lo que es el indicador más confiable de contaminación fecal en alimentos.

E. coli es un germen cuyo hábitat natural es al tracto entérico del hombre y de los animales de sangre caliente. Por ello la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal.

Es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua, en los moluscos, en los productos lácteos y en otros alimentos. Cifras altas de E. coli en un alimento sugieren una falta de limpieza en el manejo del mismo y un almacenamiento inadecuado.

Los métodos de detección son muy parecidos a los que se utilizan en la determinación de coliformes fecales y en ocasiones los mismos (NMP, placa vertida, filtración por membrana), en estos momentos se están utilizando mucho en países desarrollados los

métodos cromogénicos y fluorogénicos. Los recobrados de E. coli de los métodos convencionales requieren de una confirmación bioquímica de las cepas aisladas.(66)

1.13.1.4 Mohos y Levaduras

Las levaduras y los mohos crecen más lentamente que las bacterias en los alimentos no ácidos que conservan humedad y por ello pocas veces determinan problemas en tales alimentos. Sin embargo, en los alimentos ácidos y en los de baja actividad acuosa, crecen con mayor rapidez que las bacterias. En general este indicador es utilizado en productos no perecederos, que se someten a almacenamiento largo, en productos deshidratados cuyo almacenamiento se realiza en condiciones inadecuadas. Además existe el peligro potencial de producción de micotoxina por parte de los mohos.

Algunos mohos muestran una especial resistencia al calor, debido a las esporas que producen. La expresión del desarrollo de las levaduras en los alimentos se distingue del observado por los mohos. Mientras las primeras pueden proliferar en la masa interna del alimento (sólido como los quesos, o líquidos como los jugos de frutas), los mohos se limitan de ordinario a las superficies, visiblemente distintivos sin necesidad de aumento alguno. Para su determinación generalmente se utiliza el método de placa vertida, se pueden utilizar medios acidificados para inhibir el crecimiento microbiano o la adición de un antibiótico al medio de cultivo, la temperatura de incubación es de 25 °C durante 5 días. (66)

1.15 RATONES DE LABORATORIO

El animal de laboratorio tiene que ser respetado como ser vivo, entender que padece necesidades y sufre dolor, por ley es obligación del personal que lo cuida, mantiene y utiliza (investigador), asegurar su bienestar y confort mientras viva.

1.15.1 EL ANIMAL DE LABORATORIO

El animal de laboratorio es aquel que:

› Es engendrado y producido en condiciones controladas.

- › Mantenido en un entorno controlado.
- › Posee claros antecedentes genéticos y microbiológicos.
- › Existe una comprobación sistemática de estos antecedentes.

También es definido como cualquier especie animal que, mantenido bajo determinadas condiciones controladas es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para la generación de datos, los cuales son utilizados como información. Ejemplo de estas especies son: el ratón, la rata, el hámster, el conejo, el perro, el mono etc.

1.15.2 EL RATÓN, SUTAXONOMÍA Y USO COMO ANIMAL DE LABORATORIO

TABLA No. 9 Taxonomía de los animales de experimentación empleados en el estudio Farmacológico

Reino:	<i>Animalia</i>
Filo:	<i>Chordata</i>
Clase	<i>Mamalia</i>
Orden:	<i>Rodentia</i>
Familia:	<i>Muridae</i>
Género:	<i>Mus</i>
Especie:	<i>Musculus</i>

• FUENTE: <http://www.secal.es/ficheros/ficheros/29/Safena.pdf>

- **Ventajas de su uso como animal de laboratorio**
 - › De fácil cuidado y mantenimiento, por su pequeño tamaño.
 - › Bajos costo de manutención.
 - › Cepa definida.
 - › Diversidad de características específicas que sirven como modelo.
 - › Eficiencia reproductiva.

› Por su vida relativamente corta es excelente para su uso en ensayos crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología, etc.

› Corto tiempo de generación.

• **Desventajas:**

› Dificultad en la recolección de material biológico.

› Dificultad la administración de drogas.

› Dificultad en las técnicas quirúrgicas.

1.15.3 TÉCNICAS DE MANEJO PARA RATONES JÓVENES Y ADULTOS

Ofrecen dificultad para su manejo ya que al sentirse capturados con frecuencia muerden. Debe usarse guantes exactos a la mano del operario para que no tenga dificultad en el manipuleo de los animales. (74)

1.15.5.1 Captura y traslado de jaula

Se realiza sujetando el espécimen por la cola.

Para el traslado de ratones generalmente se sujetan de la región media de la cola con los dedos índice y pulgar. Otra forma es abrazándolo del cuello con el dedo índice y el pulgar.

1.12.5.2 Sujeción con una mano (Mano Izquierda)

- Saque el ratón de la jaula tomándolo de la zona media de la cola, y apóyelo (sin soltarlo) sobre una superficie rugosa o rejilla contra la que pueda ejercer resistencia.
- Coloque la base de la cola del ratón entre sus dedos anular y meñique, dejando libre sus dedos pulgar e índice
- Con rapidez pellizque con el dedo pulgar e índice, suave pero firmemente, la piel de la parte superior de cuello y hombros, teniendo especial cuidado con los ratones agresivos ya que pueden darse vuelta y morder.
- Levante al animal (74)

1.16 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

- Vía Subcutánea
- Vía Intraperitoneal
- Vía Intravenosa
- Vía Intramuscular
- Vía Oral : Se puede usar el alimento o el agua, en volumen máximo de 1mL de solución por cada 100 g de peso del animal, cuando es vehículo oleoso y 2mL de solución cuando es solución acuosa; lo ideal es mediante sonda orogástrica y teniendo un buen conocimiento de la anatomía de la zona orofaríngea, los pasos a seguir son los siguientes:
 - Inmovilizar al animal en forma correcta e introducir la sonda hacia la izquierda en forma lenta y suave a lo largo de la rama mandibular derecha, aquí el ratón comienza a tragar y la sonda se inserta dentro del esófago. (74)

1.17 TÉCNICAS PARA LA EXTRACCIÓN DE SANGRE EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Independientemente de la técnica a utilizar se debe procurar que:

- Debe causar el mínimo desconfort y estrés de animal.
- Técnica simple y fácilmente aplicable

Está demostrado que el dolor y estrés alteran las respuestas corporales a los estímulos farmacológicos y quirúrgicos, además de las condiciones éticas. Por ello, los esfuerzos encaminados a reducir al mínimo el dolor y estrés deben ser considerados elementos de buena práctica científica.

Las técnicas de recogida de muestra sanguínea dependerán en general de:

- La especie
- Volumen necesario
- Determinación a realizar

1. Si es precisa analizar el plasma o elementos celulares:
 - a) Evitar coagulación de la muestra (usar EDTA)
 - b) Evitar la hemólisis de la muestra (sin excesiva aspiración y lentamente luego agitar con suavidad para que se mezcle con el anticoagulante.
2. Si se pretende que el animal sobreviva a la extracción:
 - a) No más del 10% de la volemia total
 - b) Extracción de 5-10% de la volemia a intervalos de dos o tres semanas
3. Elegir la técnica de extracción:
 - a) El estrés y la anestesia pueden alterar significativamente algunos parámetros hematológicos y bioquímicos. El estrés causado por la manipulación e inmovilización suele ocasionar una elevación del hematocrito y alteraciones en el recuento de células blancas, así como variaciones en las cifras de glicemia y ciertas hormonas. Para evitar el estrés de punciones repetidas se puede dejar una vía heparinizada en el lugar no accesible para el animal. (74)

1.17.1 VÍAS DE EXTRACCIÓN DE SANGRE EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

- Seno Orbital
- Vena y Arterias Caudales
- Vena Safena: Puede utilizarse varios métodos para la punción venosa, dependiendo del tamaño del animal, el número de muestras sanguíneas que vaya a obtenerse y el tipo de muestra sanguínea que se necesite. Se debe utilizar aquel calibre de aguja más pequeño que posibilite una evacuación de la sangre suficientemente rápida. En la mayoría de los casos, es más adecuado utilizar una aguja estéril. El diámetro de la aguja que se va a utilizar depende del diámetro de la vena del animal en cuestión. Para los ratones, a menudo se consigue una punción adecuada utilizando una aguja de 25G (0,6mm)

Cuando se realiza correctamente, se forma inmediatamente una gota de sangre en el lugar de la punción. Existe un variado muestrario de sistemas para recoger la muestra sanguínea, dependiendo la cantidad y de las características específicas de la muestra. Como norma general, puede extraerse hasta un volumen de sangre equivalente al 0,5 %

del peso corporal del animal de una sola vez. (WOLFENSSOHN & Lloyd 1994) y esto puede repetirse en intervalos de dos semanas sin perjuicio para los valores hematológicos del animal. Las muestras que vayan de tomarse diariamente no han de superar el 0,05% del peso corporal.

La punción de la vena safena es un método rápido y fiable para la obtención de muestras sanguíneas en un gran número de especies. La situación superficial de la vena permite asegurar que la punción ha sido correcta y permite una fácil observación de cualquier hemorragia posterior a la obtención de la muestra.

La parte más crítica de la técnica es el afeitado del área de la articulación tarsal antes de la toma de muestra, por el riesgo de cortar la piel.

1.19 VIDA UTIL DE ALIMENTOS

Singh, (2000). La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil.

Brody, (2003) Este período depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad del agua, humedad relativa, radiación (luz), concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones.

Charm, (2007) La VU se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de VU mediante utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas

Brody, (2003), Para predecir la VU de un producto es necesario en primer lugar identificar y/o seleccionar la variable cuyo cambio es el que primero identifica el consumidor meta como una baja en la calidad del producto, por ejemplo, en algunos casos esta variable puede ser la rancidez, cambios en el color, sabor o textura, pérdida de vitamina C o inclusive la aparición de poblaciones inaceptables de microorganismos.

Posteriormente es necesario analizar la cinética de la reacción asociada a la variable seleccionada, que depende en gran medida de las condiciones ambientales.

Labuza, (1982). Es importante recalcar que la VU no es función del tiempo en sí, sino de las condiciones de almacenamiento del producto y los límites de calidad establecidos tanto por el consumidor como por las normas que rigen propiamente los alimentos.

En términos generales, la pérdida de calidad de los alimentos se representa mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{dA}{d\theta} = kA^n \quad (1)$$

En donde A es la variable de calidad bajo estudio, θ el tiempo, k constante dependiente de la temperatura y la actividad del agua (A_w) y n es el orden de reacción, que define si la tasa de cambio de A en el tiempo depende o no de la cantidad de A presente. Si la ecuación se refiere a pérdidas lleva un signo negativo, pero si por el contrario expresa la aparición de productos no deseados es positiva.

Diversas investigaciones han sugerido que las reacciones que ocurren en alimentos, como degradación enzimática, oxidación lipídica (responsable de la rancidez en productos altamente grasos) y pardeamiento no enzimático (encargada del oscurecimiento de alimentos ricos en carbohidratos) se comportan de orden cero, lo que significa que la tasa de cambio de la variable de interés permanece constante siempre que la temperatura y el A_w lo sean, así:

$$-\frac{dA}{d\theta} = k \quad (2)$$

Integrando (2) para el valor inicial de la variable de estudio se tiene:

$$A = A_0 - k\theta \quad (3)$$

En el caso de reacciones de primer orden, la tasa de degradación no es constante y sigue un comportamiento exponencial definido por (4), que luego de integrarlo con respecto al tiempo se expresa según (5)

$$-\frac{dA}{d\theta} = kA^1 \quad (4) \quad \ln\left(\frac{A_t}{A_0}\right) = -k\theta \quad (5)$$

La literatura ha descrito reacciones de primer orden como las reacciones de crecimiento y muerte microbiana, rancidez en ensaladas y vegetales secos, producción de limo y olores producto de la degradación enzimática, pérdidas vitamínicas y pérdidas de calidad proteica.

Pese a que muchas reacciones de importancia alimentaria son de orden cero, cada caso debe ser estudiado cuidadosamente, puesto que, si la reacción de interés no es de orden cero pero se considera como tal, el sesgo asociado puede ser muy significativo.

Hoy por hoy, el consumidor ha reflejado una necesidad imperante por conocer y tener la mayor información posible acerca de los productos que se le ofrecen en el mercado. Un claro ejemplo es el conocimiento de la fecha de vencimiento de los productos, que va de la mano con la determinación de la vida útil (VU) de un producto. La fecha de vencimiento indicada en productos es un atributo crítico de gran importancia que no sólo previene el mal uso del producto sino que permite entregar al consumidor un producto de calidad y evitar pérdidas generadas por falta de rotación en el puesto de venta, que se origina por desconocimiento de los empleados mismos.

1.20 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Se trabajó con un diseño experimental de series cronológicas múltiples compuesto de: 1) Un grupo control positivo, 2) un grupo control negativo, 3) tres grupos de estudio y 4)

Un grupo Blanco o Testigo. Las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y controles fueron determinados mediante ANOVA un factor con datos agrupados, permitiéndonos con ello, evaluar la existencia de heterogeneidad de los grupos con respecto al factor respuesta (Glicemia), y posteriormente se realizó la prueba de comparaciones múltiples a un intervalo de confianza del 99% empleando la prueba de Tuckey HSD, lo que permitió evaluar que grupos son similares y diferentes con respecto a los tratamientos. (77)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La investigación se llevó a cabo en los siguientes laboratorios de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH:

- Bioquímica
- Microbiología
- Alimentos y
- Bioterio

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIA PRIMA

- Aguamiel de *Agave americana* L. recolectada en la propiedad del Sr Catalino Masaquiza, localizada en la comuna El Rosario- Manzanapamba del cantón Salasaca, provincia de Tungurahua

2.2.2 EQUIPOS

- Autoclave ALL AMERICAN (electricmo del No75x)
- Balanza analítica
- Bomba de vacío

- Cabina extractora de gases
- Cámara Fotográfica
- Computadora
- Cronómetro
- Desecador
- Estufa
- Incubadora memmert
- Mufla Fisher Scientific
- pH-metro(Mettler Toledo)
- Refrigeradora
- Cuba

2.2.3 MATERIALES

- Bureta
- Cápsulas de porcelana
- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Matraces volumétricos
- Papel filtro
- Probeta graduada
- Pissetas
- Pinza de bureta
- Pipetas volumétricas
- Soporte Universal
- Varilla de vidrio
- Vaso de precipitación
- Reverbero
- Erlenmeyer
- Placa de silica gel

2.2.4 MATERIAL BIOLÓGICO

- **Población:** Ratones albinos (*Mus musculus*) provenientes del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia.(fotografía No3)



FOTOGRAFIA No 3. *Ratones De Experimentación ESPOCH 2013*

FUENTE: López L.

PARROQUIA

2.2.5 REACTIVOS

- Acido Clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Agua bidestilada, des ionizada
- Azul de metileno
- Etanol
- Hidróxido de Sodio
- Solución de sacarosa
- Hidróxido Amonico
- Rojo de metilo
- Solución de Carrez I (ferrocianuro de potasio) y II (acetato de zinc)
- BiSulfato de sodio
- Cloruro de Bario

- Sulfato de Cobre
- Tartato de Sodio y Potasio
- Iodo
- Tiosulfito de sodio
- Fenolftaleína
- Glucosa
- metformina

2.2.6 MEDIOS DE CULTIVO

- Petrifilm para hongos y levaduras (3M)
- Petrifilm para *Escherichia coli* y coliformes(3M)
- Petrifilm para Aerobios Mesófilos
-

2.3 MÉTODOS

2.3.1. OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA (AGUA MIEL) (ANEXO I)

1. Seleccionar la planta en base al grado de maduración (la edad de la planta para estos fines oscila entre 12 a 15 años de edad y la otra consideración es que debe ser antes de la emergencia del tallo floral)
2. Acondicionar la planta previa recolección.
3. Extraer y recolectar el agua miel.
4. Transportar en condiciones de refrigeración.

2.3.2. OBTENCIÓN DE LA MIELDE AGAVE A TRES TEMPERATURAS **50 °C, 70 °C, 90 °C**)

Procedimiento

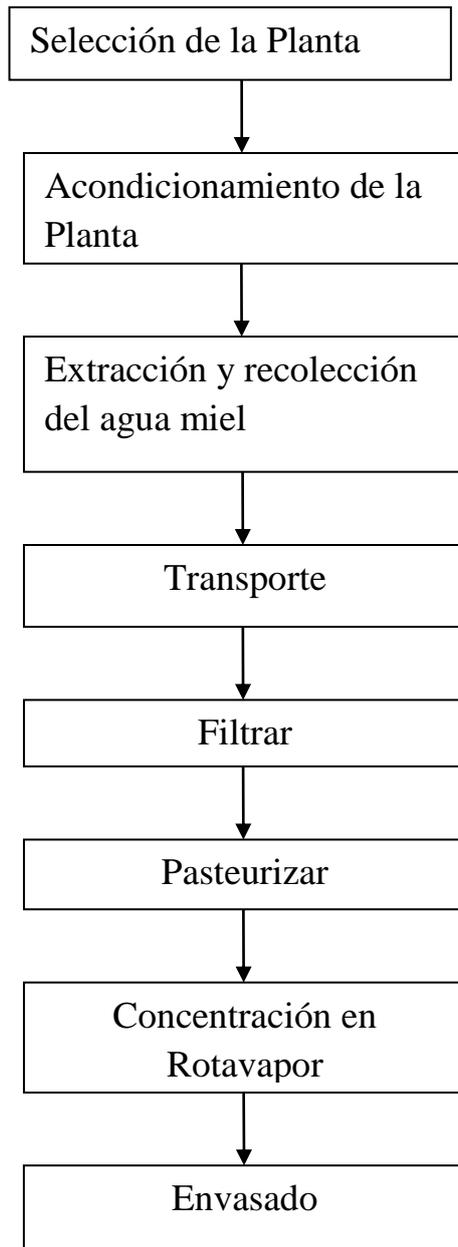
1. Pasteurizar el agua miel del *Agave americana L* a 60°C por 15min, seguido de un choque térmico.
2. Concentrar en rotavapor a tres temperaturas**50°C, 70 °C, 90 °C**, hasta obtener una consistencia de miel.

3. Determinar Grados Brix e Índice de refracción en las tres mieles obtenidas por evaporación.

4. Envasar en frasco de vidrio color ámbar, en condiciones asépticas

La obtención de la materia prima y de la miel se detalla en la tabla No9.

TABLA No. 10 PROCEDIMIENTO DE LA ELABORACIÓN DE MIEL DE AGAVE



FUENTE: LILIANA LÓPEZ S.

2.3.3 IDENTIFICACIÓN DE AZUCARES POR TLC.

Principio

La cromatografía en capa fina (en inglés thinlayerchromatography o TLC) es una técnica analítica rápida y sencilla que nos permite determinar el grado de pureza de un compuesto y comparar muestras: Si dos muestras corren igual en placa podrían ser idénticas. Si, por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia.

La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria). Entonces, la lámina se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente.

(42)

PROCEDIMIENTO

Realizar una hidrólisis acida a la muestra para identificar la presencia de fructosa de la siguiente manera:

- Colocar en tres vasos de precipitación de 100 ml: 2 ml de cada muestra, 50 ml de agua y 5 gotas de HCl concentrado.
- Calentar en baño maría por 15 minutos
- Neutralizar con carbonato de sodio.
- Comprobar la hidrólisis utilizando el reactivo de Seliwanoff (presencia de fructosa).
- Realizar la aplicación en placas de silica-gel previamente activadas (calentar a 85 °C por 15 minutos).

2.3.4 COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA DE LAS TRES MUESTRAS DE MIEL DE AGAVE EN RATONES (*Mus musculus*) MÉTODO DE CYTED, Manual de Técnicas de Investigación

Principio

Los resultados de la investigación con modelos animales proporcionan información necesaria para diseñar pruebas humanas que también deben completarse para la aprobación legal de nuevos dispositivos, fármacos y procedimientos con carácter terapéutico y de diagnóstico. Es necesario conocer cómo un nuevo fármaco o procedimiento afectará a un sistema biológico completo antes de usarlo en humanos.

PROCEDIMIENTO

- Utilizar 12 ratones machos y hembras con un peso promedio de 35 ± 5 g los cuales fueron mantenidos en cuarentena 8 días antes de empezar el estudio con libre disposición de agua y alimentos, controlando la temperatura y ciclos circadianos de doce horas luz, doce horas oscuridad. (Tabla No.11)

- **Condiciones**

TABLA No.11 DETALLE DE CONDICIONES DE MANTENIMIENTO

Humedad Relativa	$55 \pm 10\%$
Temperatura	$22 \pm 2^\circ\text{C}$
Periodo	12 Horas luz – 12 Horas Oscuridad

FUENTE: LILIANA LÓPEZ S.

- Retirar el alimento doce horas antes del estudio y suministrarle agua *ad libitum*.
- Evaluar la glicemia inicial transcurridas las doce horas de ayuno, en sangre extraída por punción de la vena safena a través de tiras reactivas utilizando el glucómetro Roche Accu-chek Active para su lectura. (ANEXO 2, 3, 4)
- Realizar la sobrecarga de glucosa en el grupo control negativo administrando solución acuosa de glucosa al 50% por vía oral, con una dosis de 3g/Kg, previo análisis de la curva de tolerancia de glucosa.
- Administrar por vía oral las tres muestras de miel de agave a los grupos T1, T2, T3 respectivamente y al grupo control positivo el medicamento (metformina 0.015mg/Kg) (Tabla No12)

- Evaluar la glicemia después de treinta minutos de la administración en 5 tomas de sangre.
- Realizar la curva de tolerancia de la Glucosa.

TABLA NO.12 DETALLES DE LOS GRUPOS DE EXPERIEMENTACIÓN

Control positivo	1 ratón	Diabético, se administra Metformina como estándar
Control negativo	1 ratón	Diabético, no se administra ningún tratamiento
Blanco	1 ratón	Permanece inalterado
Dosis a la T1	3 ratones	Diabéticos, se les administra el concentrado Miel de Agave (<i>Agave americana</i> L.) dosis 20% (50 ⁰ C)
Dosis a la T2	3 ratones	Diabéticos, se les administra el concentrado Miel de Agave (<i>Agave americana</i> L.) dosis 20 % (75 ⁰ C)
Dosis a LA T3	3 ratones	Diabéticos, se les administra el concentrado Miel de Agave (<i>Agave americana</i> L.) dosis 20 % (90 ⁰ C)

FUENTE: LILIANA LÓPEZ S.

2.3.5 ANÁLISIS SENSORIAL, FISICO, QUIMICO Y MICROBIOLÓGICO DE LA MIEL DE AGAVE CON EFECTO ANTIDIABÉTICO.

2.3.5.1 Análisis Sensorial

- Principio

Es una disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos que se perciben por los sentidos de la vista, el oído, el olfato, el gusto y el tacto, por lo tanto, la Evaluación Sensorial no se puede realizar mediante aparatos de medida, el “instrumento” utilizado son personas.

Procedimiento:

- Tomar una determinada porción de muestra
- Colocar la muestra en un vidrio reloj

- Realizar el respectivo análisis sensorial de acuerdo a los sentidos organolépticos (vista, oído, olfato, gusto y el tacto)

2.3.5.2 Pruebas Físicas

pH método Ponteciométrico. NTE INEN 1634

- Principio:

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. (11)

- Procedimiento

Ajustar el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación.

Determinar el pH de la muestra.

DETERMINACION DE DENSIDAD NTE INEN 1632 (27)

Principio

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Procedimiento:

1. Se tara el picnómetro de la siguiente manera:

Preparar una mezcla sulfocromica, disolviendo 100g de dicromato de sodio o potasio en 300 cm³ de agua caliente. Enfriar, pasar a una capsula de porcelana grande y agregar, agitando constantemente, 400 cm³ de ácido sulfúrico concentrado.

Con la mezcla sulfocromica, se lava el picnómetro varias veces, con agua destilada a continuación con alcohol y finalmente éter.

2. Cuando el picnómetro ha adquirido la temperatura ambiente, pesar con una aproximación al 0,1mg.

3. El picnómetro tarado llenar con agua destilada, colocar el respectivo tapón esmerilado e introducir a baño maría a 27 °C, durante 30 minutos, al cabo de este tiempo retirar el picnómetro, secar cuidadosamente con papel filtro y pesar con aproximación al 0,1 mg. La diferencia de peso del picnómetro con agua destilada y vacío, representa la capacidad de agua del picnómetro a 27 °C.

La tara y la capacidad del picnómetro deben determinarse a intervalos periódicos.

4. Luego de tarar el picnómetro, llenar con la muestra de miel, teniendo cuidado de que no se forme burbujas de aire; introducir un termómetro cuyo bulbo quede en el centro de la masa de miel y colocar a baño maria 27 °C ±0,5 °C.

