Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos

Potencial prebiótico del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba), *Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho) en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus acidophilus*

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AUTOR

Delia Rosa PARIONA HUAPAYA

ASESOR

Dra. Amparo Iris ZAVALETA PESANTES

Q.F. Karin Lucia ZAMUDIO MALPARTIDA (Coasesor)

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Pariona D. Potencial prebiótico del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba), *Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho) en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus acidophilus* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos; 2020.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	0000-0003-3373-795X
DNI o pasaporte del autor	46890956
Código ORCID del asesor	**0000-0003-3844-7185**
DNI o pasaporte del asesor	**17880045**
Grupo de investigación	BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA Y SALUD
Agencia financiadora	736-INNOVATEPERU-PIEC1-2017
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Perú, Lima, Cercado de Lima 15001, Jirón Huanta 1182 Coordenadas geográficas Latitud -12.04318 y longitud -77.02824.
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2018-2020
Disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01 Bioquímica, Biología molecular http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03 Nutrición, Dietética http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.04

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Potencial Prebiótico del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba), *Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho) en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus acidophilus*

Que presenta la Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos:

DELIA ROSA PARIONA HUAPAYA

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado Evaluador, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

---------- Diecisiete (17) SOBRESALIENTE ----------

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Título Profesional de Licenciado (a) en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

JURADO EVALUADOR (R.D. N.° 000822-FFB-D-2019)

- Dra. María Elena Salazar Salvatierra
- Dr. Roberto Jhalver Vega Paulino
- Dra. Carmen Gladys Peña Suasnabar
- Mg. Nelson Bautista Cruz

Lima, 12 de junio de 2020.

Dra. María Elena Salazar Salvatierra
Presidenta

DEDICATORIA

A mis padres por darme el apoyo permante para culminar mis estudios.

A mi familia por ser inspiración para seguir adelante.

ESTA INVESTIGACIÓN FUE FINANCIADA PARCIALMENTE POR:

CONTRATO:

736 - INNOVATEPERU - PIEC1- 2017

ÍNDICE

Abreviaturas… I

Resumen II

Summary III

I. INTRODUCCIÓN 1

II. OBJETIVOS 6

2.1. Objetivo general 6

2.2. Objetivos específicos 6

III. MARCO TEÓRICO 6

3.1. Prebióticos 6

3.1.1. Características 6

3.1.2. Potencial Prebiótico 7

3.1.3. Importancia e impacto de los prebióticos 7

3.2 Cumaceba (*Swartzia polyphylla)* 9

3.2.1. Nombre científico 9

3.2.2 Nombres comunes… 9

3.2.3. Parte utilizada 9

3.2.4. Origen y distribución 9

3.2.5. Uso tradicional 9

3.2.6 Composición fitoquímica cualitativa 9

3.3. Chuchuwasi (*Maytenus macrocarpa*) 10

3.3.1. Nombre científico 10

3.3.2 Nombres comunes… 10

3.3.3. Parte Utilizada 10

3.3.4. Origen y distribución 10

3.3.5. Uso tradicional 10

3.3.6. Composición fltoquímica cualitativa 10
3.4. Huanarpo macho (*Jatropha macrantha)* 11
3.4.1. Nombre Científico 11
3.4.2 Nombres comunes… 11
3.4.3. Parte utilizada 11
3.4.4. Origen y distribución 11
3.4.5. Uso Tradicional 11
3.4.6. Composición fitoquíimica cualitativa 11
3.5. Bacterias acido lácticas 11
3.5.1. Clasificación 12
3.5.2. Características fermentativas de las bacterias lácticas. 13
3.5.3. Componentes antimicrobianos producidos por bacterias lácticas. 13
3.5.4. Participación de las bacterias lácticas en procesos fermentativos… 14
3.5.5. *Lactobacillus plantarum* 16
3.5.6. *Lactobacillus acidophilus*..... 16
3.6. Probioticos…..... 17
3.6.1. Microorganismos identificados como probioticos… 18
3.6.2. Beneficios de los probioticos… 19
3.7. Antecedentes 21
IV. METODOLOGÍA 28
4.1. Lugar de ejecución..... 29
4.2. Muestras de estudio. 29
4.3. Materiales, equipos y reactivos 29
4.4. Método de análisis. 30
4.4.1 Preparación del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla*, *Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* 31

4.4.2 Cultivo de *L. plantarum* ATCC 14917 32

4.4.3 Efecto del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en el crecimiento de *L. plantarum* 32

4.4.4 Recuento celular en placa 32

4.4.5 Cinética de crecimiento de *L. plantarum* en medios del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* al 1 % y 2 % y MRS 32

4.4.6 Análisis estadístico 33

4.4.7 Evaluación del efecto protector del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en condiciones gastrointestinales simuladas para *L. plantarum* 33

4.4.7.1 Condiciones gástricas… 33

4.4.7.2 Condiciones intestinales…..... 34

4.4.7.3 Análisis estadístico 34

4.4.8 Evaluación del crecimiento bacteriano por dilución y viabilidad en placa para *L. acidophilus*…..... 34

4.4.8.1 Preparación de los extractos acuosos de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* 35

4.4.8.2 Cultivo de *L. acidophilus* 35

4.4.8.3 Efecto del extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en el crecimiento de *L. acidophilus… 35*

4.4.8.4 Recuento celular en placa..... 36

4.4.8.5 Cinética de crecimiento de *L. acidophilus* en el EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* al 1 % y 2 % y MRS 36

4.4.8.6 Análisis estadístico 36

4.4.9 Evaluación del efecto protector del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en condiciones gastrointestinales simuladas para *L. acidophilus*… *37*

4.4.9.1 Condiciones gástricas… 37

4.4.9.2 Condiciones intestinales…..... 38

4.4.9.3 Análisis estadístico 38

V. RESULTADOS.....39

VI. DISCUSIÓN… 52

VII. CONCLUSIONES 58

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....59

IX. ANEXOS 64

Índice de tablas

Tabla 1. Aplicaciones comunes de prebióticos en alimentos..... 6
Tabla 2. Composición fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de la corteza de Cumaceba (*Swartzia polyphylla*)..... 10

Tabla 3. Composición fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de la corteza de Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*)..... 11
Tabla 4. Bacterias ácido lácticas utilizadas en la elaboración de productos lácteos..... 16
Tabla 5. Microorganismos probióticos en humanos 18
Tabla 6a. Beneficios en la salud atribuidos a probióticos 19
Tabla 6b. Las bacterias probióticas y sus beneficios en la salud reportados en estudios clínicos… 19
Tabla 7. Ecuación modificada de Gompertz y ecuaciones predictivas… 32

Tabla 8. Análisis de varianza del máximo crecimiento con los medios de producción de *L. plantarum*..... 62

Tabla 9. Test de Duncan de medios de crecimiento de L. *plantarum* 62

Tabla 10. Análisis de varianza del máximo crecimiento con los medios de producción de *L. acidophilus* 63

Tabla 11. Test de Duncan de medios de crecimiento de *L. acidophilus* 63

Tabla 12. Condiciones gástricas simuladas - Comparación múltiple con los valores de significancia entre los grupos estudiados - prueba de Kruskal Wallis …….. ..64

Tabla 13. Condiciones intestinales simuladas - Comparación múltiple con los valores de significancia entre los grupos estudiados - prueba de Kruskal Wallis …….. ..64

Tabla 14. Actividad acidificante - *L. plantarum*..... 64

Tabla 15. Tolerancia en condiciones intestinales simulada - *L. plantarum* ….65

Tabla 16 Actividad acidificante - *L. acidophilus*..... 66

Tabla 17. Tolerancia en condiciones gástricas simulada - *L. acidophilus* 67

Índice de Figura.

Figura. 1. Ruta para la evaluación del potencial prebiótico de nuevos sustratos. Tomado de: Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos 6

Figura. 2. Clasificación de las BAL 14

Figura. 3a. Curva de crecimiento de *L. plantarum* en medio MRS, en condiciones aeróbicas a 37 ° C durante 48 h 39

Figura. 3b. Curva de crecimiento de *L. plantarum* en medio EA 1 % de Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha, en condiciones aeróbicas a 37 ° C durante 48 h 40

Figura. 3c. Curva de crecimiento de *L. plantarum* en medio EA 2 % de Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha, en condiciones aeróbicas a 37 ° C durante 48 h 40

Figura. 4 Comparación de medias en los niveles más altos de crecimiento de *L. plantarum* 41

Figura. 5. Efecto del extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* en el pH del medio por L. plantarum en condiciones aeróbicas a 37 ° C durante 48 h 42

Figura. 6a. Curva de crecimiento de *L. acidophillus* en medio MRS, en condiciones anaeróbicas a 37 ° C durante 48 h 43

Figura. 6b. Curva de crecimiento de *L. acidophilus* en EA 1 % de Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha , en condiciones anaeróbicas a 37 ° C durante 48 h 44

Figura. 6c. Curva de crecimiento de *L. acidophilus* en EA 2 % de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha,* en condiciones anaeróbicas a 37 ° C durante 48 h 44

Figura. 7. Comparación de medias en los niveles más altos de crecimiento de *L. acidophilus* 45

Figura. 8. Efecto del extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* en el pH del medio por *L. acidophilus* en condiciones anaeróbicas a 37 ° C durante 48 h 46

Figura. 9. Tolerancia en condiciones gástricas simulada de *L. acidophilus* con el extracto acuoso de Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha 47

Figura. 10. Prueba de Kruss wallis de L. plantarum y L. acidophilus en condiciones intestinales simuladas después de 3 h de incubación 48

Figura. 11. Tolerancia en condiciones intestinales simulada de *L. plantarum con el extracto acuoso de Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatrophamacranth* 49

Figura. 12. Prueba de Kruss wallis de L. plantarum y L. acidophilus en condiciones intestinales simuladas después de 3 h de incubación 50

Figura. A-13. Esquema de recuento celular en placa para *L. plantarum* 67

Figura. A-14. Proceso para la evaluación del crecimiento bacteriano por dilución y viabilidad en placa para *L. plantarum* 68

Figura. A-15a. Efecto de las condiciones gástricas sobre los extractos y el crecimiento de *L. plantarum* *69*

Figura. A-15b. Recuento celular después de la simulación de condiciones gástricas para *L. plantarum* 70

Figura. A-16a. Efecto de las condiciones intestinales sobre los extractos y crecimiento de *L. plantarum* *71*

Figura. A-16b. Recuento celular en la simulación de condiciones intestinales para *L. plantarum* 72

Figura. A-17. Esquema de la evaluación del crecimiento bacteriano por dilución y viabilidad en placa para *L. acidophilus* 73

Figura. A-18a. Evaluación de las condiciones gástricas sobre los extractos y el crecimiento de *L. acidophilus*… 74

Figura. A-18b. Recuento celular en la simulación de condiciones gástricas para *L. acidophilus*…..... 75

Figura. A-19a. Evaluación de las condiciones intestinales sobre los extractos y crecimiento de L. acidophilus… 76

Figura. A-19b. Recuento celular en la simulación de condiciones intestinales para *L. acidophilus* 77

Figura. A-20. Ficha técnica de *Maytenus macrocarpa* 78

Figura. A-21. Ficha técnica de *Swartzia polyphylla* 79

Figura. A-22. Ficha técnica de *Jatropha macrantha* 80

Abreviaturas

BAL : Bacterias ácidolacticas

et al: y colaboradores

EA: Extracto atomizado

Figura.: Figuraura

FOS: Frutooligosacaridos

g/L: gramo por litro

GIT: tracto gastrointestinal

GOS: Galactooligosacáridos lactulosa

GRAS: Generally Recognized as Safe - “Generalmente Reconocido como seguro”

L. plantarum: Lactobacillus plantarum

L. acidophilus: Lactobacillus acidophilus

L. salivarius: Lactobacillus salivarius

L. casei: Lactobacillus casei

L. fermentum: Lactobacillus fermentum

L. brevis: Lactobacillus brevis

HMO: Oligosacáridos de leche humana

h: h

HCl: ácido clorhídrico

min: minuto

mL: mililitro

mg: miligramo

MRS: Man, Rogosa y Sharpe

M: molar

NO: número de microorganismos iniciales en el cultivo UFC/mL

N: recuento microbiano (UFC/mL) al tiempo T (h)

°C: grado centígrado

rpm: revolución por minuto

μmax: velocidad específica de crecimiento máximo

λ: tiempo de latencia

□ : tiempo de generación

Y: (log N/N°)

OMS: Organización Mundial de la Salud

p/v: peso/volumen

v/v: volumen/volumen

μL: microlitro

μm: micrómetro

UFC/mL: unidades formadoras de colonia por mililitro

RESUMEN

Algunas plantas medicinales contienen compuestos activos que estimulan el crecimiento de la biota intestinal en beneficio de la salud humana. En este trabajo se evaluó el efecto del extracto acuoso atomizado de la mezcla (EA) de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba 33,3%), *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi 16,7 %) *y Jatropha macrantha* (Huanarpo macho 50%) en la viabilidad *in vitro* de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 *y Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Para ello, se crecieron las bacterias en los medios Man Rogosa Sharp (MRS) conteniendo EA 1 % y 2% (p/v) en anaerobiosis a 37 °C durante 48 h; luego se realizó el recuento celular en agar MRS y midieron los parámetros cinéticos y el pH; así como, la resistencia de estas bacterias a condiciones gastrointestinales simuladas. El EA estimuló el crecimiento bacteriano manteniendo una concentración celular mayor a 10^7 UFC/mL durante 48 h; además, las velocidades de crecimiento fueron 0,635 y 0,656 h^{-1} para *L. plantarum*; así como, 0,391 y 0,516 h^{-1} para *L. acidophilus* en los medios EA 1 % y 2 % respectivamente. Asimismo, el efecto protector del EA en condiciones gastrointestinales simuladas para *L. plantarum y L. acidophilus* fue significativo a los pH 7,0 y 2,0 respectivamente. Por tanto, se concluye que el EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* presenta potencial prebiótico *in vitro*.

Palabras claves: *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus acidophilus, Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa, Jatropha macrantha, prebiótico*

Summary

Some medicinal plants contain bioactives that stimulate the growth of the colon's healthy microbiota, providing benefits for human health. In the present work, the effect of a mixture of atomized extracts (EA) of *Swartzia polyphylla* (cumaceba 33,3%), *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi 16,7%) and *Jatropha macrantha* (50% male huanarpo) on the viability of two probiotic strains was evaluated: *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. The effect of the extracts on probiotic strains was studied based on their growth stimulating capacities at concentrations of 1% and 2% (w / v), and protection in gastrointestinal conditions. The growth stimulation of the strains was determined by measuring the changes in pH, the MRS agar count (CFU / mL) and the measurement of kinetic parameters, while the protection of the strains in gastrointerinal conditions was determined through the count of viable bacteria. (CFU / mL) after treatment. EA promoted the growth of *L. plantarum* and *L. acidophilus* by maintaining a cellular level greater than 10^7 CFU / mL for 48 h. The protective effect of EA under simulated gastrointestinal conditions for *L. plantarum* was significant at pH 7 but not at pH 2; while the protective effect for *L. acidophilus* was significant at pH 2 but not at pH 7, both treatments compared with the MRS medium. The exposed results provide evidence of the prebiotic potential of these medicinal plants.

Key words: *L. plantarum, L. acidophilus, Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa, Jatropha macrantha*, prebiotic

I. INTRODUCCIÓN

Diversas plantas proporcionan nutrientes, así como compuestos con efectos terapéuticos, reconocidos por los pueblos en diferentes culturas y regiones geográficas. Estos conocimientos tradicionales transmitidos de generación a generación, se denomina medicina tradicional [1,2].

En ese sentido, las costumbres dietarias y medicinales de una comunidad son factores que influyen en la microbiota intestinal. Algunas moléculas provenientes de alimentos o plantas, denominadas prebióticos estimulan selectivamente el crecimiento y la actividad biológica de un gran número de especies bacterianas denominados probióticos, los cuales proporcionan efectos beneficiosos para la salud humana[5].

Los prebióticos pueden consumirse en alimentos de forma natural o procesados y en preparaciones farmacéuticas, ejercen efectos indirectos sobre la salud humana tales como reducen el riesgo de cáncer de colon, modulan el metabolismo de los lípidos, controlan los niveles de glucosa e insulina en sangre [6]. Además, inhiben los carcinógenos y estimulan la respuesta inmunológica[7].

Por otra parte, los probióticos son cultivos viables de uno o varios microorganismos, utilizados en los animales y en el hombre para mejorar las propiedades de la microbiota autóctona, ejercen sus efectos en la boca, aparatos gastrointestinal, respiratorio y urogenital, son formulados en alimentos, cápsulas, aerosoles, suspensiones, entre otros [8].

Se estima que en el cuerpo humano habitan 10^{14} microorganismos, aproximadamente entre 1,3 a 2,3 bacterias por célula humana, éstas se encuentran en boca, vagina e intestino. Los que predominan en el tracto gastrointestinal se denominan microbiota intestinal y cumplen funciones de mantenimiento de la integridad de la mucosa, inhiben patógenos, producen sustancias beneficiosas como ácidos grasos de cadena corta, vitaminas, aminoácidos, exopolisacáridos, entre otros. Además, se ha descrito que las enfermedades neurodegenerativas, metabólicas y autoinmunes están

asociadas a un desequilibrio de la microbiota intestinal (disbiosis) en el 90 al 95 % de casos[3]. Así, las bacterias acido lácticas son parte fundamental de la microbiota intestinal y desempeñan funciones fisiológicas, metabólicas e inmunológicas, que impactan en la salud como: antimicrobianos, inmunomoduladores, anti carcinogénicos, antioxidantes, entre otros.

Las BAL más frecuentes en el tracto gastrointestinal humano son: *Lactobacillus acidophilus, L. salivarius, L. casei, L. plantarum, L. fermentum y L. brevis* (6). Los géneros *Lactobacillus y Bifidobacterium* presentan beneficos potenciales para la salud de su huésped. *L. plantarum y L. acidophilus* pertenecen a un grupo bacteriano reconocido como seguro (GRAS). Ambas especies son capaces de colonizar el tracto gastrointestinal, los vegetales y alimentos fermentados [48].

Las investigaciones permanentes muestran que el microbioma conduce los principios de la salud o la enfermedad, por lo que debemos tomar en consideración una "alimentación saludable", como uno de los mecanismos que regula y aumenta la calidad del microbioma intestinal. En este contexto, se trata no solo de obtener nutrientes específicos de los alimentos, sino una alimentación saludable para mantener un microbioma saludable e incrementar las bacterias benéficas.

Por estas razones, la comunidad científica realiza estudios de diferentes plantas que por generaciones se usan de forma tradicional en el tratamiento de diversas dolencias, las cuales pueden actuar como prebióticos promoviendo los probióticos autóctonos.Por ello, se determinó el potencial prebiótico de la mezcla atomizada de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* y *L. acidophilus.*

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el potencial prebiótico del extracto acuoso de una mezcla atomizada de *Swartzia polyphylla*, *Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum y L. acidophilus*.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto del extracto acuoso de una mezcla atomizada de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en el crecimiento de *L. plantarum* y *L.acidophilus.*
- Determinar el efecto protector del extracto acuoso de una mezcla atomizada de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en condiciones gastrointestinales simuladas para *L. plantarum* y *L.acidophilus.*

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Prebióticos

Son sustancias no digeribles que benefician la salud del huésped, por la influencia positiva que tienen sobre la microbiota del individuo. La administración o utilización de prebióticos modulan selectivamente el crecimiento y actividad de uno o un número limitado de los probióticos[8].

3.1.1. Características

Una sustancia o alimento es considerada como prebiótico cuando: a) no es hidrolizado o absorbido en el tracto gastrointestinal (GIT) superior (estómago y duodeno) y no absorberse en el intestino delgado, por lo tanto, es resistente a la acidez gástrica, a la hidrolisis de las enzimas digestivas; b) es fermentado selectivamente por bacterias beneficiosas de la microbiota intestinal y; c) estimula efectos fisiológicos beneficiosos para la salud[3].

Así mismo, los prebióticos promueven el desarrollo selectivo de determinadas especies beneficiosas como bifidobacterias y lactobacilos de la

microbiota del intestino. Aunque se están comercializando un gran número de carbohidratos, como prebióticos. Sin embargo, solamente existe evidencia científica de sus propiedades en humanos, de inulina, frutooligosacaridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), lactulosa y los oligosacáridos de leche humana (HMO)[9][10][11].

3.1.2. Potencial Prebiótico

Varias investigaciones han estudiado el potencial de la fermentación o biodegradabilidad intestinal de estos microorganismos, a través de numerosos modelos, previa caracterización en cuanto a su origen, fuente, pureza, composición química y su estructura. En este sentido, en la Figura. 1, se presenta las fases para la evaluación y validación de las propiedades prebiótica de cualquier sustancia[13].

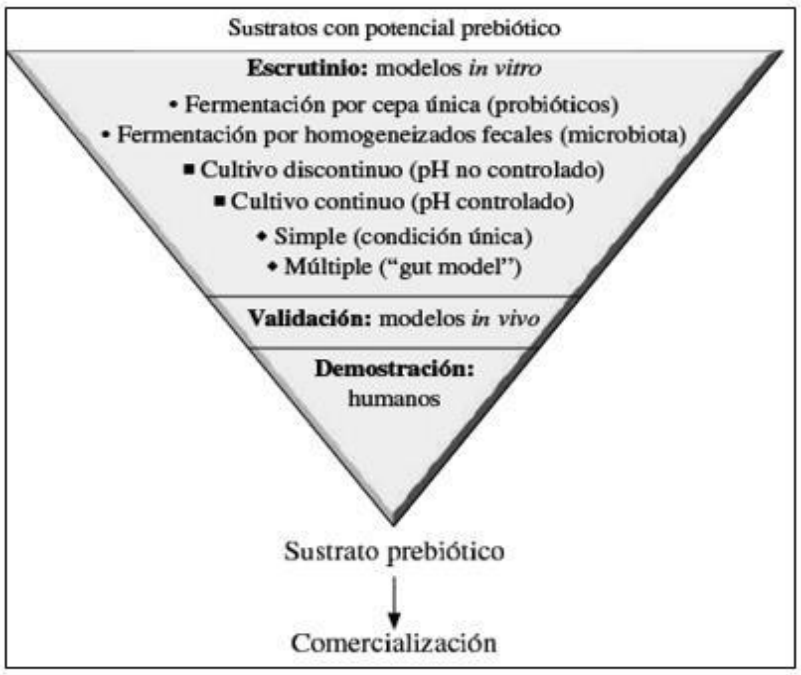


Figura. 1: Rutas para la evaluación del efecto prebiótico de nuevos sustratos. Corzo y col, 2015[13].

En un principio, se realizaron estudios *in vitro*, para el reconocimiento y elección de sustratos con potencial prebiótico, que luego es validado en modelos animales. El medio escogido con los modelos anteriores, seria postulante para llevar a cabo las investigaciones de intervención en humanos

que permitan evaluar su eficacia en el sitio de acción y así poder demostrar su capacidad prebiótica[13,67]. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria considera “nuevos alimentos” a aquellos componentes alimenticios o alimentos que no tienen antecedentes de ser seguros (libres de metabolitos y antinutrientes tóxicos); es el caso de diferentes especias que son conocidas por sus propiedades medicinales, terapéuticas, antimutagénicas, antiinflamatorias y antimicrobianas. En ese sentido, se consideran diferentes prebióticos que provienen de hojas de plantas, semillas, cortezas, y frutas como “nuevos alimentos”[5].

3.1.3. Importancia e impacto de los prebióticos

Los prebióticos han alcanzado gran importancia con el paso de los años, los estudios se han realizado en diversos alimentos (tabla 1). El consumo de alimentos que contienen prebióticos ha crecido a nivel mundial. Por ello, los prebióticos concitan interés de investigadores e industrias por sus beneficios nutricionales y económicos. El valor nutricional y la posibilidad de mejorar las propiedades sensoriales de las formulaciones de los alimentos hacen que el uso de ingredientes prebióticos sea ventajoso[13].

