

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

**ACTIVIDAD PREBIÓTICA *IN VITRO* DEL EXTRACTO DE LA
RAÍZ DE LLACÓN (*Smallanthus sonchifolius*) PROVENIENTE
DE LIMACPUNKO-MARCAPATA-CUSCO SOBRE LA CEPA
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356**

PRESENTADO POR:

Br. GIANCARLA CACERES QUISPE
Br. FRIDA HANCCO CHAMPI

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. ANAHÍ KARINA CARDONA RIVERO

CO-ASESOR:

Mgt. LUIS JUSTINO LIZARRAGA VALENCIA

CUSCO - PERÚ

2025



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor Anahi Karina Cardona Rivero
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: Actividad prebiótica in vitro del extracto de la raíz
de Ilacón (Smilaxnthus senchifolius) proveniente de Limapunko - Marapata - Cusco
sobre la cepa Lactobacillus acidophilus ATCC 4356

Presentado por: Giancarla Caceres Quispe DNI N° 47383416;
presentado por: Enda Hancoco Champi DNI N°: 63275171
Para optar el título Profesional/Grado Académico de Químico Farmacéutico

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de**
Similitud en la UNSAAC y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	☒
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	☐
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	☐

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto
las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 14 de Noviembre de 2025

Firma

Post firma: Anahi Karina Cardona Rivero

Nro. de DNI: 23998511

ORCID del Asesor: 000 - 0001 6397 - 9162

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 27259:527594987

FINAL DE TESIS DE LLACÓN-noviembre.docx

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:527591987

166 páginas

Fecha de entrega

13 nov 2025, 4:48 p.m. GMT-5

26.511 palabras

156.986 caracteres

Fecha de descarga

13 nov 2025, 5:12 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

FINAL DE TESIS DE LLACÓN-noviembre.docx

Tamaño del archivo

27.1 MB

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 7%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico a todos quienes han sido parte esencial de mi vida y de este camino académico. A mi madre Joséfa, cuyo amor incondicional, compañía y palabras de aliento me sostuvieron en los momentos más difíciles; la amo profundamente y deseo que se sienta orgullosa de mí, como yo lo estoy de ser su hija. A mi padre Casiano, quien a pesar de la distancia por motivos de trabajo, siempre me acompañó con su apoyo y ánimo constante. A mi esposo Usberto y a mi hijo Luis Fernando, quienes se convirtieron en mi mayor inspiración y motivación para culminar esta tesis. A mis hermanos Andrés, Fredy, Alan e Hilda, por su apoyo sincero y desinteresado cuando más lo necesité. Cada palabra, cada gesto y cada muestra de cariño se transformaron en la fuerza que me impulsó a no rendirme. Este trabajo, más que un documento académico, es un tributo a la familia, al amor y a la perseverancia.

Atte. Giancarla Cáceres Quispe

DEDICATORIA

Dedico este logro, en agradecimiento a mis padres, cuyo amor incondicional, su arduo trabajo y por enseñarme con el ejemplo el valor del esfuerzo y la integridad, cimientos de mi existencia y mis realizaciones. A mis abuelos Eusebio y Fernando, y a mi abuelita Benita, cuyo ejemplo de fortaleza, perseverancia, sabiduría y afecto perdura en mi memoria. A mi tía Margarita, por su constante apoyo y su espíritu resiliente, siempre presente en sus generosas palabras de aliento. Y a mis hermanas, por ser mis compañeras, mi inspiración y una parte esencial de mi trayectoria. A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento por ser mi fuerza y mi principal motivación, regalos de Dios.

Atte. Frida Hancoco Champi

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por habernos dado la vida, la salud y la fortaleza necesarias para culminar esta etapa tan importante de nuestra formación profesional.

A nuestros padres, por su amor incondicional, esfuerzo constante y por ser nuestro ejemplo de perseverancia, responsabilidad y entrega. Su apoyo ha sido el pilar fundamental a lo largo de este camino.

Agradecemos sinceramente a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por brindarnos la oportunidad de formarnos académica y profesionalmente en un entorno de constante aprendizaje. Nuestra gratitud también a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a todos nuestros docentes, quienes con compromiso y dedicación contribuyeron de manera esencial a nuestro desarrollo.

Expresamos un agradecimiento especial a nuestros asesores, la Q.F. Anahí Karina Cardona Rivero y el Mgt. Luis Justino Lizárraga Valencia, por su guía, paciencia y valiosos aportes durante el desarrollo de este trabajo. Su acompañamiento fue clave para alcanzar este logro. También reconocemos con aprecio a nuestros compañeros de estudio, por compartir esta etapa con amistad, colaboración y experiencias que siempre recordaremos con gratitud.

Finalmente, extendemos nuestro agradecimiento a todas las personas e instituciones que, de una u otra manera, contribuyeron a la realización de este proyecto. A todos ustedes, gracias por ser parte esencial de este proceso.

Las tesis

ABREVIATURAS

AAD:	Diarrea asociada a antibióticos
AGCC:	Ácidos Grasos de Cadena Corta
ATCC:	American Type Culture Collection
BAL:	Bacterias ácido lácticas
BBM:	Membrana del borde en cepillo
CCR:	Cáncer colorrectal
ECF:	Factor de crecimiento epidérmico
FA:	Fructanos de agave
FOS:	Fructooligosacáridos
GRAS:	Generally Recognized as Safe
LB:	Lactobacillus
OC:	Osteocalcina
OMS:	Organización mundial de la salud
OPS:	Organización Panamericana de la Salud
SII:	Síndrome del intestino irritable
UFC:	Unidades Formadoras de Colonias
MRS	Man, Rogosa y Sharpe
YFSE:	Extracto soluble en harina de yacón

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ABREVIATURAS	v
RESUMEN	xv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	xvii
CAPÍTULO I.....	1
ASPECTOS GENERALES.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Formulación del problema	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Generales	3
1.3.2. Específicos.....	3
1.4. Justificación	4
1.4.1. Teórica.....	4
1.4.2. Práctica.....	4
1.4.3. Metodológica.....	4
1.4.4. Económico	5
1.4.5. Social.....	6
1.5. Hipótesis.....	6
CAPÍTULO II.....	7
MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	7
2.1. Antecedentes del estudio	7
2.1.1. Antecedentes internacionales	7

2.1.2.	Antecedentes nacionales	9
2.1.3.	Antecedentes locales	11
2.2.	Bases teóricas	13
2.2.1.	Llacón	13
2.2.1.1.	Taxonomía y descripción botánica	13
2.2.1.2.	Características de la planta	15
2.2.1.3.	Tipos de llacón	16
2.2.1.4.	Descripción geográfica	18
2.2.1.5.	Composición química y nutricional	18
2.2.1.6.	Otros componentes	20
2.2.1.7.	Propiedades funcionales	20
2.2.1.8.	Usos tradicionales y actuales	21
2.3.	Prebióticos	22
2.3.1.	Definición	22
2.3.2.	Tipos de prebióticos	22
2.3.3.	Fisiología de los prebióticos	22
2.3.4.	Fructooligosacáridos	23
2.3.4.1.	Mecanismo de acción	24
2.3.4.2.	Efectos en el metabolismo y salud humana	25
2.3.4.3.	Optimización de la absorción y reducción de compuestos nocivos	25
2.3.4.4.	Modulación inmunológica y reducción de riesgos en salud	26
2.3.4.5.	Origen y valor energético	27
2.3.4.6.	Fisiopatología y consideraciones práctica	27
2.4.	Flora Microbiana	28
2.4.1.	Definición	28
2.4.2.	Composición	28
2.4.3.	Funciones	29

2.4.4.	Función metabólica.....	29
2.4.5.	Función barrera.....	29
2.4.6.	Función moduladora	29
2.4.7.	Función de síntesis de vitamina K	30
2.5.	Probióticos.....	30
2.5.1.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356.....	30
2.5.2.	Características de la cepa.....	31
2.5.3.	Mecanismo de acción de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	31
2.5.4.	Funciones	32
2.5.5.	Importancia de la microbiota intestinal	33
2.5.6.	Aplicaciones en la salud.....	33
2.6.	Estado de cuestión	34
2.7.	Definición de términos	35
CAPÍTULO III		37
MATERIALES Y MÉTODOS		37
3.1.	Materiales.....	37
3.1.1.	Material biológico	37
3.1.2.	Materiales microbiológicos	37
3.1.3.	Materiales de campo.....	38
3.1.4.	Materiales de laboratorio.....	38
3.1.5.	Equipos de laboratorio	39
3.1.6.	Solventes y reactivos	40
3.1.7.	Otros	40
3.2.	Ubicación, tiempo y espacio	50
3.2.1.	Ubicación espacial	50
3.2.2.	Ubicación temporal	52

3.3. Metodología de la investigación	52
3.3.1. Enfoque investigativo	52
3.3.2. Tipo de investigación	52
3.3.3. Diseño de la investigación	52
3.3.3.1. Corte	52
3.3.3.2. Alcance	53
3.3.4. Población	53
3.3.5. Muestra.....	53
3.3.6. Tamaño de muestra.....	53
3.3.7. Criterios de selección.....	55
3.3.7.1. Criterios de inclusión	55
3.3.7.2. Criterios de exclusión	55
3.4. Identificación y operacionalización de variables	56
3.5. Procedimiento de la parte experimental de la investigación	58
3.5.1. Procedimiento general	58
3.5.2. Fase I: Obtención y caracterización del extracto de Ilacón	59
3.5.2.1. Recolección de la muestra	59
3.5.2.2. Identificación taxonómica	60
3.5.2.3. Proceso de liofilización	61
3.5.2.4. Análisis fisicoquímico	63
3.5.2.5. Solubilidad.....	66
3.5.2.6. Análisis fitoquímico cualitativo	68
3.5.2.7. Análisis proximal	70
3.5.3. Fase II: Extracción y cuantificación de FOS y Control Microbiológico ...	72
3.5.3.1. Extracción de Fructooligosacáridos	72
3.5.3.2. Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) por HPLC-RID	74
3.5.3.3. Control microbiológico	75

3.5.4. Fase III: Evaluación de la Actividad Prebiótica <i>In Vitro</i>	80
3.5.4.1. Evaluación de la actividad prebiótica <i>in vitro</i>	80
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	84
3.6.1.1. Técnicas.....	84
3.6.1.2. Instrumentos.....	84
3.6.2. Procesamiento y análisis de datos.....	84
CAPÍTULO IV.....	85
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	85
4.1. Porcentaje de rendimiento del proceso de liofilizado	85
4.2. Características preliminares	86
4.2.1. Análisis fisicoquímico	86
4.2.2. Solubilidad	88
4.2.3. Análisis fitoquímico cualitativo	90
4.3. Análisis proximal	92
4.4. Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS).....	94
4.5. Control microbiológico	100
4.6. Actividad prebiótica <i>in vitro</i> del extracto acuoso de la raíz de llacón sobre la cepa <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	102
CONCLUSIONES.....	106
SUGERENCIAS	108
BIBLIOGRAFÍA.....	110
ANEXOS	120

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica	14
Tabla 2. Descripción de la planta	15
Tabla 3. Variedades de llacón	17
Tabla 4. Composición química promedio del llacón fresco (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) por kilogramo de raíces comestibles	19
Tabla 5. Composición química y rendimiento de tres cultivares de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) provenientes de Cajamarca	19
Tabla 6. Distribución de microorganismos predominantes y concentración bacteriana a lo largo del tracto gastrointestinal humano	28
Tabla 7. Medios de cultivo y cepa microbiana utilizados en el estudio.....	37
Tabla 8. Materiales utilizados para la recolección y transporte de muestras vegetales	38
Tabla 9. Materiales de laboratorio empleados en el análisis de muestras	38
Tabla 10. Descripción de materiales de equipo	39
Tabla 11. Solventes y reactivos utilizados en los procedimientos de laboratorio.....	40
Tabla 12. Características geográficas, ecológicas y político-administrativas de la zona de estudio (Limacpunko – Marcapata – Cusco).....	50
Tabla 13. Operacionalización de variables.....	56
Tabla 14. Variables intervinientes	57
Tabla 15. Análisis Cualitativo de Metabolitos Secundarios de la raíz de llacón	68
Tabla 16. Criterios microbiológicos y límites permisibles según la ICMSF para extractos vegetales.....	75
Tabla 17. Evaluación del crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356 en medio MRS con diferentes concentraciones de extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob).....	83

Tabla 18. Métodos de análisis estadístico, validación y confiabilidad de los resultados	84
Tabla 19. Porcentaje de liofilización en muestras de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob)	85
Tabla 20. Análisis fisicoquímico de la raíz liofilizada de llacón	86
Tabla 21. Solubilidad cualitativa del extracto en diferentes disolventes orgánicos y agua	88
Tabla 22. Análisis fitoquímico cualitativo del liofilizado de raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob).....	90
Tabla 23. Composición proximal del liofilizado de raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob).....	92
Tabla 24. Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) en el extracto de raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob) determinado por HPLC-RID	98
Tabla 25. Evaluación microbiológica del extracto acuoso de raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob).....	100
Tabla 26. Estadísticos descriptivos del crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356 en función de tratamientos con extracto de raíz de llacón y control positivo (lactulosa)	102
Tabla 27. Análisis de varianza (ANOVA) del efecto del extracto de raíz de llacón y controles sobre el crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356 (UFC/mL)	103
Tabla 28. Pruebas post hoc – Test de Duncan para el número de colonias (UFC) de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	104

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma 1. Selección de población, muestra y muestreo	54
Flujograma 2. Procedimiento General.....	58
Flujograma 3. Localización de la planta	59
Flujograma 4. Validación taxonómica de la planta de llacón	60
Flujograma 6. Prueba de Solubilidad.....	67
Flujograma 7. Análisis fitoquímico cualitativo	69
Flujograma 8. Extracción de FOS	73
Flujograma 9. Cuantificación de FOS	74
Flujograma 10. Proceso de control microbiológico por criterio imperativo para detección de <i>Salmonella</i> spp.....	76
Flujograma 11. Proceso de control microbiológico por criterio de límites críticos para detección de hongos y levadura	77
Flujograma 12. Proceso de control microbiológico por criterio de alerta o límites críticos para detección de aerobios mesófilos	78
Flujograma 13. Proceso de control microbiológico por criterio indicativo de higiene para detección de coliformes fecales.....	79
Flujograma 14. Activación de la cepa <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de los Fructooligosacáridos	23
Figura 2. Mecanismo de acción de los prebióticos	24
Figura 3. Resumen de los mecanismos de acción de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LB	32
Figura 4. Ubicación geográfica de Limacpunko, distrito de Marcapata, provincia de Quispicanchi, Cusco, Perú.....	51
Figura 5. Vista satelital del centro poblado de Limacpunko, distrito de Marcapata, provincia de Quispicanchi, Cusco, Perú	51
Figura 6. Cromatograma del estándar de 1-Kestosa	95
Figura 7. Cromatograma de HPLC de la raíz de Ilacón liofilizado	956
Figura 8. Comparación Cromatográfica: Estándar de Kestosa vs. Ilacón liofiliza	97

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad prebiótica *in vitro* del extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. La metodología empleada fue de enfoque cuantitativo, con un muestreo no probabilístico por criterio y un total de 30 kg de raíz fresca, distribuidos entre tres plantones. El extracto se obtuvo por liofilización, con un rendimiento de 9.87%, y se caracterizó mediante análisis fisicoquímico, proximal y fitoquímico, además de cuantificar fructooligosacáridos (FOS) por HPLC-RID. Se establecieron siete grupos experimentales: control negativo, control positivo (lactulosa) y cinco tratamientos con extracto de llacón a concentraciones de 1%, 2%, 3%, 4% y 5%, evaluados por triplicado. Los resultados mostraron que el extracto presentó un pH de 6.18, acidez titulable de 0.86%, y 80.40 °Brix en sólidos solubles. El contenido de FOS fue de 16.5 g/100 mL. En cuanto al crecimiento bacteriano, los tratamientos con concentraciones del 2% y 3% favorecieron un crecimiento significativamente mayor de *L. acidophilus* (5.34×10^7 y 5.45×10^7 UFC, respectivamente), superando al control positivo (4.35×10^7 UFC), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$). Se concluye que el extracto de raíz de llacón, debido a su alto contenido de FOS y compuestos bioactivos, promovió el crecimiento de *L. acidophilus*, especialmente en concentraciones del 2% y 3%, sugiriendo su potencial como prebiótico natural para aplicaciones alimentarias y farmacéuticas.

Palabras clave: llacón, fructooligosacáridos, prebiótico, probiótico.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the *in vitro* prebiotic activity of llacón root extract (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) on the *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 strain.

The methodology employed was quantitative, with non-probability sampling based on criteria and a total of 30 kg of fresh root, distributed among three roots. The extract was obtained by lyophilization, with a yield of 9.87%, and characterized by physicochemical, proximate, and phytochemical analysis, in addition to quantifying fructooligosaccharides (FOS) by HPLC-RID. Seven experimental groups were established: negative control, positive control (lactulose), and five treatments with llacón extract at concentrations of 1%, 2%, 3%, 4%, and 5%, evaluated in triplicate. The results showed that the extract had a pH of 6.18, a titratable acidity of 0.86%, and 80.40 °Brix in soluble solids. The FOS content was 16.5 g/100 mL. Regarding bacterial growth, treatments with concentrations of 2% and 3% favored significantly greater growth of *L. acidophilus* (5.34×10^7 and 5.45×10^7 CFU, respectively), surpassing the positive control (4.35×10^7 CFU), with statistically significant differences ($p < 0.001$). It is concluded that the llacón root extract, due to its high content of FOS and bioactive compounds, promoted the growth of *L. acidophilus*, especially at concentrations of 2% and 3%, suggesting its potential as a natural prebiotic for food and pharmaceutical applications.

Keywords: llacón, fructooligosaccharides, prébiotique, probiotique.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, ha aumentado el interés por los prebióticos, compuestos que estimulan el crecimiento de bacterias beneficiosas como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, favoreciendo el equilibrio intestinal. Su importancia radica en su capacidad para prevenir y tratar diversas enfermedades intestinales, como el síndrome del intestino irritable y la disbiosis intestinal, además de fortalecer el sistema inmunológico y reducir la inflamación intestinal. Entre los prebióticos más estudiados se encuentran los FOS, inulina y galactooligosacáridos, reconocidos por sus beneficios digestivos (1,2).

El llacón, una raíz originaria de las regiones altoandinas del Perú, destaca por su alto contenido de FOS. Utilizado tradicionalmente en la alimentación y la medicina popular, este tubérculo posee notables propiedades nutritivas y terapéuticas. Sin embargo, su potencial como prebiótico aún está poco investigado, lo que lo posiciona como un recurso prometedor para el desarrollo de productos funcionales (3).

Lactobacillus acidophilus ATCC 4356, una cepa probiótica bien documentada, es conocida por sus efectos beneficiosos en la salud intestinal, como la producción de ácidos orgánicos y la inhibición de patógenos. Evaluar la interacción entre esta cepa y el extracto de llacón permitirá determinar si este último puede estimular el crecimiento bacteriano y mejorar la actividad metabólica de *L. acidophilus*, proporcionando evidencia sobre su potencial prebiótico (2,4).

Además de sus beneficios para la salud, el llacón ofrece una oportunidad económica para la región Cusco, donde su cultivo es tradicional. Su valorización en las industrias alimentaria, farmacéutica y nutracéutica podría traer beneficios para los productores locales y el mercado global.

En este sentido, el objetivo de esta investigación es evaluar la actividad prebiótica *in vitro* del extracto de llacón proveniente de Limacpunko, sobre la cepa *L. acidophilus* ATCC 4356. Este estudio busca contribuir al conocimiento científico sobre el potencial del llacón como fuente natural de prebióticos y su aplicación en el ámbito de la salud intestinal.

CAPÍTULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1. Planteamiento del problema

A nivel mundial, los trastornos digestivos y metabólicos, se han convertido en un problema de salud pública cada vez más prevalente. En particular las enfermedades relacionadas con la microbiota intestinal, tales como el síndrome del intestino irritable (SII) que afecta al 10-15% de la población mundial, principalmente mujeres, deteriorando la calidad de vida y generando altos costos médicos, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la obesidad y la diabetes, están en aumento según la organización mundial de la salud (OMS)(5,6).

En América Latina, los trastornos metabólicos, como la obesidad, la diabetes y las enfermedades digestivas crónicas, también son problemas de salud pública de creciente importancia. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), alrededor del 60% de la población adulta presenta sobrepeso u obesidad, lo que incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas ; y un estudio de Pontet et al. (2021) encontró una prevalencia promedio de síndrome del intestino irritable (SII) del 15.4% según criterios de Roma II y III, con Venezuela presentando la mayor prevalencia (37.9%), seguida de Chile y Perú, y Nicaragua la menor (5.5%)(7,8).

A nivel nacional, en Perú, los trastornos digestivos y metabólicos, especialmente la obesidad y la diabetes tipo 2, están aumentando, afectando a un porcentaje considerable de la población. Según el Ministerio de Salud del Perú, la prevalencia de estas enfermedades ha ido en aumento en los últimos años, con un significativo porcentaje de consultas gastroenterológicas relacionadas con el SII. Estos trastornos a menudo están asociados con disbiosis intestinal, un desequilibrio en la microbiota intestinal que puede ser tratado mediante el uso de prebióticos (9,10).

A nivel local, el llacón es cultivado tradicionalmente, pero no se explota científicamente en términos de sus propiedades prebióticas. Esta planta, rica en FOS, podría ser clave para mejorar la salud intestinal de la población local, que, al igual que en otras regiones del país, enfrenta altos índices de enfermedades digestivas y metabólicas. Sin embargo, la falta de infraestructura para la comercialización y el

conocimiento científico sobre sus beneficios prebióticos limita su aprovechamiento tanto a nivel local como nacional.

