



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Efecto del extracto de algarrobo (*Prosopis pallida*
(Willd) Kunth) sobre el crecimiento de *Lactobacillus*
*plantarum***

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Angello Gonzalo RODRIGUEZ CORDOVA

ASESOR

Mg. Carmen Gladys PEÑA SUASNABAR

Dra. Amparo Iris ZAVALETA PESANTES (Coasesor)

Lima, Perú

2022



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.

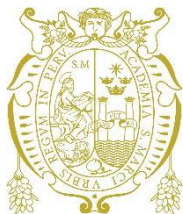
Referencia bibliográfica

Rodriguez A. Efecto del extracto de algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) sobre el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2022.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Angello Gonzalo Rodriguez Cordova
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72528522
URL de ORCID	No aplica
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Carmen Gladys Peña Suasnabar
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	20904674
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-5061-4527
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Amparo Iris Zavaleta Pesantes
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	17880045
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3844-7185
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	César Máximo Fuertes Ruitón
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	15289369
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Gloria Clotilde Gordillo Rocha

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10223170
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Elizabeth Chávez Hidalgo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41354431
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Teresa Celina Gallardo Jugo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07727234
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.1.1. Plantas medicinales con potencial farmacéutico y productos terapéuticos: (estudios fitoquímicos, estudios toxicológicos, estudios farmacológicos, procesos de industrialización).
Grupo de investigación	Biología Microbiana y Salud - BIOMIAS
Agencia de financiamiento	No aplica
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Biología Molecular País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2018 - 2021
URL de disciplinas OCDE	Bioquímica, Biología molecular https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

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

Efecto del extracto de algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) sobre el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

ANGELLO GONZALO RODRIGUEZ CORDOVA

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, ha obtenido la siguiente calificación final:

Diecinueve (Aprobado con máximos honores)

de conformidad con el Art. 14.º del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR (R.D. N.º 000605-2022-D-FFB/UNMSM)

- Dr. César Máximo Fuertes Ruitón
- Mg. Gloria Clotilde Gordillo Rocha
- Mg. Elizabeth Chávez Hidalgo
- Q.F. Teresa Celina Gallardo Jugo

Lima, 27 de octubre de 2022.

Dr. César Máximo Fuertes Ruitón
Presidente

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"



INFORME DE EVALUACIÓN DE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD

1	Facultad	FARMACIA Y BIOQUÍMICA
2	Escuela	FARMACIA Y BIOQUÍMICA
3	Autoridad que emite el informe de originalidad	Director de la Escuela Profesional
4	Apellidos y nombres de la autoridad académica	Luis Miguel V. Felix Veliz
5	Operador del programa informático de similitudes	Luis Miguel V. Felix Veliz
6	Documento evaluado	Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico: Efecto del extracto de algarrobo (<i>Prosopis pallida</i> (Willd) Kunth) sobre el crecimiento de <i>Lactobacillus plantarum</i>
7	Autor(es) del documento	Br. Angello Gonzalo RODRIGUEZ CORDOVA
8	Fecha de recepción del documento	21/09/2022
9	Fecha de aplicación del programa informático de similitudes	22/09/2022
10	Software utilizado	Turnitin
11	Configuración del programa detector de similitudes	Excluye: - Textos entrecomillados - Bibliografía - Cadenas menores de 40 palabras
12	Porcentaje de similitud según programa detector de similitudes	8 % (El % de similitud debe ser \leq 10%)
13	Fuentes originales de las similitudes encontradas	<ul style="list-style-type: none">• Fuentes de internet varias 8 %• Publicaciones 8 %• Trabajo de estudiantes entregados a otras universidades 8 %
14	Observaciones	Realizar la edición final de la tesis. Procede la sustentación.
15	Calificación de originalidad	Documento cumple con los criterios de originalidad.
16	Fecha del informe	22/09/2022

Nota: se adjunta archivo de reporte del sistema Turnitin en el que se resaltan las similitudes detectadas.



UNMSM

Firmado digitalmente por FELIX
VELIZ Luis Miguel Visitacion FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 22.09.2022 12:26:23 -05:00

Dr. Luis Miguel V. Felix Veliz

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mis padres y a mis profesores que me apoyaron en la realización de esta, en especial a mis asesoras Dra. Carmen Peña y Dra. Amparo Zavaleta.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los miembros del Círculo de Investigación en Biotecnología Microbiana y Salud, donde se realizó el proyecto, en especial a las doctoras Carmen Peña, Amparo Zavaleta, Karim Jiménez y Elizabeth Chávez. Gracias a los docentes que me apoyaron con la realización en diferentes etapas, en especial al Dr. Víctor Izaguirre. Gracias a mi familia por el apoyo y motivación.

TABLA DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN	9
II.	HIPÓTESIS.....	11
III.	OBJETIVOS	11
3.1	Objetivo general.....	11
3.2	Objetivos específicos	11
IV.	MARCO TEÓRICO.....	11
4.1	<i>Prosopis pallida</i> (Willd) Kunth	11
4.2	La microbiota intestinal	12
4.3	Absorción de los hidratos de carbono	14
4.4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	16
4.5	Los oligosacáridos como prebióticos	17
4.6	Los ácidos grasos de cadena corta	18
V.	METODOLOGÍA	19
5.1	Tipo y diseño de investigación	19
5.2	Variables	19
5.3	Unidad de análisis.....	19
5.4	Población de estudio.....	19
5.5	Métodos	19
5.5.1	Obtención del extracto acuoso del fruto del algarrobo (<i>Prosopis pallida</i> (Willd.) Kunth).....	19
5.5.1.1	Recolección del algarrobo (<i>Prosopis pallida</i> (Willd.) Kunth).....	19
5.5.1.2	Elaboración de la harina de <i>Prosopis pallida</i> (Willd.) Kunth.....	19
5.5.1.3	Preparación del extracto	20
5.5.2	Condiciones de cultivo para estimular el crecimiento de <i>Lactobacillus plantarum</i>	20

5.5.2.1	Microorganismo utilizado	20
5.5.2.2	Crioconservación de la cepa.....	20
5.5.2.3	Reactivación de <i>Lactobacillus plantarum</i>	20
5.5.2.4	Cosecha de células.....	20
5.5.3	Evaluación de los factores de crecimiento de <i>L. plantarum</i>	21
5.5.3.1	Medio de cultivo	21
5.5.3.2	Crecimiento de <i>Lactobacillus plantarum</i> en medio suplementado con diferentes fuentes de carbono y extracto de algarrobo.....	21
5.5.3.3	Evaluación del crecimiento microbiano.....	21
5.5.4	Análisis fisicoquímico	21
5.5.5	Cuantificación de carbohidratos	22
VI.	RESULTADOS	23
6.1	Condiciones de crecimiento de <i>Lactobacillus plantarum</i>	23
6.2	Evaluación del crecimiento de <i>Lactobacillus plantarum</i> frente a diferentes fuentes de carbono y extracto de algarrobo	25
VII.	DISCUSIÓN	30
VIII.	CONCLUSIONES.....	35
IX.	RECOMENDACIONES	36
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
XI.	ANEXOS	50

ABREVIATURAS

FOS: Fructooligosacáridos

GOS: Galactooligosacáridos

XOS: Xilo-oligosacáridos

COS: Quito-oligosacáridos

MOS: Maltooligosacáridos

FUS: Fucosil-oligosacáridos

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

AGCC: Ácidos grasos de cadena corta

GF₂: Kestosa

GF₃: Nistosa

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto del extracto del fruto del algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) sobre el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. Metodología: Se realizó una investigación de tipo controlada, comparativa de diseño experimental y transversal. Para ello, las vainas de algarrobo se recolectaron del distrito de Tambogrande, Piura - Perú; de las cuales se elaboró un extracto acuoso. Después, se determinaron las condiciones de crecimiento de *L. plantarum* ATCC 14917 en caldo De Man Rogosa Sharp (MRS) utilizando diferentes fuentes de carbono al 2% como glucosa, sacarosa, fructosa, inulina, maltosa y extracto acuoso de algarrobo e incubó a 37 °C por 24 h en aerobiosis; el crecimiento se evaluó por espectrofotometría a 600 nm cada hora. Resultados: *L. plantarum* ATCC 14917 mostró velocidades de crecimiento de 0,191; 0,162; 0,140 y 0,155 h⁻¹ con maltosa, glucosa, sacarosa y extracto de algarrobo respectivamente. Además, se determinó 1,9 x 10⁹ y 1,7 x 10⁹ unidades formadoras de colonia de *L. plantarum* en los agares MRS suplementados con extracto de algarrobo y glucosa a 30 °C y 20 h.

Conclusiones: *L. plantarum* ATCC 14917 presenta crecimiento similar en los medios suplementados con extracto de algarrobo y sacarosa. Además, esta bacteria muestra un mayor recuento celular viable con el extracto que con glucosa.

Palabras clave: *Prosopis pallida*, algarrobo, prebiótico, *Lactobacillus plantarum*.

ABSTRACT

Objective: To determine the effect of carob fruit extract (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) on the growth of *Lactobacillus plantarum*. Methodology: A controlled, comparative experimental and cross-sectional design investigation was carried out. Carob pods were collected from the district of Tambogrande, Piura - Peru; from which an aqueous extract was prepared. Then, the growth conditions of *L. plantarum* ATCC 14917 in De Man Rogosa Sharp (MRS) broth were determined using different carbon sources at 2% such as glucose, sucrose, fructose, inulin, maltose and aqueous extract of carob tree, incubated at 37 °C for 24 h in aerobiosis; growth was evaluated by spectrophotometry at 600 nm every hour. Results: *L. plantarum* ATCC 14917 showed growth rates of 0,191; 0,162; 0,140 and 0,155 h⁻¹ with maltose, glucose, sucrose and carob extract respectively. In addition, 1,9 x 10⁹ and 1,7 x 10⁹ colony-forming units of *L. plantarum* were determined in MRS agars supplemented with carob extract and glucose at 30 °C and 20 h.

Conclusions: *L. plantarum* ATCC 14917 shows similar growth in media supplemented with carob extract and sucrose. Furthermore, this bacterium shows a higher viable cell count with the extract than glucose.

Keywords: *Prosopis pallida*, carob tree, prebiotic, *Lactobacillus plantarum*.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el potencial de los polímeros de fructosa en la nutrición ha tenido especial atención; ya que, se ha demostrado su función como fibra soluble y prebiótica teniendo así un beneficio importante en la modificación de la microbiota intestinal¹.

El tracto gastrointestinal de los humanos está colonizado por más de 400 especies bacterianas, en mayor población encontramos las anaerobias estrictas y facultativas. Esta comunidad requiere una compleja organización con presencia de bacterias autóctonas, que se encuentran en todas las etapas de vida del individuo, y alóctonas, cuya presencia depende de ciertas condiciones y bajo otras se vuelven patógenas². Entre las funciones principales de la microbiota destacan la fermentación de los alimentos no digeridos; producción de ácidos grasos de cadena corta; síntesis de vitaminas del complejo B y vitamina K que, a su vez intervienen en los procesos de absorción de iones como el calcio, magnesio y hierro; protección como barrera ante la invasión de microorganismos patógenos; y la modulación del sistema inmune³.