5. Cuando la miel ha alcanzado una temperatura aproximada a 27 °C, sacar el termómetro, colocar el tapón de vidrio esmerilado y limpiar con papel filtro, el picnómetro debe permanecer sumergido dentro del baño de maría durante el ajuste.

6. Retirar el picnómetro del baño de maría, secar con papel filtro, y pesar con aproximación al 0,1mg.

Cálculos:

La densidad relativa e expresa con dos cifras decimales y se obtiene de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$D = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

Siendo:

D= densidad relativa 27 °C.

m= masa del picnómetro vacío, gramos

m1= masa del picnómetro con agua destilada, en gramos

m2= masa del picnómetro con la muestra de miel, en gramos

DETERMINACIÓN DE COLOR (ICUMSA) NMX-FF-110-SFCI-2008 (30)

Principio

Valor Icumsa: es el valor numérico del color de una solución azucarada, medida por el método internacional de la comisión por uniform methods of sugar analysis.

Procedimiento:

1. En una celda de cuarzo colocar una pequeña porción de la muestra de miel y proceder a leer la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 420nm, empleando agua destilada como blanco de ajuste.

Cálculo:

$$\text{Color} = \frac{(\text{absorbancia de la muestra})(100000)/(\text{densidad de la muestra})}{(\text{grados Brix de la muestra})}$$

GRADOS BRUX. NMX-FF-110-SFCI-2008 (30)

Principio:

Este método se basa en el cambio de dirección que sufren los rayos luminosos en el límite de separación de dos medios en los cuales es distinta la velocidad de propagación. Es un representante de la unidad de azúcar contenido de una solución acuosa. Un grado Brix corresponde a 1 gramo de sacarosa en 100 gramos de solución y por tanto representa la fuerza de la solución como un porcentaje en peso (% w / w) (30)

Procedimiento:

1. Colocar el refractómetro en una posición tal que difunda la luz natural o cualquier otra forma de luz artificial, que pueda utilizarse para iluminación.
2. Hacer circular agua a 293 K(20°C) a través de los prismas.
3. Limpiar cuidadosamente con alcohol y éter de petróleo el refractómetro antes de hacer la lectura.
4. Para cargar el refractómetro abrir el doble prisma girando el tornillo correspondiente y poner unas gotas de muestra sobre el prisma, cerrar y ajustar finamente.
5. Verificar la exactitud del refractómetro con agua a 293 K (20°C) a esta temperatura, el índice de refracción del agua es de 1.3330, o bien utilizar la placa de cuarzo que viene con el equipo, usando bromonaftaleno, al leer hacer las correcciones necesarias.
6. Mover el brazo giratorio del aparato hacia delante y hacia atrás hasta que el campo visual se divida en dos partes, una luminosa y otra oscura. La línea divisoria entre esas dos partes, se le conoce como "línea margen". Ajustar la línea margen y leer directamente el por ciento de sólidos en la escala Brix.

Nota: Este método también incluye tanto a los refractómetros manuales (o portátiles), en los cuales únicamente se coloca la muestra y se observa a contraluz para tomar la lectura directamente; como a los refractómetros digitales en los cuales el mismo procedimiento anteriormente descrito en esta norma, se simplifica siguiendo las indicaciones específicas que para cada aparato proporciona el fabricante. (79)

2.3.5.3 PRUEBAS QUIMCIAS

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.METODO DE DESECACIÓN EN ESTUFA DE AIRE CALIENTE.LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH

Principio

Se basa en la eliminación de la humedad por medio de la circulación de aire caliente; la materia seca que permanece en el alimento posterior a la remoción del agua se conoce como sólidos totales.

Procedimiento

- Pesar 1-10 g de muestra (previamente realizado su desmuestra) en vidrio de reloj, pesa filtro o en papel aluminio o chocolatín; o directamente en cápsula de porcelana previamente tarada, repartir uniformemente en su base.
 - Colocar en la estufa a $103^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por un lapso de 2 a 3 h, hasta peso constante.
 - Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar.
 - La determinación debe realizarse por duplicado.

CALCULOS

$$\text{SS (\%)} = \{(m_1 - m_2) / (m_1 - m)\} \times 100$$

En donde:

SS= sustancia seca en porcentaje en masa.

m = masa de la cápsula en g

m_1 = masa de la cápsula con la muestra en g

m_2 = masa de la cápsula con la muestra después del calentamiento en g

DETERMINACIÓN DE CENIZAS NTE INEN 1 636. MÉTODO DE INCINERACIÓN EN MUFLA (26)

Principio

La determinación por incineración en vía seca es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos y se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, es eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido.

Procedimiento

1. La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la muestra convenientemente homogenizada.
2. Pesar de 5-10 g. de la muestra preparada y colocar en una cápsula de platino o de sílice calcinada y previamente tarada.
3. Evaporar la muestra a sequedad en baño maría termostatzado entre 60 -65 °C, o colocar bajo la lámpara de rayos infrarrojos a 375 W; en este caso con un voltaje bajo e ir aumentando lentamente hasta que la muestra se ennegrezca y se seque.
4. El residuo seco calcinar en la mufla a 600 °C hasta peso constante y presencia de cenizas blancas.
5. En caso de no tener cenizas blancas, humedecer las cenizas con agua destilada, desecar sobre baño maría, luego sobre la placa eléctrica e incinerar nuevamente las cenizas como indica el punto 4.
6. Enfriar en un desecador y pesar con una aproximación al 0.1mg (80)

Cálculos:

$$\% C = \{(m_2 - m) / (m_1 - m)\} \times 100$$

Donde:

%C = Contenido de cenizas en porcentaje de masa.

m = Masa de la cápsula vacía en g

m₁ = Masa de cápsula con la muestra antes de la incineración en g

m₂ = masa de la cápsula con las cenizas después de la incineración en g

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS INSOLUBLES. LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIA. ESPOCH

Principio

El contenido de sólidos insolubles en agua en la miel se determina gravimétricamente después de filtrar una solución de miel y filtrar.

Procedimiento

1. La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la muestra convenientemente homogenizada
2. Secar un papel filtro por 1 hora a 135 °C ±2 en la estufa, enfriar en el desecador y pesar con una exactitud de 0.1mg
3. Preparación de la muestra de ensayo: pesar 20g de miel, disolverla en un volumen de aproximadamente 200 ml de agua destilada a 80 °C y mezclar bien.
4. Filtrar la muestra de ensayo a través del papel filtro, previamente secado y tarado, con la ayuda de vacío si es necesario.
5. Lavarlo a fondo con agua caliente (80 °C) hasta eliminar los azúcares (ensayo de Mohr)
6. Dejar secar el papel filtro durante una hora a 135 °C, enfriar y pesar con una aproximación al 0,1 mg.

Cálculos

$$S = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

Donde:

S = Contenido de sólidos insoluble en agua, en porcentaje en masa

m= peso de la muestra, en gramos

m1= peso del papel filtro, en gramos

m2= peso del papel filtro con el residuo, en gramos

Principio:

Este método se basa en el proceso de neutralización de un ácido mediante una solución de sodio hidróxido normalizada en presencia de fenolftaleína como indicador

Procedimiento:

- 1) Pesar 5g de muestra previamente preparada y disolver con 50 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer afora de 250 cm³.
- 2) Agregar 0,3 ml de solución indicadora de fenolftaleína
- 3) Titular con NaOH 0.1 N hasta obtener un color levemente rosáceo.

Cálculo:

Los datos se expresan en miliequivalentes de ácido por kilogramo de miel de agave (meq/kg)

$$A = \frac{V \times N}{m} \times 1000$$

Donde:

A= Acidez en meq/kg

V= volumen de NaOH utilizados en la titulación

N= normalidad del NaOH

m= peso de miel

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HIDROXIMETILFURFURAL (HMF) NTE INEN 1637 (28)

Principio:

Se basa en la extracción acuosa del HMF formado durante el tratamiento térmico al que se somete una muestra, previa eliminación de interferentes como la proteína mediante el reactivo de Carrez (ferrocianuro de potasio al 15% y acetato de zinc al 30 %).

Procedimiento:

- 1) La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la muestra convenientemente homogenizada.
- 2) Pesar 5g de miel en un vaso de precipitación, transferir a un balón de aforo de 50 ml, con aproximadamente 25 ml de agua destilada.
- 3) Anadir con una pipeta de 0,50 ml de solución de ferrocianuro de potasio, mezclar bien, añadir 0,50 ml de solución de acetato de zinc, llevar hasta un volumen de 50 ml con agua destilada.
- 4) Fítralos primero 10 ml del filtrado se desechan
- 5) Tomar dos tubos de ensayo (18 x 150 mm) y añadir a cada tubo unos 5 ml del filtrado
- 6) En un tubo, añadir 5 ml de agua (muestra), y al otro tubo que sirve de referencia, añadir 5 ml de solución de NaHSO₃, mezclar bien.
- 7) Determinar la absorbancia de la muestra patrón en contra de la absorbancia de la muestra de referencia, a 284 y 336 nm en una celda de 1cm.
- 8) Si la absorbancia (A) es mayor de 0.6, diluir la muestra patrón con agua, y también la de referencia con NaHSO₃, en igual proporción. Determinar la absorbancia A y, para los cálculos considere la dilución realizada.

Cálculos:

$\text{mg hidroximetilfurfural, (HMF) } 100\text{g de miel} = (A_{284} - A_{336}) \times 14,97 \times 5/\text{g muestra}$

DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES NTE INEN 1 633 METODO DE FEHLING (29)

Principio

Los métodos reductométricos, se basan en la propiedad reductora de los azúcares sobre disoluciones alcalinas de metales pesados, sobretodo cobre.

Estos métodos reductométricos determinan la totalidad de azúcares reductores presentes en una muestra, se recomienda que antes de la dosificación de azúcares se realiza la identificación de los mismos mediante la reacción básica de Fehling.

Procedimiento:

1. Pesar 2g (P2) de la muestra homogenizada, disolver en agua destilada y diluir en un matraz graduado hasta obtener 200 cm³ de solución (solución de miel). De esta solución tomar 50cm³ y disolver en agua destilada hasta obtener 100 cm³ (solución de miel diluida)
2. A continuación normalizar la solución de Fehling modificado de la siguiente manera. Mezclar cm³ de solución A y 5 cm³ de solución B de manera que estas soluciones reaccionen completamente con 0,050g de azúcar invertido, añadido desde una bureta de 25 cm³ la solución diluida de azúcar invertido (2g/L)
3. Titulación preliminar

Al final de la titulación de reducción, el volumen total de reactivos añadidos será de 35 cm³, esto se consigue añadiendo el volumen adecuado de agua antes de comenzar la titulación.

Puesto que los requisitos para miel especifican que esta debe contener más del 60% de azúcares reductores, es necesaria una titulación preliminar para determinar el volumen de agua que será preciso añadir a una muestra dada, para asegurar que la reducción se realice a volumen constante. Para calcular el volumen de agua, que es preciso añadir, se resta de 25 cm³ el volumen de solución diluida de miel, consumida en la titulación preliminar.

4. Verter con una pipeta 5 cm³ de solución A en un matraz de 250 cm³, y añadir 5 cm³ de solución B. añadir 7 cm³ de agua destilada, un poco de pómez en polvo, u otro regulador de ebullición, y agregar con la bureta 15 cm³ de solución diluida de miel.
5. Calentar la mezcla y, mantenerla durante 2 minutos en ebullición.
6. Anadir un cm³ de solución acuosa de azul de metileno al 0,2%, sin interrumpir la ebullición, y completar la titulación, sin que el tiempo total de ebullición pase de minutos, con pequeñas adiciones repetidas de solución diluida de miel, hasta que el indicador pierda el color. Lo que hay que observar es el color del líquido que permanece en la parte superior.
7. Tomar nota del volumen total de la solución diluida de miel utilizada.
8. Calcular la cantidad de agua que es necesario añadir para que, al final de la titulación, el volumen total de los reactivos sea de 35 cm³, para ello, restar 25cm³ la titulación preliminar.
9. Verter con una pipeta 5 cm³ de la solución A en un matraz de 250 cm³, y añadir 5 cm³ de solución B.
10. Anadir (25-x) cm³ de agua destilada, un poco de pómez en polvo u otro regulador de ebullición y, de una bureta, todo el volumen, menos 1,5 cm³ de solución diluida de miel determinada en la titulación preliminar.
11. Calentar la mezcla fría sobre una tela metálica, hasta ebullición moderada durante 2 minutos. Anadir 1,0 cm³ de solución de azul de metileno al 0,2% sin interrumpir la ebullición y completar la titulación, sin que el tiempo total de ebullición pase de 3 minutos, con pequeñas adiciones repetidas de solución diluida de miel, hasta que el indicador pierda el color.
12. Tomar nota del volumen total de solución diluida de miel. La diferencia entre titulaciones duplicadas no deberá ser superior a 0,1 cm³

Cálculos:

$$C = \frac{2}{P2} \times \frac{1000}{Y2}$$

Siendo:

C = g de azúcar invertido por 100g de miel

P2 = peso (g) de la muestra de miel utilizada

Y2 = volumen (cm³) de solución diluida de miel consumida en la titulación.

DETERMINACIÓN DE SACAROSA NTE INEN 1 633 METDO DE FEHLING

(29)

Principio:

La determinación de sacarosa (azúcar no reductor) requiere una previa hidrólisis ácida a compuestos reductores (que en el caso de la sacarosa se conoce como inversión y se aplica el mismo método de Fehling para azúcares reductores).

Procedimiento:

1. Pesar 25g (P1) de la muestra homogenizada y Crema alumina (retiene a la fructosa) transferir con agua destilada a un matraz de 100 cm³.
2. Diluir 10 cm³ de esta solución en agua destilada hasta obtener 250 cm³ de solución de miel.
3. Hidrólisis de la muestra de ensayo
 - Poner la solución de miel (50 cm³) en un matraz graduado de 100 cm³, junto con 25 cm³ de agua destilada, calentar la muestra de ensayo hasta una temperatura de 65 °C en baño maría
 - Retirar del baño maría y añadir 10 cm³ de ácido clorhídrico 6,34 N.
 - Dejar que la solución se enfríe de modo natural durante 15 minutos y, a continuación, calentar hasta 20 °C y neutralizar con hidróxido de sodio 5N, empleando tornasol como indicador.
 - Enfriar nuevamente la muestra y completar el volumen hasta 100 cm³ (solución diluida de miel)
4. Verter con una pipeta 5 cm³ de solución A en un matraz de 250 cm³, y añadir 5cm³ de solución B. añadir 7 cm³ de agua destilada, un poco de pómez en polvo, u otro regulador de ebullición, y agregar con la bureta 15 cm³ de solución diluida de miel.
5. Calentar la mezcla y, mantenerla durante 2 minutos en ebullición.
6. Anadir un cm³ de solución acuosa de azul de metileno al 0,2%, sin interrumpir la ebullición, y completar la titulación, sin que el tiempo total de ebullición pase de minutos, con pequeñas adiciones repetidas de solución diluida de miel, hasta que el indicador pierda el color. Lo que hay que observar es el color del líquido que permanece en la parte superior.
7. Tomar nota del volumen total de la solución diluida de miel utilizada.

8. Calcular la cantidad de agua que es necesario añadir para que, al final de la titulación, el volumen total de los reactivos sea de 35 cm₃, para ello, restar 25cm₃ la titulación preliminar.
9. Verter con una pipeta 5 cm₃ de la solución A en un matraz de 250 cm₃, y añadir 5 cm₃ de solución B.
10. Anadir (25-x) cm₃ de agua destilada, un poco de pómez en polvo u otro regulador de ebullición y, de una bureta, todo el volumen, menos 1,5 cm₃ de solución diluida de miel determinada en la titulación preliminar.
11. Calentar la mezcla fría sobre una tela metálica, hasta ebullición moderada durante 2 minutos. Anadir 1,0 cm₃ de solución de azul de metileno al 0,2% sin interrumpir la ebullición y completar la titulación, sin que el tiempo total de ebullición pase de 3 minutos, con pequeñas adiciones repetidas de solución diluida de miel, hasta que el indicador pierda el color.
12. Tomar nota del volumen total de solución diluida de miel. La diferencia entre titulaciones duplicadas no deberá ser superior a 0,1 cm₃ (83)

Cálculos:

$$C = \frac{2}{P1} \times \frac{1000}{Y1}$$

Siendo:

C = g de azúcar invertido por 100g de miel

P1 = peso (g) de la muestra de miel utilizada

Y1 = volumen (cm₃) de solución diluida de miel consumida en la titulación.

**DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN FRUCTOSA-GLUCOSA NTE INEN 1
633 (29)**

Principio

El yoduro (I-) se emplea como reductor, el yodo liberado en la reacción se valora generalmente en medio ligeramente ácido o neutro con solución valorada de un reductor como el tiosulfato de sodio penta-hidratado o Arseniato de Sodio.

Procedimiento

1. Pesar 1 g de miel, pasar a un balón volumétrico de 250 cm³. Se diluye con 150 cm³ de agua destilada y se agita completando con agua destilada hasta completar la marca.
2. Se transfiere con una pipeta 50 cm³ de esta solución de miel, a un matraz de 250 cm³ y se añade 40 cm³ de la solución de yodo y 25 cm³ de la solución de hidróxido de sodio. Se tapa el frasco, se agita y se guarda en la oscuridad durante 20 minutos.
3. Se acidifica agregando 5 cm³ de ácido sulfúrico y se titula rápidamente el exceso de yodo con la solución de tiosulfato de sodio.
4. Se repite el proceso usando un blanco preparado, empleando en vez de solución de miel 50 cm³ de agua destilada. (83)

Cálculos:

La concentración de glucosa se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$G = (b - s) \times 0,004502$$

Siendo

G = glucosa, expresada en porcentaje en masa

b = volumen de la solución de tiosulfato de sodio, usado en la titulación en blanco, en cm³

s = volumen de la solución de tiosulfato de sodio, empleado en la titulación de las muestras, en cm³.

La concentración de fructosa se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$F = A - G$$

Siendo

F = Fructosa, expresada en porcentaje en masa

A = azúcares reductores totales, expresados en porcentaje en masa

G = glucosa expresada en porcentaje en masa

La relación fructosa – glucosa se calcula así:

$$R = \frac{F}{G}$$

Siendo:

R = relación fructosa –glucosa

F = Fructosa, expresada en porcentaje en masa

G = glucosa expresada en porcentaje en masa

2.3.5.4ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

DETERMINACIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS RECuento EN PLACA PETRIFILM.

- Preparar la muestra de alimento y homogenizar.
- Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual que contenga agua de peptona al 0.1% (diluyente de sal peptonada)
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.
- Coloque la Placa PetrifilmMR para aerobios mesófilos en una superficie plana y nivelada.
- Levante la lámina semitransparente superior.
- Con la pipeta perpendicular a la Placa PetrifilmMR coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.
- Con el lado bordeado hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.
- Incubar por 48 horas la primera lectura a las 24 horas.

DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES RECuento EN PLACA PETRIFILM.

- Preparar la muestra de alimento y homogenizar.

- Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual que contenga agua de peptona al 0.1% (diluyente de sal peptonada)
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.
- Coloque la Placa PetrifilmMR para coliformes en una superficie plana y nivelada.
- Levante la lámina semitransparente superior.
- Con la pipeta perpendicular a la Placa PetrifilmMR coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.
- Con el lado bordeado hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.
- Incubar por 48 horas la primera lectura a las 24 horas.

DETERMINACIÓN DE HONGOS Y LEVADURAS RECUENTO EN PETRIFILM (3M).

- Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor estéril adecuado como frasco de dilución o cualquier otro contenedor estéril.
- Preparar, mezclar u homogeneizar la muestra según el procedimiento habitual.
- Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual que contenga agua de peptona al 0.1% (diluyente de sal peptonada)
- Colocar la placa petrifilm para hongos y levaduras en una superficie plana. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa petrifilm, colocar 1 mL de la muestra en el centro del film inferior.
- Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire. No dejarlo caer.
- Colocar el aplicador para alta sensibilidad en el film superior sobre el inóculo. Distribuir la muestra ejerciendo una ligera presión sobre el mango del aplicador. No girar ni deslizar el aplicador. Levantar el aplicador. Esperar de 2 a 5 minutos a que solidifique el gel.

- Incubar las placas caras arriba en pilas de hasta 10 placas. El tiempo de incubación y temperatura establecidos 37 ± 1 °C a 24 horas.
- Las placas petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada.

2.3.6 VIDA ÚTIL METODOCONDICIONES ACELERADA. REFRIGERACION Y NORMAL.

Principio

La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. Este período depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Se determina mediante pruebas en tiempo real y aceleradas, bajo las siguientes condiciones establecidas por la OMS para estudios en condiciones normales:

I Templada 21°C - 45 % HR

II Subtropical con posible humedad elevada 25°C - 60 % HR

III Caliente / Seca 30°C - 35 % HR3

IV Caliente / Húmeda 30°C - 70 % HR

Deben aplicarse las condiciones de la Zona II, cuando el producto esté destinado a climas templados. Para países situados en Zona III o IV y productos destinados al mercado mundial el ensayo debe realizarse en las condiciones de la Zona IV.

Y para estudios acelerados:

I Templada 40°C - 75%HR - 3 meses

II Subtropical con 40°C - 75%HR - 3 meses posible humedad alta

III Cálida y seca 40°C - 75%HR -6 meses o 50°C - 90%HR - 3 meses

IV Cálida y húmeda 40°C - 75%HR -6 meses o 50°C - 90%HR - 3 meses

HR = Humedad relativa

PROCEDIMIENTO.

- Se tomó tres muestras de miel colocadas en diferentes recipientes.
- Antes de iniciar la vida útil se realiza el primer análisis en tiempo cero.
- Los parámetros a evaluar son: pH, acidez. Grados Brix y microbiológico de hongos y levaduras
- A la primera muestras de la somete a condiciones normales (humedad relativade 58% y temperatura de 19 °C) la segunda muestra se la somete a condiciones de refrigeración (humedad relativa de 33% y una temperatura de 3 °C y la última muestra se la somete a condiciones aceleradas (humedad relativa de 20% y una temperatura de 30 °C)
- De la muestra sometida a condiciones aceleradas realizamos evaluamos los parámetros cada día por el lapso de tres días.
- Y las otras dos muestras las evaluamos esporádicamente por el lapso de 15 días.

TABLA No .13 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO DE LA MIEL DE AGAVE.

CONDICIONES	TEMPERATURA	% HUMEDAD RELATIVA
NORMAL	19 °C	58
ACELERADA	30 °C	20
REFRIGERACIÓN	3 °C	33

FUENTE: LILIANA LOPEZ S.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 OBTENCIÓN DEL PRODUCTO A LAS DIFERENTES TEMPERATURAS

La temperatura de concentración del agua miel se seleccionó tomando en cuenta que no provoque degradación de los FOS por reacción de pardeamiento químico, garantizando así la actividad antidiabética, ya que según Watford, M (2002) mientras más se calienta la miel aumenta el tiempo de exposición al calor, aumentando la cantidad HMF influenciado además en la coloración intensa de la miel. En la tabla No. 1 se detalla las temperaturas empleadas y su respectivo indicador.

CUADRO No1. DETALLE DE LAS TEMPERATURAS EMPLEADAS EN LA CONCENTRACIÓN DE LA MIEL DE AGAVE Y SU RESPECTIVO INDICADOR

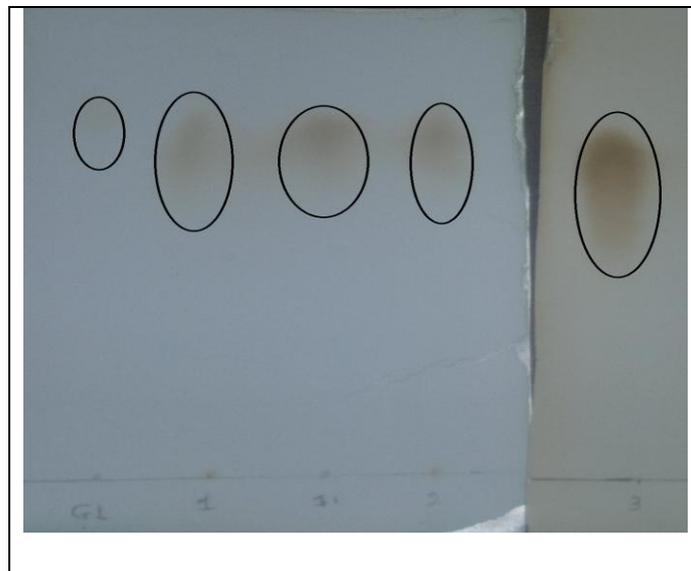
TEMPERATURA	GRADOS BRUX
50	63.5
70	64
90	71

Existe una relación directa entre la temperatura y grados brix, esto concuerda por lo expresado por Camacho G. (2013) “En lo relacionado con la concentración de azúcar es bueno recordar que esta aumenta por el tratamiento térmico debido a la eliminación del agua”, criterio ratificado por la norma ICONTEC 285 que manifiesta que el motivo de la ebullición es evaporar el agua para alcanzar la concentración deseada de azúcares expresada como grados brix.

