

FOLIO DE
BASES

CÓDIGO
(uso interno)

BIOT-01-A 026

1. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO

NOMBRE DEL PROYECTO:

Biosíntesis de Fructooligosacáridos (FOS) a partir de fuentes enzimáticas vegetales y bacterianas para producción animal.

Línea Temática:

Agricultura y
Ganadería

Rubro:

Agrícola

Región(es) de Ejecución:

Región Metropolitana

Fecha de Inicio:

20-12-01

Fecha de Término:

30/08/2004

DURACIÓN:

33 meses

AGENTE POSTULANTE:

Nombre : Apablaza y Santalices Ltda.

Dirección :

Ciudad y Región: Santiago, RM.

RUT :

Teléfono :

Fax y e-mail:

Cuenta Bancaria (tipo, N°, banco):

AGENTES ASOCIADOS: Biofrut S.A.

Bioprocesos S.A.

REPRESENTANTE LEGAL DEL AGENTE POSTULANTE:

Nombre: Mónica M. Santalices Arufe.

Cargo en el agente postulante: Bioquímico

RUT:

Dirección:

Fono:

COSTO TOTAL DEL PROYECTO

(Valores Reajustados) : \$

FINANCIAMIENTO SOLICITADO

(Valores Reajustados) : \$

APORTE DE CONTRAPARTE

(Valores Reajustados) : \$

APABLAZA Y SANTALICES LTDA.





2. EQUIPO DE COORDINACIÓN Y EQUIPO TÉCNICO DEL PROYECTO

2.1. Equipo de coordinación del proyecto

(presentar en Anexo A información solicitada sobre los Coordinadores)

COORDINADOR DEL PROYECTO		
NOMBRE	RUT	
Mónica Matilde Santalices Arufe		
AGENTE	DEDICACIÓN	
Apablaza y Santalices Ltda.	PROYECTO (%/año)	
	30%	
CARGO ACTUAL	CASILLA	
Bioquímico, Jefe de Laboratorios		
DIRECCIÓN	CIUDAD	
	Santiago	
FONO	FAX	E-MAIL
COORDINADOR ALTERNO DEL PROYECTO		
NOMBRE	RUT	
Raúl Cañas Cruchaga		
AGENTE		
Bioprocesos Chile S.A.		
CARGO ACTUAL	CASILLA	
Gerente de Desarrollo		
DIRECCIÓN	CIUDAD	
	Santiago	
FONO	FAX	EMAIL

APABLAZA Y SANTALICES LTDA.





2.2 . Equipo Técnico del Proyecto

(presentar en Anexo A información solicitada sobre los miembros del equipo técnico)

Nombre Completo y Firma	RUT	Profesión	Especialidad	Función y Actividad en el Proyecto	Dedicación al Proyecto (%/año)
Mónica Santalices		Bioquímico	Desarrollo e implementación de técnicas analíticas y de cultivos vegetales.	Etapa de micropropagación, desarrollo de bio-reactor de FOS. Coordinación general del proyecto	30%
Raúl Cañas		Ing. Agrónomo M.Sc. PhD.	Nutrición y Producción animal.	Acondicionamiento y Desarrollo de productos para alimentación animal	15%
Nibaldo del Carmen Apablaza Reyes		Químico	Desarrollo de procesos y equipamiento especializado.	Etapa de micropropagación, desarrollo de bio-reactor de FOS	10%
BIOFRUT					11%
TECNICO BIOFRUT					17%
ING AGRÓNOMO VEGETAL					23%
TÉCNICO LAB					15%



3. BREVE RESUMEN DEL PROYECTO

(Completar esta sección al finalizar la formulación del Proyecto)

A través del presente proyecto se buscará desarrollar una vía alternativa eficiente y estable en la de obtención de fructooligosacáridos (FOS) en el país. Los fructooligosacáridos son azúcares presentes en alta concentración en algunas especies vegetales que tienen el atributo de ser prebióticos, esto es de favorecer la flora bacteriana positiva en animales monogástricos, representando de esta manera importantes ventajas en los sistemas productivos de aves y cerdos que son altamente intensivos.

En Chile, actualmente la única alternativa existente para obtener FOS es a partir de la cosecha de tubérculos de topinambur, sin embargo el principal inconveniente de esto es la necesidad de esperar que ocurra la transformación desde inulina en el tubérculo durante un período variable de almacenaje en campo, durante el cual es necesario monitorear las variaciones en los niveles de hidratos de carbono que ocurren internamente.

A nivel mundial existen dos empresas que obtienen estos productos, lográndolo a partir del cultivo de achicoria y presentando una producción estacional. La gran ventaja de lograr éxito con el sistema propuesto es la posibilidad de producir FOS de manera controlada incorporándose a un mercado de creciente demanda mundial que hasta el momento se encuentra sub-abastecido.

Los componentes principales del proyecto corresponden a un laboratorio de análisis y servicios agropecuarios, con gran experiencia en propagación de especies vegetales a través de medios biotecnológicos como es Apablaza y Santalices Ltda., dos empresas con experiencia en el desarrollo de productos de innovación, una de ella con el premio a la innovación FIA 2000 (Bioprocesos Chile S.A.) y la otra con experiencia en el cultivo de topinambur y obtención de inulina (Biofrut).

El proyecto incluye la obtención de fuentes enzimáticas a partir de bacterias y cultivos celulares para desarrollar un bio-reactor capaz de transformar inulina en FOS, de esta manera se buscará desarrollar un sistema de producción masiva y replicable (unidad prototipo). Para el logro de este objetivo será utilizado el Topinambur como materia prima para la obtención de FOS. El proyecto además contempla una etapa de desarrollo de productos FOS dirigidos a los mercados de interés y la transferencia de los resultados hacia productores agrícolas y empresas y profesionales relacionados.

Es así como se pretende incorporar una alternativa de gran interés para productores agrícolas, que podrán abastecer a un sistema productivo estable en el tiempo para obtener un producto (FOS) con demanda creciente para uso en alimentación animal y potencial en humanos.





4. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA A RESOLVER

Uno de los mayores problemas en la producción de alimentos de origen animal actualmente tiene relación con la dificultad de controlar las enfermedades y a la vez mantener una alta calidad y rendimiento. Una alternativa con interesantes proyecciones es la aplicación de sustancias, denominados prebióticos, dentro de los que se encuentran los fructooligosacáridos, estos corresponden a hidratos de carbono, y su acción consiste en la inducción y estímulo de los mecanismos propios de defensa del animal. A través de la regulación de las poblaciones de microorganismos que se desarrollan en el organismo del animal, activan una serie de mecanismos que lo protegen de posibles enfermedades. Esta promoción implica la activación de una cascada de factores de resistencia sistémica inducida, es decir, se promueven a través de algún estímulo pero el animal utiliza sus propios mecanismos de defensa. La importancia es que los organismos patógenos no generan insensibilidad al método de control, como lo hacen con los tratamientos con antibióticos convencionales. Por otra parte, no hay residuos químicos transmisibles al ser humano.

Si bien es cierto actualmente se reconocen a nivel mundial los múltiples beneficios aportados por los fructooligosacáridos al ser incorporados en dietas de animales, en la actualidad las fuentes de obtención son muy limitadas y no alcanzan a abastecer la creciente demanda de producto, la cual se ha incrementado desde US\$ 9 millones a US\$ 29 millones en el último año.

En Chile actualmente la única alternativa existente para obtener FOS es a partir de la cosecha de tubérculos de topinambur, sin embargo el principal inconveniente de esto es la necesidad de esperar que ocurra la transformación desde inulina en el tubérculo durante un período variable de almacenaje en campo, durante el cual es necesario monitorear las variaciones en los niveles de hidratos de carbono que ocurren internamente.

A través del presente proyecto se buscará desarrollar una vía alternativa eficiente y estable en la de obtención de fructooligosacáridos (FOS) en el país.

La gran ventaja de lograr éxito con este sistema propuesto es la posibilidad de producir FOS de manera controlada en base al cultivo de topinambur, incorporándose a un mercado de creciente demanda mundial que hasta el momento se encuentra sub-abastecido.

El proyecto permitirá solucionar el problema de abastecimiento de FOS, potenciando un área agrícola bastante deprimida en el país, como es la de cultivos tradicionales, generando así una alternativa rentable que tendría un mercado seguro.

La base de conocimientos y experiencia productiva e industrial existente en el país en el cultivo de topinambur y en la extracción de inulina representan ventajas considerables que deben ser aprovechadas.



5. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

1. Prebióticos

El tracto gastrointestinal de mamíferos y aves adultas sanas y bien alimentadas contiene poblaciones de microorganismos de diversas especies en un equilibrio dinámico. Tanto procariotas (bacterias) como eucariotas (células de origen animal) pueden ser autóctonos del tracto gastrointestinal. Sin embargo, las poblaciones de eucariotas tienden a ser menores en comparación con las bacterias. Protozoos, hongos y levaduras (Clarke, 1977 citado por Savage, 1987) también han sido observados, y en algunos casos cultivados, desde el tracto de diversas especies.

Diversos factores intervienen en el equilibrio de la flora gastrointestinal clasificados en factores alogénicos (ejercidos por el tejido del animal, alimento, drogas y medio ambiente) y en factores autógenicos (ejercidos por la propia flora autóctona). La dieta constituye uno de los más poderosos factores alogénicos en la regulación de las especies de microbios que se desarrollan y qué tipo de reacciones bioquímicas se llevan a cabo en las comunidades del tracto gastrointestinal (Savage, 1987).

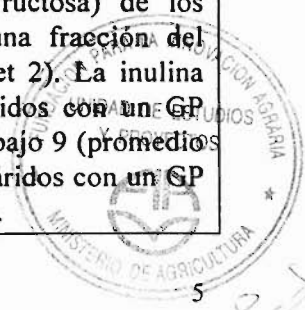
El interés en poder manipular la microflora intestinal del ganado ha surgido en los últimos años por las críticas públicas a que ha sido sometido el uso de antibióticos. Además del daño a las personas, el costo de control de microorganismos patógenos es enorme. Debido a la correlación existente entre el mayor consumo de pollo y la incidencia de salmonelosis alrededor del mundo, muchos laboratorios están interesados en manipular la microflora en pollos para aliviar estos problemas asociados a la contaminación con Salmonella. Se han intentado distintos enfoques en el control de esta enfermedad:

1. Uso de cultivos de especies indefinidas o definidas (Exclusión Competitiva)
2. Incorporación de azúcares (FOS) en el alimento o en el agua
3. Uso de una combinación de cultivos definidos e indefinidos más azúcares (FOS).
4. Uso de aditivos o cofactores

Los prebióticos se refieren principalmente a los oligosacáridos no digestibles, centrándose en aquellos que contienen fructosa, xylosa, soya, manosa, galactosa y glucosa. También pueden serlo los alcoholes azucarados y lactulosa. Especial atención han tenido los fructooligosacáridos (FOS), que calzan adecuadamente con el criterio de prebiótico. Estos FOS son generados naturalmente por diversas especies como compuesto de reserva y además producidos mediante la síntesis enzimática. La enzimas involucradas en este proceso son producidas por los hongos *Aspergillus niger*, *Aureobasidium* sp.

Fructooligosacáridos

Los FOS son oligómeros de fructosa de reserva presentes en varias especies de plantas como cebolla, ajo, alcachofa, plátano, cebada, achicoria y topinambur (Spiegel et al., 1994). Químicamente, los son cadenas cortas o medianas de D-fructanos en las cuales las unidades de fructosa están unidas por un enlace B (2-1) enlace glicosídico, con un enlace (1-2) D-glucosa en el término de la molécula (Yazawa and Tamura, 1982). El grado de polimerización (GP unidades de fructosa) de los fructooligosacáridos puede ir desde 2 a 60, definiéndose oligofructosa como una fracción del oligosacárido con un GP menor de 20 (Wang y Gibson, 1993, citados por Internet 2). La inulina (principal componente de topinambur), generalmente se refiere a fructooligosacáridos con un GP sobre 20 y hasta 60. Otras referencias han clasificado a la oligofructosa con un GP bajo 9 (promedios GP=4.8). En este proyecto el término fructooligosacáridos (FOS) se refiere oligosacáridos con un GP superior a 23 y la inulina se referirá a fructooligosacáridos con un GP sobre ese valor.





La inulina y los FOS son carbohidratos de fibra soluble naturales que resisten la digestión humana de las enzimas alfa-amilasa, sacarasa y maltasa, constituyéndose en no digestibles en el tracto superior en humanos. De este modo, ambos atraviesan el intestino delgado llegando al intestino grueso sin haber sido absorbidos. Aunque no son metabolizadas por nuestras enzimas digestivas, la inulina y los FOS poseen un valor calórico. Dado que la microflora intestinal puede metabolizar inulina y FOS hasta CO₂ y ácidos orgánicos (e.g. ácidos grasos de cadena corta), estos últimos susceptibles de absorberse y, por lo tanto, capaces de generar energía. El valor calórico propuesto de la inulina y los FOS es alrededor de 1.0 a 1.5 Kcal/g comparado con 4 Kcal/g de la sacarosa. Los FOS poseen características de sabor similares a la sacarosa, siendo su dulzor, al ser purificados, un 30% en relación al de la sacarosa. Al ser azúcares no reductores no provocan la reacción de Maillard. Son estables a pH mayores a 3 y a temperaturas hasta 140°C.

2. Beneficios de Prebióticos

Una alternativa al uso de microorganismos (probióticos) y antibióticos con el fin de manipular la flora intestinal y el metabolismo en animales no rumiantes es el uso de oligosacáridos (Monsan y Paul, 1995).

El concepto de prebióticos fue definido por Gibson y Roberfroid (1995) como “ingredientes no digestible de los alimentos que afectan benéficamente al hospedero por medio de una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de uno o un limitado número de especies de bacterias en el colon, mejorando de este modo la salud del hospedero” (Internet 2). Desde este punto de vista cualquier alimento que ingrese al tracto digestivo es candidato a constituirse en un prebiótico, por lo cual, para que sea efectivo, la selectividad de la fermentación es esencial.

Los prebióticos consisten en factores nutritivos especiales las cuales no son metabolizados por el sistema digestivo pero en cambio provee aporte nutritivo a la flora natural intestinal.

FOS, los mejores prebióticos conocidos, han sido incluidos para apoyar el crecimiento de microorganismos benéficos. Algunos FOS provienen de la achicoria y topinambur. Debido a la naturaleza del sistema digestivo humano, la disponibilidad de alimento para las bacterias benéficas en el intestino largo es limitada. Estudios han mostrado que el suplemento de FOS puede incrementar significativamente la población de bacterias benéficas en el colon, aliviando la constipación, disminuyendo el nivel de lípidos en la sangre y reduciendo la producción de sustancias tóxicas intestinales (8).

Para que una sustancia sea clasificada como **prebiótico** debe cumplir con lo siguiente:

1. no ser hidrolizada ni absorbida en la porción superior del tracto intestinal;
2. ser sustrato selectivo para una o un limitado número de bacterias comensales benéficas para el colon, las cuales ven estimulado su crecimiento y/o metabolismo;
3. consecuentemente, deben ser capaces de alterar la microflora del colon a favor de una composición más beneficiosa,
4. inducir efectos a nivel luminal o sistémico que son beneficiosas para la salud del hospedero.

Beneficios asociados a Bacterias

Según otros autores, la aplicación de fructooligosacáridos e inulina en productos alimenticios es aceptada ampliamente como fibra dietética en diferentes países. Los posibles efectos de esta fibra en la nutrición humana es la simulación selectiva del crecimiento de bifidobacterias en la microflora del colon, el incremento de la bio-disponibilidad de minerales, en particular de calcio, la estimulación del sistema inmune y sus posibles influencias en el metabolismo de los lípidos. De esta manera los



fructooligosacáridos y la inulina reducirían los riesgos de enfermedades como diarrea, osteoporosis, arterioesclerosis, carcinogénesis en el colon y enfermedades vasculares (14H).

Ha sido demostrado que los fructooligosacáridos (FOS) estimulan el crecimiento de las bifidobacterias endógenas. Aun cuando los fructooligosacáridos se han asumido usualmente como substratos selectivos, las observaciones sugieren que los lactobacillus también pueden usar los fructooligosacáridos, los lactobacillus pueden "lavar" a las bifidobacterias en cultivo continuo a pH 5.2-5.4 cuando FOS son la principal fuente de carbono y que las bifidobacterias pueden crecer más rápido que los lactobacillus bajo condiciones controladas (Sghir et al. 1998).

Fermentación selectiva de FOS e inulina

La fermentación de FOS e inulina por la microflora humana ha sido demostrada *in vitro* usando mezclas de bacterias fecales humanas. Al igual que otros carbohidratos como glucosa, fructosa, sacarosa almidón y pectinas, también inducen una acidificación del pH del medio de cultivo durante la fermentación anaeróbica. Un reciente estudio *in vitro* utilizando cepas puras de bacterias y mezclas de cultivos fecales (Wang y Gibson,) se ha demostrado que en comparación con carbohidratos simples o complejos, los FOS y la inulina son fermentados selectivamente por la mayoría de las cepas de bifidobacteria. Además, se demostró que cuando bifidobacteria crece en inulina y FOS, aparentemente lo hace a costa de bacteroides, clostridio o coliformes los cuales se mantuvieron a un nivel más bajo e incluso disminuyeron su población. Esta especificidad de los bifidobacterios al FOS e inulina probablemente se debe a la producción de α -fructosidasas (inulinasas) capaces de hidrolizar los fructooligosacáridos, como se evidenció en un cultivo puro (Wang, 1997). Se cree que la inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos se debe a la acidificación del medio producto de los ácidos carboxílicos, principalmente acetato y lactato. Sin embargo, no toda la acción antibacteriana se debe al pH. Existen ensayos a pH neutro que han arrojado similares niveles de inhibición, en el crecimiento de *Clostridium* y *E. coli* al ser cultivados en conjunto con *Bifidobacterium infantis*.

Un ensayo llevado a cabo en humanos, administrando una dosis diaria de 15 g de fructooligosacáridos (FOS e inulina) permitió a los *bifidobacterium* llegar a crecer y ser el género numéricamente predominante en las fecas. De esta forma, pequeños cambios en la dieta pueden alterar la relación de las bacterias colonizadoras hacia balances de la microflora potencialmente más saludables.

En el metabolismo de los FOS, los átomos de carbono, probablemente se distribuyen de la siguiente manera: 40% de ácidos grasos de cadena corta, 15% en L-lactato, 5% en CO₂ y 40% como biomasa bacterial. El valor calórico se encuentra entre el 25 y 40% del de la molécula de fructosa 13, 14.

3. Mecanismo de acción de los oligosacáridos

Los carbohidratos han sido comúnmente conocidos por su valor nutritivo aportando energía además de formar parte integral de los elementos estructurales tales como ácidos nucleicos, glicolípidos y glicoproteínas. Sin embargo, los biotecnólogos están descubriendo que el papel que los carbohidratos desempeñan en otras varias funciones biológicas es particularmente en el aumento de la respuesta inmune y de la habilidad de bloquear y ligarse con varios patógenos (Parekh, 1993; Devegowda et al., 1997).

Han sido identificados tres oligosacáridos principales que desempeñan un papel en el mejoramiento de la producción animal- mananooligosacáridos, **fructooligosacáridos** y galactooligosacáridos. (Devegowda et al., 1997).



Los oligosacáridos pueden actuar induciendo la producción enzimática por parte de la flora intestinal, particularmente de enzimas glicolíticas, resultando de este modo en un incremento en la hidrólisis de polímeros carbohidratos insolubles (fibra). Este aspecto no ha sido documentado pero puede explicar en alguna medida, el importante incremento en la ganancia de peso de los animales, que definitivamente no puede ser atribuida a la pequeña cantidad de oligosacáridos agregada (Mason y Paul, 1995).