Por otro lado, las semillas de algarrobo contienen una importante cantidad de galactomananos de alta pureza. Asimismo, se ha descrito que los frutos, son fuente importante de fibra dietética insoluble altamente relacionada con la prevención de enfermedades gastrointestinales^{4,5}. Los principales beneficios atribuidos al consumo de los oligosacáridos están el aumento de la movilidad intestinal y excreción fecal, así como de la masa microbiana y la producción de gases, que mejoran el tránsito y dan consistencia al bolo fecal^{6,7}.

La fermentación de los oligosacáridos, por parte de bifidobacterias, lactobacilos, entre otros mejoran la producción de ácidos grasos de cadena corta como ácidos butírico, acético y propiónico, los cuales son rápidamente absorbidos por el intestino. El butirato es la mayor fuente de energía para los colonocitos, el propionato es principalmente metabolizado por el hígado, y el acetato por los tejidos periféricos. Los

ácidos grasos de cadena corta pueden prevenir o reducir los desórdenes gastrointestinales, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares^{8,9}.

La estructura y el potencial funcional de la microbiota dependen de los factores como genética, edad, peso, origen étnico, nivel de actividad física o mental, estrés, entre otros, que pueden ser definidos por el huésped o el ambiente (como dieta, infecciones) o lesiones externas, medicamentos, condiciones socioeconómicas, entre otros. Es así, que existen estudios que promueven el entendimiento entre la dieta, la composición o el potencial metabólico del microbioma intestinal y la salud humana¹⁰.

Se ha demostrado que los oligosacáridos aumentan la población de lactobacilos y bifidobacterias, pero poseen diferentes características de fermentación dependiendo del tipo¹¹.

Los prebióticos existen en la naturaleza en cantidades insuficientes para satisfacer las demandas de los consumidores y del mercado por lo que se producen por vía enzimática a partir de otras sustancias¹². Así, los oligosacáridos son considerados ingredientes no digeribles, fermentables por las bacterias intestinales, que promueven el crecimiento selectivo o la actividad de un número limitado de bacterias¹³. Por ello, se espera que el extracto de algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) estimule el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*, debido a su alto contenido de oligosacáridos.

II. HIPÓTESIS

Los oligosacáridos del extracto de algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd.) Kunth) estimulan el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Determinar el efecto del extracto del fruto del algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) sobre el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*.

3.2 Objetivos específicos

1. Determinar las condiciones de crecimiento de *Lactobacillus plantarum* (tiempo de duplicación y velocidad de crecimiento).
2. Evaluar el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* en diferentes fuentes de carbono.
3. Evaluar el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* en un medio suplementado con extracto de algarrobo.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 *Prosopis pallida* (Willd) Kunth

Prosopis pallida (Willd) Kunth es una leguminosa arbórea que crece en los desiertos del Perú. El algarrobo presenta mejores propiedades nutricionales que otras leguminosas cultivadas en el Mediterráneo¹⁴.

El género *Prosopis spp.* está largamente diseminado en las regiones áridas y semiáridas de América, África y Asia, de las cuales se han descrito 44 especies¹⁵. En el género *P. pallida* junto a *P. juliflora*, *Ceratonia siliqua* y *Cyamospsis tetragonolobus* los galactomananos se encuentran principalmente en el endospermo de la semilla, siendo este aparentemente superior a los comerciales, lo que lo hace un compuesto de interés para las industrias textil, farmacéutica y alimentaria, se destaca principalmente el alto valor nutricional, debido a la cantidad de metabolitos primarios y secundarios.¹⁶⁻¹⁸.

El uso principal de la madera es como combustible, mientras que las semillas constituyen una buena fuente de carbohidratos, sumado al contenido de aminoácidos, fibra permiten suplementar la dieta humana y también del ganado animal¹⁹.

Los taninos, fenoles, flavonoides, alcaloides, terpenos y esteroides presentes en las hojas de las diferentes especies de *Prosopis* son compuestos que le brindan actividad antibacteriana, los tres primeros presentes en abundancia en *Prosopis pallida* le atribuyen su efecto contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* o *Coliformes*²⁰⁻²⁵. Estos mismos compuestos presentes también en la vaina y las semillas le confieren actividad antioxidante²¹, con un mayor poder atribuido a las flavonas²⁶, la actividad variaría dependiendo de la totalidad de compuestos fenólicos por región²⁶. La actividad quelante de estos compuestos, sumado a su capacidad para inhibir las lipasas y captura de radicales libres, les brinda este efecto inhibidor de la oxidación²⁷.

La vaina es el fruto de *Prosopis pallida*, posee un alto porcentaje de proteínas, carbohidratos y bajo de lípidos lo que le confiere alto valor nutricional²⁸.

Con el paso de los años la especie se ve amenazada por el creciente uso de su corteza como leña, por lo que se plantean nuevas alternativas *in vitro* para propiciar su propagación²⁹; así como, la participación de la comunidad³⁰.

4.2 La microbiota intestinal

La microbiota intestinal hace referencia al conjunto de microorganismos vivos que habitan el tubo digestivo. Esta comunidad de microorganismos compuesta entre virus y bacterias es indispensable para el correcto funcionamiento del organismo³¹. Formado por tres dominios: bacterias, arqueas y eukarya³². La microbiota es considerada un órgano metabólico con influencia sobre la adquisición de nutrientes, homeostasis de la energía y el control del peso³³.

El desarrollo de la diversidad microbiológica en el tubo digestivo de los humanos comienza en el nacimiento, en la etapa fetal este es estéril, durante el alumbramiento en el paso por la vagina materna, inicia con rapidez la colonización del tracto del infante^{33,34} y depende de múltiples factores internos como el agotamiento de oxígeno y externos como la edad gestacional, el tipo de parto, la alimentación del lactante, la hospitalización, el medio ambiente y el uso de antibióticos y la higiene^{31,35,36}.

Cuando hay una alteración de los microorganismos del tubo digestivo y este cambio produce una respuesta desfavorable al organismo, se le denomina *disbiosis*³⁴, cuya alteración predispone a enfermedades de tipo inflamatorio, autoinmune y metabólico como la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome de colon irritable y el cáncer gástrico y colorrectal^{37,38}. Se ha demostrado que la microbiota regula la obesidad mediante el aumento de la captura de energía de la dieta ingerida y el metabolismo periférico, lo que mantiene un estado de inflamación de bajo grado, que se le ha atribuido a un aumento de riesgo cardiovascular y resistencia a la insulina, entre otras enfermedades metabólicas crónicas^{31,33,34,36}. Esto se debe al estado de endotoxemia metabólica producto de la liberación de Lipolisacáridos (LPS) por la muerte de bacterias Gram negativas y se ve aumentado cuando es acompañado de una dieta alta en grasas, y se cree que hay una relación entre las personas con predisposición a la obesidad y las comunidades microbianas que promueven una extracción y almacenamiento más eficiente de energía^{32,39-41}. Una dieta prolongada alta en grasas tiene efectos sobre la permeabilidad intestinal, inflamación y el desarrollo de la obesidad misma por complicaciones metabólicas³³.

El microbioma hace referencia a la microbiota y a sus genomas colectivos, que nos proveen atributos genéticos y metabólicos que no poseemos como la recolección de nutrientes que por sí solos no podríamos metabolizar^{32,42}.

Proyecto del Microbioma Humano ha analizado un extenso catálogo de microorganismos intestinales y sus genes en individuos sanos encontrando entre un 81-99% de los géneros, familia de enzimas y comunidades de microorganismos ocupadas por el microbioma de la población occidental sana, trabajos previos han incluido catálogos de 3.3 millones de genes de la microbiota humana y secuenciación del ARN Ribosomal 16S que han aportado un panorama general de los microorganismos comensales y su funcionalidad^{42,43}. Un estudio de asociación de todo el metagenoma de la microbiota en pacientes con diabetes tipo 2 reveló que estos se caracterizan por tener un grado moderado de disbiosis microbiana intestinal, disminución de algunas poblaciones de bacterias productoras de butirato, aumento de patógenos oportunistas y alteraciones de otras funciones microbianas como la reducción del sulfato y la resistencia al estrés oxidativo⁴⁴. De manera que encontramos una diferencia entre la cantidad de genes microbianos intestinales entre individuos obesos y no obesos^{34,45}.

Cada persona posee una única variedad de la microbiota, que puede depender del hábitat y la edad^{36,46}. Y de manera que un ambiente intestinal sano está regulado por un delicado equilibrio de la microbiota intestinal, los metabolitos y el sistema inmunitario del huésped^{31,38,47}. También existe evidencia creciente que relaciona la alteración de la microbiota intestinal y enfermedades neurológicas³¹.

4.3 Absorción de los hidratos de carbono

La digestión de los carbohidratos comienza desde la ingestión debido a la acción de la amilasa salival y sigue en el intestino delgado con la acción de la amilasa pancreática. Es esta amilasa, que se produce en el páncreas, quien rompe los enlaces α 1,4 que unen las cadenas de glucosa en el almidón y se obtienen como productos glucosa, maltosa, maltotriosa y dextrina límite. Los enterocitos del intestino solo pueden absorber monómeros de glucosa, galactosa y fructosa; por lo que se necesitan de otras enzimas para continuar la digestión de los carbohidratos. El intestino delgado no es el único lugar de absorción de

los carbohidratos, los monosacáridos y disacáridos son absorbidos antes de llegar al intestino grueso; y los hidratos de carbono de alto peso sí pueden llegar al colon para ser digerido por las bacterias, produciendo ácidos grasos de cadena corta, Dióxido de carbono, hidrógeno y metano^{48,49}.

Los enlaces β (2-1) de muchos azúcares complejos, como los oligosacáridos, no permiten la digestión en el tracto gastrointestinal humano. Sin embargo, estos prebióticos pueden ser hidrolizados por bacterias productoras de β -fructosidasa que residen en el colon, como el *Lactobacillus plantarum*⁵⁰.

La homeostasis del microbioma intestinal puede alterar la correcta absorción de los hidratos de carbono, así como de otros nutrientes⁵⁸. Los hidratos de carbono no digeridos en el colon, como los fructooligosacáridos, son fermentados a ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato, butirato; y otros metabolitos y gases. Los AGCC detienen el crecimiento de ciertos microorganismos patógenos debido a que acidifican el pH y, también, influyen en la motilidad intestinal, y son absorbidos por la mucosa del colon⁵².