3.2 IDENTIFICACIÓN DE LOS FOS.

En la fotografía No3 se observa que las tres muestras de miel de agave previamente hidrolizadas revelan la presencia de fructosa con la diferencia que el Tratamiento 3 (90° C) presenta un color más intenso, debido a que este luego de la concentración tenía un color pardo resultado de la formación inicial de la melanoidina.

Por lo tanto se concluye que en los tres tratamientos la presencia de fructosa ratifica la existencia de los FOS. Y esto concuerda con Sánchez (1979) que manifiesta “Tras la concentración térmica del aguamiel, provoca que los fructooligosacáridos que contienen se hidrolicen a moléculas de fructosa, dando como resultado un líquido denso, con alta concentración de fructosa (65 a 75%) y gran poder edulcorante. La afirmación anterior se basa en el hecho de que, por su gran contenido de fructosa, el jarabe de maguey no eleva las concentraciones sanguíneas posprandiales de insulina y glucosa, como sucede con la glucosa y la sacarosa.



FOTOGRAFIA No 4. CROMATOGRAFIA DE CARBOHIDRATOS PREVIA HIDROLISIS

3.3 ACTIVIDAD ANTIDIABETICA

En el cuadro No2. Se presentan los resultados de los promedios de las mediciones de glucosa en los diferentes grupos. Para analizar estos resultados se realizo el análisis estadístico correspondiente.

CUADRO No2. RESULTADOS DE LOS PROMEDIOS DE LAS MEDICIONES DE GLUCOSA EN LOS DIFERENTES GRUPOS.

	Blanco	C. Positivo	C. Negativo	T° C 50	T° C 70	T° C 90
Código del grupo experimental	G1	G2	G3	G4	G5	G6
Glicemia inicial	97	89	109,5	95	83	118
Glicemia a los 0h30	93	423	468	459	437	354
Glicemia a la 1h00	96	276	415,5	272	279	310
Glicemia a la 1h30	92	175	358	189	187	238
Glicemia a las 2h00	90	115	260,5	130	111	182
Glicemia a las 2h30	85	91	159,5	100	89	134

3.3.1ANÁLISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

Se procedió al análisis estadístico empleando para ello el análisis de varianzas ANOVA un factor con datos agrupados, con el objetivo de encontrar diferencias estadísticas entre los grupos experimentales, el control negativo y el control positivo; posteriormente se realizó la prueba de comparaciones múltiples a un intervalo de confianza del 95% empleando la prueba de Tuckey LSD, lo que permite evaluar que grupos son similares o diferentes estadísticamente con respecto a los tratamientos, se utilizo el programa Estadístico G-STAT Student 2.2 (de licencia libre).

Posteriormente se realizó la curva de tolerancia de los grupos de experimentación con la ayuda de Microsoft Excel 2007 y así poder evaluar si existe o no actividad antidiabética en la miel de Agave (*Agave americana* L.) y si resulta ser igual o no al medicamento de control positivo.

CUADRO No 3. ANOVA UN FACTOR. DATOS AGRUPADOS. GLICEMIA A LOS 30 MINUTOS.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	303553.5000	5	60710.7000	232.8711	0.0002E-7
Dentro de grupos	3128.4625	12	260.7052		
Total (corr.)	306681.9625	17			

CUADRO NO 4.COMPARACIONES MÚLTIPLES TUCKEY LSD 95% DE CONFIANZA A LOS 30 MINUTOS.

	N	Media	Grupos Homogéneos
Blanco	3	95.50	X
T 90	3	354.00	X
Metformina	3	430.50	X
T 70	3	437.00	X
T 50	3	449.00	X
Control	3	468.00	X

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS:

Se realizó la comparación múltiple por ANOVA para ver que grupos de tratamientos son iguales o diferentes ya que este análisis nos indica que hay o no diferencia estadística. Así como lo indica esquemáticamente el cuadro N°4, existen tres grupos que no presentan diferencia estadística por lo que son considerados como grupos homogéneos como es el grupo Control positivo (metformina 0.015mg/Kg), T 50° C y 70° C.

CUADRO No 5. ANOVA UN FACTOR DATOS AGRUPADOS GLICEMIA A LOS 60 MINUTOS.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	157637.1250	5	31527.4250	668.3885	0.0003E-10
Dentro de grupos	566.0317	12	47.1693		
Total (corr.)	158203.1567	17			

CUADRO No 6.COMPARACIONES MÚLTIPLES TUCKEY LSD 95% DE CONFIANZA A LOS 60 MINUTOS.

	N	Media	Grupos Homogéneos
Blanco	3	97.50	X
T 50	3	272.00	X
T 70	3	279.00	X
Metformina	3	282.50	X
T 90	3	310.00	X
Control	3	415.50	X

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS:

Se realizó la comparación múltiple por ANOVA para ver que grupos de tratamientos son iguales o diferentes ya que este análisis nos indica que hay o no diferencia estadística. Así como lo indica esquemáticamente el cuadro N°4, existen tres grupos que no presentan diferencia estadística por lo que son considerados como grupos homogéneos como es el grupo Control positivo (metformina 0.015mg/Kg), T 50° C y 70° C.

CUADRO No 7. ANOVA UN FACTOR. DATOS AGRUPADOS. GLICEMIA A LOS 90 MINUTOS.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	113025.6250	5	22605.1250	395.0384	0.0007E-9
Dentro de grupos	686.6713	12	57.2226		
Total (corr.)	113712.2963	17			

CUADRO No 8. COMPARACIONES MÚLTIPLES TUCKEY LSD 95% DE CONFIANZA A LOS 90 MINUTOS.

	N	Media	Grupos Homogéneos
Blanco	3	96.00	X
Metformina	3	177.50	X
T 70	3	187.00	X
T 50	3	189.50	X
T 90	3	238.00	X
Control	3	358.00	X

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS:

Se realizó la comparación múltiple por ANOVA para ver que grupos de tratamientos son iguales o diferentes ya que este análisis nos indica que hay o no diferencia estadística. Así como lo indica esquemáticamente el cuadro N°4, existen tres grupos que no presentan diferencia estadística por lo que son considerados como grupos homogéneos como es el grupo Control positivo (metformina 0.015mg/Kg), T 50° C y 70° C.

CUADRO No 9. ANOVA UN FACTOR. DATOS AGRUPADOS. GLICEMIA A LOS 120 MINUTOS.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	58532.1250	5	11706.4250	217.2426	0.0002E-7
Dentro de grupos	646.6371	12	53.8864		
Total (corr.)	59178.7621	17			

CUADRO NO 10. COMPARACIONES MÚLTIPLES TUCKEY LSD 95% DE CONFIANZA A LOS 120 MINUTOS.

	N	Media	Grupos Homogéneos		
Blanco	3	92.50	X		
T 70	3	111.00	X		
Metformina	3	117.50	X	X	
T 50	3	130.00		X	
T 90	3	182.00			X
Control	3	260.50			X

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS:

Se realizó la comparación múltiple por ANOVA para ver que grupos de tratamientos son iguales o diferentes ya que este análisis nos indica que hay o no diferencia estadística. Así como lo indica esquemáticamente el cuadro N°10, existen dos grupos iguales entre ellos siendo el T10 y metformina estadísticamente iguales y homogéneos y el otro grupo estadísticamente iguales entre si son la metformina y T50.

CUADRO NO 11. ANOVA UN FACTOR. DATOS AGRUPADOS. GLICEMIA A LOS 150 MINUTOS.

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	12883.0000	5	2576.6000	114.2601	0.0001E-5
Dentro de grupos	270.6036	12	22.5503		
Total (corr.)	13153.6036	17			

CUADRO No 12.COMPARACIONES MÚLTIPLES TUCKEY LSD 95% DE CONFIANZA A LOS 150 MINUTOS.

	N	Media	Grupos Homogéneos
Blanco	3	87.50	X
T 70	3	89.00	X
Metformina	3	95.00	X
T 50	3	100.00	X
T 90	3	134.00	X
Control	3	159.50	X

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS:

Se realizó la comparación múltiple por ANOVA para ver que grupos de tratamientos son iguales o diferentes ya que este análisis nos indica que hay o no diferencia estadística. Así como lo indica esquemáticamente el cuadro N°4, existen tres grupos que no presentan diferencia estadística por lo que son considerados como grupos homogéneos como es el grupo Control positivo (metformina 0.015mg/Kg), Blanco y 70° C

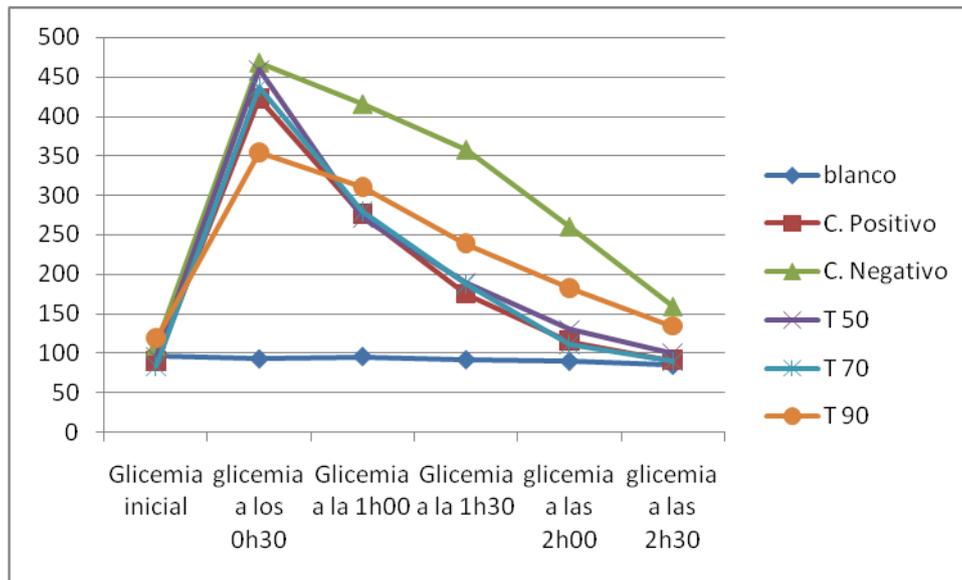


GRAFICO No1. SOBRECARGA DE GLUCOSA Y TRATAMIENTAMIENTOS.

Del análisis estadístico se concluye que la miel que tiene actividad antidiabética es la obtenida por concentración a 70 °C, en efecto luego de la sobrecarga de glucosa producida en los animales de experimentación y la administración de la miel de agave, los niveles de glucosa en dos horas y media regresaron a los valores normales presentando una similitud con el grupo control positivo, que es la metformina, lo que se observa en el grafico No.1

Y estos lo ratifica Garcia. L, (2006) en su investigación que presenta el siguiente resultado “A menor concentración de glucosa en ratas diabéticas que consumieron el jarabe, coincide con el mejoramiento del control glucémico posprandial observado en experimentos con animales y humanos hiperglucémicos, tras el consumo de cantidades pequeñas de fructosa (< 5.0 g/kg de peso).La explicación planteada en estas investigaciones se basa en la habilidad de la fructosa para estimular la actividad de la glucoquinasa, enzima que en el hígado estimula la recaptura de glucosa y la síntesis de glucógeno durante el período posprandial, y cuya actividad es dañada por la hiperglucemia en la diabetes tipo 2. Así, la estimulación de la glucoquinasa por la fructosa, provoca la conversión de glucosa a glucógeno y con ello la captación hepática de más glucosa sanguínea, con lo cual se disminuye la hiperglucemia”.

3.2. ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA MIEL DE AGAVE CON ACTIVIDAD ANTIDIBETICA.

3.2.1 ANÁLISIS SENSORIAL

En el cuadro No.13 se presenta los resultados del análisis sensorial de la miel de agave con actividad antidiabética.

CUADRO No 13. RESULTADOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL DE LA MIEL DE AGAVE CON ACTIVIDAD ANTIDIBETICA.

ASPECTOS SENSORIALES	NORMA NMX-FF-110-SCFI-2008.	MIEL DE AGAVE
COLOR	Propio característico variable de: Cristalino agua, extra a cristalino, cristalino, extra claro ámbar, ámbar claro, ámbar y oscuro	Ámbar- oscuro
OLOR	Propio característico	Propio característico
SABOR	Dulce característico	Dulce característico
CONSISTENCIA	Ligeramente viscoso	Ligeramente viscoso

Las características sensoriales se ajustan a los requisitos de la NORMA NMX-FF-110-SCFI-2008, y a lo descrito por Tapia, V. (2009) que expresa que el sabor de la miel debe ser agradable, distintivo, libre de sabores indeseables. Cabe aclarar que en el Ecuador no existe Norma para este producto.

3.2.2 ANÁLISIS FÍSICO- QUIMICOS

En el cuadro No.14 se presenta los resultados del análisis físico-químico de la miel de agave con actividad antidiabética.

CUADRO No 14. RESULTADOS DEL ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA MIEL DE AGAVE CON ACTIVIDAD ANTIDIBETICA.

PARÁMETRO	RESULTADOS	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA
pH	4.71	4-6 NMX-FF-110-SCFI-2008
Densidad	1.421	Mín.1.39 NTE INEN 1 572 ^a
Color	867.47	
Grados Brix	64	Min. 74NMX-FF-110-SCFI-2008
Humedad	17.4%	20% - 23% NTE INEN 1572 ^a
Cenizas	1.35%	0,05 – 0,5 % NMX-FF-110-SCFI-2008
Solidos insolubles	1.02 %	0,2 - 0,5% NTE INEN 1 572 ^a
Acidez	23.56	Máx. 40 meq/1000g NTE INEN 1 572 ^a
Hidroximetilfurfural	54.6	Máx. 40 mg/kg NMX-FF-110-SCFI-2008
Azúcares reductores totales	73.80 %	Mín. 90% NMX-FF-110-SCFI-2008
Sacarosa	5.377 %	Máx. 4%. NMX-FF-110-SCFI-2008
Glucosa	0.028 %	Máx. 15% NMX-FF-110-SCFI-2008
Fructosa	73.77 %	Mín. 80% NMX-FF-110-SCFI-2008

a: para miel de abeja

En el estudio físico- químico se analizaron varios parámetros, de estos pH y Glucosa se encuentran dentro de las especificaciones de la Norma NMX-FF-110-SCFI-2008; la densidad, la humedad y acidez en tanto se ajustan a los requisitos NTE INEN 1 572 para miel de abeja, confirmando lo que indica Ranken M.(1998), que la variación de la densidad se debe al porcentaje de humedad que presenta la miel, (20% de humedad, equivale a una densidad de 1,402g/ml).

Los datos de sólidos insolubles y ceniza superan los límites establecido en la Norma NTE INEN 1 572 y NMX-FF-110-SCFI-2008, respectivamente; esto se debe a diferentes factores como: la toma inadecuada de la materia prima que integra partículas de la fibra y factores de contaminación del ambiente como polvo, respectivamente.

Los resultados de fructosa, azúcares totales y grados brix no se ajustan al mínimo establecido por la Norma NMX-FF-110-SCFI-2008, en tanto el porcentaje de sacarosa se encuentra sobre las especificaciones. Esto se explica porque la composición química de los vegetales depende de factores interno y externo como: variedad, locación de cultivo, condiciones climáticas, época y forma de recolección parte del vegetal utilizado para la elaboración de la miel, proceso de elaboración, etc. Como lo confirma Marino F. (1961) que obtuvo jarabe de fructosa por medio de hidrólisis térmica utilizando hojas del agave tequilero, teniendo como resultado un jarabe con una concentración de fructosa mayor al 90%.

Respecto al color la miel obtenida presenta un color ámbar oscuro agradable a la vista, cuantificado por espectrofotometría su valor es de 867.47, al relacionarlo con valor INCUMSA del azúcar de mesa es muy elevado ya que el azúcar es blanca (60-240 unidades) y no se encuentra en bibliografía requisitos para la miel de agave ni para la de abeja; sin embargo Montenegro, S. (2002), “indica que el color oscuro no significa que sea de inferior calidad. Por el contrario, se sabe que cuanto más oscura es la miel, más rica es en fosfato de calcio, en hierro, vitaminas B y C”.

La concentración de HMF se encuentra fuera de los límites establecidos Norma NMX-FF-110-SCFI-2008 esto se correlaciona con el color que presenta al miel, y ratifica lo expuesto por Hadorn que se admite un rango de 40mg.Kg - 80mg/Kg. Concordando con

lo investigado por Schade et al., (1958) sobre que la tasa de formación de HMF está relacionada directamente con la humedad y el contenido inicial del mismo en la miel. También la acidez ejerce un efecto positivo en su formación, como se ha comprobado en mieles suizas calentadas con una baja tasa de HMF, debido a su alto pH (4,5- 5,0) según reporta Hardon et al., (1962)

3.3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO No 15. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MIEL DE AGAVE CON ACTIVIDAD ANTIDIBÉTICA.

PARAMETROS	RESULTADOS	VALORES NORMALES NMX-FF- 110-SCFI-2008
E-coli	Negativo	Negativo
Aerobios Mesófilos	< 10 UFC/g	
Coliformes	Ausentes	Ausentes
Hongos y levaduras	<10 UFC/g	< 10 UFC/g

Los resultados del análisis microbiológico de la miel de agave se encuentran dentro de las especificaciones de la norma NMX-FF-110-SCFI-2008, lo que nos indica que la miel durante la elaboración y almacenamiento no se evidenció la presencia de microorganismos patógenos esto demuestra que la temperatura y el tiempo de tratamiento térmico son óptimos y además las condiciones en que se trabajaron fueron con las medidas higiénicas necesarias establecida en la BPHY BPM.

3.3VIDA UTIL

TABLA No.16 RESULTADOS DE LA VIDA UTIL DE LA MIEL DE AGAVE CON ACTIVIDAD ANTIDIABETICA

En el cuadro No.16 se presenta los resultados de la vida útil de la miel de agave con actividad antidiabética realizada en tres condiciones: aceleradas, refrigeración y al ambiente según lo estable la OMS.

CONDICIONES NORMALES						
PARAMETROS/DIAS	0	1	4	8	10	15
pH	4.705	4,715	4,76	4,735	4,74	4,74
Acidez	23,6	25,3	25,6	24,6	24,3	23,9
Grados Brix	64	64,1	64	64	64,1	64
CONDICIONES ACELERADAS						
PARAMETROS/DIAS	0	24	48			
pH	4,7	4,7	4,6			
Acidez	23,6	22,9	25,9			
Grados Brix	64	64,1	65			
CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN						
PARAMETROS/DIAS	0	1	4	8	10	15
pH	4,7	4,7	4,8	4,8	4,8	4,8
Acidez	23,6	24,3	24,6	24,9	24,8	24,8
Grados Brix	64	64	64,1	63,9	64	64,1

Los parámetros que se utilizaron para controlar las variaciones en las diferentes condiciones fueron: pH, acidez y grados Brix. En los tres ambientes hasta los 15 días los parámetros se mantienen estables. El tiempo de conservación a temperatura ambiente es el que refleja más la realidad, debido a que es la temperatura de almacenamiento utilizada en la comercialización y por el consumidor.

Resultados también obtenidos en las investigaciones de Rincón (1978) “determinó el tiempo de vida útil almacenando a temperaturas de 4 °C, temperatura ambiente y 37 °C por espacio de tres meses, haciendo seguimiento de los parámetros físico químicos, sensoriales y microbiológicos, llegando a la conclusión de que el miel se conserva mejor a 4°C” y Bautista N. (2006), que determino la vida útil en similares condiciones por un

tiempo de 60 días llegando a la misma conclusión “La temperatura en el que mejor se conserva es a 4°C, es la temperatura de refrigeración.

El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos en la determinación de la vida útil se encuentra en el anexo 12 y ratifican lo expuesto anteriormente y dándonos como resultado 348 días de vida útil para condiciones ambientales y 198 para condiciones aceleradas.

3.4 ETIQUETADO

El etiquetado se realizó en base a la norma NTE INEN 1334 PARTE 1.



CAPÍTULO IV

4.CONCLUSIONES

1. La recolección, purificación y concentración del agua miel se realizó en la propiedad del Sr Catalino Masaquiza, localizada en la comuna El Rosario-Manzanapamba del cantón Salasaca, provincia de Tungurahua, por filtración y pasteurización LTLT y evaporación en rotavapor a tres temperaturas (50° C, 70 ,y 90)y 435rpm, respectivamente.
2. Se estableció mediante pruebas in vivo en ratones albinos (*Mus musculus*) que la miel de agave obtenida a 70° C tiene actividad antidiabética.
3. El resultado del análisis sensorial, físico, químico y microbiológico de la miel de agave que presentó actividad antidiabética, se ajusta a los requisitos de la Norma NMX-FF-110-SCFI-2008, esto demuestra que la temperatura y el tiempo de la concentración son óptimos y además las condiciones de elaboración cumplen con las BPM Y BPH, garantizando la calidad e inocuidad del producto.
4. Se estableció el rotulado de la miel de agave de acuerdo a las NTE INE 13341 ,1,
5. Se determinó que la vida útil de la miel de agave en las tres condiciones es de 15 días, tiempo en el que permanecen inalterables sus características sensoriales, físicas, químicas y microbiológicas, con la excepción de que en condiciones aceleradas la consistencia y el color, se vuelve líquida e intensifica respectivamente.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

- 1 Realizar pruebas para comprobar otras actividades biológicas que reporta la bibliografía de este producto como: la Hipercolesterolemia, evita estreñimiento, evita el cáncer de colon, reduce úlceras, colitis, ayuda al sistema inmune entre otras.
- 2 Determinar la calidad de la proteína presente en la miel de agave.
- 3 Elaborar productos Nutracéutico para pacientes diabéticos, como endulzante de galletas, jugos, etc.
- 4 Realizar análisis de vida útil por un lapso mayor de tiempo, para garantizar la estabilidad de la miel.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Se elaboró, realizó el control de calidad y se evaluó la actividad antidiabética de la miel agave (*Agave americana* L.), en la Provincia de Chimborazo, Cantón Riobamba.

Elaborada previa recolección, purificación; filtrando y pasteurizando (LTL) el aguamiel, se evaporó el aguamiel en rota vapor a 250rpm a tres temperaturas (50° C, 70° C, 90° C), se comprobó la actividad antidiabética *in vivo* en 12 ratones (*Mus musculus*) en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia previa inducción de hiperglucemia mediante la sobrecarga de glucosa, el tratamiento consistió en administrar metformina al control positivo y la miel de agave a los tratamientos (50° C, 70° C, 90° C), seguido se realizó el análisis sensorial, físico, químico y microbiológico, en base a las Normas NTE INEN No 1597 y NMX-FF No110-SCFI-2008.

Finalmente se realizó la determinación de la vida útil en tres condiciones Aceleradas, al Ambiente y en Refrigeración con todos los resultados obtenidos y en base a la NTE INEN No 1334 PARTE 1 se formuló el rotulado de la miel de agave.

La miel obtenida presentó color ámbar oscuro, olor y sabor característicos, pH 4.71, densidad 1.421 g/ml, color 867.47, Grado Brix 64, humedad 17.4%, cenizas 1.35 %, sólidos insolubles 1,02%, acidez 23.56 meq/1000g, HMF 54.6 mg/Kg, Azúcares Totales 73.80%, Sacarosa 5.337% Glucosa 0.028%, Fructosa 73.77%. Además no contiene microorganismos patógenos.

Se concluye que la miel de agave (*Agave americana* L.) obtenida a 70° C presenta actividad antidiabética, comparable a la del control positivo (metformina) que es un agente antihiperglucemiante, comprobada *in vivo* en ratones albinos (*Mus musculus*),

Se recomienda consumirlo por personas Diabéticas, como edulcorante o acompañante de sus comidas ya que el consumo de cantidades pequeñas de fructosa (< 5.0 g/Kg de peso) mejoran el control glucémico posprandial en situaciones de hiperglucemia, debido a que la fructosa estimula la actividad de la glucoquinasa (enzima que en el hígado estimula la recaptura de glucosa y al síntesis de glucógeno durante el periodo posprandial)

SUMMARY

Quality control was performed and the activity anti-diabetic of agave honey was evaluated (*Agave american* L.) in the province of Chimborazo, in the city of Riobamba.

It was performed previous, purification, filtration and pasteurized (LTL) sugared water, was evaporated, the sugared water at 250 rpm rotary at three temperatures (50° C, 70° C, 90° C), the anti-diabetic activity was proved in live in 12 mice, (*Mus musculus*) in the vivarium of Biochemistry and Pharmacy school previous induction of hyperglycemia through glucose overload, the treatment was on managing metformina at positive control and the honey of agave to the treatments (50° C, 70° C, 90° C). Next, the sensorial, physical, chemical, and microbiological analysis was performed based on Norms INEN No 1597 y NMX-FF No110-SCFI-2008.