Tabla 1. Aplicaciones comunes de prebióticos en alimentos

Productos	Aplicación
Bebidas	**Modificación en textura, estabilización de espumas**
Lácteos y postres	**Mimético de grasa, modificación de textura y sensación en la boca, fibra, efecto prebiótico**
Panificación	**Modificación en textura, absorción de humedad, efecto prebiótico**
Cárnicos	**Mimético de grasa, modificación de textura, estabilidad y fibra**
Dietéticos	**Fibra y efecto prebiótico**
Sopas y salsas	**Efecto prebiótico**
Alimentos para bebé	**Fibra, estabilidad y efecto prebiótico**

Fuente: Tomado de Morales et al, 2015[17].

3.2 Cumaceba[22]

3.2.1. Nombre científico

Swartzia polyphylla.

3.2.2. Nombre comunes

Cumaceba, anushiremo caspi – remo caspi oloroso, remo caspi sabros[72].

3.2.3. Parte utilizada

Tallos y corteza

3.2.4. Origen y distribución

"En Perú se distribuye en Loreto, Amazonas y Ucayali; y en la cuenca amazónica de Brasil, Perú (Loreto-Mishana), Colombia, Venezuela, Guayanas y Surinam"[17] .

3.2.5. Uso tradicional

"Cumaceba" es utilizada en medicina tradicional como antirreumático, en enfriamientos, dolor muscular e inflamación de las articulaciones, infecciones de hongos, tuberculosis y otras infecciones respiratorias bacterianas. Además, se utiliza como fortificante de la virilidad, tónico hormonal femenino y afrodisiaco, entre otros[18].

3.2.6 Composición fitoquímica cualitativa

En diversos estudios donde se han evaluado los componentes fitoquímicos en la *Swartzia polyphylla* se han encontrado fenoles, flavonoides y quinonas. Asimismo, alcaloides, triterpenos, lactonas, esteroides y cumarinas volátiles. Además se evidenció ausencia de saponinas, taninos, aminas y aminoácidos y cumarinas fijas[17].

Tabla 2. Composición fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de la corteza de Cumaceba (*Swartzia polyphylla*).

Compuestos	Extractos*
Alcaloide	++
Saponinas	-
Esteroide	++
Triterpenos	++
Taninos	-
Fenoles	+++
Flavonoides	+++
Quinonas	+++
Lactonas	++
Aminas y aminoácidos	-
Cumarinas fijas	-
Cumarinas volátiles	+

* Leyenda: (-), ensayo negativo; (+), ensayo positivo.

Contenido: (+), poco; (++), medio; (+++), alto.

Fuente: Tomado de Benites, 2014[18].

3.3. Chuchuwasi[22]

3.3.1. Nombre científico

Maytenus macrocarpa

3.3.2. Nombres comunes

Chuchuhuasi, Chuchuhuasha, Chuchuguaza, Chuchuhuasca, Chuchuguaso [20]

3.3.3. Parte Utilizada

Raíz y corteza

3.3.4. Origen y distribución

"Esta planta crece en la zona tropical de Colombia, Ecuador y Perú, en este último esta ubicado en Loreto, Amazonas, Huánuco, Pasco, San Martín, Ucayali, Madre de Dios. Conocido también como Chuchuhuasha, árbol de tronco grueso y abundantes ramas que alcanza hasta 35 m de altura"[19].

3.3.5. Uso tradicional

"La corteza, raíces, y hojas de varias especies que se conocen como chuchuhuasi han sido usadas en etnomedicina para el tratamiento del reumatismo, tuberculosis, bronquitis, dolor de estómago y fiebre"[20] .

3.3.6. Composición Fitoquímica cualitativa

En Chuchuwasi (*Maytenus macrocarpa*) existen compuestos fenólicos, taninos, catequinas, antraquinonas, triterpenoides, y compuestos glicósidos; y poca presencia de carbohidratos, flavonoides (flavonas, flavonoles, flavononoles o flavavonas), compuestos amino, alcaloides y saponinas.

Tabla 3. Composición fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de la corteza de Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*).

Compuestos	Extractos*
Alcaloide	**+++**
Saponinas	**+++**
Esteroide	**++**
Triterpenos esteroles	**++**
Taninos	**+**
Antocianos	**+++**
Flavonoides	**++**
Antraquinonas	**-**
Cardiotónicos	**+**
Catequinas	**+**
Resinas	**+**

* Leyenda: (-), ensayo negativo; (+), ensayo positivo.

Contenido: (+), moderado; (++), abundante; (+++), muy abundante

Fuente: Tomado de Quiroga, 2015[20].

3.4. Huanarpo macho[22]

3.4.1. Nombre Científico

Jatropha macrantha

3.4.2 Nombres comunes

Huanarpo macho, urco huanarpo, Guanarpo[73]

3.4.3. Parte utilizada

Tallos y corteza

3.4.4. Origen y distribución

"Planta nativa de Perú distribuida en Ancash, Arequipa, Cajamarca, Huánuco, Lima, y La Libertad. El Huanarpo Macho llamado también Urco Huanarpo o Vanarpo. Arbol silvestre de 10 a 12 m que crece en el valle del Río Marañón, en Lampa y Sandia,Puno. Esta planta puede ser macho o hembra, de acuerdo a su morfología vegetal; el primero es alargado con flores rojas, el cual tiene principios activos que estimula las hormonas masculinas"[21].

3.4.5. Uso Tradicional

"El huanarpo macho usado en los andes como afrodisíaco y por tener otras propiedades, se prepara en maceración con aguardiente, en infusión o quemando el tallo para absorber el humo. Esta planta es poco conocida en la costa, pero es muy empleada en la serranía y selva. Usualmente, en personas con problemas de fecundación, se recomienda el uso de estas hierbas en infusión, con la finalidad de recuperar la potencia sexual" [22][23].

3.4.6. Composición fitoquímica cualitativa

Presencia abundante de compuestos fenólicos (taninos condensados, flavonoides), antraquinonas, presencia moderada de azúcares reductores, isoflavonas, catequinas, triterpenoides, compuestos amino, alcaloides y escasa presencia de saponinas[21].

3.5. Bacterias acido lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo heterogéneo que estan en diversas partes del cuerpo humano, animal y plantas. Estos microorganismos se utilizan desde hace mucho tiempo para producir diversos productos fermentados derivados de animales (leche, carne, de peces) o de plantas (aceitunas, pepinillos, col, vino, entre otros)[24] .

“Los alimentos bio-transformados aumentaron la importancia económica de las BAL. Aunque estas bacterias son un ingrediente de bajo costo de los procesos de transformación de alimentos, juegan un papel crucial en el desarrollo de la inocuidad e higiene de los productos fermentados. Por lo tanto, la fiabilidad de los cultivos inoculantes, en términos de calidad y las propiedades funcionales (aroma y textura), así como en el rendimiento y la robustez del bioproceso se han convertido en esencial en las fermentaciones de éxito”[24].

3.5.1. Clasificación

Las BAL están clasificadas en géneros diferentes en base a su morfología, fermentación de la glucosa (homofermentativas y heterofermentativas), temperatura de crecimiento, crecimientos a diferentes concentraciones salinas y tolerancia ácida o alcalina[24].

El crecimiento de bacterias ácido láctico (BAL) se caracteriza por la generación de productos finales ácidos de fermentación, que se acumulan en el medio ambiente extracelular. La producción de ácidos orgánicos de estas bacterias crea un ambiente desfavorable para muchos otros organismos. Esta característica es la base de numerosos métodos de conservación de alimentos por fermentación. Estas bacterias pueden encontrarse con un ambiente ácido en el estómago después de su consumo. La cariogenicidad de las BAL orales, tales como estreptococos y lactobacilos está directamente relacionada con su capacidad de producir ácido a pH bajo (acidogenicidad) y capacidad de funcionar a pH bajo (acidurance)[24].

A la fecha, se describen los géneros: *Aerococcus, Alloinococcus, Carnobacterium, Dolosigranulum, Enterococcus, Globicatella, Lactobacillus, Lactococcus, Lactosphaera, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus* y *Weisella* . Los más destacados son: *Lactobacillus, Bifidobacterium, Pediococcus, Streptococcus* y *Leuconostoc"* [24].

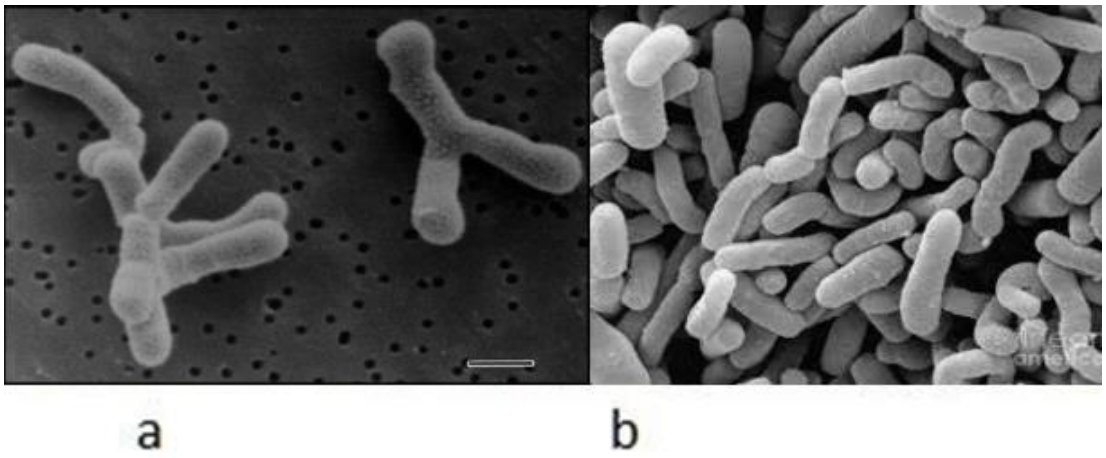


Figura. 2. Clasificación de las BAL, según su morfología. a) *Bifidobacterium*, b) *Lactobacillus*. Tomadas de: Microfotografías (microscopio óptico)[31].

3.5.2. Características fermentativas de las bacterias lácticas

Las homofermentadoras como *Lactococcus, Streptococcus, Pedicococcus, Vagococcus* y algunos *Lactobacillus* presentan la enzima aldolasa y producen ácido láctico como el metabolito principal de la fermentación de la glucosa utilizando la vía de la glucolisis. Por su parte, *Leuconostoc, Oenococcus, Weisella, Carnobacterium, Lactosphaera* y algunos *Lactobacillus* son heterofermentadoras y transforman hexosas a pentosas por la vía 6-fosfogluconato-fosfocetolasa, generando en el proceso ácido láctico, y otros metabolitos como ácido acetico, etanol, CO_2, entre otros [26].

En algunos casos las BAL heterolácticas son más relevantes en los procesos fermentativos que las homolácticas por la síntesis de sustancias que regulan el sabor y el aroma tales como acetaldehido y diacetilo[27].

3.5.3. Componentes antimicrobianos producidos por bacterias lácticas

Las BAL producen compuestos que inhiben agentes patógenos por efecto de bacteriocinas, acidos orgánicos, péptidos, peróxido de hidrógeno, diacetilo, y productos secundarios generados por la acción de lactoperoxidasa sobre el peróxido de hidrógeno y tiocianato, entre otros. Las bacteriocinas son péptidos o proteínas biológicamente activas que presentan acción bactericida al unirse a receptores específicos de las células; además, la estructura química de estas moléculas es variada y su modo de acción especializado[28] .

3.5.4. Participación de las bacterias lácticas en procesos fermentativos

Las bacterias ácido lácticas que participan en los procesos fermentativos de los alimentos pueden ingresar por las vías siguientes:

1.- En la materia prima están en altas concentraciones para crecer más que otras bacterias. Este es el caso en fermentaciones convencionales de vegetales y embutidos.

2.- En el equipo utilizado en los procesos fermentativos, por ejemplo en grietas finas y nichos de barriles de madera usados para salmuera en alimentos tales como pepinos, aceitunas, vino, pescado, quesos, pan, bebidas fermentadas.

4.- “Aditivos” conocidos tradicionalmente como la salsa de soya, que contienen los agentes requeridos que son añadidos.

5.- Inóculos añadidos que contienen una mezcla compleja de bacterias que han sido propagados como un cultivo mixto.

6.- Inoculantes que son añadidos y que contienen una o más bacterias definidas propagadas como cultivos puros[29].

Tabla 4. Bacterias ácido lácticas utilizadas en la elaboración de productos lácteos.

Productos	Bacterias principales	Usos
Yogurt	***Lactobacillus bulgaricus,*** ***L. casei,*** ***L. acidophilus,*** ***Streptococcus thermophilus,***	**Provee sabor, gusto suave y delicado y promueve la cuajada, mejora la digestión, absorción, contribuye a promover la salud**
Bebidas fermentadas a base de leche	***Streptococcus lactis,*** ***S. cremoris,*** ***Lactobacillus herveticus***	**Adiciona sabor, contribuye a promover la salud**
Quesos	***Streptococcus lactis,*** ***S. diacetilactis***	**Promueve el cuajado, provee aroma y sabor**
Mantequilla madurada	***Lactobacillus lactis,*** ***Streptococcus diacetilactis***	**Promueve moderado sabor agrio y aroma**
Crema ácida	***Streptococcus lactis*** ***S. cremoris*** ***Leuconostoc cremoris*** ***Streptococcus lactis ssp. diacetylactis***	**Provee sabor característico (pequeñas cantidades de acetaldehído y grandes cantidades de diacetilo)**
Yakult	***Lactobacillus casei***	**Provee moderado sabor agrio y aroma. Contribuye a promover la salud**

Fuente: tomado de Ramirez et al, 2011[31].

Los alimentos fermentados con BAL mejoran las características fisicoquímicas, nutritivas, sensoriales y en muchos casos aumentan los rendimientos de la producción[30].

3.5.5. Lactobacillus plantarum

"L. plantarum esta en los alimentos de origen vegetal, crece en un entorno ácido o alcalino débil en los alimentos fermentados y presenta propiedades funcionales. Es una bacteria Gram positiva, no formadora de esporas y catalasa negativa. Es aerobia tolerante y anaeróbia facultativa. Es capaz de crecer a un intervalo de temperaturas de entre 15 y 45 °C. Tolera valores de pH entre 4 y 9[31]. Esta bacteria produce ácido láctico por fermentación de la glucosa empleando la ruta metabólica denominada EMP. La fermentación de las hexosas por esta vía metabólica produce ácidos D- y L-láctico"[31].

Así, la cepa *L. plantarum* 299v baja las concentraciones de fibrinógeno en la sangre e incrementa los ácidos carboxílicos en las heces. *L. plantarum* WLPL04 muestra actividad antimicrobiana contra agentes patógenos. Los metabolitos producidos por *L. plantarum* R315 ejercen actividades antioxidantes y antibacterianas. A la vez, *L. plantarum* EM, aislado del kimchi, disminuyó el colesterol"[31].

3.5.6. Lactobacillus acidophilus

"Es una bacteria acido láctica Gram positiva anaerobia aerotolerante y homofermentativa; que forma parte del consorcio microbiano del tracto intestinal"[32].

"Lactobacillus acidophilus tiene un efecto protector en el sistema gastrointestinal debido a su importante rol en el sistema inmune. Por ejemplo, evita la adherencia de *Candida albicans* en el tracto digestivo impidiendo la producción de biofilm; ya que reducen su capacidad filamentosa, mediante la regulación inmunológica mediada por citoquininas"[32].

3.6. Probióticos

"La Organización Mundial de la Salud (OMS o WHO en inglés) define a los probióticos como "cultivos puros, o mezcla de cultivos de bacterias vivas, que

aplicados al ser humano y los animales en cantidades establecidas aportan efectos beneficiosos al consumidor modulando la microbiota autóctona". Sin embargo, otros autores, refieren que son definidos como "bacterias no patógenas, que ingeridas, pueden influir de forma positiva en la salud de las personas". Como probióticos tenemos a las bacterias ácido lácticas, las bifidobacterias y algunas levaduras (especialmente el género *Sacharomyces*) incluidas en alimentos tales como las leches fermentadas, suplementos alimenticios"[33].

En la actualidad, los suplementos alimenticos que contienen bacterias probióticas viables son cada vez más reconocidos por los beneficios que éstos pueden aportar a la salud[34]. Estos organismos tienen que resistir las condiciones adversas encontradas en el tracto gastrointestinal superior del huésped. Sin embargo, muchas bacterias probióticas carecen de la habilidad de sobrevivir a condiciones extremas de acidez y a concentraciones de sales biliares comúnmente encontradas en el tracto gastrointestinal[48].

3.6.1. Microorganismos identificados como probióticos

El grupo de BAL que comprenden a los *Lactobacillus*, así como las *bifidobacterias*, son los microorganismos probióticos típicamente relacionados con el tracto gastrointestinal humano. En la Tabla 5 se muestran las cepas más reportadas en la literatura y las más utilizadas en alimentos fermentados, especialmente en productos lácteos. También se utilizan especies de bacterias no patógenas tales como *Streptococcus, Enterococcus* y levaduras como *Saccharomyces boulardii*, además de ser "Reconocidos como seguros" (GRAS)[35].

Tabla 5. Microorganismos probióticos en humanos

Microorganismos	
1. Lactobacillus acidophilus	***2. Bifidobacterium bifidum***
3. L. plantarum	***4. B. infantis***
5. L. casei	***6. B. adolescentis***
7. L. casei spp. rhamnosus	***8. B. longun***
9. L. fermentum	***10. Streptococcus salivarius spp.***
11. L. reuteri	***12. Enterococcus faecalis***
13. Saccharomyces boulardii	***14. Entericoccus faecium***
15. Lactococcus lactis spp. lactis	***16. Lactococcus lactis spp. cremoris***

Fuente: tomado de Komenan et al, 2009[35].

3.6.2. Beneficios de los probióticos

El consumo de diferentes probióticos a partir de alimentos fermentados o como células vivas presentes en otros productos como los citados anteriormente, han sido vinculados con muchos efectos benéficos para la salud de las personas. Algunos de éstos son contra enfermedades del tracto gastrointestinal, así como a nivel sistémico[36].

Tabla 6a. Beneficios en la salud atribuidos a probióticos

A: combatir	B: reducir	C: estimular
• **Infecciones intestinales por patógenos entéricos** • **Infecciones en el tracto urogenital.** • **Intolerancia a la lactosa.**	• **Incidencia de diarreas, tumores de cáncer en colon (y otros órganos). Colesterol sérico y enfermedades cardiacas**	• **Sistema inmune** • **Movimiento intestinal**

Fuente: tomado de Nomoto et al 2005[36].

Tabla 6b. Las bacterias probióticas y sus beneficios en la salud reportados en estudios clínicos

Efectos reportados	Especies probióticas
• **La modulación del sistema inmune**	• ***Lactobacillus acidophilus, L. casei, L. plantarum, L. delbrueckii, L. rhamnosus***
• **Equilibrio de la flora intestinal**	• ***L. acidophilus, L. casei, Bifidobacterium bifidum***
• **Reducción de actividades de las enzimas fecales (enzimas implicados en la activación de carcinógenos)**	• ***L. acidophilus, L. casei, L. gasseri, L. delbrueckii***
• **Antitumoral**	• ***L. acidophilus, L. casei, L. gasseri, L. delbrueckii, L. plantarum, B. infantis, B. adolescentis, B. bifidum, B. longum***
• **La prevención de la diarrea del viajero**	• ***Saccharomyces spp., mixture of L. acidophilus, B. bifidum, Streptococcus thermophilus, L. bulgaricus***
• **Prevención de la diarrea por rotavirus** • **Prevención de *C. difficile* Diarrea** • **La prevención de la diarrea otra**	• ***L. rhamnosus, B. bifidum*** • ***L. rhamnosus, S. spp.*** • ***L. acidophilus, L. rhamnosus, B. bifidum***

Fuente: tomado de Steer Tet al, 2000[68].

Ingerir productos fermentados y células viables de BAL han sido recomendados para manejar la diarrea en adultos y niños. Algunos de los productos comerciales para tratar tales diarreas son: alimentos fermentados

conteniendo células viables de *L. bulgáricus* y *S. thermophilus* y sus metabolitos, productos similares conteniendo células vivas y metabolitos de *L. acidophilus, L. reuteri* y *Bifidobacterium spp*., leche pasteurizada inoculada con células vivas ($\geq 10^6$/mL) de las últimas tres especies y tabletas, cápsulas y polvos conteniendo una o más de esas especies[29].

Las bacterias probióticas han sido usadas como un medio terapéutico para tratar diarreas en niños. Por ejemplo, fue reportado que la aplicación de una fórmula infantil suplementada con *Bifidobacterium bifidum* y *Streptococcus thermophilus* a infantes entre 5 a 24 meses, redujo la incidencia de diarrea aguda e incluso eliminó el rotavirus[48]. Ademas, otros científicos evidenciaron el uso de probióticos en enfermedades diarreicas tratadas con antibióticos, encontrando resultados positivos en cuanto a la reducción de malestares estomacales[37].

En una investigación se demostró la limitación del desarrollo de *Escherichia coli* por especies de *Lactobacillus*. Además, reafirmaron las beneficios de la utilización de probióticos en el tratamiento de diarreas. Asimismo, se ha corroborado que una mezcla de probióticos (cuatro lactobacilos y una bifidobacteria) agregada al tratamiento regular, trae efectos beneficiosos en pacientes con colitis ulcerosa. Asimismo, se ha evidenciado que los probióticos junto con la medicación estandar podrían ser empleados en la curación de la irritación y úlcera péptica producida por *Helicobacter pylori* y en su profilaxis[38].

3.7. Antecedentes

Los efectos proliferativos del BRAE (extracto de antocianina de arroz negro “Oriza sativa L.”) en *Bifidobacteria y Lactobacillus* fueron estudiados, en condiciones anaeróbicas a 37 ºC durante 48 h. Después se observó que las antocianinas y los monómeros de antocianina del arroz negro fueron metabolizadas en varias moléculas pequeñas por *Bifidobacterias y Lactobacillus*[69]. Por otro lado, se estudió el potencial prebiótico de *Ulmus rubra* “Olmo”, *Glycyrrhiza glabra* “Regaliz” y “Triphala” (*Emblica officinalis, Terminalia bellerica,* y *Terminalia de chebula)* en el tratamiento de enfermedades digestivas. La administración del suplemento de hierbas aumentó el número de bacterias tales como: *Bifidobacterium spp., Lactobacillus spp., y Bacteroides spp* y disminuyó *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae*. Las hierbas medicinales estimularon el crecimiento de bacterias productoras de butirato y propionato. *U. rubra* aumentaron la abundancia relativa de bacterias productoras de butirato, mientras que *G. glabra* incremento el propionato[42].

De igual forma, se diseñó un estudio preliminar del potencial prebiótico de los polisacáridos de hongos silvestres en *Lactobacillus acidophilus* y *L. rhamnosus,* los cuales estimularon mejor el crecimiento de los lactobacilos que los prebióticos comerciales como la inulina o los fructooligosacáridos. Además, los polisacáridos seleccionados fueron sometidos a un jugo gástrico humano artificial y permanecieron no digeribles en más del 90%, alcanzando el colon y estimulando el crecimiento de bacterias beneficiosas[48]. Asimismo, se evaluó el efecto prebiótico de polisacáridos de *Lycium barbarum* (PLB) “Goji” extraídos de las bayas. Los polisacáridos analizados por cromatografía de gases contenían arabinosa, ramnosa, xilosa, manosa, galactosa y glucosa; los cuales promovieron la proliferación de bacterias ácido lácticas, especialmente *Bifidobacterium longum subsp. infantis Bi-26* y *Lactobacillus acidophilus NCFM.1.* Además, PLB mejoró la tolerancia de *B. longum subsp. infantis Bi-26 y L. acidophilus NCFM* en el entorno gastrointestinal[54].