Los principales efectos fisiológicos de la fibra dietética son:

Poco tiempo de tránsito intestinal, resultando en una mejora en la tolerancia a la glucosa y en una disminución de la digestión del almidón.

Las fibras llamadas solubles son fermentadas en una larga extensión por un amplia variedad de bacterias anaeróbicas que resultan en un incremento en la biomasa bacteriana, un incremento en la masa fecal, un cambio en el pH de la colonia, y producción de ácidos grasos de cadena corta y varios gases como productos metabólicos finales. Las fibras insolubles son sólo marginalmente fermentados: ellas sirven casi exclusivamente como agentes voluminosos que resultan en un período de tránsito e incremento de la masa fecal (Roberfroid M.).

Los FOS son sólo una pequeña extensión digestible en la parte superior del tracto gastrointestinal. Ellos alcanzan el colon virtualmente sin cambios; en el colon completan la fermentación por la colonia de microorganismos presente.

Fuentes específicas de carbono. El principal sustrato para el crecimiento de las bacterias proviene de los carbohidratos que han escapado a la digestión en el tracto intestinal previo, incluyendo almidón, polisacáridos no almidonados, azúcares no absorbidos, oligosacáridos, aditivos, y alcoholes azucarados. Estos oligosacáridos son fermentados principalmente a ácidos grasos de cadena corta (SCFA) y ácido láctico (Sakaguchi.), es decir, fermentación selectiva a nivel del intestino grueso (Gibson y Roberfroid, 1995). Varios oligosacáridos son usados como sustratos específicos de bacterias intestinales potencialmente beneficiosas, particularmente bifidobacteria. Esta propiedad introduce el concepto de sustratos alimenticios específicos; en lugar de alimentar a los seres humanos o animales con microorganismos vivos, podría ser más lógico promover el crecimiento de las bacterias beneficiosas que ya residen en el intestino. Esto evita cualquier problema asociado a la introducción de microorganismos al intestino cuyas propiedades aun no están claras (Mason y Paul, 1995).

Interacciones biológicas específicas. Interacciones proteína-carbohidrato están envueltas en la mayor parte de las reacciones de los procesos de reconocimiento. Por ello, los oligosacáridos son capaces de interactuar con los receptores que se encuentran en la superficie de la membrana celular de las bacterias, como en las células vellosas del lumen del intestino. Muchas bacterias patógenas parecen adherirse a las células epiteliales del intestino mediados por sustancias específicas (manosa) presentes en la superficie bacteriana (Freter y Jones, 1976, citados por Martín 1994). De este modo, si existe una concentración suficiente de manosa en el tracto intestinal, es posible bloquear los receptores específicos de manosa en la superficie bacteriana y reducir la colonización intestinal.

La incorporación de FOS también altera el metabolismo de los microorganismos, por ejemplo, al alimentar ratas con dietas que contienen tirosina y triptófano, los productos de degradación "putrefactos" (fenol, p-cresol e indol) estaban ausentes en fecas y orina en los animales alimentados con FOS, pero presentes en fecas del control (Hidaka et al., 1986, citados por Mason y Paul, 1995).



4. Resultados en Humanos y Animales

Numerosos ensayos in vitro e in vivo han sido conducidos para evaluar la toxicidad potencial de los FOS en humanos y en animales. Ensayos in vitro, no demostraron potencial genotóxico (Clevenger et al., 1988), y ensayos en ratas no revelaron efectos adversos de toxicidad crónica, o carcinogenicidad en dosis de 2,170 mg/kg/día (Tokunaga et al., 1986; Clevenger et al., 1988). Además de la evidencia existente en cuanto a la modificación en la composición de la microflora intestinal, incrementando las bacterias beneficiosas, especialmente los bifidobacterios, se señala el posible aumento en la absorción de cationes y mejora en los perfiles de lípidos.

Comparados con los probióticos comunes, los prebióticos superan algunas de las dificultades de manipulación de éstos, como es la estabilidad a temperatura ambiente, sin necesidad de refrigeración. Y lo más importante, no existe duda de que las bifidobacterias existentes se multiplican y colonizan el intestino grueso (Internet 2).

Efectos de FOS en producción animal

Los resultados en producción animal son consistentes, apuntando a un mayor rendimiento en dietas que contienen oligosacáridos no digestibles, en contraste con los controles. La adición de pequeñas cantidades de oligosacáridos a las dietas (bajo 1%) es capaz de provocar un significativo aumento en la ganancia de peso, índices de consumo y el estado de salud del animal. Estos efectos son claramente dependientes del tipo de oligosacárido utilizado, de la clase de animal (edad y especie) y, en particular, de las condiciones de manejo (Monsan y Paul, 1995).

Aves. Debido a que los FOS aumentan el crecimiento de las bacterias intestinales de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* recientemente se estudió el efecto de FOS en la capacidad de crecimiento y colonización del intestino de broiler por parte de *Salmonella typhimurium*. Con una adición de 0,75% de FOS a la dieta en conjunto con un cultivo EC indefinido, la colonización de individuos bajó a 19% desde 61% en el tratamiento sólo con cultivo indefinido EC. Al ser sometidos a condiciones de estrés privándolos de comida y bebida durante el día 13, y ser inoculados con 10^9 UFC de *Salmonella* al día 14, un 92% fue colonizado en la dieta control, en contraste con un 25% que ocurrió en el grupo alimentado con la dieta 0,75% de FOS (Bailey et al., 1991)

Dietas suplementadas con FOS de 0,25 y 0,50 % en dietas de broiler aumentó la eficiencia de alimentación y redujo las lesiones de los sacos aéreos Ammerman et al., 1988, citado por Monsan y Paul, 1995). Izat et al. (1990) informaron un aumento de la ganancia de peso y una reducción del nivel de *Salmonella* en el animal procesado, cuando fueron alimentados con 0,375%.

Cerdos. Ensayos en cerditos destetados alimentados por 30 días con 0,25 y 0,5% de FOS, arrojaron una ganancia de peso mayor de 7,2 y 9,2 kg respectivamente, en comparación con un 5,3 kg del grupo control. Además los problemas de diarrea fueron disminuidos (Fukuyasu y Oshida, 1988, citados por Monsan y Paul, 1995).

Un uso específico de aplicación es su uso en animales seleccionados, como cerdos neonatos, terneros, y pollitos, con propósitos preventivos y terapéuticos.

Factores que afectan la eficacia. El análisis de la estructura es importante en el estudio de los FOS, debido al grado de polimerización y de uniones varían según la fuente de las enzimas utilizadas. Los FOS son altamente higroscópicos, por lo tanto, bajo condiciones atmosféricas es difícil mantener



estables los productos luego de liofilizados. Los FOS son estables en un amplio rango de pH (4.0 - 7.0) y también se mantienen estable por más de una año bajo condiciones refrigeradas. La eficacia de los FOS aparece mayor en ensayos llevados a cabo en condiciones productivas en contraste con los ensayos bajo condiciones controladas (Monsan y Paul, 1995).

Beneficios asociados a los FOS

Los FOS pueden ser incorporados como vehículos de alimento debido:

- Estimulan la flora benéfica, pero también ejercer propiedades anti-adhesivas y atenuantes
- Fórmulas de menores dosis
- Derivados de polisacáridos dietéticos
- No cancerígenos
- Características de buena preservación y secado
- Regulación de la viscosidad
- Bajo valor calórico

Los oligosacáridos presentan ciertas ventajas claves (Monsan y Paul, 1995): la mayoría son productos naturales, compuestos por azúcares simples, sin ninguna capacidad antigénica presentan efectos colaterales ni se acumulan en tejidos animales son resistentes a altas temperaturas y al pH ácido del estómago, lo cual evita problemas de formulación y aplicación no tienen viabilidad restringida como los microorganismos (probióticos), el costo de producción es bajo y compatible con las dosis necesarias en la alimentación animal, y pueden promover directamente el crecimiento de las bacterias benéficas del intestino

En el futuro, la elucidación de los mecanismos de acción de los oligosacáridos permitirán establecer relaciones más precisas entre estructura y función, para establecer el diseño de estructuras específicas de carbohidratos con una mayor eficacia (Monsan y Paul, 1995).

5. Interacción con FOS con aditivos

La interacción con otros aditivos, nutrientes e ingredientes de la dieta pueden afectar seriamente la eficacia del probiótico. En efecto, la combinación probióticos-antibióticos puede generar un efecto aditivo en aves y cerdos, neutro e incluso dejar sin efecto la acción del probiótico según la especie y de la naturaleza del antibiótico. La combinación con azúcares no digestibles en animales jóvenes proporcionaría una ventaja en el efecto del probiótico (Nousiainen y Setälä, 1993). Existe un creciente interés en el uso de oligosacáridos, principalmente fructooligosacáridos (FOS) para fortalecer el crecimiento de razas seleccionadas de bacterias identificadas por ser benéficas. Es así como Hidaka et al., (1986, citado por Stavric y Kornegay, 1995) indican que una mezcla comercial de FOS favoreció el desempeño postdestete en cerdos, aumentando la ganancia de peso, mejorando la eficiencia de alimentación y previniendo la diarrea.

Los fructooligosacáridos (FOS) se ha demostrado estimulan el crecimiento de las bifidobacterias endógenas. Aun cuando los fructooligosacáridos se han asumido usualmente como sustratos selectivos, las observaciones sugieren que los lactobacillus también pueden usar los Fructooligosacáridos, los lactobacillus pueden "lavar" a las bifidobacterias en cultivo continuo a pH 5.2-5.4 cuando FOS son la principal fuente de carbono y que las bifidobacterias pueden crecer más rápido que los lactobacillus bajo condiciones controladas (Sghir et al. 1998).



6. Fuentes de Fructooligosacáridos:

Resumen de procesos posibles para obtener FOS

Los oligosacáridos se pueden obtener de diferentes procesos (Morgan et al., 1992; Chesson, 1993, citados por Monsan y Paul, 1995) :

- Extracción desde plantas (fructooligosacáridos, alfa-galactooligosacáridos)
- Hidrólisis enzimática controlada de polisacáridos (fructooligosacáridos, xylooligosacáridos)
- Síntesis enzimática (fructooligosacáridos, alfa-glucooligosacáridos,, beta-oligosacáridos, beta-galactooligosacáridos)

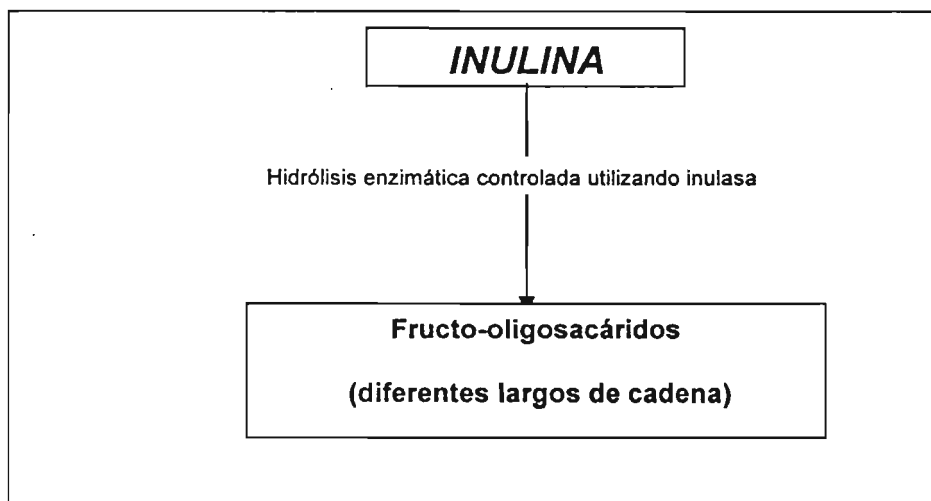
En este proyecto se presenta la alternativa de aprovechar aquellos cultivos con elevadas concentraciones de inulina, para ser utilizados como materia prima en la alimentación de un bio-reactor de FOS. De esta manera se simulará la acción que ocurre a nivel de la célula vegetal que permite la transformación de inulina en FOS sin tener el inconveniente de esperar el ciclo productivo del cultivo en el campo.

Los FOS se fabrican a través de dos procesos que resultan en productos levemente distintos. El primero método involucra la producción a partir del disacárido sacarosa usando la enzima beta-fructofuranosidasa.

El segundo método usado, es aquel en que ocurre una hidrólisis enzimática controlada del polisacárido inulina (oligofructosa inulina). La mezcla de fructooligosacáridos que se forma por este procedimiento es muy similar a la obtenida mediante el proceso de transfructosilación. Sin embargo, la mezcla generada en este proceso de hidrólisis de la inulina contiene cadenas de fructooligómeros más largas . El producto final se presenta en jarabe y en polvo, varias concentraciones.

Una de las empresas líderes en la producción de FOS a través de la hidrólisis de inulina, es la empresa belga ORAFTI, la cual utiliza como materia prima la achicoria (*Chichorium sp.*). Comercializan dos productos comerciales con diferentes grados de polimerización.

Figura ***. Obtención de FOS a partir de inulina.



Por otra parte, se ha reportado que en raíces de *Cichorium intybus* (chicory) la cantidad de fructano es alta en el inicio del período de forzamiento (producción de nuevas plantas), pero disminuye durante



éste. El nivel de glucosa y fructosa aumenta durante el período de forzamiento mientras que el nivel de sacarosa se mantiene constante (Ernst, 1996). De acuerdo a estos reportes las raíces deben contener algún tipo de enzima capaz de hidrolizar la molécula de inulina. Se ha indicado que la enzima fructan exo-hidrolasa es activa cuando las raíces son una fuente fisiológica y cuando son cosechadas. Esta enzima remueve los residuos de fructosa terminal de la molécula de inulina lo que resulta en la liberación de fructosa y cadenas más pequeñas. Para los efectos de la comercialización de "chicory" como fuente de inulina, la presencia de esta enzima disminuye su valor. Sin embargo, el tratamiento térmico podría favorecer la hidrólisis con el objeto de utilizar este jugo en la producción de FOS.

A) Biosíntesis por hongos y bacterias

Los FOS han encontrado un uso en un amplio rango de aplicaciones para alimentos y otras áreas. El uso comercial como endulzante es una buena alternativa en combinación con otros compuestos (Yun, 1996). La producción comercial de FOS de alta pureza, liderada por Japón y Korea, se basa en la producción a través de la biosíntesis realizada por hongos (*Aspergillus niger*, *Aureobasidium sp.*) utilizada como agente estimulador de bifidus. Este proceso requiere de procesos de purificación y liofilización. Este proceso productivo, es rechazado como compuesto no natural por ciertos sectores para incorporarlo a la alimentación humana (Trenev, 1998).

Los fructanos son polímeros encontrados en una variedad de organismos vivos: ellos se producen en plantas y bacterias. Especialmente en plantas, donde ellos cumplen el rol como reserva de carbohidratos, una gran diversidad de estructuras es posible de encontrar. En la mayoría de las plantas la estructura básica es B-2,1 cadena de fructosa enlazada a un residuo de sacarosa. Ramificaciones pueden ocurrir a través de enlaces B-2,6 a través de una cadena de fructano unido a un residuo terminal de glucosa. Algunas plantas tienen fructanos unidos a través de enlaces B-2,6. La biosíntesis de estas estructuras requiere de una variedad de enzimas.

En la mayoría de las bacterias se encuentran enlaces B-2,6 en los fructanos. Algunos muestran ramificaciones unidas a través de B-2,1. Las diferencias estructurales de los polímeros explica las diferentes propiedades derivadas de ellas ya sea para uso alimenticio y no-alimenticio (14G).

B) Biosíntesis vegetal

Si bien es cierto hasta ahora el uso de las fuentes de FOS provenientes de plantas, no parecía comercialmente atractiva debido a la restricción de la oferta de materia prima supeditado a los ciclos productivos (Jun, 1996), con el establecimiento de un sistema de producción controlada como la que se propone en el presente proyecto, puede utilizar como materia prima la inulina obtenida de cultivos como el topinambur y yacón, el primero una alternativa productiva para la zona centro y sur del país, donde ya se han realizado ensayos y protocolos de producción y el segundo un cultivo que será introducido y evaluado para producción comercial en el país y que presenta la ventaja de su elevado contenido de inulina (60-70% de sólidos totales) en los tubérculos.

Función de los oligosacáridos en las especies vegetales

Los fructanos se encuentran en cerca del 12% de las especies de Angiospermas (Hendry, 1987). Debido a la elevada concentración y localización vacuolar, los fructanos han sido considerados como una reserva de carbono y energía y/o como reguladores osmóticos y crioprotectores en especies de clima templado. El fructano es capaz de metabolizarse rápidamente en comparación con otras reservas



de carbohidratos (Isejima & Figueiredo-Ribero, 1993). Se ha reportado como un drástico cambio en la composición de oligofructano durante el estado de floración, cuando este fue encontrado como una notable acumulación de fructosa, sacarosa, isokestosa y nistosa en las raíces tuberosas de *Viguiera discolor* (14C).

Dentro de especies geófitas sudafricanas, ellas pueden distinguirse entre especies que almacenan fructano, como único carbohidrato de reserva y aquellos en los cuales se almacena una combinación de fructanos y almidón (Orthen, 2000). En aquellas que almacenan fructano, previo a la emergencia de la inflorescencia ocurre la degradación de los fructanos en escala interna de bulbos. Se produce un incremento en el contenido de sacarosa y fructanos de bajo grado de polimerización. La sacarosa es principalmente traslocada vía floema para sostener el crecimiento de la inflorescencia, los fructanos de bajo GP no pudieron ser detectados en los exudados del floema. El principal carbohidrato de la inflorescencia son los fructanos, el contenido incrementa durante el desarrollo de la inflorescencia. Sin embargo el pool de fructanos ha sido considerado como transiente: con la madurez de la semilla el contenido de fructanos disminuye significativamente (14D).

Especies Vegetales

a) Topinambur

El topinambur es una especie que acumula sus reservas en tubérculos alcanzando rendimientos entre 50 y 70 Ton /Ha en suelos de trumao en la Zona de Temuco a Chiloé. Contiene un 20 % de Materia Seca de los cual un 80% corresponde a inulina. Traducido en rendimiento por hectárea, corresponde a 8 Ton de inulina seca por ha. (BTA 1998).

Proceso productivo de FOS desde topinambur. El contenido de fructanos en alcachofa de Jerusalem depende de la fase de desarrollo de la planta, el tiempo de cosecha, las condiciones climáticas, la edad de la planta entre otros (Varlamova & Prikdoko, 1997). Proceso productivo de FOS desde topinambur. El contenido de fructanos en alcachofa de Jerusalem depende de la fase de desarrollo de la planta, el tiempo de cosecha, las condiciones climáticas, la edad de la planta entre otros (Varlamova & Prikdoko, 1997).

FOS en los tubérculos de topinambur y yacón

Tubérculos de topinambur y yacón fueron extractados con 80% de etanol, respectivamente. Yacón y topinambur fueron almacenadas por una serie de meses, respectivamente. En yacón se encontró que la glucosa y fructosa incrementa en cantidad y que los oligosacáridos disminuyen. En topinambur, sin embargo, los oligosacáridos tienen menor GP lo que incrementa con una disminución en oligosacáridos mayores. En el extracto fue detectado glucosa y no fructosa. Estas investigaciones sugieren que ambas hidrolasas de inulina son exo tipo, y tienen un diferente sustrato (4/7).

b) Achicoria

Los nódulos son órganos densos, esféricos directamente inducidos desde trozos de hojas de *Cichorium intybus* cultivadas in vitro. Los nódulos son capaces de formar brotes en una elevada tasa. Este sistema representa una vía rápida y eficiente para la micropropagación in vitro de esta especie. Un estudio histológico muestra que los nódulos presentan una analogía estructural comparada con las raíces mientras que un estudio histoquímico y bioquímico demostró que los nódulos son capaces de

acumular inulina como material de reserva y degradarlo cuando ellos forman brotes. La inulina es la forma de almacenamiento de fructanos en las raíces de achicoria.