Considerando que la digestión de todos los alimentos precursores de la glucosa comienza en la boca por la acción de la alfa-amilasa salival, de acción limitada, y gran parte llega al duodeno donde es hidrolizada casi por completo por la alfa-amilasa pancreática; sumado a ello, su metabolismo, la cantidad de carbohidratos residuales que llegan al duodeno, parte podrá ser metabolizada por los microorganismos que conforman la microbiota. Los carbohidratos que son absorbidos y metabolizados por el Sistema digestivo y las enzimas presentes no dan origen a ácidos grasos de cadena corta o metabolitos; ya que el principal fin principal es servir de fuente de energía inmediata para el organismo⁵³. La glucosa es absorbida por los transportadores Sodium-Glucose Transporter – 1 (SGLT-1), el principal transportador de monosacáridos (glucosa, galactosa y manosa) en el intestino delgado, en donde se expresa principalmente a nivel del íleon⁵⁴. Podemos considerar que el

íleon es el lugar fundamental de absorción de monosacáridos como la glucosa, galactosa, manosa y fructosa⁵⁵. En el caso de la maltosa, este carbohidrato está compuesto de cadenas de glucosa con enlace glucosídico alfa 1,4; que es hidrolizada por la sacarasa-isomaltasa en el intestino delgado de manera que, su disponibilidad para llegar al colon se encuentra limitada^{48,49}. En el caso de los oligosacáridos del extracto crudo, evaluado, estos no se metabolizan debido a los enlaces beta que conforman su estructura, por lo que pasan directamente al intestino grueso; ya que no pueden ser metabolizados en su totalidad por los sistemas de digestión humanos; además, la fermentación por parte de los *Lactobacilos* es lenta, debido al gran peso de esta molécula; este es el caso también de la inulina, pero a diferencia, solo sus monosacáridos terminales de sufren hidrólisis efectiva⁵⁶. En grandes porcentajes, se estima que solo entre un 2 y 20% de los carbohidratos llegan al colon sin digerir; gran parte de ellos, son los que tienen acción prebiótica^{53,57}.

4.4 *Lactobacillus plantarum*

Se estima que la cantidad de microorganismos en el intestino grueso es de 10^{12} - 10^{14} , un número que supera la cantidad de células humanas³³. En su mayoría, bacterias anaeróbicas⁵⁸. La temperatura óptima de crecimiento de los lactobacilos está entre 30 y los 40 °C⁵⁹.

Se ha encontrado que el *L. plantarum* mejora el perfil lipídico sérico inducido por una dieta rica en grasas, en modelos en ratas, esto se atribuye al metabolismo de los ácidos biliares y a la alteración de la microbiota intestinal^{60,61}. Y aumenta la relación de Firmicutes/Bacteroidetes que se ve alterada, en la microbiota intestinal, en los organismos con consumo regular de dieta alta en grasas, por lo que logra su efecto hipolipemiante, además de reducir el peso y mejorar la tolerancia a la glucosa. *Lactobacillus plantarum* previene la obesidad mediante la modulación de la microbiota intestinal y metabolitos⁶².

L. plantarum es utilizado en la producción de diversos alimentos de origen fermentativo como cultivo iniciador, ya que aporta sabor, textura y propiedades organolépticas a los productos. Es conocido la expresión de sustancias bioactivas como exopolisacáridos, ácido γ -aminobutírico, ácido fólico y riboflavina, que ofrecen propiedades funcionales que fermenta⁶³.

La capacidad del *L. plantarum*, de metabolizar prebióticos ha sido largamente documentada, y actualmente ha tomado mayor relevancia su capacidad para metabolizar Fructooligosacáridos de largas cadenas⁵⁰.

Se abre el camino para su uso como paraprobiótico, células microbianas inactivadas o fracciones celulares que podrían conferir efectos beneficiosos al huésped⁶⁴.

4.5 Los oligosacáridos como prebióticos

Los prebióticos originan la estimulación selectiva del crecimiento y actividades de uno o más géneros o especies microbianas que a su vez conceden beneficios para la salud del huésped⁶⁵. Las investigaciones se han centrado en el efecto sobre Bifidobacterias y Lactobacillos⁶⁶. Es importante mencionar que no todos los oligosacáridos son considerados prebióticos, los prebióticos aplicados en la nutrición son inulina, fructooligosacáridos y galactooligosacáridos⁶⁷. Los fructooligosacáridos son β -D-fructanos no metabolizados por las enzimas del organismo; y estos se componen de monómeros de D-fructosa unidos por enlaces β (2-1) con un monómero inicial de glucosa¹⁰.

Los Fructooligosacáridos son considerados prebióticos; ya que promueven selectivamente el crecimiento de probióticos como *Lactobacillus* y Bifidobacterias⁶⁸. Los Fructooligosacáridos se distinguen de los demás oligosacátidos, debido a que son oligómeros que están compuestos de fructosa, en la que las unidades de fructosilo (F) están enlazadas en la posición beta-2,1 de la sacarosa, como 1-kestosa (GF₂), nistosa (GF₃) y fructofuranosil nistosa (GF₄)⁶⁹.

4.6 Los ácidos grasos de cadena corta

Los AGCC contribuyen al aporte de energía. El acetato es metabolizado en el cerebro, corazón, músculos y riñones; el propionato es un sustrato neoglucogénico y se metaboliza en el hígado, algunos estudios determinan que podría inhibir la síntesis de colesterol y regularía la lipogénesis en el tejido adiposo. El butirato actúa como sustrato preferencial en el epitelio del colón para su metabolización, regula el crecimiento y la diferenciación celular por varios mecanismos; asimismo, reduciría el cáncer de colon al estimular la apoptosis y reduce la inflamación en la enfermedad inflamatoria intestinal⁵². Además, los AGCC producidos *in situ* en la microbiota intestinal protegen el moco colónico, regulan la homeostasis inmunológica intestinal, controlan el peso corporal, reducen la inflamación crónica y ayudan a sobrellevar la diabetes mellitus ⁶².

Dependiendo del tipo de cepa y la fuente de carbono se pueden formar diferentes tipos de ácidos grasos de cadena corta⁷⁰. El uso de fuentes de carbono alternas a la glucosa, produce un incremento en la producción de ácido láctico, acético, propiónico y butírico⁷¹.

V. METODOLOGÍA

5.1 Tipo y diseño de investigación

Experimental

1. Es experimental y controlado, porque el investigador manipula el factor de estudio y puede medir el impacto o las consecuencias de haber aplicado la intervención sobre las cepas bacterianas a partir de las variables de resultado.
2. Es comparativo porque se comparó el crecimiento con diferentes fuentes de carbono.

5.2 Variables

- Variable independiente: Concentración de carbohidratos.
- Variable dependiente: Crecimiento de *Lactobacillus plantarum*

5.3 Unidad de análisis

Unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus plantarum*.

5.4 Población de estudio

Lactobacillus plantarum ATCC 14917; inóculo de $7,14 \times 10^{-7}$ UFC/mL

5.5 Métodos

5.5.1 Obtención del extracto acuoso del fruto del algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd.) Kunth).

5.5.1.1 Recolección del algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd.) Kunth)

El fruto de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth se llevó a cabo en la provincia de Piura, distrito de Tambogrande, en el caserío de Locuto a 28 metros de altitud.

5.5.1.2 Elaboración de la harina de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth

Para la producción de la harina tostada se utilizó la metodología de Grados et al.⁵⁸ adecuada a las condiciones de nuestro laboratorio, que consistió en las siguientes etapas: selección de vainas, almacenamiento de la algarroba, lavado, secado, molienda y tamizado.

5.5.1.3 Preparación del extracto

Se mezcló la harina de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth con agua estéril al 20% (peso/volumen) y a continuación se llevó a ebullición por dos horas en recipientes de acero inoxidable utilizando un equipo Hot Plate; posteriormente se centrifugó a 6000 rpm x 15 minutos para separar los sólidos finos del sobrenadante resultando un extracto de algarrobo de 15 °Brix, luego se concentró a 38 °Brix.

5.5.2 Condiciones de cultivo para estimular el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*

5.5.2.1 Microorganismo utilizado

Para el presente estudio se utilizó *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917.

5.5.2.2 Crioconservación de la cepa

La cepa se conservó en glicerol a -20 °C.

5.5.2.3 Reactivación de *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum se reactivó de acuerdo con la metodología adaptada de Jurado et al., 2015^{66,72} que consistió en cultivar en el caldo de cultivo De Mann, Rogosa y Sharpe (MRS; Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). La bacteria fue preinoculada en tubos estériles que contienen MRS 2 ml y se incubó a 37 °C por 12 h en condiciones de aerobiosis.

5.5.2.4 Cosecha de células

Luego de la reactivación se realizó una dilución, se trasvasó el medio de la reactivación a tubos estériles y se centrifugó a 8000 rpm por 5 min a 25 °C en la centrifuga 5810R (EPPENDORF) y se midió la DO a 600nm, se realizaron lavados con solución salina. Se inició con un inóculo de $7,14 \times 10^{-7}$ UFC/mL, adaptando lo trabajado por Vegas et al., 2014⁷³.

5.5.3 Evaluación de los factores de crecimiento de *L. plantarum*

5.5.3.1 Medio de cultivo

Se empleó el medio de cultivo MRS por componentes, el cual es apropiado para el enriquecimiento de lactobacilos, con el objetivo de evaluar el crecimiento a través del tiempo y fuentes de carbono al 2%.

5.5.3.2 Crecimiento de *Lactobacillus plantarum* en medio

suplementado con diferentes fuentes de carbono y extracto de algarrobo.

Se realizó la curva de crecimiento según la metodología adaptada de Vegas et al., 2014⁷³. Se cultivó a la cepa en caldos MRS por componentes con diferentes fuentes de carbono (glucosa, sacarosa, fructosa, inulina, maltosa) al 2% y en caldo MRS suplementado con extracto de algarrobo al 2%, a pH 6,0 se incubó a 37 °C por 24 h en aerobiosis, el crecimiento se evaluó por densidad óptica cada 4 h durante 24 h a una longitud de onda de 600 nm en el espectrofotómetro (Genesys 10 UV, THERMO).

5.5.3.3 Evaluación del crecimiento microbiano

Se realizó el recuento en placa de los caldos MRS suplementados con glucosa y extracto de algarrobo, a las 0 h, 4 h, 12 h y 20 h. Se diluyeron las muestras y se sembraron en agar MRS, según la metodología adaptada de Vegas et al., 2014⁷³. Se incubaron los agares a 30 °C y se realizó el conteo luego de 18 h.

5.5.4 Análisis fisicoquímico

Se realizaron análisis fisicoquímicos utilizando la metodología adaptada de Ough et al., 1987⁷⁴ al inicio y final del periodo de incubación: acidez total titulable, pH usando el potenciómetro 213 (Hanna Instruments SL, España) y sólidos solubles totales usando el refractómetro manual RHB-32 ATC (Lumen Optical Instrument Co., Ltd., China).

5.5.5 Cuantificación de carbohidratos

Se determinó el contenido de carbohidratos en el extracto acuoso de los frutos de algarrobo a 38 °Brix, para este análisis se siguió la metodología adaptada de Laura et al.⁷⁵ Los valores se muestran en porcentaje.