En este contexto, el llacón una raíz originaria de los Andes peruanos, ha sido identificado como una fuente rica en fructooligosacáridos (FOS), un prebiótico de reconocido efecto positivo en la salud intestinal. Sin embargo, su potencial como prebiótico aún está poco investigado. La falta de estudios científicos que respaldan su efectividad limita su uso y comercialización, tanto a nivel local como nacional. A pesar de ser un recurso agrícola valioso, el llacón no ha sido aprovechado adecuadamente para el desarrollo de productos funcionales que ayuden a modular la microbiota intestinal, restaurar el equilibrio bacteriano (eubiosis) y, potencialmente, reducir la prevalencia de enfermedades digestivas y metabólicas (11).

La falta de conocimiento científico sobre los beneficios prebióticos del llacón, sumada a la escasa infraestructura para su comercialización, restringe su aprovechamiento como un recurso para mejorar la salud intestinal y generar productos con valor agregado. Este vacío de investigación contribuye al desaprovechamiento económico del llacón como recurso agrícola en la región de Cusco y en el resto del país.

Si no se abordan estos problemas, las consecuencias para la salud pública podrían ser graves, generando mayores costos médicos, impacto en la calidad de vida y sobrecarga en los sistemas de salud. Además, se perderían oportunidades para el desarrollo de productos derivados del llacón, que podrían representar un beneficio económico significativo tanto a nivel local, nacional e internacional (12).

Este escenario resalta la necesidad de investigar y demostrar científicamente el potencial prebiótico del llacón, especialmente en lo que respecta a su capacidad para promover el crecimiento de bacterias beneficiosas, como *Lactobacillus acidophilus*, y restaurar el equilibrio de la microbiota intestinal. Esta investigación podría contribuir no solo a mejorar la salud digestiva y metabólica de la población, sino también a dinamizar la economía local mediante la valorización de este tubérculo como un recurso agrícola con alto potencial funcional.

1.2. Formulación del problema

¿Presentará actividad prebiótica *in vitro* el extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356?

1.3. Objetivos

1.3.1. Generales

Evaluar la actividad prebiótica *in vitro* del extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

1.3.2. Específicos

- Determinar el porcentaje de rendimiento del liofilizado de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob).
- Caracterizar el análisis fisicoquímico, la solubilidad y realizar el análisis fitoquímico cualitativo del liofilizado de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob).
- Determinar el análisis proximal del liofilizado de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob).
- Extraer los fructooligosacáridos (FOS) a partir del liofilizado de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob), siguiendo el método de Villafán Gonzáles et al. (2024) y cuantificar su contenido mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).
- Realizar un control microbiológico del extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) por el método de cultivo.
- Determinar la actividad prebiótica *in vitro* del extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 mediante el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC).

1.4. Justificación

1.4.1. Teórica

El llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) es una planta andina reconocida por su alto contenido de fructanos y fructooligosacáridos (FOS). Estos carbohidratos no digeribles son componentes clave con potencial prebiótico, es decir, actúan como sustrato selectivo para el crecimiento y actividad de bacterias beneficiosas en el intestino, como las del género *Lactobacillus*. Si bien la composición general del llacón ha sido estudiada, existe una brecha de conocimiento significativa respecto a la actividad prebiótica específica de variedades provenientes de microclimas particulares (13). Esta investigación busca llenar ese vacío al determinar la actividad prebiótica *in vitro* del extracto de la raíz de llacón de la región de Limanpuko-Marcapata, Cusco, contribuyendo así al cuerpo de conocimiento sobre las propiedades funcionales de esta planta adaptada a un entorno específico.

1.4.2. Práctica

Desde una perspectiva práctica, esta investigación tiene el potencial de generar resultados con aplicación directa en múltiples sectores. Al demostrar de manera científica la actividad prebiótica del extracto de llacón de Limanpuko-Marcapata, Cusco, se abre la puerta para su uso en la industria alimentaria. Este extracto podría servir como un ingrediente clave para el desarrollo de alimentos funcionales y suplementos nutricionales que promuevan la salud intestinal.

La validación de sus propiedades prebióticas no solo incrementa el valor comercial del llacón local, sino que también ofrece una alternativa natural y accesible a otros prebióticos comerciales, que a menudo son importados. Esto podría beneficiar directamente a los productores y cooperativas agrícolas de la región, al proporcionarles un nuevo argumento de venta y un incentivo para la producción sostenible de este cultivo andino.

1.4.3. Metodológica

La elección de un modelo *in vitro* para evaluar la actividad prebiótica es una aproximación estándar y rigurosa en la investigación microbiológica. Este método permite un control preciso de las condiciones experimentales como la temperatura y

el pH, lo que es fundamental para asegurar la reproducibilidad y la validez de los resultados, algo que sería complejo en estudios in vivo(14). La utilización de la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 es estratégica, ya que es una cepa probiótica ampliamente caracterizada y utilizada en estudios de este tipo, facilitando la comparación de nuestros hallazgos con investigaciones previas (15). En cuanto a la preparación del extracto se empleó el método propuesto Villafán Gonzáles et al (2024), el cual describe un procedimiento estandarizado para la extracción de fructooligosacáridos (FOS) a partir de matrices vegetales (16). Esta metodología permite conservar la integridad de los compuestos prebióticos, garantizando una muestra representativa y adecuada para su posterior análisis y evaluación biológica. De esta manera, se asegura que los efectos observados sobre el crecimiento bacteriano puedan atribuirse directamente a los FOS presentes en la raíz de llacón. Posteriormente, la cuantificación de FOS se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), técnica de referencia por su alta sensibilidad y especificidad, que asegura la identificación y determinación precisa de los azúcares funcionales presentes (17).

La inclusión de la lactulosa como patrón de referencia o control positivo es crucial para validar los resultados. La lactulosa es un disacárido sintético que ha demostrado ser un prebiótico efectivo en numerosos estudios, sirviendo como un sustrato ideal para el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos. Al comparar la actividad prebiótica del extracto de llacón con la lactulosa, se podrá determinar la efectividad relativa del extracto y validar si el efecto observado es comparable al de un prebiótico reconocido (18,19). Finalmente, la técnica de conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) es el método de referencia para cuantificar el crecimiento bacteriano, lo que garantiza una medición precisa y confiable del efecto prebiótico del extracto de llacón (20).

1.4.4. Económico

El cultivo de llacón a mayor escala en Perú representaría una oportunidad para generar ingresos, fomentar el desarrollo rural y mejorar la salud de la población. Al vincular a agricultores, ingenieros agrónomos y químicos farmacéuticos, se crearía una cadena de valor que beneficiaría a múltiples actores. La transformación del llacón en productos farmacéuticos representa una innovación que puede posicionar a Perú

como un líder en la producción de alimentos funcionales. Esta iniciativa no solo generaría empleo, sino que también promovería la investigación y el desarrollo en el sector agrícola, en la industria cosmética y nutracéutica.

1.4.5. Social

Esta investigación posee una relevancia social considerable, especialmente para la región de Cusco. Al demostrar la actividad prebiótica del llacón de Limanpuko-Marcapata, se puede valorizar un recurso nativo y ancestral, promoviendo su cultivo y consumo. Esto no solo podría abrir nuevas oportunidades de mercado para los agricultores locales, mejorando su economía, sino que también podría incentivar el desarrollo de productos con valor añadido, como alimentos funcionales o nutracéuticos, a partir de esta materia prima. Desde una perspectiva de salud pública, el llacón podría ofrecer una alternativa natural para mejorar la salud intestinal, contribuyendo a la prevención de diversas afecciones gastrointestinales y fortaleciendo el bienestar general de la población. De esta forma, la investigación vincula el conocimiento científico con el potencial de desarrollo socioeconómico y la mejora de la salud en la comunidad.

1.5. Hipótesis

El extracto de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) presenta actividad prebiótica *in vitro* sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 frente al patrón (Lactulosa).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Antecedentes internacionales

- Villafán Rodríguez et al. “PULPA Y CÁSCARA LIOFILIZADA DE PITAHAYA (*Selenicereus undatus*) PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y FUENTE POTENCIAL DE FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS”, UADY, México (2024) (16).

Villafán et al. (2024) realizaron un estudio enfocado en la caracterización fisicoquímica de la pitahaya (*Selenicereus undatus*) cultivada en dos localidades del estado de Yucatán, México, con el **objetivo** de evaluar parámetros físicos del fruto fresco y determinar el contenido de fructooligosacáridos (FOS) en la pulpa y la cáscara liofilizadas. Para ello, se analizaron pesos y diámetros del fruto fresco, y se determinaron seis descriptores fisicoquímicos y seis parámetros proximales mediante análisis estándar. La **metodología** empleada fue descriptivo-comparativa; La extracción de FOS se realizó utilizando el método sólido/líquido y los datos fueron comparados estadísticamente mediante la prueba t de Student. Los **resultados** mostraron diferencias significativas entre localidades, destacando un mayor peso de la cáscara en los frutos de Kinchil. La pulpa representó entre el 67–72 % del peso total, y presentó un contenido promedio de 10,42 % de fibra cruda y 6,92 % de proteína, mientras que la cáscara presentó un alto contenido de fibra (22,22 %) y cenizas (14,20 %). El rendimiento de extracción de FOS fue de 86,49 g/kg en pulpa liofilizada y 17,64 g/kg en harina de cáscara liofilizada. Los autores concluyen que la pitahaya cultivada en Yucatán posee buenas propiedades nutricionales, y que tanto la pulpa como la cáscara liofilizada pueden utilizarse como ingredientes funcionales en alimentos como jugos, yogures y mermeladas, por su alto contenido de fibra dietética y FOS, lo que refuerza su potencial como fuente natural de compuestos prebióticos.

- **Condado Huerta et al. “LOS FRUCTANOS DE AGAVE PROMUEVEN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA *IN VITRO* EN EL CONSORCIO PROBIÓTICO *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. AAM, Argentina(2024) (21).**

Condado Huerta et al. (2024) realizaron un estudio cuyo **objetivo** fue evaluar el efecto de los fructanos de agave (FA) en la formación de biopelículas por un consorcio de bacterias ácido lácticas (BAL), compuesto por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, y explorar su potencial como estrategia para modular la microbiota intestinal. Se aplicó una **metodología** con diseño experimental *in vitro*, en la que se expuso el consorcio probiótico a distintas concentraciones de FA, cuantificándose la biomasa bacteriana y evaluándose las características estructurales de las biopelículas formadas. Los **resultados** revelaron que la adición de una baja concentración de FA (0,1%) promovió significativamente la formación de biopelículas por parte del consorcio de BAL. Este efecto se atribuyó a que los FA podrían actuar como sustrato para el crecimiento bacteriano y la síntesis de exopolisacáridos, componentes clave en la estructura de las biopelículas. Los autores concluyen que los fructanos de agave tienen un potencial efecto prebiótico al favorecer la formación de biopelículas en bacterias benéficas, lo que podría aprovecharse en el diseño de nuevas estrategias probióticas y prebióticas orientadas a la prevención y tratamiento de enfermedades como la obesidad, la diabetes y las patologías inflamatorias intestinales.

- **Oñate-Perpiñán YM. en su estudio “PROTOTIPO DE LOS PREBIÓTICOS DEL LLACÓN PARA PROBLEMAS DIGESTIVOS Y DIABETES”, UNAD, Colombia (2023)(22).**

El presente estudio se propuso diseñar un prototipo de edulcorante en polvo a base de prebióticos extraídos del llacón, con el **objetivo** de desarrollar un producto natural y saludable para personas con problemas digestivos y diabetes. A través de una **metodología** mixta (exploratoria, descriptiva, experimental y correlacional), se caracterizó la composición fisicoquímica del llacón, se evaluaron diferentes métodos de extracción de prebióticos y se desarrolló un prototipo de producto final. Los **resultados** obtenidos permitieron determinar la composición

química del llacón y confirmar la presencia de inulina y FOS en cantidades significativas. Además, se logró optimizar un proceso de extracción que permitió obtener un producto con alto contenido de prebióticos. El prototipo de edulcorante en polvo desarrollado demostró ser una alternativa viable para personas que buscan endulzar sus alimentos de forma natural y saludable. Este estudio aporta una valiosa contribución al campo de los alimentos funcionales, al demostrar el potencial del llacón como fuente de prebióticos y al desarrollar un nuevo producto que puede beneficiar la salud de la población.

2.1.2. Antecedentes nacionales

- **Ancelma Q, Yesenia R, “IDENTIFICACIÓN DE FRUCTANOS Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE JARABES DE LLACÓN (*Smallanthus sonchifolius*). COMPORTAMIENTO CINÉTICO”, UNALM, Lima -Perú (2024) (23).**

El estudio de Quispe De la Cruz (2023) tuvo como objetivo analizar la cinética de los fructooligosacáridos (FOS) de tipo nistosa y kestosa, entre otros metabolitos, presentes en los jarabes de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) procedentes de los departamentos de Amazonas y Huánuco, Perú, y su estabilidad a diferentes temperaturas. La **metodología** empleada fue experimental de tipo acelerado para ello se realizaron pruebas aceleradas a temperaturas de 45, 65 y 85 °C durante una semana para estudiar la variación en las concentraciones de FOS. El análisis se llevó a cabo mediante HPLC-RID con una fase móvil acetonitrilo:agua (70:30 v/v), y LC-MS para identificar compuestos adicionales. Los indicadores de calidad analizados fueron los FOS, azúcares reductores y la capacidad antioxidante, utilizando modelos de reacción de primer orden y de orden cero, respectivamente. Los **resultados** se observaron cambios significativos en las concentraciones de FOS, especialmente en los días 4 y 5 del estudio, con el jarabe de Huánuco mostrando mayores concentraciones de kestosa (9.555 g/100g) y nistosa (8.372 g/100g), en comparación con el jarabe de Amazonas (6.799 g/100g y 5.424 g/100g) y La vida útil predictiva del jarabe de llacón se estimó en 7 días, con un 75% de conservación de los compuestos activos. El estudio concluyó que el jarabe de llacón conserva bien sus compuestos bioactivos durante una semana, garantizando una ingesta adecuada de

metabolitos. No obstante, las reacciones químicas a diferentes temperaturas afectan las concentraciones de fructooligosacáridos (FOS), lo cual es importante para el desarrollo de productos funcionales.

- **Mascco R, Jackelin L, “CUANTIFICACIÓN DE FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS POR HPLC-RID E INULINA MEDIANTE UV-VIS EN PRODUCTOS DE LLACÓN (*Smallanthus sonchifolius*) PROVENIENTES DE DOS REGIONES DEL PERÚ DE DIFERENTES ALTITUDES”, Lima-Perú (2023) (24).**

Este estudio cuantificó los fructooligosacáridos (FOS) e inulina en productos de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) de Bagua (Amazonas) y Pachitea (Huánuco), con el **objetivo** de analizar su contenido nutricional. La metodología empleada fueron dos métodos analíticos: HPLC-RID para los FOS (kestosa y nistosa) y espectrofotometría UV-VIS para la inulina. La validación de los métodos se basó en las normativas europeas y brasileñas, evaluando parámetros como linealidad, LOD, LOQ, recuperación y precisión. Se obtuvieron buenos **resultados** de validación: linealidad de 0.991 y 0.982 para kestosa y nistosa, respectivamente, y una linealidad de 0.985 para inulina. El jarabe de Pachitea presentó mayor concentración de FOS, y el jugo de Pachitea fue el de mayor concentración de inulina. Concluyendo que la composición de los productos de llacón varía según la región.

- **González R, Natalia C., “EVALUACIÓN DEL EFECTO PREBIÓTICO DEL EXTRACTO DE LLACÓN (*Smallanthus sonchifolius*) EN LA VIABILIDAD DE *Lactobacillus* sp BAJO CONDICIONES GASTROINTESTINALES HUMANAS SIMULADAS in vitro”, UNS, Nuevo Chimbote-Perú (2022) (3).**

Este estudio tuvo como **objetivo** evaluar el impacto del extracto de llacón en la viabilidad y crecimiento de *Lactobacillus* sp. bajo condiciones de pH 2.0 y sales biliares al 0.3%. La **metodología** empleada fueron pruebas in vitro de tolerancia gastrointestinal simulada para ello se realizaron pruebas in vitro de tolerancia a pH 2.0 y sales biliares al 0.3%, y se analizó la cinética de crecimiento de *Lactobacillus* sp. en medio MRS con y sin extracto de llacón durante 24 horas a 37°C. Los datos fueron evaluados estadísticamente. El resultado fue que la viabilidad de *Lactobacillus* sp. en condiciones de pH 2.0 y sales biliares fue de 39.67% y 86.17%, respectivamente, con el extracto de llacón y el medio con extracto

prebiótico mostró un tiempo de duplicación mayor y mayor velocidad de crecimiento. Concluyeron que el extracto de llacón mejora la viabilidad y el crecimiento de *Lactobacillus* sp., lo que sugiere que puede ser un prebiótico beneficioso para aplicaciones probióticas.

2.1.3. Antecedentes locales

- **Calcina Andaluz “INTERACCIÓN ENTRE HARINA DE LLACÓN Y ACEITE DE COPAIBA SOBRE LA MORFOMETRÍA INTESTINAL Y PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN POLLOS DE ENGORDE EN CONDICIONES DE ALTURA” UNSAAC, Cusco – Perú (2023)(25).**

La investigación realizada por Calcina Andaluz, tuvo como objetivo evaluar el efecto de la harina de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) y el aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) sobre la salud intestinal y la productividad de pollos de engorde de la línea Cobb 500. El estudio comparó el rendimiento de cinco grupos, incluyendo un control negativo, un control positivo con antibiótico, y tratamientos con harina de llacón (0.25%), aceite de copaiba (0.15 ml/Kg), y una combinación de ambos aditivos. Los resultados destacaron un efecto positivo y significativo de la harina de llacón en la morfometría intestinal. En los días 7 y 14, se observó que el grupo alimentado con harina de llacón (T3) presentó una mayor altura y ancho de vellosidad, una menor profundidad de cripta y una mejor relación vellosidad:cripta en los segmentos del duodeno, yeyuno e íleon. Estos hallazgos son cruciales, ya que una morfología intestinal optimizada indica una mayor superficie de absorción de nutrientes y una mejor salud del tracto digestivo. En cuanto a los parámetros productivos, el estudio encontró que, aunque no hubo diferencias significativas al inicio del ciclo, el uso de la harina de llacón (T3) generó mejoras significativas en la etapa de acabado. Específicamente, este tratamiento resultó en una mayor ganancia de peso, un menor consumo de alimento y una mejor conversión alimenticia, así como un mayor rendimiento de carcasa. Concluyen que el llacón, gracias a su efecto prebiótico, puede ser una alternativa natural a los antibióticos para mejorar la salud intestinal y optimizar el rendimiento productivo en la avicultura.

- **Ccoyori Q, Raúl., Huahuatico Vladimir. “OBTENCIÓN DE YOGURT SIMBIÓTICO LIOFILIZADO A DIFERENTES TEMPERATURAS Y PORCENTAJES DE JARABE DE LLACÓN (*Smallanthus sonchifolius*)”, UNSAAC, Cusco-Perú(2022)(26).**

El estudio tuvo como **objetivo** obtener yogurt simbiótico liofilizado a diferentes temperaturas y porcentajes de jarabe de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) y evaluar su contenido de fructooligosacáridos (FOS). La **metodología** que se utilizó es un diseño factorial 3x2 con tres niveles de jarabe de llacón (4%, 9%, 14%) y dos temperaturas de liofilización (-20°C y -40°C). Se analizaron seis muestras usando cromatografía HPLC para medir el FOS. Teniendo como **resultado** que antes de liofilizar, el yogurt con 9% de jarabe de llacón tenía 1.29 g de FOS/100g. Después de liofilizar, a -20°C la concentración fue de 5.35 g/100g, y a -40°C fue de 4.90 g/100g. Concluyendo que la liofilización a -20°C aumentó la concentración de FOS en el yogurt simbiótico, destacando el jarabe de llacón como un buen potenciador de FOS en el producto.

- **Quispe C, Aldo, “ESTUDIO COMPARATIVO Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD PREBIÓTICA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS SECOS DEL BULBO DE CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y DEL BULBO DE AJO (*Allium sativum* L.) SOBRE *Lactobacillus acidophilus* cepa ATCC 4356.” UNSAAC, Cusco – Perú (2019) (27).**

Quispe (2019) investigó la actividad prebiótica in vitro de los extractos secos acuosos de bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) y ajo (*Allium sativum* L.) sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Tuvo como objetivo comparar la actividad prebiótica de los extractos de cebolla y ajo en el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*. La metodología que se utilizó fue un diseño cuasi experimental, realizando diluciones en agar MRS y evaluando el crecimiento bacteriano tras la adición de extractos de cebolla y ajo. Se analizaron los niveles de fructosa, azúcares reductores e inulina en los extractos. Los resultados obtenidos fueron que ambos extractos contienen fructosa, azúcares reductores e inulina, componentes clave para la actividad prebiótica, promoviendo el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*. Llegando a una conclusión que los extractos de cebolla y ajo son fuentes de prebióticos que estimulan el crecimiento de bacterias beneficiosas en el intestino, como *Lactobacillus acidophilus*.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Llacón

El llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob), es una raíz andina consumida desde tiempos preincaicos. Aunque históricamente se ha cultivado en comunidades rurales como medio de subsistencia, no ha alcanzado la misma relevancia comercial que otros cultivos andinos, como la papa o el camote (13).

2.2.1.1. Taxonomía y descripción botánica

Botánicamente, el llacón pertenece a la familia **Asteraceae**, originalmente clasificado en el género **Polymania**, fue posteriormente asignado al género **Smallanthus** por Robinson en 1978. Esta planta es conocida por acumular fructanos, especialmente inulina, un tipo de fructooligosacárido con un mayor grado de polimerización, lo que le otorga importantes propiedades prebióticas (13).