Los nódulos deben ser considerados como raíces modificadas; ellos al menos juegan el mismo rol relacionado con el metabolismo de los fructanos. El cultivo de nódulos debe ser un interesante modelo para estudiar la fisiología de desarrollo de las raíces de achicoria (madurez de raíz determinada por forzado) (14E).

En raíces de achicoria durante el almacenamiento, la composición de carbohidratos es influenciada por las condiciones de almacenaje y puede determinar si las raíces están listas para ser forzadas a brotar. Se observó que la concentración de fructosa se ve incrementada con tratamientos de temperatura. Los niveles de fructosa alcanzaron el mayor nivel con el tratamiento de 20°C, mientras que la concentración de fructosa mostró el patrón contrario. El total de carbohidratos solubles en agua permaneció casi al mismo nivel durante la aplicación de temperatura (14F).

Por otra parte, se ha reportado que en raíces de *Cichorium intybus* (chicory) la cantidad de fructano es alta en el inicio del período de forzamiento (producción de nuevas plantas), pero disminuye durante éste. El nivel de glucosa y fructosa aumenta durante el período de forzamiento mientras que el nivel de sacarosa se mantiene constante (Ernst, 1996). De acuerdo a estos reportes las raíces deben contener algún tipo de enzima capaz de hidrolizar la molécula de inulina. Se ha indicado que la enzima fructan exo-hidrolasa es activa cuando las raíces son una fuente fisiológica y cuando son cosechadas. Esta enzima remueve los residuos de fructosa terminal de la molécula de inulina lo que resulta en la liberación de fructosa y cadenas más pequeñas. Para los efectos de la comercialización de “chicory” como fuente de inulina, la presencia de esta enzima disminuye su valor. Sin embargo, el tratamiento térmico podría favorecer la hidrólisis con el objeto de utilizar este jugo en la producción de FOS.

c) El Yacón (*Polymnia sonchifolia*)

El cultivo de “Yacón” puede producir hasta 100t/h, lo cual sumado a otras ventajas, como su facilidad de siembra y su amplia adaptabilidad, desde el nivel del mar hasta 3,5000 metros de altitud, hacen de esta planta un cultivo potencialmente valioso desde el punto de vista comercial, presentando un gran potencial un gran potencial industrial, que sumado a las características intrínsecas de *Bacillus*, alentarán una línea de desarrollo y revaloración de esta raíz andina con miras a la industrialización de fructosa de alta pureza.

El Yacón crece, en los valles interandinos del Perú, Bolivia, Argentina, Colombia, y Venezuela. Es una planta que tiene propiedades curativas y alimenticias y, a diferencia de la mayoría de tubérculos y raíces que acumulan los carbohidratos en forma de almidón (polímeros de glucosa), el yacón deposita los carbohidratos en forma de inulina (polímeros de fructosa), constituyendo de esta manera un alimento ideal para diabéticos. Sin embargo, no obstante de este importante rol, durante la colonia y la república fueron marginados y casi desplazados, sólo las comunidades campesinas pudieron conservarlas gracias a su persistencia, fuerza y racionalidad.

Según Mitico (1997), a diferencia de otras raíces que acumulan almidón como reserva, el yacón los acumula como azúcares de tipo inulina en altas concentraciones y con bajo grado de polimerización (entre 8 y 12), los cuales son utilizados como edulcorantes en alimentos dietéticos y gomas. Ha sido utilizado con muy buenos resultados en el control de diabetes, colesterol e hipertensión arterial (Hirayama & Hidaka, 1993) (4)



Descripción Botánica

Planta herbácea perenne que alcanza una altura de 2 metros, con un sistema subterráneo complejo. El tronco se compone de una parte subterránea, perenne, y de vástagos aéreos anuales, que se secan después de florecer. La parte subterránea del tronco es una masa irregular, muy ramificada, que en las plantas viejas llega a alcanzar hasta medio metro de ancho. De ellas brotan además de los vástagos aéreos, numerosas raíces, algunas de las cuales se engruesan y constituyen la parte comestible más importante.

Los tallos aéreos, cilíndricos, de color verde con manchas moradas irregulares, alcanzan hasta tres metros de alto, y están cubiertos de pubescencia fina y escasa. En la madurez son huecos. De cada nudo del tallo aéreo brotan dos hojas opuestas.

La inflorescencia es terminal y forma de uno a cinco ejes, que se dividen en tres ramas que terminan cada una en una inflorescencia ("capítulo"). Estas tienen en la base cinco brácteas, triangulares, de 15-20 mm de largo, de ápices muy agudos.

Propiedades Medicinales: Antidiabética, Hipocolesterolemica, Hipoglicémica y Regulador Intestinal (2).

Según Agroindustrias S.A. del Perú, el yacón puede ser aprovechado agroindustrialmente con el uso de biotecnología para la obtención de oligofructanos e inulina dirigidos al mercado europeo. El contenido de oligofructanos de inulina es similar al de la achicoria usada en Europa (3).

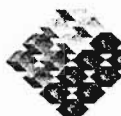
Según Bresson el yacón se cultiva en los valles templados y cuyas exigencias climáticas serían semejantes. El yacón es una planta andina, de los pisos medianamente altos, y desde aquí habría sido llevado a la costa de Perú.

El yacón de manera similar a otras Asteraceae de importancia económica, con órganos de reserva subterráneos, acumula cerca de 60% de masa seca como fructano del tipo inulina B(2-1), principalmente oligómeros (GF2-GF16). En vista de la presencia de altas cantidades de FOS en las raíces tuberosas de yacón y de numerosos beneficios en la salud en personas diabéticas con el uso de fuentes de FOS, fueron realizadas pruebas a partir de las cuales se determinó que el mejor momento para la cosecha ocurre a los 8 meses de cultivo, justo después de la floración, cuando la proporción de monosacáridos es menor que la de fructooligosacáridos (DP 4-6). De manera opuesta los fructanos extractados desde las raíces tuberosas comercialmente obtenidas presentan mayor proporción de fructosa y glucosa comparado con los fructooligosacáridos. Las diferencias observadas en varias muestras se deben probablemente al almacenaje, edad, tamaño y momento de cosecha de las raíces tuberosas y marcan la importancia del control de esas condiciones con el objeto de garantizar la presencia de elevados niveles de FOS en el producto comercial (14I).

Descripción del cultivo

El yacón es cultivado en gran parte y semicultivado o en proceso de domesticación en ciertas regiones como Ayata, la Paz y Chuma, persistiendo en el mismo sitio al borde de otros cultivos.

En el ciclo productivo influyen las ecologías, las prácticas culturales y luego los ecotipos. Bajo los 3000 m se reportan cosechas de unos 10 kg por planta dejando hasta dos años el cultivo. Los rizomas leñosos, antes de ser plantados pueden almacenarse en hoyos subterráneos cubiertos de paja.



Fuera de la zona andina el cultivo del yacón se expande en Nueva Zelanda a nivel de pequeños horticultores, y en el norte de Japón, en Hokkaido, se cultivaron cerca de 100 ha en 1994. La industria de este país tiene interés en sus hidratos de carbono como fuente de inulina.

Tallo y raíces tuberosas: El yacón se propaga vegetativamente, las raíces tuberosas, de las cuales hay varias en cada planta, son de color purpúreo opaco. Internamente la raíz se presenta como un cuerpo carnoso anaranjado, transparente, cuyo color no cambia al aire.

Origen y Centros de Diversidad

El centro lógico de origen del yacón está en las laderas tibias de la zona andina, y hasta donde están avanzados los estudios se extiende desde Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia al noreste de Argentina (CIP, 2000).

Según Towle, unas doce especies de Polimnia son naturales de América desde Canadá a la Argentina (37)

Usos y valor nutricional

Las raíces, de sabor dulce y agradable, son refrescantes y se comen crudas después de asolearlas. En la implementación animal es excelente por su valor nutritivo, y en los valles en períodos de sequía que afectan al maíz y a la papa la planta de yacón es un buen sustituto. Igual que en la caña de azúcar se extrae chancaca o panela.

La fuente de inulina del yacón está promocionada por farmacopea japonesa cuyo negocio es factible desde que la OMS pronostica que el año 2000 los diabéticos serán como cien millones.

En Ecuador, fueron evaluados diez clones durante un ciclo productivo, con los siguientes rendimientos: raíces peladas, 41 ton/ha y raíces peladas, 34 ton/ha. El contenido de materia seca de las raíces es de 15%.

El promedio de contenido de azúcares incrementa en la raíces al ser expuestas por dos semanas: a 2 a 22% de fructosa; 2 a 7 % de alfa-glucosa; 2 -6% de beta-glucosa; 2-4% de sacarosa. Los azúcares son similares a la inulina. Como en el caso de la caña de azúcar, los azúcares pueden ser concentrados para obtener azúcar o melaza. Existe también un uso potencial agroindustrial para convertirse desde azúcar en alcohol (5).

El yacón también puede ser usado como protector de suelo debido a su habilidad para mantenerse como una especie perenne, especialmente en condiciones agroecológicas áridas (5).

Ventajas relativas del yacón a distintos niveles;

Productor
Alimento
Medicinal
Forraje
Rusticidad

Consumidor
Alimento
Remedio
Rejuvenecedor
Refrescante

Procesador
Obtención de inulina,
Fuente de fructosa

Ambiente
Control de la erosión del suelo



Fuente de alcohol
Fruta liofilizada

Composición Química

Muchas raíces y tubérculos almacenan polisacáridos de reserva, para utilizarlos como fuente de energía y para la síntesis de diversas moléculas fisiológicamente importantes. *Smallanthus sonchifolius* (Poeppig and Endlicher) H. Robinson 1978 "Yacón", almacena otro polisacárido conocido como inulina que es un polímero de fructosa. La molécula de inulina está compuesta por 25 a 28 unidades de fructosa unidas por enlaces de tipo 2,1 y 2,6. (Kierstan, 1980).

El análisis de raíces frescas de "Yacón" reporta de 69 a 83% de humedad, de 0.4 a 2.2 % de proteína y entre 60 a 70% de inulina sólida. Esta última puede ser hidrolizada por ácidos o por enzimas llamadas inulinasas para obtener fructosa. (Kierstan, 1980; Ohyama, 1989).

Asami (1989) investigó la composición química de la raíz de *Smallanthus sonchifolius* "Yacón". Sugiere que las raíces contienen una alta concentración de fructosa, glucosa y sacarosa. Se conoce que estas raíces tienen un alto grado de polimerización de oligofructanos cerca de 35, que se usan como reserva. El contenido total de azúcares solubles y contenido de fructosa incluyendo sus formas combinadas es presentado en el siguiente cuadro:

CONSTITUYENTE	CONTENIDO (mg/ g peso seco)
Fructosa	350.1 +/- 42.0
Glucosa	158.0 +/- 28.6
Sacarosa	74.5 +/- 19.0
Fructosilsucrosa 2	60.1 +/- 12.6
Fructosilsucrosa 3	47.4 +/- 8.2
Fructosilsucrosa 4	33.6 +/- 9.6
Fructosilsucrosa 5	20.6 +/- 5.2
Fructosilsucrosa 6	15.8 +/- 4.0
Fructosilsucrosa 8	9.6 +/- 7.2
Fructosilsucrosa 9	6.6 +/- 2.3

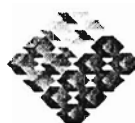
Se observa que el contenido de fructosa libre es muy alto, cerca de 35% el peso seco y el contenido de mono y disacáridos (Fructosa + glucosa + sacarosa) es alta cerca de 58% del peso seco. (Asami et al, 1989).

En Ecuador se evaluaron 10 clones con los siguientes resultados: rendimiento raíz bruta 41 t/ha. Materia seca en raíces 15%. El contenido promedio de azúcares aumenta con la exposición al sol así: fructosa de dos a 22 g por 100 g; alfa glucosa de dos a siete gramos; beta glucosa de dos a seis gramos y sacarosa de dos a cuatro gramos. Los azúcares a los de las inulina.

Collazos (12) da los siguientes resultados sobre 100 g de porción comestible:

Energía 54 kcal. En gramos: agua 86, proteína 0.3, carbohidratos 12, fibra 0.5, ceniza 0.3. En mg: Ca 23, PK 21, Fe 0.3, Tiamina 0.02, Riboflavina 0.11, Niacina 0.34, ácido ascórbico 13 y Retinol 12 mcg.

Científicos Japoneses determinaron fluctuaciones de fructosa, glucosa, sucrosa durante el crecimiento y almacenamiento de raíces, (Asani, T. y otros), totalizando entre los tres 29% sobre base seca.



Diversos carbohidratos son almacenados en las raíces de yacón: fructosa, glucosa y sacarosa, oligosacáridos de bajo GP (3 a 10) y trazas de almidón e inulina (Asami et al., 1989; Ohyama et al 1990). Inulina, oligofructano de alto GP (35), es el principal componente de muchas plantas compuestas como topinambur y dalia. Sin embargo, en yacón la inulina aparece como un componente minoritario

Al respecto, existen reportes hechos por:

- Hermann y Michael (1988), quienes señalan que la mayor parte de la materia seca que constituye de 15 al 20 % de la raíz del yacón contienen oligosacáridos e inulina (polímeros de fructosa), cuyo contenido en azúcares es variado dependiendo del genotipo.

Debido a que el cuerpo humano no tiene ninguna enzima para hidrolizar la inulina, ésta puede pasar por el sistema digestivo sin ser metabolizada; esto podría constituir un gran potencial para su uso en dietas y para el tratamiento de los diabéticos. Los científicos japoneses ahora consideran convertir este cultivo en una fuente industrial de fructosa, por lo que algún día podría convertirse en una planta azucarera de importancia mundial.

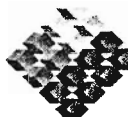
National Academy Press, señala que el valor nutritivo de los tubérculos frescos han dado como resultado un contenido de 69-83 % de humedad, 0.4-2.2 % de proteínas de azúcares, consiste principalmente de inulina (polímero de fructosa). Los tubérculos poseen alto contenido de potasio, la hierba seca contiene de 11 a 17 % de proteína y 2 a 7 % de grasa.

Cuadro 1.- COMPOSICIÓN QUÍMICA RAICES DE YACÓN en 100 gramos.

CONTENIDO	A	B
ENERGIA (Kcal)	63,00	54,00
HUMEDAD (%)	86,6	86,6
PROTEÍNA (g)	0,3	0,3
GRASA (g)	0,3	0,3
CARBOHIDRATOS (g)	10,5	12,5
FIBRA (mg)	0,5	0,5
CENIZA (g)	0,3	0,3
CALCIO (mg)	23,00	23,00
FÓSFORO (mg)	21,00	21,00
HIERRO (mg)	0,3	0,30
RETINOL (mg)	---	10,04
CAROTENO (mg)	0,08	---
TIAMINA (mg)	0,01	0,02
RIBOFLAVINA (mg)	0,10	0,11
NIACINA (mg)	0,33	0,34
A. ASCORBICO (mg)	---	13,1
A. ASCOB. REDUCIDO	4,1	---

FUENTE: A-Composición de alimentos Peruanos
Collazos. 3ra Edic.





B-Composición de los alimentos Peruanos
Collazos 5ta Edic.

CUADRO 2.- ANÁLISIS DEL CONTENIDO NUTRICIONAL EN RAÍCES DE YACÓN EN %.

	MATERIAL FRESCO			MATERIAL SECO		
	A	B	C	D	E	E
AGUA	92,70	69,30	86,60	76,90	---	---
CENIZAS PROTEINAS	0,26	2,04	---	1,13	3,59	6,71
GRASA	0,44	2,22	0,30	1,33	6,02	7,31
FIBRA	0,10	0,13	0,30	1,15	1,32	0,43
EXTRACTO LIBRE DE N.	0,28	1,75	0,50	1,01	3,88	5,73
AZUCARES	6,22	4,69	10,50	6,35	85,19	15,2
	---	19,67	---	19,65	---	9
						64,5
						3

FUENTE: León (A y E), Bredemann (B y E) Calvino; ©, Collazos, Kay (D).

CUADRO 3.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DE TALLOS, HOJAS Y RAICES DE YACÓN.

DETERMINACION	TALLO 51% de la parte aérea		HOJAS 48,30% de la parte aérea		RAIZ Esencia de almidón	
	MATERIA		MATERIA		MATERIA	
	Fresca	Seca	Fresca	Seca	Fresca	Seca
Humedad	86,70	---	83,20	---	69,50	---
Ceniza	1,35	10,23	2,68	15,98	2,04	6,71
Materia	1,51	11,37	2,87	17,12	2,22	7,31
Proteica						
Materia	0,30	2,26	1,24	7,40	0,13	0,43
Grasa						
Celulosa	3,57	26,85	1,68	10,04	1,73	5,73
Azúcar	0,62	44,72	0,48	2,86	0,92	3,03
Reducido						
Azúcar No	0,93	6,98	0,96	5,73	18,75	61,50
Reducido						
Extracto	5,02	37,50	6,89	40,80	4,69	15,29
de materia						
	100	100	100	100	100	100



FUENTE: Calvino, Reproducción del Análisis efectuado por el profesor Dott. F. Scurte, Director de la Estación Química Agraria de Torino.

CUADRO 4.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ALGUNAS RAICES Y TUBERCULOS EN 100g.

ALIMENTO	ENERGIA (Kcal)	H° %	PROT (g)	GRASA (g)	C. HIDR.	FIBRA (mg)	CENI. (g)	FTE.
Yacón	54	86,6	0,3	0,3	12,5	0,5	0,3	a
Papa	99	75,0	2,1	0,3	22,6	0,9	1,1	b
Yuca	147	62,5	0,5	0,0	36,1	0,8	0,9	b
Achira	126	70,0	2,7	0,4	25,7	0,8	---	c
Arracacha	109	71,9	1,2	0,2	25,8	0,8	---	c

FUENTE. a. Collazos citado por Tapia

b. Collazos

c. Ministerio de Previsión Social- Bolivia, citado por Tapia

2.- Valor Industrial

Kay, dice que el yacón puede ser usado como un recurso de inulina o fermentado para producir alcohol.

Ohyama, dice que los tubérculos tienen un alto contenido de fructosa, glucosa y sacarosa, Cuadro 5, lo que sugiere que son buenos para la producción de fructosa, en cuya composición son considerados productos de bajas calorías, que pueden ejercer un efecto favorable en la flora intestinal humana, por otra parte estos componentes (fructosucrosas) no inducen a la formación de caries dental.

Calvino, indica que es una planta alcoholígena o productora de alcohol, como se lee en Cuadro 6.

La cantidad de sustancia fermentable. Considera superior al Topinambur (contiene sólo 16.10 % de sustancia fermentable); calculando una producción de 380 quintales/ha, y un contenido de 18 % de inulina, se obtiene 68.4 quintales de inulina.

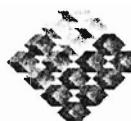
Maduro, seco es menos gustoso que fresco, se puede utilizar en la preparación de sopas o harinas, la raíz reservante es buen digestante, usado como materia prima para la producción de alcohol sólo el 24 % de sustancias fermentantes, se tiene que de 380 quintales de raíces se tiene 91.2 de sustancia fermentante y un rendimiento de 45 – 46 quintales de alcohol.

CUADRO 5.- CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN TUBERCULOS DE YACON.

CONSTITUYENTE	CONTENIDO mg/g	PESO SECO
FRUCTOSA	350,1	+ 47,0
GLUCOSA	158,3	+ 28,6
SACAROSA	74,5	+ 19,0

FUENTE. Ohyama





CUADRO 6.- ANALISIS DE AZUCARES, COMO SUSTANCIA FERMENTANTE EN YACON

	SUSTANCIA FRESCA %	SUSTANCIA SECA %
AZUCAR REDUCIDO	0,92	3,03
AZUCAR NO REDUCIDO (INULINA).	18,75	61,50
EXTRACTO DE MATERIA	4,69	15,29
TOTAL DE SUSTANCIA PERMANENTE	34,36	79,82

FUENTE: Calvinio

CUADRO 7.- CONTENIDO DE INULINA DE CARBOHIDRATOS DE YACON

FUENTE	FRESCO %	SECO %
1	18,75	61,50
2		61-69

FUENTE: 1.- Calvinio
2.- Kay

Agronomía

Suelo: El yacón es un cultivo que requiere de suelos de buena profundidad y materia orgánica, los que deben ser de textura franco a franco arcilloso. No son recomendables los susceptibles a encharcamientos y arcillosos.