VI. RESULTADOS

6.1 Condiciones de crecimiento de *Lactobacillus plantarum*

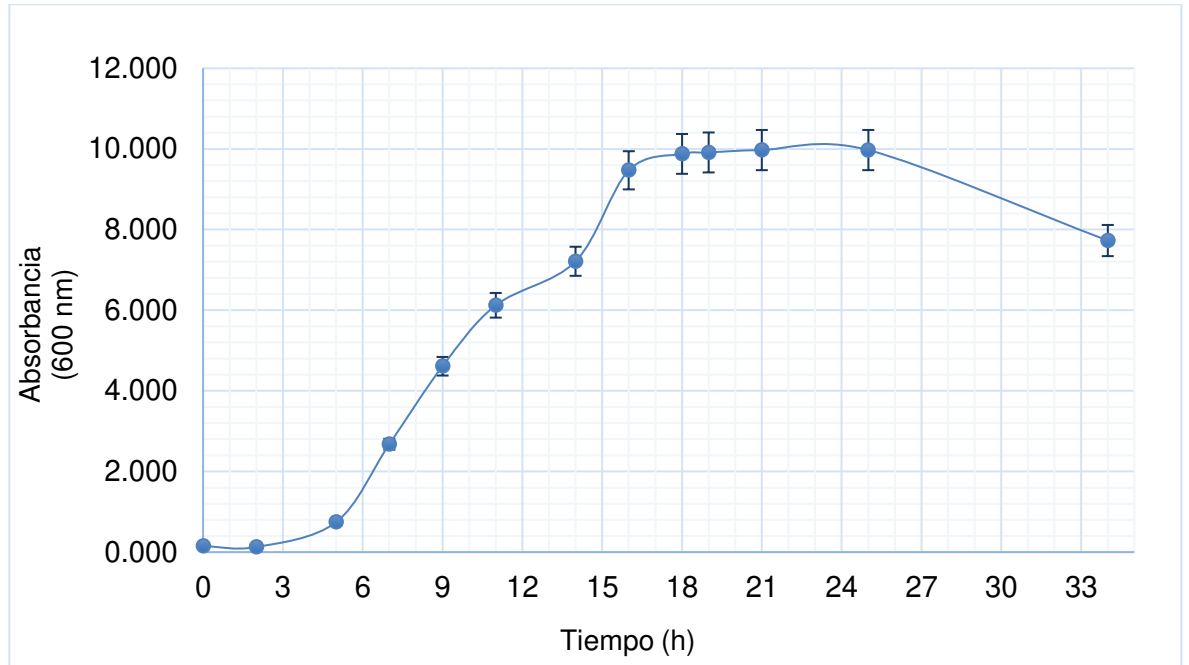


Figura 1. Curva de crecimiento de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 en caldo MRS

Lactobacillus plantarum ATCC 14917 presentó la máxima concentración celular en caldo MRS a 37 °C con una absorbancia de 9,47 a las 16 h (Figura 1). Después, el crecimiento permaneció constante hasta las 24 h, cuando inició la fase de descenso o muerte celular.

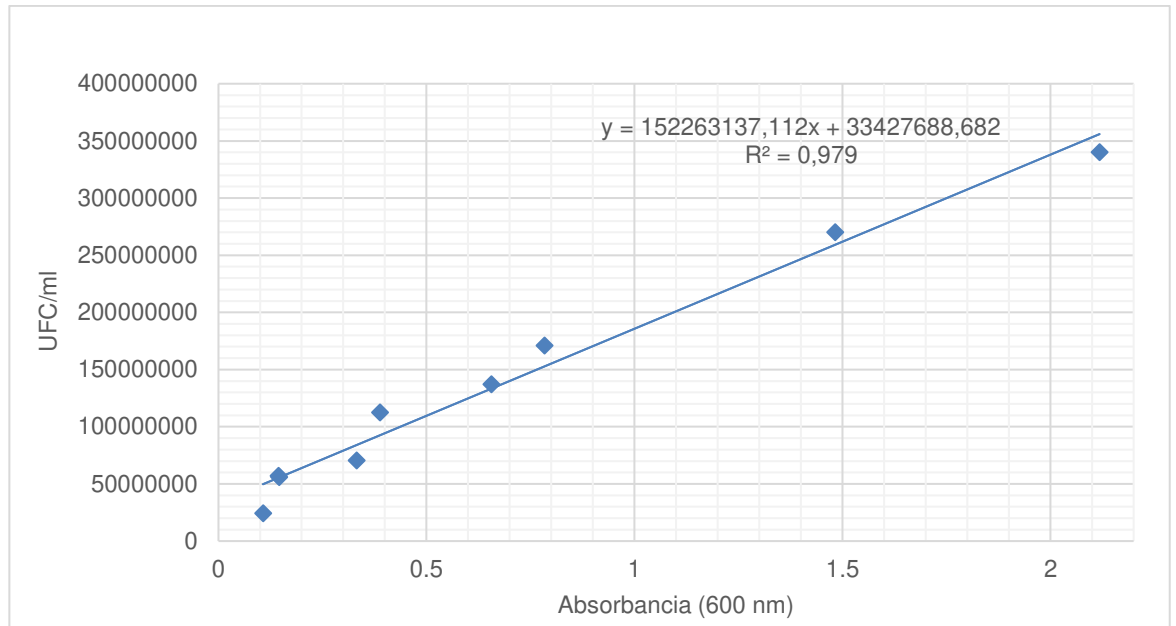


Figura 2. Correlación de las unidades formadoras de colonia por mililitro versus la absorbancia de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 en caldo MRS

Por otro lado, se realizó una recta de calibración que correlaciona las unidades formadoras de colonia (UFC) por mililitro con la absorbancia a 600 nm, medida hasta las 12 h de crecimiento en caldo MRS a 37 °C (Figura 2). El recuento de las unidades formadoras de colonia se realizó en agar MRS a 30 °C, la recta presentó un índice de correlación (R^2) de 0.979.

La ecuación de la recta fue:

$$y = 152263137,112x + 33427688.682 \text{ con un } R^2 \text{ de } 0,979$$

Usando la ecuación de la recta, a las 16 horas se puede estimar $147,53 \times 10^7$ UFC/mL

6.2 Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus plantarum* frente a diferentes fuentes de carbono y extracto de algarrobo

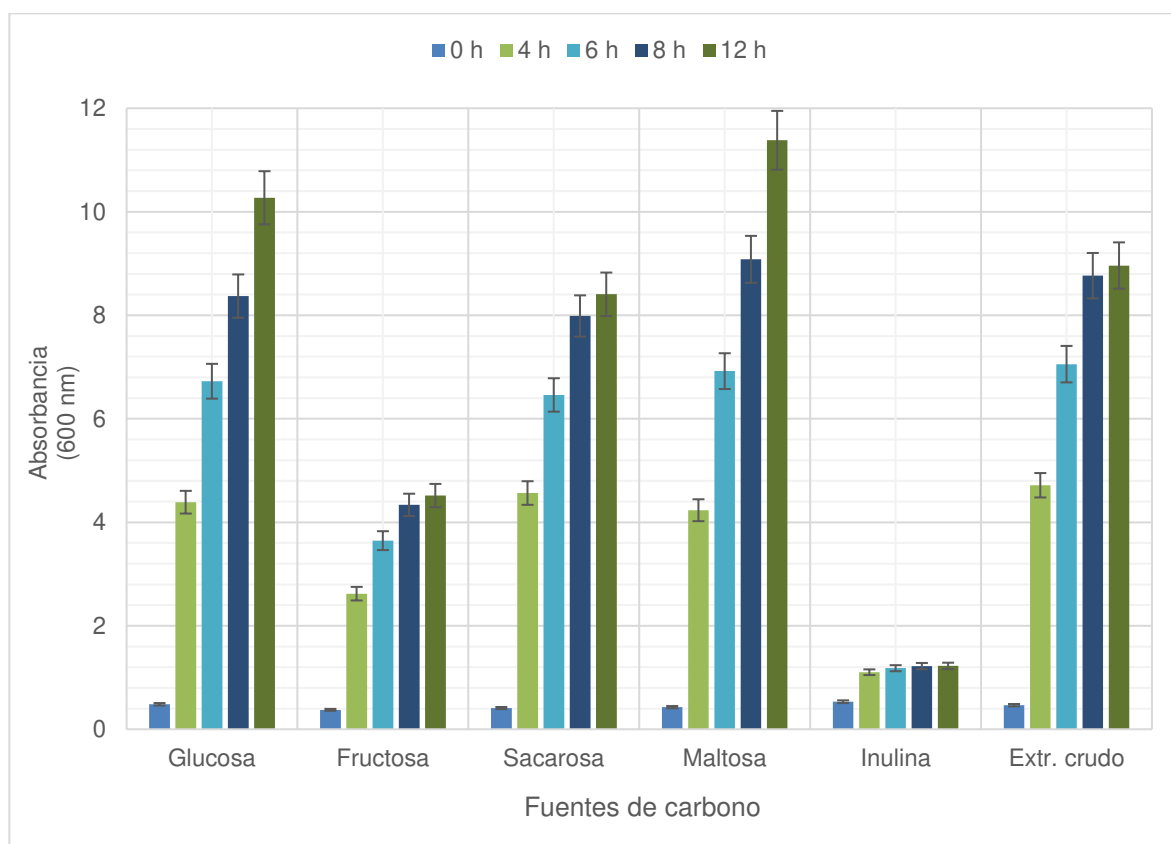


Figura 3. Crecimiento de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 en diferentes fuentes de carbono hasta las 12 h

Asimismo, el crecimiento de *L. plantarum* ATCC 14917 fue evaluado en medio MRS por elaborado por componentes durante 12 h; la concentración de las fuentes de carbono en cada medio fue del 2%. De esta forma, se observó incremento de la absorbancia con maltosa, glucosa, extracto crudo del fruto del algarrobo y sacarosa; además, se observó una tendencia creciente en las cuatro fuentes de carbono. Sin embargo, con inulina el crecimiento fue bajo (Figura 3).

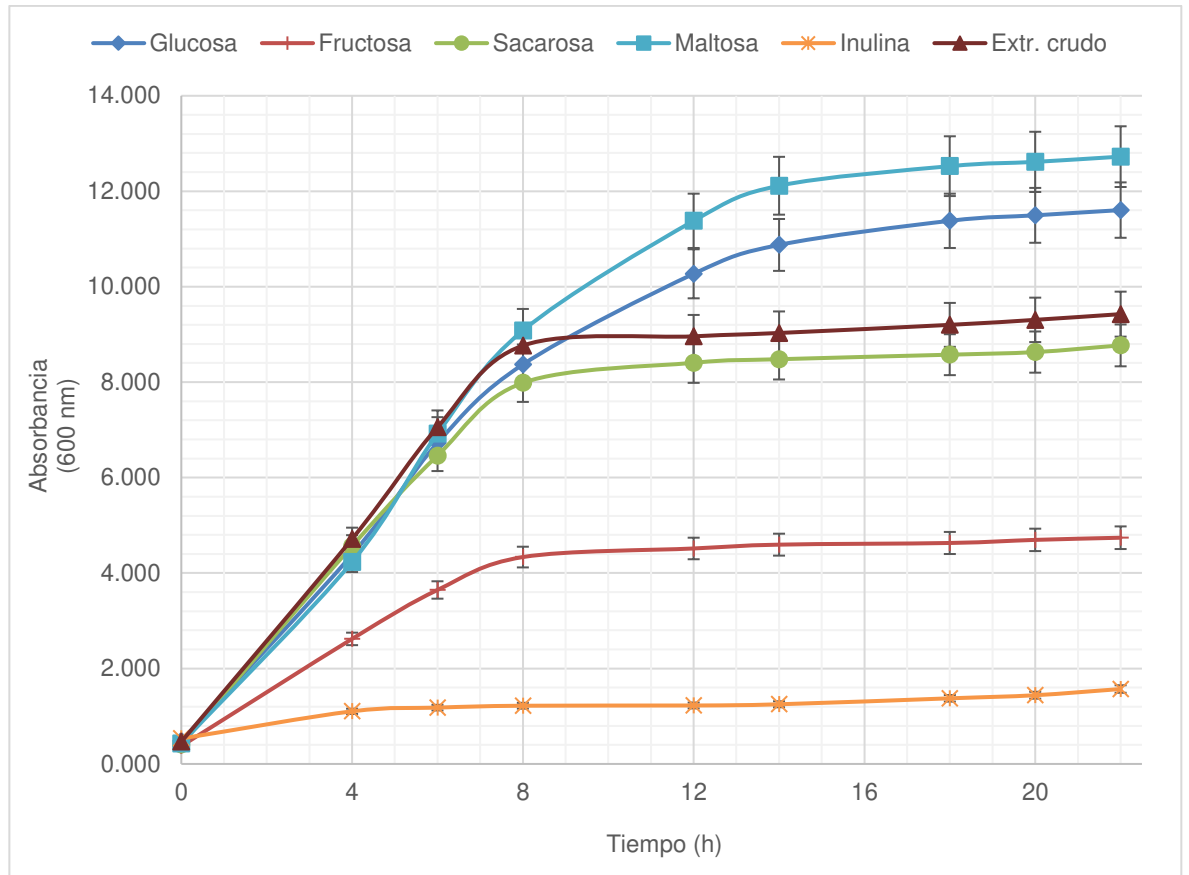


Figura 4. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 en diferentes fuentes de carbono