Fotografía 1. Raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)



Fuente: Fotografía tomada por los autores (2024)

Fotografía 2.Planta de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)



Fuente: Fotografía tomada por los autores (2024)

Tabla 1.Clasificación taxonómica

TAXONOMÍA	
ORDEN:	<i>Asterales Link</i>
FAMILIA:	<i>Asteraceae Bercht. & J. Presl</i>
GÉNERO:	<i>Smallanthus Mack</i>
ESPECIE:	<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob

Fuente: Herbario San Marcos (HSM)

2.2.1.2. Características de la planta

Tabla 2. Descripción de la planta

Tallos	El tallo es Cilindro, peludo, hueco de color verde morado
Cepa o Corona	Es una estructura vegetal adaptada para el almacenamiento de nutrientes (FOS y carbohidratos simples) y la propagación vegetativa. Es una parte esencial de muchas plantas, especialmente aquellas que necesitan sobrevivir en condiciones ambientales difíciles.
Hoja	Las hojas del llacón tienen una disposición característica, creciendo de a pares en el tallo. Su forma es triangular o acorazonada, y su tamaño varía dependiendo de la etapa de desarrollo de la planta.
Inflorescencia	La inflorescencia del llacón es una estructura compleja formada por numerosos capítulos florales. Las flores femeninas, con sus llamativas lígulas, son las más visibles. La forma y tamaño de estas lígulas son características distintivas que permiten diferenciar las diferentes variedades de llacón.
Flor femenina	Las flores femeninas del llacón tienen una corola tubular con una característica estructura llamada lígula. La forma y tamaño de esta lígula es una característica importante para diferenciar las diferentes variedades de llacón.
Flor masculina	Estas flores tienen una particularidad en su apertura y en la función de sus pistilos. Su forma tubular, formada por cinco pétalos unidos, es otra característica distintiva.
Fruto	Este tipo de fruto es seco, de una sola semilla y con una pared dura. Se desarrolla a partir de varios carpelos y tiene una apariencia característica con surcos paralelos en su superficie.
Semilla	Las semillas están unidas al fruto solo por un punto. Este punto de unión se llama funículo. El funículo es una especie de "cordón" que conecta la semilla (que se desarrolla a partir del óvulo fecundado) con la pared del ovario, que luego se convierte en el fruto.
Raíz	-Raíces fibrosas: Delgadas y ramificadas, cumplen la función de fijar la planta al suelo y absorber agua y nutrientes esenciales para su crecimiento. -Raíces de reserva: Gruesas y carnosas, con forma de huso u ovalada. Estas raíces almacenan nutrientes como almidón, lo que les otorga un color blanco, crema o morado. Sirven como reserva de alimento para la planta, especialmente durante los períodos de escasez.

Fuente: Seminario et al. (2003)(13).

2.2.1.3. Tipos de llacón

La variabilidad de formas cultivadas o morfotipos de llacón es alta tanto en el norte como en el sur de Perú.

- **En el norte (Cajamarca, Amazonas, Piura, Lambayeque y La Libertad):** Inicialmente se registraron 8 morfotipos, pero una re-caracterización reciente con descriptores morfológicos estandarizados definió 7. Los morfotipos más comunes son "morado", "amarillo", "blanco" y "verde purpura", los tres primeros distribuidos en toda la región andina. Además se han identificado 5 especies silvestres (*S. fruticosus*, *S. glabratus*, *S. jelksii*, *S. parviceps*, *S. siegesbckius*) de llacón en el norte de Perú (13,13).
- **En el sur (Cusco, Apurímac y Puno):** Se han identificado 5 morfotipos, conocidos localmente como "qello llakjun", "cheqche llakjun", "Yurac checche", "Yurac llakjun" y "culli llakjun". En esta zona se han identificado 3 especies silvestres (*S. glabratus*, *S. parviceps*, *S. siegesbckius*) (13,28).

Tabla 3.Variedades de Ilacón

Morfortipos								
Carácter	I	II	III	IV	V	VI	VII	PS
Color de tallo	Rojo púrpura	Verde Púrpura	Verde	Rojo púrpura	Verde Púrpura	Verde	Marrón	Verde Oscuro
Ramificación del tallo	En todo el tallo	Apical	Apical	En todo el tallo	En todo el tallo	Ausentes	Apical	En todo el tallo
Color de lámina	Verde Oscuro	Verde	Verde Oscuro	Verde Oscuro	Verde	Verde	Verde oscuro	Verde
Traslape de auriculares	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Forma de lámina	Triangular	Triangular	Triangular hastada	Cordada	Triangular	Triangular hastada	Triangular	Triangular sub hastada
Base de lámina	Hastada	Truncada	Hastada	Cordada	Truncada	Hastada	Truncada	Sub hastada
Borde de lámina	Aserrado	Crenado	Doblemente aserrado	Crenado	Crenado	Aserrado	Aserrado	Crenado
Color de ligula	Amarillo anaranjado	Amarillo anaranjado	Amarillo anaranjado	Amarillo oscuro	Amarillo oscuro	Amarillo anaranjado	Amarillo oscuro	Amarillo anaranjado
Forma de ligulas	Oblonga	Ovada	Elíptico	Ovada	Ovada elíptica	Ovada	Ovada	Ovada
Número de dientes de ligula	3	2	3	3	2	3	3	3
Color externo de la raíz	Púrpura grisáceo	Anaranjado grisáceo	Anaranjado grisáceo	Púrpura grisáceo	Púrpura grisáceo	Púrpura grisáceo	Anaranjado grisáceo	Rojo grisáceo
Color de la pulpa de la raíz	Anaranjado	Anaranjado grisáceo	Anaranjado	Amarillo	Anaranjado	Anaranjado	Amarillo	Amarillo
Hendidura en la raíz	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
Color de propágulo	Rojo púrpura	Blanco	Blanco con rojo púrpura	Rojo púrpura	Rojo púrpura	Blanco con rojo púrpura	Rojo púrpura	Verdoso
Número de flores masculinas	86(0.9)	87(0.8)	84(0.9)	Nd	Nd	Nd	Nd	98.5(17)
Número de flores masculinas	15(0.9)	16(0.8)	15(0.9)	Nd	Nd	Nd	Nd	16.5(1.8)
Los números entre paréntesis corresponden a la desviación estándar Nd: No determinado PS: Parientes silvestres(<i>Smallanthus jelski</i>)								

Fuente: Seminario et al. (2003)(13).

2.2.1.4. Descripción geográfica

El cultivo de Llacón se extiende desde los países de Venezuela y Colombia hasta el norte de Argentina, su distribución y variaciones se evidencia en los países de Argentina, Ecuador, Bolivia, Ecuador y Perú. En Argentina se cultiva en algunas provincias como Salta y Jujuy; en Bolivia en los departamentos de Cochabamba, Tarija, Chuquisaca, y La Paz; en Ecuador en las provincias de Carchi, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Canal, Azuay y Loja y en Perú en 18 provincias: Pasco, Junín, Lima, Huancavelica, Ayacucho, Apurímac, Lambayeque, Piura, Amazonas, Oxapampa, Ancash, Cusco, Huánuco, Cajamarca, La Libertad, San Martín, Arequipa y Puno. Los departamentos con mayor producción son Puno, Ancash, Cajamarca, Oxapampa, Huánuco y Junín (13).

2.2.1.5. Composición química y nutricional

El llacón es uno de los rizomas de almacenamiento comestible y presenta mayor contenido de agua, representando del 83 al 90% del peso fresco de la raíz. El Llacón almacena carbohidratos en forma de FOS y azúcares libres (fructosa, glucosa y sacarosa) y no lo almacena en forma de almidón. En general, los carbohidratos constituyen alrededor del 90% del peso seco de las raíces recién cosechadas, de los cuales el 50-70% son fructooligosacáridos y los carbohidratos restantes son sacarosa (5-15%), fructosa (5-15%) y glucosa baja menos del 5 % (Ver Tabla 4 y 5)(13,28).

Las proteínas y los lípidos son menos abundantes, oscilando entre el 2,4% y el 4,3% y entre el 0,14% y el 0,43% del peso de materia seca, respectivamente. El mineral más común es el potasio, con una media de 230 mg por 100 g de alimento fresco. Y se encuentran en cantidades minoritarias los minerales como calcio, fósforo, magnesio, sodio y hierro. Las raíces almacenadoras incluso acumulan potasio, compuestos fenólicos, antioxidantes como el ácido clorogénico, triptófano y varias fitoalexinas (13,28).

Tabla 4. Composición química promedio del llacón fresco (*Smallanthus sonchifolius*) por kilogramo de raíces comestibles

Componente	Promedio	Rango
Materia Seca (g)	115	98 - 136
Carbohidratos Totales (g)	106	89 - 127
Fructanos (g)	62	31 - 89
Glucosa (g)	3.4	1.3 - 5.9
Fructosa (g)	8.5	3.9 - 21.1
Sacarosa (g)	14	10 - 19
Proteína (g)	3.7	2.7 - 4.9
Fibra (g)	3.6	3.1 - 4.1
Lípidos (mg)	244	112 - 464
Calcio (mg)	87	52 - 131
Fósforo (mg)	240	1822 - 309
Potasio (mg)	2282	1843 - 2946

Fuente: Seminario et al. (2003)(13).

La composición del azúcar depende de factores como la variedad, época de siembra, cosecha, temperatura y postcosecha (Tabla 5). No está claro cómo influyen los factores genéticos y el hábitat, lo que dificulta la identificación de especies; por ello, es más práctico identificar raíces y tallos por su color (28).

Tabla 5. Composición química y rendimiento de tres cultivares de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) provenientes de Cajamarca

Componente/Cultivar	Cultivar 1	Cultivar 2	Cultivar 3
Materia seca (g)	136	98	115
Carbohidratos totales (g)	127	69	105
FOS(g)	89	31	61
Glucosa Libre(g)	2.8	2.3	4.5
Fructosa libre(g)	4.6	21.1	7.5
Sacarosa libre(g)	12	19	14
Proteínas(g)	3.3	3.5	4.9
Lípidos(mg)	191	289	311
Fibra(mg)	3.6	3.5	3.7
Potasio (mg)	2859	1969	1999
Rendimiento de raíces(t/ha)	23	84	10

Fuente: Manrique et al. (2003)(28).

2.2.1.6. Otros componentes

Las raíces de llacón contienen alrededor de 200 mg/100 g de polifenoles, principalmente ácido clorogénico y derivados del ácido cafeico, junto con otros compuestos antioxidantes como ácido ferúlico, ácido gálico, triptófano y quercetina (28).

2.2.1.7. Propiedades funcionales

- **Prebióticos:** El llacón es rico en fibras solubles como los fructooligosacáridos (FOS) e inulina, que actúan como prebióticos. Estas fibras no se digieren en el intestino delgado y llegan al colon, donde son fermentadas por bacterias beneficiosas como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como acetato, propionato y butirato, los cuales reducen el pH intestinal, inhiben bacterias patógenas, mejoran la absorción de minerales y favorecen la proliferación celular intestinal (29).
- **Antioxidantes:** El llacón es un potente antioxidante por su composición de compuestos como los ácidos ferúlico, clorogénico y cafeico, presentes en raíces y hojas, que neutralizan los radicales libres, ayudando a prevenir enfermedades crónicas como cáncer, diabetes y problemas cardiovasculares, además de ser útil en el desarrollo de terapias antioxidantes y fármacos antiinflamatorios (30).
- **Antiinflamatorios:** El llacón presenta efectos beneficiosos como propiedades antiinflamatorias que regulan factores inflamatorios y reducen el daño hipocampal en neuroinflamación, su contenido de fructooligosacáridos (FOS) e inulina favorece un microbiota intestinal saludable, mejora la absorción de minerales y modula el sistema inmunológico, influenciando el equilibrio de linfocitos Th1/Th2, lo que resalta su potencial como agente terapéutico multifacético (31).
- **Hipoglucemiante e hipolipemiante:** Las hojas y raíces de llacón tienen propiedades hipoglucemiantes, reduciendo los niveles de glucosa en sangre mediante la liberación de insulina y la inhibición de la α -glucosidasa, con efectos comparables a la metformina en estudios con ratas, además la harina

de raíz de llacón ayuda a controlar el peso corporal, reducir la ingesta de alimentos y mejorar el perfil lipídico, mientras que el jarabe reduce la glucosa posprandial en mujeres obesas, gracias a su contenido de fructooligosacáridos (FOS) y compuestos fenólicos (29,31).

- **Anticancerígena:** El llacón muestra potencial anticancerígeno al inhibir el crecimiento y migración de células cancerosas, inducir necrosis y bloquear el ciclo celular. Su harina, rica en fructooligosacáridos (FOS), actúa como prebiótico, mejorando la microbiota intestinal, reduciendo la proliferación de bacterias patógenas y disminuyendo la formación de criptas aberrantes. Los FOS producen butirato, que reduce la quimiorresistencia, bloquea histonas desacetilasas e induce apoptosis en células tumorales. Además, su extracto etanólico, rico en antioxidantes y compuestos fenólicos, muestra efectividad contra el glioma maligno (31).

2.2.1.8. Usos tradicionales y actuales

- **Medicina tradicional:** El llacón se consume tradicionalmente por sus propiedades hidratantes, hepatoprotectoras, contra el estreñimiento, hipocolesterolemiantes, hipoglucemiantes, antimicrobianas, antioxidantes, fotoprotectoras, antihipertensivas y renales, además de utilizarse su follaje como forraje; en Cajamarca se emplea para aumentar la secreción láctea, aunque algunos usos carecen de respaldo científico (32).
- **Alimentación:** El llacón se procesa en productos como jarabe, polvo y cápsulas, destacándose por su bajo contenido calórico y alto en FOS e inulina, con potencial para mejorar la saciedad y controlar el peso; así también se explora en aplicaciones como el tratamiento de la depresión y en productos de panadería bajos en calorías. Su seguridad como alimento y prebiótico está respaldada por su historial y estatus GRAS de los FOS, con aprobación regulatoria en varios mercados internacionales, aunque el uso de sus hojas como té requiere más estudios (33)
- **Industria:** El llacón del género *Smallanthus sonchifolius* tiene propiedades y acciones: fibra dietética, prebióticos, edulcorantes naturales, antioxidantes,

actividad, antiinflamatoria, antifúngica, antibiótica hipoglucemiante e insecticida (30).

2.3. Prebióticos

2.3.1. Definición

El concepto de prebióticos, propuesto por los profesores Gibson y Roberfroid en 1995, se refiere a una "matriz nutricional que, si los microbios huéspedes la utilizan selectivamente, puede conferir beneficios para la salud" y consiste principalmente en polisacáridos y oligosacáridos sin almidón, utilizándose principalmente en galletas, cereales, chocolate, pasta y productos lácteos. En 2015, se revisó el término "prebióticos" para incluir "compuestos no digeribles que regulan la composición y/o actividad de la microbiota intestinal a través del metabolismo de los microorganismos intestinales, produciendo así un efecto fisiológico en el huésped (34,35).

A la fecha, la mayoría de los prebióticos son utilizados como ingredientes alimenticios o suplementos y son activos en el tubo digestivo. Eventualmente puede alcanzar otros ecosistemas microbianos (piel, boca, conducto genital femenino) (35,36).

2.3.2. Tipos de prebióticos

- Fructanos (inulina y oligofructosa)
- Galactooligosacáridos (derivados de la leche de vaca)
- Betaglucanos (paredes celulares de algunos granos de cereal, también encontrados en ciertos hongos y algunas algas)
- Almidón y oligosacáridos derivados de la glucosa (polidextrosa, almidón resistente a la digestión)
- Otros oligosacáridos (pectinas)
- Lactulosa (isómero de lactosa)
- Oligosacáridos de la leche humana (>200 oligosacáridos diferentes, apenas comenzando a descubrirse a entender su rol metabólico).

2.3.3. Fisiología de los prebióticos

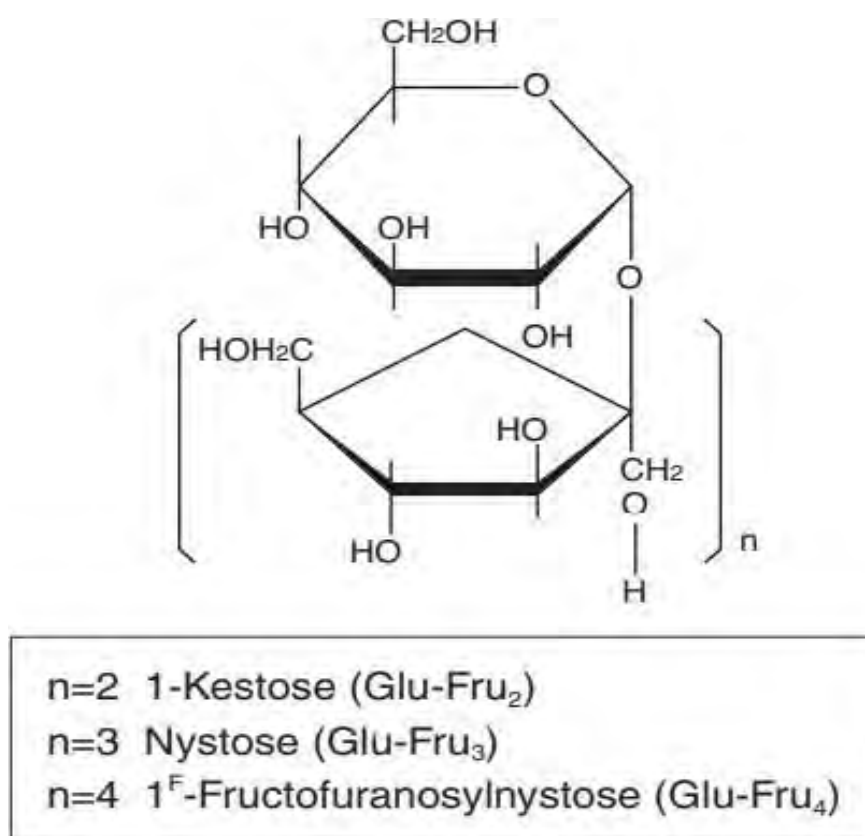
Los prebióticos son carbohidratos no digeribles que pasan intactos por el sistema digestivo superior (boca, estómago e intestino delgado). Esto se debe a que las enzimas digestivas humanas, como la amilasa, disacaridasas y enzimas

pancreáticas, no son capaces de hidrolizar los enlaces β -(2 $\rightarrow$ 1) de su estructura. Como resultado, llegan en gran cantidad al colon, donde son fermentados por la microbiota intestinal (37).

2.3.4. Fructooligosacáridos

Los fructooligosacáridos (FOS) son oligosacáridos de origen natural presentes en diversas plantas como la cebolla, la achicoria, el ajo, el espárrago, el plátano y la alcachofa, entre otras. Están formados por cadenas cortas de fructosa, generalmente de 2 a 7 unidades, unidas mediante enlaces β -(2 $\rightarrow$ 1), y que suelen terminar en una molécula de glucosa (38).

Figura 1. Estructura química de los Fructooligosacáridos



Fuente: Analytical Chemistry,(2006)(39)

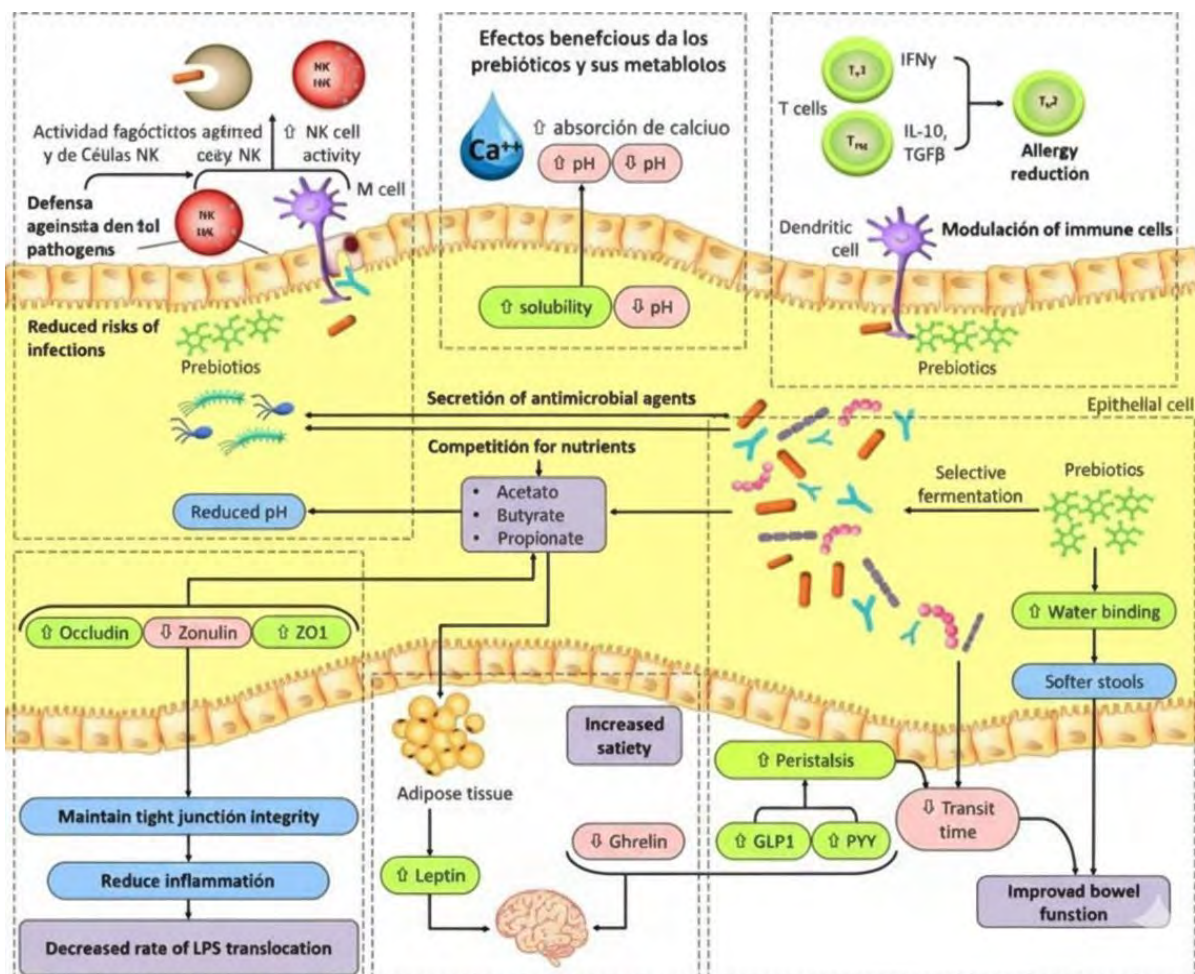
2.3.4.1. Mecanismo de acción

En el colon, los prebióticos actúan como un sustrato selectivo para la microbiota residente. Esto significa que no todas las bacterias pueden utilizarlos; su consumo se limita a cepas beneficiosas, principalmente bifidobacterias y lactobacilos. Este proceso se conoce como fermentación bacteriana (37,40).