Por otra parte, el potencial prebiótico, la composición química y la capacidad antioxidante de los extractos de pimienta negra, pimienta cayena, canela, jengibre, orégano mediterráneo, romero y cúrcuma fueron estudiados sobre la viabilidad de 88 bacterias anaeróbias facultativas aisladas de la microbiota intestinal. En estos extractos se determinaron 14 compuestos fenólicos, piperina, ácido cinámico y cinamaldehído, que aportan una alta capacidad antioxidantes. Los extractos, con excepción de la cúrcuma, mejoraron el crecimiento de *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus* spp. La canela, el orégano y el romero fueron activos contra cepas de *Fusobacterium;* y la canela, el romero y la cúrcuma contra *Clostridium* spp. Algunas especias mostraron una actividad similar a los prebióticos al promover el crecimiento de bacterias benéficas y disminuir las patógenas, lo que sugiere su intervención en la regulación de la microbiota y en la mejora de la salud gastrointestinal[41].

Asimismo, el crecimiento *Lactobacillus acidophilus* en glucósidos mono y diglucosil (PG), obtenidos de plantas dietéticas que poseen pequeños aglicones aromáticos fue estudiado. Este crecimiento es común entre los lactobacilos intestinales humanos comparados con los homólogos de otros nichos ecológicos. La especialización metabólica de *L. acidophilus* y lactobacilos seleccionados en la bioconversión de fitoquímicos glucoconjugados tiene beneficios en la microbiota y el huésped[53].

De igual manera, la acción prebiótica del extracto acuoso de *Bulnesia sarmienti* (*BSAE*) entre 0 a 3% (p / v) como única fuente de carbono fue estudiada. BSAE estimuló el crecimiento *in vitro* de cuatro cepas de *Lactobacillus acidophilus* estimuladas por la actividad prebiótica de catequina y epicatequina presente en *BSAE*. Los hallazgos sugieren que *BSAE* puede promover la supervivencia, colonización y actividad de las cepas probióticas en el tracto gastrointestinal, resultando en la mejora de sus efectos beneficiosos en salud[40].

Al mismo tiempo, el efecto modulador de *L. plantarum* IFPL935 (posee la capacidad de iniciar el metabolismo de flavan-3-oles) sobre la microbiota de los intestinos que se evaluó con el extracto de polifenoles de vino tinto fue

estudiado. En este aspecto, *Lactobacillus plantarum* IFPL935 ejerció un papel de protección sobre la microbiota intestinal. Asimismo, *L. plantarum* IFPL935 promueve la formación de ácido butírico en la región del cólon distal[55]. A la vez, el efecto simbiótico del extracto de *Smallanthus sonchifolius* "yacón" y *Lactobacillus plantarum* sobre *Escherichia coli* fue estudiado. Inicialmente, el efecto de la concentración del extracto en el crecimiento de *L. plantarum* fue determinado. A15 °Brix del extracto de yacón, el crecimiento de *L. plantarum* aumento y disminuyo *E. coli* enteropatógena [45].

Por otro lado, el poder analgésico y antiinflamatorio de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) con el propósito de ofrecer una medicina natural debido a los efectos y atributos que posee además del bajo costo y acceso a la población. Así, el extracto de "Chuchuhuasi" presentó mayor actividad analgésica y menor actividad antiinflamatoria que el Diclofenaco[21]. En este aspecto, corteza, raíces y hojas de especies que se conocen como "chuchuhuasi" son usadas en etnomedicina para el tratamiento de reumatismo, tuberculosis, bronquitis, gastritis y fiebre[20]. Con relación a "cumaceba" es utilizada en medicina tradicional en artritis, enfriamientos, dolor muscular, inflamación de las articulaciones, infecciones de hongos, tuberculosis y otras infecciones respiratorias altas, así como fortificante de la virilidad, tónico hormonal femenino y afrodisiaco, entre otros [18]. Con respecto a, "huanarpo macho" es usado en la medicina tradicional como afrodisíaco y otras propiedades[22].

IV. METODOLOGÍA

4.1. Lugar de ejecución

Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en el cercado de Lima, Perú.

4.2. Muestras de estudio

El extracto atomizado (EA) de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba), *Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho) esta en los porcentajes 33.3 %, 16.7 % y 50 % respectivamente, fue proporcionado por la empresa Amazon Andes Export S.A.C, localizada en Surquillo - Lima. Se adjunta fichas técnicas (Figura. A-20 ,A-21 y A-22).

4.3. Materiales y equipos

A) Materiales

- Matraces de 50, 100 y 250 mL
- Probetas de 100, 200 y 500 mL
- Micropipetas de 10, 100, 200 y 1000 µL
- Placas Petri
- Tubos de ensayo 10 y 20 mL
- Microtubos de 0,5, 1 y 2 mL
- Vasos de precipitado 100, 250 y 500 mL
- Frascos de vidrio de 25, 100, 250 y 500 mL
- Pipetas Pasteur
- Mechero
- Filtros (acetato de celulosa 0,22, 0,45 µm)

B) Equipos

- Autoclave, marca: Pemarlor, capacidad 35 L
- Incubadora, marca: Memmert.
- Estufa de secado, marca: Barnstead International, modelo 3512-1.
- Vortex, modelo: VM-300,
- Balanza analítica, marca sartorius, modelo: entris, capacidad: 220g, apreciación: $1x10^{-4}$ g.

- Balanza, marca Henkel, capacidad 300g, apreciación: 0.001g.
- Horno microondas, marca: LG, modelo: MS-74PLA, corriente: 220V.
- Baños de agua caliente, marca: IKA
- pH-metro, marca EZODO, modelo: PL-700AL, rango pH: -2 a 16.
- Agitador magnético, marca: IKA.
- Centrífuga, marca: eppendorf, modelo: 5810R.
- Congeladora, marca: Samsung, modelo: RL4003SBASL.
- Refrigeradora marca Samsung 220 L.

C) Reactivos

- Alcohol 96% v/v.
- Agua destilada.
- Caldo MRS, (Merk KGaA), caldo para Lactobacillus según DE MAN, ROGOSA y SHARPE, pH (solución de 50 g/L) 5,5 - 5,9 a 30 °C (después de autoclavado).
- Agar-agar de alta pureza, (OXOID), pH (solución 10 g/L)= 6,8 a 20 °C.
- Pepsina, (Merck KGaA), [(de mucosa gástrica de cerdo) 0,7 FIP-U/mg para bioquímica], masa molecular: 35,00 g/mol, pureza= ≤100%, pH (solución 1 %)= 4,0 - 5,0 a 20 °C.
- Pancreatina, (Merck KGaA). [Pancreatina (de páncreas de cerdo) 350 FIP-U/g proteasa, 6000 FIPU/g lipasa, 7500 FIP-U/g amilasa,], grado: USP.
- Sales biliares LP0055, (OXOID), pH (Solución al 2%)= 6 ± 0,2 a 25 °C, concentración mínima efectiva de 0,25-0,50 %.
- Anaerocult, (Merck KGaA), (mezcla de reactivos para producir una medio anaeróbico en bolsas o recipientes de anaerobios),
- Glicerol, (Merck KGaA), densidad: 1,26 kg/L , masa molecular: 92,1 g/mol.
- Hidróxido de sodio, (Scharlau), masa molecular: 40,00 g/mol, pureza: 98,5 %.
- Cloruro de sodio, (JT Baker), masa molecular: 58,44 g/mol, pureza: 9,9 %.
- Ácido clorhídrico 6M.

4.4. Método de análisis

El potencial prebiótico de la mezcla del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba), *Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho) en *Lactobacillus plantarum y L. acidophilus,* se investigó según la ruta propuesta por la FAO para la evaluación de nuevos sustratos[13]. El estudio de la fermentación de prebióticos en el colón y la tolerancia de los mismos a la digestión gastrointestinal fue mediante modelos *in vitro* tales como fermentación por cepa única y cultivo discontinuo a pH no controlado y simple[13] . Estos modelos se corelacionan con los criterios propuestos por Gibson et al (2004)[70] para determinar o evaluar el potencial prebiótico de compuestos, lo cuales deben cumplir con los siguientes requisitos: (a) resistencia a la acidez gástrica, la hidrólisis por las enzimas de mamíferos y la absorción gastrointestinal; (b) fermentación por la microbiota intestinal; (c) estimulación selectiva del crecimiento y / o actividad de las bacterias intestinales asociadas con la salud. Estas exigencias orientan el análisis de los candidatos con potencial prebiótico.

4.4.1 Preparación del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha*

El extracto atomizado de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* fue pesado y resuspendido en un matraz con agua destilada para obtener una concentración final 1% ó 2% (p/v). Luego, se homogenizó sobre un agitador magnético a 40 °C durante 10 min; y filtró por una membrana 0,45 µm. Finalmente, el filtrado se dosificó 3 mL en tubos con tapa rosca.

4.4.2 Cultivo de *L. plantarum* ATCC 14917

El cultivo de *L.plantarum* ATCC 14917 se realizó de acuerdo a descrito por Zhou et al. [54], en tres etapas: reactivación, incubación y conservación. La bacteria se reactivó en 2 mL de MRS e incubó a 37 °C por 24 h. Después, al cultivo se añadió glicerol hasta 20% (v/v) y guardó en alicuotas de 200 µl por tubo a - 20 °C.

4.4.3 Efecto del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en el crecimiento de *L. plantarum*

Para la determinación del efecto prebiótico *in vitro* de la mezcla del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla*, *Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* se utilizaron los procedimientos descritos por Reza et al.[40] y Vegas et al.[45]. Para ello, se inocularon 60 µL del cultivo de *L. plantarum* a 3 mL del extracto acuoso esterilizado por filtración para obtener una concentración inicial de 10^7 UFC/mL. Los ensayos se realizaron por triplicado tanto para la muestra (EA) y control (MRS) e incubó a 37 °C por 48 h.

4.4.4 Recuento celular en placa

Se evaluó el crecimiento microbiano por recuento celular en placa como lo mencionan Coronado et al. [47] y Vegas et al. [45]. Para ello, se recolectaron muestras del cultivo de 100 µL, desde las 0 hasta las 48 h, cada 2 h; a la vez se midió el pH de las muestras recolectadas. Seguidamente, se realizaron diluciones seriadas de 10^{-5} a 10^{-9} y sembraron por método de superficie en agar MRS utilizando una asa de Drigalski. Luego, se incubó en condiciones de aerobiosis a 37 °C por 48 h. Después se realizó el recuento celular expresado en UFC/mL, seleccionando las placas petri que tenían entre 30 y 300 colonias.

4.4.5 Cinética de crecimiento de *L. plantarum* en medios conteniendo extracto atomizado de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha*

Este experimento se realizó con el fin de conocer el comportamiento de *L. plantarum* ATCC 14917 en el sustrato (constantes de crecimiento). Los datos obtenido en el recuento de células viables (experimento anterior) fueron procesados con el software Statistica 10; y se determinaron los parámetros cinéticos: μ_{max}, velocidad específica de crecimiento máximo; λ, tiempo de latencia; y □□, tiempo de generación, utilizando el modelo matemático de Gompertz modificado.

Modelo matemático

Se empleó el modelo empírico primarios de Gompertz modificado, el cual ha sido desarrollado para describir la curva de crecimiento bacteriano en condiciones isotérmicas (Velugoti et al., 2010).

Tabla 7. Ecuación modificada de Gompertz y ecuaciones predictivas

□ = □ ∗ □□□(−□□□(□ − □ ∗ □)	**Parámetros**
μ_{max}, □ ∗ □ **(h⁻¹)** □, (□ − □)/□ **(h)** □ □, □ □(□)/ **μ_{max} (h)**	**Y, cuenta microbiana al tiempo T** **Y, (log N/N°)** **N°, número de microorganismos iniciales en el cultivo UFC/mL** **N, recuento microbiano (UFC/mL) al tiempo T (h)** **μ_{max}, velocidad específica de crecimiento máximo** **□, tiempo de latencia** **□ □, tiempo de generación** **□,b,c, parámetros matemáticos**

4.4.6 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se usó Microsoft office Excel 2010 y el software Statistica 10. Se utilizó la prueba estadística paramétrica análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza de 95 % para evaluar el impacto del máximo crecimiento y los diferentes medios de cultivo de *L. plantarum*. Además, la prueba de Duncan se utilizó para la comparación de medias. La prueba genera un umbral más pequeño y le da una mayor capacidad de encontrar diferencias.

4.4.7 Evaluación del efecto protector del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en condiciones gastrointestinales simuladas para *L. plantarum*

4.4.7.1 Condiciones gástricas [54]

Cultivo celular. A un frasco con 20 mL de MRS se agregaron 600 µL de inóculo de *L. plantarum* e incubó a 37 °C por 10 h (fase exponencial previos ensayos realizados). Luego, las células se cosecharon por centrifugación a 4000 rpm, 4 °C por 5 min; en seguida, se lavaron dos veces con cloruro de sodio 0,9 % estéril. Finalmente, las células se resuspendieron en 5 mL de cloruro de sodio 0,9 %, obteniendo una concentración de 10^9 UFC/mL.

Preparación de la solución de pepsina. A 4 mL de cloruro de sodio 0,9 % se añadieron 20 µL de HCl 6 M y 200 mg de pepsina, se homogenizó y luego se filtró por membrana 0,45 µm.

*Prepara*ción de medios de cultivo. A tres matraces se añadieron 5 mL de cloruro de sodio 0,9 % pH 2 estéril, conteniendo el primero, MRS 5,2 % (p/v); el segundo, MRS 5,2 % (p/v) con EA 1 % (p/v); y el tercero, MRS 5,2 % (p/v) con EA 2 % (p/v), luego se filtraron por membrana 0,45 µm (Figura. A-14b).

Simulación de condiciones gástricas. A cada matraz con los medio MRS + EA 1 % y MRS + EA 2 %, se le agregaron 300 µL de solución de pepsina y 500 µL de inóculo (6,0 x 10^8 UFC/mL), se homogeneizaron e incubaron a 37 °C, 50 rpm durante 3 h. Paralelamente, se recolectaron muestras a las 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 y 3,0 h (tiempo estimado de una digestión). Finalmente, las muestras recolectadas se sembraron en agar MRS por método de superficie en diluciones 1 x 10^{-4} y 1 x 10^{-3}, luego se incubaron en aerobiosis a 37 °C por 48 h (Figura. 15a).

4.4.7.2 Condiciones intestinales [54]

Cultivo celular. A cada tubo conteniendo 20 mL de caldo MRS se añadieron 600 µL de inóculo de *L. plantarum* e incubó en aerobiosis a 37 °C por 10 h. Posteriormente, las células se cosecharon por centrifugación a 4000 rpm, 4 °C por 5 min. Después, las células se lavaron dos veces con cloruro de sodio 0,9

% estéril y finalmente se resuspendieron en 5 mL cloruro de sodio 0,9 %, obteniendo una concentración de 10^9 UFC/mL.

Preparación de los medios de cultivo. Se realizó agregando a cada matraz 5 mL de una solución de cloruro de sodio 0,9 % estéril a pH 7, 1 g/L de pancreatina y 4,5 g/L de sales biliares. Los tres matraces contenían: el primero, MRS; el segundo, MRS mas extracto acuoso 1 %; y el tercero, MRS con extracto acuoso 2 %, luego fue filtrado con 0,45 µm (Figura. A-15a).

Simulación de condiciones intestinales. A cada matraz se agregó 500 µL de inóculo (6,0 x 10^8 UFC/mL), se homogenizó e incubó a 37 °C, 50 rpm durante 3 h. Paralelamente se recolectaron muestras a las 0; 1,5 y 3,0 h (tiempo estimado de una digestión). Finalmente, las muestras recolectadas se sembraron en agar MRS por método de superficie en diluciones 10^{-4} y 10^{-5}, luego se incubaron en aerobiosis a 37 °C por 48 h (Figura. A-16a).

4.4.7.3 Análisis estadístico

Para evaluar la significancia entre los medios de producción y el tratamiento gástrico e intestinal por 3 h (tiempo estimado de una digestión) se usó la prueba de Kruskal Wallis. Esta prueba no paramétrica se utiliza cuando los datos obtenidos no siguen una distribución normal y contrasta unas hipótesis análogas a la prueba ANOVA de un factor. La prueba de Kruskal Wallis no contrasta que las medias sean iguales, sino que los valores obtenidos en los grupos sean similares.

4.4.8 Evaluación del crecimiento bacteriano por dilución y viabilidad en placa para *L. acidophilus*

4.4.8.1 Preparación de los extractos acuosos de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha*

Para el acondicionamiento de la mezcla del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* se pesó calculando para obtener concentraciones de 1 % y 2 % (p/v) y se resuspendió en un matraz con agua destilada. Se homogenizó con agitador magnético a 40 °C durante 10

min. Luego se filtró con una membrana 0,45 µm, el filtrado se dosificó en tubos con tapa rosca de 6 mL.

4.4.8.2 Cultivo de *L. acidophilus*

Las condiciones de cultivo se realizaron según Zhou et al [54] en tres etapas: conservación, reactivación del pre inóculo e incubación. Así, *L. acidophilus* ATCC 4356 se reactivó añadiendo 2 mL de MRS e incubó a 37 °C por 24 h. Luego, se añadió glicerol hasta 20% (v/v) y se guardo - 20 °C en alicuotas de 200 µl por tubo.

4.4.8.3 Efecto del extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en el crecimiento de *L. acidophilus*

De acuerdo a los procedimiento de Reza et al.[40] y Vegas et al.[45], se evaluó el efecto prebiótico de la mezcla del extracto atomizado de *Swartzia polyphylla*, *Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* sobre *L. acidophilus,* en anaerobiosis. Para ello, se inocularon 120 µL del cultivo de *L. acidophilus* en 6 mL de la mezcla del extracto atomizado acuoso para obtener una concentración inicial de 10^7 UFC/mL. Se realizó por triplicado para cada muestra 1 % y 2 % (p/v) y un control (MRS). Después se homogenizó con vortex para dispersar los lactobacilos en el extracto acuoso esterilizado por filtración.

4.4.8.4 Recuento celular en placa

Se evaluó el crecimiento microbiano por recuento celular en placa como lo mencionan Coronado et al [47] y Vegas et al [45]. Se tomaron muestras de 100 µL. Así, se recolectaron desde el inicio hasta las 48 h (0, 3, 6, 8, 10, 12, 14, 24,28 y 48 h), a la vez, se midió el pH en cada tiempo. Seguidamente se realizaron diluciones seriadas de 10^{-5} a 10^{-9} y sembraron por método de superficie en agar MRS utilizando una asa de Drigalski. Luego, se incubaron en anaerobiosis empleando Anaerocult ^{R} a 37 °C por 48 h. Después, se realizó el recuento de células viables, seleccionando las placas que tenían entre 30 y 300 colonias (Figura. A-16).

4.4.8.5 Cinética de crecimiento de *L. acidophilus* en el EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha*

Este experimento se realizó con el fin de conocer en parte el comportamiento (constantes de crecimiento) de la cepa en el sustrato. Los datos obtenido en el recuento de células viables (experimento anterior) fueron procesados en el software Statistica 10 y se calculó los parámetros cinéticos μ_{max}, velocidad específica de crecimiento máximo; λ, tiempo de latencia y □□, tiempo de generación, utilizando el modelo matemático de Gompertz modificado.

Modelo matemático

Se empleo el modelo empírico primarios de Gompertz modificado el cual ha sido desarrollado para describir la curva de crecimiento bacteriano en condiciones isotérmicas (Velugoti et al., 2010).

Tabla 7. Ecuación modificada de Gompertz y ecuaciones predictivas

□, □ ∗ □□□(−□□□(□ − □ ∗ □)	**Parámetros**
μ_{max}, □ ∗ □ (h⁻¹) **□, (□ − □)/□ (h)** **□□, □□(□)/ μ_{max} (h)**	**Y, cuenta microbiana al tiempo T** **Y, (log N/N°)** **N°, número de microorganismos iniciales en el cultivo UFC/mL** **N, recuento microbiano (UFC/mL) al tiempo T (h)** **μ_{max}, velocidad específica de crecimiento máximo** **□, tiempo de latencia** **□□, tiempo de generación** **□,b,c, parámetros matemáticos**

4.4.8.6 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se usó Microsoft office Excel 2010 y el software Statistica 10. Se utilizó la prueba estadística paramétrica análisis de varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza de 95 % para evaluar el impacto del máximo crecimiento y los diferentes medios de cultivo de *L. acidophilus*. En caso se obtuviera significancia se usó la prueba de Duncan para la comparación de medias. Este análisis genera un umbral pequeño y le da una mayor capacidad de encontrar diferencias.

4.4.9 Evaluación del efecto protector del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en condiciones gastrointestinales simuladas para *L. acidophilus*

4.4.9.1 Condiciones gástricas [54]

A un frasco conteniendo 20 mL de MRS se agregaron 600 µL de inóculo de *L. acidophilus*, se incubó en anaerobiosis a 37 °C por 12 h, posteriormente se centrifugó a 4 °C, 4000 rpm por 5 min. Las células se lavaron dos veces con cloruro de sodio 0,9 % estéril y resuspendieron con 5 mL de la misma solución, así se obtuvó una concentración de 10^{12} UFC/mL.

Preparación de la solución de Pepsina. A 4 mL de cloruro de sodio 0,9 % estéril se añadieron 20 µL de HCl 6 M y 200 mg de pepsina, se homogenizó y luego se filtró por membrana 0,45 µm.

*Prepara*ción de medios de cultivo. A tres matraces se añadieron 5 mL de cloruro de sodio 0,9 % pH 2 estéril, conteniendo el primero, MRS; el segundo MRS con extracto 1% (p/v) y el tercero, MRS con extracto 2 % (p/v), luego se filtraron por membrana 0,45 µm.

Simulación de condiciones gástricas. A los tres matraces se agregaron 300 µL de solución de pepsina, 500 µL de inoculo (4 x 10^{11} UFC/mL) y se incubaron a 37 °C y 50 rpm. Posteriormente, se tomaron muestras a las 0; 1,5 y 3,0 h, tiempo estimado de una digestión. De cada matraz se sembró en placascon agar MRS por método de superficie en diluciones 1 x 10^{-5} y 1 x 10^{-4}, después se incubó en anaerobiosis a 37 °C por 48 h (Figura. A-17a).

4.4.9.2 Condiciones intestinales [54]

A cada tubo conteniendo 20 mL de MRS se añadieron 600 µL de inóculo de *L. acidophilus*, se incubó en anaerobiosis a 37 °C por 12 h, posteriormente se centrifugó a 4 °C, 4000 rpm por 5 min. Luego, las células se lavaron dos veces con una solución de cloruro de sodio 0,9 % estéril, después las células se resuspendieron hasta un volumen de 5 mL con 10^{12} UFC/mL.

Preparación de los medios MRS (control) y con extracto 1% y 2% (p/v). *A* cada matraz se añadió 5 mL de solución de cloruro de sodio 0,9 % estéril, 1 g/L de pancreatina y 4,5 g/L de sales biliares, 5,22% de MRS como medio base (control), MRS con EA1% y 2%; luego se filtraron por membrana de 0,45 µm.

Simulación de condiciones intestinales. A los tres matraces se gregaron 500 µL de inóculo (4 x 10^{11} UFC/mL) e incubarón a 37 °C, 50 rpm durante 3 h, tiempo estimado de una digestión. Posteriormente, se tomaron muestras a las 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 y 3,0 h y sembraron en placas por incorporación en diluciones 10^{-4} y 10^{-3}, se incubaron en anaerobiosis a 37 °C por 48 h (Figura. A-18a).