De otro lado National Academy Press, indica en cuanto a tipo de suelo, se adapta a una gran variedad de suelos, de preferencia a aquellos bien drenados y ricos en materia orgánica.

Clima:

El cultivo del yacón se realiza en los valles interandinos entre los 1000 y 2500 m. de altura, se puede encontrar en la zona agroecológica de valle, como también en la zona homogénea de producción de maíz.

Temperatura:

En la localidad de Ahuabamba – Machupichu, el cultivo se desarrolla a temperatura que oscilan entre 18 °C y 25°C. Indicando que el follaje es dañado por la incidencia de bajas temperaturas.

National Academy Press, menciona que a bajas temperaturas, el follaje es dañado y a veces muere por causa de heladas, aparentemente los tejidos que se encuentran bajo tierra no son afectados. En cuanto a altas temperaturas, tolera un amplio rango de ellas.



Horas luz solar:

La planta es indiferente a las condiciones de luz para la formación de tallos y raíces reservantes.

Siembra. La siembra puede hacerse a lo largo de todo el año con la condición de que haya humedad en los suelos cuya variación se da más o menos desde el norte al sur andino.

Enfermedades. Barrantes en Ayacucho, Perú, determinó la necrosis marginal (*Alternaria* spp). (4). En Bolivia se detectó una pudrición en el xilema de un ecotipo del trópico húmedo.

Plagas. Para Cusco se han observado presencia en las raíces de larvas de lepidópteros y coleopteros; homópteros picadores-chupadores de hojas.

En general los fitoparásitos no hacen mucho daño en microcultivos, al contrario de lo que sería en cultivo extensivos.

Factores limitantes

Multiplificación

Las conclusiones obtenidas es que yacón puede multiplicarse por esquejes; se considera que la siembra con esquejes con de nudos expuestos del tercio superior y medio, y un nivel de auxina y con una mezcla de auxina más ácido giberélico (2/4).

Enzimas Relacionadas con los contenidos de oligosacáridos

Muchos microorganismos utilizan como fuente de carbono para su crecimiento, Aunque se ha dado poca atención a esta transformación, es evidente que existe una inulinasa extracelular muy activa en algunos hongos y bacterias. Entre los micoorganismos que utilizan inulina, se encuentran bacterias del género *Pseudonomas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Cytophaga*, *Arthrobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, muchos estreptomicetos y un grupo de heterogéneo de hongos. La enzima que convierte la inulina a unidades de fructosa, como regla general, es una exoenzima que atrae unidades de fructosa del extremo de la molécula. (Alexander, 1980).

Algunos microorganismos poseen dos tipos de inulina o fructosanasa. Según la estructura de su sustrato, una de ellas es una (2,1) fructosanasa y la otra es (2,6) fructosanasa. Ambas enzimas son extracelulares. Algunos hongos producen tanto la (2,1) como la (2,6) fructosanasa, mientras otros producen solamente una u otra de las enzimas que rompen al polisacárido. La inulinasa de *Fusarium moniliforme* transforma el fructosanosa completamente a fructosa sin acumulación de compuestos intermedios. (Alexander, 1980, Abbott, 1976).

El uso de enzimas en la industria ha conducido el desarrollo de procesos de producción de éstas a partir de microorganismos. Gran número de enzimas comerciales son de origen microbiano. La diversidad de microorganismos que habitan el suelo constituye un recurso natural potencial para el aislamiento y selección de microorganismos de importancia industrial. La investigación en este campo es uno de los principales pasos para la producción industrial de FOS a partir de inulina, por lo que será evaluada en el presente proyecto.

Las enzimas de uso comercial deben ser separadas de las células que estas producen. El aislamiento y la purificación de las enzimas constituyen procesos que emplean una gran variedad de técnicas. La centrifugación es el método ideal para la eliminación de productos sólidos a partir de soluciones.



Para purificar a las enzimas resultan más adecuadas las técnicas de cromatografía y electroforesis. (Ashwell, 1972, Cannata, 1983).

La exonulinasa de *Bacillus licheniformis*, producida en condiciones de cultivo aeróbico batch, requiere para actuar con máxima eficacia una determinada temperatura y una concentración de iones de hidrógeno en el medio; por lo que existe una temperatura y óptimos para su producción y para su actividad. (Kiersten, 1980).

En Brasil se reportó la obtención de inulinasas extracelulares de *Penicillium janczewskii* aislado de la rizósfera de una *Asteraceae* Verona herbacea, filtradas después de 12 días de cultivo en medio suplementado con inulina de la misma planta. Se purificaron dos inulinasas de 48 y 66 kDa. Para la primera el Km fue de 0.43 para inulina y 18.7 para sacarosa; para la segunda el Km fue de 0.87 y 18.5 para inulina y sacarosa respectivamente. Su temperatura pH óptimo fue 55°C y 5.0, respectivamente. Ambas catalizaron la hidrólisis beta - (2,1) más rápidamente que la beta-(2,6). Estas enzimas se utilizaron para la preparación de jarabe de fructosa a partir de inulina. (Balayan, 1980).

La inulinasa de *Candida* spp tiene un pH óptimo de actividad de 4.5°C y la de *Aspergillus* spp el mismo Ph pero con mayor tolerancia a altas temperaturas presentando mayor actividad a 60°C (Tony God Frey, 1983). En *Kluyveromyces marxianus* se determinó que la inulinasa extracelular tiene una máxima actividad a 40°C y Ph de 4.5. (Guiraud, 1980).

En la República de Armenia se informó sobre la caracterización de exoinulinasa de *Bacillus licheniformis*, desarrollando en cultivo batch aeróbico inducido en un medio suplementado con 20 g/l de inulina. Se determinó a 30°C una actividad endohidrólisis de enlaces beta (2,1), y un Ph de 5.6. (Abelian V., 1996).

En el mercado internacional 5,000 unidades de exoinulinasa de *Aspergillus niger*, con actividad específica de cerca de 1100 U/ mg (40°C Ph 4.5) y una estabilidad de más de cuatro años a 4°C está valorizado en US\$ 100.00. y para endoinulinasas por cada 4,000 unidades está valorizado en US\$150.00. (Tony, 1992).

Fluctuaciones estacionales en el contenido de fructanos y enzimas relacionadas en yacón

Durante el verano, la cantidad de fructanos acumulados en cada parte fue mínima pese a la existencia de relativamente alta actividad específica de SST y FFT en los tallos, raíces raíces tuberosas y tallos rizomatosos. Por otro lado, desde Octubre a Diciembre la cantidad de fructanos en las raíces tuberosas y tallos rizomatosos incrementó junto con un incremento en la actividad total de las enzimas SST y FFT.

La actividad total y específica de las hidrolasa fructano en cada órgano incremento marcadamente en Septiembre cuando ocurrió un rápido rebrote e las parte aéreas después de daño físico causado por vientos. En este mes, la cantidad de fructanos en las raíces tuberosas y tallos rizomatosos disminuyó. La actividad específica y total en la enzima hidrolasa en las raíces tuberosas incrementó de nuevo en Diciembre mientras que al mismo tiempo hubo una disminución en el contenido de fructano y un incremento en el contenido de fructosa.

Fluctuaciones del contenido de oligofructanos en tubérculos de yacón durante crecimiento y almacenaje.

Se investigó la fluctuación de contenidos de fructosa, glucosa, sacarosa y oligofructanos (GF2- GF9). El promedio de GP de los azúcares en los tubérculos incrementa durante el crecimiento. El DP alcanzó 4.3 a la cosecha, y disminuyó de nuevo durante el almacenaje. Glucosa, sacarosa y GF2 disminuyeron

debido a que los oligofructanos mayores aumentaron GF4 durante el crecimiento. A la cosecha, el contenido total de oligofructanos alcanzó al 67% de la materia seca, y la proporción de GF2-GF5 alcanza al 70% del total de azúcares. Los contenidos de inulina y almidón en los tubérculos fueron sólo menores que 0,2% y 0,04% de la materia seca, respectivamente.

Los tubérculos fueron almacenados en suelo, a 5°C y 25°C. A las dos semanas el contenido total de oligofructanos disminuyó a 21% en el primer caso, a 33% a 5°C y a 41% a los 25°C de almacenaje. El contenido de oligofructanos disminuyó gradualmente y los contenidos de glucosa, sacarosa y fructosa incrementaron durante cada almacenaje. Para mejorar la eficiencia de obtención de oligofructanos en tubérculos de yacón, será necesario prepararlos después de la cosecha.

Los tubérculos de yacón (*Polymnia sonchifolia* or *P. edulis*, contiene una gran cantidad de oligofructanos. Investigadores han reportado las fluctuaciones de fructosa, glucosa, sacarosa y oligofructanos contenidos durante el crecimiento y almacenamiento utilizando HPLC. El grado promedio de polimerización (GP) de estos azúcares en los tubérculos incrementan durante el crecimiento. El GP alcanza a 4,3 a la cosecha, e incrementa de nuevo durante el almacenaje. Glucosa, sacarosa y oligofructano sub 2 disminuye, donde los oligofructanos más largos que GF sub4 incrementa durante el crecimiento. A la cosecha, el contenido total de oligofructanos alcanza a 67% de materia seca, y la tasa de GF sub 2.sub5 contabilizado para cerca del 70% en el total de azúcar. Los contenidos de inulina y almidón en el tuberculo son de menos de 0,23% y 0,04% de materia seca, respectivamente (1/7).

Asami et al., determinó que la composición química de los tubérculos de yacón presentan una alta concentración de fructosa, glucosa y sacarosa libre y bajos niveles de Fósforo y Nitrógeno. El principal constituyente es nitrógeno libre, donde las amidas y aminoácidos que predominan son: asparagina, glutamina, prolina y arginina. Como es sabido los tubérculos de plantas compuestas como topinambur y dalia contienen comúnmente inulina y oligosacaridos de alto grado de polimerización 35, esto permite afirmar que los fructanos son carbohidratos de reserva en los tubérculos de yacón pero la ocurrencia, estructura y contenido de fructanos en debe ser estudiada.

Las plantas fueron cultivadas en la Universidad de Ibraki (Tsukihashi et al., 1989), los tubérculos fueron cosechados en Noviembre y almacenados en frío hasta Febrero cuando fueron centrifugados y se determinó su composición:

Es notable que el contenido de fructosa libre fue de 35% del peso seco, el contenido de mono y disacáridos fue cerca de 58% del peso seco.

Los tubérculos de yacón contuvieron alta concentración de oligosacaridos de bajo grado de polimerización (3 a 10 fructanos). El contenido de trisacáridos fue casi el mismo que de sacarosa, y mucho más alto que el encontrado en bulbos de tulipanes y dalias (Ohyama et al., 1985). Los contenidos de oligofructanos disminuyeron gradualmente con el incremento del grado de polimerización (GP) de los fructanos. Se sugiere que existiría un constante equilibrio de polimerización y depolimerización de fructanos casi igual a su respectivo grado de polimerización. El rol fisiológico de los fructanos en las plantas no ha sido bien documentado, sin embargo, se sugiere que los fructanos operan como una extensión del pool de sacarosa. El contenido de GP2, GP3, GP4 incrementa con el contenido de sacarosa, y disminuye cuando el contenido de sacarosa disminuye justo después de la maduración (Ohyama et al., 1988). En los tubérculos de yacón, la acumulación de oligofructanos de bajo grado de polimerización puede ser inducido por una alta concentración de mono y disacáridos, y consecuentemente la presión osmótica de las células puede ser regulado.

La inulina fue detectada en la fracción insoluble en 80% d etanol, pero el contenido fue significativamente bajo, 13,5 mg/g de peso seco. Además, el promedio de grado de polimerización de los fructanos insolubles en 80% de etanol fue baja; 14,5. De esta manera, al parecer los tubérculos de yacón pertenecen al grupo que acumula fructanos de bajo GP como la cebolla y bulbos de

tulipanes, y son diferentes a las plantas que acumulan inulina como Topinambur o dalia (Pollock 1986).

Fue determinada la estructura de los fructanos en los tubérculos de yacón. Tres tipos de fructanos están presentes en varias especies de plantas, los trisacáridos son intermediarios de los oligofructanos de alto GP relacionados (Pollock, 1986).

Proyecciones para mejoramiento

En la región andina, existe una demanda potencial. En otras regiones subtropicales y tropicales del mundo podría desarrollarse como cultivo industrial para producción de inulina.

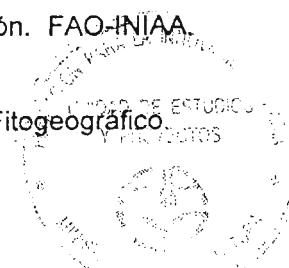
La fibra dietética es un término general que cubre una amplia variedad de sustancias provenientes de la familia de los carbohidratos que resisten la hidrólisis por enzimas humanas alimentarias pero son fermentadas por colonias de microflora (inulina).

En la actualidad la investigación sobre este cultivo está en un grupo de estudiosos de las Universidades de Cajamarca, La Molina, San Antonio Abad del Cusco y en el Centro Internacional de la papa, a través del Proyecto de Raíces y Tuberosas Andinas, investigando sobre los aspectos de exploración, colección, conservación, caracterización y evaluación, plagas y enfermedades, fisiología y biología reproductiva.



BIBLIOGRAFIA:

- 1.- ARBIZU Y ROBLES. 1986. Los Recursos Genéticos de la Universidad Nacional San Cristóbal.
- 2.- CARDENAS, M. 1989. Manuel de Plantas Económicas de Bolivia . 2da edición. Ed. Los Amigos del libro. La Paz-Cochabamba. Bolivia.
- 3.- COBO, B. 1964. Historia del Nuevo Mundo. Libro IV . Boletín Autores Españoles. Tomo I. 167 – 170.
- 4.- FRANCO, S., RODRÍGUEZ J. 1988. Colección de Cultivos Andinos en la Sierra del Perú. PNCA- EEA. Baños del Inka. Cajamarca. En el VI Congreso Internacional sobre Cultivos.
- 5.- FRANCO S., RODRÍGUEZ J., Y UCEDA. 1994. Caracterización Y Evaluación de Bacón o Yacón. (*Polimnia sonchifolia*) en Cajamarca – Perú. En la Universidad Austral de Chile. Resúmenes de trabajos presentados al VIII Congreso Internacional de Sistemas Agropecuarios y Su proyección al Tercer Milenio. Valdivia. Chile.
- 6.- HERMAN M. 1992. Raíces y Tubérculos Andinos. Prioridades de Investigación para u recurso Alimenticio propuesto. Centro Internacional de la papa. CIP. Lima Perú. 36 p.
- 7.- LEIVA J. 1995. Evaluación Agrobotánica de 32 Ecotipos de Yacón (*Polimnia sonchifolia*). Tesis Ing. Agr. UNSAAC. Cusco. Perú.
- 8.- LEON J. 1964. Plantas ALIMENTICIAS Andinas. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas IICA Boletín Técnico N6. 112 p.
- 9.- LEON J. 1968. Fundamentos de los Cultivos Tropicales. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA) de la OEA. San José de Costa Rica. Pg.31,127,128.
- 10.- NATIONAL ACADEMY PRESS. 1989. Lost Crops of the Incas. Washington D.C. USA
- 11.- ORTEGA R. Et. Al. 1995. Informe Técnico. Subproyecto R2-031. Conservación Regional de Raíces en el Sur del Perú. Periodo Abril 1994- julio 1995. Programa Colaborativo Biodiversidad de RTA's. Cusco. Perú.
- 12.- PROGRAMA COLABORATIVO BIODIVERSIDAD DE RAICES Y TUBERCULOS. 1995. Memorias 1993 – 1994. Consorcio para el desarrollo sostenible de la Ecorregión Andina. CODESAN La Molina.
- 13.- SEMINARIO, C.J. 1995. Descriptores Básicos para la caracterización de Chago (*Mirabilis expansa*), Bacón (*Smallanthus sonchifolius*) y Achira (*Canna edulis*) En Congreso Peruano de Cultivos Andinos. Ayacucho. Perú. 11- 16 set.
- 14.- SZEMNSKI J. 1993. Nueva Crónica Y Buen Gobierno. Tomo III. Vocabulario y Textos Andinos de Felipe Guaman Poma de Ayala. Fondo de CULTURA Económica. Primera Edición. 222-255.
- 15.- TAPIA M. 1990. Cultivos Andinos Sub- Explotados y su aporte a la alimentación. FAO-INIAA. 97-101.
- 16.- WEBERBAUER A. 1945. El Mundo Vegetal de los Andes Peruanos. Estudio Fitogeográfico



6. MARCO GENERAL DEL PROYECTO

En la actualidad, a nivel mundial, existe un creciente interés por productos naturales que promuevan el desarrollo de la microflora intestinal la cual puede ser modificada hacia microorganismos más benéficos por medio del uso de azúcares seleccionados (FOS) que no sustentan el crecimiento de los patógenos al tiempo que bloquean su colonización. Es así como los fructooligosacáridos son uno de los grupos de mayor interés.

Una de las principales fuentes para la obtención de fructooligosacáridos corresponde al oligosacárido inulina.

Las principales fuentes de inulina existentes entre las especies vegetales corresponden a la achicoria, extendidamente cultivada en Europa desde el siglo XVI, el yacón, una planta tuberosa andina introducida al Japón que ha crecido en popularidad, el topinambur, actualmente cultivado en el país para fines agroindustriales, y la dalia, consumido tradicionalmente por los aztecas.

Pese al interés en el uso de inulina para la producción de fructosa, existen pocos esfuerzos en la práctica relacionados con las especies antes mencionadas. La achicoria aparece como la principal especie utilizada mundialmente para este fin, a la fecha.

Es de relevancia destacar que los cultivos de topinambur y yacón presenten múltiples ventajas, respecto de otras especies, en relación a la extracción de inulina, las cuales deberían ser aprovechadas.

Productos Comerciales

En la actualidad los fructooligosacáridos (FOS) son obtenidos a través de dos procesos que resultan en productos levemente distintos.

El primer método usado, es aquel en que ocurre una hidrólisis enzimática controlada del polisacárido inulina (oligofructosa inulina). La mezcla de fructooligosacáridos que se forma por este procedimiento es muy similar a la obtenida mediante el proceso de transfructosilación. Sin embargo, la mezcla generada en este proceso de hidrólisis de la inulina contiene cadenas de fructooligómeros más largas. El producto final se presenta en jarabe y en polvo, en varias concentraciones. Este proceso puede ocurrir también en la naturaleza, y esos oligosacáridos pueden ser encontrados en un gran número de plantas, sobre 36.000 plantas, pero especialmente en topinambur y achicoria (Roberfroid et al., 1993; Campbell et al., 1997). Este tipo de FOS es preparado comercialmente por Orafit Ltd., en Bélgica, esta es una de las empresas líderes en la producción de FOS a través de la hidrólisis de inulina y utiliza como materia prima la achicoria (*Chicorium sp.*), dos productos son comerciales con diferentes grados de polimerización, esto es Raftilose y Frutalif.