La cinética de crecimiento de *L. plantarum* ATCC 14917 en medio MRS elaborado por componentes se realizó con la finalidad de comparar el efecto de las fuentes de carbono en el crecimiento tales como: glucosa, fructosa, sacarosa, extracto crudo del fruto del algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth), inulina o la maltosa a una concentración del 2% (Figura 4). Cabe resaltar que, en la curva de calibración se usó caldo MRS comercial; sin embargo, para la curva de crecimiento se preparó el medio por componentes. Así, se determinó una tendencia de mayor crecimiento con maltosa, seguido de glucosa y sacarosa, de forma similar se observó crecimiento con el extracto del fruto de algarrobo. La fase de crecimiento exponencial en la mayoría de los azúcares se determinó a las 8 h.

Tabla 1. Tiempo de generación y velocidad de máxima de crecimiento de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 en diferentes fuentes de carbono

Fuente de carbono	t_g (h)	μ_{max} (h⁻¹)
Glucosa	4,291	0,162
Fructosa	5,504	0,126
Sacarosa	4,957	0,140
Maltosa	3,632	0,191
Inulina	27,391	0,025
Extr. crudo	4,471	0,155

t_g , tiempo de generación; μ_{max} , velocidad máxima de crecimiento

A partir de los datos de la Figura 4, se realizó el cálculo del tiempo de generación (t_g) y la velocidad de máxima de crecimiento (μ_{max}). Se consideró la fase de crecimiento exponencial, debido a que el incremento del número de microorganismos es máximo (Tabla 1). El tiempo de generación se calculó sobre la base de la pendiente de la recta de crecimiento logarítmica natural. Los valores t_g muestran las horas que tarda *L. plantarum* en duplicarse. Los valores μ_{max} muestran la velocidad máxima de crecimiento para *L. plantarum* en los medios presentados con la suplementación de las diferentes fuentes de carbono.

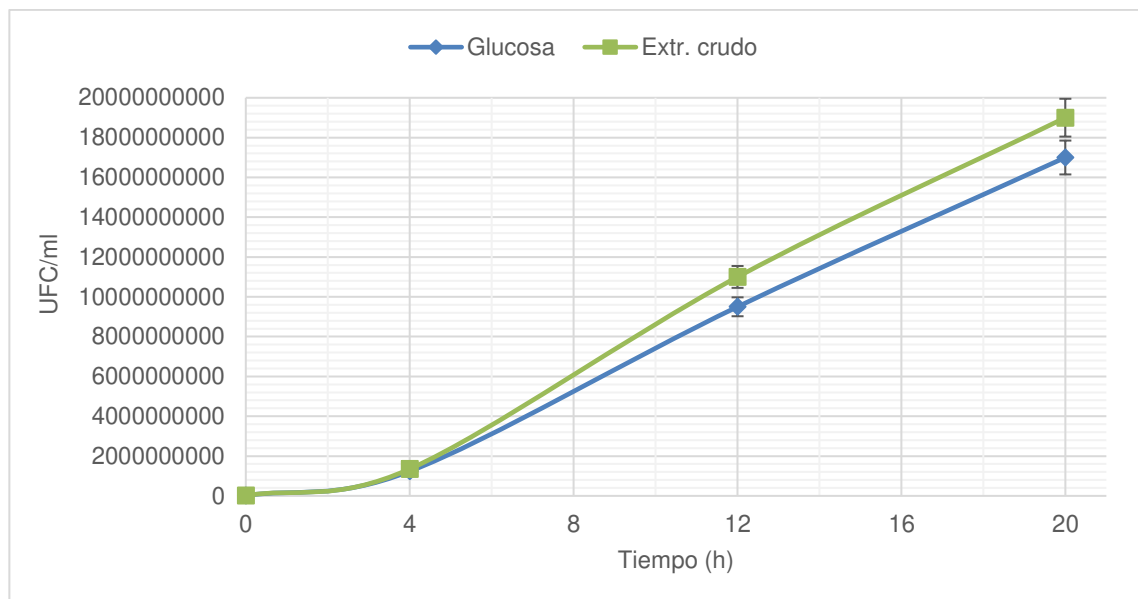


Figura 5. Recuento en placa de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 en agar MRS enriquecidos con glucosa o extracto crudo de algarrobo

En la figura 5 se comparó la cinética de crecimiento de *L. plantarum* ATCC 14917, en medio MRS por componentes con relación a las fuentes de glucosa o extracto del fruto del algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) (extracto crudo). El mayor recuento de población viable se observó con el extracto de algarrobo a las 12 y 20 h; los ensayos se realizaron por triplicado.

Análisis fisicoquímico del caldo cultivo de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917

Antes de elaborar el medio de cultivo de *L. plantarum*, mediante HPLC se determinaron las concentraciones de fructosa, glucosa, sacarosa y oligosacáridos en el extracto acuoso del fruto del algarrobo a 38 °Brix; los valores fueron 8,0; 7,4; 18,1 y 4,5 % respectivamente.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico del caldo cultivo de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917

Análisis	Glucosa		Extracto de algarrobo	
	I	F	I	F
pH	6,58	3,62	6,26	3,69
°Brix	5,50	4,40	5,00	4,60
Acidez titulable (%) *	0,36	1,69	0,36	1,66

*equivalente a ácido láctico (p/v); I, inicio 0 h; F, final 14 h.

En la Tabla 2, se presenta el análisis fisicoquímico del caldo de cultivo de *L. plantarum* ATCC 14917, en medio MRS por componentes con las fuentes glucosa y extracto del fruto del algarrobo (extracto crudo) al inicio (0 h) y a las 14 h (final) donde se observó la fase estacionaria. La acidez total en el caldo con glucosa 2% fue de 0,36% (p/v) a 1,69% (p/v), mientras que el pH cambió de 6,58 a 3,62. Además, la concentración de sólidos solubles fue de 5,5 a 4,4 °Brix. Por otro lado, en el medio con extracto de algarrobo al 2%, la acidez total se incrementó de 0,36% (p/v) a 1,66% (p/v), el pH disminuyó de 6,26 a 3,69 y la concentración de sólidos solubles de 5,5 a 4,6 °Brix. Para el cálculo del porcentaje de acidez titulable se consideró el peso de la molécula de ácido láctico.

VII. DISCUSIÓN

En esta investigación se evaluó el efecto del extracto de los frutos de algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) sobre el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. Los frutos utilizados en la elaboración del extracto acuoso fueron recolectados en la provincia de Tambogrande - Piura, con la finalidad de valorizar este cultivo subutilizado.

Con respecto a las condiciones de crecimiento de *L. plantarum* ATCC 14917. Plessas S. y Chen J., lo cultivaron en caldo MRS a pH 6,2 y 37 °C^{71,76}. Esta bacteria alcanzó la fase estacionaria de crecimiento después de las 12 h, una tendencia similar se encontró en esta investigación (Figura 1). Asimismo, Wang W. determinó que cambiando el pH de 6,0 a 8,5 se obtiene una mayor cantidad de biomasa durante la fase estacionaria, pero luego se presenta un declive⁷⁷. En la curva de crecimiento de *L. plantarum* se observa que el crecimiento exponencial inicia a las 16 h, se correlaciona con lo descrito por Vegas et al.; Díaz-Vela et al.; y Chen et al.^{70,71,73}. Además, con referencia a la curva de crecimiento de *L. plantarum* ATCC 14917 (Figura 2) se estableció que el medio MRS formulado por componentes es el mejor para añadir el carbohidrato a evaluar según el protocolo de Vegas et al.⁷³

Prokopiuk et al. describen que el algarrobo contine sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa, entre otros^{58,78}, así como fibras solubles, proteínas y minerales^{4,5}. Sobre la base de las fuentes de carbono contenidas en el extracto de algarrobo se evaluó el crecimiento de *L. plantarum* y se comparó con glucosa, maltosa, fructosa, sacarosa e inulina (Figura 3). En este contexto, Cui et al. reportan que en el metabolismo de carbohidratos por *L. plantarum* participan varios genes que expresan un sistema integral de transportadores y enzimas para el metabolismo de azúcares, lo cual le permite aprovechar estas moléculas⁶³. De igual forma, los lactobacilos pueden fermentar los prebióticos, como los oligosacáridos de cadena larga^{50,63,79,80} y los carbohidratos por regulación de la expresión génica⁷⁹⁻⁸¹. Se puede tomar como ejemplo a la fructosidasa intracelular que hidroliza sacarosa y también fructanos de tipo inulina, e inulina^{50,63}. También se ha demostrado que las

fucosidasas de los *Lactobacillus* hidrolizan los compuestos fucosilados, de igual forma gran eficiencia en la síntesis de fucosil-oligosacáridos⁸²; sumado a ello, especies del género *Lactobacillus* expresan fructanasas del tipo levansacarinas, las cuales permiten sintetizar ramificaciones de fructosa^{1,83} evidenciando el potencial prebiótico de los oligosacáridos^{1,7,8,84,85}, así como los mecanismos de regulación génica mediados por operones⁵⁰, por lo cual se infiere que favorecen el crecimiento y la duplicación de cepas de *L. plantarum*.

Butin et al., evaluaron los diferentes carbohidratos que *L. plantarum* metaboliza como D-glucosa, D-galactosa, D-fructosa, D-lactosa, D-sacarosa, D-maltosa, D-manosa, D-salicina, D-xilosa, D-ribosa, D-manitol y D-sorbitol; así como galactitol, L-fucosa, L-ramnosa y D-melibiosa, los cuales no pudieron ser fermentados⁵⁰. En este aspecto, en la Figura 4 se presenta el crecimiento de *L. plantarum* en diferentes fuentes de carbono como glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa e inulina por ser una cadena altamente ramificada de fructosa^{12,86}, y el extracto de algarrobo, por su alto contenido de sacarosa y oligosacáridos^{4,58,81}. De igual forma, se describe que la adición de oligosacáridos a los cultivos de *Lactobacillus* permite el crecimiento de estos^{53,54}.