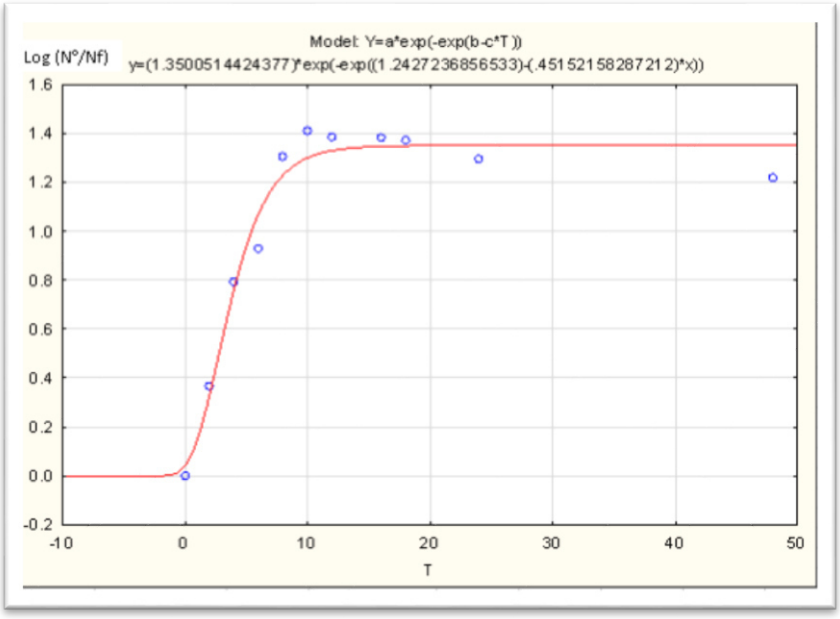
4.4.9.3 Análisis estadístico

Para evaluar la significancia entre los medios de cultivo y el tratamiento gástrico e intestinal por 3 h (tiempo estimado de una digestión) se usó la prueba de Kruskal Wallis. Esta prueba no paramétrica se utiliza cuando los datos obtenidos no siguen una distribución normal y contrasta hipótesis análogas a la prueba ANOVA de un factor.

V. RESULTADOS

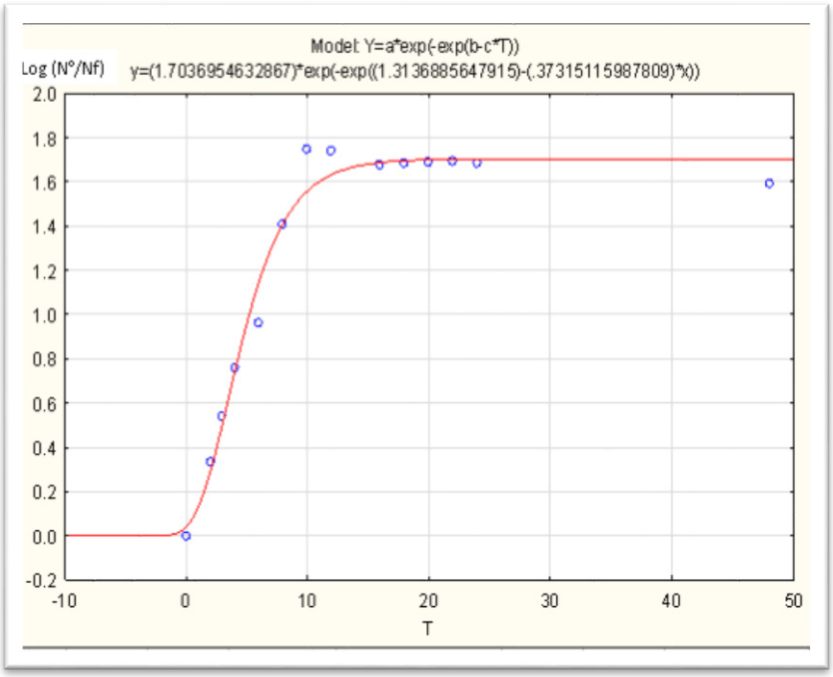
Efecto del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en el crecimiento de *L. plantarum*

La concentración inicial de *L. plantarum* en los tres medios de cultivo fue 6,1 X 10^7 UFC/mL. A las 10 h, el crecimiento de *L. plantarum* en MRS fue 1,56 x 10^9 UFC/mL (Figura 3a), EA 1% 3,41 x 10^9 UFC/mL (Figura 3b); y EA 2% 2,55 x 10^9 UFC/mL (Figura 3c). En los tres medios, el crecimiento de *L. plantarum* fue igual o mayor de 1 x 10^7 UFC/mL durante 48 h de cultivo. El medio EA 1% estimuló la mayor proliferación celular a las 10 h, después se observó una fase estacionaria hasta las 48 h. Así, el recuento celular fue mayor en el extracto acuoso 1%, en comparación con los medios MRS y EA 2%. Los cambios de la tendencia de los recuentos bacterianos fueron similares a la variación del pH del medio. La velocidad específica de crecimiento máximo en MRS fue 0,609 h^{-1}; EA 1% 0,635 h^{-1}; y EA 2% 0,656 h^{-1}. Además, el tiempo de latencia en MRS fue 0,537 h; EA 1% 0,840 h y EA 2% EA 0,266 h. Asimismo, el tiempo de generación en MRS fue 1,137 h; EA 1% 1,090 h y EA 2% 1,055 h.



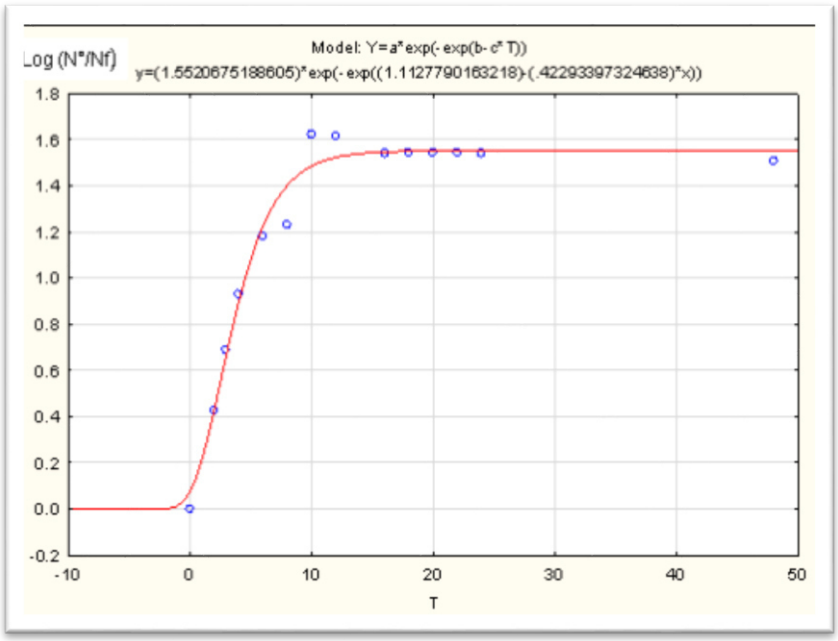
MRS	
a	1,350051
b	1,242724
c	0,451522
μmax (h^{-1})	0,60957736
λ (h)	0,53756829
G (h)	1,13709468
R	0,98498314
R2	0,97019178

Figura 3a. Curva de crecimiento de *L. plantarum* en MRS en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 48 h



EA 1%	
a	1,703695
b	1,313689
c	0,373151
μmax (h^{-1})	0,63573594
λ (h)	0,84064743
G (h)	1,09030674
R	0,98966962
R2	0,97944595

Figura 3b. Curva de crecimiento de *L. plantarum* en medio EA (*Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha)* 1% en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 48 h



EA 2%	
a	1,552068
b	1,112779
c	0,422934
μmax (h^{-1})	0,65642208
λ (h)	0,26665868
G (h)	1,05594738
R	0,99014261
R2	0,98038239

Figura 3c. Curva de crecimiento de *L. plantarum* en medio EA (*Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha* macrantha) 2% en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 48 h

Al evaluar el crecimiento de *L. plantarum* mediante el análisis de varianza se determinó que la fuerza del efecto del medio de cultivo es 3,816259E+10, a un nivel de p<0,05, lo cual indica que los medios de cultivo influyen en el crecimiento de *L. plantarum* (Tabla 8).

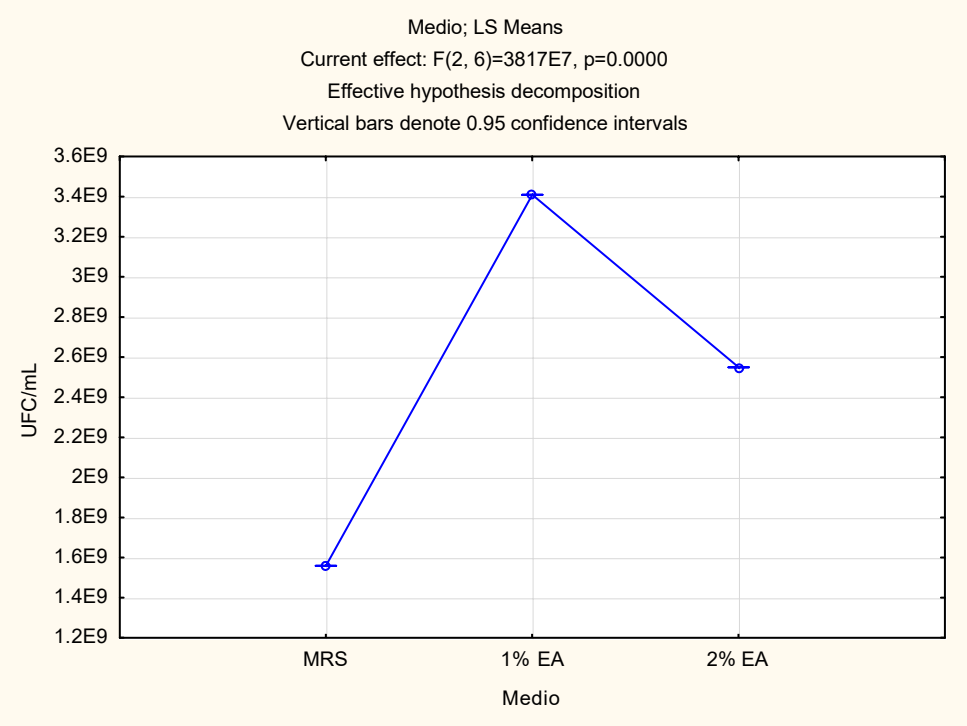


Figura. 4. **Comparación de medias en los niveles más altos de crecimiento de *L. plantarum***

En la Figura. 4 se observa el crecimiento de *L.plantarum* en tres medios de cultivo, la mayor tasa de crecimiento fue en el medio EA 1% en comparación a MRS y EA1%. Al determinar que el sustrato afecta el crecimiento, se aplicó la prueba de Duncan para determinar cuál de los sustratos presenta mayor impacto. De este modo, se observó que EA 1% y EA 2% en comparación con MRS (control) presentan significancia (P < 0,05) en el crecimiento de *L. plantarum* (Tabla 9).

Determinación del pH después del cultivo de *L. plantarum*

Se realizó un análisis dependiente de la concentración para estudiar los cambio de pH de los medios MRS, EA 1 % y 2 % después del cultivo de *L. plantarum* en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 48 h. Los pH iniciales de los medios MRS, EA 1 % y 2 % fueron 5,7, 5,0 y 5,0 respetivamente. Cabe destacar que los pH de estos medios no se ajustaron debido a que el extracto acuoso en estudio se utilizará como suplemento, por tanto se considero el ensayo en condiciones reales. De esta forma, después del periodo de cultivo los pH del MRS y extractos acuosos fueron 4,0, 3,8 y 3,7 respectivamente. En estas condiciones, el recuento celular de *L. plantarum* incremento y los pH del medio disminuyeron (Figura 5).

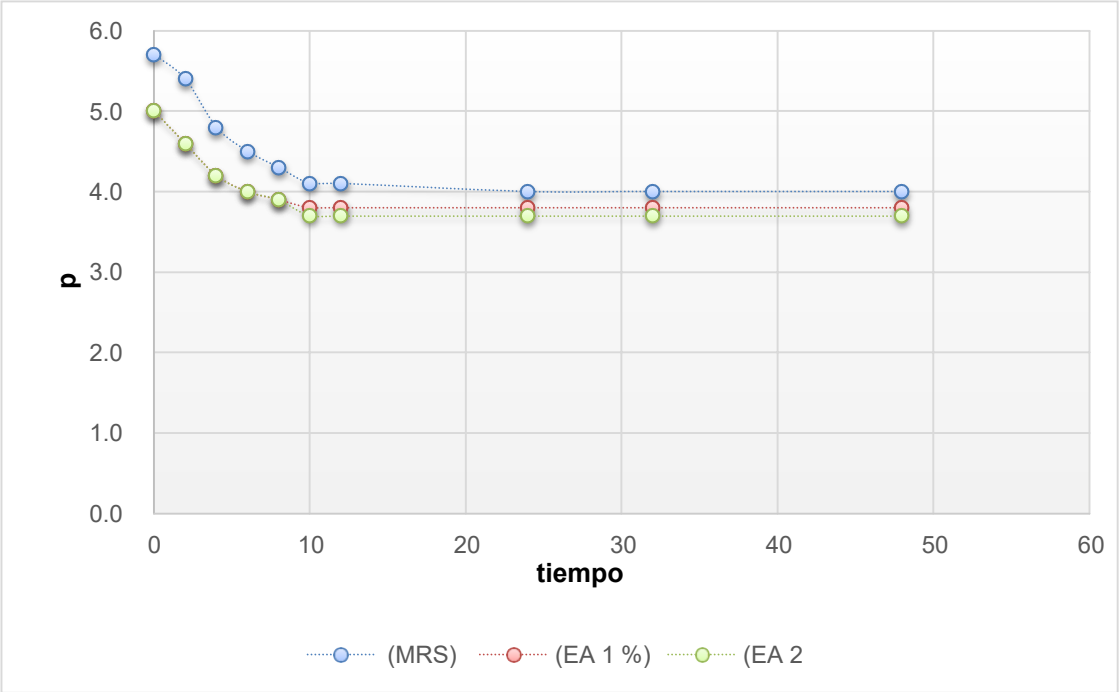
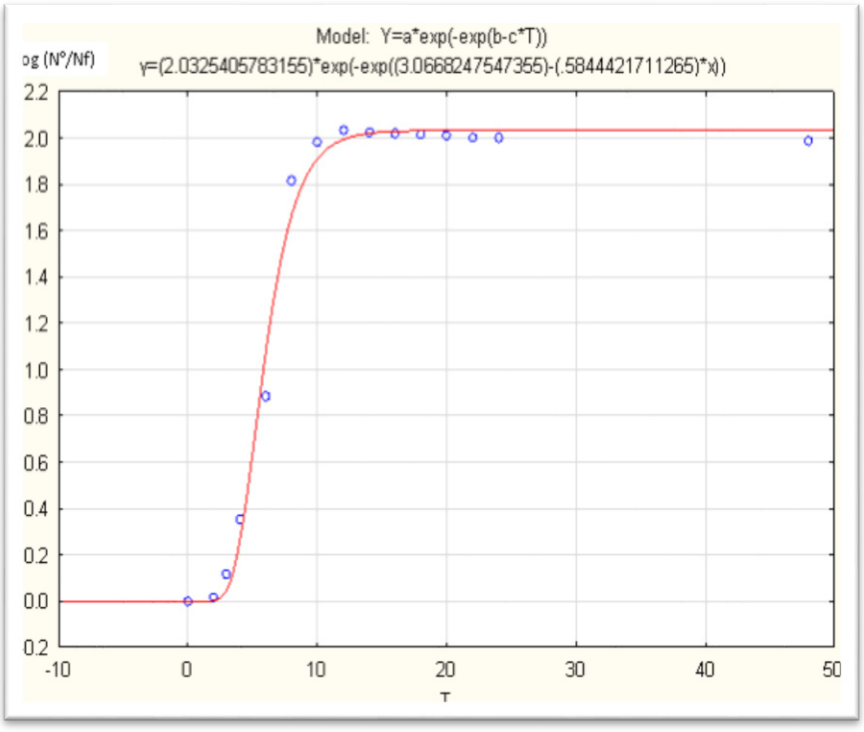


Figura 5. pH de los medio conteniendo extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* después del cultivo de *L. plantarum* en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 48 h

Efecto del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en el crecimiento de *L. acidophilus*

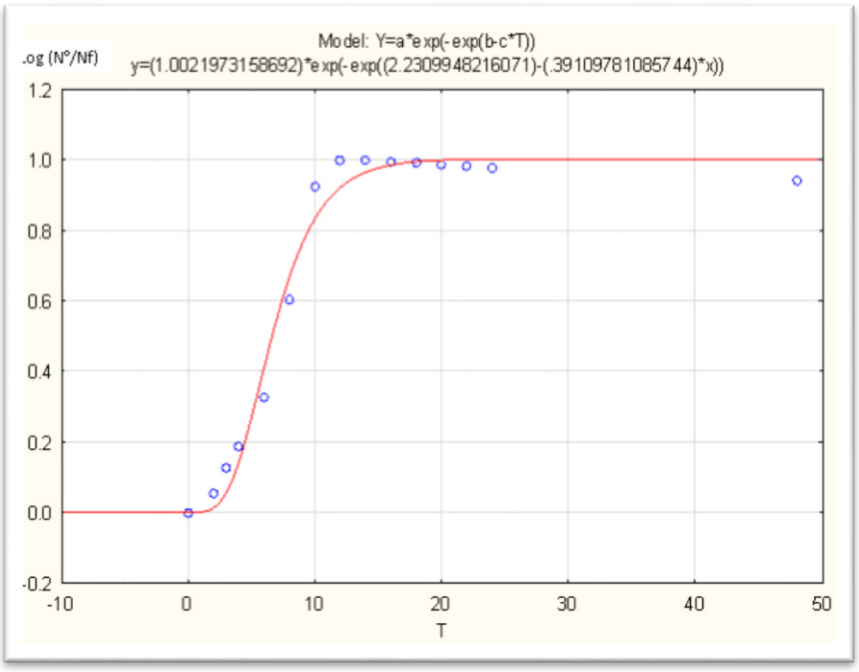
La concentración inicial de *L. acidophilus* en los tres medios fue 3,5 X 10^7 UFC/mL. A las 10 h, los recuentos de *L. acidophilus* fueron en MRS, 3,78 x 10^9 UFC/mL(Figura 6a), extracto acuoso 1 % 3,48 x 10^8 UFC/mL (Figura 6b) y extracto acuoso 2 % 2,88 x 10^8 UFC/mL (Figura 6c). En los tres medios, *L. acidophilus* se mantuvo por encima de 1 x 10^7 UFC/mL durante las 48 h de incubación, tomándo en cuenta que un probiótico debe mantenerse durante su vida útil en esta concentración bajo condiciones fisiológicas para ejercer un efecto beneficioso en el huésped. La tendencia de los recuentos bacterianos fue similar al cambio del pH del medio.

La velocidad específica de crecimiento máximo en MRS fue 1,187 h^{-1}; EA 1% 0,391 h^{-1} ; y EA 2% 0,516 h^{-1}; el tiempo de latencia en MRS fue 3,536 h; EA 1% 3,147 h; y EA 2% 5,144 h. El tiempo de generación en MRS fue 0,583 h; EA 1% 1,768 h; y EA 2% EA 1,343 h.



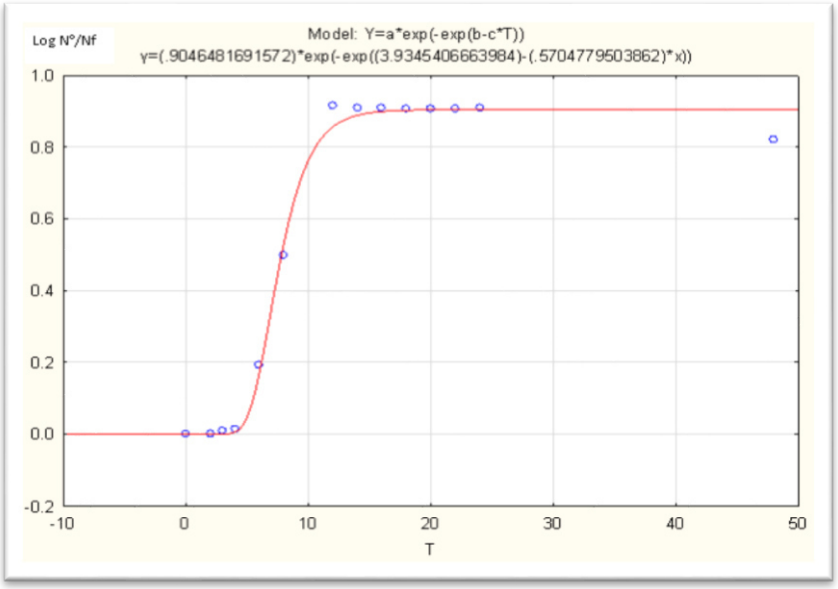
MRS	
a	2,032541
b	3,066825
c	0,584442
μmax (h^{-1})	1,18790243
λ (h)	3,53640592
G (h)	0,58350515
R	0,99599
R2	0,99199125

Figura 6a. Curva de crecimiento de *L. acidophillus* en medio MRS, en condiciones anaeróbicas a 37 °C durante 48 h



EA 1%	
a	1,002197
b	2,230995
c	0,391098
μmax (h^{-1})	0,391957176
λ (h)	3,147536978
G (h)	1,768425794
R	0,991239302
R2	0,982555354

Figura 6b. Curva de crecimiento de *L. acidophilus* en EA 1 % de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha*, en condiciones anaeróbicas a 37 °C durante 48 h



EA 2%	
a	0,904648
b	3,934541
c	0,570478
μmax (h^{-1})	0,516081833
λ (h)	5,144003663
G (h)	1,343095486
R	0,997229343
R2	0,994466362

Figura 6c. Curva de crecimiento de *L. acidophilus* en EA 2 % de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha,* en condiciones anaeróbicas a 37 ° C durante 48 h

Al evaluar el crecimiento de *L. acidophilus*, la fuerza del medio de cultivo fue 695779E+10 con un nivel de significancia de (p<0,05), así se determinó que el efecto de los medios de cultivo es significativo en el crecimiento de *L. acidophilus* (Tabla 10).

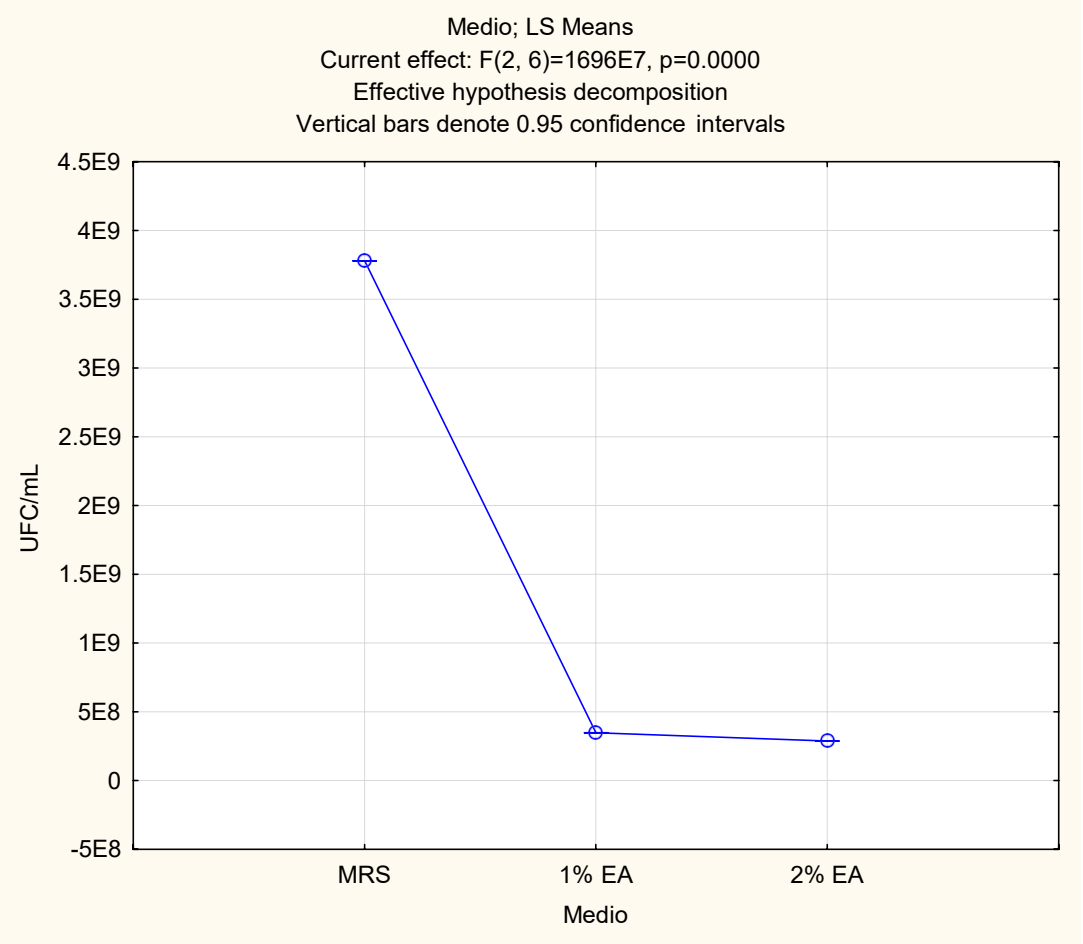


Figura. 7. Comparación de medias en los niveles más altos de crecimiento de *L. acidophilus*

Las diferencias entre las medias de la concentración celular en los tres medios de cultivo (Figura 7). Para determinar que los componentes del medio de cultivo impactan en el crecimiento de *L.acidophilus* se aplicó la prueba de Duncan hallándose que EA 1% y EA 2% en comparación del control (MRS) presentan significancia (P < 0,05) en el crecimiento de *L. acidophilus* (Tabla 11).