Los productos finales de esta fermentación son:

- **Gases:** Hidrógeno, dióxido de carbono y metano, que son el resultado del metabolismo microbiano.
- **Ácidos grasos de cadena corta (AGCC):** El acetato, el propionato y el butirato son los AGCC más importantes. Su producción depende de la estructura del prebiótico; por ejemplo, la inulina, que se fermenta más lentamente, tiende a generar más butirato.

Figura 2. Mecanismo de acción de los prebióticos



Fuente: The promotion mechanism of prebiotics for probiotics(2022)(40).

2.3.4.2. Efectos en el metabolismo y salud humana

Incremento en los niveles de bacterias saludables (bifidobacterias y lactobacilos): Este es el efecto más directo y fundamental de los prebióticos. Al servir como sustrato alimenticio específico, fomentan la proliferación de estas bacterias beneficiosas, que son cruciales para mantener un equilibrio saludable en el ecosistema intestinal. Una microbiota rica en estas cepas se asocia con una mejor digestión, absorción de nutrientes y protección contra patógenos (37,40).

- **Producción de metabolitos beneficiosos (butirato, acetato, propionato):** La fermentación de los prebióticos por estas bacterias produce Ácidos Grasos de Cadena Corta (AGCC) como el butirato, el acetato y el propionato (y en menor medida, lactato y piruvato)(34,37).
- **Butirato:** Es vital para la salud del colon. Los colonocitos, las células que recubren el intestino grueso, obtienen hasta un 75% de su energía del butirato. Además de nutrir estas células, el butirato actúa como un regulador del crecimiento celular, promoviendo la diferenciación y la apoptosis (muerte celular programada) de células dañadas. Este mecanismo sugiere un efecto protector contra el cáncer de colon (34).
- **Acetato y Propionato:** Estos AGCC se absorben en el torrente sanguíneo y se transportan al hígado y otros tejidos. El propionato tiene un efecto metabólico especialmente notable, ya que inhibe la síntesis hepática de colesterol y puede disminuir los niveles de triglicéridos plasmáticos. Esto lo hace un compuesto de interés en la prevención de enfermedades cardiovasculares (40).
- **Impacto en la masa fecal:** La fermentación de los prebióticos aumenta la biomasa de las bacterias en el colon, que constituyen aproximadamente la mitad de la masa fecal. Este incremento ayuda a mejorar los síntomas de la constipación al facilitar el tránsito intestinal (40).

2.3.4.3. Optimización de la absorción y reducción de compuestos nocivos

- **Incremento en la absorción de minerales (calcio, magnesio, entre otros):** La fermentación de los prebióticos en el colon produce AGCC que acidifican el

lumen intestinal. Este ambiente más ácido aumenta la solubilidad de minerales como el calcio y el magnesio, facilitando su absorción a través de la mucosa colónica. Esto tiene implicaciones directas en la salud ósea y otras funciones metabólicas dependientes de estos minerales (34,41).

- **Reducción de la fermentación proteica:** Una microbiota desequilibrada puede llevar a una fermentación excesiva de proteínas en el colon, lo que genera compuestos potencialmente tóxicos como amonio, fenoles e indoles. Al promover el crecimiento de bacterias sacarolíticas (que fermentan carbohidratos como los prebióticos), se reduce la disponibilidad de proteínas para la fermentación putrefactiva, disminuyendo la producción de estos metabolitos dañinos y contribuyendo a un ambiente intestinal más saludable (34).
- **Disminución de las poblaciones bacterianas patógenas:** El fomento del crecimiento de bacterias beneficiosas (bifidobacterias y lactobacilos) crea un efecto de exclusión competitiva. Estas bacterias saludables compiten por el sustrato y los sitios de adhesión en la pared intestinal, además de producir compuestos antimicrobianos (como AGCC y bacteriocinas) que inhiben el crecimiento de bacterias patógenas y reducen su capacidad de colonización. Esto se traduce en una mayor resistencia a infecciones gastrointestinales (40,42).

2.3.4.4. Modulación inmunológica y reducción de riesgos en salud

- **Efecto estimulante en la permeabilidad de la barrera intestinal:** Si bien la frase exacta en la fuente indica "efecto estimulante", el concepto clave es la mejora de la integridad de la barrera intestinal (reducción de la permeabilidad). El butirato, producido por la fermentación prebiótica, fortalece las uniones estrechas (tight junctions) entre las células epiteliales del intestino. Una barrera intestinal íntegra previene el paso de toxinas y patógenos del lumen intestinal al torrente sanguíneo, lo que a su vez reduce la inflamación sistémica y el riesgo de enfermedades asociadas con una "permeabilidad intestinal aumentada" o "intestino permeable" (34,43).

- **Reducción en el riesgo de alergia:** La modulación de la microbiota por los prebióticos juega un papel crucial en el desarrollo y la maduración del sistema inmunitario durante la infancia. Una microbiota equilibrada desde temprano puede influir en la respuesta inmune, promoviendo un balance Th1/Th2 adecuado que se asocia con una menor incidencia de alergias y enfermedades atópicas (34,44).
- **Mejoría en el sistema inmunitario de defensa:** Los prebióticos indirectamente potencian el sistema inmune al influir en la composición y actividad de la microbiota. El intestino es un sitio clave para el tejido linfoide asociado al intestino (GALT). Los AGCC y otros metabolitos bacterianos pueden modular la función de células inmunes (como macrófagos, células dendríticas y linfocitos T), promoviendo respuestas antiinflamatorias (por ejemplo, mediante la producción de IL-10) e incrementando la producción de Inmunoglobulina A (IgA) secretora, una primera línea de defensa en las mucosas. Esto resulta en una respuesta inmunitaria más robusta y equilibrada (12,34).

2.3.4.5. Origen y valor energético

Los prebióticos como la inulina y los fructopolisacáridos se encuentran en vegetales como la achicoria, el llacón, las cebollas y los espárragos. Debido a que gran parte de su energía se utiliza en el proceso de fermentación bacteriana en lugar de ser absorbida por el cuerpo, los prebióticos tienen un menor valor calórico (1.2 a 1.8 kcal/g) en comparación con otros carbohidratos (4 kcal/g) o grasas (9 kcal/g) (37).

2.3.4.6. Fisiopatología y consideraciones práctica

A pesar de sus beneficios, los prebióticos también pueden causar ciertas molestias, principalmente relacionadas con el proceso de fermentación:

- **Gases e hinchazón:** El aumento de la producción de gases (hidrógeno y CO₂) puede provocar hinchazón, flatulencia y malestar gastrointestinal, especialmente en personas no acostumbradas a una dieta rica en fibra.

Desde una perspectiva nutricional, los prebióticos se consideran seguros para el consumo humano, lo que se refleja en la clasificación GRAS (Generally Recognized As Safe) de la FDA (37).

2.4. Flora Microbiana

2.4.1. Definición

El sistema digestivo alberga una gran cantidad de microorganismos, principalmente en el colon donde se lleva a cabo la mayor parte de su actividad metabólica, la microbiota intestinal está compuesta por más de un billón de microorganismos por gramo de heces siendo la mayoría bacterias, las cuales juegan un papel crucial en diversos procesos biológicos y metabólicos dentro del tracto digestivo (45).

Los alimentos, el agua, el aire e incluso el tracto gastrointestinal superior son las principales fuentes de la flora bacteriana compleja del tracto gastrointestinal humano, las bacterias anaeróbicas comunes incluyen Bacteroidetes, Bifidobacteria, Fusobacteria, Clostridium, Eubacterium, Pectococcus y Pectostreptococcus, las bacterias de la boca se tragan y algunas bacterias del estómago son eliminadas por el jugo gástrico, los organismos grampositivos facultativos como estreptococos, estafilococos y lactobacilos son las bacterias del estómago que se aíslan con mayor frecuencia, el intestino delgado forma la zona de transición entre la flora del estómago y el intestino grueso (45).

2.4.2. Composición

Tabla 6. Distribución de microorganismos predominantes y concentración bacteriana a lo largo del tracto gastrointestinal humano

Sitio	Composición	Nº total de microorganismos
Estómago	<i>Streptococcus Lactobacillus</i>	101-102
Duodeno y Yeyuno	Similar al estómago	102-104
Ileo-cecal	<i>Bacteroides, Clostridium, Streptococcus, Lactobacillus</i>	105-108
Colón	<i>Bacteroides, Clostridium, Eubacterium, Peptococcus, Bifidobacterium, Streptococcus, Fusobacterium</i>	1011.5-1012

Fuente: World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, (2017) (35).

2.4.3. Funciones

La microbiota mantiene una relación simbiótica comensal con el hospedador, donde ambas partes se benefician sin causar daño a ninguna de ellas.

2.4.4. Función metabólica

La flora simbiótica descompone los residuos de carbono y proteínas no digeridos en el intestino delgado, produciendo ácidos de cadena corta y otras sustancias que alteran el pH intestinal y favorecen la absorción de micronutrientes (46,47).

2.4.5. Función barrera

- Evita la anidación y penetración de patógenos
- Compite por los nutrientes
- Producen sustancias antibacterianas (ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, etanol, ácido láctico) o secretan sustancias antibacterianas naturales (bacteriocinas, toxinas antibacterianas basadas en proteínas)
- Aumenta la secreción de moco.
- Aumentar la secreción de péptidos antimicrobianos como la beta-defensina en las células intestinales.
- Los receptores TLR2 en las células epiteliales intestinales, conocidos como receptores tipo Toll, promueven la estabilidad de las uniones estrechas y reducen la permeabilidad epitelial a patógenos y sus productos.
- Las proteínas bacterianas activan vías de señalización que estimulan la fosforilación del ECF, promoviendo la supervivencia celular al inhibir las vías proapoptóticas y favoreciendo la proliferación y regeneración de las células epiteliales intestinales (48).

2.4.6. Función moduladora

Son la primera y más importante barrera protectora que nos protege de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas. Además, debe ser capaz de tolerar bacterias beneficiosas y no reaccionar con los antígenos de los alimentos, evitando las alergias alimentarias para que podamos alimentarnos adecuadamente (49).

- Ayuda a los linfocitos b a activar macrófagos locales y aumentar la producción de IgA secretora local.
- Regulan los perfiles de citoquinas, activan o suprimen las respuestas inmunes a nivel local y sistémico.
- Provocan una disminución de la respuesta a los antígenos alimentarios, favorecen la tolerancia y evitan reacciones alérgicas a los alimentos.

2.4.7. Función de síntesis de vitamina K

Las bacterias Gram positivas y otras bacterias (p. ej., *Escherichia Coli*) sintetizan grandes cantidades de Menaquinonas (Vit. K2), situada a nivel del intestino grueso, es una gran cantidad de vitamina K producida por bacterias del tracto digestivo en las heces de humanos y animales (45,50).

2.5. Probióticos

2.5.1. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

La bacteria *L. acidophilus* fue descubierto en heces de bebés en 1900 y es muy común en productos lácteos como el yogur. Esta bacteria forma parte de nuestra flora bacteriana natural y se encuentra en diversas zonas del cuerpo (51,52).

La taxonomía actual de *Lactobacillus acidophilus* es la siguiente:

- Filo: Firmicutes
- Clase: Bacilos
- Orden: *Lactobacillales*
- Familia: *Lactobacillaceae*
- Género: *Lactobacillus*
- Especie: *Lactobacillus acidophilus*

2.5.2. Características de la cepa

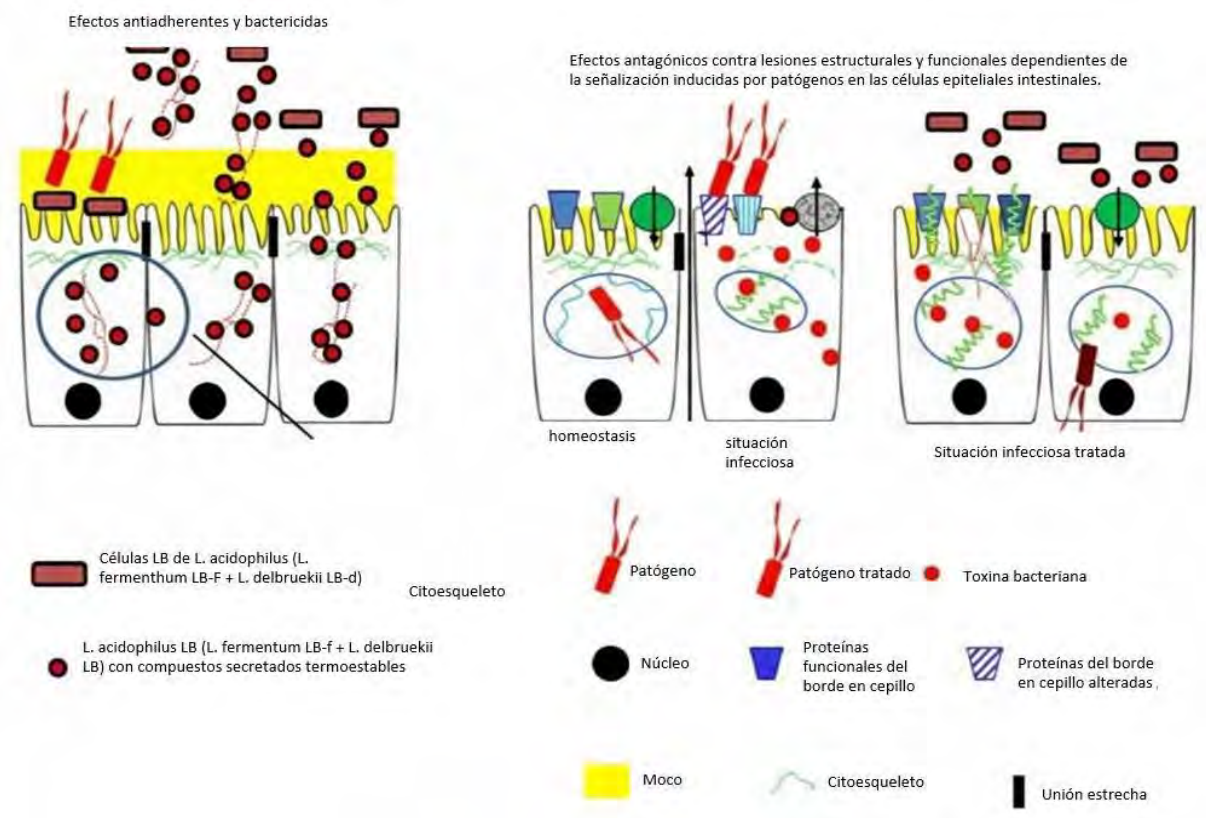
Lactobacillus acidophilus es un bacilo Gram positivo pequeño (2–10 µm) que crece mejor entre 37 y 42 °C y puede soportar hasta 45 °C. Su crecimiento es óptimo con un pH de 5,5 a 6,0 y cesa a un pH de 4,0. Es un organismo homofermentativo obligado que fermenta carbohidratos para producir ácido láctico y es muy sensible al oxígeno (51).

2.5.3. Mecanismo de acción de *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus es una bacteria probiótica que beneficia la salud intestinal principalmente a través de tres mecanismos:

- **Regulación del pH:** Al fermentar los carbohidratos, produce ácido láctico, lo que reduce el pH intestinal. Este ambiente ácido inhibe el crecimiento de bacterias patógenas y reduce la actividad de enzimas dañinas que pueden ser producidas por estas.
- **Competencia por Adhesión:** Posee en su superficie estructuras que le permiten adherirse a las paredes del intestino. Al ocupar estos sitios, impide que las bacterias patógenas se fijen y colonicen, protegiendo así la mucosa intestinal.
- **Reducción del colesterol:** Tiene la capacidad de absorber y asimilar el colesterol, contribuyendo a la disminución de sus niveles en el suero sanguíneo. Este efecto ofrece un beneficio adicional para la salud cardiovascular.

Figura 3. Resumen de los mecanismos de acción de *Lactobacillus acidophilus* LB



El dibujo de la izquierda muestra cómo *L. LB* y sus moléculas secretadas combaten patógenos en el intestino y células epiteliales. El de la derecha ilustra cómo estas moléculas contrarrestan las lesiones causadas por patógenos en las células epiteliales intestinales

Fuente: María Remes Troche et al.(2020)(51).

2.5.4. Funciones

- Actividad antibiótica que eliminan bacterias enterovirulentas como *Salmonella*, *Listeria*, *Shigella*, *Yersinia*, *E. coli* y *H. pylori*, atacando patógenos en el intestino y en células epiteliales intestinales.
- Actividad bactericida intravacuolar, demostrada especialmente contra *S. typhimurium*.
- Posee propiedades adhesivas y citoprotectoras, creando una biopelícula que protege a los enterocitos contra *E. coli* difusamente adherente asociada a diarrea, *E. coli* enterovirulenta, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* y *Yersinia pseudotuberculosis*.

- Tiene acción bacteriostática, se ha demostrado su efecto contra *S. typhimurium*.

2.5.5. Importancia de la microbiota intestinal

Lactobacillus favorece el crecimiento del huésped mejorando el peso y tamaño corporal al influir en el equilibrio microbiano y evitar la invasión de patógenos, siendo las interacciones sinérgicas entre *Lactobacillus* y la flora comensal endógena clave para restaurar la endostasis microbiana (40).

- **Resistencia al pH.** *Lactobacillus delbrueckii* y *Lactobacillus gasseri* sobreviven al pH ácido del estómago (entre 2 y 2,5) durante al menos 90 minutos, lo que les permite llegar a su sitio de acción en el intestino (51,53).
- **Resistencia a la bilis.** Los ácidos biliares inhiben el crecimiento de *E. coli*, *Klebsiella* y *Enterococcus*, y aunque los lactobacilos son resistentes a la bilis bovina y porcina, son más resistentes a la bilis humana, lo que favorece su supervivencia en el tracto gastrointestinal (53).
- **Adhesión a la mucosa.** Aunque muchos probióticos no colonizan a los huéspedes, *Lactobacillus rhamnosus* GG y otros lactobacilos pueden colonizar al huésped durante un período significativo (54).
- **Inhibición del crecimiento de otras bacterias.** Los lactobacilos inhiben bacterias mediante ácidos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y adhesión a la mucosa, impidiendo la adherencia de patógenos. *L. acidophilus* ATCC4356 protege contra *E. coli* y favorece la producción de mucinas, que actúan como barrera e inhiben la replicación viral (55).
- **Inmunomodulación:** Los lactobacilos modulan la inmunidad al aumentar la fagocitosis, producir defensinas, mejorar la respuesta a vacunas, inducir interleucinas, activar células T y reducir la permeabilidad intestinal (56).

2.5.6. Aplicaciones en la salud

El Consenso Mexicano sobre Probióticos señala que los trastornos gastrointestinales en los que se ha demostrado el beneficio de los lactobacilos incluyen los siguientes (57):

- Diarrea asociada a antibióticos (AAD)
- Diarrea infecciosa aguda en niños y adultos.
- Prevención de la diarrea nosocomial en niños.
- Prevención de la recurrencia de diarrea por *C. difficile* en niños y adultos.
- Prevención de eventos adversos tras la erradicación de *Helicobacter pylori*.
- Síndrome del intestino irritable.
- Estreñimiento crónico en adultos.
- Uso combinado con terapia estándar para la remisión de colitis ulcerosa leve o moderada en adultos.
- Uso después del tratamiento con antibióticos, inducción o mantenimiento de la remisión de la reservoritis en adultos.
- Prevención de la enterocolitis necrotizante en prematuros.
- Hígado graso.
- Encefalopatía hepática oculta y manifiesta;
- En mujeres lactantes o lactantes con alto riesgo de desarrollar una alergia.
- Dermatitis atópica

2.6. Estado de cuestión

El llacón (*Smallanthus sonchifolius*), una raíz andina ancestral, ha ganado notoriedad global por sus propiedades nutricionales y funcionales, particularmente su efecto prebiótico. Los prebióticos son ingredientes no digeribles que estimulan selectivamente el crecimiento y la actividad de las bacterias beneficiosas en el colon, como los *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, contribuyendo así a la salud del huésped (36).

El principal componente responsable de la actividad prebiótica del llacón son los fructooligosacáridos (FOS), carbohidratos no digeribles que actúan como sustrato para la microbiota intestinal. Numerosos estudios han confirmado la capacidad de los extractos de llacón para promover el crecimiento de bacterias probióticas. Por ejemplo, Gonzáles R (2021) demostraron que la adición de fructanos de llacón en

medios de cultivo aumentaba significativamente la población de *Lactobacillus* spp. en comparación con otros sustratos (3).