Es importante considerar el potencial prebiótico de los frutos de algarrobo, partiendo de su alto contenido en carbohidratos, según analizamos por HPLC: fructosa, glucosa, y en mayor porcentaje sacarosa; además de su contenido de proteínas, minerales y antioxidantes^{22,24,25,78,87}.

En la cinética de crecimiento de *L. plantarum* en las fuentes de carbono durante las primeras ocho horas (Figura 3) se observa que la glucosa, sacarosa, maltosa y extracto de algarrobo aumentan la concentración celular con relación a la fructosa y la inulina. Este crecimiento se atribuye a la presencia de un sistema de transporte y rutas metabólicas eficientes de esta bacteria. Con respecto a la fructosa se obtuvo la fase estacionaria a las ocho horas, y luego el recuento celular se mantiene constante; en el caso de la inulina, su alto peso molecular, ramificación y enlaces β hacen que el metabolismo por los lactobacilos sea lento^{1,2,85}. Sin embargo, con el extracto de algarrobo se alcanzó un nivel similar al de glucosa y sacarosa, debido a su

contenido de proteínas, minerales, vitaminas e hidratos de carbono^{2,4,5,58} y también a los antioxidantes, principalmente de origen polifenólico. Así, Jurado-Gómez et al., analizaron dos cepas de *L. plantarum* en medios con diferentes características y concluyeron que el metabolismo de carbohidratos es diferente según cepa y medio de cultivo^{66,72}. Cabe resaltar que los lactobacilos son exigentes en aminoácidos, péptidos, nucleótidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos y carbohidratos⁵³ moléculas que están en el extracto de algarrobo²⁶⁻²⁸. Para los cultivos utilizando glucosa y maltosa, cuyos valores sobrepasan la cinética encontrada con extracto de algarrobo, los patrones son similares a estudios previos^{50,79,81}.

Los valores del tiempo de generación y velocidad máxima de crecimiento varían entre cepas, depende de las condiciones de crecimiento a las cuales se expone el microorganismo⁸⁸. En la Figura 4, se muestra una tendencia positiva del crecimiento de *L. plantarum* utilizando maltosa, seguido de glucosa, extracto de algarrobo y sacarosa; pero fue inferior con fructosa e inulina. Los valores son similares a los obtenidos por Dante et al. con un tiempo de generación (t_g) de 5,4 h para el crecimiento de *L. plantarum* en su medio basal con MRS, y una velocidad específica calculada en base al t_g de 0,13⁸⁹; estos resultados se correlacionan con estudios previos^{66,72,88} de Rehaïem A et al. y Jurado et al. Cabe resaltar que *L. plantarum* ATCC 14917 alcanza la fase exponencial a las 8 h. Además, Jurado et al. encuentran que la producción de ácido láctico es a 32 °C y 12 h, afirmando que el óptimo es 30 °C^{66,72}.

Vargas-Martínez et al. evaluaron el crecimiento de *L. plantarum* en extracto acuoso de amaranto con diferentes tratamientos, si bien el extracto tenía mayor cantidad de proteínas y carbohidratos totales, el lactobacilo mostró un menor crecimiento, es posible que los otros componentes del extracto pueden alterar la cinética de crecimiento de *L. plantarum*⁹⁰, similar al extracto de Yacon⁷³. Si bien, existe un mayor crecimiento de *L. plantarum* con maltosa, glucosa y fructosa; el potencial del extracto de algarrobo son los componentes y los polifenoles.

Cabe resaltar, en la fermentación de los carbohidratos por lactobacilos se ha reportado la obtención de compuestos como ácidos grasos de cadena corta. Así, Mantzourani et al., cultivaron *L. plantarum* ATCC 14917 en extracto de granada rico en glucosa, fructosa y sacarosa⁹¹. Después del cultivo, los niveles de azúcares residuales disminuyeron mientras que los de ácidos orgánicos aumentaron, demostrando la capacidad de la cepa en la fermentación de carbohidratos y producción de diversos metabolitos.

Por otro lado, *L. plantarum* sintetiza otros oligosacáridos a partir de carbohidratos sencillos como Galacto-oligosacáridos (GOS), debido a la actividad de transgalactosilación de la β -galactosidasa⁹². Esta investigación se complementará con otras experiencias donde se suplemente a *L. plantarum* con otros oligosacáridos⁹³. Pan et al., demuestran que *L. plantarum* soporta condiciones de estrés simulado, en el grupo suplementado con oligosacáridos, para ello se presenta ante un jugo gastrointestinal artificial simulado, tratamiento térmico y solución de fenol⁸⁰, evidenciando una respuesta superior en el grupo de fructo-oligosacáridos (FOS) y xilo-oligosacáridos (XOS), teniendo también un efecto positivo en quito-oligosacáridos (COS), mano-oligosacáridos (MOS), frente al grupo de control, sin azúcar⁸⁰. Es en este contexto, la cinética de crecimiento y la cantidad de células viables del *L. plantarum* se incrementó.

Para que una molécula sea considerada de acción prebiótica debe ser metabolizada por la flora intestinal que se encuentra principalmente en la región del colon^{33,58}. Este es el caso de los oligosacáridos (nistosa, isonitosa, kestona), debido a la complejidad y sus enlaces de tipo beta 1,4 y beta 1,6, no puede ser digeridos por las enzimas digestivas humanas^{83,86,94} y llega al colon donde es metabolizado principalmente por especies de los géneros Bifidobacterias y Lactobacillos⁶⁶. En este aspecto, el extracto de algarrobo contiene 4.5% de oligosacáridos, sumado a otros azúcares es una materia rica en prebióticos⁹³. Por el contrario, *L. plantarum* ATCC 14917 es considerado probiótico al producir ácidos orgánicos de cadena corta como láctico y acético evaluados por cromatografía líquida de intercambio iónico⁹¹.

Al comparar el análisis fisicoquímico de los fermentados de *L. plantarum* en extracto de algarrobo y glucosa al 2%, se encontró una acidez similar, que se correlaciona con los valores de °Brix y pH (Tabla 2). Montserrat et al., evidencia la producción de compuestos fenólicos, tras la fermentación del Caupí por *L. plantarum* ATCC 14917, la disminución del pH podría activar algunas enzimas que hidrolizan los glucósidos, y activan las rutas para incrementar la concentración de compuestos fenólicos con actividad antioxidante⁸¹. Este hecho, permite inferir una similar o mejor actividad antioxidante con el extracto de algarrobo en el proceso de fermentado final⁹⁵.

Después de esta investigación, quedan varias interrogantes por resolver durante y después de los procesos de fermentación de *L. plantarum* o *Lactiplantibacillus plantarum*⁹⁶ utilizando diferentes fuentes de carbono, principalmente prebióticos en un sistema continuo con control de anaerobiosis; cuyos resultados se acercaría al tracto digestivo humano. Asimismo, es necesario analizar los metabolitos producidos en la fermentación del extracto de algarrobo, así como las moléculas de interés nutracéutico

VIII. CONCLUSIONES

- Las condiciones de crecimiento de *Lactobacillus plantarum* fueron la elaboración de la curva de calibración, encontrando a una fase estacionaria a las 16 horas, a una temperatura de 37 °C y con un porcentaje de carbohidrato (glucosa) al 2%; lo que permitió determinar el efecto del extracto del fruto del algarrobo (*Prosopis pallida* (Willd) Kunth) recolectado de la localidad de Tambogrande en Piura, Perú sobre el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*.
- *Lactobacillus plantarum* se cultivó en caldo MRS formulado por componentes y suplementado al 2% con carbohidratos tales como: glucosa, fructosa, sacarosa, inulina y maltosa, encontrando mayor crecimiento con maltosa, seguido de glucosa y sacarosa.
- El crecimiento de *Lactobacillus plantarum* en medio MRS formulado por componentes y suplementado con extracto algarrobo 2%, mostró crecimiento similar al de sacarosa. Por otro lado, se determinó mayor recuento celular en el extracto de algarrobo que en glucosa a las 12 y 20 h.

IX. RECOMENDACIONES

Considerar la investigación con otras cepas de diferentes microorganismos intestinales como *Lactobacillus*, Bifidobacterias, evaluar las condiciones de trabajo en anaerobiosis, se debe realizar algunos ensayos complementarios para probar efecto prebiótico.

Se debería realizar la identificación de los metabolitos generados producto de la fermentación de las diferentes fuentes de carbono por parte de los lactobacilos, es parte de la continuación de este proyecto, de la misma manera, que la evaluación de su potencial farmacológico.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Olvera C, Castillo E, Lopez Munguia A. Fructosiltransferasas, fructanas y fructosa. *Biotecnología*. 2007;14(3):327–45.
2. Bustamante C. P, Mayorga R. L, Ramírez S. H, Martínez C. P, Barranco F. E, Azaola E A. Evaluación microbiológica de compuestos con actividad prebiótica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2006;37(2):5–10.
3. Guarner F. El colon como órgano: hábitat de la flora bacteriana. *Nutr Hosp*. 2002;XVII(2):7–10.
4. Bravo L, Grados N, Saura-Calixto F. Characterization of Syrups and Dietary Fiber Obtained from Mesquite Pods (*Prosopis pallida* L). *J Agric Food Chem* [Internet]. 1998 may 1;46(5):1727–33. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf970867p>
5. Chaires-Martínez L, Salazar-Montoya JA, Ramos-Ramírez EG. Physicochemical and functional characterization of the galactomannan obtained from mesquite seeds (*Prosopis pallida*). *European Food Research and Technology* [Internet]. 2008;227(6):1669. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0892-0>
6. Swennen K, Courtin CM, Delcour JA. Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotic Properties. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2006 sep 1;46(6):459–71. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408390500215746>
7. Tunglund BC, Meyer D. Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Compr Rev Food Sci Food Saf* [Internet]. 2002 oct 1;1(3):90–109. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x>
8. Hijová E, Chmelarova A. Short chain fatty acids and colonic health. *Bratislava Medical Journal*. 2007 feb 1;108(8):354–8.