Determinación del pH después del cultivo de *L. acidophilus*

Se realizó un análisis dependiente de la concentración de los EA 1% y 2% para estudiar los efectos del cultivo de *L.acidophilus* sobre el pH en condiciones anaeróbicas a 37 °C durante 48 h. Así, en la Figura. 8. se observó que los pH iniciales de los medios MRS, EA 1% y 2% fueron 5,4 y 5,1 y 5,0, respetivamente. Los pH no se ajustaron ya que el sustrato en estudio es de consumo directo y se deseaba estudiar el efecto de los compuestos del extracto acuoso sin modificaciones. En consecuencia, a las 48 h de cultivo, los pH de MRS, EA 1% y 2 % fueron 3,3; 3,2 y 4,0 respectivamente. En los tres medios, la concentración celular de *L. acidophillus* incremento y los pH disminuyeron (Figura 8).

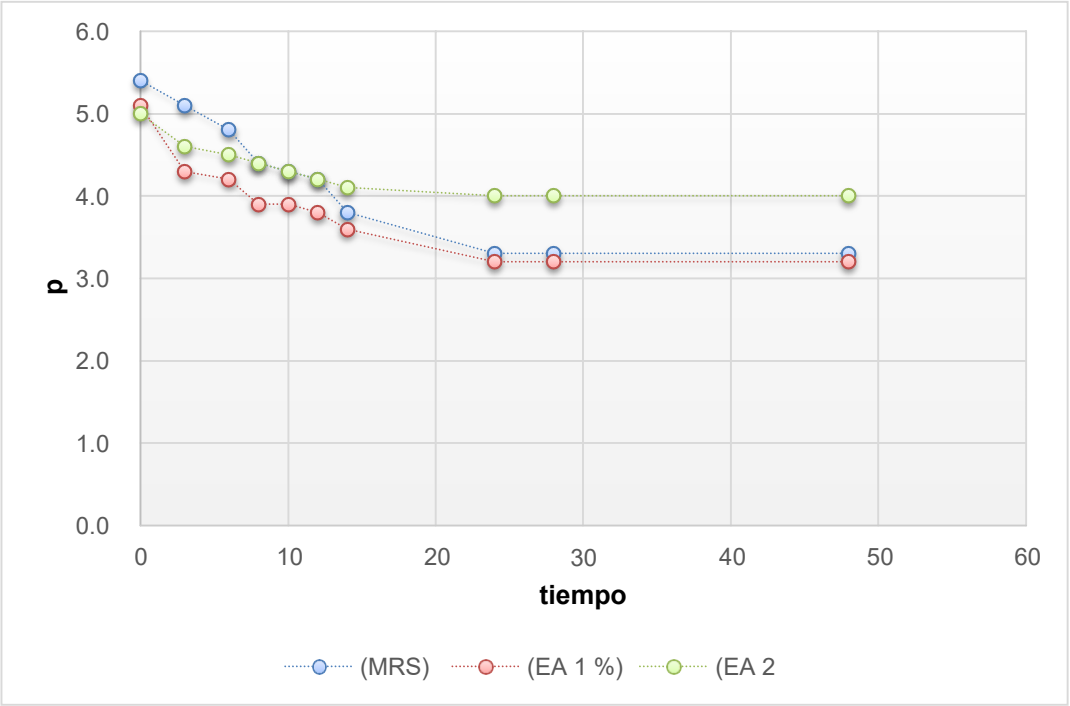


Figura. 8. pH de los medios conteniendo extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* después del cultivo de *L. acidophilus* en condiciones aneróbicas a 37 °C durante 48 h

Evaluación del efecto protector del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* en condiciones gástricas simuladas

Al inicio del ensayo, el número de células viables en los tres medios fue 4.58 x 10^{11} UFC/mL tanto de L. *acidophilus* y *L. plantarum*. En las condiciones experimentales de simulación *in vitro* a la tolerancia gástrica después de 3 h de incubación, el recuento celular de *L.acidophilus* fue 1 x 10^{6} UFC/mL en medio MRS, mientras que en el EA 1% fue 1,46 x 10^{8} UFC/mL. En la Figura. 9 se observa que el EA 1% mejora la tolerancia de *L. acidophilus* en el entorno gástrico (Figura 9). Por el contrario, *L. plantarum* en las mismas condiciones experimentales fue desfavorecido.

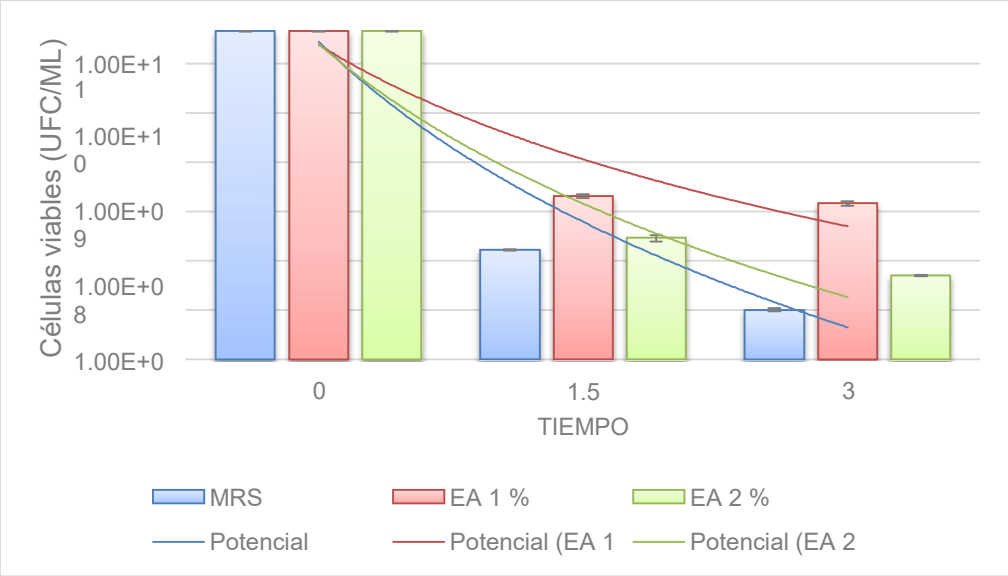


Figura. 9. Tolerancia en condiciones gástricas simulada de *L. acidophilus* con el extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha*

La distribución de los datos obtenidos no fue normal, por ello se utilizó la prueba de Kruskal Wallis" (Tabla 12), dando el valor de la variable H de 7,2 mayor al nivel de X^2 (6,3). De este modo, se evidenció significancia entre los cultivos en los medios extractos acuosos y MRS después de 3 h de incubación con un índice de veracidad del 95% ($p<0,05$) (Figura 10).

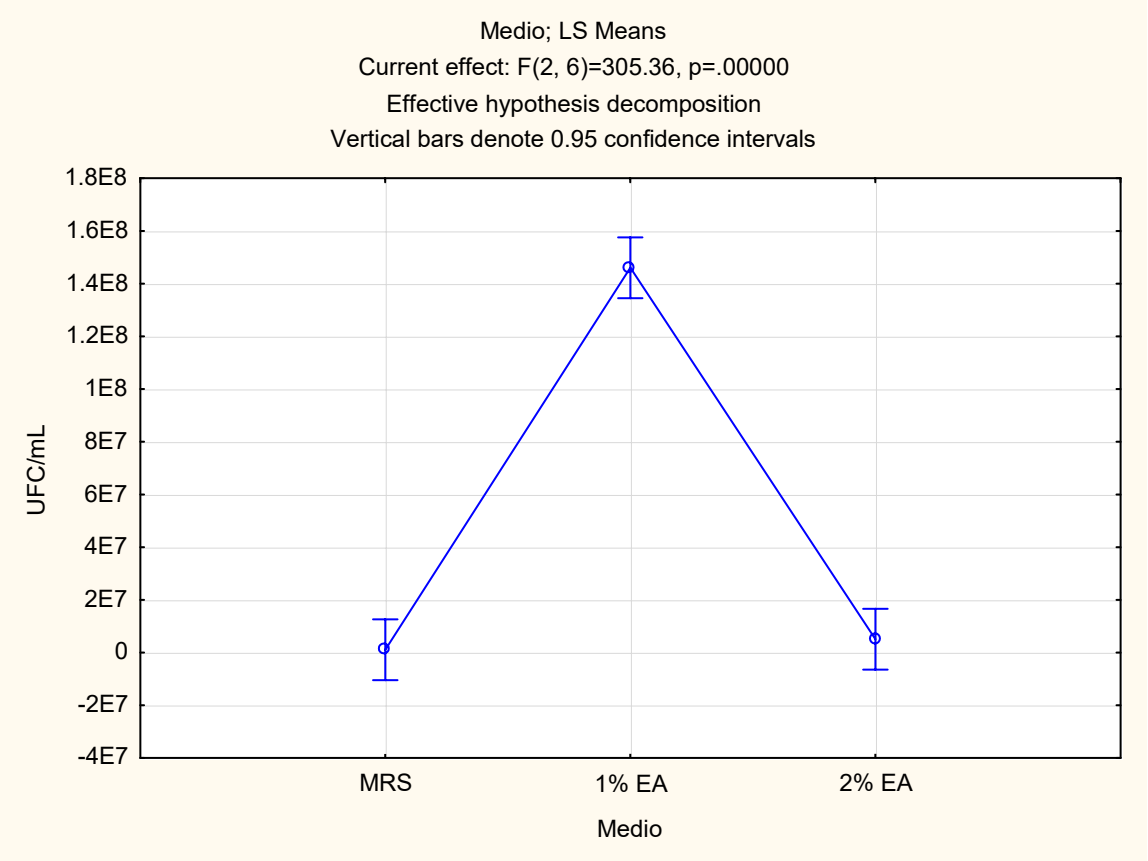


Figura. 10. Prueba de Kruss wallis de *L. plantarum y L. acidophilus* en condiciones gástricas simuladas después de 3 h de incubación

Evaluación del efecto protector del EA de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* en condiciones intestinales simuladas

El número inicial de células viables de *L. plantarum* y *L. acidophilus* en los tres medios de cultivo fue 6,2 x 10^8 UFC/mL. Después de 3 h de incubación, el recuento celular de *L.plantarum* en el EA 2% fue 4,25 x 10^8 UFC/mL, sin embargo en el EA 1% fue 5,56 x 10^8 UFC/mL. En la Figura 11, se observa que el extracto acuoso 1% mejora la tolerancia de *L. plantarum* en el entorno intestinal, por el contrario, *L. acidophilus* en las mismas condiciones experimentales no sobrevive.

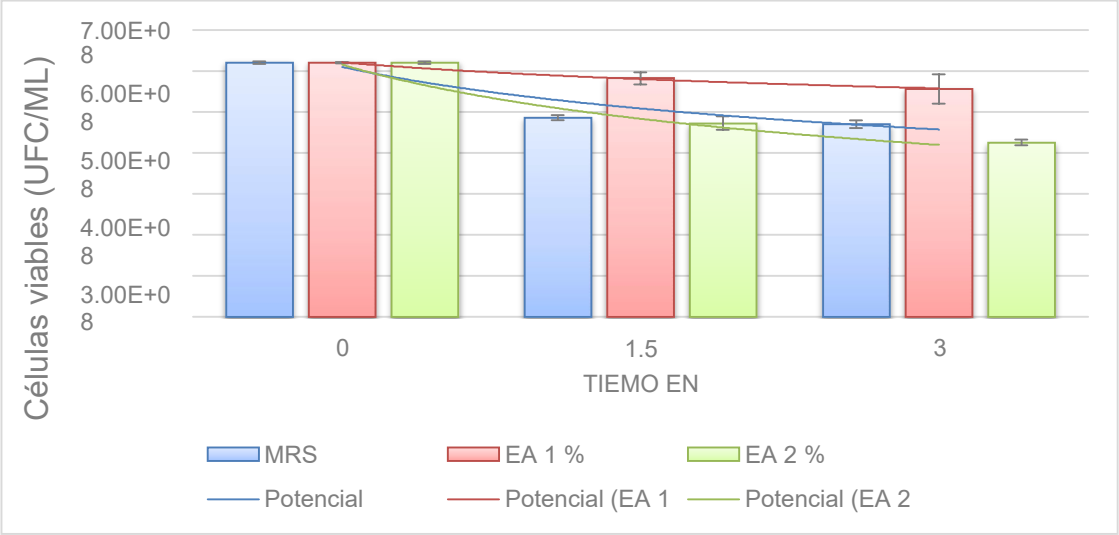


Figura. 11. Tolerancia en condiciones intestinales simulada de *L. plantarum* con el extracto acuoso de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha*

Los datos obtenidos no presentaron una distribución normal, por ello se utilizó la prueba de Kruskal Wallis" (Tabla 13), el valor de la variable H fue 7,2 mayor al nivel de X^2 (6,3); en consecuencia, se observa significancia entre los cultivos en medio EA con respecto a MRS después de 3 h de incubación con un índice de veracidad del 95% ($p<0,05$) (Figura.12).

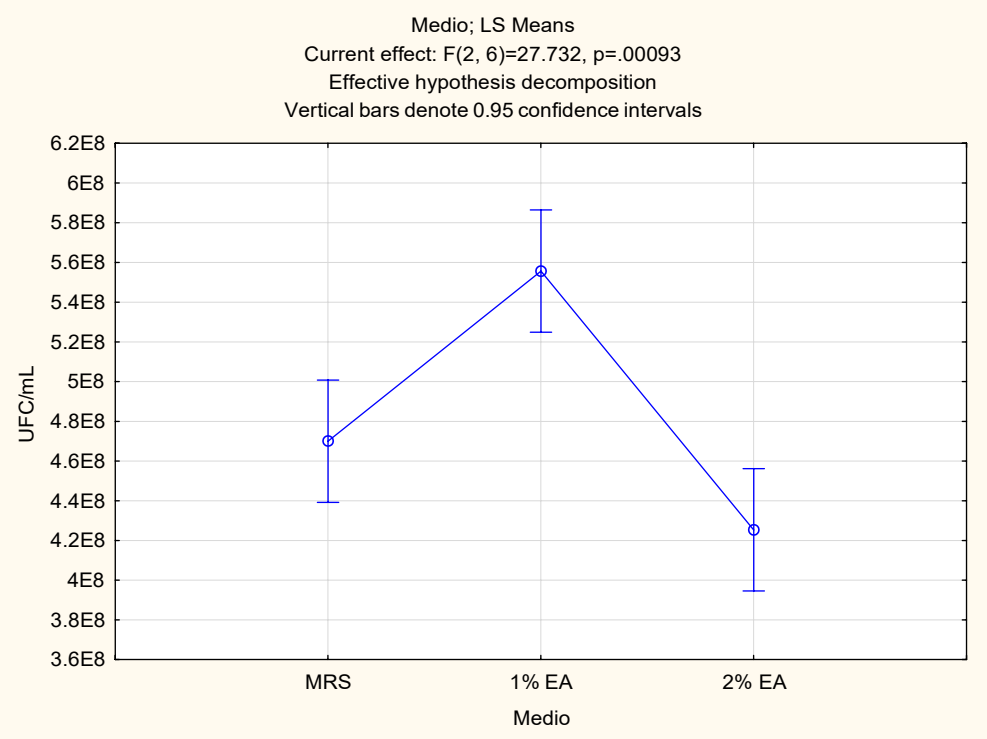


Figura. 12. Prueba de Kruss wallis de *L. plantarum y L. acidophilus* en condiciones intestinales simuladas después de 3 h de incubación

VI. DISCUSIÓN

A diferencia de los probióticos, que son microorganismos vivos, los prebióticos son compuestos destinados a estimular el crecimiento de bacterias beneficiosas para la salud. Así, la inulina, aislada de las raíces de achicoria, estimula el crecimiento de bacterias del ácido láctico (BAL); sin embargo, su uso es limitado por algunos efectos secundarios (Apajalahti et al. 2002)[77]. Por ello, es necesario la búsqueda de prebióticos alternativos con menos o ningún efecto secundario que estimulen el crecimiento de los probióticos disponibles en el intestino. En este aspecto, existen diversas fuentes como las bayas ricas en compuestos bioactivos, como fenólicos y ácidos orgánicos con propiedades antimicrobianas contra patógenos humanos (Puupponen- Pimia et al., 2005)[75]. De igual forma, las especias derivadas de cortezas, frutos, semillas u hojas contienen diversos compuestos beneficios para el crecimiento de probióticos de la biota intestinal (Kocaadam & Sanlier, 2017)[76].

En este contexto, la composición química cualitativa del extracto acuoso atomizado (EA) de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba)*, Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho) indica la presencia de compuestos fenólicos como: flavonas, flavonoles (catequinas), isoflavonas; y triterpenoides; así como taninos, antraquinonas; y compuestos aminados; y en menor proporción azúcares reductores, alcaloides, saponinas y glicósidos [22]. Con base en esta información se realizaron los estudios del efecto prebiótico del EA en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 y *L. acidophilus* ATCC 4356 *in vitro*.

En los ensayos de crecimiento microbiano (Figurauras 3b, 3c, 6b y 6c), se observan que el EA 1% estimula el mayor número de células viables de *L. plantarum* y *L. acidophilus*. Además, la población bacteriana fue mayor a 10^7 UFC/ mL durante las 48 h de incubación. A la vez, la velocidad específica de crecimiento máximo de ambas bacterias se mantiene entre las 10 y 12 h. Asimismo, existe relación con respecto al recuento microbiano en los medios EA 1% y EA 2% ($p<0,05$) (tabla 8); similares resultados se obtuvieron con la prueba de Duncan en el máximo crecimiento de ambas bacterias. Estos datos

concuerdan con Theilmann et al (2017) [53], quienes demuestran el crecimiento de *L. acidophilus* en glucósidos mono y diglucosilados tales como esculina, salicina, fraxina; compuestos aislados de plantas dietéticas, los cuales presentan grupos fenólicos y polifenólicos. Asimismo, Lu et al, (2017) [41] describen el potencial prebiótico del extracto de siete especias; los cuales incrementaron las poblaciones de bifidobacterias y lactobacilos de la biota intestinal. Además, Reza et al. (2016) [40] investigaron el efecto prebiótico del extracto acuoso de *Bulnesia sarmienti* utilizando concentraciones entre 0 a 3% (p/v), en estas condiciones, el crecimiento *in vitro* de cuatro cepas de *L. acidophilus* se incrementó debido a la actividad de los componentes del extracto acuoso. De igual forma, Zhou F, et al. (2018) [54], evaluaron el efecto prebiótico de los polisacáridos extraídos de las bayas de *Lycium barbarum* "Goji" utilizando diversas bacterias, una de ellas fue *L. acidophilus*; en este caso, el medio MRS suplementado con el extracto 0,5% estimuló la proliferación de esta bacteria.

Por otra parte, el efecto prebiótico de los EA sobre *L. plantarum* y *L. acidophilus* se investigaron determinando el pH del medio. Después de la incubación anaeróbica a 37 °C durante 48 h, ambos medios conteniendo EA 1% y 2 % (p/v) presentan actividad acidificante en función del tiempo de cultivo (Figurauras 5 y 8). En este aspecto, el extracto acuoso al promover el crecimiento bacteriano activa el metabolismo de algunos compuestos, lo cual conlleva a la acidificación del medio de cultivo [40, 44, 54]. De igual forma, Zhu et al 2018 [69], estudiaron los efectos *in vitro* de los extractos de antocianina de arroz negro sobre el crecimiento de bacterias del ácido láctico, reportando la disminución del pH por la producción de ácidos orgánicos como ácido fenólico y ácidos grasos de cadena corta tales como: ácidos fórmico, acético, propiónico, butírico, láctico, entre otros.

Los ensayos en condiciones gastrointestinales simuladas muestran que la resistencia al estrés se correlaciona y son dependientes de la cepa bacteriana. Así, en condiciones gástricas, en el medio MRS el recuento celular de *L. acidophilus* disminuyó de 4,6 x 10^{11} a 1 x 10^{6} UFC/mL; y en el medio EA 1 %

se redujo de 4,6 x 10^{11} a 1,46 x 10^{8} UFC/mL (Figuraura 9); mientras que, *L. plantarum* fue intolerante a estas condiciones. Por el contrario, en condiciones intestinales donde la concentración inicial y después de 3 h de incubación de *L. plantarum* en MRS fue 6,2 x 10^{8} UFC/mL y 4,70 x 10^{8} UFC/mL; y en EA 1 % fue 5,56 x 10^{8} UFC/mL; mientras que *L. acidophilus* no resistió a estas condiciones (Figuraura 11). Por la prueba de Kruskal Wallis se determinó la significancia ($p<0,05$) entre las variables tratamiento gástrico e intestinal con EA1% y EA2% (tablas 12 y 13).

Varias investigaciones muestran que algunos prebióticos son capaces de ejercer efectos positivos sobre la viabilidad de BAL, pero no está claro cómo afectan el crecimiento y la resistencia a ambientes de estrés [(9)]. Cabe resaltar, los lactobacilos utilizados actualmente presentan grandes desafíos al atravesar el estómago y el duodeno para lograr un efecto positivo sobre la microbiota intestinal [(54)]. Así, el entorno habitual de *L. plantarum* ATCC 14917 es un ácido o alcalí débil en alimentos fermentados [(32)], por el contrario *L. acidophilus* ATCC 4356 es tolerante a pH ácido, pero menos resistentes a las sales biliares y enzimas gástricas [(56)]; lo cual explica que ambas bacterias hayan decaído cuando cambió su pH óptimo, ya sea en condiciones gástricas o intestinales.

Los resultados del presente trabajo proporcionan evidencias del potencial prebiótico *in vitro* del extracto acuoso de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba)*, Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho), sobre la viabilidad de *L. plantarum* ATCC 14917 y *L. acidophilus* ATCC 4356 en condiciones gastrointestinales simuladas. Por tanto, estos hallazgos conducen a varias investigaciones como la cuantificación y elucidación de los compuestos químicos del extracto acuoso con actividad proliferativa, el efecto prebiótico de los EA en modelos animales y en humanos, la formulación de suplementos alimenticios a partir de los extractos acuosos, entre otros. Asimismo, los protocolos estandarizados permitirán el estudio del efecto prebiótico *in vitro* de otras fuentes con el fin de poner en valor a los recursos naturales autóctonos.

VII. CONCLUSIONES

- El extracto acuoso atomizado de la mezcla de *Swartzia polyphylla* (Cumaceba), *Maytenus macrocarpa* (Chuchuwasi) y *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho) presentó efecto sobre el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 y *L. acidophilus*, la concentración celular fue mayor a 10^7 UFC/mL durante las 48 h.

- EL extracto acuoso al 1 % (p/v) de la mezcla de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha* mostró efecto protector en condiciones gastricas e intestinales simuladas para *L. acidophilus* ATCC 4356 y *L. plantarum* ATCC 14917respectivamente.

VIII. RECOMENDACIONES

- Evaluar el potencial prebiótico *in vitro* del extracto acuoso de la mezcla atomizada de *Swartzia polyphylla*, *Maytenus macrocarpa* y *Jatropha macrantha* en la viabilidad de otras bacterias probióticas de los géneros *Lactobacillus y Bifidobacterium,* así como interacciones bacterianas.