A pesar de esta evidencia general, la composición de FOS en la raíz de llacón puede variar notablemente según la variedad, el clima y, crucialmente, la altitud y el tipo de suelo. Aunque la actividad prebiótica del llacón ha sido bien documentada, existen pocas investigaciones que evalúen específicamente el efecto de la raíz proveniente de la región de Limacpunko-Marcapata-Cusco sobre una cepa de referencia tan importante como el *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Esta cepa ha sido ampliamente utilizada como probiótico y como modelo de estudio debido a sus efectos positivos en la salud intestinal (52).

Por tanto, el presente estudio busca evaluar la actividad prebiótica in vitro del extracto de la raíz de llacón de esta región específica del Perú, cuantificando su capacidad para estimular el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Esta investigación no solo validará el potencial de un recurso nativo de Cusco, sino que también contribuirá a la comprensión de cómo las condiciones de cultivo andinas influyen en las propiedades bioactivas del llacón.

2.7. Definición de términos

- **Alimento funcional:** Alimento que, además de nutrir, proporciona beneficios para la salud y previene enfermedades (58).
- **Actividad prebiótica:** Efecto beneficioso de compuestos no digeribles que estimulan el crecimiento de microorganismos beneficiosos en el intestino (36).
- **In vitro:** Experimentos realizados fuera de un organismo vivo, en condiciones controladas de laboratorio (14).
- **Disbiosis:** Desequilibrio en la microbiota, con cambios en su composición y funciones (59).
- **Extracto:** Producto obtenido mediante la extracción de compuestos activos de una planta u organismo (60).
- **Ensayo microbiológico:** Experimento controlado para evaluar la respuesta de microorganismos a sustancias, como el extracto de llacón (61).

- ***Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356:** Cepa probiótica del género *Lactobacillus*, utilizada como modelo para evaluar la actividad prebiótica (51).
- **Lactulosa:** El laxante osmótico, no se digiere, se metaboliza en el colon, aumentando el agua en las heces y ejerciendo un efecto laxante (18).
- **Llacón:** Planta andina rica en fructooligosacáridos (FOS), con propiedades nutricionales y potencial prebiótico (13).
- **Fructooligosacáridos:** Fibras solubles no digeribles que llegan al colon y sirven de alimento para bacterias beneficiosas, actuando como prebióticos (39).
- **Microbiota intestinal:** Conjunto de microorganismos del intestino que ayudan en la digestión, defensa inmune y salud general, influenciados por probióticos y prebióticos (53).
- **Medio de cultivo MRS:** Medio nutritivo usado para cultivar *Lactobacillus*, modificado en este estudio al reemplazar la glucosa por extracto de llacón (62).
- **Prebióticos:** Son compuestos no digeribles que sirven de alimento para los probióticos y favorecen la salud digestiva, la absorción de nutrientes y la función inmunológica (36).
- **Probióticos:** Son microorganismos vivos que, al consumirse en cantidades adecuadas, benefician la salud del huésped (46).
- **Simbióticos:** Productos que contienen probióticos y prebióticos para obtener beneficios para la sanidad (46).
- **Unidad Formadora de Colonias (UFC):** Es una medida microbiológica que indica la cantidad de bacterias viables capaces de formar colonias visibles en un medio de cultivo. Se expresa en UFC/mL o UFC/g (63).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Material biológico

- **Descripción:** Raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)
- **Uso:** Material vegetal principal para el estudio.

3.1.2. Materiales microbiológicos

Tabla 7. Medios de cultivo y cepa microbiana utilizados en el estudio

Categoría	Descripción
Cepa	Cepa de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356
Caldo	• Caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe) • Caldo Brain Heart Infusión
Agar	• Agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe) • Agua peptonada • Agar SS • Agar Mc Conkey • Agar BHI • Agar OGYE

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.1.3. Materiales de campo

Tabla 8. Materiales utilizados para la recolección y transporte de muestras vegetales

Categoría	Descripción
Campo	• Bolsa de polietileno con cierre hermético • Guante de cuero • Plumón de tinta indeleble • Papel Kraft • Pico • Cúter • Cajas de Tecnopor • Lapiceros • Cuadernos • Cámara fotográfica

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.1.4. Materiales de laboratorio

Tabla 9. Materiales de laboratorio empleados en el análisis de muestras

Categoría	Descripción	Uso
Laboratorio	• Baguetas de vidrio • Pipetas de 1 a 10 mL • Probetas de 10 a 1000 mL • Tubos de ensayo 10 mL • Embudo de vidrio de 100 mm • Frasco ámbar tapa rosca 4L • Matraz Erlenmeyer de 250 mL • Gradilla metálica por 48 tubos • Soporte universal • Piseta de 250 mL • Papel filtro • Papel film • Tiras de pH	Utilizados para la preparación de muestras, reacciones y análisis.

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.1.5. Equipos de laboratorio

Tabla 10. Descripción de materiales de equipo

No.	Equipo	Marca	Modelo	Capacidad/Rango	Uso Principal
1	Balanza analítica	OHAUS	Pioneer PA523	520 g, precisión 0.001 g	Pesaje preciso de muestras
2	Cocinilla eléctrica	...	...	...	Calentamiento de muestras
3	Estufa	FRAVILL	FD 115Med	50-250°C	Secado y esterilización
4	Potenciómetro	...	...	...	Medición de pH
5	Autoclave	Benchmark científica	bioclave 16 L	16 L, 121°C	Esterilización
6	Destilador de agua	...	...	...	Producción de agua destilada
7	Refrigeradora	Bosch	...	...	Almacenamiento de reactivos y muestras
8	Termómetro digital	Boeco	...	...	Medición de temperatura
9	Centrífuga	Hettch	EBA 20S	...	Separación de muestras por centrifugación
10	Estufa	Binder	FD 115Med	50-250°C	Cultivo de microorganismos
11	Liofilizador	Teshi	TFD5501	250 g -2.5 kg	Conservación de muestras biológicas

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.1.6. Solventes y reactivos

Tabla 11. Solventes y reactivos utilizados en los procedimientos de laboratorio

No.	Descripción	
Solventes	• Agua destilada • Cloroformo • Metanol (1:1)	
Reactivos	• Agua destilada • Ácido 3,5 dinitrosalicílico • Reactivo de Baljet • Aceite de oliva • Cloroformo • Anhídrido acético • Ácido sulfúrico® • Acetato de cobre 10% • Ácido acético glacial • Cloruro férrico 5% • Cloruro férrico al 12.5% • Solución de gelatina al 1% • Cloruro de sodio al 10% • Limaduras de magnesio • Ácido clorhídrico • Hidróxido de sodio • Hidróxido de sodio 1N	• Sulfato cúprico diluido • Hidróxido de sodio al 40% • Metanol (1:1) • Reactivo de Fehling • Reactivo de Benedict • Ácido sulfúrico al 1.25% • Hidróxido de sodio al 1.25% • Éter • Sulfato de potasio • Sulfato de cobre • Hidróxido de sodio al 50% • Ácido bórico al 4% • Indicador de verde bromocresol • Ácido clorhídrico al 0.1 N • Acetato de plomo

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.1.7. Otros

- Tijeras
- Guantes de procedimiento
- Barbijos
- Cinta masking
- Mandil de laboratorio

3.2. Ubicación, tiempo y espacio

3.2.1. Ubicación espacial

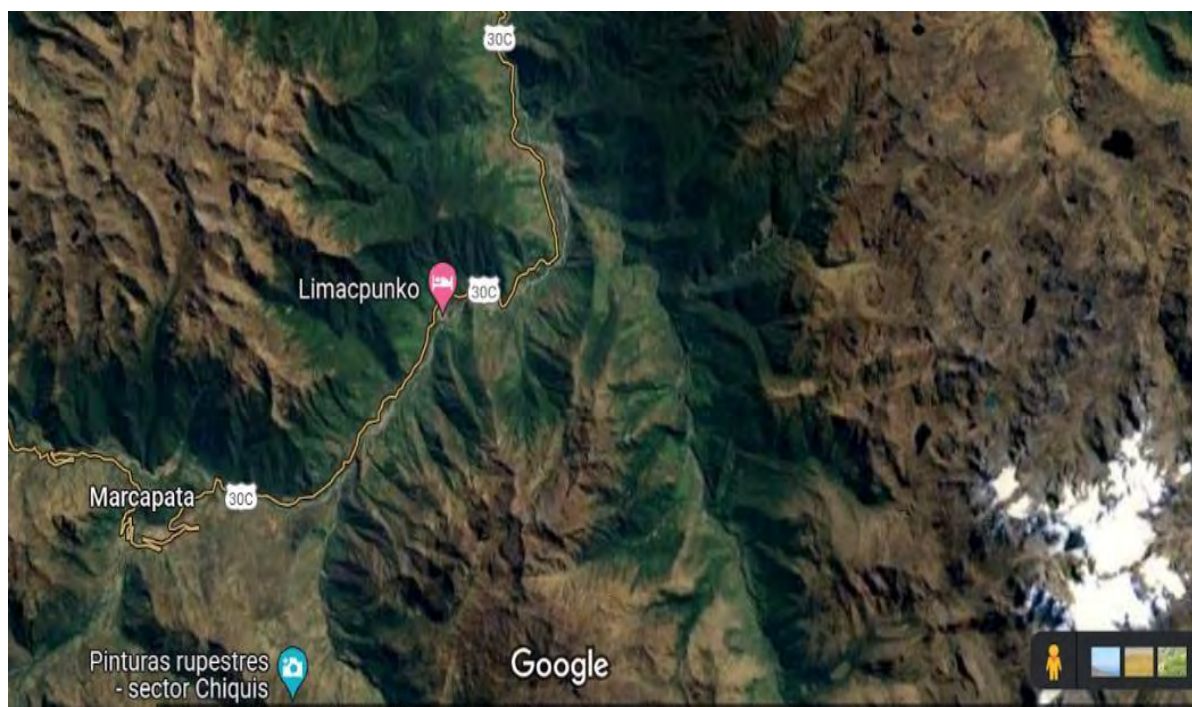
La investigación vegetativa de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob), se desarrolla en el centro poblado de Limacpunko, distrito de Marcapata, provincia de Quispicanchis, departamento de Cusco.

Tabla 12. Características geográficas, ecológicas y político-administrativas de la zona de estudio (Limacpunko – Marcapata – Cusco)

Categoría	Descripción
Ubicación política	
País	Perú
Región	Cusco
Provincia	Quispicanchi
Distrito	Marcapata
Comunidad	Limacpunko
Ubicación geográfica	
Latitud Sur	13° 25' 25"
Longitud Oeste	70° 54' 15"
Altitud media	3,150 m s. n. m.
Ubicación hidrográfica	
Vertiente	Cordillera de los Andes – Vertiente oriental
Cuenca	Cuenca del río Araza
Ubicación ecológica	
Región ecológica	Quechua
Rango altitudinal	Entre 2,300 y 3,500 m s. n. m.
Clima	Templado con lluvias estacionales
Vegetación	Pastizales, arbustos y cultivos andinos

Fuente: Mendoza Nina (2016)(64).

Figura 4.Ubicación geográfica de Limacpunko, distrito de Marcapata, provincia de Quispicanchi, Cusco, Perú



Fuente: Imagen tomada de Google Maps. Fecha de acceso: 10 de junio de 2024(65)

Figura 5.Vista satelital del centro poblado de Limacpunko, distrito de Marcapata, provincia de Quispicanchi, Cusco, Perú.



Fuente: Imagen tomada de Google Maps. Fecha de acceso: 10 de junio de 2024 (65).

3.2.2. Ubicación temporal

La investigación tiene como periodo de ejecución entre los meses de mes Mayo al periodo de mes de Junio 2024.

3.3. Metodología de la investigación

3.3.1. Enfoque investigativo

La presente investigación se fundamenta en un enfoque cuantitativo. Este enfoque se caracteriza por la medición y cuantificación de variables, la manipulación de una variable independiente para observar su efecto sobre una variable dependiente, y la realización de experimentos en un entorno controlado (66).

3.3.2. Tipo de investigación

El tipo de investigación es aplicada porque busca resolver problemas específicos y generar conocimientos útiles para mejorar productos o procesos, en este caso, evaluando el potencial prebiótico del extracto de raíz de llacón para su uso en alimentos funcionales (66).

3.3.3. Diseño de la investigación

El diseño de investigación es experimental puro ya que se manipula una variable independiente “El extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) para observar su efecto sobre una variable dependiente “El crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356”. Se establecen grupos de control y experimentales para comparar el crecimiento bacteriano en presencia y ausencia del extracto. Asimismo, se controlan las variables extrañas manteniendo las condiciones de cultivo constantes para todos los grupos (66).

3.3.3.1. Corte

La investigación es de corte transversal porque, se desarrolla en un único momento específico, permitiendo observar y analizar las variables sin realizar un seguimiento a lo largo del tiempo, lo cual facilita evaluar la actividad prebiótica del extracto de raíz de llacón sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en condiciones puntuales y controladas (66).

3.3.3.2. Alcance

La investigación es de nivel explicativo porque busca determinar que el extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) tiene un efecto prebiótico (causa) en el crecimiento y la actividad de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (efecto) e intenta responder a la pregunta de por qué ocurre un fenómeno al manipular la concentración del extracto y observar los cambios en la bacteria, se busca explicar si existe una relación causa (66).

3.3.4. Población

La población del estudio está conformada por los cultivos de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) establecidos en una parcela agrícola del centro poblado de Limacpunko, distrito de Marcapata, provincia de Quispicanchis, departamento del Cusco. Esta población incluye todas las plantas de llacón cultivadas en dicha área durante la campaña agrícola correspondiente al año de estudio.

3.3.5. Muestra

La muestra está conformada por raíces frescas de tres plantones de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob), seleccionados en sectores representativos (inicio, centro y final) de una parcela agrícola en Limacpunko. De cada plantón se recolectan 10 kg de raíz fresca, totalizando 30 kg, a partir de los cuales se obtiene el extracto utilizado para evaluar su actividad prebiótica in vitro sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

3.3.6. Tamaño de muestra

El estudio utiliza un muestreo no probabilístico por criterio considerando la homogeneidad del terreno, la accesibilidad de las plantas y su estado sanitario, con el fin de obtener un extracto representativo de las condiciones 41 del cultivo (62). El tamaño muestral está constituido por 30 kilogramos de raíz fresca de llacón, recolectados equitativamente (10 kg por plantón) de tres unidades muestrales representativas de distintas ubicaciones dentro de la parcela (inicio, centro y final del cultivo).

Flujograma 1. Selección de población, muestra y muestreo



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.3.7. Criterios de selección

3.3.7.1. Criterios de inclusión

- Plantones de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) con un estado fenológico adecuado (raíces completamente desarrolladas).
- Plantones que no hayan sido tratados con productos químicos ajenos al manejo agrícola tradicional.
- Plantones cultivados en la misma campaña agrícola, en condiciones homogéneas de suelo y riego.
- Las raíces frescas seleccionadas deben tener un peso y tamaño uniforme.

3.3.7.2. Criterios de exclusión

- Plantones con signos de enfermedad, plagas o daño físico evidente.
- Plantones ubicados en zonas con alteraciones visibles del terreno (por ejemplo, erosión, encharcamiento).
- Plantones expuestos a insumos agrícolas no convencionales o con manejo agronómico no estandarizado.

3.4. Identificación y operacionalización de variables

Tabla 13.Operacionalización de variables

VARIABLES	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	INSTRUMENTO	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob) .	Independiente	Es un concentrado obtenido a partir de la raíz del llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob) , rica en compuestos funcionales como fructooligosacáridos.	Es el extracto obtenido de la raíz de llacón mediante extracción con agua destilada, usado en distintas concentraciones para evaluar su efecto sobre el crecimiento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> in vitro.	Concentración del extracto	% de rendimiento	Balanza analítica	Razón	g/mL
				Presencia de FOS	FOS	HPLC-RID	Razón	%
Actividad prebiótica sobre <i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356.	Dependiente	Es la capacidad de una sustancia de estimular el crecimiento o la actividad de bacterias beneficiosas como <i>Lactobacillus acidophilus</i> , promoviendo efectos positivos en la salud.	Se medirá in vitro a través del recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) de <i>Lactobacillus acidophilus</i> en medios MRS suplementados con el extracto de la raíz de llacón, comparando los resultados con un control negativo, y positivo tras 48 horas de incubación.	Crecimiento bacteriano	Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC)	Placa de Petri + medio MRS	Razón	UFC/mL
					Crecimiento a las 48 h	Conteo de UFC	Razón	

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

Tabla 14. Variables intervinientes

INTERVINIENTES	
Medio de Cultivo	Composición del medio de cultivo: La presencia y concentración de otros nutrientes (fuentes de carbono, nitrógeno, vitaminas, minerales) en el medio de cultivo (MRS) pueden afectar el crecimiento y metabolismo de la bacteria, independientemente del extracto de llacón.
	pH inicial del medio de cultivo: El pH inicial puede influir en el crecimiento y la actividad enzimática de <i>L. acidophilus</i> .
	Presencia de oxígeno: El <i>Lactobacillus</i> es anaerobio facultativo, la cantidad de oxígeno presente en el cultivo puede afectar su crecimiento y metabolismo
Cepa Bacteriana	Viabilidad y estado fisiológico del inóculo de <i>L. acidophilus</i>: La salud y la fase de crecimiento de las bacterias al inicio del experimento pueden afectar su respuesta al extracto de llacón.
	Adaptación de la cepa al medio: Si la cepa no está bien adaptada al medio de cultivo base, su respuesta al extracto puede ser diferente.
	Variabilidad genética dentro de la cepa: Aunque se utiliza una cepa ATCC, siempre existe una pequeña posibilidad de variabilidad genética que podría influir en los resultados.
Extracto de llacón	Método de extracción y liofilización: Las condiciones de extracción y liofilización pueden afectar la disponibilidad y la integridad de los compuestos bioactivos del llacón.
	Estabilidad del extracto durante el almacenamiento: Si el extracto no se almacena correctamente, sus componentes activos pueden degradarse.
Condiciones Experimentales	Temperatura de incubación: La temperatura afecta directamente el crecimiento y la actividad metabólica de las bacterias.
	Tiempo de incubación: El período de incubación influye en la fase de crecimiento bacteriano y la cantidad de metabolitos producidos.
	Agitación o ausencia de agitación: La agitación puede afectar la disponibilidad de nutrientes y la distribución de los metabolitos en el medio.
	Contaminación: La presencia de otros microorganismos contaminantes pueden alterar los resultados.

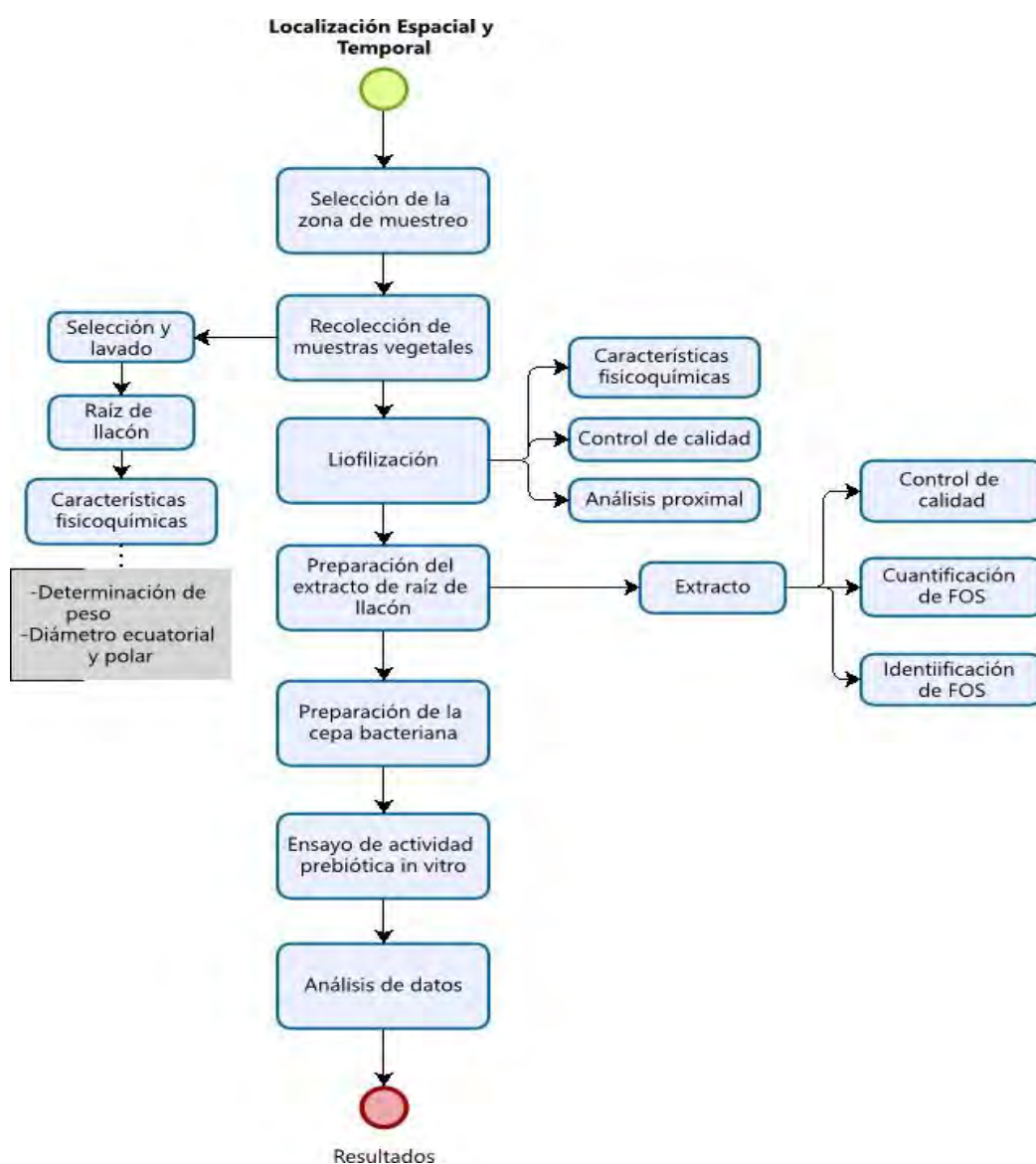
Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5. Procedimiento de la parte experimental de la investigación

3.5.1. Procedimiento general

El procedimiento general describe, de forma detallada, los pasos que se realizan para la recolección de la raíz de llacón, la preparación del extracto y la evaluación de su efecto prebiótico in vitro sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, con el propósito de determinar su posible actividad prebiótica. El proceso de investigación se organiza en tres fases principales, cada una con sus respectivos procedimientos específicos.