Finally, the lifetime in three different conditions like accelerated, environment, and cooling were determined, with the result obtained an based on Norms NTE INEN No 1334 PARTE 1 was formulated the label of the honey of agave.

The honey obtained presented a dark amber color, smell, and flavor characteristics, pH 4.71, density 1.421g/ml, color 867.47, grade brix 64, humidity 17.4%, ashes 1.35%, insolubles solids 1.02, acidity 23.56 meq/1000g, HMF 54.6mg/Kg, total sugar 73.80, saccharose 5.3337%, glucose 0.0028%, fructose 73.77. Besides it does not have pathogen microorganisms.

We concluded that the honey of agave that was obtained at 70 °C presents activity anti-diabetic, comparable to the positive control (metformina) which is an agent anti- hyperglycemia, proved in alive mice (*Mus musculus*).

The consume by diabetic people is recommended, it is like a sweetener or companion of food, so the consume of small quantities of fructose (5.0g/Kg of weight) better the glycaemia control in situacion of hyperglycemia, due the fructose stimulates the activity glucokinasa (enzyme that in the liver stimulates the capture of glucose and the synthesis of glycogen during the period postprandially)

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFIA

1. **AMOROSO, A. Y OTROS.,** Insulino Resistencia, Prediabetes, Diabetes y Riesgos Cardiovasculares., 2 ed., Riobamba- Ecuador., IESS., 2007., Pp334
2. **BALKAN, F. Y OTROS.,** Hyperinsulinemia and glucosetolerance in obeseraton food., 1^a ed., Illinois-USA., Editorial Universitaria., 1991., Pp. 40-50.
3. **CAPS, A., Y OTROS.,** Proceso de conservación de alimentos., 2da Edición., Editorial Mundi- Prensa., Madrid- España., Pp. 156.
4. **CUEVA E., Y OTROS.,** Plantas silvestres comestibles del sur del Ecuador., Primera Edición., Quito- Ecuador., Editorial Abya-Yala., 1999., Pp.80
5. **FUENTES, M.,Y OTROS.,** guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón., Primera Edición., Lima – Perú., Editorial Centro Nacional de Productos Biológicos Instituto Nacional de Salud., 2008., Pp 2-31

6. **GONZÁLEZ, R.**, Divulgaciones para el agricultor., Edición Español (spa)., Quito-Ecuador., Editorial: Quito, Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección General de Extensión Agropecuaria., 1965., Pp.28.
7. **HERRERA P, Y OTROS.**, Diabetes mellitus. Clasificación. Epidemiología. Microangiopatía., A. Jara A. (Ed.). Endocrinología., Madrid- España., Editorial Médica Panamericana., 2001., Pp. 457-463.
8. **IBRAZ, A.**, Operaciones unitarias en la ingeniería en alimentos., Ediciones Mundi- prensa., Madrid – España., Editorial Panamericana., 1998., Pp. 156.
9. **Jenkins DJ, Y OTROS.**, Glycolic index of foods a physiological basis for carbohydrates., Segunda Edición., Mexico DF- Mexico., Editorial Am J ClinNutr., 1981., Pp 34 -362
10. **MIRANDA, M.**, Farmacognosia y productos naturales. Primera Edición., Habana – Cuba., Universidad de la Habana., 2006., Pp. 32-44, 56-62
11. **ORDOÑEZ, J Y OTROS.**, Tecnología de los alimentos y procesos., Vol. 1., Madrid – España., Editorial S.A., 2000., Pp. 86-87
12. **R BARRIO Y OTROS.**, Insulinoterapia en la Diabetes tipo 1., Primera Edición., Quito – Ecuador., Editorial S.A., 2003., Pp 34
13. **SALMERÓN J, Y OTROS.**, Dietaryfiber, glycemic load., NIDDM Edición., México D.F.- México., Diabetes Care Editorial., 1997., 20-50- 554.
14. **SÁNCHEZ M.**, Los agaves de México en la industria alimentaria., Primera Edición., México D.F – México., Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo., 1979., Pp 526.

15. **WATFORD, M.**, Small amounts of dietary fructose dramatically increase hepatic glucose uptake through a novel mechanism of glucokinase activation., Primera Edición., Mexico D.F. – Mexico., Editorial Nutrition., 2002., Pp 253-264.
16. **FLORES, L., Y OTROS.**, Revista Fitotecnia Evaluación Físicoquímica del agua miel de tres variedades de Maguey pulquero., Segunda Edición., Monterrey N.L.- México., 1996., Pp 34.
17. **Rendón, L., Mendez, A. y Terrones, L.**, Revistas Fitotecnia Mexicana El jarabe de Henquén., Vol. 30, numero 004., Chapingo, México., 2007., Pp 23.
18. **ECUADOR., INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION.**, Miel de Abejas. Requisitos., NTE INEN 1572:1987., Quito –Ecuador., INEN., 1987. Pp.1- 4.
19. **ECUADOR., INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION.**, Miel de Abejas. Determinación de Cenizas., NTE INEN 1636., Quito –Ecuador., INEN., 1988., Pp.1- 4.
20. **ECUADOR., INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION.**, Miel de Abejas. Determinación de Densidad., NTE INEN 1632., Quito -Ecuador., INEN., 1988., Pp.1- 4.
21. **ECUADOR., INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION.**, Miel de Abejas. Determinación del contenido de Hidroximetilfurfural (HMF)., NTE INEN 1637., Quito -Ecuador., INEN., 1988. Pp.1- 4.
22. **ECUADOR., INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACION.**, Miel de Abejas. Determinación de Azúcares

Reductores Totales Sacarosa y la relación Fructosa – Glucosa., NTE-INEN 1633., Quito -Ecuador., INEN., 1988., Pp.1- 4.

23. **MEXICO., NORMA MEXICANA.,** Alimentos- Jarabe de Agave 100% Especificaciones y Métodos de Prueba., NMX-FF110-SCFI., México D.F -México., NMX-FF., 2008., Pp.1- 18.
24. **BAUTISTA, N.,** Estudio Químico Bromatológico y elaboración del néctar de aguamiel de Agave americana L. (maguey) procedente de Ayacucho., Facultad Farmacia y Bioquímica., E.A.P. de Farmacia y Bioquímica., Universidad Nacional San Marcos., Lima- Perú., TESIS., 2006., Pp 6 -27
25. **BARDALES Y OTROS.,** Estudio de Prefactibilidad para la Instalación de una Planta Productora de Jarabe de Agave., Facultad Ingeniería en Alimentos., Escuela División de Ciencias Biológicas y de la salud., Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad de Iztapalapa., Iztapalapa- Mexico., TESIS., 2008., Pp 8-12.
26. **DÍAZ R.,** Determinación y Comparación del Potencial Nutracéutico del Chaguarmishqui en dos sectores de la Provincia de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba- Ecuador., TESIS., 2008., Pp 35-78
27. **GARCIA L.,** Evaluación de jarabe de maguey mezcalero (*Agave salmiana*) en ratas diabéticas., Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina., Escuela de Ciencias Ambientales., Universidad Autónoma de San Luis Potosí., San Luis Potosí - Colombia., TESIS., 2006., Pp 41 -61
28. **JURADO S Y OTROS.,** Estudio de la cadena agroindustrial de la cabuya en la producción de miel y licor de cabuya., Facultad de Ingeniería

Química y Agroindustrial., Escuela de Agroindustria., Escuela Politécnica Nacional., Quito – Ecuador., TESIS., 2009., Pp. 13-14; 45-79.

29. **ROMERO A.**, Utilización del Agave como edulcorante natural en la elaboración de una bebida hidratante a partir del Suero., Facultad de Ciencias Pecuarias., Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba –Ecuador., TESIS., 2010., Pp 28-32; 51.

30. **SILVA P.** Estudio De La Elaboración Y Comercialización De La Tortilla De Trigo - Maíz Con Dulce De Cabuya, Realizada Por Campesinos De La Provincia Del Cotopaxi., Facultad de Turismo y Preservación Ambiental Hotelería y Gastronomía., Escuela de Gastronomía., Universidad Tecnológica Equinoccial., Quito – Ecuador., TESIS., 2008., Pp 6-7

BILIOGRAFIA DE INTERNET.

31. ACCU CHEK

https://www.accu-chek.es/documents/Manual_Accu-Chek_Aviva.pdf
30/03/2013

32. ARTICULO CIENTÍFICO SOBRE AGAVE AMERICANA.

www.ciencia.net/VerArticulo/Agave-americana
20012/ 07/ 18

34. BIOLOGÍA FLORAL DEL AGAVE” PUEBLA, MÉXICO.

www.catarina.udlap.mx/udla/tales//documentos/lbi/gomezfe
2012/ 07/ 18

**35. CADENA AGROALIMENTARIA DE AGAVE PULQUERO”,
SECRETARIA DE DESARROLLO RURAL DEL ESTADO DE
PUEBLA, MÉXICO.**

<http://148.235.138.14/sisrep/CADENAS%20PRODUCTIVAS/consulta%20dinamica/docs/815148.235.138.1326-07-2007Manual%20produccion%20AGAVE%20PULQUERO.pdf>
2012/ 07/ 18

CARACTERISTICAS DE LA DIABETES ASOCIADOS A LA GLICEMIA

<http://www.misrespuestas.com/que-es-la-glicemia.html>
2012/07/21

37. CATARATA DIABETICA

http://www.iqb.es/d_mellitus/medico/complica/catarata/cat01.htm
2012/07/21

38. CIFRA DE DIABETES SEGÚN LA OMS

<http://www.who.int/features/qa/18/es/index.html>
20120718

39. COMPLICACIONES CARDIVASCULARES DE LA DIABETES

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/coronaryarterydisease.html>
2012/07/21

40. CONTROL DE CALIDAD.

<http://controldealimentos.galeon.com/contenido.htm>
2012/ 07/ 26

**41. CORDAJES DEL GÉNERO AGAVE (FIBRAS DE CABUYA, SISAL,
ETC.)**

<http://www.pucesi.edu.ec/pdf/cabuya.pdf>
20120718

42. CROMATOGRAFIA TLC

<http://quimica-en-biologia-uam-ls.wikispaces.com/file/view/P6-guion.pdf>

2013/05/14

43. DEFINICION DE MIEL SEGÚN EL CODEX

<http://www.mercoopsur.com.ar/apicultura/notas/normadelcodex.htm>

20120725

45. DETERMIANCION DEL RF

<http://quimica-en-biologia-uam-ls.wikispaces.com/file/view/P6-guion.pdf>

2013/05/26

46. DIABETES

[http://sphotos-c.ak.fbcdn.net/hphotos-ak-](http://sphotos-c.ak.fbcdn.net/hphotos-ak-ash4/302697_10151237531544770_1380000614_n.jpg)

[ash4/302697_10151237531544770_1380000614_n.jpg](http://sphotos-c.ak.fbcdn.net/hphotos-ak-ash4/302697_10151237531544770_1380000614_n.jpg)

30/05/2013

47. DIABETES DE TIPO 1

<http://www.ontv-venezuela.org/articulo.php?articulo=176&barra>

2012-07-24

48. DIABETES DE TIPO 2

<http://www.ontv-venezuela.org/articulo.php?articulo=176&barra>

20120724

49. DIABETES MELLITUS. Historia de la Diabetes Mellitus

<http://www.endocrinologist.com/Espanol/diabetes.htm>

20120721

50. EL AGAVE AMERICANA (AGAVE AMERICANA L.) USO ALIMENTARIO EN EL PERU.

<http://www.chlorischile.cl/agavepardo/Agavetexto.htm#nota1>

20120718

51. ELABORACION DE LA MIEL DE AGAVE.

<http://www.brandingsquad.com/tierraambar/?p=100&lang=es>

20120726

52. ESPECTOFOTOMETRIA /CROMATOGRAFIA

<http://www.slideshare.net/park666/la-espectrofotometra>

2013/04/08

53. FIBRA DIETETICA

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8661/2Introduccion.pdf?sequence=6>

2013/05/28

54. FIBRA DIETÉTICA

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8661/2Introduccion.pdf?sequence=6>

2013/05/12

55. FOS CARACTERISITCAS Y FUNCIONES

http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2007/09/15/113961.php

2013/ 05/12

56. FOS.

<http://www.innatia.com/s/c-alimentacion-diabeticos/a-miel-de-agave-endulzante.ht>

2013/04/16

57. ÍNDICE GLICEMICO

http://www.proslow.cl/data/archivos/archivo_2012_07_02_23_11_53_95322900.pdf

2013/05/29

58. INDICADORES BASICOS DE SALUD MSP.

www.plan.org.ec/index.php?option=com_docman&task=doc...

2012/07/21

59. INSULINA ACCIONES FARMACOLOGICAS.

http://med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/temas_farma/volumen2/cap25_insuli.pdf

2012/07/04

60. INSULINA ESTRUCTURA.

<http://www.med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/pdf/hpancreas.pdf>

2012/07/22

61. INSULINOTERAPIA EN LA DIABETES TIPO 1 EN LA EDAD PEDIÁTRICA.

http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/06_insulinoterapia_en_la_diabetes_tipo_1_en_la_edad_pediatica.pdf

2012/07/23

62. LA MIEL DE CABUYA UN MILAGRO PARA LA SALUD

<file:///G:/miel%20de%20agave/miel%20de%20cabuyo%20latacunga.htm>

2012/07/18

63. MEDICINA NATURAL PARA LA DIABETES

<http://www.actosdeamor.com/diabet.htm>

2013/03/30

64. METFORMINA

<http://www.mgyf.org/medicinageneral/abril2000/350-357.pdf>

2013/05/27

65. METFORMINA DOSIS Y FARMACOCINÉTICA

<http://www.mgyf.org/medicinageneral/abril2000/350-357.pdf>

2013/05/27

66. MICROBIOLOGÍA

[http://www.analizacalidad.com/docftp/fi189arm2004-4\(2\).pdf](http://www.analizacalidad.com/docftp/fi189arm2004-4(2).pdf)

2013/05/12

67. MICROBIOLÓGICA ALIMENTARIA:

http://www.ecured.cu/index.php/Microbiolog%C3%ADa_de_los_alimentos

2013/05/13

68. MIEL DE AGAVE

http://sites.amarillasinternet.com/mieldeagave/miel_de_agave_.html

2013/05/02

69. MIEL DE AGAVE

<http://sites.amarillasinternet.com/mieldeagave/caracteristicas.html>

2013/05/16

70. MIEL DE AGAVE.

<http://www.innatia.com/s/c-alimentacion-diabeticos/a-miel-de-agave-endulzante.html>

2013/05/14

71. PERSPECTIVA.CIENCIA Y SALUD

www.gaceta.udg.mx/Hemeroteca/paginas/366/366-11.pdf

2012/ 07/ 20

72. PROYECTA MICHOACÁN EXPORTAR MIEL DE AGAVE A EU Y EUROPA

<http://www.cambiodemichoacan.com.mx/vernota.php?id=83197>

20120719

73. PUJILÍ TIERRA DE DELICIAS.

<http://opipentretenimientos.blogspot.com/2010/09/pujili-tierra-de-delicias.html>

20120718

74. PUNCIÓN LABORATORY ANIMAL

<http://www.secal.es/ficheros/ficheros/29/Safena.pdf>

2013/ 05/ 12

75. TECNICAS DE ANALISIS BROMATOLOGICO

[http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=tecnica%20de%20 analisis%20bromatologico&source=web&cd=1&ved=0CFQQFjAA&url=http%3A%2F%2F campus.instituto.almagro.ort.edu.ar%2Fbiotecnologia-introduccion-](http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=tecnica%20de%20 analisis%20bromatologico&source=web&cd=1&ved=0CFQQFjAA&url=http%3A%2F%2F campus.instituto.almagro.ort.edu.ar%2Fbiotecnologia-introduccion-bromatologia%2Fdescargar%2Frepositorioarchivo%2F43244%2F&ei=C6EVUKjaD6jL0QHPi4HYCA&usg=AFQjCNF02hq68BVETIqqrANVuAx-TCjBeg&cad=rja)

[bromatologia%2Fdescargar%2Frepositorioarchivo%2F43244%2F&ei=C6EVUKjaD6jL0QHPi4HYCA&usg=AFQjCNF02hq68BVETIqqrANVuAx-TCjBeg&cad=rja](http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=tecnica%20de%20 analisis%20bromatologico&source=web&cd=1&ved=0CFQQFjAA&url=http%3A%2F%2F campus.instituto.almagro.ort.edu.ar%2Fbiotecnologia-introduccion-bromatologia%2Fdescargar%2Frepositorioarchivo%2F43244%2F&ei=C6EVUKjaD6jL0QHPi4HYCA&usg=AFQjCNF02hq68BVETIqqrANVuAx-TCjBeg&cad=rja)

2012/07/29

76. TECNICAS DE BROMATOLOGIA

www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/bromato/guialab.pdf

2012/07/29

77. TRATAMIENTO PARA DIABTES II

<http://www.vidaysalud.com/su-salud-de-a-a-z/diabetes-mellitus-tipo-2/>

2012/07/24

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No 1. MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA NO 5. EXTRACCIÓN DEL AGUA MIEL (MATERIA PRIMA)

ANEXO No 2. ADMINISTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE GLUCOSA

- Se administró solución acuosa de glucosa al 50% por vía oral a los ratones del grupo control negativo con una dosis de 3g/Kg. media hora antes de aplicar el tratamiento con la ayuda de un canula que llega al tracto digestivo.

- Valores normales de Glucosa: Suero o plasma de ratones (ayunas): 60 -90 mg/dl (según Charles River, 1984).

ANEXO No 3. OBTENCIÓN DE SANGRE DE LA VENA SAFENA

Antes de obtener la sangre de la vena safena, se debe realizar una pequeña depilación en el área de la entre pierna del ratón de las dos piernas, con la ayuda de una crema depiladora para evitar cortes en esta área y se los debe depilar uno o dos días antes del realizar el tratamiento.

Inmovilizar al ratón, por la técnica de manipulación con la mano izquierda, ubicar la vena safena (parte interna de la pata posterior), desinfectar la zona con alcohol antiséptico (no en abundancia), y realizar una punción segura, descartar la primera gota de sangre y colocar la siguiente en la tira reactiva. Limpiar la zona lacerada con alcohol antiséptico y practicar hemostasia por presión con apósito. Esperar que el animal se recupere totalmente para regresarlo a su jaula.

ANEXO No 4. DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE

La glucosa en la sangre se mide mediante una corriente eléctrica que se produce al mezclar la muestra de sangre con el reactivo que se encuentra en la tira reactiva, dicho reactivo contiene a la enzima GLUCOSA OXIDASA inmovilizada en la tira, sustancias mediadoras, que se comportan como agentes oxidantes ante la Glucosa (metales con estados de oxidación variable), y un transductor que permite cambiar la bioseñal en una señal electrónica. La corriente eléctrica cambia con la cantidad de glucosa en la muestra de sangre. El glucómetro Roche Accu-check Active su principio de reacción es la determinación fotométrica de la glucosa mediante tinción de la glucosa con oxido reductasas. (Sinónimo: reacción mediante glucosa deshidrogenasa pirrolquinolinaquinina o PQQ) el resultado en mg/dl o mmol/L. (84)

ANEXO No 5. CONCENTRACIÓN DEL AGUAMIEL



FOTOGRAFIA No6. CONCENTRACIÓN DEL AGUAMIEL

ANEXO NO 6. GRUPOS DE RATONES PARA LA COMPROBACION DE LA ACTIVIDAD ANTIDIABETICA.



FOTOGRAFIA No 7. GRUPOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIABETICA.

ANEXO No 7. ADMINISTRACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS



FOTOGRAFIA No8. ADMINISTRACIÓN VIA ORAL DE LOS TRATAMIENTOS

ANEXO No 8. TOMA DE SANGRE Y MEDICIÓN DE GLUCOSA



FOTOGRAFIA No.9 MEDIDOR DE GLUCEMIA ACCU-CHEK ACTIVE ROCHE



FOTOGRAFIA No. 10 TOMA DE LA MUESTRA DE SANGRE



FOTOGRAFIA No11. MEDICIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCOSA

ANEXO No 9. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO



FOTOGRAFIA No12. MEDICIÓN DEL pH.



FOTOGRAFIA No.13 DETERMINACIÓN DE GRADOS BRIX Y IR



FOTOGRAFÍA No14. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

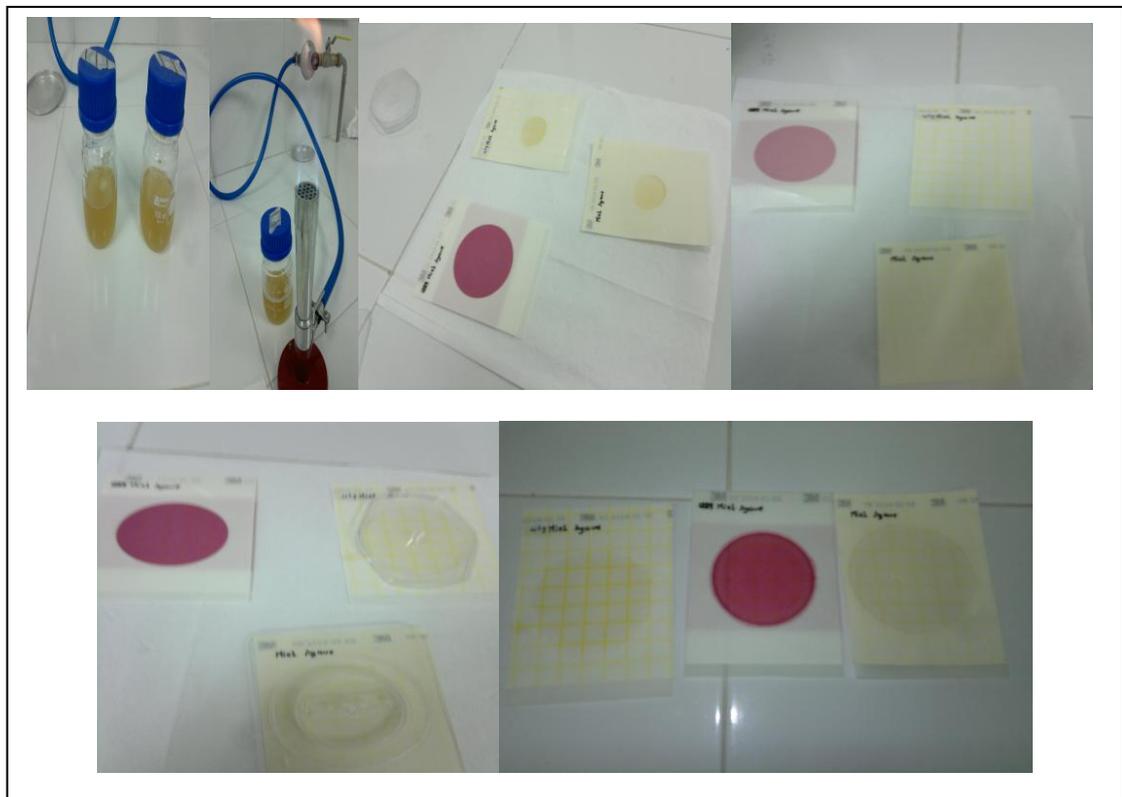


FOTOGRAFIA No15. DETERMINACIÓN DE SOLIDOS INSOLUBLES



FOTOGRAFIA No. 16 DETERMINACION DE AZUCARES TOTALES, SACAROSA

ANEXO No 10. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. AL INICIO DEL ANÁLISIS DE VIDA ÚTIL.



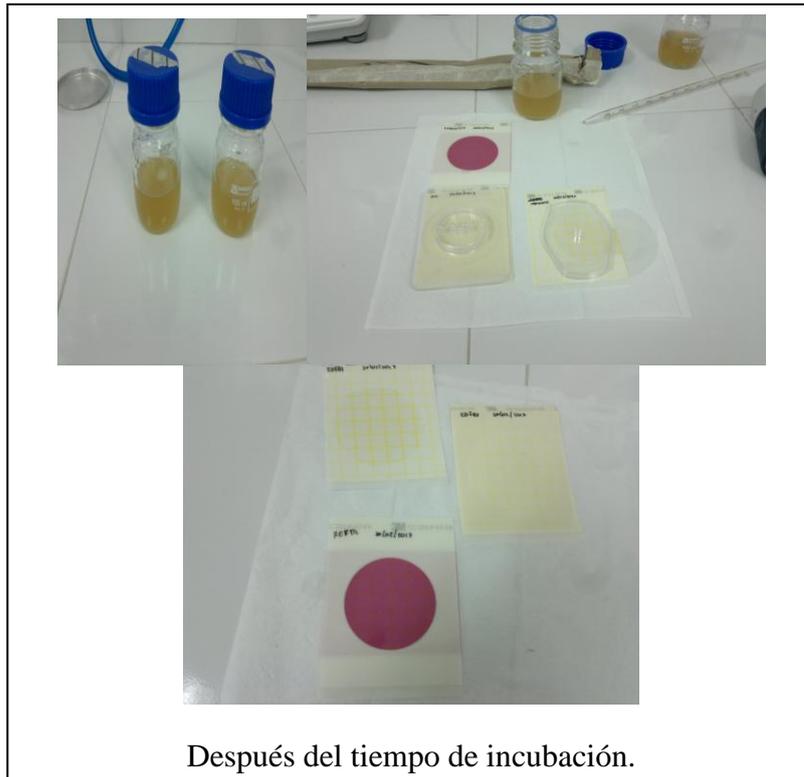
FOTOGRAFIA No. 17. PLACAS PETRIFILM DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO AL INICIO DE LA VIDA ÚTIL

DESPUES DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN



FOTOGRAFIA No.18 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANEXO No11. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. AL FINAL DEL ANÁLISIS DE VIDA UTIL.