- Evaluar el potencial prebiótico en fermentación por homogenizados fecales para seguir en tiempos definidos, la dinámica (diversidad y/o número) de las poblaciones microbianas, así como su actividad metabólica (perfil de SCFA).
- Realizar cultivos continuos a pH controlado en condiciones multiples – “gut model”, simulando las condiciones de las distintas partes del colon en función de los valores de pH: colon ascendente (o proximal) pH ~5,6-5,9, colon transverso pH ~6,1-6,4 y colon descendente (o distal) pH ~6,6-6,9.

- Hacer investigaciones de toxicidad del extracto acuoso de la mezcla atomizada de *Swartzia polyphylla, Maytenus macrocarpa y Jatropha macrantha.*

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Balarezo G. Planta medicinales: una farmacia natural para la salud pública. Paid XXI [Internet]. 2018;6(7):159–70. Available from: http://revistas.urp.edu.pe/index.php/Paideia/article/view/1606/1480
2. Tabuti JR, Lye K, Dhillion S. Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. J Ethnopharmacol. 2003;88:19–44.
3. Steinert RE, Sadabad MS, Harmsen HJM and Webe P. The prebiotic concept and human health: a changing landscape with riboflavin as a novel prebiotic candidate?. European Journal of Clinical Nutrition;2016: 1–6
4. Caitriona M. Guinane and Cotter P.D. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. Therapeutic Advances in Gastroenterology. 2013; 6(4): 295–308
5. Gibson G, M. R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr [Internet]. 1995;125:1407–12. Available from: https://www.ilri.org/biometrics/Publication/Abstract/Case study 17 -1.pdf
6. Altieri C, Bevilacqua A, Sinigaglia M. Prolonging the Viability of *Lactobacillus plantarum* through the Addition of Prebiotics into the Medium. J Food Sci. 2016;76(6):336–45
7. Abdullah S., Saleh A., Samreen, Faizan A., Mohammad S., Iqbal A. y Hesham A. New Look to Phytomedicine: Advancements in Herbal Products as Novel Drug Leads. 1st Edition. Elseiver. 2019. 63-88. Plant-Derived Prebiotics And Its Health Benefits.
8. Havenaar R, Brink B, Huis IN 'T Veld J. Selection of strains for probiotic use. In: Probiotics. Springer, Dordrecht; 1992. p. 209–24.
9. González B, Domínguez-Espinosa R, Alcocer B. Aloe vera como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum y L. casei.* Cienc Y Tecnol Aliment. 2008;6(2):152–7.World Gastroenterology Organisation. Probióticos y prebióticos. In 2017. Available from: http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf
10. Lamsal B. Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides. Sci Food Agric. 2012;1–9.
11. Gibson, Scott K, Rastall R, Tuohy K, Hotchkiss A, Dubert-Ferrandon A, et al. Dietary prebiotics: current status and new definition. Food Sci Technol Bull. 2010;7(1):1–19.
12. Rastall R. Functional Oligosaccharides: Application and Manufacture. Annu Rev Food Sci Technol. 2010;1:305–39.

13. Corzo N, Alonso J, Azpiroz F, Calvo M, Cirici M, Leis R, et al. Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. Nutr Hosp. 2015;31(1):99–118.
14. Konar N, Said O, Oba S, Sagdic O. Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics. Trends Food Sci Technol. 2016;49:35–44.
15. Roberfroid M, Gibson G, Delzenne N. Biochemistry of oligofructose, a non-digestible dietary fiber: an approach to calculate its caloric value. 1993;51(5):137–46.
16. Diplock A, Aggett P, Ashwell M, Bornet F, Fern E, Roberfroid M. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. Br J Nutr. 1999;81(1):1–27.
17. Morales-Koelliker D, Vélez-Ruíz J. Prebióticos: su importancia en la salud humana y propiedades funcionales en tecnología de alimentos. Tema Sel Ing Aliment [Internet]. 2013;7(1). Available from: http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Morales-Koelliker-et-al-2013.pdf
18. Benites R. Obtención de extracto en polvo a partir de la especie *Swartzia polyphylla* d.c. (cumaceba) mediante secado por atomización [Bachiller]. Universidad Nacional De La Amazonía Peruana; 2014.
19. Mejía K y Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. 2da Edición. Lima, Perú; 2000.
20. Quiroga K. Evaluación del poder analgésico y antiinflamatorio de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz &Pav.) Briq. (Chuchuhuasi) [Bachiller]. Universidad Central del Ecuador; 2015.
21. Alonso, J. Tratado de Fitofarmacos y Nutraceuticos. Rosario. 1ra Edición. Argentina: Corpuslibros; 2004.
22. Amazon Andes Export S.A.C. Ficha técnica de Extracto Atomizado de la cumaceba en polvo, chuchuwasi en polvo y huanarpo macho en polvo).
23. Ochoa H. Plantas Mágicas-Medicinales de la Selva. 1995;1:24.
24. Delgado H. Medicina casera en Ayacucho- Facultad de Ciencias Sociales- Segunda parte. UNSCH- Ayacucho. 1989;1:34–42.
25. Axelsson L. Lactic acid bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen, S. y Wright A von, editor. Lactic acid bacteria, Microbiology and functional aspects. 1 era. New York, USA.; 1998. p. 1–72.
26. Prescott L, Harley J, Klein D. Microbiología. McGraw-Hill-Interamericana, editor. Madrid España.; 2000.
27. Carr F, Chill D, Maida N. The lactic acid bacteria: A literature survey. Critical Reviews in Microbiology. Crit Rev Microbiol. 2002;28(281–370.).
28. García M, Revah S, Gómez L. Productos lácteos. En Biotecnología Alimentaria. Noriega L, editor. 1998.
29. Vázquez S, Suárez H, Zapata S. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. Rev Chil Nutr. 2009;36(1):64–71.

30. Lücke F. Indigenous lactic acid bacteria of various food commodities and factors affecting their growht and survival. En: Lactic acid bacteria: Current advances in metabolism, genetics and applications. Springer-Verlag. 1995;219–52.
31. Ramirez U, Velazquez. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. Rev Fuente. 2011;2(7).
32. Wang W, He J, Pan D, Wu Z, Guo Y, Zeng X, et al. Metabolomics analysis of *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 adhesion activity under initial acid and alkali stress. PLoS One. 2018;13(5):1–16.
33. James M, Velastegui E, Cruz M. Evaluación de las condiciones de cultivo de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* a nivel de laboratorio, con inulina como fuente de carbono. Bionatura [Internet]. 2017;2(1):235–40. Available from: http://revistabionatura.com/2017.02.01.4.htmL
34. Marteau P y S. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side- effects. Res Clin Gastroenterol. 2003;17(5):725—740.
35. Komenan, G. G., Vandamme, T. Ennahar, S. y Marchioni E. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp in an alginate matrix coated with whey proteins. Int J Food Microbiol. 2009;129:103–5.
36. Nomoto K. Prevention of Infections by Probiotics. J Biosci Bioeng. 2005;100(6):583–92.
37. Ray B. Probiotics of lactic acid bacteria: Science or myth?. En: Lactic acid bacteria: current advances in metabolism, genetic and applications. TF Bozoglu y B Ray, eds. 1996;100–35.
38. Elmer, G.W., Surawics, C.M. y McFarland LV. Biotherapeutic Agents: A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. J Am Med Assoc. 1996;275(11):870–6.
39. Piper, E.L. y Leyva K. Growth inhibition of gastrointestinal strains of *Escherichia coli by Lactobacillus* species. J Arizona-Nevada Acad Sci. 2009;41(2):49–54.
40. Reza MA, Hossain MA, Lee SJ, Kim JC, Park SC. *In vitro* prebiotic effects and quantitative analysis of *Bulnesia sarmienti* extract. J Food Drug Anal. 2016;24(4):822–30.
41. Lu QY, Summanen PH, Lee RP, Huang J, Henning SM, Heber D, et al. Prebiotic Potential and Chemical Composition of Seven Culinary Spice Extracts. J Food Sci. 2017;82(8):1807–13
42. Peterson CT, Sharma V, Uchitel S, Denniston K, Chopra D, Mills PJ, et al. Prebiotic Potential of Herbal Medicines Used in Digestive Health and Disease. J Altern Complement Med. 2018 Jul;24(7):656–65.
43. Poeker SA, Geirnaert A, Berchtold L, Greppi A, Krych L, Steinert RE, et al. Understanding the prebiotic potential of different dietary fibers using an in vitro continuous adult fermentation model (PolyFermS). Sci Rep. 2018 ;8(1):4318.
44. Marin ZT, Cortés M, Montoya OI. Evaluación de la viabilidad de crecimiento de la cepa nativa *Lactobacillus plantarum LPBM10* y la cepa comercial *Lactobacillus casei* ATCC 393 en pulpa de uchuva y en solución isotónica de glucosa. Vitae. 2009;16:210–7.

45. Vegas CA, Pichihua BO, Peña C, Zavaleta AI. Efecto simbiótico del extracto de *Smallanthus Sonchifolius* (yacón) y *Lactobacillus plantarum* frente a *Escherichia coli*. Cienc Invest [Internet]. 2013;16(2):77–82. Available from: http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/10865/9639
46. Ossa J, Vanegas M, Badillo Á. Evaluación de la melaza de caña como sustrato para el crecimiento De *Lactobacillus plantarum*. 2010.
47. Coronado DA, Salazar ME. Elaboración de harina de Smallanthus sonchifolius (POEPP.) H. ROB. "Yacón" Y Su Influencia En El Crecimiento De Dos Bacterias Probióticas. 2016;19(2):70–3. Available from: http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13631/12036
48. Nowak R, Nowacka-Jechalke N, Juda M, Malm A. The preliminary study of prebiotic potential of Polish wild mushroom polysaccharides: the stimulation effect on *Lactobacillus* strains growth. Eur J Nutr. 2018;57(4):1511–21.
49. Bello B, Mustafa S, Tan JS, Ibrahim TAT, Tam YJ, Ariff AB, et al. Evaluation of the effect of soluble polysaccharides of palm kernel cake as a potential prebiotic on the growth of probiotics. 3 Biotech [Internet]. 2018;8(8):0. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/s13205-018-1362-4
50. Succi M, Tremonte P, Pannella G, Tipaldi L, Cozzolino A, Romaniello R, et al. Pre-cultivation with selected prebiotics enhances the survival and the stress response of *Lactobacillus rhamnosu*s strains in simulated gastrointestinal transit. Front Microbiol. 2017;8(JUN):1–11.
51. Ho YY, Lin CM, Wu MC. Evaluation of the prebiotic effects of citrus pectin hydrolysate. J Food Drug Anal. 2017;25(3):550–8.
52. Barroso E., Effect of food ingredients on the human oral and intestinal microbiota: polyphenols, probiotics and prebiotics "tesis doctorado". Madrid, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación Madrid; 2015. 339 p.
53. Theilmann MC, Goh YJ, Nielsen KF, Klaenhammer TR, Barrangou R, Abou Hachem M.2017. *Lactobacillus acidophilus* Metabolizes Dietary Plant Glucosides and Externalizes Their Bioactive Phytochemicals. mBIO. 2017;8(6): e01421-17
54. Zhou F, Jiang X, Wang T, Zhang B, Zhao H. Lycium barbarum polysaccharide (LBP): A novel prebiotics candidate for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. Front Microbiol. 2018;9(1034):1–11.
55. Barroso E., Effect of food ingredients on the human oral and intestinal microbiota: polyphenols, probiotics and prebiotics "tesis doctorado". Madrid, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación Madrid; 2015. 339 p.
56. Zamudio K , Zavaleta A. Estudio del potencial probiótico de lactobacilos aislados de fuentes naturales. Ciencia e Investigación. 2003; 6(1): 30-35.

57. Derek K. Walker And Stanley E. Gilliland. Relationships Among Bile Tolerance, Bile Salt Deconjugation, and Assimilation of Cholesterol by *Lactobacillus acidophilus.* Department of Animal Science Oklahoma State University Stillwater. 1993; 76: 956-961
58. Conte C. Estudio del potencial probiótico de cepas bacterianas de distinta procedencia. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid; 2014.
59. Costabile A, Deaville ER, Morales AM, Gibson GR. Prebiotic Potential of a Maize-Based Soluble Fibre and Impact of Dose on the Human Gut Microbiota. Riedel CU, editor. PLoS One. 2016 Jan;11(1):e0144457.
60. Apaclla R, Pezp A. Evaluación de metales en corteza de *Maytenus Macrocarpa* (Chuchuhuasi) de uso etnomedicinal en la Región Loreto. Tesis de Grado. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos, Perú.; 2015.
61. Del Aguilar J, Delgado J. Evaluación de los Hidrolizados de *Chenopodium Quinoa Wildnow* (Quinua) Hordeum Vulgare (Cebada) y *Glycine Max* (Soya) como Sustrato Beneficioso para la Preparaciòn de un Producto Nutraceutico a Base de *Lactobacillus Acidophilus*. 2015.
62. Coronado D, Salazar M. Elaboración de harina de *smallanthus sonchifolius* (POEPP.) H. Rob. “Yacón” y su influencia en el crecimiento de dos bacterias probióticas. Cienc Invest. 2016;19(2):70–3.
63. Rustaie A, Keshvari R, Samadi N, Khalighi-Sigaroodi F, Shams Ardekani MR, Khanavi M. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of the Oil and Extracts of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch.: Wild and Cultivated Fruits. Pharm Sci [Internet]. 2016;22(4):296–301. Available from: http://journals.tbzmed.ac.ir/PHARM/Abstract/PHARM_7490_20160728083105
64. Jurado-Gámez H, Ramírez C, Aguirre D. Cinética de fermentación de Lactobacillus plantarum en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico.
65. Carlson J et al. Efectos sobre la salud y las fuentes de fibra dietética prebiótica. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Nutrición de la Universidad de Minnesota. 2018
66. Guo M. 2009. Prebiotics & probiotics. In: Guo M, editor, Functional foods: principles and technology. Boca Raton, Fla.: Woodhead Publishing. p 113–60
67. Pineiro M et al. Reunión Técnica sobre la prebióticos. J Clin Gastroenterol.2008;42 (Supl. 3, Parte 2).
68. Steer T et al. Perspectives on the role of the human gut microbiota and its modulation by pro- and prebiotics. Nutrition Research Reviews. 2000; 13: 229-254
69. Zhu Y, Sun H, He S, Lou Q, Yu M, Tang M, Tu L. Metabolism and prebiotics activity of anthocyanins from black rice (Oryza sativa L.) in vitro. PLoSONE. 2018; 13(4): e0195754

70. Gibson G, Probert H, Loo J, Rastall R. and Roberfroid M. Nutrition Research Reviews (2004), 17, 259–275. Nutrition Research Reviews. 2004; 17: 259–275
71. Benites R. Obtención de extracto en polvo a partir de la especie *Swartzia polyphylla* d.c. (cumaceba) mediante secado por atomización [Bachiller]. Universidad Nacional De La Amazonía Peruana; 2014.
72. Gomez A, Lopez J. Determinación estructural y aislamiento de isoflavonas en el duramen de *Swartzia polyphylla adc* "cumaceba" aplicando métodos de identificación [Bachiller]. Universidad Nacional De La Amazonía Peruana; 2011.
73. Tinco J. Efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de Jatropha macrantha Müll. Arg. "huanarpo macho" en ratas con inducción de disfunción eréctil [Doctorado]. Universidad Nacional Mayor De San Marcos; 2010.
74. Gibson G. And Roberfroid M. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. J Nutr. 1995; 125 (6): 1401-12.
75. Puupponen- Pimia et al. R. Puupponen-Pimia, L. Nohynek, S. Hartmann-Schmidlin1,M.Ka¨Hko¨Nen, M. Heinonen,K. Ma¨A¨Tta¨-Riihinen And K.-M. Oksman-Caldentey. Berry Phenolics Selectively Inhibit The Growth Of Intestinalpathogens. Journal Of Applied Microbiology 2005; 98, 991–1000
76. Betül Kocaadam & Nevin Şanlier. Curcumin, an active component of turmeric (Curcuma longa), and its effects on health. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.2017; 57,(13): 2889-2895.
77. J. Apa Jalahti, A. Kettunen And H. Graham. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. World's Poultry Science Journal.2004; 60:223-232

Anexos

Tabla 8. Análisis de varianza del máximo crecimiento con los medios de producción de *L plantarum.*

	Grados de libertad	SS	MS	F	p
Medio	2	5.142093E+18	2.571047E+18	3.816259E+10	0.00
Error	6	4.042251E+08	6.737085E+07		
Total	8	5.142093E+18			

Tabla 9. Prueba de Duncan de medios de crecimiento de *L. plantarum.*

Medio	MRS	1% EA	2% EA
MRS		0.000113	0.000235
1% EA	0.000113		0.000235
2% EA	0.000235	0.000235	

Tabla 10. Análisis de varianza del máximo crecimiento con los medios de producción de *L acidophilus.*

Tabla ANOVA

	Grados de libertad	SS	MS	F	p
Medio	2	2.397606E+19	1.198803E+19	1.695779E+10	0.00
Error	6	4.241601E+09	7.069336E+08		
Total	8	2.397606E+19			

Tabla 11. Prueba de Duncan de medios de crecimiento de *L. acidophilus.*

Medio	MRS	1% EA	2% EA
MRS		0.000235	0.000113
1% EA	0.000235		0.000235
2% EA	0.000113	0.000235	

Tabla 12. Condiciones gástricas simuladas - Comparación múltiple con los valores de significancia entre los grupos estudiados - prueba de Kruskal Wallis

Medio	MRS	1% EA	2% EA
MRS		0.021871	0.539137
1% EA	0.021871		0.539137
2% EA	0.539137	0.539137	

Tabla 13. Condiciones intestinales simuladas - Comparación múltiple con los valores de significancia entre los grupos estudiados - prueba de Kruskal Wallis

Medio	MRS	1% EA	2% EA

MRS		0.539137	0.539137
1% EA	0.539137		0.021871
2% EA	0.539137	0.021871	

Tabla 14. ***Actividad acidificante - L. plantarum***

pH MRS 5.22%				
Hs	Mínimo	Máximo	Promedio	Media
0	5.7	5.7	5.7	5.700
2	5.4	5.4	5.4	5.400
4	4.8	4.8	4.8	4.800
6	4.5	4.5	4.5	4.500
8	4.3	4.3	4.3	4.300
10	4.1	4.1	4.1	4.100
12	4.1	4.1	4.1	4.100
24	4	4	4	4.00
32	4	4	4	4.00
48	4	4	4	4.00
pH Muestra 1% EA				
Hs	Mínimo	Máximo	Promedio	Media
0	5	5	5	5.00
2	4.6	4.6	4.6	4.600
4	4.2	4.2	4.2	4.200
6	4	4	4	4.00
8	3.9	3.9	3.9	3.900
10	3.8	3.8	3.8	3.800
12	3.8	3.8	3.8	3.800
24	3.8	3.8	3.8	3.800
32	3.8	3.8	3.8	3.800
48	3.8	3.8	3.8	3.800
pH Muestra 2% EA				
Hs	Mínimo	Máximo	Promedio	Media
0	5	5	5	5.00

2	4.6	4.6	4.6	4.600
4	4.2	4.2	4.2	4.200
6	4	4	4	4.00
8	3.9	3.9	3.9	3.900
10	3.7	3.7	3.7	3.700
12	3.7	3.7	3.7	3.700
24	3.7	3.7	3.7	3.700
32	3.7	3.7	3.7	3.700
48	3.7	3.7	3.7	3.700

Tabla 15 ***Tolerancia en condiciones gástricas simulada – L. plantarum***

MRS 5.22%					
Horas	Mínimo	Máximo	Promedio	Media	Desv. típ.
0	6.18E+08	6.23E+08	6.20E+08	6.20E+08	2.65E+06
1.5	4.78E+08	4.91E+08	4.85E+08	4.85E+08	6.51E+06
3	4.61E+08	4.80E+08	4.70E+08	4.70E+08	9.54E+06
Muestra 1% EA					
Horas	Mínimo	Máximo	Promedio	Media	Desv. típ.
0	6.18E+08	6.22E+08	6.20E+08	6.20E+08	2.00E+06
1.5	5.65E+08	5.94E+08	5.82E+08	5.82E+08	1.51E+07
3	5.15E+08	5.82E+08	5.56E+08	5.56E+08	3.57E+07
Muestra 2% EA					
Horas	Mínimo	Máximo	Promedio	Media	Desv. típ.
0	6.17E+08	6.22E+08	6.20E+08	6.20E+08	2.65E+06
1.5	4.54E+08	4.85E+08	4.72E+08	4.72E+08	1.63E+07
3	4.18E+08	4.33E+08	4.25E+08	4.25E+08	7.51E+06

Tabla 16. ***Actividad acidificante - L. acidophilus***

pH MRS 5.22%				
Hs	Mínimo	Máximo	Promedio	Media
0	5.4	5.4	5.4	5.400
3	5.1	5.1	5.1	5.100
6	4.8	4.8	4.8	4.800
8	4.4	4.4	4.4	4.400
10	4.3	4.3	4.3	4.300
12	4.2	4.2	4.2	4.200
14	3.8	3.8	3.8	3.800
24	3.3	3.3	3.3	3.300
28	3.3	3.3	3.3	3.300
48	3.3	3.3	3.3	3.300
pH Muestra 1%				
Hs	Mínimo	Máximo	Promedio	Media
0	5.1	5.1	5.1	5.100
3	4.3	4.3	4.3	4.300
6	4.2	4.2	4.2	4.200
8	3.9	3.9	3.9	3.900
10	3.9	3.9	3.9	3.900
12	3.8	3.8	3.8	3.800
14	3.6	3.6	3.6	3.600
24	3.2	3.2	3.2	3.200
28	3.2	3.2	3.2	3.200
48	3.2	3.2	3.2	3.200
pH Muestra 2%				
Hs	Mínimo	Máximo	Promedio	Media
0	5	5	5	5.00

3	4.6	4.6	4.6	4.600

6	4.5	4.5	4.5	4.500
8	4.4	4.4	4.4	4.400
10	4.3	4.3	4.3	4.300
12	4.2	4.2	4.2	4.200
14	4.1	4.1	4.1	4.100
24	4	4	4	4.00
28	4	4	4	4.00
48	4	4	4	4.00

Tabla 17 ***Tolerancia en condiciones gástricas simulada – L. acidophilus***

MRS 5.22%					
Horas	Mínimo	Máximo	Promedio	Media	Desv. típ.
0	4.58E+11	4.62E+11	4.60E+11	4.60E+11	2.00E+09
1.5	1.61E+07	1.71E+07	1.65E+07	1.65E+07	5.29E+05
3	9.34E+05	1.08E+06	1.00E+06	1.00E+06	7.40E+04
Muestra 1% EA					
Horas	Mínimo	Máximo	Promedio	Media	Desv. típ.
0	4.57E+11	4.62E+11	4.60E+11	4.60E+11	2.65E+09
1.5	1.90E+08	2.30E+08	2.07E+08	2.07E+08	2.05E+07
3	1.35E+08	1.62E+08	1.46E+08	1.46E+08	1.42E+07
Muestra 2% EA					
Horas	Mínimo	Máximo	Promedio	Media	Desv. típ.
0	4.59E+11	4.61E+11	4.60E+11	4.60E+11	1.00E+09
1.5	2.45E+07	3.31E+07	2.90E+07	2.90E+07	4.31E+06
3	4.89E+06	5.13E+06	5.00E+06	5.00E+06	1.21E+05