Flujograma 2.Procedimiento General



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.2. Fase I: Obtención y caracterización del extracto de llacón

3.5.2.1. Recolección de la muestra

La recolección se realiza en una plantación de llacón ubicada en Limacpunko, Marcapata, Quispicanchis, Cusco, durante la campaña agrícola del año 2024.

Flujograma 3. Localización de la planta

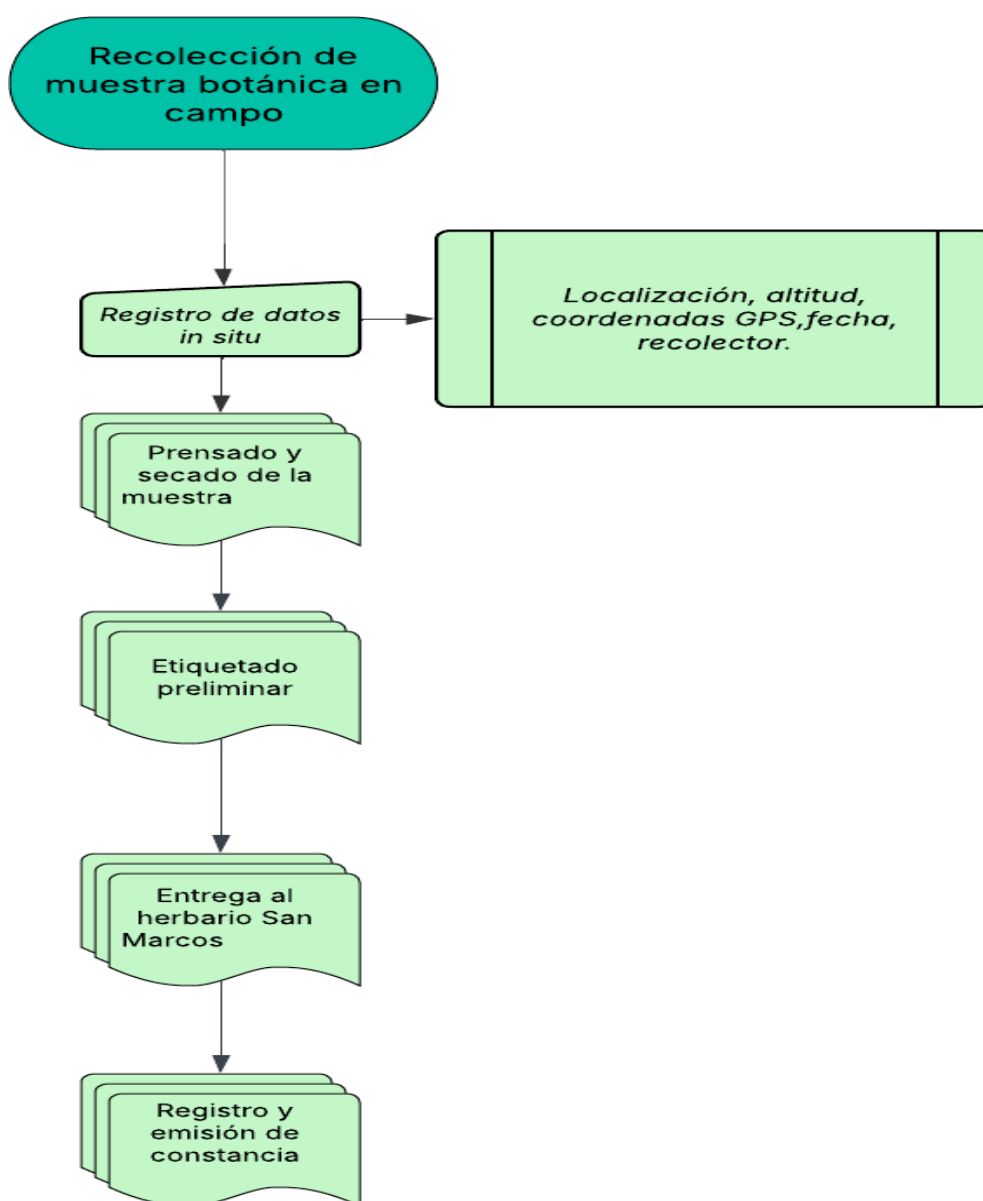


Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.2.2. Identificación taxonómica

La identificación taxonómica de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) se realizó en el Herbario San Marcos (USM) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde la muestra recolectada en Limacpunko, Marcapata–Cusco, es verificada con ejemplares de referencia para asegurar su correcta identificación científica.

Flujograma 4. Validación taxonómica de la planta de llacón



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.2.3. Proceso de liofilización

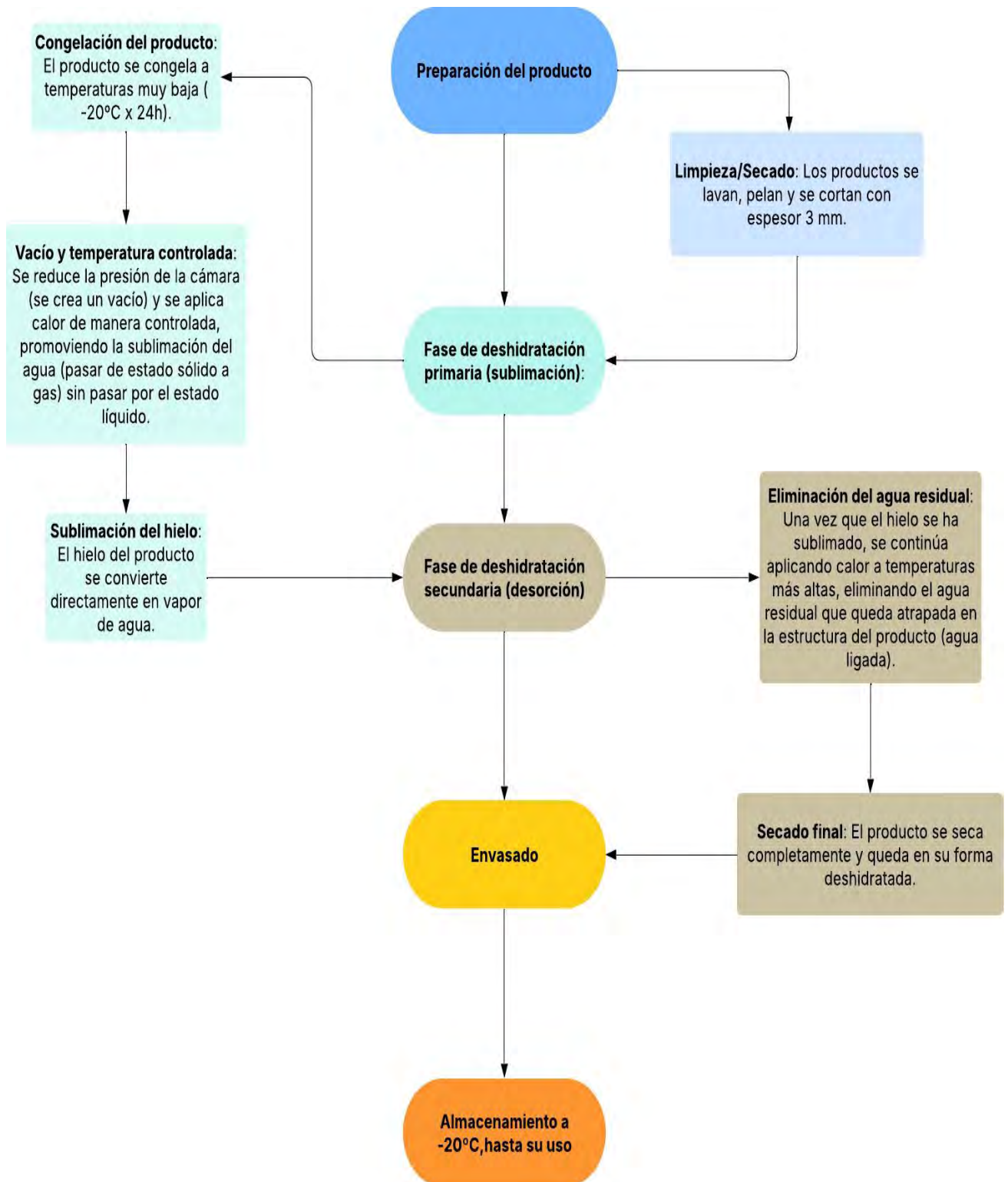
La liofilización de la raíz de llacón se llevó a cabo en el laboratorio de investigación, sección Nutrición, de la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Para ello, las raíces de llacón fueron previamente troceadas y se congelaron a -20°C durante 24 horas. Posteriormente, las muestras se sometieron a un proceso de secado por sublimación en un liofilizador a presión reducida por un período de 48 horas. Una vez finalizado el proceso, el producto seco se almacenó en recipientes herméticos para garantizar su conservación.

El porcentaje de liofilización se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{Porcentaje de liofilización} = \left(\frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso liofilizado}}{\text{Peso fresco}} \right) \times 100$$

- **Peso final del liofilizado (g):** peso de la muestra después de la liofilización.
- **Peso inicial de la muestra fresca (g):** peso de la muestra antes de la liofilización

Flujograma 5. Pasos del proceso de liofilización



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.2.4. Análisis fisicoquímico

El análisis fisicoquímico del liofilizado de la raíz de llacón fue llevado a cabo en la Unidad de Prestación de Servicios de Análisis Químico del Departamento Académico de Química, perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Todos los ensayos se realizaron por triplicado ($n = 3$) con el fin de garantizar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados obtenidos. (VER ANEXO 16).

- **Determinación de Humedad:** Método gravimétrico (AOAC 930.15.2020)

Se pesó 1 g de muestra de raíz de llacón liofilizada en un crisol previamente tarado, posteriormente, la muestra se secó en la estufa a 105 °C hasta alcanzar peso constante, permitiendo la evaporación del contenido de agua. Luego, el crisol se enfrió en un desecador y se pesó en la balanza analítica (67). El procedimiento se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

La humedad se calcula por la siguiente fórmula:

$$\%Humedad = \frac{P\ Inicial - P\ Final}{P_i\ inicial} \times 100$$

- **P inicial:** peso inicial de la muestra liofilizada
- **P final:** peso final de la muestra deshidratada.
- **Determinación de cenizas:** Método gravimétrico (AOAC 942.05.2012). Se pesó aproximadamente 1 g de muestra liofilizada en un crisol previamente tarado. La muestra se sometió a carbonización inicial en mechero hasta eliminar humos, y posteriormente se incineró en una mufla a 550 ± 25 °C hasta obtener cenizas de color blanco o gris claro (aproximadamente 4–6 h). Posteriormente, el crisol se dejó enfriar en un desecador y se pesó hasta alcanzar peso constante (67). El procedimiento se realizó por triplicado.

El porcentaje de cenizas se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\%Cenizas = \frac{Peso\ cenizas}{P_i\ muestra\ liofilizada} \times 100$$

- **Pi seca:** peso inicial de la muestra liofilizada.

- **Determinación de grasa:** Método Soxhlet (AOAC 920.039.1990)
Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra liofilizada y molida en cartuchos de papel filtro. La extracción se realizó en un equipo Soxhlet utilizando éter de petróleo (40–60 °C) como solvente, durante 6 horas continuas. Posteriormente, el solvente se eliminó por destilación y el matraz con la grasa extraída se secó en estufa a 105 °C durante 30 minutos, se enfrió en desecador y se pesó hasta peso constante (67). El procedimiento se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

El contenido de grasa se calculó mediante la fórmula:

$$\%Grasa = \frac{Peso\ grasa}{Pi\ muestra\ liofilizada} \times 100$$

Pi seca: peso inicial de la muestra liofilizada

- **Determinación de fibra:** Método gravimétrico (AOAC 962.09, 2012).
Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra liofilizada y molida, que fueron sometidos a una digestión ácida con ácido sulfúrico al 1.25 % en reflujo durante 30 minutos. Posteriormente, el residuo se filtró y se lavó con agua destilada caliente. Luego, la muestra retenida fue sometida a una digestión alcalina con hidróxido de sodio al 1.25 %, también en reflujo durante 30 minutos. El residuo resultante se filtró nuevamente y se enjuagó con abundante agua destilada caliente, seguido de lavado con acetona para eliminar impurezas. El material obtenido se secó en estufa a 105 °C hasta peso constante, se enfrió en desecador y se pesó. Finalmente, el residuo se incineró en mufla a 550 °C durante 3 horas, y se volvió a pesar(67). El procedimiento se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

El contenido de fibra cruda se calculó mediante la fórmula:

$$\%Fibra = \frac{Peso\ Fibra}{Pi\ muestra\ liofilizada} \times 100$$

Pi seca: peso inicial de la muestra liofilizada

- **Determinación de proteína:** Método Kjeldahl (AOAC 984.13.2021)

Se pesó 1g de muestra liofilizada previamente pulverizada y se colocó en un tubo de digestión, al cual se añadió ácido sulfúrico concentrado junto con una mezcla catalizadora que facilitó la transformación del nitrógeno orgánico en sulfato de amonio. La digestión se llevó a cabo bajo calentamiento controlado hasta obtener una solución clara y transparente. Posteriormente, la muestra digerida se sometió a un proceso de destilación en medio alcalino, liberándose el amoníaco, que fue arrastrado por vapor y retenido en una solución de ácido bórico. Finalmente, la cuantificación del nitrógeno se realizó mediante titulación con ácido clorhídrico estandarizado, determinándose así el contenido total de nitrógeno presente en la muestra (67).

$$\%Proteínas = \frac{PM * N * (Vm - Vb) * F}{P \text{ muestra liofilizada}} \times 100$$

★ **PM:** Peso molecular del nitrógeno (14.007) 46

★ **Vm:** Volumen gastado de la muestra.

★ **Vb:** Volumen gastado del blanco.

★ **N:** Normalidad del ácido (0.0981)

★ **F:** Factor de conversión (6.25)

• **Determinación de Carbohidratos**

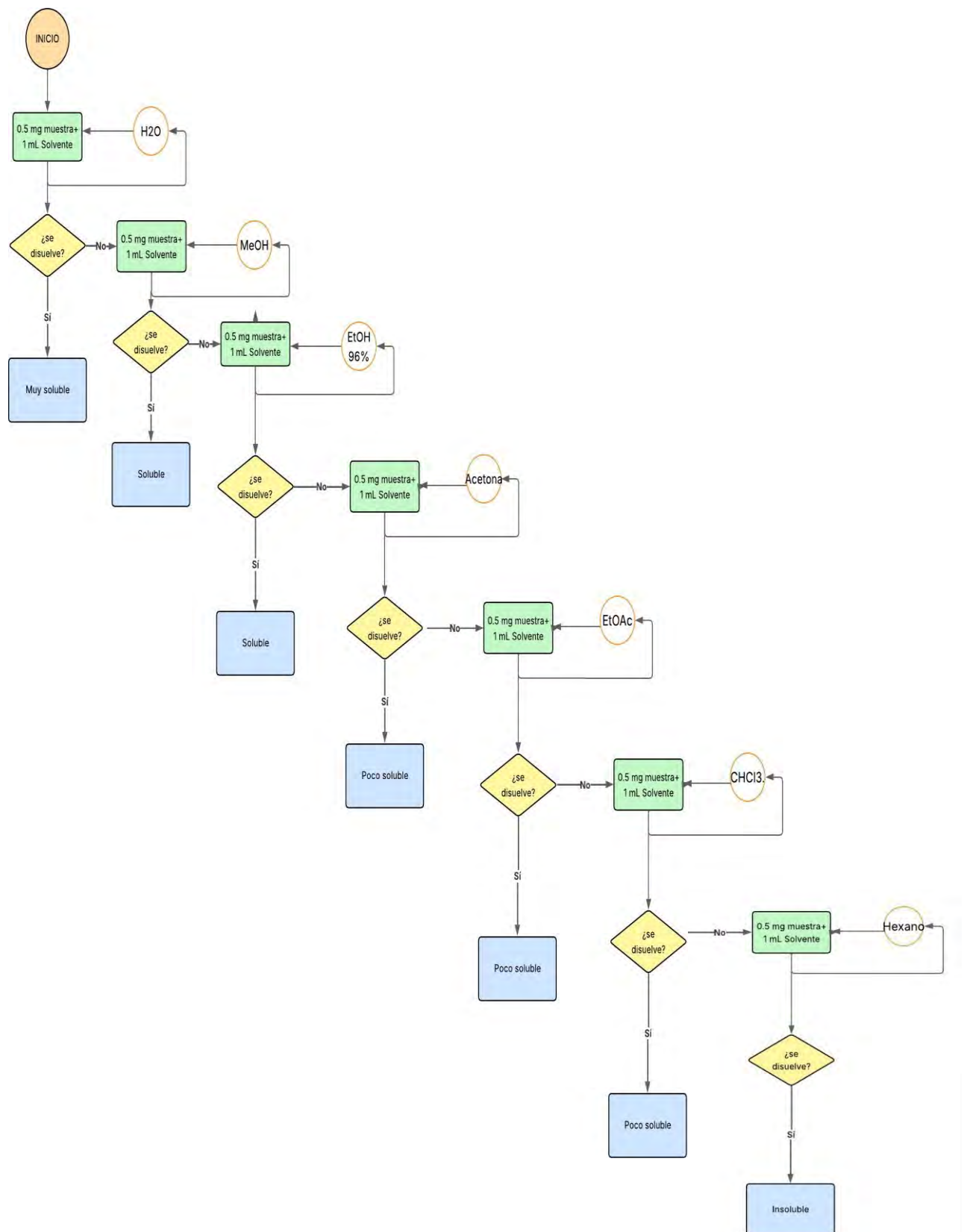
Se obtuvo por diferencia después que se completaron los análisis de ceniza, proteína, grasa y fibra. %P: porcentaje de proteínas %F: porcentaje de fibras. %C: porcentaje de cenizas. %G: porcentaje de grasas.

$$\%Carbohidratos = (100 - (\%P + \%F + \%C + \%G))$$

3.5.2.5. Solubilidad

La prueba de solubilidad del extracto liofilizado de raíz de Ilacón se llevó a cabo en el Laboratorio de Bromatología, Cromatografía y Espectrometría de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Para este análisis se emplearon solventes de distinta polaridad, entre ellos hexano, cloroformo, acetato de etilo, acetona, etanol al 96 La prueba de solubilidad del extracto liofilizado de raíz de Ilacón se llevó a cabo en el Laboratorio de Bromatología, Cromatografía y Espectrometría de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Para este análisis se emplear La prueba de solubilidad del extracto liofilizado de raíz de Ilacón se llevó a cabo en el Laboratorio de Bromatología, Cromatografía y Espectrometría de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Para este análisis se emplearon solventes de distinta polaridad, entre ellos hexano, cloroformo, acetato de etilo, acetona, etanol al 96% y metanol. En cada ensayo se disolvieron 0,5 mg de liofilizado en 1 mL del solvente correspondiente, manteniendo la mezcla bajo agitación durante un periodo de 5 minutos (VER ANEXO 6 y 17).