Después del tiempo de incubación.

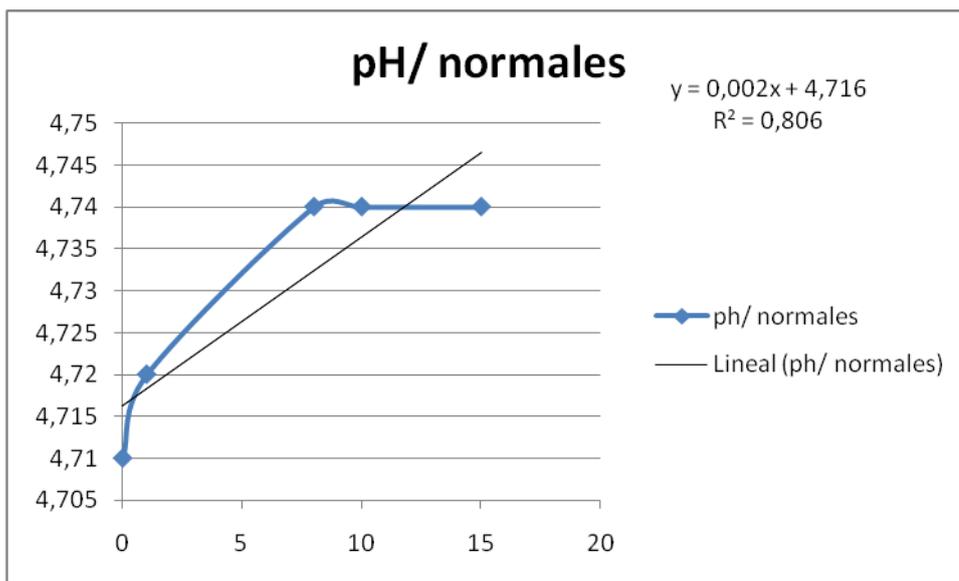
FOTOGRAFIA No.19 PLACAS PETRIFILM DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO AL FINAL DE LA VIDA UTIL Y EL RESULTADO FINAL.

ANEXO No 12 ESTADISTICO DE VIDA UTIL

CUADRO No17. DATOS DE VIDA UTIL EN CONDICIONES NORMALES

TIEMPO	pH/ normales
0	4,71
1	4,72
8	4,74
10	4,74
15	4,74

GRAFICO No.2 CURVA DE pH VS CONDICIONES NORMALES.



$$y = 0,002x + 4,716$$

$$x = \frac{y - 4,716}{0,002}$$

$$x = 358 \text{ dias}$$

En donde:

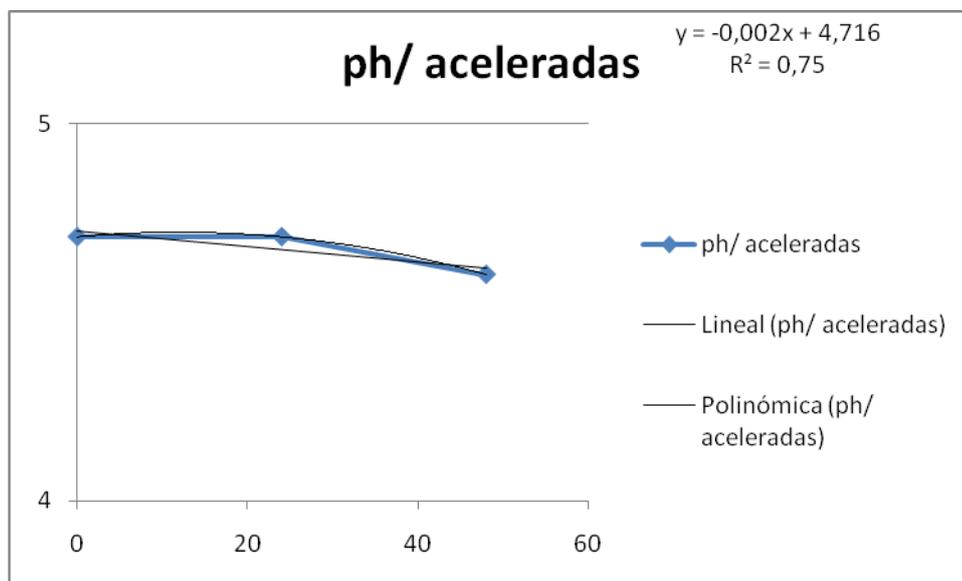
x= dias de vida util calculado en condiciones normales

y= valor de pH normal de la miel (4)

CUADRO No18. DATOS DE VIDA UTIL EN CONDICIONES ACELERADAS

Horas	pH/ aceleradas
0	4,7
24	4,7
48	4,6

GRAFICO No3. CURVA DE pH VS CONDICIONES ACELERADAS.



$$y = -0,002X + 4,716$$

$$(-0,002x + 4,716 = y) (-1)$$

$$x = y + 4,716 / 0,002$$

$$x = 4753 \text{ horas} / 198 \text{ días}$$

En donde:

x= días de vida util calculado en condicones aceleradas

y= valor de pH de la miel (4,79)

ANEXO No 13. NORMA NTE INEN 1572. REQUISITOS DE MIL DE ABEJA

CDU: 638.16		AL 02.04-405
Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	MIEL DE ABEJAS. REQUISITOS.	INEN 1 572 1988-04
1. OBJETO		
<p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la miel de abejas para consumo humano, directo y para usos industriales.</p>		
2. ALCANCE		
<p>2.1 Esta norma no comprende ningún tipo de miel que no sea elaborada directamente por las abejas.</p>		
3. TERMINOLOGIA		
<p>3.1 Miel de abejas. Sustancia dulce producida por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas que dichos insectos recogen, transforman, combinan con sustancias específicas y almacenan después en panales.</p>		
<p>3.2 Miel cristalizada. Es la miel de abejas donde sus azúcares se han cristalizado.</p>		
4. CLASIFICACION		
<p>4.1 Según su origen, la miel de abejas se clasifica en:</p>		
<p>4.1.1 Miel de flores. Es la que procede principalmente de los néctares de las flores.</p>		
<p>4.1.1.1 Miel monoflora procederá principalmente de los néctares de un tipo de flor.</p>		
<p>4.1.1.2 Miel poliflora procederá principalmente de los néctares de diversos tipos de flores.</p>		
<p>4.1.2 Miel de mielada. Es la miel que procede principalmente de exudaciones de las partes vivas de plantas o presentes en ellas. Su color varía de pardo muy claro o verdoso a casi negro.</p>		
<p>4.2 La miel de abejas por su utilización se clasifica según la Tabla 1 en</p>		
<p>4.2.1 Clase / miel de abejas para consumo humano directo.</p>		
<p>4.2.2 Clase // miel de abejas para usos industriales.</p>		
5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS		
<p>5.1 En la extracción de la miel de abejas se permitirán las siguientes operaciones:</p>		
<p>5.1.1 Centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.</p>		
<i>(Continúa)</i>		

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

5.1.2 La licuefacción de la miel cristalizada se realizará con el uso de calor moderado a baño maría (la temperatura de la miel no deberá superar los 40°C), hasta que quede libre de cristales visibles.

5.1.3 La filtración a través de tamices para eliminar sólidos en suspensión.

5.2 La miel de abejas no debe haber comenzado a fermentar ni ser efervescente.

5.3 La miel de abejas no debe contener mohos, insectos, huevos, larvas u otras impurezas, ni sustancias extrañas a su composición.

5.4 No debe presentar sabores, olores o colores extraños.

5.5 Será prohibido el uso de aditivos tales como: colorantes, acidificantes, aromatizantes, espesantes, sustancias conservadoras, edulcorantes naturales o sintéticos, etc.

6. REQUISITOS

6.1 La miel de abejas ensayada de acuerdo a las normas correspondientes debe cumplir con los requisitos establecidos en la Tabla 1.

TABLA 1. Especificaciones de la miel de abejas.

REQUISITOS	UNIDADES	CLASE I		CLASE II		METODOS DE ENSAYO
		Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	
Densidad relativa a 27°C		1,39	-	1,37	-	INEN 1 632
Azúcares reductores totales	% en masa	65	-	60	-	INEN 1 633
Sacarosa	% en masa	-	5	-	7	INEN 1 633
Relación fructoso-glucosa	-	1,0	-	1,0	-	INEN 1 633
Humedad	% en masa	-	20	-	23	INEN 1 632
Acidez	meq/1000g	-	40	-	40	INEN 1 634
Sólidos insolubles	% en masa	-	0,2	-	0,5	INEN 1 635
Cenizas	% en masa	-	0,5	-	0,5	INEN 1 636
HMF*	mg/kg	-	40	-	40	INEN 1 637
Número de diastasa**	-	8	-	7	-	INEN 1 638

* En miel de abejas de cítricos se aceptará como máximo 15 µg/kg.

** En miel de abejas de cítricos se aceptará como mínimo 3 unidades.

7. REQUISITOS COMPLEMENTARIOS

7.1 Envase

7.1.1 La miel de abejas debe envasarse en recipientes cuyo material sea resistente a la acción del producto y no altere las características del mismo.

(Continua)

7.1.2 Los envases deben estar perfectamente limpios antes del llenado.

7.1.3 El recipiente debe disponer de cierre hermético y sello, de tal forma que se garantice la inviolabilidad del recipiente y las características del producto.

7.1.4 El espacio libre no debe exceder del 6% del volumen del recipiente.

7.2 Rotulado

7.2.1 En todos los envases debe constar según la Norma 1 334, la siguiente información:

- a) nombre y clase del producto,
- b) marca comercial,
- c) identificación del lote,
- d) razón social de la empresa,
- e) contenido neto en unidades del SI (en volumen),
- f) número de Registro Sanitario,
- g) fecha del tiempo máximo de consumo,
- h) precio de venta al público, (P.V.P.),
- i) país de origen,
- j) Norma Técnica INEN de referencia.

7.2.2 No debe contener leyendas de significado ambiguo ni descripción de características del producto que no puedan comprobarse debidamente.

7.2.3 La comercialización de este producto cumplirá con lo dispuesto en las Regulaciones y Resoluciones dictadas, con sujeción a la Ley de Pesas y Medidas.

8. MUESTREO

8.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo con la Norma INEN 1 631.

(Continua)

APENDICE Z

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

- INEN 1 334 *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Requisitos*
INEN 1 631 *Miel de abejas Muestreo.*
INEN 1 632 *Miel de abejas Determinación de densidad relativa a 27°C y humedad.*
INEN 1 633 *Miel de abejas Determinación de azúcares reductores totales, sacarosa y relación fructosa-glucosa.*
INEN 1 634 *Miel de abejas Determinación de la acidez.*
INEN 1 635 *Miel de abejas Determinación de sólidos insolubles*
INEN 1 636 *Miel de abejas Determinación de cenizas.*
INEN 1 637 *Miel de abejas Determinación del contenido de hidroximetil furfural.*
INEN 1 638 *Miel de abejas Determinación del número de diastasas*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Codex Alimentarius, *Normas del Codex para los azúcares (Incluida miel)*, Volumen 11, FAO y OMS. Roma, 1981.

Norma ICAITI 34097 *Miel de abejas* Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial. Guatemala, 1975.

Norma ICONTEC 1273 *Miel de abejas.* Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Bogotá, 1978.

Norma Cubana 74-07 *Apicultura. Términos y definiciones* Comité Estatal de Normalización, La Habana, 1983.

Norma ITINTEC 209-168 *Miel de abejas Definiciones, clasificación y requisitos* Instituto de Investigaciones Tecnológica Industrial y de Normas Técnicas. Lima, 1980.

Norma Indú 4941 *Indian Standard Specification for Extracted Honey.* Indian Standards Institution. Nueva Delhi, 1975.

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno EB-29 y Av. 6 de Diciembre
Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2)2 601886 al 2 601891 - Fax: (593 2) 2 667816
Dirección General: E-Mail: baqueriza@inen.gov.ec
Área Técnica de Normalización: E-Mail: normalizacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Certificación: E-Mail: certificacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Verificación: E-Mail: verificacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Servicios Tecnológicos: E-Mail: inencat@inen.gov.ec
Regional Guayas: E-Mail: inencuyan@inen.gov.ec
Regional Azuay: E-Mail: inencuanca@inen.gov.ec
Regional Chimborazo: E-Mail: inencibamba@inen.gov.ec
[URI: www.inen.gov.ec](http://www.inen.gov.ec)

**ANEXO No 14. NMX-FF-110-SCFI-2008. ALIMENTOS- JARABE DE AGAVE 100%-
ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA.**

NMX-FF-110-SCFI-2008

**ALIMENTOS- JARABE DE AGAVE 100%- ESPECIFICACIONES
Y MÉTODOS DE PRUEBA**

**FOODS- AGAVE SYRUP 100 % AGAVE - SPECIFICATIONS
AND TEST METHODS**

1.0 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Mexicana establece las especificaciones del producto denominado Jarabe de Agave 100% o Jarabe 100% de Agave destinado a su comercialización en territorio de los Estados Unidos Mexicanos, así como, los métodos de prueba para evaluar la conformidad del producto con la presente Norma.

2.0 REFERENCIAS

La presente Norma Mexicana se complementa con las siguientes Normas Oficiales Mexicanas, y Normas Mexicanas; vigentes o las que las sustituyan:

2.1	NOM-008-SCFI	Sistema General de Unidades de Medida publicada en el DOF el 27 de noviembre de 2002.
2.2	NOM-030-SCFI	Información comercial-Declaración de cantidad en la etiqueta – Especificaciones publicada en el DOF el 6 de noviembre de 2006.
2.3	NOM-051-SCFI	Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados, publicada en el DOF el 24 de enero de 1996.
2.4	NOM-092-SSA1	Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias en placa. publicada en el DOF el 12 de diciembre de 1995.
2.5	NOM-110-SSA1	Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. publicada en el DOF el 16 de octubre de 1995.
2.6	NOM-111-SSA1	Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. publicada en el DOF el 13 de septiembre de 1995.
2.7	NOM-112-SSA1	Determinación de bacterias coliformes. publicada en el DOF el 19 de octubre de 1995.
2.8	NOM-113-SSA1	Determinación de coliformes en placa. publicada en el DOF el 25 de agosto de 1995.
2.9	NOM-114-SSA1	Determinación de la <i>Salmonella</i> publicada en el DOF el 22 de septiembre de 1995.
2.10	NOM-115-SSA1	Determinación del <i>Staphylococcus</i> . publicada en el DOF el 25 de septiembre de 1995.
2.11	NOM-120-SSA1	Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas. publicada en el DOF el 28 de agosto de 1995
2.12	NMX-F-083	Alimentos- Determinación de humedad en productos alimenticios publicada en el DOF el 14 de julio de 1986

2.13	NMX-F-088	Método de prueba para la determinación de microorganismos. publicada en el DOF el 29 de diciembre de 1994
2.14	NMX-F-103-SCFI	Alimentos, frutas y derivados. Determinación de Grados Brix, Método de Prueba. publicada en el DOF el 14 de octubre de 1982.
2.15	NMX-F-208	Determinación de acidez total en Jarabe. publicada en el DOF el 1 de diciembre de 1975
2.16	NMX-F-245	Alimentos - Azúcares e hidrolizados de almidón - pH - Método de prueba. publicada en el DOF el 2 de noviembre de 1982.
2.17	NMX-F-316	Industria azucarera-Determinación de sólidos totales en mieles y miel fina. publicada en el DOF el 17 de enero de 1992.
2.18	NMX-F-607-NORMEX	Alimentos- Determinación de Cenizas en Alimentos – Método de prueba. publicada en el DOF el 3 de mayo de 2002
2.19	NMX-F-619-NORMEX	Alimentos determinación de densidad relativa en bebidas no alcohólicas – Método de Prueba. (Este método se utilizará cuando se quiera medir la densidad) publicada en el DOF el 29 de noviembre de 2006
2.20	NMX-Z-012/1	Muestreo para la inspección de atributos – Parte 1 – Información general y aplicaciones. publicada en el DOF el 28 de octubre de 1987

3.0 DEFINICIONES

Para los efectos de esta Norma Mexicana, se establecen las siguientes definiciones:

3.1 Agave

Es la planta de la familia de las Agaváceas de hojas largas y fibrosas, de forma lanceolada, cuyo color es particular de cada variedad. La parte utilizada para la elaboración de jarabe de agave es la "piña" o cabeza de la planta.

3.2 Certificación

Es el procedimiento por el cual se asegura que un producto, proceso, sistema o servicio se ajusta a las normas, lineamientos o recomendaciones de organismos nacionales o internacionales dedicados a la normalización.

3.3 Jarabe de Agave

Es la sustancia dulce proveniente de la hidrólisis de los oligosacáridos del Agave

3.4 Jarabe de Agave 100 % (Jarabe 100% de Agave)

Es la sustancia dulce natural producida por hidrólisis a partir de los oligosacáridos del agave.

3.5 Jarabe de Agave Orgánico

Producto que además de cumplir las especificaciones indicadas en la presente norma mexicana, cumple con los requisitos establecidos en la Ley de Productos Orgánicos

3.6 Organismo de Certificación

Las personas morales que tengan por objeto realizar funciones de certificación.

3.7 Hidrólisis

Procedimiento, químico térmico, enzimático o la combinación de los anteriores, con el propósito de desdoblar los carbohidratos principalmente la inulina presentes en el Agave.

3.8 Índice Glucémico

El índice glucémico mide la rapidez con que se absorben los azúcares en la sangre. Es un sistema de clasificación de carbohidratos, basado en su efecto inmediato en los niveles de glucosa en la sangre. Esta escala compara los carbohidratos gramo a gramo en comidas individuales proporcionando un índice numérico, obtenido de análisis posteriores en un ser humano al ingerir Jarabe de Agave 100 % o Jarabe 100% de Agave.

4.0 SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y UNIDADES

Para efectos de esta Norma Mexicana, se establecen los siguientes símbolos, abreviaturas y unidades.

cm	centímetro
°C	grado Celsius
GR	grado reactivo
g	gramo
g/L	gramo por litro
g/mL	gramo por mililitro
HMF	Hidroximetilfurfural
h	hora
IG	Índice Glucémico
K	kelvin
kg	kilogramo
±	mas, menos
m/m	masa, masa
M	molar
µg	microgramo
µg/mL	microgramo por mililitro
µL	microlitro
µm	micra
meq/kg	miliequivalente por kilogramo
mg	miligramo
mg/L	miligramo por litro
mg/kg	miligramo por kilogramo
mL	mililitro
mL/min	mililitro por minuto
min	minuto
mm	milímetro
N	normalidad
No.	número
%	por ciento
pH	potencial de hidrógeno
UFC/g	unidad formadora de colonias por gramo
w	watt

5. CLASIFICACIÓN

5.1 El producto objeto de esta norma se clasifica como Jarabe 100 % de Agave y se clasifica en un solo grado de calidad.

6.0 ESPECIFICACIONES

6.1 Del producto

El producto objeto de esta Norma Mexicana debe cumplir con las especificaciones que se indican a continuación:

6.1.1 Sensoriales

Color	Olor	Sabor	Consistencia ¹
Propio característico variable de: cristalino agua, extra a cristalino, cristalino, extra claro ámbar, ámbar claro, ámbar y oscuro	Propio característico.	Dulce característico.	Ligeramente viscoso.

6.1.1.1 El Jarabe de Agave 100% o Jarabe 100% de Agave, definido en los puntos 3.3 y 3.4 puede ser añadido con sabor y color, utilizando productos vegetales naturales y aditivos permitidos por la Secretaría de Salud.

6.1.1.2 Para la elaboración del Jarabe de Agave 100%, no se permiten las mezclas de diferentes tipos de Agaves.

6.1.2 Físicoquímicas

El Jarabe de Agave 100 % o Jarabe 100% de Agave, debe cumplir con las especificaciones físicoquímicas establecidas en la siguiente tabla:

TABLA No. 1 Especificaciones físicoquímicas del Jarabe 100 % de Agave Tequilana Weber variedad azul

ESPECIFICACIONES	BASE SECA		METODO DE ENSAYO (PRUEBA)
	MÍNIMO	MÁXIMO	
Contenido de azúcar reductor, %	90,00	-	Punto 8.10 de esta norma
Contenido de sacarosa (sucrosa), %	-	4,00	
Contenido de Dextrosa (glucosa) , %	-	15,00	
Fructosa, %	80,00	-	NMX-F-103-SCFI-1982
Grados° Brix	74	-	
Manitol, %	AUSENTE		
Maltosa (Isolmatosa), %			
Rafinosa, %			
Otros azúcares %		2,5	
Inulina (oligofructosa), %	0,5	-	
Cenizas %	0.05	0.5	Punto 8.6 de esta norma
Hidroximetilfurfural (HMF), expresado en mg/kg	-	40	Puntos 8.8 y 8.9 de esta norma
pH	4,0	6,0	8.4 y 8.5 de esta norma
Índice Glucémico	ISO CD 26642		

¹ La viscosidad se medirá a través del Método de Prueba American Standards Testing Method (ASTM D2162): Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (Calculation of Dynamic Viscosity)

TABLA No. 2 Especificaciones fisicoquímicas del Jarabe 100 % de Agave (Salmiana.spp)

ESPECIFICACIONES	BASE SECA		MÉTODO DE ENSAYO (PRUEBA)
	MÍNIMO	MÁXIMO	
Contenido de azúcar reductor, %	90,00	-	Punto 8.10 de esta norma
Contenido de sacarosa(sucrosa), %	-	2,00	
Contenido Dextrosa (glucosa), %	-	25,00	
Fructosa, %	70,00		
Grados Brix	74		NMX-F-103-SCFI-1982
Manitol, %	AUSENTE		
Maltosa, %			
Rafinosa, %			
Otros Azúcares %		2,5	
Inulina (oligofructosa), %	0,5	-	
Cenizas %	0,05	0,5	Punto 8.6 de esta norma
Hidroximetilfurfural (HMF), expresado en mg/kg	-	10	Puntos 8.8 y 8.9 de esta norma
pH	4,0	6,0	8.4 y 8.5 de esta norma
Índice Glucémico	ISO CD 26642		

6.1.2.1 Jarabe de Agave, parcialmente hidrolizado: Es aquel producto diferente al Jarabe de Agave 100 % o Jarabe 100% DE AGAVE, en el que el contenido de fructosa es menor a 80 % como resultado de la hidrólisis parcial debiendo ser el contenido de inulina (oligofructosa) de Agave, proporcional a la fructosa existente y estando en todo caso ausente Maltosa, Rafinosa y todos aquellos azúcares que no se encuentran en la especie de Agave utilizada. Su pH es de 4,0 a 6,0.

6.1.2.2 El índice glucémico dependerá de la composición química del Jarabe 100% de Agave.

6.1.3 Higiene

Toda planta procesadora de Jarabe de Agave, debe cumplir con las prácticas de higiene, sanidad, e inocuidad del producto y del proceso de acuerdo a lo establecido en la NOM-120-SSA1 vigente.

6.1.4 Microbiológicas

El producto objeto de esta norma debe cumplir con las especificaciones microbiológicas indicadas en la siguiente tabla:

TABLA No. 3: Límites Microbiológicos.

PARAMETRO	LIMITES PERMISIBLES	METODO DE ENSAYO (PRUEBA)
Cuenta bacteriana total	máximo 100 UFC/g	NOM-092-SSA1
Hongos	<10 UFC/g	NOM-111-SSA1
Levaduras	<10 UFC/g	NOM-111-SSA1
Coliformes	Ausente	NOM-112-SSA1
Salmonella	Negativo en 25 g	NOM-114-SSA1
E coli	Negativo	NOM-113-SSA1

6.1.5 Materia extraña

El producto objeto de esta norma debe estar libre de fragmentos o excretas de insectos, excretas de roedores, así como cualquier otra materia extraña.