9. Pan X dong, Chen F qin, Wu T xing, Tang H gang, Zhao Z yu. Prebiotic oligosaccharides change the concentrations of short-chain fatty acids and the microbial population of mouse bowel. *J Zhejiang Univ Sci B* [Internet]. 2009;10(4):258. Available from: <https://doi.org/10.1631/jzus.B0820261>
10. Tandon D, Haque MM, Gote M, Jain M, Bhaduri A, Dubey AK, et al. A prospective randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-response relationship study to investigate efficacy of fructo-oligosaccharides (FOS) on human gut microflora. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):5473. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41837-3>
11. Rycroft CE, Jones MR, Gibson GR, Rastall RA. A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2001 nov 23 [citado 2019 sep 11];91(5):878–87. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2001.01446.x>
12. Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés. C, Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés C. Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición* [Internet]. 2017 [citado 2019 jun 17];44(4):383–92. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182017000400383&lng=en&nrm=iso&tlng=en
13. Mandaliya DK, Seshadri S. Short Chain Fatty Acids, pancreatic dysfunction and type 2 diabetes. *Pancreatology* [Internet]. 2019 jun 1 [citado 2019 jun 20];19(4):617–22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1424390319301012>
14. Bravo L, Grades N, Saura-Calixto F. Composition and potential uses of mesquite pods (*Prosopis pallida* L): Comparison with carob pods (*Ceratonia siliqua* L). *J Sci Food Agric* [Internet]. 1994;65(3):303–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740650307>
15. Becker R, Sayre RN, Saunders RM. Semiarid legume crops as protein resources. *J Am Oil Chem Soc* [Internet]. 1984;61(5):931–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02542170>

16. Vieira ÍGP, Mendes FNP, Gallão MI, de Brito ES. NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC). *Food Chem* [Internet]. 2007;101(1):70–3. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606000458>
17. Schierbaum F. Glicksman, M.: *Gum Technology in the Food Industry*, Academic Press, New York and London, 1969. XIII, 590 S., 8°, mit zahlreichen Abb. und Tab., Ganzleinen, Preis \$ 27,50. *Starch - Stärke* [Internet]. 1971 ene 1;23(10):372–3. Available from: <https://doi.org/10.1002/star.19710231010>
18. Chaires-Martínez L, Salazar-Montoya JA, Ramos-Ramírez EG. Physicochemical and functional characterization of the galactomannan obtained from mesquite seeds (*Prosopis pallida*). *European Food Research and Technology* [Internet]. 2008;227(6):1669. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0892-0>
19. Pasiiecznik N, Felker P, Harris P, Harsh LN, Cruz G, Tewari J, et al. *The Prosopis Juliflora-Prosopis Pallida Complex: A Monograph*. Vol. 174, *Forest Ecology and Management - FOREST ECOL MANAGE*. 2001.
20. Alvarado Saavedra SL, Herrera-Plasencia P, Enoki-Miñano E, Ruiz-Barrueto M, Millones Gómez PA. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Rev Cubana Med Trop*. 2018;70(2):1–12.
21. Armas JR, Camacho CC, Quiroz JR, Luna AC, Cevallos NR, Perfecto DR. Actividad antibacteriana y antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2018;22(4).
22. Castro Navarro EP. Efecto antibacteriano de miel de *Apis mellifera* y algarrobina de *Prosopis pallida* sobre coliformes en quesillos preparados artesanalmente expandidos en el mercado “La Unión” [Tesis pregrado]. [Trujillo]: UCV; 2017.

23. Emilaura P, Alburqueque E, Juárez Merino DA, Vega M, Alessandra N, Tejero Paiva PY. Efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Ruta graveolens* (ruda), *Plantago major* (llantén) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668 [Tesis pregrado]. [Piura]: UCV; 2018.
24. Cachay V, Yvette L. Efecto Antifúngico In Vitro Del Extracto Etanólico De *Prosopis Pallida* (Algarrobo) Sobre *Candida Albicans* Atcc 90028. 2017;
25. Arce Tintaya JA, Cutipa Huamantuma JJ. Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto de hojas de *Prosopis pallida* forma armata (algarrobo) sobre *staphylococcus aureus* ATCC 25923 *escherichia soli* ATCC25922 y *cándida albicans* ATCC 10231, Arequipa-2018a. 2019;
26. Suárez-Rebaza L, Ganoza-Yupanqui M, Zavala-Urtecho E, Alva-Plasencia P. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos hidroalcohólicos y acuosos de frutos de *Prosopis pallida* “algarrobo”. *Agroindustrial Science*. 2019;9(1):87–91.
27. Prabha DS, Dahms HU, Malliga P. Pharmacological potentials of phenolic compounds from *Prosopis* spp.-a. *J coast life med*. 2014;2:918–24.
28. Colqui Ticlia AO, Domínguez Santoyo EF. Comparación del porcentaje de proteínas, carbohidratos y lípidos de *Prosopis pallida* “algarrobo” proveniente de los distritos de Tucúme y Olmos, departamento de Lambayeque. 2018;
29. León DJC, Alcántara CCC, Medina SEL, Gil-Rivero AE, Lopéz-Zavaleta A, Anthony J. EFECTO DE LA 6-BENCILAMINOPURINA Y DEL MÉDIO DE CULTIVO MS (1962) EN EL ESTABELECIMIENTO IN VITRO DE *Prosopis pallida* (WILLD.) KUNTH. *REBIOL*. 2020;39(2):30–40.
30. Depenthal J, Yoder LSM. Community Use and Knowledge of Algarrobo (*Prosopis pallida*) and Implications for Peruvian Dry Forest Conservation. *Revista de Ciencias Ambientales*. 2018;52(1):49–70.

31. Icaza-Chávez ME. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Rev Gastroenterol Mex* [Internet]. 2013;78(4):240–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375090613001468>
32. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science* (1979) [Internet]. 2005 mar 25;307(5717):1915. Available from: <http://science.sciencemag.org/content/307/5717/1915.abstract>
33. Frazier TH, DiBaise JK, McClain CJ. Gut Microbiota, Intestinal Permeability, Obesity-Induced Inflammation, and Liver Injury. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* [Internet]. 2011 sep 1;35(5S):14S-20S. Available from: <https://doi.org/10.1177/0148607111413772>
34. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF. Gut Microbiota, Lipopolysaccharides, and Innate Immunity in the Pathogenesis of Obesity and Cardiovascular Risk. *Endocr Rev* [Internet]. 2010 dic 1;31(6):817–44. Available from: <https://doi.org/10.1210/er.2009-0030>
35. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics* [Internet]. 2006;118(2):511–21. Available from: <https://pediatrics.aappublications.org/content/118/2/511>
36. Reinhardt C, Reigstad CS, Bäckhed F. Intestinal Microbiota During Infancy and Its Implications for Obesity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2009;48(3). Available from: https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/2009/03000/Intestinal_Microbiota_During_Infancy_and_Its.4.aspx
37. Serrano CA, Harris PR. Desarrollo del microbioma intestinal en niños. Impacto en salud y enfermedad. *Rev Chil Pediatr* [Internet]. 2016;87(3):151–3. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0370410616300080>
38. Kataoka K. The intestinal microbiota and its role in human health and disease. *The Journal of Medical Investigation*. 2016;63(1.2):27–37.

39. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes* [Internet]. 2007;56(7):1761–72. Available from: <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/56/7/1761>
40. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* (1979) [Internet]. 1990;249(4975):1431–3. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/249/4975/1431>
41. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2005;102(31):11070–5. Available from: <https://www.pnas.org/content/102/31/11070>
42. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* [Internet]. 2010;464(7285):59–65. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature08821>
43. Huttenhower C, Gevers D, Knight R, Abubucker S, Badger JH, Chinwalla AT, et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* [Internet]. 2012;486(7402):207–14. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature11234>
44. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* [Internet]. 2012;490(7418):55–60. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature11450>
45. le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* [Internet]. 2013;500(7464):541–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature12506>
46. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time.

- Science (1979) [Internet]. 2009;326(5960):1694–7. Available from:
<https://science.sciencemag.org/content/326/5960/1694>
47. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut* [Internet]. 2016;65(2):330–9. Available from:
<https://gut.bmj.com/content/65/2/330>
 48. García Luna PP, López Gallardo G. Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutr Hosp*. 2007;22:5–13.
 49. Pérez Fernández MT, Temiño López-Jurado R, Fernández Gil M, Calvo Moya M. Síndrome de malabsorción intestinal (1). *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* [Internet]. 2008;10(4):197–206. Available from:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0211344908728996>
 50. Buntin N, Hongpattarakere T, Ritari J, Douillard FP, Paulin L, Boeren S, et al. An Inducible Operon Is Involved in Inulin Utilization in *Lactobacillus plantarum* Strains, as Revealed by Comparative Proteogenomics and Metabolic Profiling. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2017;83(2):e02402-16. Available from: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AEM.02402-16>
 51. Bielsa-Fernández M v. Diarrea y absorción deficiente. *Rev Gastroenterol Mex* [Internet]. 2012;77:35–6. Available from:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375090612000547>
 52. Oliveira G, González-Molero I. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. *Endocrinología y Nutrición* [Internet]. 2016;63(9):482–94. Available from:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1575092216301139>
 53. Allué IP. Fisiología de la digestión y absorción de los hidratos de carbono. *Alim Nutri Salud*. 1998;5(3):74–9.
 54. Bermúdez V, Bermúdez F, Arraiz N, Leal E, Linares S, Mengual E, et al. Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación,

estructura y distribución. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 2007;26:76–86.

55. Wright EM. The Intestinal Na⁺/Glucose Cotransporter. Annu Rev Physiol [Internet]. 1993 oct 1;55(1):575–89. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.55.030193.003043>
56. Corzo N, Alonso JL, Azpiroz F, Calvo MA, Cirici M, Leis R, et al. Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. Nutr Hosp. 2015;31(1):99–118.
57. Caspary WF. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. Am J Clin Nutr [Internet]. 1992 ene 1;55(1):299S-308S. Available from: <https://doi.org/10.1093/ajcn/55.1.299s>
58. Grados N, Ruiz W, Cruz G, Díaz C, Puicón J. Productos industrializables de la algarroba peruana (*Prosopis pallida*): algarrobina y harina de algarroba. Multequina (Mendoza) [Internet]. 2000 [citado 2019 jun 17];9(2):119–32. Available from: <https://biblat.unam.mx/es/revista/multequina-mendoza/articulo/productos-industrializables-de-la-algarroba-peruana-prosopis-pallida-algarrobina-y-harina-de-algarroba>
59. Morishita T, Deguchi Y, Yajima M, Sakurai T, Yura T. Multiple nutritional requirements of lactobacilli: genetic lesions affecting amino acid biosynthetic pathways. J Bacteriol [Internet]. 1981;148(1):64–71. Available from: <http://europemc.org/abstract/MED/6793557>
60. Li X, Xiao Y, Song L, Huang Y, Chu Q, Zhu S, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* HT121 on serum lipid profile, gut microbiota, and liver transcriptome and metabolomics in a high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia rat model. Nutrition [Internet]. 2020;79–80:110966. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900720302495>
61. Salaj R, Štofilová J, Šoltsová A, Hertelyová Z, Hijová E, Bertková I, et al. The Effects of Two *Lactobacillus plantarum* Strains on Rat Lipid Metabolism Receiving a High Fat Diet. Marchini JS, Turrini A, editores. The Scientific

- World Journal [Internet]. 2013;2013:135142. Available from:
<https://doi.org/10.1155/2013/135142>
62. Li X, Huang Y, Song L, Xiao Y, Lu S, Xu J, et al. Lactobacillus plantarum prevents obesity via modulation of gut microbiota and metabolites in high-fat feeding mice. J Funct Foods [Internet]. 2020;73:104103. Available from:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620303273>
 63. Cui Y, Wang M, Zheng Y, Miao K, Qu X. The Carbohydrate Metabolism of Lactiplantibacillus plantarum. Int J Mol Sci [Internet]. 2021;22(24). Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/24/13452>
 64. Kim H, Jeon B, Kim WJ, Chung DK. Effect of paraprobiotic prepared from Kimchi-derived Lactobacillus plantarum K8 on skin moisturizing activity in human keratinocyte. J Funct Foods [Internet]. 2020;75:104244. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620304680>
 65. Roberfroid M, Gibson GR, Hoyles L, McCartney AL, Rastall R, Rowland I, et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. British Journal of Nutrition [Internet]. 2010 ago 1 [citado 2020 jul 27];104(S2):S1–63. Available from:
https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007114510003363/type/journal_article
 66. Jurado Gámez H, Jarrín Jarrín V, Parreño Salas J. Crecimiento de L. plantarum y efecto sobre E. coli, S. typhimurium, C. perfringens, y S. aureus. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial [Internet]. 2015 [citado 2019 jun 17];13(2):57. Available from:
<http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotecnologia/article/view/404>
 67. Guzmán Calderón E, Montes Teves P, Monge Salgado E. Probióticos, prebióticos y simbióticos en el síndrome de intestino irritable. Acta Médica Peruana. 2012;29:92–8.
 68. Passos LML, Park YK. Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. Ciência Rural [Internet]. 2003 abr [citado