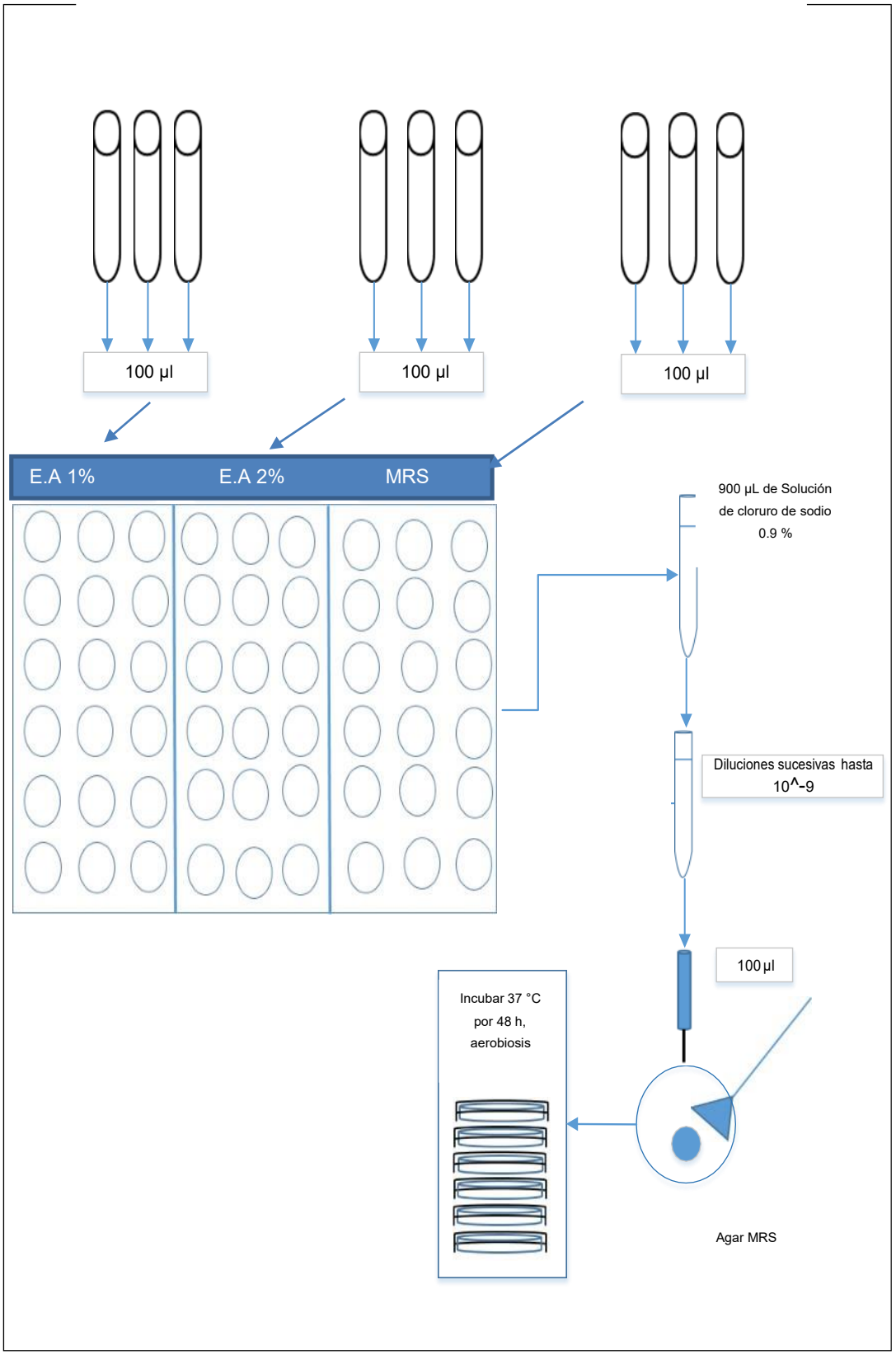


Figura. A-13. Esquema de recuento celular en placa para *L. plantarum*. [EA, extracto acuoso]

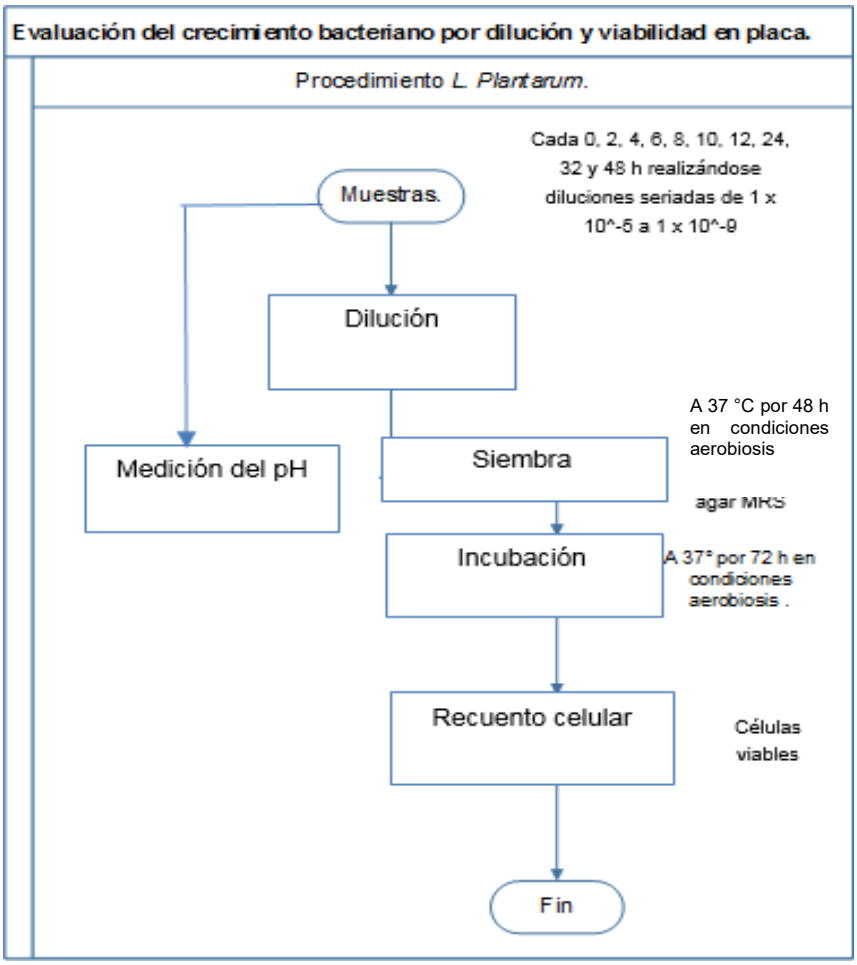


Figura. A-14. Proceso para la evaluación del crecimiento bacteriano por dilución y viabilidad en placa para *L. plantarum*.

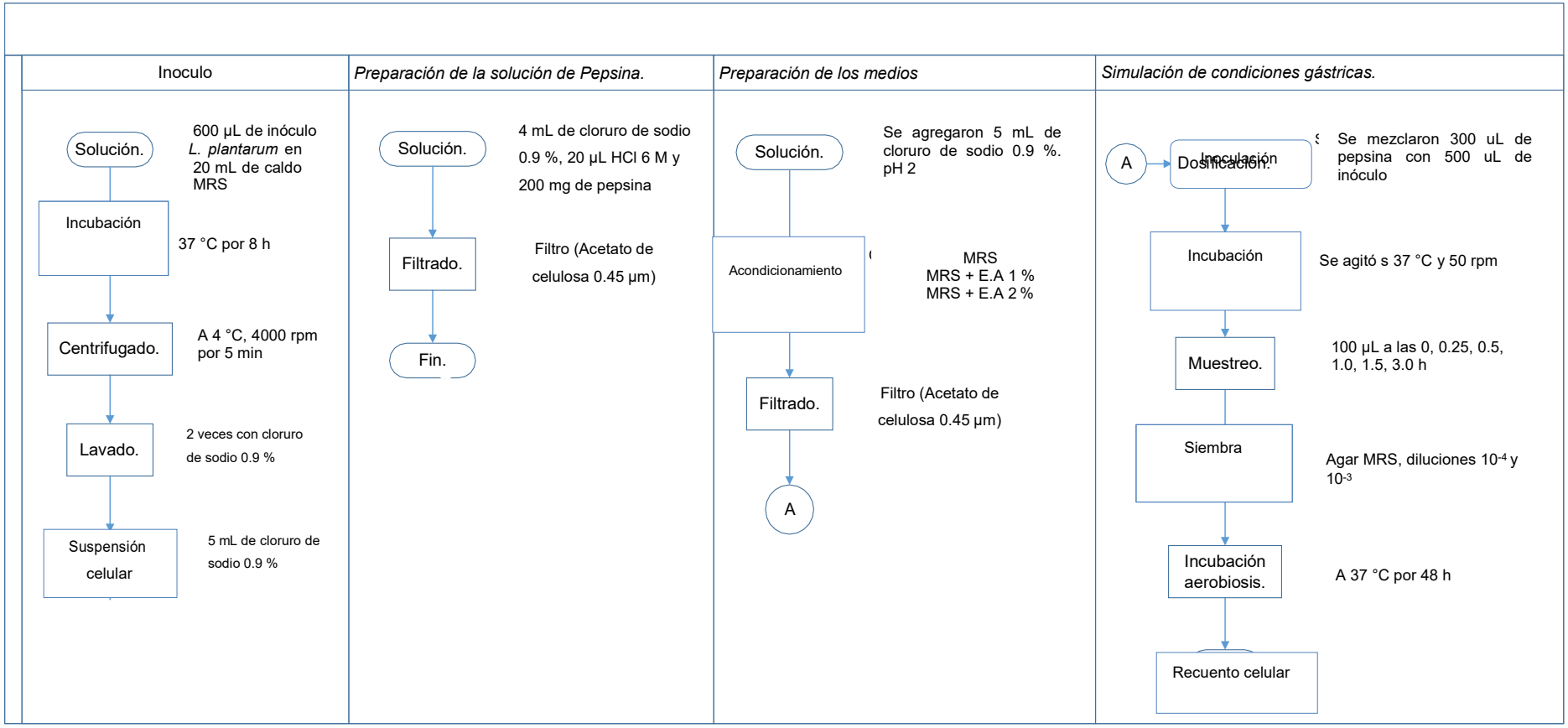


Figura. A-15a. Efecto de las condiciones gástricas sobre los extractos y el crecimiento de *L. plantarum*.

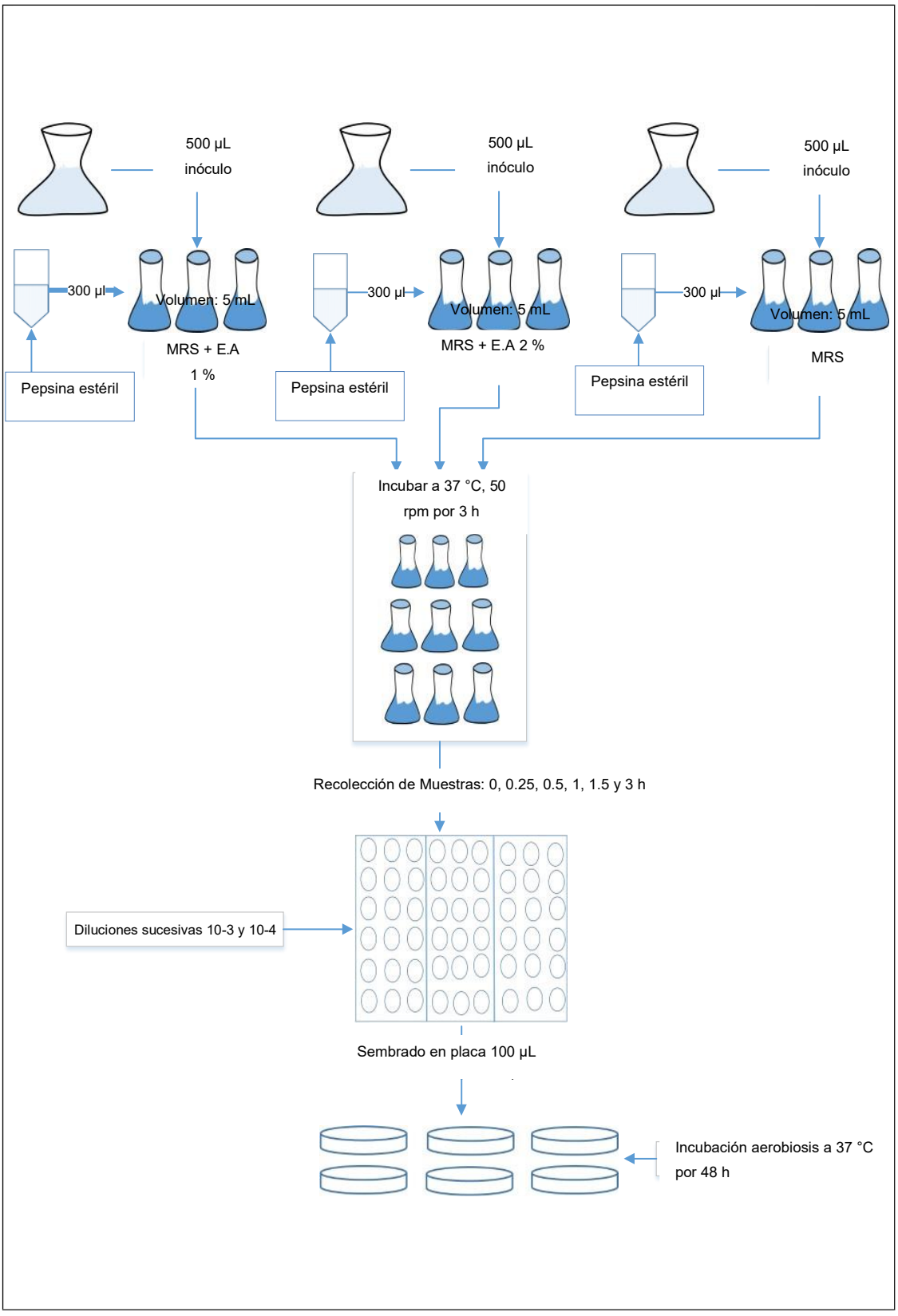


Figura. A-15b. Recuento celular después de la simulación de condiciones gástricas para *L. plantarum*.

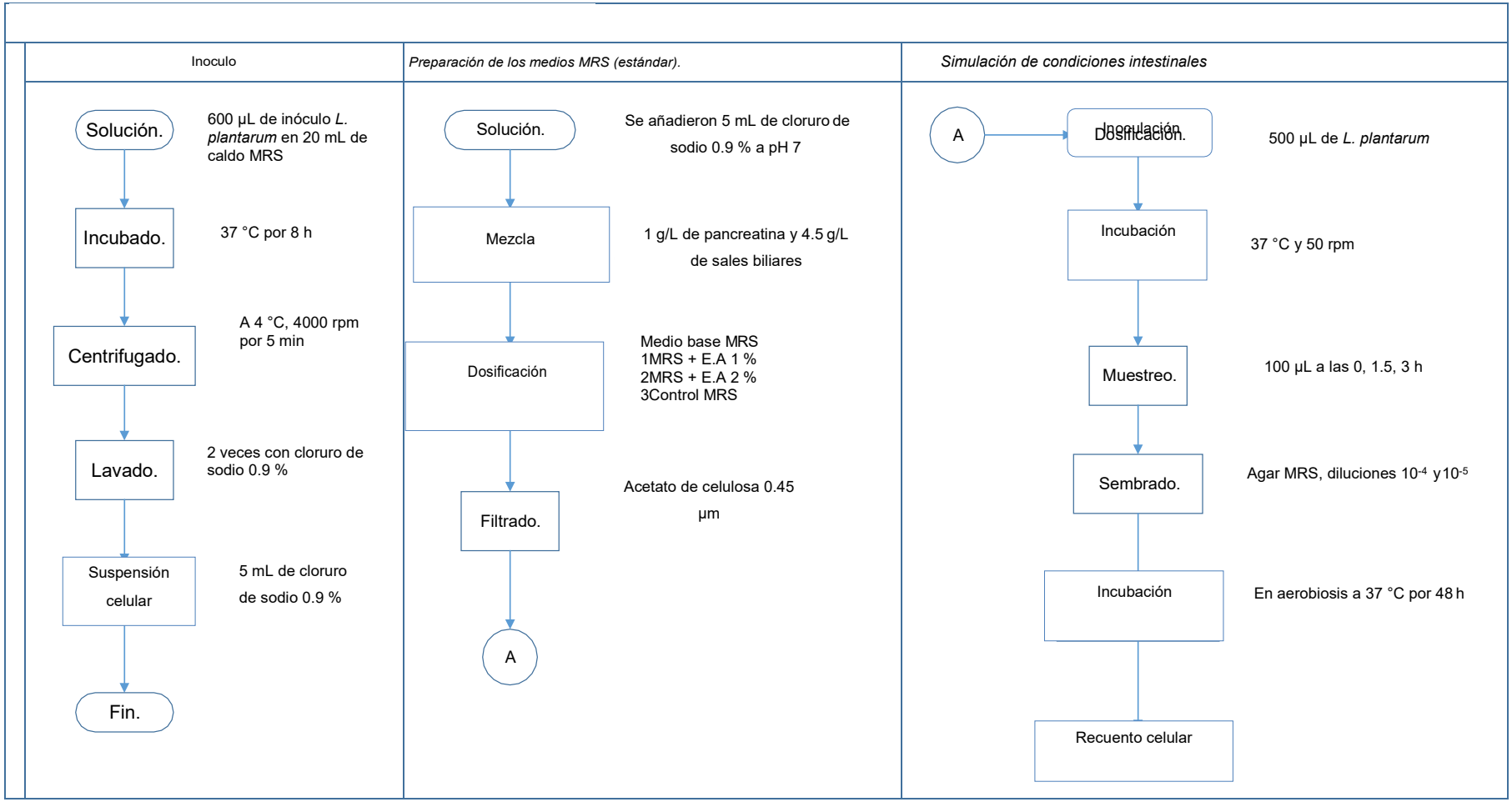


Figura. A-16a. Efecto de las condiciones intestinales sobre los extractos y crecimiento de *L. plantarum*.

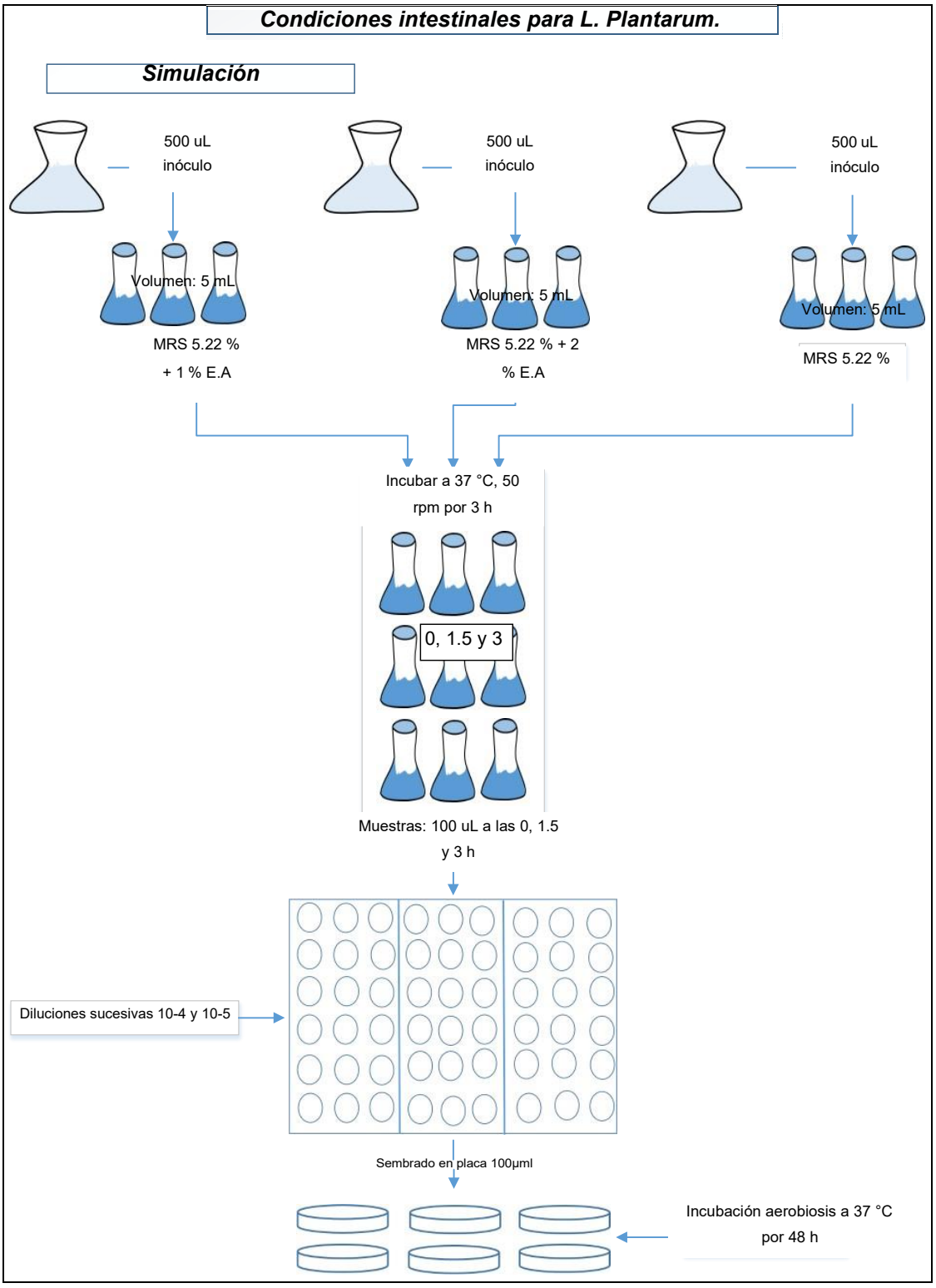


Figura. A-16b. Recuento celular en la simulación de condiciones intestinales para *L. plantarum*.

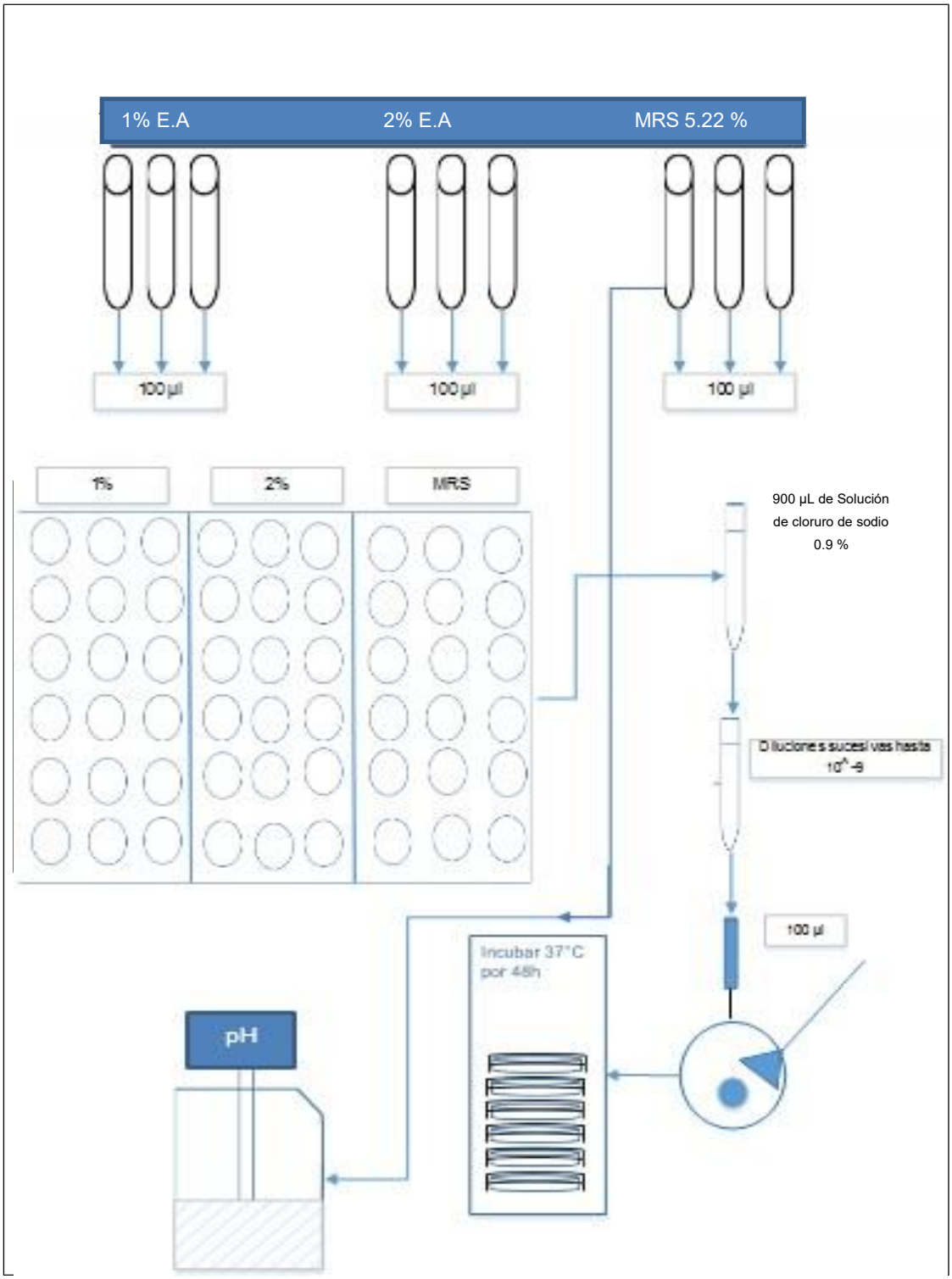


Figura. A-17. Esquema de la evaluación del crecimiento bacteriano por dilución y viabilidad en placa para *L. acidophilus*.