6.1.6 Aditivos y adulterantes

No se permite el uso de aditivos alimentarios para su adulteración, ni mezclarlo con almidones, melazas, glucosa, dextrinas, fructosa u otros azúcares de origen diferente al Agave

6.1.7 Contaminantes químicos

El producto objeto de esta norma no debe de exceder los límites máximos de residuos tóxicos permitidos por la Secretaría de Salud.

7.0 MUESTREO

7.1 Preparación de la muestra y toma de muestra para el laboratorio

7.1.1 Para tomar una muestra de laboratorio, se utilizan tres frascos del mismo tamaño. Uno para el comprador, otro para el vendedor y el último para el analista.

7.1.2 Estos son tomados de los lotes de producto final.

7.1.3 Los resultados de los análisis de los tres frascos tomados debe dar resultados similares.

7.1.4 La toma de muestra de Jarabe envasado en presentación comercial, se debe llevar a cabo en forma aleatoria y no aséptica, tomándose del mismo lote y en cantidad suficiente para su análisis. Para los Jarabes envasados en recipientes grandes, es preciso abrir éstos y extraer la muestra en condiciones asépticas conforme a lo establecido en la NMX-Z-012.

7.1.5 La preparación y dilución de la muestra para la realización de los análisis de la cuenta total, mohos y levaduras se deben realizar conforme a lo establecido en la norma NOM-110-SSA1.

8.0 MÉTODOS DE PRUEBA

Para la verificación de las especificaciones físicas y químicas que se establecen en esta norma se deben aplicar los métodos de ensayo (prueba) que se indican en el punto 2 de esta Norma Mexicana, y los que se indican a continuación:

8.1 DETERMINACIÓN DE MATERIA EXTRAÑA

8.1.2 Material

8.1.2.1 Embudo de Hirsch o Buchner para filtración al vacío.

8.1.2.2 Caja de Petri.

8.1.2.3 Aguja de disección.

8.1.2.4 Papel de filtración rápida del No. 8 para conteo o rayado a lápiz con líneas paralelas de aproximadamente 5 mm de separación.

8.1.2.5 Material común de laboratorio.

8.1.2.6 Tamices de tela 10 XX. Hechos a partir de seda con número de malla/línea XX y espesor de hilo 10.

Someter a ebullición la tela antes de cortarla. Efectuar un rayado con líneas paralelas separadas aproximadamente de 5 a 7 mm, utilizando una pluma con tinta permanente y cortada en círculos de 85 mm de diámetro.

8.1.3 Reactivos

8.1.3.1 Agua destilada (H₂O)

8.1.3.2 Ácido Nítrico concentrado (HNO_3)

8.1.4 Equipos e instrumentos de medición

8.1.4.1 Balanza granataria con una precisión de 0,1 g

8.1.4.2 Equipo de filtración al vacío.

8.1.4.3 Microscopio binocular estereoscópico con objetivos que pueden ser de 3,6,7 y 10 X y oculares apareados de amplio campo visual de 10, 30 y 100 X respectivamente.

8.1.4.4 Lámpara para el microscopio o luz natural equivalente.

8.1.4.5 Parrilla de calentamiento.

8.1.5 Procedimiento

8.1.5.1 Mezclar la muestra completamente y disolver 200 g en 200 mL de agua caliente acidificada con 5 mL de Ácido Nítrico.

8.1.5.2 Filtrar de una sola vez a través de papel filtro colocado en el embudo Hirsch o Buchner.

8.1.5.3 Lavar con una pequeña cantidad de agua. Colocar el papel filtro en una caja de Petri y examinar al microscopio utilizando una luz lo suficientemente intensa para que muestre los detalles en el papel filtro.

8.1.5.4 Contar explorando con una aguja de disección sobre toda la superficie del papel, línea por línea, voltear y explorar cada pieza del material pues algunos fragmentos son irreconocibles a menos que se muevan. No contar material dudoso.

8.1.5.5 Procedimiento alternativo

Disolver 200 g de muestra en 500 mL de agua caliente. Filtrar de una vez a través de un tamiz de tela 10 XX colocado en un embudo de Hirsch o Buchner.

Examinar al microscopio como se describió anteriormente.

8.1.6 Cálculos y expresión de resultados

Reportar la presencia o ausencia de insectos enteros, fragmentos de insectos, pelos de roedor o cualquier materia extraña encontrada en 200 g de muestra.

8.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD MÉTODO REFRACTOMÉTRICO

8.2.1 Principio del método

Este método se basa en el cambio de dirección que sufren los rayos luminosos en el límite de la separación de dos medios, en los cuales es distinta la velocidad de propagación. Se mide el índice de refracción del azúcar disuelto en agua, que mantiene una relación no lineal con la concentración de azúcar.

En realidad no se efectúa una determinación directa del contenido de agua, se lleva a cabo una medición indirecta. El valor medido define únicamente la matriz analítica que acompaña al azúcar (en este caso agua).

8.2.2 Fundamento

Este método de determinación de humedad se aplica, en productos que contienen azúcares.

8.2.3 Reactivos

8.2.3.1 Alcohol.

8.2.3.2 Éter de petróleo.

8.2.3.3 Bromonaftaleno.

8.2.4 Equipo

8.2.4.1 Refractómetro (calibrado)

8.2.5 Procedimiento

8.2.5.1 Colocar el refractómetro en una posición tal que difunda la luz natural o cualquier otra forma de luz artificial, que pueda utilizarse para iluminación.

8.2.5.2 Hacer circular agua a 293 K (20 °C) a través de los prismas.

8.2.5.3 Limpiar el refractómetro cuidadosamente con alcohol y éter de petróleo antes de hacer la lectura.

8.2.5.4 Para cargar el refractómetro, abrir la doble prima girando el tornillo correspondiente y poner unas gotas de muestra sobre el prisma, cerrar y ajustar finalmente.

8.2.5.5 Verificar la exactitud de refractómetro con agua a 293 K (20 °C). A esta temperatura, el índice de refracción del agua es de 1,3330, o bien utilizar la placa de cuarzo que viene con el equipo, usando Bromonaftaleno. Al efectuar la lectura hacer las correcciones necesarias.

8.2.5.6 Mover el brazo giratorio del aparato hacia adelante y hacia atrás hasta que el campo visual se divida en dos partes, una luminosa y otra oscura. La línea divisoria entre esas dos partes, se le conoce como "línea margen". Ajustar la línea margen y leer directamente el índice de refracción.

Nota:

Este método incluye también a los refractómetros manuales (o portátiles), en los cuales únicamente se coloca la muestra y se observa a contraluz para tomar la lectura directamente; para el caso de refractómetros digitales, seguir las instrucciones del manual de operación.

8.2.6 Cálculos y expresión de resultados

Obtener el porcentaje correspondiente de humedad (porcentaje m/m) utilizando la tabla No. 5 (ver Apéndice A). Si la determinación se hace a una temperatura diferente de 293 K (20 °C), corregir la lectura a la temperatura patrón de 293 K (20 °C), de acuerdo a las siguientes correcciones:

Para temperaturas superiores a 293 K (20 °C), sumar 0,00023 por cada K (°C).

Para temperaturas inferiores a 293 K (20 °C), restar 0,00023 por cada K (°C).

8.2.7 Informe de la prueba.

Reportar el resultado como % de humedad.

Intervalo de medida típico

De 0 hasta 50 %

Exactitud de medida típica

De 0,5 a 1 %

8.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD MÉTODO TERMOGRAVIMÉTRICO²

8.3.1 Principio

Este método se basa en pesar y desecar la muestra; la cual se seca hasta obtener una constancia de masa.

² Independientemente de los Métodos de prueba para determinación de humedad contenidos en esta Norma (8.2 y 8.3) también se considerará el cálculo de la humedad realizado a través de la prueba de Karl Fisher (CRA E-46).

NMX-FF-110-SCFI-2008

La desecación termina al alcanzar un estado de equilibrio, es decir, cuando la presión de vapor de la sustancia húmeda es igual a la presión de vapor del entorno. Cuanto menor es la presión de vapor del entorno, menor es la humedad residual remanente en la condición de equilibrio dentro de la sustancia. Disminuyendo la presión se puede reducir la presión de vapor ambiental y, por tanto, las condiciones de la desecación.

8.3.2 Fundamento

El método Termogravimétrico se aplica prácticamente en todas las sustancias térmicas con un contenido de humedad > 0,1 %

8.3.3 Equipos

Analizador de Halógeno de humedad

8.3.4 Descripción

El Analizador de Halógeno de humedad sirve para determinar el contenido de humedad de casi todas las sustancias.

El instrumento opera según el principio termogravimétrico. Un Radiador de Halógeno seca la sustancia de muestra, mientras que la balanza de precisión integrada en el instrumento mide y registra continuamente el peso. Así pues, la pérdida total de peso se interpreta como el contenido de humedad.

La principal ventaja de utilizar un Radiador de Halógeno es la reducción del tiempo necesario frente a los métodos de desecación clásicos. Además, el Radiador de Halógeno, dispuesto en círculo alrededor de la muestra, calienta de forma uniforme y se obtiene una repetibilidad excepcional del resultado de medida.

La radiación de calor uniforme a la muestra, junto con la regulación precisa de la temperatura, obtiene resultados de medición con una reproducibilidad excepcional.

La base para calcular el contenido de humedad es la pérdida de peso de la muestra al final de la desecación.

8.3.5 Intervalo de medida típico

De 0,5 hasta 99 %

8.3.6 Exactitud de medida típica

De 0,1 a 0,5 %

8.3.7 Consideraciones

El resultado de una determinación de humedad depende en primer lugar de una preparación bien pesada de la muestra.

La muestra parcial utilizada para el análisis ha de ser en cualesquier caso, representativa de una cantidad total.

8.4 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ (Método potenciométrico)

8.4.1 Principio del método

Este método se basa en la titulación potenciométrica del contenido de iones de hidrógeno, utilizando una solución de Hidróxido de Sodio valorada hasta un pH de 8,5, adicionando después 10 mL del mismo Hidróxido de Sodio y titulando con Ácido Clorhídrico 0,05 N hasta un pH de 8,3.

8.4.2 Materiales

8.4.2.1 Bureta de 25 mL

8.4.2.2 Pipeta volumétrica de 10 mL

8.4.2.3 Vaso de precipitado de 250 mL

8.4.2.4 Agitador magnético

8.4.3 Reactivos

8.4.3.1 Hidróxido de Sodio grado reactivo

8.4.3.2 Ácido Clorhídrico grado reactivo

8.4.4 Equipos e instrumentos de medición

8.4.4.1 Potenciómetro

8.4.4.2 Balanza analítica

8.4.5 Preparación de soluciones

8.4.5.1 Solución de Hidróxido de Sodio 0,05 N

Pesar 0,2 g de Hidróxido de Sodio (grado reactivo), disolver en agua destilada y llevar a volumen de 100 mL.

8.4.5.2 Solución de ácido clorhídrico 0,05 N

En 200 mL de agua destilada agregar 4,07 mL de HCl concentrado (densidad 1,19 g/mL, pureza 37,6 %) agitar constantemente. Llevar a volumen de 1000 mL con agua destilada.

8.4.6 Procedimiento

8.4.6.1 En un vaso de precipitado de 250 mL pesar 10 g de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE, agregar 75 mL de agua destilada libre de Dióxido de Carbono, disolver mezclando por medio de un agitador magnético.

8.4.6.2 Introducir el electrodo del potenciómetro en la solución, tomar el pH.

8.4.6.3 Titular con Hidróxido de Sodio 0,05 N a una velocidad aproximada de 5 mL/min deteniendo la adición cuando el pH sea de 8,5 inmediatamente después agregar 10 mL de Hidróxido de Sodio 0,05 N

8.4.6.4 Titular por retroceso con Ácido Clorhídrico 0,05 N, hasta alcanzar un pH de 8,3.

8.4.6.5 Hacer un testigo con 75 mL de agua destilada libre de Dióxido de Carbono.

8.4.7 Cálculos y expresión de resultados

Los datos se expresan en miliequivalentes de ácido por kilogramo de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE (meq/kg)

$$\text{Acidez Libre} = \frac{(\text{mL de hidróxido de sodio } 0,05 \text{ N de la muestra}) - (\text{mL de hidróxido de sodio del blanco}) \times 50}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Lactona} = \frac{(10 - \text{mL de ácido clorhídrico } 0,05 \text{ N}) \times 50}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Acidez total} = \text{Acidez libre} + \text{Lactona}$$

8.4.8 Informe de la prueba Reportar como miliequivalentes de ácido/kg.

8.5 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ (Método volumétrico)

8.5.1 Fundamento

Este método se basa en el proceso de neutralización de un ácido mediante un hidróxido en presencia de Fenolftaleína como indicador.

8.5.2 Material

- 8.5.2.1 Bureta de 25 mL
- 8.5.2.2 Matraz Erlenmeyer de 125 mL
- 8.5.2.3 Vaso de precipitado de 100 mL
- 8.5.2.4 Agitador magnético

8.5.3 Reactivos

- 8.5.3.1 Hidróxido de Sodio grado reactivo
- 8.5.3.2 Fenolftaleína grado reactivo
- 8.5.3.3 Agua destilada

8.5.4 Equipos e instrumentos de medición

- 8.5.4.1 Balanza analítica

8.5.5 Preparación de soluciones

8.5.5.1 Hidróxido de Sodio 0,1N

Pesar 4,5 g de Hidróxido de Sodio, disolver con agua destilada libre de CO₂, dejar enfriar y reposar durante 24 h. Al día siguiente llevar a volumen de 1000 mL y valorar.

8.5.5.2 Indicador de Fenolftaleína al 1%

Pesar 1 g de Fenolftaleína, disolver en Etanol y llevar a volumen de 100 mL.

8.5.6 Procedimiento

- 8.5.6.1 Pesar 5 g de muestra disolver con 75 mL de agua destilada libre de CO₂.
- 8.5.6.2 Agregar 0,3 mL de Fenolftaleína.
- 8.5.6.3 Titular con NaOH 0,1N (La titulación se concluye cuando se obtiene un vire levemente rosáceo del indicador en la muestra de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE)

8.5.7 Cálculos y expresión de resultados

Los datos se expresan en miliequivalentes de ácido por kilogramo de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE (meq/kg)

8.6 DETERMINACIÓN DE CENIZAS (SUBSTANCIAS MINERALES)

8.6.1 Material

- 8.6.1.1 Cápsula de platino

8.6.2 Equipos e instrumentos de medición

- 8.6.2.1 Mufla

8.6.3 Procedimiento

- 8.6.3.1 En una cápsula de platino a peso constante ($\pm 0,0003$ g del peso de la cápsula), pesar de 5 a 10 g de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE.
- 8.6.3.2 Carbonizar la muestra evitando pérdidas por formación de espuma y derrames.
- 8.6.3.3 Una vez que la muestra haya sido carbonizada y no presente espuma, calcinar en una mufla a 600 °C hasta peso constante.

8.6.4 Cálculos y expresión de resultados

$\% \text{ sólidos de cenizas} = \frac{\text{peso de cenizas}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$

8.7 DETERMINACIÓN DE COLOR (ICUMSA)

8.7.1 Fundamento

Valor Icumsa: Es el valor numérico del color de una solución azucarada, medida por el método internacional de la Comisión for Uniform Methods of Sugar Analysis.

8.7.2 Equipo y Material

8.7.2.1 Espectrofotómetro

8.7.2.2 Pizeta con agua destilada

8.7.3 Procedimiento

En una celda de cuarzo colocar una pequeña porción de la muestra de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE y proceder a leer la absorbancia de la muestra en el Espectrofotómetro, a una longitud de onda de 420 nm, empleando agua destilada como blanco de ajuste.

8.7.4 Cálculos y expresión de resultados

$$\text{Color} = \frac{(\text{absorbancia de la muestra}) (100000)}{(\text{Grados Brix de la muestra})}$$

8.8 DETERMINACIÓN DE HIDROXIMETILFURFURAL (HMF Método Winkler)

8.8.1 Principio del método

Se basa en el método de Winkler

8.8.2 Reactivos y soluciones

8.8.2.1 Agua grado cromatográfico

8.8.2.2 Ácido Acético Glacial grado reactivo

8.8.2.3 Isopropanol grado reactivo

8.8.2.4 Para- toluidina especial para análisis de Hidroximetilfurfural

8.8.2.5 Ácido Barbitúrico

8.8.2.6 Estándar de Hidroximetilfurfural con una pureza de 99 % aproximadamente

8.8.3 Material

8.8.3.1 Frasco color ámbar de 100 y 1000 ml

8.8.3.2 Gradilla para tubos de ensayo

8.8.3.3 Matríz Erlenmeyer de 125 mL

8.8.3.4 Matraces volumétricos de 50, 100 y 250 mL

8.8.3.5 Papel filtro Whatman

8.8.3.6 Pipeta de 250 mL

8.8.3.7 Pipeta volumétrica de 1, 2 y 5 mL

8.8.3.8 Tubos de ensayo de 18 x 150 mm

8.8.3.9 Vaso de precipitado de 100 mL

8.8.4 Equipos e instrumentos de medición

8.8.4.1 Espectrofotómetro ultravioleta visible

8.8.4.2 Agitador Vortex

- 8.8.4.3 Balanza analítica
- 8.8.4.4 Baño maría
- 8.8.4.5 Pipeteador automático ó propipeta
- 8.8.4.6 Refrigerador

8.8.5 Preparación de soluciones

8.8.5.1 Ácido Barbitúrico 0,5 %

Pesar en un matraz volumétrico de 100 mL, 500 mg de ácido barbitúrico, disolver en aproximadamente 70 mL de agua destilada en baño maría, enfriar y completar hasta el volumen.

8.8.5.2 p-toluidina 10 %

Disolver en un matraz volumétrico de 100 mL, 10 g de p-toluidina con 50 mL de Isopropanol, calentando suavemente en baño maría, enfriar, agregar 10 mL de Ácido Glacial y llevar al volumen con Isopropanol. Dejar reposar 24 horas antes de usar. Guardar en frasco ámbar en refrigeración.

8.8.6 Preparación de estándares

8.8.6.1 Solución stock de Hidroximetilfurfural

Pesar 20 mg aproximadamente de estándar de Hidroximetilfurfural, diluir con agua destilada y llevar a volumen de 100 mL

8.8.6.2 Preparación de la curva estándar de Hidroximetilfurfural

Preparar diluciones de Hidroximetilfurfural que contengan 1, 2, 3, 4, y 5 µg/mL, agregar 5,0 mL de p-toluidina y 1,0 mL de Ácido Barbitúrico, agitar por 1 ó 2 minutos. Transferir rápidamente a celdas de 1,0 cm de paso de luz y leer la absorbancia a 550 nm cuando haya alcanzado su máximo desarrollo de color (1 a 4 min), utilizando agua tratada de igual manera como en el testigo.

8.8.6.3 Preparación de la muestra y determinación

Disolver 10 g de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE, con 20 mL de agua, tomar con pipeta 2 alícuotas de 2,0 mL de solución de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE, y agregar a cada una 5,0 mL de p-toluidina. A uno de los tubos agregar 1,0 mL de agua (testigo) y al otro 1,0 mL de Ácido Barbitúrico, agitar por 1 o 2 minutos. Transferir rápidamente a celdas de 1 cm y leer la absorbancia de la muestra a 550 nm, ajustando a cero con el testigo.

8.8.7 Cálculos y expresión de los resultados

Determinar el contenido de Hidroximetilfurfural interpolando el valor de absorbancia obtenida en la gráfica preparada con las absorbancias de la curva de calibración o utilizar la siguiente fórmula:

$$\text{mg de HMF/100 g de Jarabe de Agave} = \frac{(\text{Absorbancia de la muestra}) (10)}{\text{g de muestra}} \times 19,2$$

Dónde:

19,2 = Factor de extinción molar del Hidroximetilfurfural

8.9 DETERMINACIÓN DE HIDROXIMETILFURFURAL POR EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (HMF Método HPLC)

8.9.1 Principio del método

El Hidroximetilfurfural es determinado en una solución acuosa de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE, limpio y filtrado, usando un HPLC de fase reversa con detector UV, las señales de las muestras son comparadas con soluciones estándares de concentración conocida.

8.9.2 Material

- 8.9.2.1 Matraz volumétrico clase "A" de 50 y 100 mL
- 8.9.2.2 Sistema de filtración con membranas 0,45 µm
- 8.9.2.3 Acrodiscos de 0,45 µm
- 8.9.2.4 Viales con tapa de teflón para HPLC
- 8.9.2.5 Tubos de centrifuga de polipropileno con tapón de rosca.
- 8.9.2.6 Matraz Kitazato
- 8.9.2.7 Pipetas clase "A"
- 8.9.2.8 Micropipeta volumen adecuado.

- 8.9.3 **Reactivos**
- 8.9.3.1 Agua HPLC
- 8.9.3.2 Metanol HPLC
- 8.9.3.3 Estándar de 5-Hidroximetil-2-furancarbaldehído

- 8.9.4 **Equipos e instrumentos de medición**
- 8.9.4.1 Sistema de cromatografía de líquidos
- 8.9.4.2 Sistema de bombas.
- 8.9.4.3 Detector de UV-Visible o arreglo de diodos de longitud de onda variable.
- 8.9.4.4 Columna HPLC de 250 x 4,6 mm o 125 x 4,6 mm empacada con ODS (C18) de 5 mm de tamaño de partícula.
- 8.9.4.5 Inyector manual o automuestreador con loop de 20 mL
- 8.9.4.6 Sistema de degasificación por helio, membrana de vacío, ultrasonido o agitación.
- 8.9.4.7 Graficador, integrador electrónico o estación de datos con el software cromatográfico apropiado.
- 8.9.4.8 Agitador mecánico.
- 8.9.4.9 Balanza analítica.

- 8.9.5 **Preparación de soluciones**
- 8.9.5.1 **Estándar stock**
Cuidadosamente pesar 10 mg del estándar de referencia de Hidroximetilfurfural dentro de un matraz ámbar de 100 mL con tapón, disolver y llevar a volumen con agua destilada, tapar y agitar.
- 8.9.5.2 **Preparación de la curva estándar de Hidroximetilfurfural**
Preparar una matriz de soluciones acuosas con concentraciones de 1, 2, 5, y 10 mg/L estas soluciones se tienen que preparar el día de su uso; filtrar cada uno de los estándares dentro de los viales usando un acrodiscos de 0,45 µm tapar el vial con septa de teflón.
- 8.9.5.3 **Preparación de la muestra**
Cuidadosamente pesar 10 g de la muestra de Jarabe de Agave 100 % o JARABE 100% DE AGAVE, disolver en aproximadamente 25 mL de agua destilada y transferir a un matraz volumétrico de 50 mL diluir a volumen con agua destilada, filtrar la solución a través de una membrana 0,45 µm, esta solución esta lista para leer en el cromatógrafo.

- 8.9.6 **Procedimiento**
- 8.9.6.1 Fijar los siguientes parámetros cromatográficos de acuerdo con el manual de operación del equipo:
Flujo: 0,5 mL/min
Fase móvil: Agua 90 %, Metanol 10 %.
Longitud de onda: 285 nm
Volumen de inyección: 20 mL
Tiempo de análisis: aproximadamente 7 minutos
- 8.9.6.2 Correr la fase móvil a través del sistema a un flujo de 0,5 mL/min hasta obtener una línea base estable.
- 8.9.6.3 Inyectar 20 mL de cada una de las soluciones patrón.

- 8.9.6.4 Obtener el cromatograma de cada una de ellas.
- 8.9.6.5 Elaborar una curva de calibración, graficando el área del pico en función de la concentración.
- 8.9.6.6 Ajustar la curva por medio de mínimos cuadrados (regresión lineal)
- 8.9.6.7 De la misma forma inyectar las muestras filtradas y obtener su cromatograma.
- 8.9.6.8 Identificar el pico correspondiente a Hidroximetilfurfural comparando el tiempo de retención contra el obtenido en las soluciones patrón.
- 8.9.6.9 Calcular la concentración a partir de la curva de calibración.
- 8.9.6.10 Asegurarse de que las concentraciones de Hidroximetilfurfural de las muestras caen dentro del intervalo de la curva de calibración. De no ser así, efectuar la dilución correspondiente y volver a analizar.

8.9.7 Cálculos y expresión de resultados

De la ecuación de la recta obtenida: $y = mx + b$

Donde:

y = área del pico correspondiente al Hidroximetilfurfural en la muestra.

m = pendiente.

x = concentración de Hidroximetilfurfural en la muestra (mg/L)

b = ordenada al origen.

Despejar X para obtener la concentración de Hidroximetilfurfural en la muestra.

Aplicar la siguiente ecuación:

mg/kg de Hidroximetilfurfural = Concentración de Hidroximetilfurfural en la muestra \times 50 \times factor de dilución 10

8.10 PRUEBA TLC (Thin Layer Chromatography- Cromatografía de capas delgadas)³

El TLC es una herramienta usual para la identificación de mezclas de carbohidratos. Existen dos soportes sólidos que han resultado provechosos, como: la celulosa microcristalina y la gel de sílica.