El segundo método que permite obtener FOS es a través de la acción de transfructosilación de un B-fructosidasa de *Aspergillus niger* en sacarosa. Las mezclas resultantes tienen la fórmula general de GF_n con n entre 1 a 5. Contrario a los FOS derivados de inulina, los enlaces no son sólo B (1-2), sino que otros enlaces pueden presentarse en número limitado. Este grupo es producido en Japón por Meiji Seika Kaisha LTD. a partir de una enzima de *Aspergillus niger* y verificada sus excelentes propiedades funcionales (Hidaka et al., 1986 & 1987), el producto es comercializado como Meiologo, Neosugar, Profeed, Actilight o Nutraflora (Hidaka et al., 1986, Thiriet, 1989; Spiegel et al., 1994). Actilight es producido y comercializado en Europa por Beghin Meiji Industries (grupo Eridania Beghin-Say). La síntesis de FOS desde hongos tiene un costo de producción de \$4,5 a \$9 /libra, y cerca de \$9,92 a \$19,84 por kilogramo (Koops, 1998).

En 1984, Meiji Seika Co., en Japón, el primer éxito en producción comercial de FOS (Neosugar) a Más recientemente, Cheil Foods & Chemicals Co., in Korea, logró un éxito en la producción industrial a través del uso de células inmovilizadas de *Aureobasidium pullulans* (Yun, J. W. et al., 1990 & 1992).



Neosugar (Hidaka et al., 1989) es sintetizado desde sacarosa por la fructosiltransferasa de un hongo, su utilización y el de similares endulzantes de alimentos ha incrementado consistentemente en los últimos años debido a su fibra dietética y atributos hipocalóricos (Tokunaga et al., 1989) relacionado a efectos gastrointestinales benéficos a través de la estimulación de crecimiento de Bifidobacterium (Hiryama e Hidaka, 1993). Por otro lado Yamashita et al. (1984), demostró que la ingestión de Neosugar por diabéticos no dependientes de insulina disminuyó rápidamente la glucosa de la sangre (14I).

Estatus legal

Los fructooligosacáridos son ingredientes alimenticios, no aditivos de alimentos, esto ha sido confirmado por las autoridades legales en la mayoría de los países. Además ellos pueden ser utilizados en la mayoría de las aplicaciones sin restricciones. De manera complementaria los efectos bifidogénicos pueden ser usados en etiquetas de alimentos.

Productos Comerciales

Frutalit es un producto natural, Kosher, extractado de ingredientes alimenticios a partir de raíces de la planta de chicoria, que incrementa y asiste en muchas de las funciones metabólicas del cuerpo. Se han encontrado en 36.000 especies alrededor del mundo y desde el almidón, (6, 7)

Funcionalidades

FOS tiene un número de propiedades interesantes (Hidaka, H et al., 1986 & 1987, Tokunaga, T. H. Et al., 1989, Marchetti G., 1993).

De manera resumida es posible apreciar los efectos benéficos del FOS:

- Incremento de volumen fecal y del peso.
- Incremento de la frecuencia fecal.
- Incremento del peso de la mucosa del colon.
- Disminución en constipación y mejora en irregularidades.
- Disminución del pH fecal, metabolitos tóxicos y carcinogénicos.
- Disminución de los lípidos del suero.
- Disminución en el colesterol en la sangre.
- Incremento en la tasa de HLD/LDL.
- Disminución en la presión sanguínea.
- Disminución de glicemia.
- Incremento en la absorción de minerales.
- Incremento de la microflora fecal (Bifidus stimulation).
- Estimulación de las bacterias benéficas intestinales.

Aplicaciones

Los FOS tienen baja intensidad endulzante, siendo sólo cerca de la tercera parte del dulzor de la sacarosa.

FOS son libres de calorías, son escasamente hidrolizados por las enzimas digestivas y no utilizadas como fuente de energía en el cuerpo, siendo seguro para los diabéticos. Por esta razón los FOS no pueden ser etiquetados como carbohidratos o azúcar.

FOS son no cariogénicos: no son usados por Streptococcus mutans

FOS tienen una solubilidad mayor que la sacarosa.

FOS no cristalizan, precipitan en la boca.



FOS no se degrada durante procesos de calor

FOS puede hidrolizarse a fructosa en condiciones muy ácidas y tiempos de exposición y temperaturas (6,7).

Frutalif es el nombre comercial de Imperial-Suiker U Inulina, un ingrediente alimenticio funcional extractado desde la planta de achicoria, Cichorium intybus.

Antes de que la papa fuera introducida en el Europa oriental, el topinambur fue la principal fuente de hidratos de carbono de la población. La achicoria, ha sido extendidamente cultivada en Europa desde el siglo XVI por sus raíces y hojas. El yacón, una planta tuberosa similar introducida al Japón ha crecido en popularidad, y es actualmente en las zonas andinas de sud América. La Dalia es una especie que contiene cerca del 90% de Inulina, y fue consumido por los aztecas.

Sin embargo, la inulina puede ser también encontrada en muchas frutas consumidas normalmente (9).

Uso comercial Chile y el mundo; producción de prebióticos

Actualmente se producen 12 tipos de oligosacáridos, estimándose en 86.000 toneladas producidas en 1995. De estas, 12.000 t. corresponden a fructooligosacáridos producidos por diversos métodos en Japón, Francia, E.U.A., Korea y Bélgica (Crittenden and Playne, 1998). La mayoría se produce para la alimentación humana. En Japón, existen preparaciones comerciales de FOS orientadas a la alimentación humana en combinación con microorganismos benéficos, razón de 200 mg por cápsula, indicando una dosis de 3 a 4 cápsulas al día. La concentración del producto final un jarabe FOS, disponible comercialmente, es sobre 800g/l. En general, diversos autores señalan efectos positivos con dosis diarias tan bajas como 15 g/día. Actualmente los fructooligosacáridos (FOS) secos, se comercializan a US \$ 48 /Kg en USA.



7. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO

(Anexar además un plano o mapa de la ubicación del proyecto)

Gran parte de las etapas del proyecto se llevara a cabo en las dependencias del Laboratorio de ubicado en la ciudad de Santiago, la Región Metropolitana.

Parte de las etapas del proyecto serán realizadas en las instalaciones de la empresa Biofrut S.A. ubicada en las proximidades de la ciudad de Paine, Región Metropolitana, Comuna de Paine (Panamericana sur).

Parte de las etapas del proyecto serán realizadas en las instalaciones de la empresa Bioprocesos S.A. se ubicada en la comuna de Lampa, RM (kilómetro 17 de Panamericana norte)





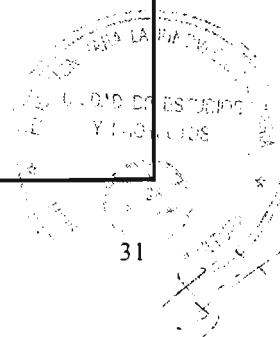
8. OBJETIVOS DEL PROYECTO

8.1. GENERAL:

Biosintetizar fructooligosacaridos (FOS) a partir de fuentes enzimáticas vegetales y bacterianas para producción animal

8.2. ESPECÍFICOS:

1. Obtener células matrices para el establecimiento de un bio-reactor.
2. Manejo y evaluación de cultivos en campo para la obtención de sustrato.
3. Desarrollar un sistema de cultivos para la producción de Fructooligosacaridos.
4. Desarrollar un sistema de producción masiva y replicable (planta prototipo).
5. Desarrollar productos para uso en alimentación animal.
- 6 Transferir resultados del proyecto.





9. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS

METODOLOGIA

Para el logro de los objetivos del proyecto se seguirá la metodología detallada a continuación:

1. Obtención de fuentes enzimáticas para el establecimiento de un bio-reactor

En esta etapa se desarrollarán fuentes de enzimas tipo inulinasa que permitan el establecimiento de un bio-reactor y/o un sistema de depolimerización de inulina a FOS. En base al arte previo se investigará el desarrollo de dos frentes de trabajo: -obtención de suspensiones celulares provenientes de material vegetal, con las que se desarrollarán dos sublíneas, una será el uso de directo de dichas células como células matrices de un bio-reactor que utilizará como sustrato inulina y otra la producción de preparados enzimáticos con actividad inulinasa a partir de estas células; -cultivo de una cepa bacteriana en las condiciones adecuadas para expresar su actividad inulinolítica y separar así preparados enzimáticos con actividad inulinasa..

1.1 Desarrollo de cultivos celulares

Como material de partida para la obtención de suspensiones celulares que tengan actividad inulinasa se utilizará una especie vegetal, el topinambur, en cuyos tubérculos se describe la presencia de enzimas inulinolíticas. Estos cultivos celulares serán la base durante todo el proyecto tanto para el uso de estas células en el bio-reactor como para la producción de preparados enzimáticos desde estas células.

1.1.1 Preparación de callos y suspensión celular

Se evaluará la producción de callos y suspensión celular a partir de trozos de tubérculos de topinambur. Para la producción de callos se probarán tres medios de cultivo distintos para cada corte (MS + IAA, Medio Nagota y Takebe modificado, medio Halperin y Minocha + 2,4D, +NAA) una vez escogido el medio adecuado con las condiciones de luz y temperatura óptimas y teniendo la cantidad de masa necesaria para servir como inóculo se iniciará el cultivo de suspensión celular en medio líquido con agitación constante. Se medirá la concentración celular respecto al tiempo al igual que la viabilidad de las células en suspensión (por ejemplo por la prueba del tetrazolium). Estas técnicas de cultivo y mediciones deberán realizarse continuamente para asegurar una disponibilidad constante de células tanto para alimentar el bio-reactor como para obtener preparados enzimáticos.

1.2 Desarrollo de cultivos bacterianos

Se utilizará una cepa de *Bacillus licheniformis* microorganismo inulinolítico. Se evaluarán las variables necesarias como pH, temperatura y agitación para que se exprese al máximo la actividad inulinasa de la cepa mencionada y así obtener los preparados enzimáticos.

1.2.1 Recepción del material biológico

La cepa bacteriana de *Bacillus licheniformis* será importada desde Estados Unidos, y el producto vendrá congelado en seco. Es de relevancia destacar que presenta un nivel de bioseguridad 1, por lo que presenta un nivel de riesgo muy bajo.

1.2.2 Reactivación de la cepa de *Bacillus licheniformis*



2.2.2 Propagación del topinambur

La etapa de propagación del topinambur será dirigida tanto a la obtención de material apropiado para obtener las suspensiones celulares como para obtener material suficiente para establecer un cultivo lo más homogéneo posible en terreno y mantener así una provisión permanente de inulina para la planta prototipo de obtención de FOS.

Se buscará a partir de 40 plantas iniciales del primer año, lograr una cantidad cercana a las 200 plantas clones a través de micropropagación para poder establecer una superficie de al menos 100m² en el predio ubicado en San Pedro (RM), propiedad de Agrícola Pangué, que será aportada por Bioprocesos Chile S.A. para el logro de los objetivos en el proyecto.

Las plantas serán propagadas a través de micropropagación para luego completar su etapa de aclimatación en invernadero antes de ser llevadas al terreno definitivo. Algunas plantas (*in vitro*) se mantendrán en laboratorio para mantener una fuente constante de suspensiones celulares.

Las dos primeras etapas que se señalan a continuación serán realizadas en las instalaciones del laboratorio de micropropagación de la empresa Apablaza y Santalices y la etapa de aclimatación tendrá lugar en los invernaderos de la misma, ubicados en la Región Metropolitana.

2.2.2.1 Cultivo *in vitro* de topinambur

Se evaluarán tres sistemas de descontaminación y medios de cultivo (principalmente medios sólidos MS y MS modificado) con distintos tipos de explante (yemas, brotes y otro) en la especie evaluada. Los explantes serán obtenidos desde distintos órganos de la planta. Una vez establecido el medio más adecuado se comienza la etapa de micropropagación la que permitirá contar con el material suficiente para las etapas posteriores.

2.2.2.2 Micropropagación de topinambur

En esta etapa se evaluará el manejo de subdivisión y se utilizará el medio sólido que haya arrojado los mejores resultados en el punto anterior, además se manejará el contenido de reguladores de crecimiento de este (auxinas y citoquininas) para las etapas de crecimiento, multiplicación y enraizamiento de las especie, de esta manera se contará con las combinaciones hormonales más apropiadas para cada una de las etapas de interés.

2.2.2.3 Aclimatación de topinambur

Las plantas serán establecidas en invernadero con condiciones controladas, sobre sustratos específicos de manera de poder determinar las condiciones ambientales como humedad, temperatura y tipo de sustrato requeridas por la especie para la etapa de adaptación fuera del laboratorio. En esta etapa se evaluará la necesidad de utilizar un sistema de camas calientes y manejo hormonal para el enraizamiento.

2.2.3 Obtención de material vegetativo (tubérculo) para siembra convencional de topinambur.

Para el establecimiento del cultivo de topinambur, se contará con tubérculos obtenidos desde la VII Región, los cuales serán conservados desde su cosecha de otoño-invierno del mismo año.

Se contará con un total de 300 kilogramos de tubérculos de topinambur para ser establecidos inicialmente (primera temporada) en una superficie cercana a los 3000 metros en el predio ubicado de Agrícola Pangué (en San Pedro).

En esta etapa será considerada la evaluación sanitaria a través de muestreos del material vegetal a establecer, de manera de comenzar los cultivos con las mejores condiciones sanitarias posibles.

Una parte del material será destinado a generar plantas como material de reserva para los cultivos celulares que alimentarán el bio-reactor o serán fuente de preparados enzimáticos..

2.3 Establecimiento de cultivo de topinambur

Para la preparación del suelo serán realizadas labores primarias y secundarias de manera de asegurar el arraigamiento inicial de las plantas. Paralelamente, se realizará el trazado de los surcos de riego para asegurar un abastecimiento continuo de agua cuando sea necesario.

La plantación del cultivo se llevará a cabo durante la temporada de primavera, para esto se contará con tubérculos y plántulas obtenidas in vitro y previamente acondicionadas.

2.4 Manejo de cultivo de topinambur

El manejo agronómico de los cultivos se llevará a cabo considerando los siguientes aspectos de relevancia y en función de los requerimientos específicos de cada una de las especies.

- a. Manejo de riego: El riego se realizará a través del sistema por surcos, buscando mejorar la eficiencia de esta labor con el uso de mangas de manera de disminuir las pérdidas.
- b. Manejo de fertilización: El manejo de fertilización será realizada en base a experiencias previas de los cultivos obtenidas en el país para topinambur.
- c. Manejo fitosanitario (plagas y enfermedades): El manejo fitosanitario se realizará a través del monitoreo regular de la presencia de plagas y enfermedades en ambos cultivos, considerando labores culturales preventivas para evitar la aparición estas y posteriormente con el uso de controles curativos.
- d. Manejo de malezas: El manejo de malezas se realizará en base a control químico y manual, los cuales serán combinados en base a las posibilidades específicas de cada cultivo y disponibilidad de mano de obra.
- e. Manejo de cosecha: El manejo de cosecha será realizado en base a la determinación del momento óptimo para maximizar el rendimiento comercial de cada uno de los cultivos.

Para el cultivo de topinambur se aprovechará la experiencia del equipo de trabajo en esta área.

2.5 Evaluación de comportamiento del cultivo

Será realizado un seguimiento de los diferentes cultivos de manera paralela, para conocer la respuesta adaptativa y productiva de las diferentes especies, de esta manera serán detectados y manejados aquellos aspectos que resulten críticos para la obtención de un máximo rendimiento de inulina en cada uno de los cultivos.

La evaluación de comportamiento será realizada durante una temporada productiva para cada uno de los cultivos.



Debido a las experiencias previas existentes en el cultivo de topinambur, actualmente se conocen algunos de los aspectos críticos que deben ser considerados en el manejo del cultivo para lograr los máximos rendimientos económicos.

2.6 Evaluación de rendimiento comercial de Inulina.

Se realizarán una serie de muestreos en el cultivo, en diferentes etapas productivas, para determinar el momento óptimo de cosecha y maximizar el rendimiento comercial de cada cultivo (kg de inulina/ha). La determinación exacta del momento óptimo será determinado a través del análisis cromatográfico de las muestras obtenidas a partir de los cuales arrojarán las concentraciones exactas de los diferentes oligosacáridos presentes en los órganos de reserva en el tiempo.

En base a los resultados de rendimiento económico y a la época de disponibilidad de inulina a partir del cultivo, será determinada la factibilidad de este como base de la materia prima para el bio-reactor de FOS. Adicionalmente, se determinará la superficie óptima requerida, para abastecer la planta a pequeña escala.

En el caso de cultivo de topinambur se espera un rendimiento cercano a las 70 toneladas por hectárea de tubérculos.

3 Desarrollo de sistema para la producción de FOS.

3.1 Sistema de suspensiones celulares para bio-reactor celular

3.1.1 Adición de inulina

Las células obtenidas se colocarán en un medio de cultivo líquido en las condiciones determinadas como adecuadas y se realizarán las pruebas para adicionar en dicho medio (o una modificación de este) concentraciones conocidas de inulina. En este punto se determinarán los cambios que se deben realizar al medio de manera que se exprese la actividad exoinulinasa de las células para lograr la depolimerización parcial de la inulina agregada al medio, al igual que la concentración óptima de células para lograr un buen rendimiento del producto esperado, esto es fructooligosacaridos (FOS). Se debe considerar la toma de muestra del medio líquido cada cierto intervalo de tiempo (a determinar durante el proyecto) para medir concentración de FOS, inulina y fructosa por cromatografía.

3.1.2 Separación del producto deseado

Una vez determinado el punto de separación por determinación cromatográfica de concentraciones de inulina, FOS, y fructosa se procederá a separar por filtración, con filtros de un poro lo suficientemente grande para obtener en el líquido los carbohidratos y dejar en el bio-reactor las células, inmediatamente se restaurará medio fresco a las células para asegurar su viabilidad, además será verificada la concentración celular para corregir cualquier falta. En esta etapa será determinado el rendimiento de FOS por concentración inicial de inulina al igual que la calidad del producto obtenido refiriéndose principalmente a componentes del medio de cultivo que pudieran interferir en las dietas y/o organismos que consumirían el producto. Para verificar la calidad del producto será necesario realizar determinaciones cromatográficas.

3.1.3 Análisis de Resultados

Los resultados serán evaluados estadísticamente, determinando promedios y desviación estándar, y comparando los promedios mediante un análisis de varianza y la prueba "t" de Student.

3.2 Sistema de obtención de preparaciones enzimáticas a partir de las células vegetales

3.2.1 Obtención del Preparado Enzimático

Las suspensiones celulares serán colocadas en el medio líquido y condiciones adecuadas, determinadas en 1.1, pero para cumplir este objetivo el medio será suplementado con inulina, el sistema utilizado será tipo bio-reactor. Como parte de este ensayo se deberán probar por lo menos cinco concentraciones de células y cinco concentraciones de inulina para determinar las concentraciones que permitan la expresión de la enzima en el medio, se incubarán hasta en tres tiempos diferentes. Para separar la suspensión celular del preparado enzimático se probarán técnicas de filtración y centrifugación. En los sobrenadantes obtenidos se determinará la actividad enzimática. Los sobrenadantes se mantendrán a 4 °C.

3.2.2 Evaluación del preparado enzimático

La evaluación del preparado enzimático se realizará a partir de las siguientes actividades:

3.2.2.1 Determinación de unidades de actividad enzimática de los preparados enzimáticos a partir de células vegetales

- Se prepararán sistemas de incubación enzimática. Como sustrato se usará 1,5 ml de inulina (20 mg/ml) en Buffer acetato 0,01M.
- Se enfrentarán con 0,5 ml de preparado enzimático, para los dos orígenes.
- Se incubarán por una hora a pH, temperatura y agitación óptima.
- En uno de los tubos que se usará como testigo no se usará preparado enzimático y otro tubo será definido como blanco en el que no se usará sustrato.
- Se paralizará la reacción con 2 ml de ácido clorhídrico 0,1 N.
- Se filtrará y determinará la concentración de FOS por cromatografía.
- Una unidad de actividad enzimática será la cantidad de enzima que libere 1 mg de FOS por minuto.