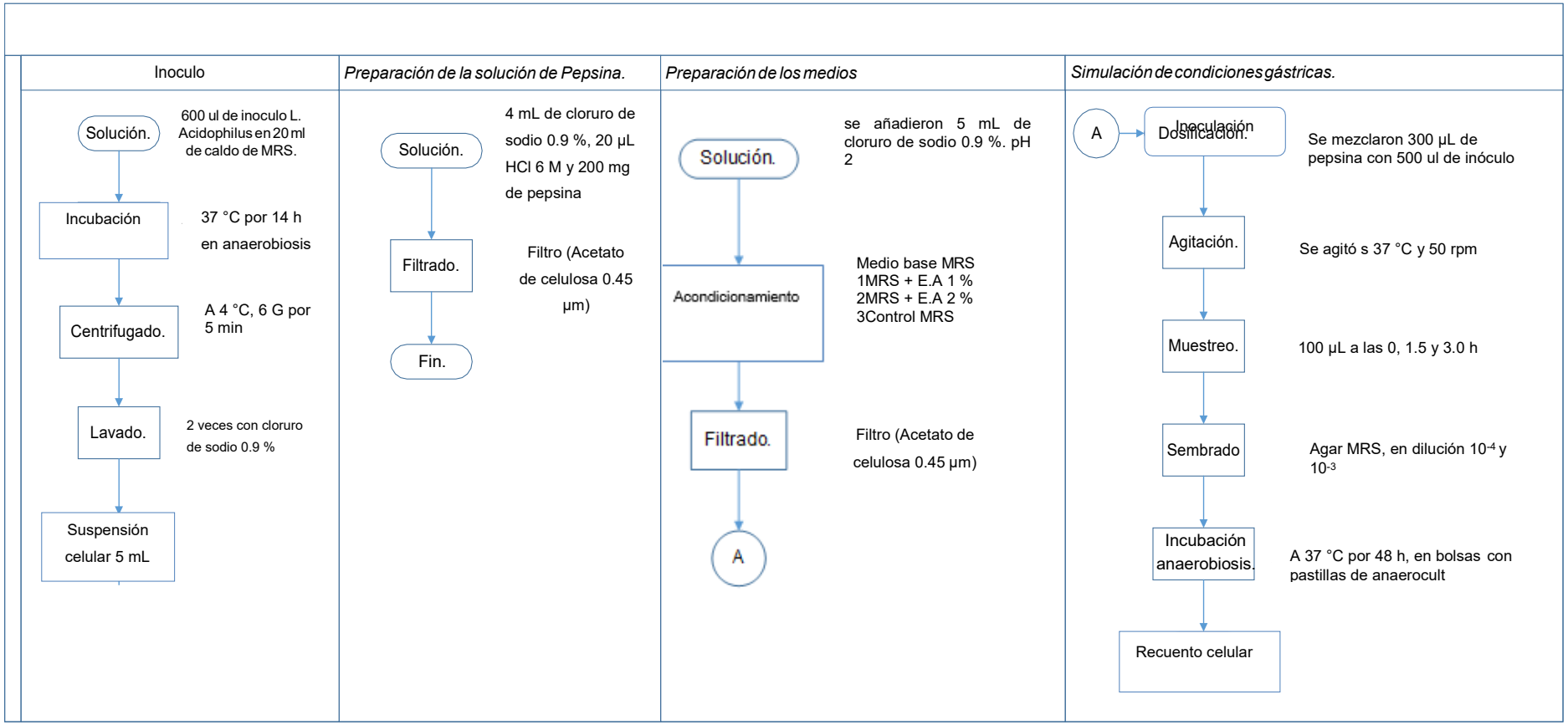


Figura. A-18a. Evaluación de las condiciones gástricas sobre los extractos y el crecimiento de *L. acidophilus*.

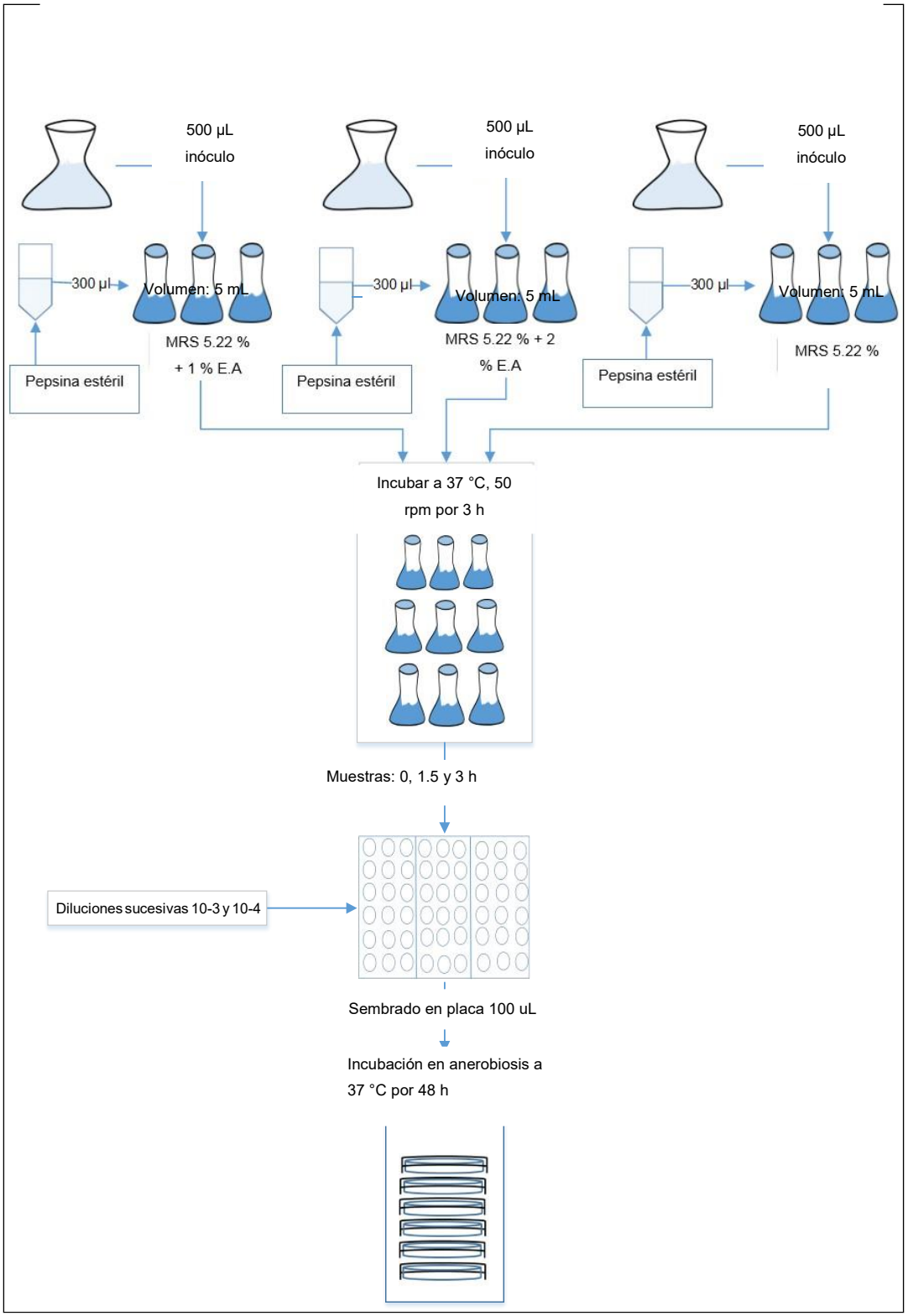


Figura. A-18b. Recuento celular en la simulación de condiciones gástricas para *L. acidophilus*.

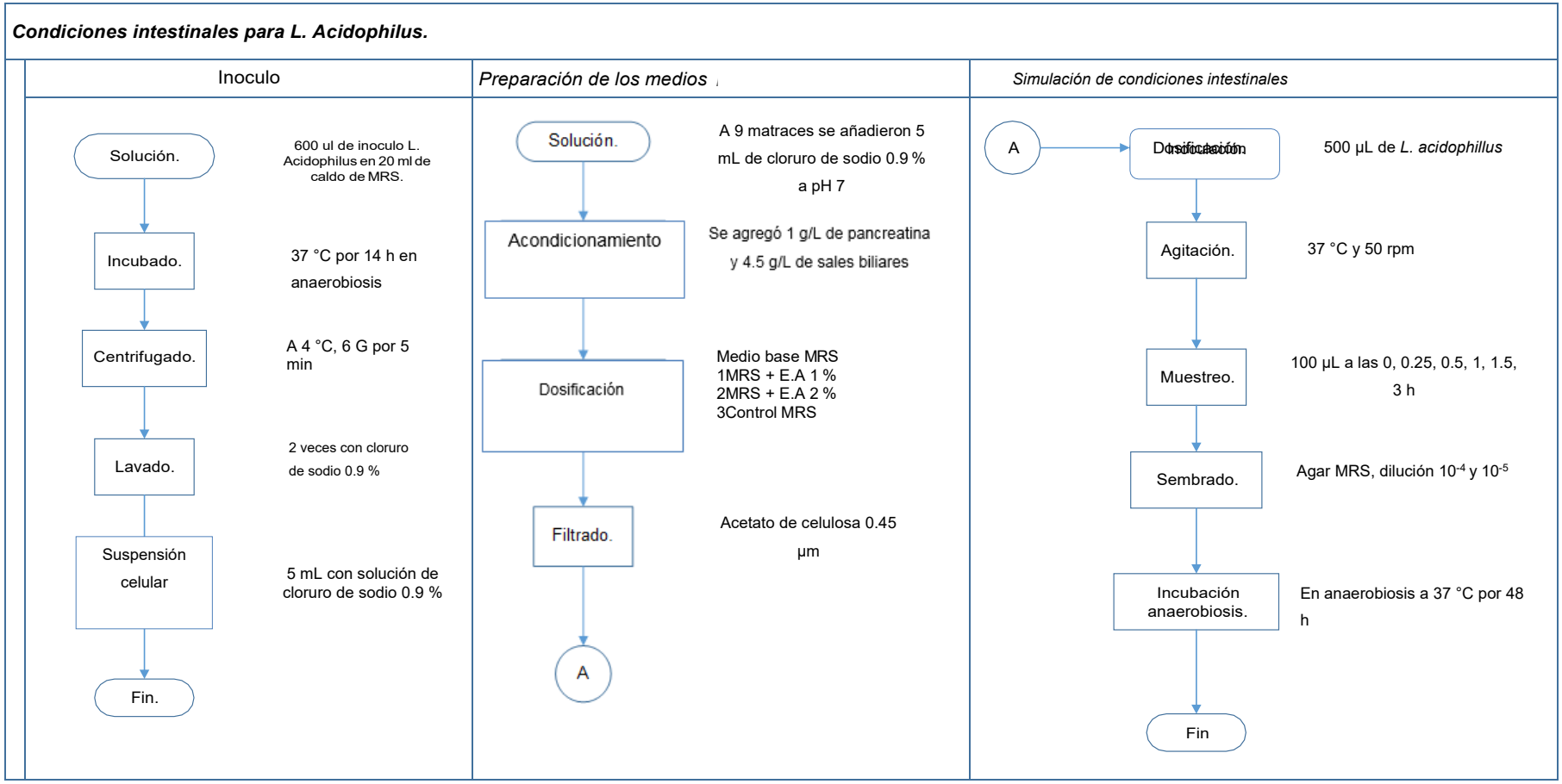


Figura. A-19a. Evaluación de las condiciones intestinales sobre los extractos y crecimiento de *L. acidophilus*.

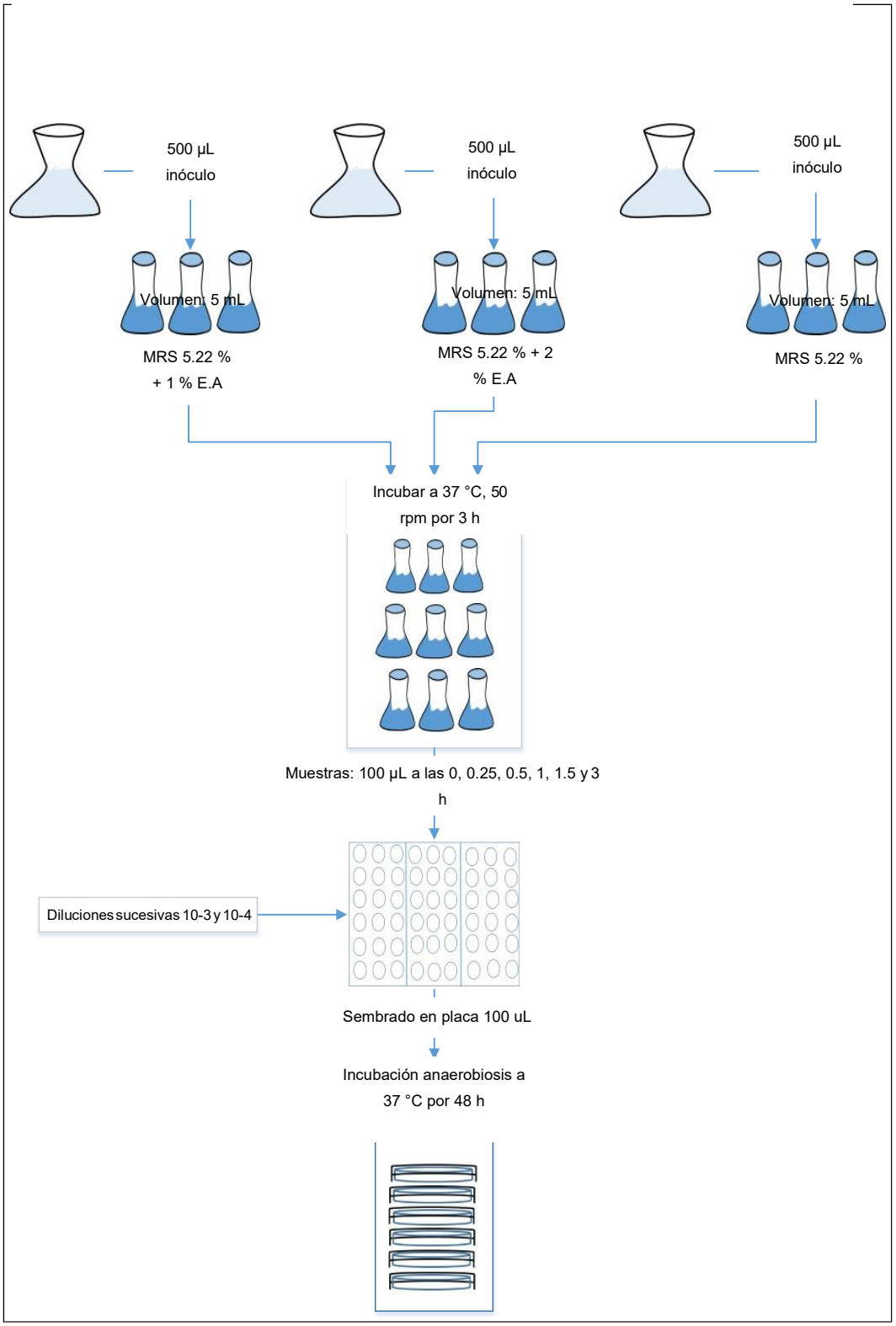


Figura. A-19b. Recuento celular en la simulación de condiciones intestinales para *L. acidophilus*.

Nombre del producto: **CHUCHUWASI EN POLVO**
(Extracto atomizado)

FICHA TECNICA

DESCRIPCION DEL PRODUCTO: Chuchuwasi en polvo (Extracto atomizado) obtenido mediante procesos estandarizados. Las raíces y corteza secos son sometidos a lavado, desinfectado, picado, maceración hidroalcoholica, concentrado y atomizado.

NOMBRE CIENTIFICO: *Maytenus macrocarpa*

PARTE UTILIZADA: Raíz y corteza

ORIGEN Y DISTRIBUCION: Esta especie crece en la selva amazónica de Colombia, Ecuador y Perú[5] Loreto, Amazonas, Huanuco, Pasco, San Martin, Ucayali, Madre de Dios. Conocido también como CHUCHUHUASHA el CHUCHUHUASI es un árbol de tronco grueso y con abundantes ramas que llega a medir 35m de altura que crece en la zona amazónica de Colombia, Ecuador y Perú.

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

ANALISIS FISICOQUIMICO:

Color:	Pardo anaranjado.
Olor:	Caracteristico del producto
Apariencia:	Polvo fino
Humedad:	Menor a 8 %
Cenizas:	Max. 5 %
pH:	< 7

ANALISIS MICROBIOLOGICO:

- Recuento Aerobios Mesófilos ≤. 10^4 Ufc/G
- Recuento Mohos y levaduras ≤. 10^2 Ufc/G
- *Salmonella sp.* Ausente/25
- Enterobactereas ≤10^2 Ufc/G
- E. coli ≤10 Ufc/G

* Se trata de un producto completamente inocuo en las condiciones normales de uso.

COMPOSICION FITOQUIMICA CUALITATIVA:

Presencia moderada de compuestos fenólicos, taninos, catequinas, antraquinonas, triterpenoides, y compuestos glicósidos. Y leve presencia de carbohidratos, flavonoides (flavonas, flavonoles, flavononoles o flavavonas), compuestos amino, alcaloides y saponinas.

ALMACENAMIENTOY ESTABILIDAD:

Mantenga en un lugar fresco y seco, lejos de las fuentes de calor.

Le aseguramos 24 meses aproximadamente de estabilidad, en condiciones adecuadas de almacenamiento (herméticamente cerrado, en ambiente fresco, seco y oscuro).

Figura. A-20. Ficha técnica de ***Maytenus macrocarpa.***

Nombre del producto: **CUMACEBA EN POLVO**
(Extracto atomizado)

FICHA TECNICA

DESCRIPCION DEL PRODUCTO: Cumaceba en polvo (Extracto atomizado) obtenido mediante procesos estandarizados. Los tallos y corteza secos son sometidos a lavado, desinfectado, picado, maceración hidroalcoholica, concentrado y atomizado.

NOMBRE CIENTIFICO: *Swartzia polyphyla*

PARTE UTILIZADA: Tallos y corteza

ORIGEN Y DISTRIBUCION: Árbol de hasta 40 m de alto. Hojas alternas, imparipinnadas; peciolos teretes 2- 6 cm de largo, raquis terete, peciólulo 4-5 cm de largo; foliolos 5-15, cartilaginosos, elípticos o lanceolados, de 4.5 - 15.5 x 1- 7 cm, ápice acuminado, base obtusa. Inflorescencias axilares en racimos simples. Flores con el cáliz fusionado, corola reducida a un solo pétalo de color blanco, estambres libres. Fruto, legumbre cilíndrica u ovoboide, de 6.5-12 x 4-5 cm de marrón claro con lenticelas blancas.

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

ANALISIS FISICOQUIMICO:

Color:	Pardo
Olor:	Caracteristico del producto
Apariencia:	Polvo fino
Humedad:	Menor a 8%
Cenizas:	Max. 3 %
pH:	<7

ANALISIS MICROBIOLOGICO:

- Recuento Aerobios Mesófilos ≤. 10^4 Ufc/G
- Recuento Mohos y levaduras ≤. 10^2 Ufc/G
- *Salmonella sp.* Ausente/25
- Enterobactereas ≤10^2 Ufc/G
- E. coli ≤10 Ufc/G

* Se trata de un producto completamente inocuo en las condiciones normales de uso.

COMPOSICION FITOQUIMICA CUALITATIVA:
Presencia abundante de compuestos fenólicos, triterpenoides. Presencia moderada de taninos, catequinas, antraquinonas y compuestos amino. Leve presencia de carbohidratos, azúcares reductores, isoflavonas, alcaloides, saponinas y compuestos glicósidos.

ALMACENAMIENTOY ESTABILIDAD:
Mantenga en un lugar fresco y seco, lejos de las fuentes de calor.
Le aseguramos 24 meses aproximadamente de estabilidad, en condiciones adecuadas de almacenamiento (herméticamente cerrado, en ambiente fresco, seco y oscuro.

Figura. A-21. Ficha técnica de ***Swartzia polyphylla.***

Nombre del producto: **HUANARPO MACHO EN POLVO**
(Extracto atomizado)

FICHA TECNICA

DESCRIPCION DEL PRODUCTO: Huanarpo macho en polvo (Extracto atomizado) obtenido mediante procesos estandarizados. Los tallos y corteza secos son sometidos a lavado, desinfectado, picado, maceración hidroalcoholica, concentrado, atomizado y envasado.

NOMBRE CIENTIFICO: *Jatropha macrantha*

PARTE UTILIZADA: Tallos y corteza

ORIGEN Y DISTRIBUCION: Planta oriunda de Perú se puede encontrar en abundancia en los departamentos de Ancash, Arequipa, Cajamarca, Huánuco, Lima, y La Libertad. El Huanarpo Macho (Jatropha macrantha): Llamado también Urco Huanarpo o Vanarpo. Es un árbol silvestre de 10 a 12 metros que crece en el valle del Río Marañón (selva peruana), en las localidades de Lampa y Sandia del departamento de Puno (sudeste). El Huanarpo puede ser macho o hembra de acuerdo con sus formas y propiedades, el macho es alargado con flores rojas, el cual tiene principios activos que estimula las hormonas masculinas.

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

ANALISIS FISICOQUIMICO:

Color:	Pardo naranja.
Olor:	Caracteristico del producto
Apariencia:	Polvo fino
Humedad:	Menor a 8%
Cenizas:	Max. 3
pH:	< 7

ANALISIS MICROBIOLOGICO:

- Recuento Aerobios Mesófilos ≤. 10^4 Ufc/g
- Recuento Mohos y levaduras ≤. 10^2 Ufc/g
- *Salmonella sp.* Ausente/25 g
- Enterobactereas ≤10^2 Ufc/g
- E. coli ≤10 Ufc/g

* Se trata de un producto completamente inocuo en las condiciones normales de uso.

COMPOSICION FITOQUIMICA CUALITATIVA:
Presencia abundante de compuestos fenólicos (taninos condensados, flavonoides), antraquinonas, presencia moderada de azúcares reductores, isoflavonas, catequinas, triterpenoides, compuestos amino, alcaloides y leve presencia de saponinas.

ALMACENAMIENTOY ESTABILIDAD:
Mantenga en un lugar fresco y seco, lejos de las fuentes de calor.
Le aseguramos 24 meses aproximadamente de estabilidad, en condiciones adecuadas de almacenamiento (herméticamente cerrado, en ambiente fresco, seco y oscuro).

Figura. A-22. Ficha técnica de ***Jatropha macrantha***