Flujograma 5.Prueba de Solubilidad



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.2.6. Análisis fitoquímico cualitativo

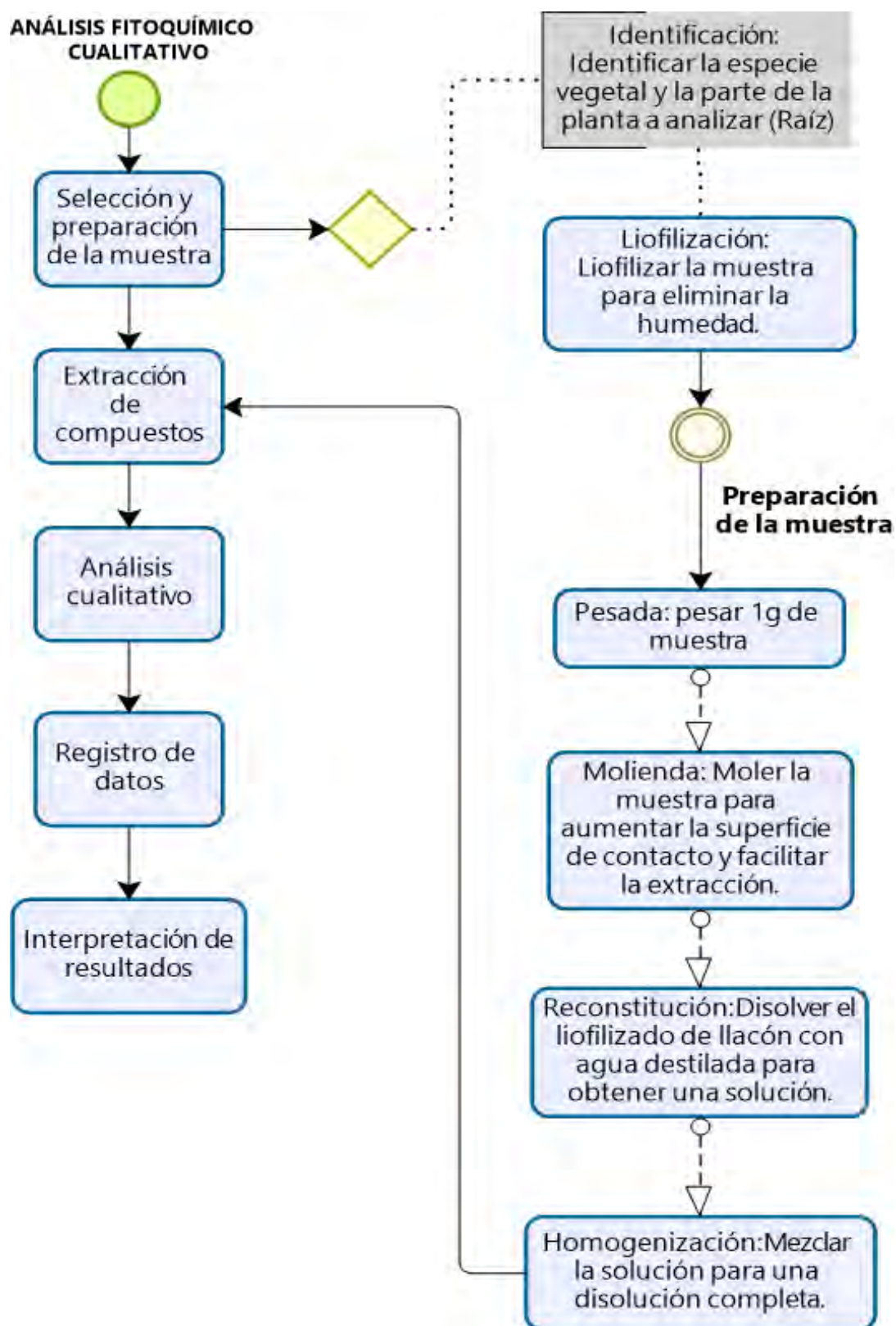
El análisis fitoquímico cualitativo del liofilizado de llacón se llevó a cabo en el laboratorio de Bromatología, Cromatografía y Espectrometría de la Facultad de Ciencias Químicas, Física y Matemáticas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Para ello, se realizaron pruebas colorimétricas específicas para la detección de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y compuestos fenólicos. El procedimiento se ejecutó por triplicado siguiendo protocolos fitoquímicos clásicos. Las reacciones se observaron visualmente a través de cambios de color o la formación de precipitados, utilizando tubos de ensayo y baño María (VER ANEXO 7 y 17).

Tabla 15. Análisis Cualitativo de Metabolitos Secundarios de la raíz de llacón

ENSAYO	REACTIVOS	ESPECIFICACIÓN
Compuestos fenólicos	cloruro férrico al 1% (FeCl ₃):	la presencia de precipitado o coloraciones azuladas verdosas
Taninos	Tricloruro de hierro (FeCl ₃):	Color azul, verde
Flavonoides	Rx. De SHINODA	Color rojo, amarillo, anaranjado
Quinonas	Ácido sulfúrico Concentrado	Color rojo en fase acuosa
Saponinas	Prueba de espuma	Formación de espuma
Triterpenos y esteroides	Reacción de Liberman Burchard	Coloración rosada o púrpura muy rápido y verde intenso
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado rojo a naranja
	Wagner	Precipitado marrón

Fuente: Lock de Ugaz(68)

Flujograma 6.Análisis fitoquímico cualitativo



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.2.7. Análisis proximal

- **Determinación de Humedad:** Método gravimétrico (AOAC 930.15.2020)

Se pesó 1 g de muestra de raíz de llacón liofilizada en un crisol previamente tarado, posteriormente, la muestra se secó en la estufa a 105 °C hasta alcanzar peso constante, permitiendo la evaporación del contenido de agua. Luego, el crisol se enfrió en un desecador y se pesó en la balanza analítica (67). El procedimiento se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

La humedad se calcula por la siguiente fórmula:

$$\%Humedad = \frac{P \text{ Inicial} - P \text{ Final}}{P_i \text{ inicial}} \times 100$$

P inicial: peso inicial de la muestra liofilizada

P final: peso final de la muestra deshidratada.

- **Determinación de cenizas:** Método gravimétrico (AOAC 942.05.2012).

Se pesó aproximadamente 1 g de muestra liofilizada en un crisol previamente tarado. La muestra se sometió a carbonización inicial en mechero hasta eliminar humos, y posteriormente se incineró en una mufla a 550 ± 25 °C hasta obtener cenizas de color blanco o gris claro (aproximadamente 4–6 h). Posteriormente, el crisol se dejó enfriar en un desecador y se pesó hasta alcanzar peso constante (67). El procedimiento se realizó por triplicado.

El porcentaje de cenizas se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\%Cenizas = \frac{\text{Peso cenizas}}{P_i \text{ muestra liofilizada}} \times 100$$

Pi seca: peso inicial de la muestra liofilizada.

- **Determinación de grasa:** Método Soxhlet (AOAC 920.039.1990)

Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra liofilizada y molida en cartuchos de papel filtro. La extracción se realizó en un equipo Soxhlet utilizando éter de petróleo (40–60 °C) como solvente, durante 6 horas continuas. Posteriormente, el solvente se

eliminó por destilación y el matraz con la grasa extraída se secó en estufa a 105 °C durante 30 minutos, se enfrió en desecador y se pesó hasta peso constante (67).El procedimiento se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

El contenido de grasa se calculó mediante la fórmula:

$$\%Grasa = \frac{Peso\ grasa}{Pi\ muestra\ liofilizada} \times 100$$

Pi seca: peso inicial de la muestra liofilizada

- **Determinación de fibra:** Método gravimétrico (AOAC 962.09, 2012). Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra liofilizada y molida, que fueron sometidos a una digestión ácida con ácido sulfúrico al 1.25 % en reflujo durante 30 minutos. Posteriormente, el residuo se filtró y se lavó con agua destilada caliente. Luego, la muestra retenida fue sometida a una digestión alcalina con hidróxido de sodio al 1.25 %, también en reflujo durante 30 minutos. El residuo resultante se filtró nuevamente y se enjuagó con abundante agua destilada caliente, seguido de lavado con acetona para eliminar impurezas. El material obtenido se secó en estufa a 105 °C hasta peso constante, se enfrió en desecador y se pesó. Finalmente, el residuo se incineró en mufla a 550 °C durante 3 horas, y se volvió a pesar (67).El procedimiento se realizó por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

El contenido de fibra cruda se calculó mediante la fórmula:

$$\%Fibra = \frac{Peso\ Fibra}{Pi\ muestra\ liofilizada} \times 100$$

Pi seca: peso inicial de la muestra liofilizada

- **Determinación de Proteína:** Método Kjeldahl (AOAC 984.13.2021)

Se pesó 1g de muestra liofilizada previamente pulverizada y se colocó en un tubo de digestión, al cual se añadió ácido sulfúrico concentrado junto con una mezcla catalizadora que facilitó la transformación del nitrógeno orgánico en sulfato de amonio. La digestión se llevó a cabo bajo calentamiento controlado hasta obtener

una solución clara y transparente. Posteriormente, la muestra digerida se sometió a un proceso de destilación en medio alcalino, liberándose el amoníaco, que fue arrastrado por vapor y retenido en una solución de ácido bórico. Finalmente, la cuantificación del nitrógeno se realizó mediante titulación con ácido clorhídrico estandarizado, determinándose así el contenido total de nitrógeno presente en la muestra (67).

$$\%Proteínas = \frac{PM * N * (Vm - Vb) * F}{P \text{ muestra liofilizada}} \times 100$$

★ **PM:** Peso molecular del nitrógeno (14.007) 46

★ **V_m:** Volumen gastado de la muestra.

★ **V_b:** Volumen gastado del blanco.

★ **N:** Normalidad del ácido (0.0981)

★ **F:** Factor de conversión (6.25)

• **Determinación de Carbohidratos**

Se obtuvo por diferencia después que se completaron los análisis de ceniza, proteína, grasa y fibra. %P: porcentaje de proteínas %F: porcentaje de fibras. %C: porcentaje de cenizas. %G: porcentaje de grasas.

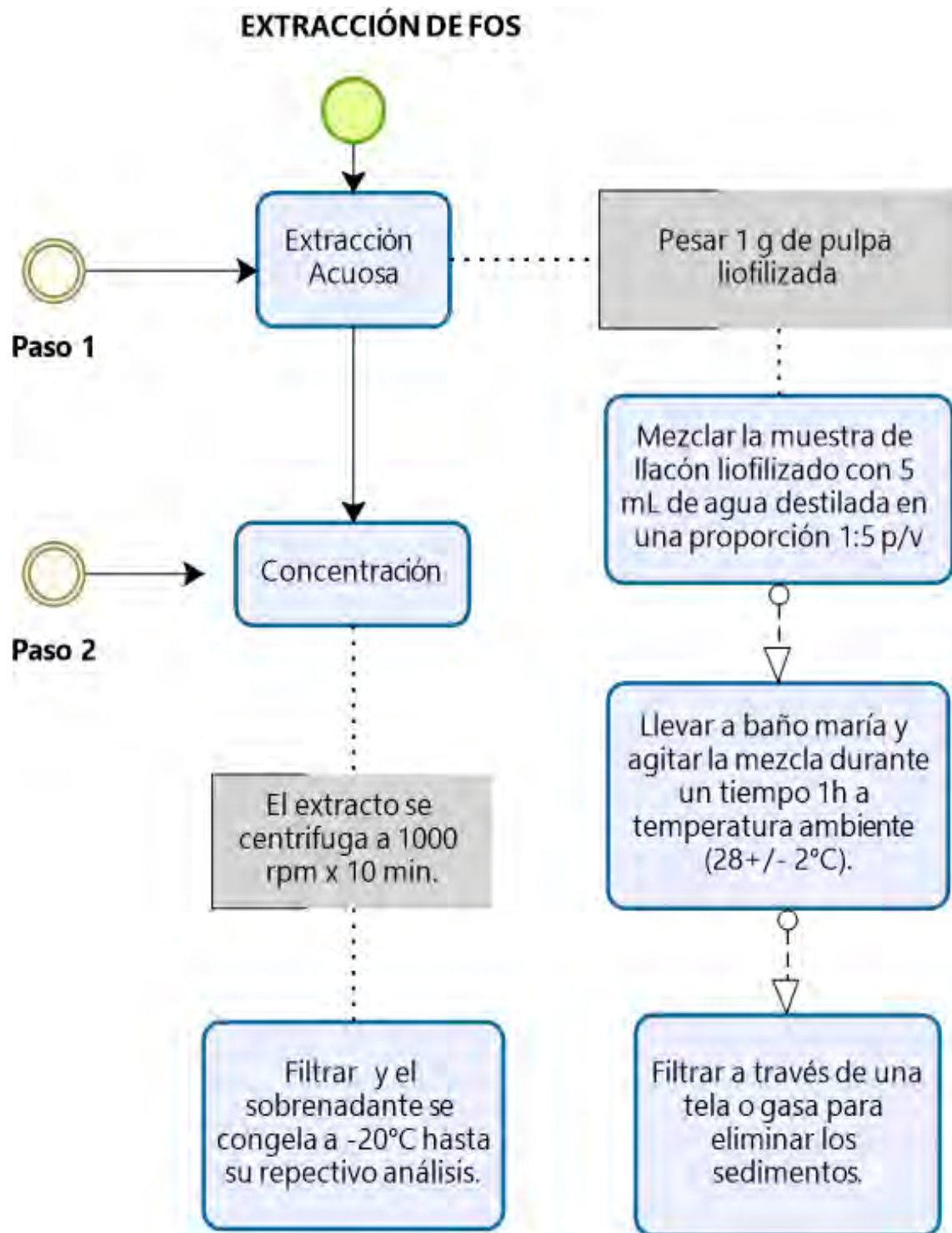
$$\%Carbohidratos = (100 - (\%P + \%F + \%C + \%G))$$

3.5.3. Fase II: Extracción y cuantificación de FOS y Control Microbiológico.

3.5.3.1. Extracción de Fructooligosacáridos

La extracción de los fructooligosacáridos (FOS) de la raíz de llacón liofilizada se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Para el procedimiento, se mezcló el polvo liofilizado con agua destilada en una proporción de 1:5 (p/v). La mezcla se sometió a agitación continua a una temperatura de 28±2°C durante 1 hora. Posteriormente, la mezcla se centrifugó y se filtró para obtener el extracto líquido, el cual se utilizó para los análisis subsiguientes.

Flujograma 7.Extracción de FOS

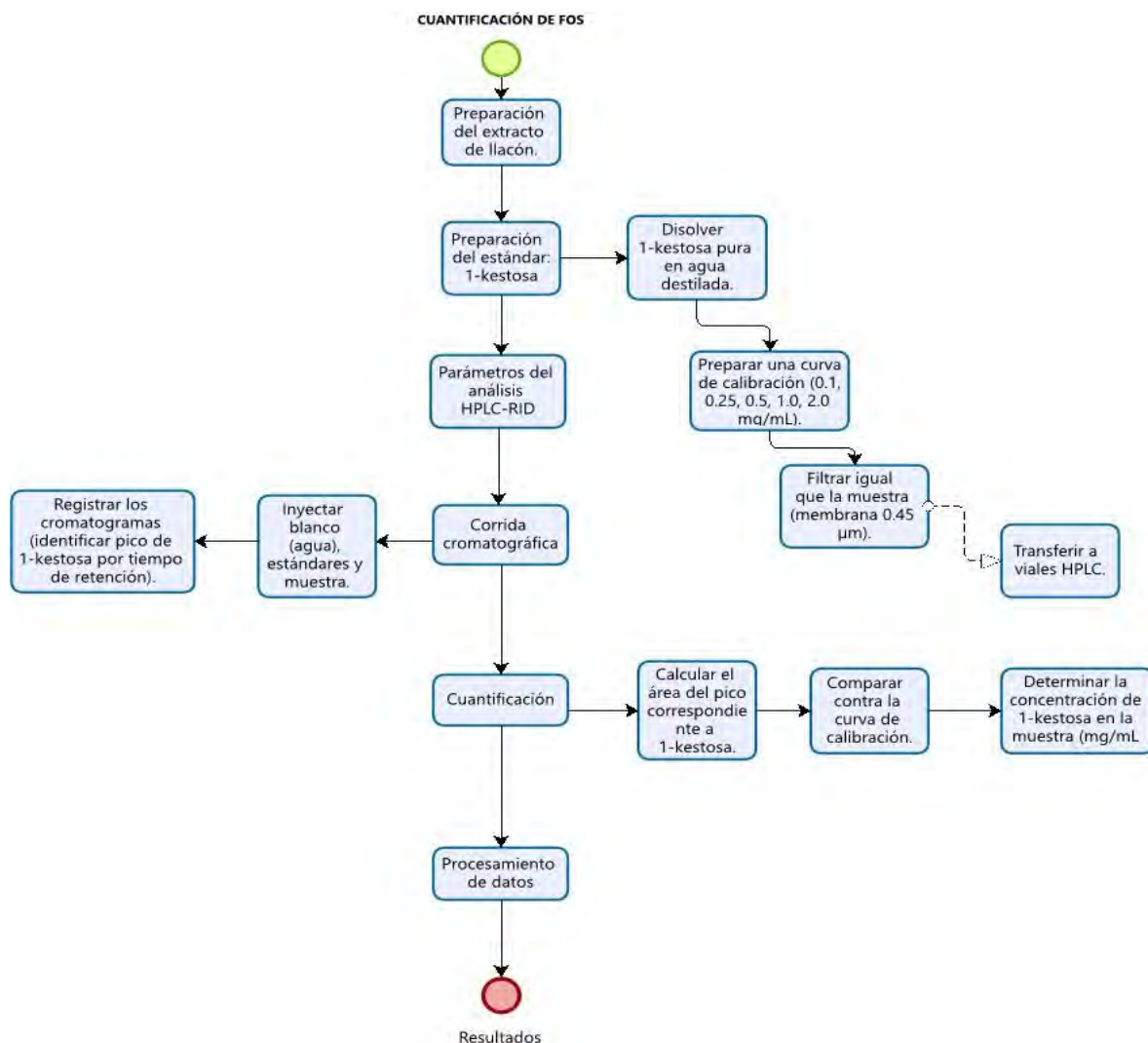


Fuente: Villafán et al., (2024)(16)

3.5.3.2. Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) por HPLC-RID

La cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) se llevó a cabo en el laboratorio de Bromatología, Cromatografía y Espectrometría de la Facultad de Ciencias Químicas, Física y Matemáticas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). Para ello, se utilizó la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) equipada con un detector de índice de refracción (RID). Se empleó una columna específica para la separación de carbohidratos, y se calibró el equipo utilizando un estándar comercial (17). El análisis se ejecutó por triplicado para garantizar la precisión y la reproducibilidad de los resultados obtenidos (VER ANEXO 19).

Flujograma 8. Cuantificación de FOS



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.3.3. Control microbiológico

La evaluación microbiológica del extracto acuoso de llacón se realizó siguiendo el método de la Comisión Internacional en Especializaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF). Para este análisis, se cuantificó la carga microbiana total, se identificaron microorganismos indicadores de higiene y se detectaron patógenos específicos. Los resultados se interpretaron aplicando los criterios microbiológicos correspondientes, los cuales incluían límites para asegurar la calidad y seguridad del producto.

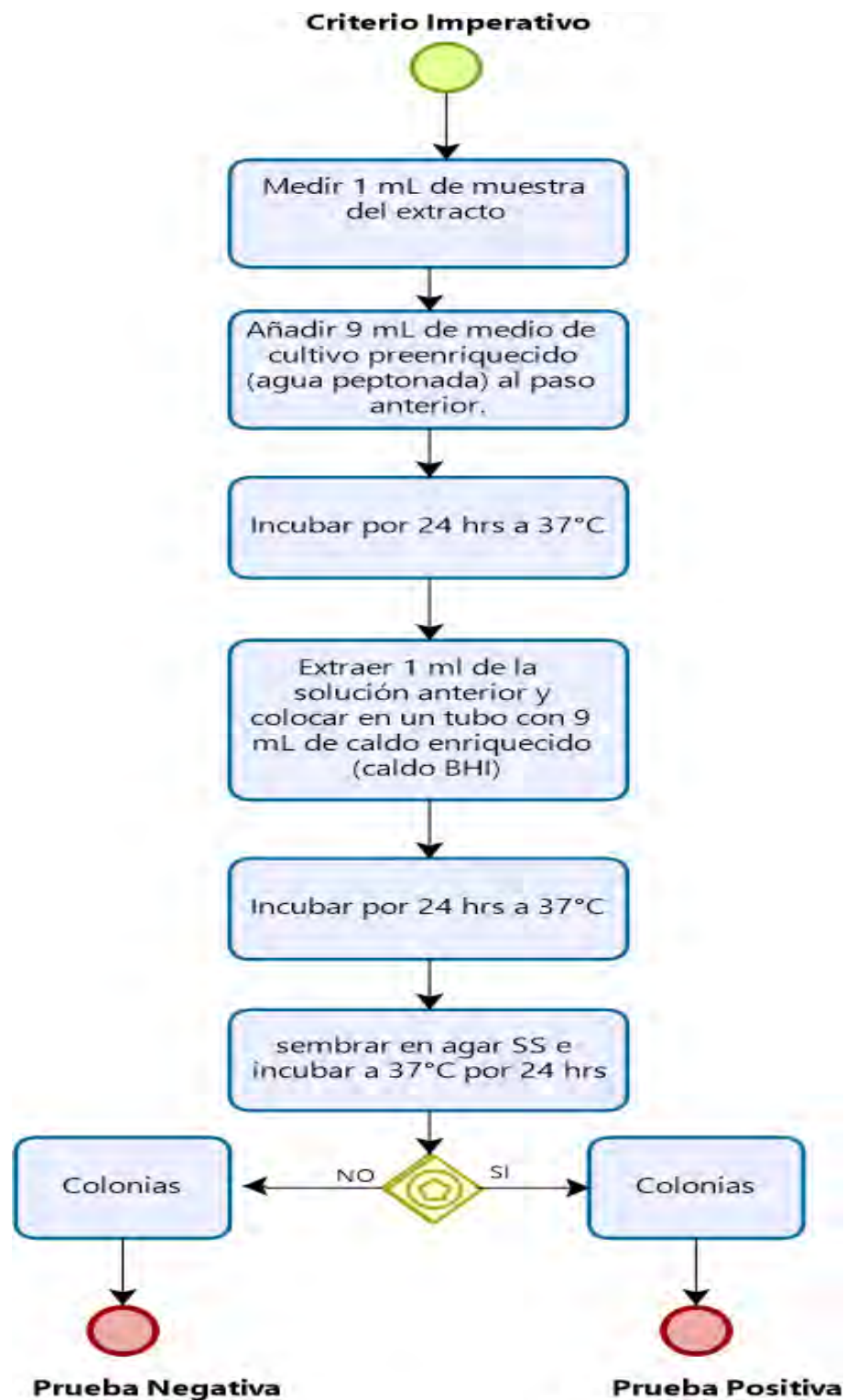
Tabla 16. Criterios microbiológicos y límites permisibles según la ICMSF para extractos vegetales.

Criterio (ICMSF)	Descripción	Microorganismo Evaluado	Límite Microbiológico Permisible
Criterio imperativo	Ausencia obligatoria de patógenos para garantizar inocuidad	Salmonella spp.	Ausencia Salmonella spp.
Criterio indicativo de higiene	Refleja condiciones higiénicas durante el procesamiento	Escherichia coli (coliformes fecales)	Ausencia E. Coli
Criterio de alerta o límite crítico	Niveles máximos aceptables antes de requerir medidas correctivas	Aerobios mesófilos viables	10^4 - 10^5 UFC
		Hongos y levaduras	10^2 - 10^3 UFC

Fuente: Comisión Internacional en Especializaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) (69).