3.2.2.2 Determinación del contenido de proteínas en los preparados enzimáticos

Se usará método de Lowry modificado por Oyama y Eagle (1956) empleando el reactivo de Folin y Ciocalteu. Para la curva de calibración se usará como estándar caseína purificada disuelta en NaOH 0,1 N.

3.2.2.3 Determinación de la actividad específica de los preparados enzimáticos

La actividad específica se calculará dividiendo el valor de unidades de actividad enzimática (UE) presentes en un ml, entre los mg de proteína por ml.



3.2.2.4 Determinación de la influencia de factores en la actividad enzimática

- Para determinar la influencia de estos factores sobre la actividad catalítica se usará el diseño de Box-BehnKen.
- Se prepararán 15 sistemas cada uno conteniendo 1,5 ml de inulina purificada comercial, disuelta en Buffer acetato 0,01 M, y a cada uno se añadirá 0,5 ml de preparado enzimático, para evaluar las variables pH de 3,5 4,5 5,5, en Baño María con temperaturas de 25, 35, 45°C, en un equipo de agitación de 30, 60 y 90 r.p.m. durante 60 minutos.
- Se determinará las unidades de actividad enzimática por el método descrito antes.

3.2.2.5 Determinación de la producción de FOS desde inulina purificada y comercial de topinambur por efecto de la inulinasa de *B. Licheniformis*

- En condiciones óptimas de temperatura, pH, y agitación, se agregará 7 ml de preparado enzimático a cada uno de los 10 matraces de 50 ml conteniendo 21 ml de inulina comercial (20 mg/ml) y a otros 10 matraces conteniendo 21 ml de homogenizado de tubérculo de topinambur equivalente a 20 mg/ ml de inulina comercial.
- La incubación enzimática, se realizará hasta obtener la producción máxima de FOS. Se controlará cada 60 minutos, tomando muestras de 2 ml cada vez.
- Se paralizará la reacción con 2 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y se medirá la producción de FOS por el método de cromatografía.

3.2.2.6 Análisis de Resultados

Los resultados serán evaluados estadísticamente, determinando promedios y desviación estándar, y comparando los promedios mediante un análisis de varianza y la prueba "t" de Student, según corresponda.

3.3. Sistema de obtención de preparaciones enzimáticas a partir de *B.licheniformis*

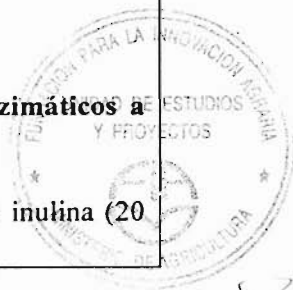
3.3.1 Obtención del Preparado enzimático

Utilizando nuevamente un sistema tipo bio-reactor se colocarán concentraciones del microorganismo en medio adecuado suplementado con inulina, como parte de este ensayo se deberán probar por lo menos cinco concentraciones de microorganismo y cinco concentraciones de inulina para determinar las concentraciones que permitan la expresión de la enzima en el medio. Se incubarán hasta en tres tiempos diferentes. Para separar la suspensión celular del preparado enzimático se probarán técnicas de filtración y centrifugación. En los sobrenadantes obtenidos se determinará la actividad enzimática. Los sobrenadantes se mantendrán a 4 °C.

3.3.2 Evaluación de los preparados enzimáticos

3.3.2.1 Determinación de unidades de actividad enzimática de los preparados enzimáticos a partir de fuente bacteriana.

- Se prepararán sistemas de incubación enzimática. Como sustrato se usará 1,5 ml de inulina (20 mg/ml) en Buffer acetato 0,01M.



- Se enfrentarán con el preparado enzimático, para los dos orígenes.
- Se incubarán por una hora a pH, temperatura y agitación óptima.
- En uno de los tubos que se usará como testigo no se usará preparado enzimático y otro tubo será definido como blanco en el que no se usará sustrato.
- Se paralizará la reacción con 2 ml de ácido clorhídrico 0,1 N.
- Se filtrará y determinará la concentración de FOS por cromatografía.
- Una unidad de actividad enzimática será la cantidad de enzima que libere 1 mg de FOS por minuto.

3.3.2.2 Determinación del contenido de proteínas

Se usará método de Lowry modificado por Oyama y Eagle (1956) empleando el reactivo de Folin y Ciocalteau. Para la curva de calibración se usará como estándar caseína purificada disuelta en NaOH 0,1 N.

3.3.2.3 Determinación de la actividad específica

La actividad específica se calculará dividiendo el valor de unidades de actividad enzimática (UE) presentes en un ml, entre los mg de proteína por ml.

3.3.2.4 Determinación de la influencia de factores en la actividad enzimática

- Para determinar la influencia de estos factores sobre la actividad catalítica se usará el diseño de Box-BehnKen.
- Se prepararán 15 sistemas cada uno conteniendo 1,5 ml de inulina purificada comercial, disuelta en Buffer acetato 0,01 M, y a cada uno se añadirá 0,5 ml de preparado enzimático, para evaluar las variables pH de 3,5 4,5 5,5, en Baño María con temperaturas de 25, 35, 45°C, en un equipo de agitación de 30, 60 y 90 r.p.m. durante 60 minutos.
- Se determinará las unidades de actividad enzimática por el método descrito antes.

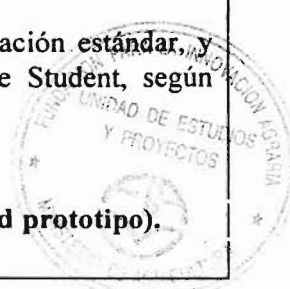
3.3.2.5 Determinación de la producción de FOS desde inulina purificada comercial y de raíz de topinambur por efecto de la inulasa de *B. licheniformis*

- En condiciones óptimas de temperatura, pH, y agitación, se agregará 7 ml de preparado enzimático a cada uno de los 10 matraces de 50 ml conteniendo 21 ml de inulina comercial (20 mg/ml) y a otros 10 matraces conteniendo 21 ml de homogenizado de topinambur equivalente a 20 mg/ ml de inulina comercial.
- La incubación enzimática, se realizará hasta obtener la producción máxima de FOS. Se controlará cada 60 minutos, tomando muestras de 2 ml cada vez.
- Se paralizará la reacción con 2 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y se medirá la producción de FOS por el método de cromatografía.

3.3.2.6 Análisis de Resultados

Los resultados serán evaluados estadísticamente, determinando promedios y desviación estándar, y comparando los promedios mediante un análisis de varianza y la prueba "t" de Student, según corresponda.

4 Desarrollo de sistema para la producción masiva y replicable de FOS (unidad prototipo).





4.1 Determinación del Sistema óptimo para producción de FOS

En base a los resultados obtenidos en la etapa anterior será seleccionado el sistema de producción de FOS a partir de inulina que presente el mejor y más eficiente comportamiento para ser desarrollado (en una unidad prototipo).

4.2 Mantención de un sistema de producción de enzimas o suspensión celular

Será necesario contar con una provisión constante durante el proyecto de enzimas o células vegetales (topinambur) para alimentar el bio-reactor y realizar los ajustes requeridos por el sistema. Para esto se contará con una cantidad de material selecto que será destinado en el laboratorio a este fin.

4.3 Determinación de puntos críticos:

En base a los resultados obtenidos en la etapa de anterior, se procederá a la determinación de los puntos críticos para el establecimiento de un sistema de producción de unidad prototipo de FOS a partir de inulina obtenida de topinambur. Factores como condiciones ambientales y calidad del producto final serán de relevancia para asegurar un resultado satisfactorio.

En esta etapa deben tomarse todas las consideraciones necesarias para asegurar que ciertos factores no sean limitantes en el proceso de producción de FOS (disponibilidad de sustrato, concentraciones celulares adecuadas).

En función del sistema seleccionado para obtención de FOS serán definidas las etapas limitantes en el proceso, en el caso del bio-reactor con suspensiones celulares serán el establecimiento de condiciones óptimas del bio-reactor, concentración celular y viabilidad celular. En el caso de los preparados enzimáticos, ya sea, vegetal o bacteriano los puntos críticos serán nivel de actividad enzimática y condiciones ambientales para favorecer la expresión de esta actividad.

4.4 Diseño de la Unidad Prototipo

La unidad será establecida en las instalaciones de la empresa Biofrut, ubicados en las cercanías de Paine, Región Metropolitana. El diseño de esta unidad prototipo se realizará en base a los resultados obtenidos en la etapa anterior de desarrollo.

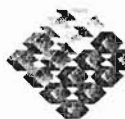
Será determinada la escala que resulte técnicamente adecuada de manejar y considerando que los cultivos celulares o preparados enzimáticos sean capaces de arrojar resultados económicos y sustentables que puedan ser replicables a una mayor escala.

4.5 Establecimiento de la Unidad Prototipo

Una vez determinado el diseño apropiado para la unidad. El sistema será alimentado con inulina obtenida del procesamiento del tubérculo de topinambur, (en la planta de extracción que se encuentra en funcionamiento en las instalaciones de Biofrut) la que servirá para alimentar el bio-reactor (celular o enzimático).

En esta unidad se utilizarán los cultivos celulares y medios de cultivo o bien los preparados enzimáticos determinados en la etapa de desarrollo previo. Adicionalmente deberán ser consideradas las condiciones ambientales de humedad, temperatura y luminosidad críticos para asegurar el éxito del proceso (previamente determinados).

4.6 Obtención de la materia prima



El producto obtenido a partir de la cosecha de topinambur será **seleccionado** en base a atributos de concentración de inulina y facilidad de manejo de manera de buscar el máximo rendimiento del producto.

Se utilizará como base el sistema de **extracción** aplicado para topinambur. De esta manera se aprovechará la experiencia con que cuenta la empresa Biofrut en la obtención de materia prima (inulina) a partir de topinambur para maximizar los resultados obtenidos.

En esta etapa, se requiere contar con una materia prima (inulina) libre de contaminantes biológicos que pudieran afectar el medio de cultivo.

4.7 Ajuste del sistema de funcionamiento de producción de FOS

En esta etapa serán revisados y ajustados todos y cada uno de los detalles de la etapas antes involucradas de manera de asegurar un funcionamiento eficiente del sistema como un todo. En el caso del bio-reactor serán ajustadas la concentración y viabilidad celular. En el caso de los preparados enzimáticos, ya sea, vegetal o bacteriano serán manejadas las condiciones ambientales para favorecer la expresión enzimática de manera de asegurar un funcionamiento regular del sistema.

4.8 Pruebas de producción

Serán realizadas pruebas de producción utilizando como materia prima diferentes fuentes de inulina (topinambur y fuente comercial) para comparar los rendimientos y calidad obtenidos en cada caso y determinar la necesidad de uso de alguna fuente específica (con determinado grado de pureza) para los mejores resultados económicos y productivos. Además serán determinados los tiempos de duración del proceso productivo.

4.9 Obtención de producto FOS

Una vez realizadas las pruebas de producción, se procederá a la obtención del producto FOS final, para lo cual se hará funcionar el sistema en forma continua de manera de obtener una cantidad de producto suficiente para ser llevado a la línea de secado.

De esta manera será enviado a las instalaciones de la empresa Bioprocesos, donde será realizado el secado y acondicionamiento del producto comercial.

4.10 Secado y Acondicionamiento del producto FOS

Esta etapa incluirá el ajuste de los equipos para realizar el secado y posteriormente la puesta en marcha del sistema. El proceso de secado será realizado con secadores spray, existentes en las instalaciones de Bioprocesos Chile S.A. De esta manera partiendo de una fase líquida será obtenido un producto FOS sólido.

Esta etapa es de gran importancia para asegurar la preservación de la calidad del producto.

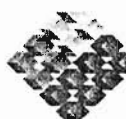
Posterior al secado y en base a las exigencias de mercado determinadas el producto será acondicionado de manera que sea posible de manipular y de ser incorporado en una dieta regular para aves y cerdos.

4.11 Evaluación técnico económica de la producción de FOS

5 Desarrollo de productos para el uso en alimentación animal

5.1 Estudio de Mercado





Para poder desarrollar los productos hacia objetivos de mercado específicos es necesario contar con información clara y específica de demanda, oferta, así como de comportamiento de precios, para esto será contratado un estudio de mercado, el cual será realizado por una empresa especializada en el tema y en función del cual se enfocará la estrategia a seguir para los productos FOS.

5.2 Obtención de producto semi-comercial

La combinación de la información recopilada a través del desarrollo del proyecto, recopilación de información secundaria sobre efectos de productos FOS en dietas de animales junto con los resultados obtenidos en el estudio de mercado será posible obtener productos pre-comerciales, los cuales estarán dirigidos diferentes usos potenciales. Para esto serán consideradas las características de los sistemas productivos de animales (aves y cerdos) y requerimientos de cada especie de manera de cumplir con las exigencias de demanda de cada mercado.

En esta etapa se realizarán todos los ajustes necesarios y exigidos por los mercados para productos FOS, de manera de cumplir con las exigencias y alcanzar un producto atractivo tanto en el mercado interno como externo.

6 Transferencia de resultados.

La transferencia de resultados será realizada a través de diferentes actividades, esto es días de campo, seminario, manuales a través de los cuales podrán ser aprovechados los resultados obtenidos en el proyecto por productores agrícolas y diferentes tipos de empresas (de tamaño medio) como de biotecnología, agroquímicas, de procesamiento de alimentos (o aditivos) o laboratorios.

La transferencia contempla la idea de permitir a diferentes entes del medio biotecnológico y agrícola nacional participar de los resultados de esta iniciativa, es así como se contempla que laboratorios nacionales pudieran realizar la prestación de servicios para la producción de células matrices, capaces de sintetizar FOS a partir de inulina, de manera de ofrecerlas disponibles en medios de cultivo específicos (con hormonas específicas y fuentes de carbono para mantenerlas productivas) para una siguiente etapa en la cual participarían empresas agroindustriales por ejemplo quienes deberían reproducir las condiciones de un bio-reactor de FOS (aprovechando la tecnología pre-desarrollada en la unidad protocolo del proyecto).

Se suman a ellas los productores agrícolas quienes serán los encargados de abastecer de manera constante de materia prima para la obtención de inulina (alimento del bio-reactor), a través del cultivo de topinambur, de amplio rango productivo en el país (RM-IX)

Otros participantes y beneficiarios de la tecnología corresponden a los planteles de producción animal de aves y cerdos quienes podrán adquirir un producto FOS desarrollado en función de sus necesidades y requerimientos específicos y con el cual podrán maximizar sus resultados productivos.

Días de campo: permitirán a través de una visita a terreno del cultivo de topinambur dar a conocer el manejo agronómico y aspectos críticos del cultivo. En las visitas serán convocados profesionales y técnicos relacionados con el área.

Charla divulgativa

En base a resultados parciales obtenidos en la etapa de unidad protocolo, será realizada una charla divulgativa que incluirá a profesionales y técnicos relacionados con el tema.

Seminario y elaboración de material divulgativo





Ambos medios serán utilizados como divulgación de resultados finales, una vez concluidas las actividades principales del proyecto. El material incluirá los resultados obtenidos a nivel de planta y de terreno, de manera de poner a disposición de los interesados la información necesaria para utilizar la tecnología desarrollada.



AÑO

[illegible]

APABLAZA Y SANTALICES LTDA





10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

AÑO				
Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
1		1. Obtención de fuentes enzimáticas	06-12-01	31-07-02
1		1.1 Desarrollo de cultivos celulares	06-12-01	31-07-02
1		1.1.1 Preparación de callos y suspensión celular	06-12-01	31-07-02
1		1.2 Desarrollo de cultivos bacterianos	26-12-01	11-06-02
1		1.2.1 Recepción del material biológico	26-12-01	19-03-02
1		1.2.2 Reactivación de la cepa de B. Licheniformis	20-03-02	11-06-02
		RV: Fuentes de enzimas disponibles	11-06-02	11-06-02
2		2. Manejo y evaluac. Cultivos de campo para obtención de inulina	06-12-01	19-05-04
2		2.1 Selecc lugares establecimiento	06-12-01	16-01-02
2		2.2 Obtención de material para Establecimiento	06-12-01	23-10-02
2		2.2.2 Propagación de topinambur	07-02-02	23-10-02
2		2.2.2.1 Cultivo in vitro de topinambur	07-02-02	23-10-02
2		2.2.2.2 Micropropagación	11-04-02	23-10-02
2		2.2.2.3 Acclimatación	18-07-02	23-10-02
2		2.2.3 Obtención material topinambur	12-09-02	23-10-02
2		2.3 Establecimiento cultivo de topinambur	24-10-02	20-11-02
2		2.4 Manejo de cultivo de topinambur	21-11-02	19-05-04
3		3. Desarrollo de sistemas para prod.FOS	07-02-02	26-02-03
3		3.1 Sistema de susp. celular para bio-reactor	07-02-02	19-02-03
3		3.1.1 Adición de inulina	07-02-02	10-07-02
3		3.1.2 Separación del producto deseado	02-05-02	08-01-03
3		3.2 Sistema Obtención prep. enzimático de células vegetales.	07-02-02	26-02-03
3		3.2.1 Obtención del prep. Enzimático	07-02-02	13-11-02
3		3.2.2 Evaluación del preparado enzimático	14-11-02	26-02-03
3		3.2.2.1 Determ unidades de activ enzimatic	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.2 Determ contenido proteínas	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.3 Determ activ espec. Prep. Enzimas	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.4 Determ. Influencia fact en activ enzimas	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.5 Determ producc FOS desde inulina	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.6 Análisis de resultados	26-12-02	26-02-03
3		3.3 Sistema Obtención prep enzimatico bacteriano	27-02-02	07-01-03
3		3.3.1 Obtención del prep. Enzimático	27-02-02	24-09-02
3		3.3.2 Eval. Prep enzimático	25-09-02	07-01-03
3		3.3.2.1 Determ unidades de activ enzim.	25-09-02	26-11-02
3		3.3.2.2 Determ contenido proteínas	25-09-02	26-11-02
3		3.3.2.3 Determ activ especifica	25-09-02	26-11-02



3		3.3.2.4 Determ. Influencia fact en activ enzimas	25-09-02	26-11-02
3		3.3.2.5 Determ producc FOS desde inulina	25-09-02	26-11-02
3		3.3.2.6 Análisis de resultados	06-11-02	07-01-03

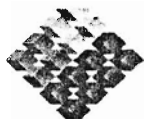
APABLAZA Y SANTALICES LTD.