Por lo general las fases móviles para el TLC tienden a ser mezclas de solventes, puestas en una cámara que les permite estar en condiciones equilibradas durante la separación para la carga de los platos TLC.

Los carbohidratos puestos en los platos TLC, se mueven a diferentes velocidades desde la posición inicial.

Debido a sus diferencias estructurales y de polaridad, cada carbohidrato corresponde a un valor característico R_f (related to front value) diferente.

La identificación de estos se realiza se toma en base a calibración.

$$R_f = \frac{(\text{inicial} - \text{frente})}{(\text{inicial} - \text{frente})_{\text{fase móvil}}}$$

El valor R_f es calculado de distancias móviles del radio para cada carbohidrato, con respecto a la fase móvil frontal.

³ Independientemente del Método descrito en el punto 8.10, se puede determinar el contenido o la Determinación de Glucosa y Fructosa a través del Método de cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC- ELSD Alltech CHROM 10009)

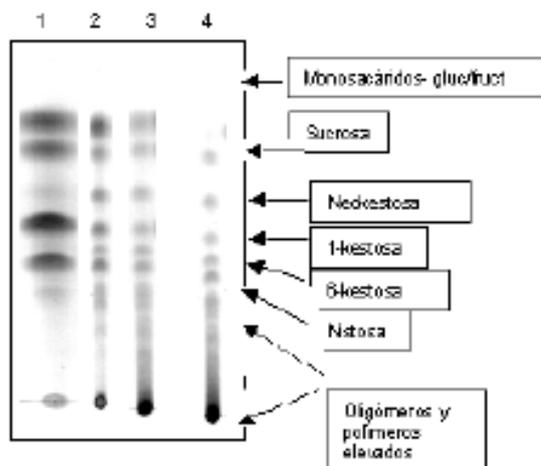


Furfural

5-hydroximetilfurfural

El timol aromático (como un agente spray) muestra diferentes reacciones de color al ser accionado con las moléculas anteriores.

8.10.1 TLC de extractos del Agave

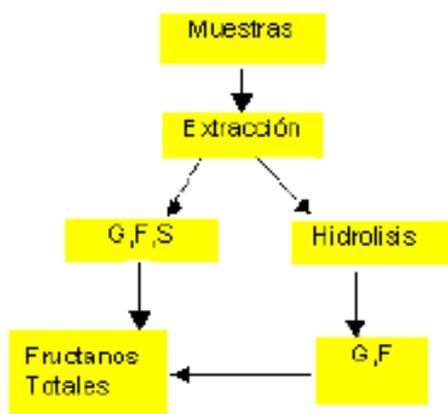


- 1 Standard (muestra de la Kestosesirupa)
- 2 Región media de la planta de Agave
- 3 Región básica de la planta de Agave
- 4 Corazón de la planta de Agave

Se utilizaron placas de aluminio con gel de sílica 60
Eluente: Butanol: Propanol:Etanol:agua= 2:3:3:2

H₂SO₄ – inclinaciones visuales

8.10.2 Análisis de carbohidratos de las muestras de Agave



Análisis Enzimático

Distribución del peso molecular de los fructanos= Análisis LC

8.11 Determinación de material extraña (análisis microbiológicos)

8.11.1 Cuenta Total Aerobia

AOAC 990.12 Aerobic Plate Count in Foods

AOAC 989.10 Bacterial and coliform Counts in Dairy Products

8.11.2 Coliformes y E. coli
AOAC 991.14 Coliform and Escherichia Coli Counts in Foods

8.11.3 Enterobacteria
AOAC 2003.1 Enumeration of Enterobacteriaceae in Selected Foods.

8.11.4 Hongos y Levaduras
AOAC 997.02 Yeast and Mold Counts in Foods

9.0 MARCADO, ETIQUETADO, ENVASE Y EMBALAJE

9.1 Información Comercial

9.1.1 Marcado y etiquetado

Cuando el producto sea destinado a venta directa al consumidor, cada etiqueta del producto debe llevar grabada la siguiente información conforme a lo establecido en la NOM-051-SCFI, visible e indeleble con los siguientes datos:

- a) Denominación del producto: JARABE DE AGAVE 100 % O JARABE 100% DE AGAVE.
- b) Indicación de la especie y variedad del Agave utilizado
- c) En su caso, indicación del nombre del saborizante y/o colorante utilizados.
- d) Clave del lote de fabricación.
- e) Lista de ingredientes conforme a la NOM-051-SCFI en vigor:
- f) El "contenido neto" de acuerdo con las disposiciones de la NOM-030-SCFI en vigor.
- g) Nombre o razón social y domicilio fiscal del fabricante.
- h) La leyenda "HECHO EN MEXICO" o el nombre del país de origen de fabricación.
- i) Nombre o marca comercial registrada, pudiendo aparecer el símbolo y/o el logotipo del fabricante.
- j) Instrucciones para conservación, uso y consumo.
- k) Fecha de caducidad.
- l) Declaración nutrimental.

9.1.2 Requisitos para el mercado nacional

Debe aparecer en la superficie principal de exhibición, cuando menos, la información señalada en los literales: a), b), c) f) e i) del inciso 9.1.1 El resto de la información a que se refiere este inciso debe aparecer y puede incorporarse en cualquier otra parte del envase o la etiqueta.

9.2 Envase

El producto objeto de esta norma, se debe envasar en envases nuevos de un material, inocuo y resistente, que garantice la estabilidad del mismo, que evite su contaminación, y no altere su calidad. Permitidos por la Secretaría de Salud.

10.0 BIBLOGRAFÍA

- 10.1** Ley Federal sobre Metrología y Normalización, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1 de julio de 1992 y reformas publicadas en el Diario Oficial de la federación el 24 de diciembre de 1996 y el 20 de mayo de 1997.
- 10.2** Ley de Productos Orgánicos, publicada en el Diario Oficial de la Federación por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. publicada en el Diario Oficial de la Federación 7 de febrero de 2006..
- 10.3** NMX-F-005-1983 – Alimentos- Glucosa de Maíz. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de noviembre de 1983.

NMX-FF-110-SCFI-2008

- 10.4 NMX-F-168-1981- Alimentos para humanos- Miel de Maíz. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de enero de 1981.
- 10.5 NMX-FF-104-SCFI-2004- Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- Jalea Real- Especificaciones y Métodos de Prueba. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 20 de julio de 2004
- 10.6 NMX-Z-013-1-1977-Guía para la redacción, estructuración y presentación de las Normas Mexicanas. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de octubre de 1977
- 10.7 Codex Stan Norma Codex para la miel Codex Stan 12-1981 Rev (1987).
- 10.8 A.O.A.C. 16a edición (1995).
- 10.9 Dextrose Determination in Honey a Rapid Photometric Determination Agricultural Research Service.
- 10.10 U.S. Department of Agricultural For Official USE.
- 10.11 Winkler O., A. Lebensm. Det. of H.M.F. Untersuch U. Forsch. 102 1955, pp. 161-167.
- 10.12 Analítica de residuos de Protectores de planta vol. II Comunidad Alemana de Investigación, comisión Senatorial de Protectores de Plantas, Agentes y protectores de reservas, Grupo de Trabajo, Analítica y Distribución 1991. De CEIME, Bremen Alemania.
- 10.13 Lane J.H. Eynon L. (1923) J. Soc Chem Ind. 42, 32t.
- 10.14 Apidologie Harmonised method of the European Honey Commission.
- 10.15 R-Biopharmam AG, Damastad, Germany.
- 10.16 Institute fur Handels- Analytik (Quality Services International GMBH Dr. C. Lullmann Outlaw W.H & Mitchell, C.T. (1988). Sucrose. In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer; H.U; ed), 3rd ed; Vol. VI, pp 98-103, VCH Publishers (UK) Ltd; Cambridge, UK.
- 10.17 Beutler; H.-O (1988). D-Fructose. In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer; H.U; ed), 3rd ed; Vol. VI, pp 321-327; VCH Publishers (UK) Ltd; Cambridge, UK.
- 10.18 Kunst, A; Draeger; B & Ziegenhorn, J (1988). D-Glucose. In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer; H.U; ed), 3rd ed; Vol. VI, pp 163-172; VCH Publishers (UK) Ltd; Cambridge, UK.
- 10.19 Mc Cleary, B. V. Blakeney, A.B. (1999). Measurement of inulin and oligofructan. Cereal Foods World 44, 398-406.
- 10.20 Division of Organic Chemistry/ Plant Carbohydrate: Characterization of Carbohydrates for food and non-food application, Developing of new strategies for polymer analysis, Application and interaction in food and Human Nutrition (Prof. Anton Huber, KF-University, Prof. Ewa Cieslik, Agricultural University, Werner Praznik)
- 10.21 Norma ISO-CD -26642- Food products – Determination of the Glycoemic index (GI) and relevant classification.

11.0 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

La presente Norma Mexicana, no concuerda con ninguna Norma Internacional, por no existir referencia alguna al momento de su elaboración.



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

FE DE ERRATAS
(2011-09-30)

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1334-1:2011
Tercera revisión

ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO HUMANO. PARTE 1. REQUISITOS.

Primera Edición

FOOD PRODUCTS LABELLING FOR HUMAN CONSUMPTION. PART. 1. SPECIFICATIONS.

First Edition

En la página 3 numeral 4.3

Dice:

4.3 En aquellos alimentos o productos alimenticios que contengan saborizantes/aromatizantes (saborizante/aromatizante natural, saborizante/aromatizante idéntico a natural y/o saborizante/aromatizante artificial), se admitirá la representación gráfica del alimento o sustancia cuyo sabor caracteriza al producto, aunque éste no lo contenga, debiendo acompañar el nombre del alimento con las expresiones: "sabor artificial...", "saborizante artificial...", "saborizado artificialmente...", "aroma artificial... o aromatizante artificial..." llenando el espacio en blanco con el nombre del sabor o sabores caracterizantes, con caracteres del mismo tamaño, en idéntico color, realce y visibilidad.

Debe decir:

4.3 En aquellos alimentos o productos alimenticios que contengan saborizantes/aromatizantes (saborizante/aromatizante natural, saborizante/aromatizante idéntico a natural y/o saborizante/aromatizante artificial). Se permite la representación mediante imágenes o ilustraciones del alimento, o sustancia cuyo sabor caracteriza al producto, debiendo acompañar el nombre del alimento con las expresiones: "sabor..." "sabor a ...", "saborizante ...", "saborizado ...", "aroma ..." o "aromatizante ..." llenando el espacio en blanco con el nombre del sabor(es), saborizante(s), aroma(s) o aromatizante(s) caracterizante(s), con letras del mismo tamaño, en idéntico color, realce y visibilidad.



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1334-1:2011
Tercera revisión

ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO HUMANO. PARTE 1. REQUISITOS.

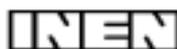
Primera Edición

FOOD PRODUCTS LABELLING FOR HUMAN CONSUMPTION. PART. 1. SPECIFICATIONS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, productos alimenticios, rotulado, requisitos
AL 01.05-401
ODU: 621.798
CIIU: 311
ICS: 67.040

CDU: 621.798
ICS: 67.040



CIU: 311
AL 01.05-401

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO HUMANO. PARTE 1. REQUISITOS	NTE INEN 1334-1:2011 Tercera revisión 2011-08
---	--	--

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos mínimos que deben cumplir los rótulos o etiquetas en los envases o empaques en que se expenden los productos alimenticios para consumo humano.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a todo producto alimenticio procesado, envasado y empaquetado que se ofrece como tal para la venta directa al consumidor y para fines de hostelería.

2.2 La presente norma no se aplica a aquellos productos alimenticios que se envasan en presencia del consumidor o en el momento de la compra.

3. DEFINICIONES

3.1 Para los efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la, NTE INEN 1334-2 y las que a continuación se detallan:

3.1.1 *Aditivos alimentarios*. Es cualquier sustancia que no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición intencionada al alimento con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características. Esta definición no incluye "contaminantes" o sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales.

3.1.2 *Alimento*. Es toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluidas las bebidas, la goma de mascar y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de "alimentos".

3.1.3 *Alimento artificial*. Es aquel alimento procesado en el cual los ingredientes que lo caracterizan son artificiales.

3.1.4 *Alimentos genéticamente modificados o transgénicos*. Con la denominación de alimentos transgénicos se entiende aquellos alimentos fabricados a partir de organismos genéticamente modificados (OGM) o dicho de otra forma, es aquel alimento en cuyas materias primas se han utilizado técnicas de ingeniería genética.

3.1.5 *Alimento irradiado*. Es el alimento que ha sido tratado con radiación ionizante. Se los conoce también como productos alimenticios irradiados.

3.1.6 *Alimento natural*. Es aquel que se utiliza tal como se presenta en la naturaleza, sin haber sufrido transformación en sus características o composición, salvo las prescritas para la higiene, o las necesarias para la separación de las partes no comestibles.

3.1.7 *Alimento orgánico, biológico, agroecológico o ecológico*. Son los productos alimenticios de origen agropecuario, obtenidos de acuerdo al Reglamento de producción orgánica.

3.1.8 *Alimentos para fines de hostelería*. Son los alimentos destinados a utilizarse en restaurantes, cantinas, escuelas, hospitales e instituciones similares donde se preparan comidas para consumo inmediato.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, productos alimenticios, rotulado, requisitos

3.1.9 Alimento procesado. Es toda materia alimenticia, natural o artificial, que ha sido sometida a las operaciones tecnológicas necesarias que la transforma, modifica y conserva para el consumo humano, puesto a la venta en envases rotulados bajo marca de fábrica determinada. El término alimento procesado se aplica por extensión a bebidas alcohólicas, bebidas no alcohólicas, condimentos, especias que se elaboran o envasan bajo nombre genérico o específico y a los aditivos alimentarios.

3.1.10 Cara (panel) principal de exposición. Parte del envase con mayor posibilidad de ser exhibida, mostrada o examinada.

3.1.11 Cara (panel) secundario de exposición. Corresponde a las áreas del rótulo que se exhiben a más de la cara principal con el fin de proporcionar información adicional sobre el producto.

3.1.12 Coadyuvantes de elaboración. Comprende toda sustancia o materia, que no se consume como un ingrediente alimenticio propio, empleado intencionalmente en la elaboración de un alimento para cumplir un determinado fin tecnológico durante el tratamiento o la elaboración, y que puede dar lugar a la presencia no intencionada, pero inevitable, de residuos o derivados en el producto final.

3.1.13 Código de lote. Modo alfanumérico, alfabético o numérico establecido por el fabricante para identificar el lote.

3.1.14 Contenido neto. Es la cantidad de producto (masa o volumen) sin considerar la tara (masa) del envase.

3.1.15 Consumidor. Toda persona que compra o recibe el producto con el fin de satisfacer sus necesidades personales.

3.1.16 Denominación de origen. Es la denominación geográfica de un país, de una región, o de una localidad específica utilizada para designar a un producto originario de ella y cuyas cualidades o características se deben exclusivamente o esencialmente al medio geográfico en el cual se produce, incluidos los factores naturales y los humanos.

3.1.17 Embalaje. Es la protección al envase y al producto alimenticio mediante un material adecuado con el objeto de resguardarlo de daños físicos y agentes exteriores, facilitando de este modo su manipulación durante el transporte y almacenamiento.

3.1.18 Envase. Es todo material primario (contacto directo con el producto) o secundario que contiene o recubre un producto, y que está destinado a protegerlo del deterioro, contaminación y facilitar su manipulación.

3.1.19 Fecha de fabricación o elaboración. Es la fecha en la que el producto ha sido procesado para transformarlo en el producto descrito.

3.1.20 Tiempo máximo de consumo, fecha de vencimiento, fecha de expiración. Es la fecha en que se termina el período después del cual el producto almacenado en las condiciones indicadas, no tendrá probablemente los atributos de calidad que normalmente esperan los consumidores. Después de esta fecha, no se debe comercializar el producto. Esta fecha es fijada por el fabricante a menos que se indique algo diferente en la norma específica del producto.

3.1.21 Ingrediente. Comprende cualquier sustancia, incluidos los aditivos alimentarios, que se emplee en la fabricación o preparación de un alimento y esté presente en el producto final, aunque posiblemente en forma modificada.

3.1.22 Marca comercial. Comprende todo signo, emblema, logotipo, palabra, frase o designación especial y caracterizada, usada para distinguir productos.

3.1.23 Número de registro sanitario. Es el número asignado por la autoridad competente, a un producto al que se ha emitido el Certificado de Registro Sanitario.

3.1.24 Paquete multiunitario. Es la unidad de expendio al público conformada por varias unidades, con su respectivo envase que lo protege o individualiza.

(Continúa)

3.1.25 Paquete unitario. Es la unidad de expendio al público conformada por el producto, contenido en su propio envase o envoltura.

3.1.26 Producto envasado. Comprende todo producto llenado, envuelto, y/o empaquetado previamente, listo para ofrecerlo al consumidor.

3.1.27 Rotulado (Etiquetado). Cualquier material escrito, impreso o gráfico que contiene el rótulo o etiqueta.

3.1.28 Rótulo (Etiqueta). Se entiende por rótulo cualquier expresión, marca, imagen u otro material descriptivo o gráfico que se haya escrito, impreso, estarcido, marcado, marcado en relieve adherido al envase de un producto, que lo identifica y caracteriza.

4. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

4.1 Los alimentos procesados, envasados y empaquetados no deben describirse ni presentarse con un rótulo o rotulado en una forma que sea falsa, equivoca o engañosa, o susceptible de crear en modo alguno una impresión errónea respecto de su naturaleza.

4.2 Los alimentos procesados envasados y empaquetados no deben describirse ni presentarse con un rótulo o rotulado en los que se empleen palabras, ilustraciones u otras representaciones gráficas que hagan alusión a propiedades medicinales, terapéuticas, curativas, o especiales que puedan dar lugar a apreciaciones falsas sobre la verdadera naturaleza, origen, composición o calidad del alimento.

4.3 En aquellos alimentos o productos alimenticios que contengan saborizantes/aromatizantes (saborizante/aromatizante natural, saborizante/aromatizante idéntico a natural y/o saborizante/aromatizante artificial), se admitirá la representación gráfica del alimento o sustancia cuyo sabor caracteriza al producto, aunque éste no lo contenga, debiendo acompañar el nombre del alimento con las expresiones: "sabor artificial...", "saborizante artificial...", "saborizado artificialmente...", "aroma artificial..." o "aromatizante artificial..." llenando el espacio en blanco con el nombre del sabor o sabores caracterizantes, con caracteres del mismo tamaño, en idéntico color, realce y visibilidad.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos obligatorios. En el rótulo del producto envasado debe aparecer la siguiente información según sea aplicable:

5.1.1 Nombre del alimento

5.1.1.1 El nombre debe indicar la verdadera naturaleza del alimento, y normalmente, debe ser específico y no genérico, de acuerdo a las siguientes instrucciones:

- a) Cuando se hayan establecido uno o varios nombres para un alimento, se debe utilizar por lo menos uno de estos nombres o el nombre prescrito por la legislación nacional.
- b) Cuando no se disponga de tales nombres, se debe utilizar un nombre común o usual, consagrado por el uso corriente como término descriptivo apropiado, que no induzca a error o a engaño al consumidor.
- c) Se podrá emplear un nombre "acuñado", de "fantasía" o "de fábrica", o una "marca registrada", siempre que vaya acompañado de uno de los nombres indicados en los literales a) y b).

5.1.1.2 En la cara principal de exhibición del rótulo, junto al nombre del alimento, en forma legible, aparecerán las palabras o frases adicionales necesarias para evitar que se induzca a error o engaño al consumidor con respecto a la naturaleza, origen y condición física auténticas del alimento que incluyen pero no se limitan al tipo de medio de cobertura, la forma de presentación o su condición o el tipo de tratamiento al que ha sido sometido, por ejemplo, deshidratación, concentración, reconstitución, ahumado, etc.

(Continúa)

5.1.2 Lista de Ingredientes

5.1.2.1 Debe declararse la lista de Ingredientes, salvo cuando se trate de alimentos de un único Ingrediente, de acuerdo a las siguientes instrucciones:

- a) La lista de Ingredientes debe ir encabezada o precedida por el título: Ingredientes.
- b) Deben declararse todos los Ingredientes por orden decreciente de proporciones en el momento de la elaboración del alimento; incluidas las bebidas alcohólicas y cocteles
- c) Cuando un Ingrediente sea a su vez producto de dos o más Ingredientes, dicho Ingrediente compuesto puede declararse como tal en la lista de Ingredientes, siempre que vaya acompañado inmediatamente de una lista entre paréntesis de sus Ingredientes por orden decreciente de proporciones.
- d) Cuando un Ingrediente compuesto, para el que se ha establecido un nombre en otra NTE INEN o en la legislación nacional vigente, constituya menos del 5 % del alimento, no será necesario declarar los Ingredientes, salvo los aditivos alimentarios que desempeñan una función tecnológica en el producto elaborado.
- e) En la lista de Ingredientes debe indicarse el agua añadida, excepto cuando el agua forme parte de Ingredientes tales como la salmuera, el jarabe o el caldo empleados en un alimento compuesto y declarados como tales en la lista de Ingredientes. No será necesario declarar el agua u otros Ingredientes volátiles que se evaporan durante la elaboración.
- f) Como alternativa a estas disposiciones, cuando se trate de alimentos deshidratados o condensados destinados a ser reconstituídos, podrán enumerarse sus Ingredientes por orden decreciente de proporciones en el producto reconstituído, siempre que se incluya una indicación como la siguiente: "Ingredientes del producto cuando se prepara según las Instrucciones del rótulo".

5.1.2.2 En la lista de Ingredientes debe emplearse un nombre específico de acuerdo con lo señalado en el numeral 5.1.2.1, con las siguientes excepciones:

- a) Pueden emplearse los siguientes nombres genéricos para los Ingredientes que pertenecen a la clase correspondiente, como se indica en la tabla 1:

(Continua)

TABLA 1. Nombres genéricos correspondientes a Ingredientes

Clases de ingredientes	Nombres genéricos
Aceites refinados distintos del aceite de oliva	"Aceite", junto con el término "vegetal" o "animal", calificado con el término "hidrogenado" o "parcialmente hidrogenado", según sea el caso.
Grasas refinadas	"Grasas" junto con el término "vegetal", o "animal", o "compuesta", según sea el caso.
Almidones, distintos de los almidones modificados químicamente.	"Almidón", o "Fécula"
Todas las especies de pescado, cuando el pescado constituya un ingrediente de otro alimento y siempre que en el rótulo y la presentación de dicho alimento no se haga referencia a una determinada especie de pescado.	"Pescado"
Todos los tipos de queso de origen vacuno, cuando el queso o una mezcla de quesos constituya un ingrediente de otro alimento y siempre que en el rótulo y la presentación de dicho alimento no se haga referencia a un tipo específico de queso.	"Queso"
Todas las especias y extractos de especias en cantidad no superior al 2 % en peso, solas o mezcladas en el alimento.	"Especia", "especias", o "mezclas de especias", según sea el caso.
Todas las hierbas aromáticas o partes de hierbas aromáticas en cantidad no superior al 2 % en peso, solas o mezcladas en el alimento.	"Hierbas aromáticas" o mezclas de hierbas aromáticas", según sea el caso.
Todos los tipos de preparados de goma utilizados en la fabricación de la goma base para la goma de mascar.	"Goma base"
Todos los tipos de Sacarosa	"Azúcar"
Dextrosa anhidra y dextrosa monohidratada	"Dextrosa" o "glucosa"
Todos los tipos de caseinatos	"Caseinatos"
Productos lácteos que contienen un mínimo de 50 por ciento de proteína láctea (m/m) en el extracto seco*	"Proteína láctea"
Manteca de cacao obtenida por presión, extracción o refinada	"Manteca de cacao"
Todas las frutas confitadas, sin exceder del 10% del peso del alimento	"Frutas confitadas"

* Cálculo del contenido de proteína láctea: nitrógeno (determinado mediante el principio de Kjeldahl) x 6,38

b) Se ha comprobado que los siguientes alimentos e ingredientes causan hipersensibilidad y deben declararse como tales: (ver Anexo C).

- Cereales que contienen gluten; por ejemplo: trigo, centeno, cebada, avena, espelta o sus cepas híbridas, y productos de éstos;
- crustáceos y sus productos;
- huevos y los productos de los huevos;
- pescado y productos pesqueros;
- maní, soya y sus productos;
- leche y productos lácteos (Incluida lactosa);
- nueces de árboles y sus productos derivados;
- sulfito en concentraciones de 10 mg/kg o más.

c) No obstante lo señalado en la disposición a), deben declararse siempre por sus nombres específicos la grasa (manteca) de cerdo, la manteca y la grasa de bovino.