- 2021 oct 21];33(2):385–90. Available from:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782003000200034&lng=pt&tlng=pt
69. Yun JW. Fructooligosaccharides—Occurrence, preparation, and application. *Enzyme Microb Technol* [Internet]. 1996;19(2):107–17. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0141022995001883>
 70. Díaz-Vela J, Mayorga-Reyes L, Totosaus S. A, Pérez-Chabela M de L. Parámetros cinéticos y perfil de ácidos grasos de cadena corta de bacterias ácido lácticas termotolerantes con diferentes fuentes de carbono. *Vitae*. 2012;19:253–60.
 71. Chen J, Liang R hong, Liu W, Li T, Liu C mei, Wu S shuang, et al. Pectic-oligosaccharides prepared by dynamic high-pressure microfluidization and their in vitro fermentation properties. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2013;91(1):175–82. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014486171200793X>
 72. Jurado-Gámez H, Ramírez C, Aguirre D. Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. *Veterinaria y Zootecnia*. 2013;7(2):37–53.
 73. 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]. 2014 nov 24;16(2). Available from:
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/10865>
 74. Ough CS, Amerine MA. *Methods Analysis of Musts and Wines* [Internet]. California: Wiley-Interscience; 1987. Available from:
<https://books.google.com.pe/books?id=QcNIQgAACAAJ>
 75. Jaime L, Martín-Cabrejas MA, Mollá E, López-Andréu FJ, Esteban RM. Effect of Storage on Fructan and Fructooligosaccharide of Onion (*Allium*

- cepa L.). J Agric Food Chem [Internet]. 2001 feb 1;49(2):982–8. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf000921t>
76. Plessas S, Nouska C, Karapetsas A, Kazakos S, Alexopoulos A, Mantzourani I, et al. Isolation, characterization and evaluation of the probiotic potential of a novel *Lactobacillus* strain isolated from Feta-type cheese. Food Chem [Internet]. 2017;226:102–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617300511>
 77. 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 [Internet]. 2018 may 24;13(5):e0196231-. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196231>
 78. Prokopiuk D, Cruz G, Grados N, Garro O, Chiralt A. Estudio comparativo entre frutos de *Prosopis alba* y *Prosopis pallida*. Multequina. 2000;9(1):35–45.
 79. Siezen RJ, Tzeneva VA, Castioni A, Wels M, Phan HTK, Rademaker JLW, et al. Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches. Environ Microbiol [Internet]. 2010 mar 1;12(3):758–73. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02119.x>
 80. Pan X, Wu T, Zhang L, Cai L, Song Z. Influence of oligosaccharides on the growth and tolerance capacity of lactobacilli to simulated stress environment. Lett Appl Microbiol [Internet]. 2009 mar 1;48(3):362–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02539.x>
 81. Mao B, Yin R, Li X, Cui S, Zhang H, Zhao J, et al. Comparative Genomic Analysis of *Lactiplantibacillus plantarum* Isolated from Different Niches. Genes (Basel). 2021 feb 8;12:241.
 82. Becerra Enríquez JE. Síntesis de fucosil-oligosacáridos, evaluación de sus propiedades bioactivas y caracterización de sus rutas metabólicas en *Lactobacillus* [Tesis doctoral]. [Valencia]: Universidad de Valencia; 2016.

83. Oliveira G, González-Molero I. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. *Endocrinol Nutr* [Internet]. 2016 nov 1 [citado 2019 jun 12];63(9):482–94. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1575092216301139>
84. Hidaka H, Hirayama M, Sumi N. A Fructooligosaccharide-producing Enzyme from *Aspergillus niger* ATCC 20611. *Agric Biol Chem* [Internet]. 1988 may 1;52(5):1181–7. Available from:
<https://doi.org/10.1080/00021369.1988.10868810>
85. Macfarlane GT, Steed H, Macfarlane S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2008 feb 1;104(2):305–44. Available from:
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03520.x>
86. Abreu-Abreu AT. Prebióticos, probióticos y simbióticos. *Rev Gastroenterol Mex* [Internet]. 2012 ago 1 [citado 2019 jun 12];77:26–8. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375090612000511>
87. Suárez Rebaza LA. Caracterización de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos hidroalcohólicos, infuso de decocto de *Prosopis pallida* [Tesis doctoral]. [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
88. Rehaïem A, Belgacem Z ben, Edalatian MR, Martínez B, Rodríguez A, Manai M, et al. Assessment of potential probiotic properties and multiple bacteriocin encoding-genes of the technological performing strain *Enterococcus faecium* MMRA. *Food Control* [Internet]. 2014;37:343–50. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513004908>
89. Dante IL, Yépez BC, Ballinas AM, Herrera EMS, Lobato ACZ, Hernández IC, et al. Formulación y optimización de un medio de cultivo económico para *Lactobacillus* con potencial probiótico aislado del pulque. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria*. 2013;12:133–44.
90. Vargas-Martínez LI, García-Alvarado MÁ, Robles-Olvera VJ, Hidalgo-Morales M. Extractos de amaranto como substrato para el crecimiento de

Lactobacillus plantarum una bacteria ácido láctica con características probióticas. Espacio I+D, Innovación más desarrollo [Internet]. 2019 feb 4;8(19). Available from:
<https://espacioimasd.unach.mx/index.php/Inicio/article/view/172>

91. Mantzourani I, Kazakos S, Terpou A, Alexopoulos A, Bezirtzoglou E, Bekatorou A, et al. Potential of the Probiotic Lactobacillus Plantarum ATCC 14917 Strain to Produce Functional Fermented Pomegranate Juice. Foods [Internet]. 2019;8(1). Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/1/4>
92. Iqbal S, Nguyen TH, Nguyen TT, Maischberger T, Haltrich D. β -Galactosidase from Lactobacillus plantarum WCFS1: biochemical characterization and formation of prebiotic galacto-oligosaccharides. Carbohydr Res [Internet]. 2010;345(10):1408–16. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621510001242>
93. Peña-Suasnabar C, Iris Zavaleta A. Optimización de la producción de fructooligosacáridos a partir del extracto de algarrobo utilizando fructosiltransferasas. Revista de la Sociedad Química del Perú. 2020;86:192–204.
94. Vera C, Ubilla C, Guerrero C, López J, Flórez-Méndez J, Bustos R. Oligosacáridos y polisacáridos no digeribles: una fuente de salud para los adultos mayores. Revista chilena de nutrición. 2020;47:848–64.
95. Dueñas M, Fernández D, Hernández T, Estrella I, Muñoz R. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with Lactobacillus plantarum ATCC 14917. J Sci Food Agric [Internet]. 2005 ene 30;85(2):297–304. Available from: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1924>
96. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. Int J Syst Evol Microbiol [Internet]. 2020 abr 1 [citado 2022 ago 13];70(4):2782–858. Available from:

<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.004107>

XI. ANEXOS

Análisis Taxonómico



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 249 - USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo y hojas) recibida de **Carmen PEÑA SUASNABAR**; alumna de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, ha sido estudiada y clasificada como: ***Prosopis pallida*** (Willd.) Kunth y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: FABALES

FAMILIA: FABACEAE

GENERO: *Prosopis*


ESPECIE: *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth

Nombre vulgar: "algarrobo"
Determinado por Blgo. Mario Benavente Palacios.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 19 de junio de 2018




Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Fotos del proceso

Recolección de la muestra: Tambogrande, Piura, Perú

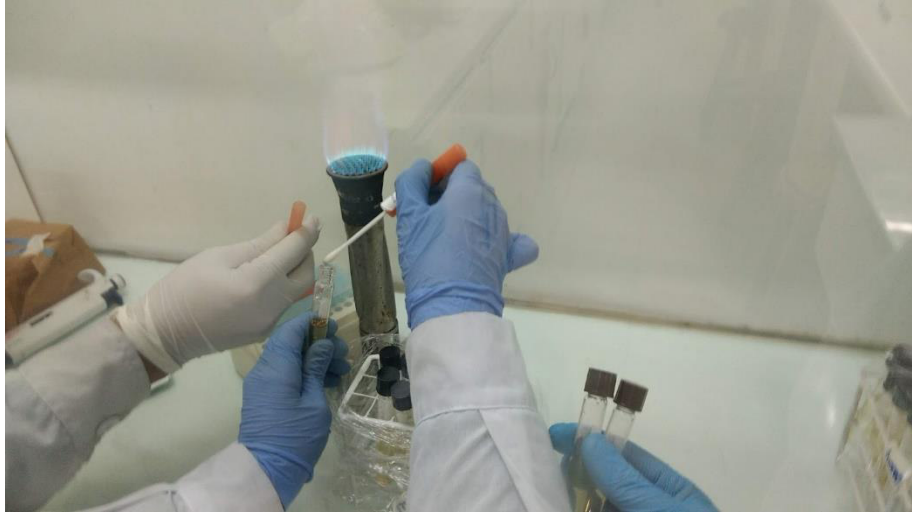


Tambogrande, Piura, Perú

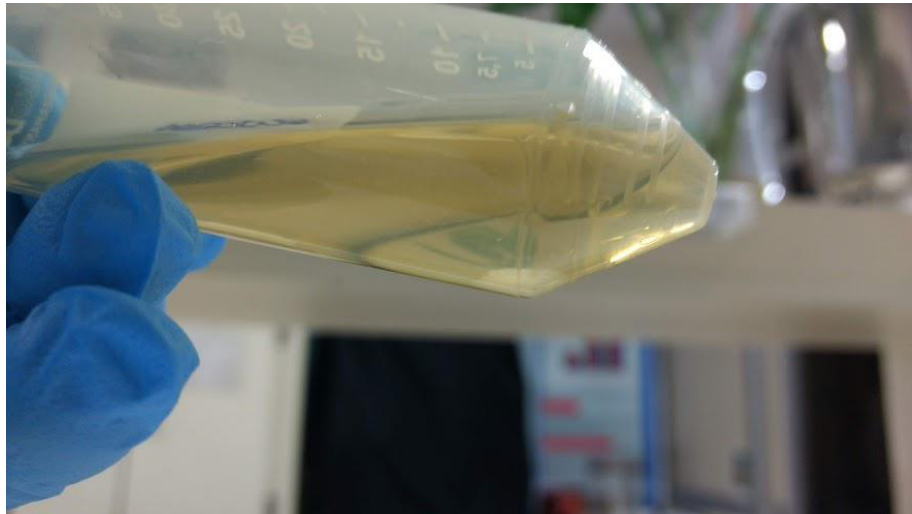
Lugar: Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia, UNMSM



Preparación del extracto de algarrobo



Preparación del inóculo inicial



Cosecha de células



Preparación de los medios de cultivo para crecimiento



Diluciones del medio de cultivo para evaluación del crecimiento de *L. plantarum* en cabina estéril