10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

AÑO				
Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
2		2. Manejo y evaluac. Cultivos de campo para obtención de inulina	06-12-01	19-05-04
2		2.4 Manejo de cultivo de topinambur	21-11-02	19-05-04
2		2.5 Eval. Comport cultivo topinambur	13-02-03	19-05-04
2		2.6 Eval rendimiento comercial inulina de cultivos	17-04-03	19-05-04
3		3. Desarrollo de sistemas para prod.FOS	07-02-02	26-02-03
3		3.1 Sistema de susp. celular para bio-reactor	07-02-02	19-02-03
3		3.1.2 Separación del producto deseado	02-05-02	08-01-03
3		3.1.3 Análisis de resultados	09-01-03	19-02-03
3		3.2 Sistema Obtención prep enzimático de cel veget	07-02-02	26-02-03
3		3.2.2 Evaluación del preparado enzimático	14-11-02	26-02-03
3		3.2.2.1 Determ unidades de activ enzimát	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.2 Determ contenido proteínas	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.3 Determ activ espec. Prep. Enzimas	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.4 Determ. Influencia fact en activ enzimas	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.5 Determ producc FOS desde inulina	14-11-02	05-02-03
3		3.2.2.6 Análisis de resultados	26-12-02	26-02-03
3		3.3 Sistema Obtención prep enzimático bacteriano	27-02-02	07-01-03
3		3.3.2 Eval. Prep enzimático	25-09-02	07-01-03
3		3.3.2.6 Análisis de resultados	06-11-02	07-01-03
		RV: Sistemas de prod de FOS desarrollados	26-02-03	26-02-03
4		4. Desarr. Sist. producc masiva y replicable FOS (unidad prototipo)	27-02-03	11-08-04
4		4.1 Determinación sist óptimo producc FOS	27-02-03	26-03-03
4		4.2 Mantención sist producc enzimas o susp. Celular	27-02-03	11-08-04
4		4.3 Determinación de puntos críticos sistema	27-03-03	23-04-03
4		4.4 Diseño de unidad prototipo	24-04-03	04-06-03
4		4.5 Establecimiento unidad prototipo	05-06-03	03-09-03
4		4.6 Obtención inulina	19-06-03	15-10-03
		Selección de fuente de inulina	19-06-03	30-07-03
		Ajuste del sistema de extracción	03-07-03	13-08-03
		Extracción del producto (dif sist extracc)	14-08-03	15-10-03
4		4.7 Ajuste de sistema funcionamiento producc FOS	04-09-03	05-11-03
4		4.8 Pruebas de producción	06-11-03	31-12-03
6		6. Transferencia de resultados	30-04-03	30-08-04
6		6.1 Charla divulgativa	30-04-03	30-04-03



10. ACTIVIDADES DEL PROYECTO (adjuntar Carta Gantt mensual para la totalidad del proyecto)

AÑO

Objetivo Especif. N°	Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término
2		2. Manejo y evaluac. Cultivos de campo para obtención de inulina	06-12-01	19-05-04
2		2.4 Manejo de cultivo de topinambur	21-11-02	19-05-04
2		2.5 Eval. comport cultivo de topinambur	13-02-03	19-05-04
2		2.6 Eval rendimiento comercial inulina de cultivos	17-04-03	19-05-04
		RV: Cultivos manejados y evaluados para obtener inulina	19-05-04	19-05-04
4		4. Desarr. Sist. producc masiva y replicable FOS (unidad prototipo)	27-02-03	11-08-04
4		4.2 Mantención sist producc enzimas o susp. Celular	27-02-03	11-08-04
4		4.9 Obtención de producto FOS	01-01-04	04-02-04
4		4.10 Secado y Acondicionamiento de FOS	05-02-04	03-03-04
4		4.11 Evaluación técnico-económica de producc. FOS	04-03-04	29-03-04
		RV: Sistema de prod replicable desarrollado	29-03-04	29-03-04
5		5. Desarrollo de productos para uso animal	30-03-04	26-07-04
5		5.2 Estudio de Mercado	30-03-04	31-05-04
5		5.6 Obtención de producto semi-comercial	01-06-04	26-07-04
		RV: Productos desarrollados	26-07-04	26-07-04
6		6. Transferencia de resultados	30-04-03	30-08-04
6		6.2 Día de campo	25-02-04	25-02-04
6		6.3 Elaboración Material divulgativo	27-07-04	30-08-04
6		6.5 Seminario	11-08-04	11-08-04
		RV: Resultados transferidos	11-08-04	11-08-04
		Final Proyecto	30-08-04	30-08-04

Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin	Predecesoras	2002												2003												2004																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
						D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							
1	Inicio de Proyecto	1 d	05-12-01	05-12-01																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									

Proyecto: FIAFOS
Fecha: 20-12-01

Tarea

Tarea crítica

Progreso

Hito

Resumen

Tarea resumida

Hito

Hito resumido

Progreso resumido

Tarea crítica resumida

Hito resumido

Progreso resumido

División

Tareas externas

Resumen del proyecto

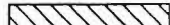
Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin	Predecesoras	2002												2003												2004																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
						D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
28	3.2 Sistema Obtención prep enzimatico de cel. veget.	275 d	07-02-02	26-02-03																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										

Proyecto: FIAFOS
Fecha: 20-12-01

Tarea

Tarea crítica

Progreso



Hito

Resumen

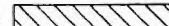
Tarea resumida



Tarea crítica resumida

Hito resumido

Progreso resumido



División

Tareas externas

Resumen del proyecto



Id	Nombre de tarea	Duración	Comienzo	Fin	Predecesoras	2002												2003												2004																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
						D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
55	Extracción del producto (dif sist extracc)	45 d	14-08-03	15-10-03	54																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							

Proyecto: FIAFOS
Fecha: 20-12-01

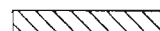
Tarea



Hito

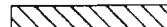


Tarea crítica resumida



División

Tarea crítica



Resumen



Hito resumido



Tareas externas



Progreso



Tarea resumida

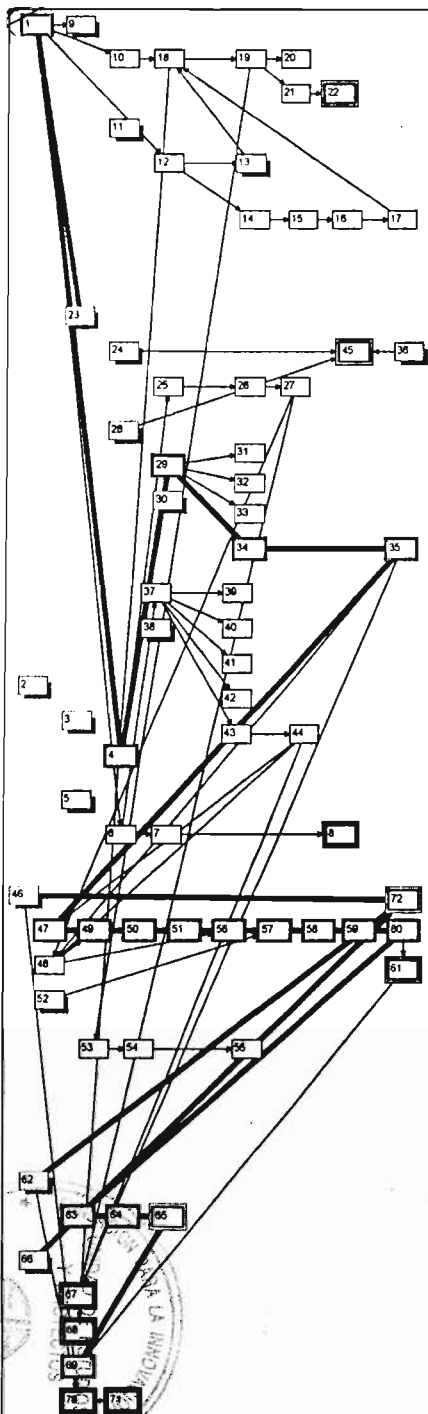


Progreso resumido



Resumen del proyecto





APABLAZA Y SANTALICES LTDA.

Proyecto FIAPFOS
Fecha 20-12-01

id

Tareas oficiales

Hitos

Subproyectos

Tareas no oficiales

Tareas de resumen

Tareas marcadas

Inicio de Proyecto			
1	1 d		
05-12-0	05-12-01		

2. Manejo y evaluac. Cultivos			
9	540 d		
06-12-0	19-05-04		

2.1 Selecc. lugares establecimiento			
10	30 d		
06-12-0	16-01-02		

2.3 Establecimiento			
18	20 d		
24-10-0	20-11-02		

2.4 Manejo de cultivo de			
19	390 d		
21-11-0	19-05-04		

2.5 Eval. comport cultivo de			
20	330 d		
13-02-0	19-05-04		

2.6 Eval rendimiento			
21	285 d		
17-04-0	19-05-04		

RV: Cultivo manejado y			
22	0 d		
19-05-0	19-05-04		

2.2 Obtención de material para			
11	230 d		
06-12-0	23-10-02		

2.2.1 Obtenc. Mat. Para microp.			
12	145 d		
06-12-0	26-06-02		

2.2.2 Propagación de Topinambur			
13	185 d		
07-02-0	23-10-02		

2.2.2.1 Cultivo in vitro de			
14	185 d		
07-02-0	23-10-02		

2.2.2.2 Micropropagación			
15	140 d		
11-04-0	23-10-02		

2.2.2.3 Acimatación			
16	70 d		
18-07-0	23-10-02		

2.2.3 Obtenc. Mat. Vegetativo			
17	30 d		
12-09-0	23-10-02		

APARLAZA Y SANTALICES 1701



3. Desarrollo de sistemas para		
23	275 d	
07-02-0	26-02-03	

3.1 Sistema de susp. celular para		
24	270 d	
07-02-0	19-02-03	

RV: Sistemas de prod de FOS		
45	0 d	
26-02-0	26-02-03	

3.3 Sistema Obtención prep		
36	225 d	
27-02-0	07-01-03	

3.1.1 Adición de inulina		
25	110 d	
07-02-0	10-07-02	

3.1.2 Separación del producto		
26	180 d	
02-05-0	08-01-03	

3.1.3 Análisis de resultados		
27	30 d	
09-01-0	19-02-03	

3.2 Sistema Obtención prep		
28	275 d	
07-02-0	26-02-03	

3.2.1 Obtención del prep.		
29	200 d	
07-02-0	13-11-02	

3.2.2.1 Determ unidades de activ		
31	50 d	
14-11-0	05-02-03	

3.2.2.2 Determ. contenido		
32	50 d	
14-11-0	05-02-03	

3.2.2 Evaluación del preparado		
30	75 d	
14-11-0	26-02-03	

3.2.2.4 Determ Influencia fact en		
33	50 d	
14-11-0	05-02-03	

3.2.2.5 Determ. producc FOS		
34	50 d	
14-11-0	05-02-03	

3.2.2.6 Analisis de resultados		
35	45 d	
26-12-0	26-02-03	

1. Obtención de fuentes		
2	170 d	
06-12-0	31-07-02	

1.1 Desarrollo de cultivos celulares		
3	170 d	
06-12-0	31-07-02	

1.2 Desarrollo de cultivos		
5	120 d	
26-12-0	11-06-02	

1.1.1 Preparación de callos y		
4	170 d	
06-12-0	31-07-02	

1.2.1 Recepción del material		
6	60 d	
26-12-0	19-03-02	

1.2.2 Reactivación de la cepa de B.		
7	60 d	
20-03-0	11-06-02	

3.3.1 Obtención del prep.		
37	150 d	
27-02-0	24-09-02	

3.3.2 Eval. Prep enzimático		
38	75 d	
25-09-0	07-01-03	

3.3.2.1 Determ unidades de activ		
39	45 d	
25-09-0	26-11-02	

3.3.2.2 Determ contenido		
40	45 d	
25-09-0	26-11-02	

3.3.2.3 Determ activ específica		
41	45 d	
25-09-0	26-11-02	

3.3.2.4 Determ. Influencia fact en		
42	45 d	
25-09-0	26-11-02	

3.3.2.5 Determ producc FOS		
43	45 d	
25-09-0	26-11-02	

3.3.2.6 Análisis de resultados		
44	45 d	
06-11-0	07-01-03	

RV: Fuentes de enzimas		
8	0 d	
11-06-0	11-06-02	

4 Desar. Sist Prod masiva y		
46	380 d	
27-02-0	11-08-04	

Final Proyecto		
72	0 d	
30-08-0	30-08-04	

4.1 Determinación sist óptimo		
47	20 d	
27-02-0	26-03-03	

4.3 Determinación de puntos críticos		
49	20 d	
27-03-0	23-04-03	

4.4 Diseño de unidad prototipo		
50	30 d	
24-04-0	04-06-03	

4.5 Establecimiento		
51	65 d	
05-06-0	03-09-03	

4.7 Ajuste de sistema		
56	45 d	
04-09-0	25-11-03	

4.8 Pruebas de producción		
57	40 d	
06-11-0	31-12-03	

4.9 Obtención de producto FOS		
58	25 d	
01-01-0	04-02-04	

4.10 Secado y Acondicionamiento		
59	20 d	
05-02-0	03-03-04	

4.11 Evaluación técnico-económica		
60	18 d	
04-03-0	29-03-04	

4.2 Mantención sist producc		
48	380 d	
27-02-0	11-08-04	

4.6 Obtención inulina		
52	85 d	
19-06-0	15-10-03	

RV. Sistema de prod replicable		
61	0 d	
29-03-0	29-03-04	

Selección de fuente de inulina		
53	30 d	
19-06-0	30-07-03	

Ajuste del sistema de extracción		
54	30 d	
03-07-0	13-08-03	

Extracción del producto (dif sist)		
55	45 d	
14-08-0	15-10-03	

APABLAZA Y SANTALICES LTDA

5	Desarrollo de productos para
62	85 d
30-03-0	26-07-04

5.1	Estudio de Mercado
63	45 d
30-03-0	31-05-04

5.2	Obtención de producto
64	40 d
01-06-0	28-07-04

RV:	Productos desarrollados
65	0 d
26-07-0	26-07-04

6	Transferencia de resultados
66	348 d
30-04-0	30-08-04

6.1	Charla divulgativa
67	0 d
30-04-0	30-04-03

6.2	Día de campo
68	0 d
25-02-0	25-02-04

6.3	Elaboración Material divulgativo
69	25 d
27-07-0	30-08-04

6.4	Seminario
70	0 d
11-08-0	11-08-04

RV:	Resultados transferidos
71	0 d
11-08-0	11-08-04

APABLAZA Y SANTALICES LTDA.

Proyecto: FIATFOS
Fecha: 20-12-01

Nombre	
Id	Duración
Comienzo	Fin

Tareas críticas

Hitos

Subproyectos

Tareas no críticas

Tareas de resumen

Tareas marcadas



11. RESULTADOS ESPERADOS E INDICADORES

11.1. Resultados esperados por objetivo

Obj. Esp. Nº	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
				Meta	Plazo
1	Obtención de fuentes enzimáticas	Establecimiento de suspensión celular	9*10 ³ cel/cc		Julio 2002
		Reactivación de cepa bacteriana	2*10 ³ bact/ml		Junio 2002
2	Manejo y cultivo de campo para obtención de sustrato				
	Obtención de plantas de topinambur listas para aclimatación	Número de plantas micropropagadas		20 plantas	Mayo 2002
		Número de plantas micropropagadas		200 plantas	Julio 2002
	Plantas de topinambur listas para trasplante a terreno	Número de plantas aclimatadas		18 plantas	Agosto 2002
		Número de plantas aclimatadas		100 plantas	Octubre 2002
	Establecimiento de cultivo de topinambur	Número de plantas en cultivo		15 plantas	Octubre 2002
		Número de plantas en cultivo		70 plantas	Nov. 2002
	Establecimiento de cultivo pre-comercial de topinambur.	Superficie plantada con topinambur (número de plantas)	0.5 Há (500 plantas in vitro y 19.500 plantas tradic.)		Nov. 2003
		Promedio rendimiento comercial de inulina en cultivos	12 ton/ha		Mayo 2003
3	Desarrollo de sistemas para producción de FOS				
	Obtención de FOS a partir de inulina en bio-reactor	Cantidad de FOS obtenido		0,1 g FOS	Octubre 2002
		(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido	(50%) 0,25 g FOS		Febrero 2003
	Obtención de FOS a partir de inulina y preparado enzimático de origen vegetal	Cantidad de FOS obtenido		0,2g FOS	Oct 2002
		(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido	(60%) 0,36 g FOS		Febrero 2003
	Obtención de FOS a partir de inulina y preparado enzimático de origen bacteriano	Cantidad de FOS obtenido		0,3 g FOS	Nov. 2002
		(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido	(70%) 0,49 g FOS		Enero 2003
4	Desarrollo de sistema para la producción masiva y replicable de FOS	Cantidad de FOS obtenido en unidad prototipo		10 g FOS	Marzo 2003
		(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido en unidad prototipo	(60%) 36 g FOS		Nov 2003
5	Desarrollo pre-comercial de productos FOS	Cantidad de FOS obtenido en etapa pre-comercial		100 g FOS	Julio 2003
		(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido en etapa pre-comercial	(80%) 640 g FOS		Febrero 2004
6	Transferencia de resultados	Actividades de transferencia y difusión concluidas	100%		Mayo 2004



11.2. Resultados esperados por actividad

Obj. Esp. Nº	Activid. Nº	Resultado	Indicador	Meta Final	Parcial	
					Meta	Plazo
1	1.1	Cultivos celulares desarrollados	Establecimiento de suspensión celular	9×10^3 cel/cc		Julio 2002
1	1.2	Cultivos bacterianos desarrollados	Reactivación de cepa bacteriana	2×10^5 bact/ml		Junio 2002
2	2.2.2	Plantas de topinambur micropropagadas	Obtención de plantas de topinambur listas para aclimatación		20 plantas	Mayo 2002
			Obtención de plantas de topinambur listas para aclimatación		200 plantas	Julio 2002
	2.2.2.3	Plantas de topinambur aclimatadas	Plantas de topinambur listas para trasplante a terreno		18 plantas	Ago. 2002
			Plantas de topinambur listas para trasplante a terreno		100 plantas	Oct 2002
2	2.3	Cultivo de topinambur establecido	Número de plantas de topinambur en cultivo		15 plantas	Oct. 2002
			Número de plantas de topinambur en cultivo		70 plantas	Nov 2002
		Cultivo pre-comercial de topinambur establecido	Superficie plantada con topinambur (número de plantas)	0.5 há (500 plantas in vitro; 19.500 plantas tradic.)		Nov. 2003
2	2.4	Cultivo de topinambur manejado	Sobrevivencia de población la primera temporada		56 plantas	Mayo 2003
		Cultivo pre-comercial de topinambur manejado		0.5 há (400 plantas in vitro; 17.550 plantas tradic.)		Abril 2004
2	2.6	Rendimiento comercial de inulina desde cultivos	Promedio rendimiento comercial de inulina en cultivos	12 ton/ha		Mayo 2003
3	3.1	Sistema de obtención de FOS a partir de suspensión celular desarrollado	Cantidad de FOS obtenido a partir de bio-reactor		0,1 g FOS	Oct. 2002
			(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido a partir de bio-reactor	(50%) 0,25 g FOS		Feb 2003
	3.2	Sistema de obtención de FOS a partir de prep. enzimáticos vegetal desarrollado	Obtención de FOS a partir de preparado enzimático origen vegetal		0,2 g FOS	Oct 2002
			(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido a partir de preparado enzimático origen vegetal	(60%) 0,36 g FOS		Feb 2003



	3.3	Sistema de obtención de FOS a partir de preparado Enzimáticos bacteriano desarrollado	Cantidad de FOS obtenido a partir de preparado enzimático origen bacteriano		0,3 g FOS	Nov. 2002
			(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido a partir de preparado enzimático origen bacteriano	(70%) 0,49 g FOS		Nov 2003
4	4.1- 4.8	Sistema para la producción masiva y replicable de FOS desarrollado	Cantidad de FOS obtenido en unidad prototipo		10 g FOS	Marzo 2003
			(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido en unidad prototipo	(60%) 36 g FOS		Nov 2003
	4.9-4.11	Producto FOS pre-comercial obtenido	Cantidad de FOS obtenido en etapa pre-comercial		100 g FOS	Julio 2003
			(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido en etapa pre-comercial	(80%) 640 g FOS		Febrero 2004
5	5.1-5.3	Desarrollo comercial de productos FOS	(% de inulina transformada a FOS) Cantidad de FOS obtenido al inicio etapa comercial	80% 6,4 kg FOS		Abril 2004
6	6.1-6.5	Transferencia de resultados	Actividades de transferencia y difusión concluidas	100%		Mayo 2004



12. IMPACTO DEL PROYECTO

12.1. Económico

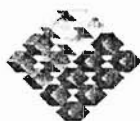
La ejecución del proyecto permitirá la obtención a gran escala de fructooligosacáridos (FOS) a partir de diferentes fuentes de inulina desde cultivos como el topinambur. Permitirá un ahorro en el tiempo requerido para la obtención del producto deseado, que en la actualidad es posible de obtener después de mantener los productos cosechados en almacenaje por varios meses, además permitirá asegurar la obtención de un producto de calidad homogénea de manera relativamente constante durante el año, situación que no ocurre en la actualidad (se limita a la etapa de cosecha) todo lo anterior permitirá obtener resultados económicos favorables para las empresas involucradas, esto es agroindustrias, comercializadoras de alimento animal, laboratorios, etc.