(Continúa)

d) Cuando se trate de aditivos alimentarios pertenecientes a las distintas clases y que figuran en la lista de aditivos alimentarios, cuyo uso se permite en los alimentos en general, deben emplearse los siguientes nombres genéricos con el nombre específico, o con el número Internacional de Identificación de aditivos alimentarios, ver NTE INEN 2 074.

Reguladores de acidez	Agente de tratamiento de las harinas
Antiaglutinantes	Espumantes
Antiespumantes	Agentes gelificantes
Antioxidantes	Agentes de glaseado
Decolorantes	Humentantes
Incrementadores de volumen	Sustancias conservadoras
Gasificantes	Propulsores
Colorantes	Leudantes
Agentes de retención del color	Secuestrantes
Emulsionantes	Estabilizadores
Sales emulsionantes	Edulcorantes
Agentes endurecedores	Espesantes
Acentuadores del sabor	

EJEMPLO Espesantes ó gelificantes: (pectina,)

e) Podrán emplearse los siguientes nombres genéricos cuando se trate de aditivos alimentarios que pertenezcan a las respectivas clases y que figuren en las listas positivas de aditivos alimentarios de la NTE INEN 2 074,:

Aroma(s) ó aromatizante(s) ó Sabor(es) - Saborizante(s)
Almidón(es) modificado(s)

La expresión "aroma", "aromatizante", "sabor" o "saborizante" debe estar calificada con los términos "naturales", "idénticos a los naturales", "artificiales" o con una combinación de los mismos, según corresponda.

5.1.2.3 Coadyuvantes de elaboración y transferencia de aditivos alimentarios:

- a) Todo aditivo alimentario que, por haber sido empleado en las materias primas u otros ingredientes de un alimento, se transfiera a este alimento en cantidad notable o suficiente para desempeñar en él una función tecnológica, debe ser incluido en la lista de ingredientes.
- b) Los aditivos alimentarios transferidos a los alimentos en cantidades inferiores a las necesarias para lograr una función tecnológica, y los coadyuvantes de elaboración, están exentos de la declaración en la lista de ingredientes. Esta exención no se aplica a los aditivos alimentarios y coadyuvantes de elaboración mencionados 5.1.2.2 b)

5.1.3 Contenido neto y masa escurrida (peso escurrido)

5.1.3.1 Debe declararse en el panel principal el contenido neto en unidades del Sistema Internacional SI (ver nota 1) (ver anexo A), en la siguiente forma:

- a) en volumen, para los alimentos líquidos
- b) en masa, para los alimentos sólidos
- c) en masa o volumen, para los alimentos semisólidos o viscosos

5.1.3.2 Además de la declaración del contenido neto, en los alimentos envasados en un medio líquido, debe indicarse en unidades del Sistema Internacional la masa escurrida (ver nota 2) (peso escurrido, masa drenada) del alimento. A efectos de este requisito, por medio líquido se entiende: agua, soluciones acuosas de azúcar o sal, jugos de frutas y hortalizas (únicamente en frutas y hortalizas en conserva), o vinagre solos o mezclados.

NOTA 1. La declaración del contenido neto representa la cantidad en el momento del empaquetado, referida a un sistema de control de calidad promedio.

NOTA 2. La declaración de la masa escurrida debe ser aplicada por referencia a un sistema de control de la cantidad media.

(Continua)

5.1.3.3 Para los productos alimenticios que por su naturaleza tienen masa variable (pollos, pavos, pechugas, cortes de carne, legumbres, frutas, etc.), el contenido neto corresponderá a un rango declarado

5.1.4 Identificación del fabricante, envasador, importador o distribuidor

5.1.4.1 Debe indicarse el nombre del fabricante, envasador o propietario de la marca; en el caso de productos importados además debe indicarse el nombre y la dirección del importador y/o distribuidor o representante legal del producto.

5.1.4.2 Cuando un alimento no es fabricado por la persona natural o jurídica cuyo nombre aparece en la etiqueta, el nombre debe calificarse por una frase que revele la conexión que tal persona tiene con el alimento: como "Fabricado por___", "Distribuido por___" o cualquier otra palabra que exprese el caso.

5.1.5 Ciudad y país de origen

5.1.5.1 Debe indicarse la ciudad o localidad (para zonas rurales) y el país de origen del alimento.

5.1.5.2 Para identificar el país de origen puede utilizarse una de las siguientes expresiones: fabricado en....., producto....., ó Industria.....

5.1.5.3 Cuando un alimento se someta en un segundo país a una elaboración que cambie su naturaleza, el país en el que se efectúe la elaboración debe considerarse como país de origen para los fines del rotulado.

5.1.6 Identificación del lote

5.1.6.1 Cada envase debe llevar impresa, grabada o marcada o de cualquier otro modo, pero de forma indeleble, un código precedido de la letra "L" o de la palabra "Lote", que permita la trazabilidad del lote.

5.1.7 Marcado de la fecha e instrucciones para la conservación

5.1.7.1 Si no está determinado de otra manera en una norma específica de producto, regirá el siguiente marcado de la fecha:

- a) Se declarará la fecha máxima de consumo o fecha de vencimiento
- b) La fecha máxima de consumo o fecha de vencimiento constarán por lo menos de:
 - el mes y el día para los productos que tengan una fecha máxima de consumo no superior a tres meses,
 - el año y el mes para productos que tengan una fecha máxima de consumo de más de tres meses.
- c) La fecha debe declararse de manera legible, visible e indeleble mediante una de las siguientes expresiones o sus equivalentes:
 - Consumir preferentemente antes de.....
 - Vence.....
 - Consumase antes de.....
 - Fecha de expiración.....
 - Expira ó Exp.....
 - Tiempo máximo de consumo..... (debiendo declararse en este caso la fecha de elaboración del alimento)
- d) Las expresiones mencionadas en el literal c) deben ir acompañadas de la fecha misma o de una referencia al lugar del envase en donde aparezca la fecha.
- e) El año, mes y día deben declararse en orden numérico o alfanumérico no codificado,

(Continua)

f) No obstante lo prescrito en el numeral 5.1.7.1 a), no se requerirá la indicación de la fecha de duración máxima o de vencimiento para:

- Frutas y vegetales frescos, que no hayan sido pelados, cortados o tratados de otra forma análoga;
- vinos, vinos de licor, vinos espumosos, vinos aromatizados, vinos de frutas y vinos espumosos de frutas sólo en envases de vidrio;
- bebidas alcohólicas que contengan el 10 % o más de alcohol por volumen, solo en envases de vidrio;
- productos de panadería y pastelería que, por la naturaleza de su contenido, se consuma por lo general dentro de las 24 horas siguientes a su fabricación;
- vinagre, solo en envases de vidrio;
- sal para consumo humano.

5.1.7.2 Además de la fecha de duración máxima o de vencimiento, se debe indicar en el rótulo, cualquier condición especial que se requiera para la conservación del alimento, si de su cumplimiento depende la validez de la fecha.

5.1.8 Instrucciones para el uso

5.1.8.1 El rótulo debe contener las instrucciones que sean necesarias sobre el modo de empleo, incluida la reconstitución, si el caso lo amerita, para asegurar una correcta utilización del alimento.

5.1.9 Alimentos irradiados

5.1.9.1 El rótulo de un alimento que haya sido tratado con radiación ionizante debe llevar una declaración escrita indicativa del tratamiento, cerca del nombre del alimento. El uso del símbolo Internacional indicativo de que el alimento ha sido irradiado, según se muestra en la figura 1, es facultativo, pero cuando se utilice deberá colocarse cerca del nombre del producto.

FIGURA 1. Símbolo Internacional de alimento irradiado



5.1.9.2 Cuando un producto irradiado se utilice como ingrediente en otro alimento, debe declararse esta circunstancia en la lista de ingredientes.

5.1.9.3 Cuando un producto que consta de un solo ingrediente se prepara con materia prima irradiada, el rótulo del producto debe contener una declaración que indique el tratamiento.

5.1.10 Alimentos modificados genéticamente o transgénicos

5.1.10.1 Si los productos de consumo humano a comercializarse han sido obtenidos o mejorados mediante manipulación genética, se indicará de tal hecho en la etiqueta del producto, en letras debidamente resaltadas: "ALIMENTO MODIFICADO GENÉTICAMENTE".

5.1.10.2 Cuando un alimento modificado genéticamente o transgénico se utilice como ingrediente en otro alimento, debe declararse esta circunstancia en la lista de ingredientes, en el cual deberá ir el porcentaje del ingrediente transgénico.

(Continúa)

5.1.11 **Registro sanitario.** En el rótulo de los alimentos procesados, envasados y empaquetados, en un lugar visible y legible debe aparecer el Número del Registro Sanitario expedido por la autoridad sanitaria competente.

5.2 **Bebidas alcohólicas**

5.2.1 Debe declararse el contenido alcohólico en % de volumen de alcohol.

5.2.2 En la etiqueta de las bebidas alcohólicas debe aparecer el siguiente texto: "Advertencia. El consumo excesivo de alcohol limita su capacidad de conducir y operar maquinarias, puede causar daños en su salud y perjudica a su familia". "Ministerio de Salud Pública del Ecuador". "Venta prohibida a menores de 18 años".

5.2.3 En el caso de bebidas alcohólicas con contenido alcohólico de 5 % v/v o menos, debe contener el siguiente mensaje: "Advertencia: "El consumo excesivo de alcohol puede perjudicar su salud. Ministerio de Salud Pública del Ecuador".

5.3 **Excepciones de los requisitos de rotulado obligatorios**

5.3.1 Los productos que por su naturaleza o por el tamaño de las unidades en que se expendan o suministren, no puedan llevar rótulo en el envase, o cuando lo lleven no puedan contener todas las leyendas señaladas en la presente norma, lo llevarán en el empaque que contenga dichas unidades.

5.3.2 Unidades pequeñas en las que la superficie más amplia sea inferior a 10 cm² podrán quedar exentas de los requisitos sobre: lista de Ingredientes, identificación de lote, marcado de las fechas, instrucciones para la conservación y uso; se exceptúan de estos requisitos a las hierbas aromáticas y especias.

5.4 **Idioma**

5.4.1 La Información obligatoria del rótulo, de la presente norma, debe presentarse en idioma castellano, aceptándose que adicionalmente se repita ésta en otro idioma.

5.5 **Presentación de la información obligatoria**

5.5.1 A más de la etiqueta original en los productos importados se podrá adicionar un rótulo o etiqueta adhesiva con toda la información obligatoria en castellano.

5.5.2 Para productos de fabricación nacional, se podrá adherir un rótulo o etiqueta adicional en la que se consigne la información de uno o varios de los siguientes aspectos: precio de venta al público, identificación del lote, o fechas de fabricación y vencimiento. Estas etiquetas deben incluir el logo o marca del fabricante, que responsabilice que las mismas han sido incorporadas por éste.

5.5.3 La información del rótulo o etiqueta, debe indicarse con caracteres claros, visibles, indelebles y fáciles de leer por el consumidor en circunstancias normales de compra y uso.

5.5.4 Cuando el envase esté cubierto por una envoltura, en ésta debe figurar toda la información necesaria o el rótulo aplicado al envase debe leerse fácilmente a través de la envoltura exterior y no debe estar oculto por ésta.

5.5.5 El tamaño de los rótulos debe guardar una relación adecuada respecto del tamaño del envase, y a su vez el área de la cara principal del rótulo, debe guardar proporcionalidad con el tamaño del envase, de modo que el contenido en el mismo sea fácilmente legible en condiciones de visión normal.

5.5.6 El nombre y contenido neto del alimento deben aparecer en un lugar prominente y en el mismo campo de visión de la cara principal de exposición del rótulo. El tamaño de las letras y números debe ser proporcional al área de la cara principal de exposición. (ver Anexo B).

(Continua)

5.6 Requisitos de rotulado facultativo

5.6.1 En el rotulado podrá presentarse cualquier información o representación gráfica, así como materia escrita, impresa o gráfica, siempre que no esté en contradicción con los requisitos obligatorios de la presente norma.

5.6.2 Designaciones de calidad

5.6.2.1 Cuando se empleen designaciones de calidad, éstas deben ser fácilmente comprensibles, y no deben ser equívocas o engañosas en forma alguna.

5.6.2.2 La declaración de nutrientes y/o información nutricional complementaria debe ceñirse a lo dispuesto en la NTE INEN 1 334-2.

5.7 Declaración cuantitativa de los ingredientes

5.7.1 En todo alimento que se venda como mezcla o combinación, se debe declarar el porcentaje de ingrediente, con respecto al peso o al volumen, en el producto terminado (incluyendo los ingredientes compuestos (ver nota 3) o categorías de ingredientes (ver nota 4)), cuando el ingrediente:

- (a) es enfatizado en la etiqueta como presente, por medio de palabras o imágenes o gráficos; o
- (b) no figura en el nombre del alimento, es esencial para caracterizar al alimento, y los consumidores asumen su presencia en el alimento si la omisión de la declaración cuantitativa de ingredientes fuera a engañar o llevar a error a los consumidores.

estas declaraciones no se requieren cuando:

- (c) el ingrediente es utilizado en pequeñas cantidades para propósitos aromatizantes, saborizantes; o
- (d) reglamentos normas específicas de los productos estén en conflicto con los requisitos aquí descritos.

5.7.2 La información requerida en el numeral 5.7.1 se debe declarar en la etiqueta del producto como un porcentaje numérico.

5.7.2.1 El porcentaje del ingrediente, por peso o volumen, de cada ingrediente, se colocará en la etiqueta muy cerca de las palabras o imágenes o gráficos que destacan el ingrediente particular, o al lado del nombre común del alimento, o adyacente a cada ingrediente apropiado enumerado en la lista de ingredientes como un porcentaje mínimo cuando el énfasis es sobre la presencia del ingrediente, y como un porcentaje máximo cuando el énfasis es sobre el bajo nivel del ingrediente.

NOTA 3. Para los ingredientes compuestos, el porcentaje de insumo significa el porcentaje del ingrediente compuesto tomado como un todo

NOTA 4. Para los propósitos de la Declaración Cuantitativa de Ingredientes, "categoría de ingredientes" significa el término genérico que se refiere al nombre de clase de un ingrediente y/o cualquier término o términos comunes similares utilizados en referencia al nombre de un alimento.

(Continúa)

ANEXO A
(Informativo)

TABLA A.1 Unidades del Sistema Internacional que deben usarse para la declaración de contenido neto

MEDIDA	UNIDAD	SIMBOLO
Volumen	metro cúbico	m ³
	centímetro cúbico	cm ³
	milímetro cúbico	mm ³
	litro*	l
	mililitro	ml
Masa	Kilogramo	kg
	Gramo	g
	Miligramo	mg
	Microgramo	µg

* Si se declara 1 litro se utiliza la letra "L"

A.2 Cuando se use el símbolo de la unidad de medida para la declaración del contenido neto, éste deberá aparecer conforme al indicado en la tabla A. 1.

(Continua)

**ANEXO B
(Informativo)**

**DIMENSIONES DE LAS LETRAS Y NÚMEROS PARA LA DECLARACIÓN DEL NOMBRE DE
CONTENIDO NETO DEL ALIMENTO**

B.1 Área del panel principal de exhibición. Están excluidas las caras superior e inferior, bordes en las caras superior e inferior de las latas, y soportes o cuellos de las botellas y jarras; se determina como sigue:

B.1.1 En el caso de un empaque rectangular, donde un lado completo pueda ser propiamente considerado como el lado del panel principal de exhibición será el resultado de multiplicar la altura por el ancho del lado mencionado.

B.1.2 En el caso de un recipiente cilíndrico, será el cuarenta por ciento (40 %) del resultado de multiplicar la altura del recipiente por su circunferencia; y

B.1.3 En el caso de cualquier otra forma de recipiente, cuarenta por ciento (40 %) de la superficie total del recipiente; conviniendo, sin embargo, que cuando tal recipiente presenta un "panel principal de exhibición" obvio, el área consistirá de la superficie completa.

Ejemplos de tamaños de caracteres ⁽¹⁾:

Área de la cara principal de exhibición en cm ²	Altura mínima de los números, letras y símbolos en mm	Altura mínima de información del rótulo soplado, formado o moldeado sobre la superficie del envase en mm
hasta 32	1,6	3,2
32 a 161	3,2	4,8
161 a 645	4,8	6,4
645 a 2 581	6,4	7,9
2 581 en adelante	12,7	14,3

⁽¹⁾ En los Estados Unidos de América, la Conferencia Nacional de Pesas y Medidas (Manual NBS 130, 1996, p. 60), adoptó estas alturas mínimas para números y letras para la declaración impresa del contenido neto.

B.2 Altura mínima de números, letras y símbolos para expresar el contenido neto en función de la masa o del volumen del producto⁽²⁾.

Contenido neto	Altura mínima de números, símbolos y letras (mm)
Igual o menor que 50 g o (cm ³)	2
Mayor que 50 g o (cm ³) hasta 200 g o (cm ³)	3
Mayor que 200 g o (cm ³) hasta 1 kg o (l)	4
Mayor que 1 kg o (l) en adelante	6

⁽²⁾ El Consejo Directivo de la Comunidad Europea 76/211/EEC prescribe el tamaño mínimo de los caracteres con relación al contenido neto.

(Continúa)

**ANEXO C
(Normativo)**

DECLARACIONES OBLIGATORIAS

C.1 En la etiqueta debe aparecer la expresión "CONTIENE" (Inmediatamente después o junto a la lista de Ingredientes, en un tamaño que no sea menor al utilizado en la misma), cuando el alimento tiene como aditivo o ingrediente:

Tartrazina	"CONTIENE TARTRAZINA"
Aspartame	"FENILCETONURICOS: CONTIENE FENILALANINA"
Cereales con gluten	"CONTIENE GLUTEN"
Crustáceos y sus productos	"CONTIENE CRUSTÁCEOS"
Huevos y sus productos	"CONTIENE HUEVO"
Pescado y sus productos	"CONTIENE PESCADO"
Maní, soya y sus productos	"CONTIENEN MANÍ" "CONTIENE SOYA"
Leche y sus productos (Incluida lactosa)	"CONTIENE LECHE" "CONTIENE LACTOSA" "CONTIENE...)" "el espacio en suspensivos debe llenarse con los derivados
Nueces de árboles y derivados	"CONTIENE NUECES,..."

C.2 Declaraciones obligatorias adicionales

ASPARTAME	"NO USAR PARA COCINAR U HORNEAR"
Cuando la Ingesta diaria del producto terminado, aporte un consumo igual o mayor a 50 g de Sorbitol, 20 g de manitol o 90 g de otros polialcoholes	"EL CONSUMO EN EXCESO DE SORBITOL, MANITOL Y/O POLIALCOHOLES PUEDE CAUSAR EFECTO LAXANTE"
Cuando el contenido de Sulfito en el producto terminado sea igual o supere los 10 mg/kg	"CONTIENE SULFITO"

C.3 Esta lista no limita el uso de esta expresión para otros aditivos o Ingredientes.

(Continúa)

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2	<i>Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Etiquetado nutricional. Requisitos</i>

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas Alimentarias COMISION DEL CODEX ALIMENTARIUS
Norma General para el Etiquetado de los alimentos preenvasados Codex Stan 1-1985, Rev. 1-1991, enmendada en: 1999, 2001, 2003, 2010.

REGLAMENTO A LA LEY DE DEFENSA DEL CONSUMIDOR. Decreto Ejecutivo No. 1314. RO/ 287 de 19 de Marzo del 2001

LEY ORGÁNICA DE DEFENSA AL CONSUMIDOR. Ley No. 21. RO/ Sup 116 de 10 de Julio del 2000

REGLAMENTO DE ALIMENTOS. Decreto Ejecutivo 4114, Registro Oficial 984 de 22 de Julio de 1988.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 1334-1 Tercera revisión	TÍTULO: ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO HUMANO. PARTE I. REQUISITOS	Código: AL 01.05-401
--	--	--------------------------------

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Directorio 2008-07-23 Oficialización con el Carácter de por Acuerdo No. 090-2008 de 2008-07-24 Registro Oficial No. 403 de 2008-08-14
	Fecha de iniciación del estudio: 2010-05

Fechas de consulta pública: de	a
--------------------------------	---

Comité Técnico: ROTULADO PRODUCTOS ALIMENTICIOS

Fecha de iniciación: 2010-07-08

Integrantes del Subcomité Técnico:

NOMBRES:

Ing. Juan José Vaca (Presidente)
Dr. Aaron Redrovan
Dr. Edison Vera
Dr. Santiago Mosquera
Ing. Fernando Jarín
Dra. Mónica Sosa
Dra. Ana María Hidalgo
Ing. Lorena Tapia
Dr. David Villegas
Dr. Rafael Vizcarra
Dra. Katya Yápez
Dr. German Robayo
Ing. Yolanda Lara
Ing. Verónica Figuera
Ing. Silvia Valencia
Dr. Pablo López
Dra. Mirella Urdales
Dra. Loyde Triana
Dra. Silvia Flores
Dra. Cecilia Zamora
Dra. Alexa Zambrano
Dra. Carmen Gallardo
Eco. Mireya Tapia
Sr. Raúl García
Dra. Indira Delgado
Ing. Susana Robalino
Dra. Janet Córdova
Dra. Ana Lucía Viruza
Dra. Alexandra Levoyer
Dra. Diana Gernica
Dr. Paul Fuentes
Ing. Washington Ulloa
Ing. Martín Fierro
Dra. María de los Ángeles Coronel
Ing. Diego Zárate
Dra. Nelly Moreno
Dra. Linda Roffio
Dra. Mónica Quimato
Dra. Belem Marzano
Tiga. Teresa Pérez
Dr. Leonardo Jurado
Ing. Luis Sánchez
Dra. Elizabeth Uribe
Ing. Susana Robalino
Ing. Clara Benevides
Ing. Carmen Carlión
Dra. Catherine Pacheco
Dra. Lorena Varela
Tiga. Odelay Mendoza
Dra. Lucía Colem
Ing. Lucía Orozco
Dra. Martha Vega
Dra. Verónica Chiliboga
Dra. Adriana Bolaños
Dra. Mónica Villar

Ing. Silvana Torres
Ing. María E. Dévalos (Secretaría Técnica)
Comité Interno 2011-03-10
Ing. Mauricio Almirante (Presidente del Comité Interno)
Ing. Elizabeth Guerra
Ing. Enrique Troya
Ing. Fausto Lara
Ing. María E. Dévalos (Secretaría Técnica)

Otros trámites:

El Directorio el INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de

Oficializada como: Voluntaria
Registro Oficial No. de 481 de 2011-06-30

Fecha de aprobación: 2011-02-17

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

KRAFT FOODS ECUADOR
PRONACA
ECUDOS
FALCONI PUIG ABOGADOS
CONFITECA
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Quito
UNIVERSIDAD CENTRAL LABORATORIO OSP
MIPRO – DIDECO
MIPRO
CIL ECUADOR
NESTLÉ ECUADOR
HEALTHLAW
MINISTERIO DE SALUD – SISTEMA ALIMENTOS
ALIMEC S.A.
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
MINISTERIO DE SALUD – NUTRICION
LA FABRIL
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Guayaquil
INDUSTRIAS LÁCTEAS TONI S.A.
INDUSTRIAS LÁCTEAS TONI S.A.
INDUSTRIAS LÁCTEAS TONI S.A.
BUSTAMANTE & BUSTAMANTE
COOPERACIÓN FAVORITA C.A.
ECUASAL
ALPINA ECUADOR
PEPSICO ALIMENTOS ECUADOR
PARTICULAR
UNILEVER ANDINA
ECUAREFRESCOS S.A.
INDUSTRIAS LÁCTEAS TONI S.A.
BUSTAMANTE & BUSTAMANTE
ILSA
ILSA
NESTLÉ ECUADOR
LA FABRIL
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Quito
DIRECCIÓN PROVINCIAL DE SALUD DE PICHINCHA
DIRECCIÓN PROVINCIAL DE SALUD DE PICHINCHA
SIPIA
LEVAPAN DEL ECUADOR S.A.
QUIFATEX S.A.
DIRECCIÓN PROVINCIAL DE SALUD DE PICHINCHA
THE TESALIA SPRINGS COMPANY
PEPSICO ALIMENTOS ECUADOR
GRANOTEC
FUNDACIÓN MOCH
CORRAL ROSALES – ABOGADOS
PRONACA
PEPSICO ALIMENTOS ECUADOR
GRUPO MODERNA
PEPSICO ALIMENTOS ECUADOR
CADBURY
FALCONI PUIG ASOCIADOS
PFIZER CIA. LTDA.
UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO, DEPARTAMENTO
DE NUTRICION
INEN
INEN
DIRECCIÓN DE SERVICIOS TECNOLÓGICOS
DIRECCIÓN DE CERTIFICACIÓN
DIRECCIÓN DE VERIFICACIÓN
DIRECCIÓN DE NORMALIZACIÓN
REGIONAL CHIMBORAZO

Por Resolución No. 11 136 de 2011-05-20