Adicionalmente es importante considerar la importancia que presentará poder disponer de un cultivo a nivel comercial, de interés industrial, que en la actualidad es de expansión limitada (topinambur) que representa una diversificación a los sistemas productivos tradicionales existentes (de baja rentabilidad) y de esta manera una alternativa de elevada rentabilidad para productores agrícolas con reducidas opciones productivas.

Debido a la globalización mundial de los mercados, uno de los aspectos de mayor relevancia es la existencia de una demanda insatisfecha y creciente por los productos a obtener (FOS) a nivel mundial, es por esto que los actores involucrados en la obtención de estos productos se verán beneficiados y el impacto económico a nivel nacional, se espera sea creciente en el tiempo.

Las empresas directamente involucradas con esta alternativa podrán aumentar su competitividad por medio de la estrategia de diversificación productiva que implica la obtención de productos FOS y de esta manera mejorar su posicionamiento en el mercado.

Importantes beneficios alcanzarán a los sistemas de producción de cerdos y aves existentes en el país permitiendo obtener mejores resultados económicos y productivos, además de ahorrar recursos en el uso de antibióticos al promover la autodefensa del animal con el uso de FOS.



12.2. Social

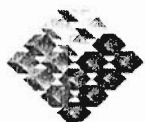
El cultivo de topinambur como fuente de fructooligosacáridos (FOS) representa una alternativa interesante para productores de una amplia zona de Chile (I a X Regiones). Otro beneficio social considerable es la incorporación de una alternativa productiva no existente en el país que se espera tenga resultados favorables al generar un producto exportable de gran demanda (insatisfecha) a nivel nacional e internacional, de esta manera se verán beneficiados todos y cada uno de los actores involucrados, esto es, los productores agrícolas, las empresas usuarias de la tecnología productiva y las empresas de producción animal (aves y cerdos), usuarias de los productos finales.

12.3. Otros (legal, gestión, administración, organizacionales, etc.)

En base a los resultados esperados podrán generarse productos comerciales y tecnologías productivas las cuales serán susceptibles de ser patentadas, contribuyendo de esta manera al posicionamiento de nuestro país en el mercado mundial con un producto de demanda creciente.

APABLAZA Y SANTALICES LTDA.





13. EFECTOS AMBIENTALES

13.1. Descripción (tipo de efecto y grado)

Uno de los efectos ambientales positivos será la disminución en el uso de antibióticos en los sistemas de producción animal en aves y cerdos actualmente en operación, esto se explica por el beneficio que reporta la incorporación de fructooligosacáridos en las dietas que permitiría disminuir la incidencia de enfermedades en estas especies.

13.2. Acciones propuestas

Frente a la posibilidad de efectos ambientales negativos, se propone un monitoreo regular y constante de aspectos fitosanitarios del cultivo involucrado (topinambur) de manera de poder detectar oportunamente comportamientos anormales y tomar las medidas necesarias para prevenir su expansión.

Se dispondrá de un sistema de control y monitoreo de las bacterias utilizadas en los bio-reactores de FOS. Esto implica controlar el manejo y regular las condiciones de producción y mantención de los cultivos de bacterias tomando todas las medidas necesarias para evitar contaminaciones.

13.3. Sistemas de seguimiento (efecto e indicadores)

El seguimiento del cultivo incluirá el manejo agronómico, a través del cual deberán evitarse situaciones de contaminación por plagas y enfermedades, para las cuales deberá considerarse controles preventivos y en el caso de ser detectadas controles curativos que implican aislamiento, evaluación y erradicación.

El control de las bacterias traídas para el establecimiento de uno de los bio-reactores también será realizado a través de un monitoreo regular de todas la variables implicadas en el desarrollo de las cepas y considerando las medidas preventivas y curativas alternativas para actuar en caso que sea requerido. Sin embargo es necesario considerar que la cepa bacteriana de interés posee un nivel de seguridad 1, que asegura un riesgo muy limitado.

APABLAZA Y SANTALICES LTDA





16. ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROYECTO

16.1. Criterios y supuestos utilizados en el análisis

Indicar criterios y supuestos utilizados en el cálculo de ingresos (entradas) y costos (salidas) del proyecto

La evaluación económica del presente proyecto se basa en una cuantificación de los beneficios obtenidos al procesar inulina para la fabricación de Fructooligosacáridos mediante un bioproceso enzimático logrado como resultado del presente proyecto. Los resultados apuntan al logro de mayores rendimientos en la extracción de los FOS a partir de la misma materia prima, mediante la incorporación de un reactor enzimático.

Se consideró una producción de materia prima equivalente a 25 Ha inicialmente con una progresión hasta alcanzar 120 ha en el año 3. El horizonte de evaluación es de 6 años productivos debido al ciclo característico de este tipo de productos (especialidad).

Las situaciones actuales como las proyectadas corresponden a un sistema agrícola similar, esto es precordillera de la VII Región del país, donde es posible obtener un rendimiento cercano a las 60 toneladas por hectárea durante la temporada productiva que se extiende desde primavera a otoño o invierno (según la situación con y sin proyecto).

Los parámetros técnicos, tanto del cultivo como del proceso industrial, corresponden a los observados actualmente por la empresa Biofrut S.A. y los parámetros de mayor rendimiento para la situación con proyecto corresponden a estimaciones realizadas en base a la obtención de FOS en épocas del cultivo donde se encuentra completamente degradada la inulina.

Situación Sin Proyecto

Se considera una superficie productiva desde 25 hectáreas con un rendimiento promedio de 60 ton/ha de tubérculos, con un 20% de materia seca en el producto cosechado. Para obtener la máxima concentración de FOS en los tubérculos debe ser cosechado durante invierno (Agosto) que es cuando se obtiene un 75% del contenido de la materia seca como carbohidratos solubles en los tubérculos. De esta manera considerando una eficiencia de extracción del 42% (58% de pérdidas por corresponder a degradaciones de la inulina en otras formas de carbohidratos distintos a los FOS) es posible obtener en la situación sin proyecto con una producción aproximada de 4 ton/ha de FOS puro, que equivale a 4,7 ton/ha de FOS comercial (según especificaciones comerciales adjuntas).

Los precios detectados para fructooligosacáridos secos (FOS) alcanzan los US\$3,5/kg en Estados Unidos, esto es \$2.275 por kilo de producto, por lo que se ha considerado un precio de venta equivalente a \$1.050 pesos FOB.

Situación Con Proyecto

En este escenario se ha incorporado las inversiones necesarias para realizar el bioproceso enzimático, los costos mayores de operación y una mejora en los rendimientos de extracción producto de este proceso.

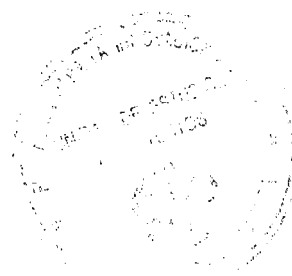


Se considera una superficie similar a la situación sin proyecto con un rendimiento promedio de 60 ton/ha, con el mismo 20% de materia seca en el producto cosechado, la cual será utilizada como materia prima para la extracción enzimática de FOS, con un aumento al 80% de eficiencia en la extracción lo que permitiría obtener 7,0 ton/ha de FOS puro, equivalente a 8,5 ton/ha. De producto bajo las especificaciones comerciales.

Los precios considerados corresponden a los mismos de la situación sin proyecto.

Se adjuntan flujo con detalles de los parámetros técnicos considerados en la evaluación.

APABLAZA Y SANTALICES LTDA.





16.2. Flujo de Fondos del Proyecto e Indicadores de Rentabilidad
(calcular el VAN y la TIR dependiendo del tipo de proyecto)

I. PROYECCIÓN SITUACIÓN SIN PROYECTO

VER HOJA ADJUNTA

ITEM	AÑOS DE LA PROYECCIÓN					
	1	2	3	4	5	6
1. ENTRADAS						
Subtotal Entradas						
2. SALIDAS						
2.1. Inversiones						
2.2. Gastos de Operación						
2.3. Otros						
Subtotal Salidas						
3. BENEFICIOS NETOS						



17. RIESGOS POTENCIALES Y FACTORES DE RIESGO DEL PROYECTO

17.1. Técnicos

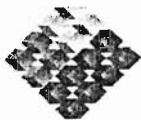
Desde el punto de vista técnico en la etapa de micropropagación existe el riesgo de tener una elevada mortalidad de plantas y/o baja tasa de obtención de estas, es por esto que se tomaran todas las medidas adecuadas para controlar los factores externos relacionados y se aplicaran técnicas de enraizamiento *in vitro* y *ex vitro* de manera paralela.

La etapa posterior a la aclimatación (trasplante) presenta cierto riesgo debido a que las plantas se ven enfrentadas a condiciones de estrés severo al salir de las camas calientes. Para disminuir los riesgos se realizará un endurecimiento de manera de fortalecer el sistema radical de estas y así disminuir el estrés.



17.2. Económicos

El principal riesgo es que el sistema de bioproducción estabilizado en base a células vegetales (bio-reactor) no sea capaz de arrojar resultados satisfactorios en cuanto a cantidad de fructooligosacáridos (FOS) de interés comercial por unidad de inulina utilizada en el tiempo, o sea que el sistema propuesto no sea económicamente viable para producción comercial de FOS. De esta manera para asegurar el éxito de esta etapa serán evaluados tres métodos alternativos dirigidos hacia el mismo objetivo, esto disminuirá los riesgos sustancialmente, además se consideraran todas y cada una de las variables implicadas de manera de detectar los potenciales puntos críticos del sistema y solucionarlos.



17.3. Gestión

Existe el riesgo de no lograr una adecuada comunicación entre los diferentes participantes, para lo cual se realizarán reuniones periódicas con representantes de cada uno de los agentes involucrados para tomar decisiones y seguir la evolución del proyecto.

17.4. Otros

No existen otros riesgos esperados.

APABLAZA Y SANTALICES LTDA.



[illegible]



18. ESTRATEGIA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

Transferencia de resultados.

La estrategia de transferencia de resultados contempla la difusión de resultados hacia diferentes participantes del ámbito agrícola e industrial del país.

La transferencia contempla la idea de permitir a diferentes entes del medio biotecnológico y agrícola nacional participar de los resultados de esta iniciativa, es así como se contempla que laboratorios nacionales pudieran realizar la prestación de servicios para la producción de células matrices, capaces de sintetizar FOS a partir de inulina, de manera de ofrecerlas disponibles en medios de cultivo específicos (con hormonas específicas y fuentes de carbono para mantenerlas productivas) para una siguiente etapa en la cual participarían empresas agroindustriales por ejemplo quiénes deberían reproducir las condiciones de un bio-reactor de FOS (aprovechando la tecnología pre-desarrollada en la unidad protocolo del proyecto).

Se suman a ellas los productores agrícolas quienes serán los encargados de abastecer de manera constante de materia prima para la obtención de inulina (alimento del bio-reactor), a través del cultivo de topinambur, de amplio rango productivo en el país (I-IX).

Otros participantes y beneficiarios de la tecnología corresponden a los planteles de producción animal de aves y cerdos quiénes podrán adquirir un producto FOS desarrollado en función de sus necesidades y requerimientos específicos y con el cual podrán maximizar sus resultados productivos.

La estrategia de transferencia de resultados se llevará a cabo a través de las siguientes actividades:

Días de campo: permitirán a través de una visita a terreno del cultivo de topinambur dar a conocer el manejo agronómico y aspectos críticos de ambos cultivos. En las visitas serán convocados profesionales y técnicos relacionados con el área.

Charla divulgativa

En base a resultados parciales obtenidos en la etapa de unidad protocolo, será realizada una charla divulgativa que incluirá a profesionales y técnicos relacionados con el tema.

Seminario y elaboración de material divulgativo

Ambos medios serán utilizados como divulgación de resultados finales, una vez concluidas las actividades principales del proyecto. El material incluirá los resultados obtenidos a nivel de planta y de terreno, de manera de poner a disposición de los interesados la información necesaria para utilizar la tecnología desarrollada.



19. CAPACIDAD DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

19.1. Antecedentes y experiencia del agente postulante y agentes asociados

(Adjuntar en Anexo B el Perfil Institucional y documentación que indique la naturaleza jurídica del agente postulante)

Agente Postulante

Esta empresa, la empresa **Apablaza y Santalices Ltda.** Fue creada para suplir una demanda existente y sub-abastecida en el mercado como prestación de servicios de análisis en el área de virología vegetal. Posteriormente fue ampliado el servicio al área de fitopatología y micropropagación (asociada a saneamiento de plantas por técnicas como cultivo de meristemas, quimioterapia y termoterapia). Actualmente, la empresa cuenta además con servicios de análisis en el área de suelo, agua y foliar, nematología, entomología y en el área pecuaria presta servicios en bromatología, microbiología (incluyendo virus, hongos y bacterias). De esta manera la empresa busca entregar al cliente un servicio integral en el área de análisis de laboratorio, contando además con la posibilidad de desarrollar protocolos de análisis o controles que se ajusten a las necesidades puntuales de cada uno.

En la actualidad la empresa cuenta con la infraestructura, equipamiento y personal de laboratorio necesarios para desarrollar éstas y otras áreas en el ámbito agropecuario. Existe un permanente contacto con el servicio agrícola y ganadero (SAG) al igual que con profesionales del área pertenecientes a universidades e institutos lo que le permite estar actualizado de acuerdo a la realidad nacional, además por contactos personales y vía internet se relaciona a la realidad internacional, lo que en conjunto, permite ir actualizando técnicas para entregar un mejor servicio.

El grupo de clientes corresponde a productores, asesores, viveristas, exportadores, importadores, e industriales etc. diversidad que se traduce en una serie de necesidades diferentes, a distintas escalas y con problemas a veces muy puntuales en el área de análisis, control y micropropagación, esta situación ha llevado a la necesidad de contar con la tecnología y conocimientos para dar una respuesta rápida y eficiente a las diversas necesidades planteadas.

Los agentes asociados corresponden a los siguientes:

1) Biofrut

La empresa Biofrut es una empresa orientada a la fabricación de Jugos Concentrados y Extractos de frutas y hortalizas de alta calidad enfocada principalmente a la exportación.

La empresa

Biofrut fue fundada en Abril de 1994, realizando su primera producción en Diciembre del mismo año. La planta industrial está localizada en Buin, sobre el Km 40 de la Carretera Panamericana Sur, con 3700 m² de edificios y 5,2 Hás de terreno. Se cuenta con una planta muy flexible, en la que se ha incorporado tecnología de punta para asegurar la mejor calidad. En los cinco años de operaciones la planta industrial ha elaborado y exportado más de 17 productos diferentes, vendiéndolos en Japón, USA., Alemania, Inglaterra, Australia, Corea, Canadá y Chile.

Productos y Mercados



La empresa está principalmente orientada a atender los nichos del mercado, donde la flexibilidad de la planta permite procesar una amplia variedad de productos, siendo los principales concentrados elaborados: Frambuesa, manzana, pera, Durazno, Kiwi, Ciruelas Frescas y Secas, Pasas, Zanahorias, perejil, berro y Espinacas entre otros. Recientemente en conjunto con la empresa BTA y la Universidad de la Frontera se ha desarrollado el proceso industrial para la extracción de Inulina a partir del Topinambur.

Actualmente la empresa exporta el 90% de la producción: 20% Japón, 55% EE.UU., 15% Europa y el resto en Chile, encontrándose entre nuestros clientes las principales empresas globales que elaboran bebidas y alimentos.

2) Bioprocesos Chile S.A.

La empresa Bioprocesos Chile S.A. es una empresa cuyo objetivo es el desarrollo e implementación de nuevas tecnologías en el área de la alimentación, que permitan elaborar nuevos productos para uso animal y/o humano para el mercado nacional e internacional. Dentro de sus logros está la de producir industrialmente prebióticos y probióticos a partir de levadura de cerveza para alimentación animal. Durante el presente año, la empresa obtuvo el Premio Nacional a la Innovación Agraria 2000 otorgado por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) por la Iniciativa de “Desarrollo de Inmuno Estimulantes” que se desarrollará en la planta industrial. La planta de proceso se ubica en el Barrio Industrial Santa Isabel, Comuna de Lampa, Región Metropolitana.

La empresa cuenta con una planta de procesadora, que incluye secadores spray horizontales, bomba de inyección, homogenizador, estanques, bodegas y laboratorio de control de calidad. Instalaciones que serán puestas a disposición para el desarrollo de actividades del proyecto.

Adicionalmente la empresa pondrá a disposición del proyecto el uso de una superficie cercana a una hectárea para el establecimiento de cultivos evaluados en un predio ubicado en la localidad de San Pedro, Región Metropolitana.



19.2. Instalaciones físicas, administrativas y contables

1. Facilidades de infraestructura y equipamiento importantes para la ejecución del proyecto.

Instalaciones del Laboratorio Apablaza y Santalices Ltda..

-Oficinas, recepción, laboratorio, sala de crecimiento y sombreadero.

En el área de oficinas y recepción se cuenta con equipos de computación conectado a internet, impresoras, fax y material pertinente.

En el área de laboratorio se cuenta con el equipamiento general de laboratorio (balanzas, phmetro, fuentes de poder, material fungible y reactivos, baño maría, agitadores, estufas) y con equipamiento específico para las siguientes secciones de trabajo:

-FITOPATOLOGIA: Lector de ELISA, Equipos de Electroforesis, equipamiento y reactivos para preparación de Medios de Cultivo, Microscopios, Estufas de cultivo, Autoclave, Espectrofotómetro entre otros.

-MICROBIOLOGIA en el área pecuaria, alimentos: Lector de ELISA, Equipos de Electroforesis, equipamiento y reactivos para preparación de Medios de Cultivo, Microscopios, Estufas de cultivo, Autoclave, Espectrofotómetro, lámpara UV entre otros.

-MICROPROPAGACION: Se cuenta principalmente con Cámara de Flujo Laminar, Autoclave, Reactivos y Equipos para preparación de medios de cultivo, Equipamiento menor para trabajar en cámara de flujo laminar, etc.

-NEMATOLOGIA Y ENTOMOLOGIA: Microscopio, Lámparas de iluminación adicional, tamices y otros.

-ANÁLISIS DE SUELO, FOLIAR Y AGUA: Se cuenta con equipamiento menor para algunos de estos análisis y en épocas en que las cantidades de muestras lo amerita se arrienda el equipamiento o se contrata el servicio de terceros para complementar estos análisis.

-BROMATOLOGIA especialmente en alimentos para el sector pecuario: Digestor, Destilador por arrastre de vapor, Extractor por solvente, Mufla, Termobalanza, Equipo para determinación de fibra.

En la sala de crecimiento se cuenta con el equipamiento adecuado para mantener condiciones aptas para el crecimiento de explantes in vitro como temperatura, ciclos de luz/oscuridad, condiciones de asepsia.

En el área de sombreadero cuenta con fuentes de energía y agua adecuadas para la instalación de por ejemplo de camas calientes u otras unidades de aclimatación y enraizamiento para plantas provenientes de cultivo in vitro.



La planta de procesos de Biofrut

La planta está equipada con la más moderna tecnología disponible para la extracción y concentración de jugos y extractos; contando con decaners y centrifugas Westfalia Separator (Alemania), concentradores Unipektin (Suiza) y equipo de ultrafiltración Koch Membrane Systems /USA) entre otros; siendo reconocida como la mejor tecnología disponible para esta área de la industria alimenticia.

2. Capacidad de gestión administrativo-contable.

El laboratorio Apablaza y Santalices cuenta con la asesoría contable de un profesional externo que se encarga de llevar los registros contables y legales.



20. OBSERVACIÓN SOBRE POSIBLES EVALUADORES

(Identificar a el o los especialistas que estime inconveniente que evalúen la propuesta. Justificar)

Nombre	Institución	Cargo	Observaciones

APABLAZA Y SANTALICES LTDA