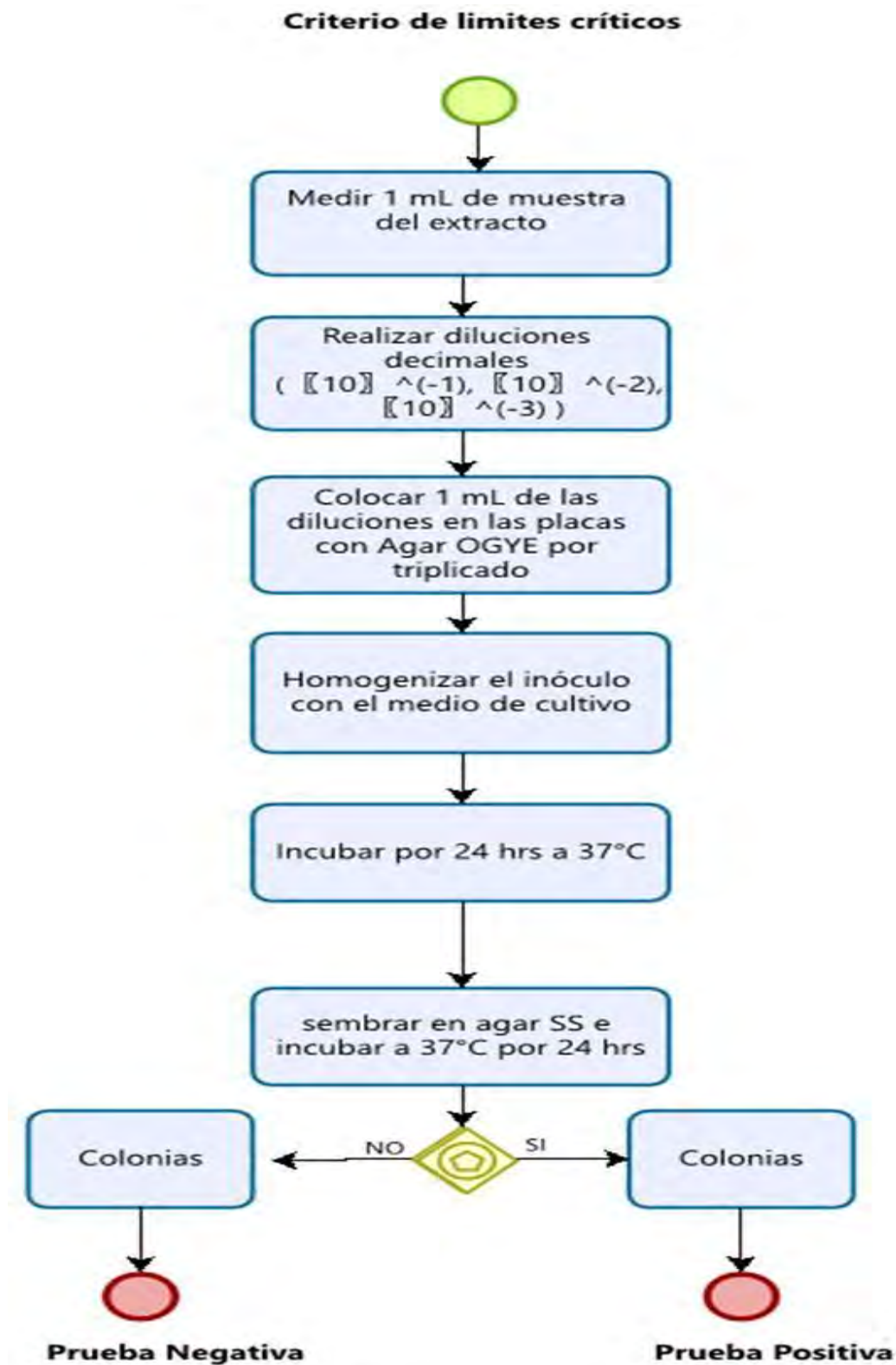
Los recuentos se realizan por siembra en medios selectivos y diferenciales, con incubación bajo condiciones específicas para cada grupo microbiano. Todos los análisis se efectúan por triplicado bajo condiciones estériles.

Flujograma 9.Proceso de control microbiológico por criterio imperativo para detección de Salmonella spp



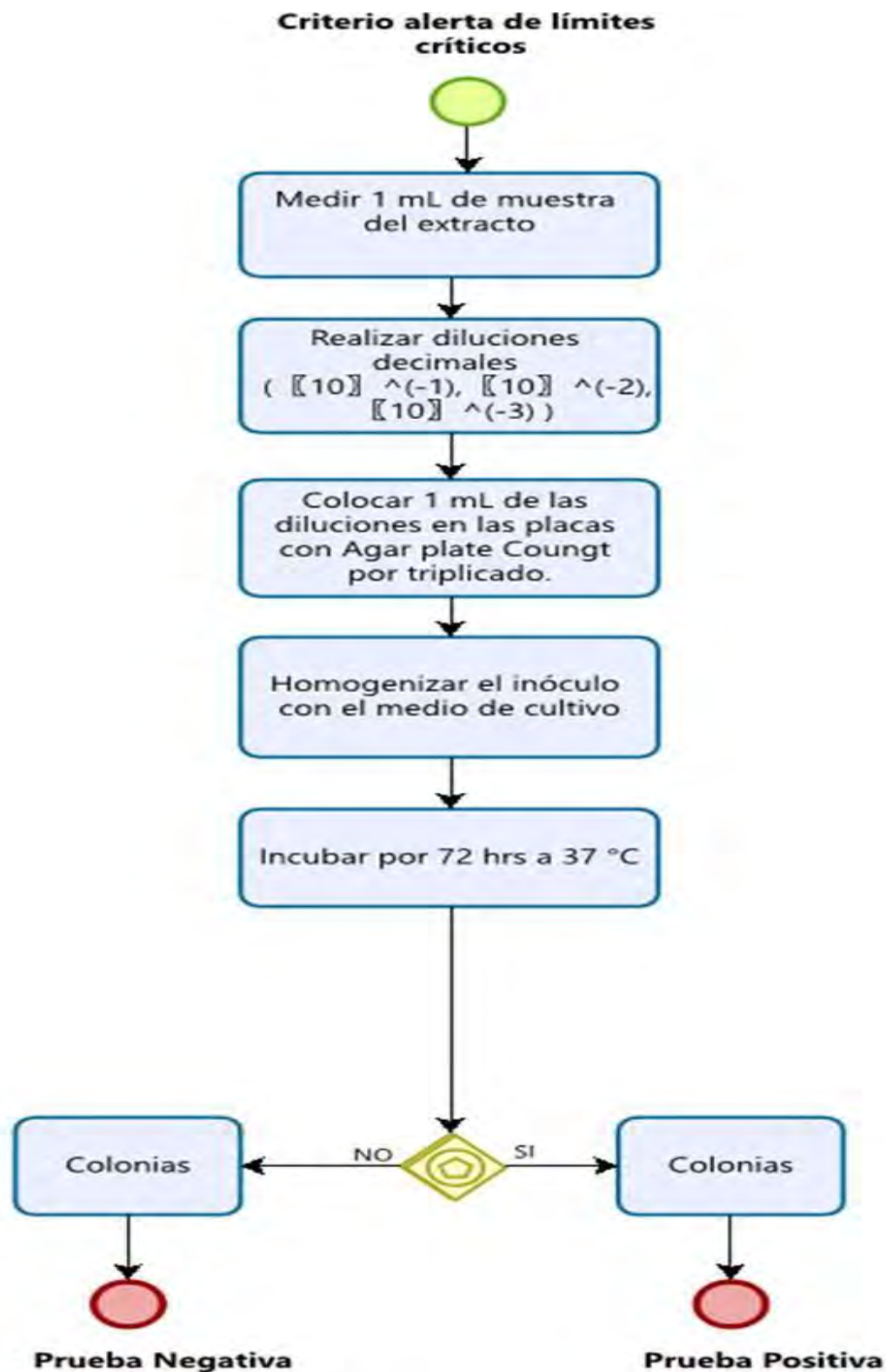
Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

Flujograma 10.Proceso de control microbiológico por criterio de límites críticos para detección de hongos y levadura



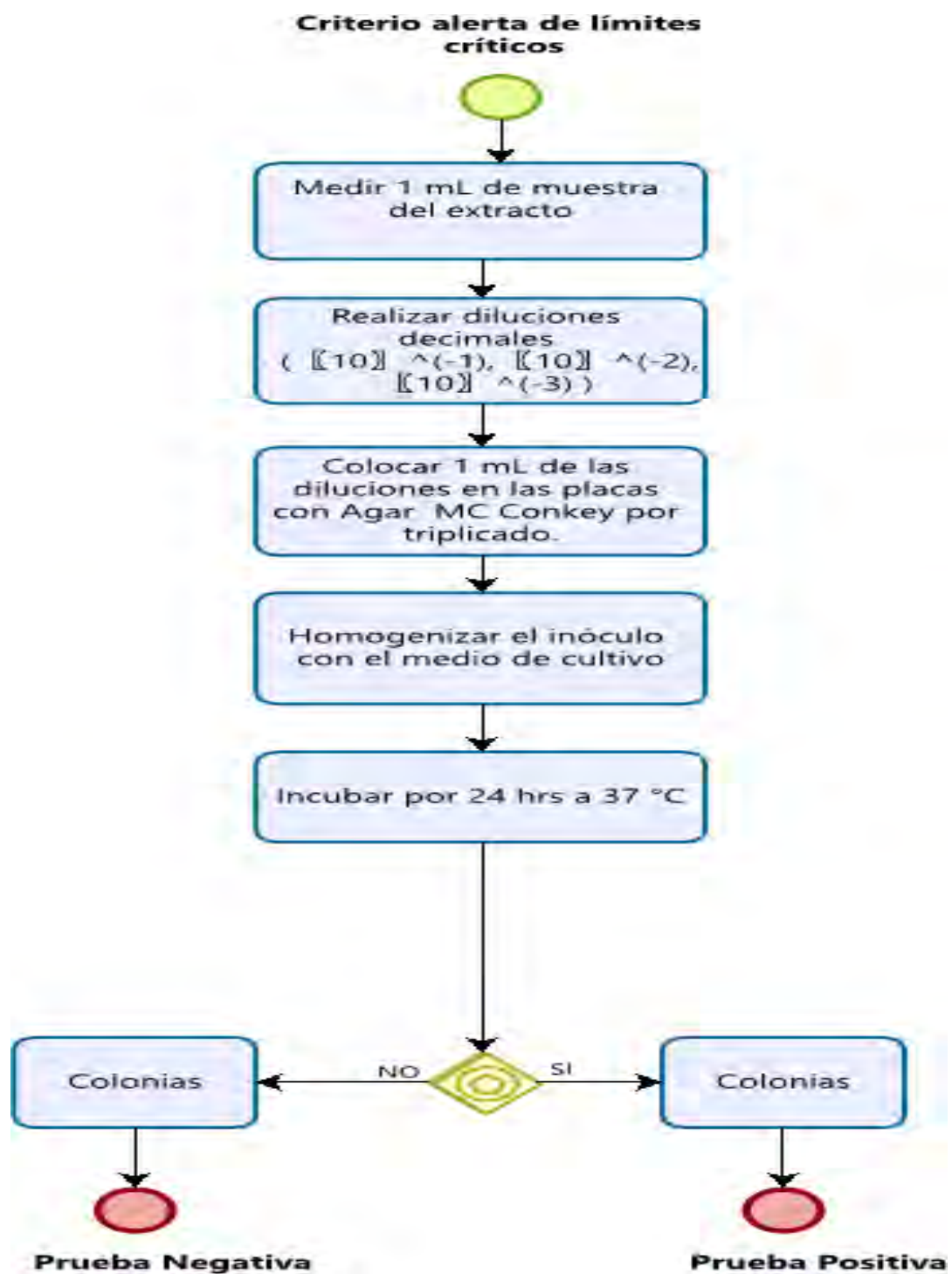
Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

Flujograma 11.Proceso de control microbiológico por criterio de alerta o límites críticos para detección de aerobios mesófilos



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

Flujograma 12.Proceso de control microbiológico por criterio indicativo de higiene para detección de coliformes fecales



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.5.4. Fase III: Evaluación de la Actividad Prebiótica In Vitro

3.5.4.1. Evaluación de la actividad prebiótica in vitro

Diseño experimental para la determinación de la actividad prebiótica in vitro del extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob) sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Para desarrollar la parte experimental se debe tener en cuenta lo siguiente:

Grupos de tratamiento:

Se establecen los siguientes grupos experimentales, con réplicas (triplicado por cada condición y tiempo):

1. **Grupo Control Negativo (CN):** Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356
2. **Grupo Control Positivo (CP):** Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 + Lactulosa
3. **Grupo Tratamiento 1 (X1):** Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 + extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) ([1%]).
4. **Grupo Tratamiento 2 (X2):** Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 + extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) ([2%]).
5. **Grupo Tratamiento 3 (X3):** Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 + extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob) ([3%]).
6. **Grupo Tratamiento 4 (X4):** Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 + extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob) ([4%]).
7. **Grupo Tratamiento 5 (X5):** Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 + extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob) ([5%]).

G1		O1
G2	X1	O2
G3	X2	O3
G4	X3	O4
G5	X4	O5
G6	X5	O6
G7	X6	O7

Donde:

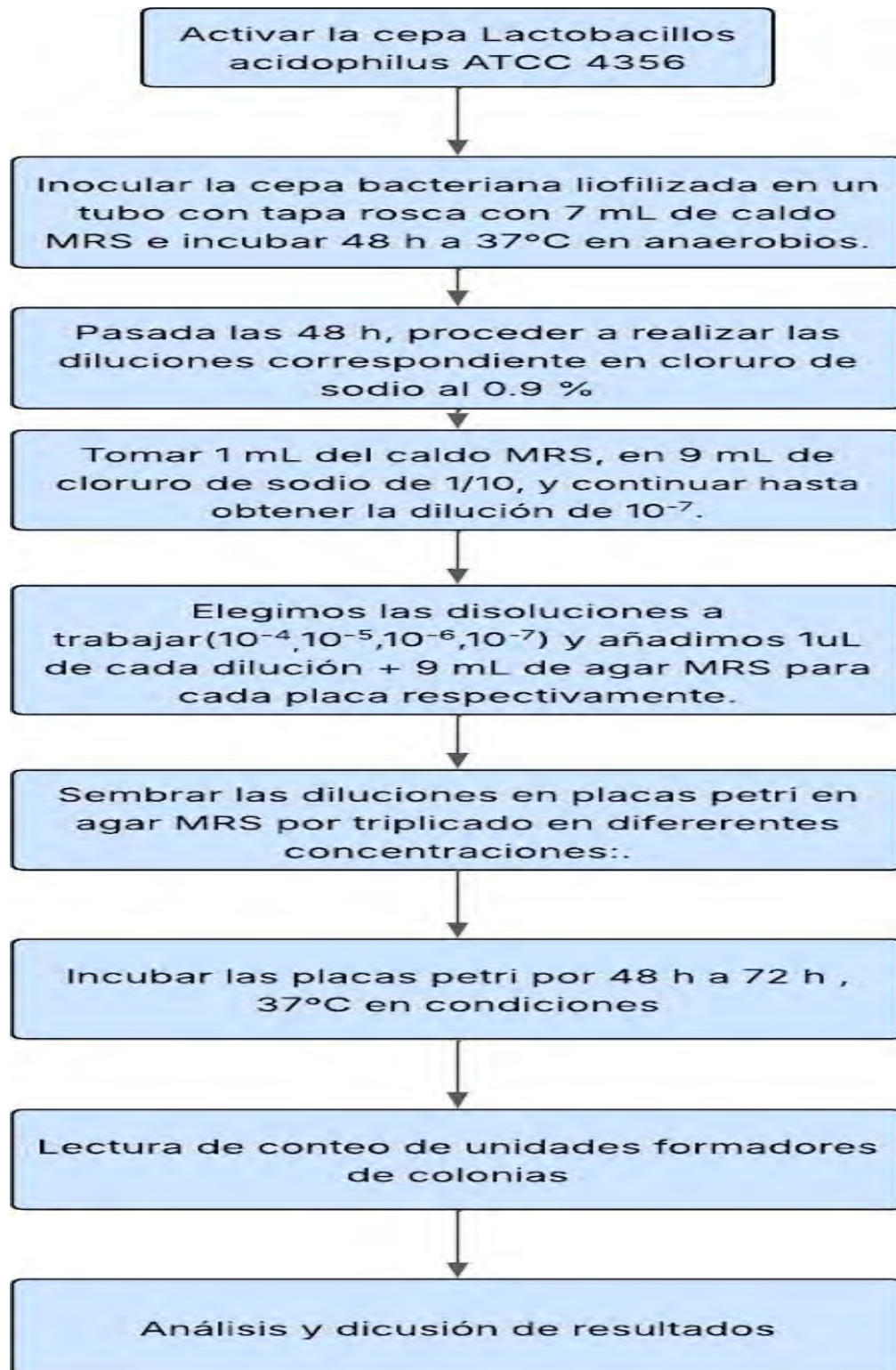
G: Grupo de cultivos de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en agar MRS

X: Representa las concentraciones del grupo blanco (Agar MRS + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356), grupo patrón (Agar MRS + Lactulosa + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356) y grupos de experimentación (Agar MRS + extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob) + *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356):

- **X1:** [0.01427 %] del patrón Lactulosa (15 mg/100 mL)
- **X2:** [1%] extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) (1 g/100 mL)
- **X3:** [2%] extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) 2 g/100 mL)
- **X4:** [3%] extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) (3 g/100 mL)
- **X5:** [4%] extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) (4 g/100 mL)
- **X6:** [5%] extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) (5 g/100 mL)

O: Observaciones que se realizan a cada grupo experimental (conteo de UFC a las 48 h)

Flujograma 13.Activación de la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356



Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

Tabla 17. Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medio MRS con diferentes concentraciones de extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)

GRUPO	PLACA	TRATAMIENTO			
		Concentración (%)	Microorganismo	Medio de cultivo	Condiciones de incubación
Blanco	1	...	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	2	...	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	3	...	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
Control (Lactulosa)	1	0.01427%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	2	0.01427%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	3	0.01427%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
Extracto acuosa de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob)	1	1%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	1	2%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	1	3%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	1	4%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	1	5%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 48h, anaerobiosis

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.6.1.1. Técnicas

Se utilizan recolección manual selectiva y análisis taxonómico comparativo para la identificación vegetal; liofilización, mediciones directas, refractometría, potenciometría y gravimetría para caracterización fisicoquímica; métodos colorimétricos y AOAC para análisis fitoquímico y proximal; extracción acuosa, cromatografía líquida (HPLC-RID) para FOS; y recuento microbiológico en agar y MRS para evaluar la actividad prebiótica

3.6.1.2. Instrumentos

Para el desarrollo del estudio se emplean instrumentos de laboratorio apropiados para cada etapa, incluyendo equipos de recolección, análisis físico-químico, procesamiento fitoquímico y proximal, sistemas de extracción y cuantificación de compuestos, así como materiales y equipos microbiológicos para la evaluación de la actividad prebiótica

3.6.2. Procesamiento y análisis de datos

Tabla 18. Métodos de análisis estadístico, validación y confiabilidad de los resultados

Actividad	Técnica estadística	Instrumento	Descripción	Validación	Confiabilidad
Análisis descriptivo	Media desviación	SPSS, Excel, R, hojas de cálculo	Resumen de la tendencia central y variabilidad de los recuentos de UFC	Cálculo con software estadístico (SPSS)	Repetición en tres réplicas por tratamiento
Comparación de medias	Análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Duncan (post hoc)	Software estadístico (SPSS, R, Excel), hojas de cálculo	Comparación de tratamientos para identificar diferencias significativas.	Método paramétrico con control de significancia ($p < 0.05$)	Uso de diseño completamente aleatorizado con controles
Transformación de UFC	Logaritmo decimal (Log 10)	Excel/SPSS	Normalización de recuentos microbianos.	Estándar en microbiología para mejorar la simetría.	Aplicación previa al análisis comparativo

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Porcentaje de rendimiento del proceso de liofilizado

Tabla 19. Porcentaje de liofilización en muestras de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)

Muestra	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Porcentaje de Liofilización (%)
1	348,4	33,88	9,72
2	315,6	30,85	9,78
3	298,5	30,2	10,12
Promedio		9,87	

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

En la Tabla 19 se muestran los resultados del proceso de liofilización de tres muestras de raíz de llacón, considerando el peso inicial, peso final y el porcentaje de rendimiento en materia seca. El peso inicial de las muestras varió entre 298,5 g y 348,4 g, mientras que, tras el proceso de liofilización, la materia seca obtenida se redujo a valores comprendidos entre 30,2 g y 33,88 g. Esto representa un rendimiento promedio de 9,87 % de materia seca.

Análisis y discusión de resultados

El promedio de 9,87 % de materia seca obtenido en este estudio se encuentra dentro del rango reportado para raíces de llacón cultivadas en la región de Cusco, a más de 3200 m s.n.m., donde Calcina Andaluz (2018) describe valores cercanos al 9–10 %. Esta mínima diferencia podría atribuirse al grado de madurez de la raíz, a variabilidad genética y a los factores climáticos como la temperatura, radiación solar, y topográficos como el tipo de suelo y la altitud (25,70). Por otro lado, Mascoco Rosales (2023) reporta que, en la provincia de Bagua, Amazonas ($\approx$ 400–500 m s.n.m., selva alta) los porcentajes de materia seca son superiores, alcanzando en promedio entre

13–14 %, mientras que, en la provincia de Pachitea, Huánuco (≈ 3000 m s.n.m., zona intermedia) los valores se aproximan al 15 %. Estas variaciones se explican por los factores agroclimáticos característicos de cada región: en altitudes bajas y medias predominan temperaturas más cálidas, menor humedad relativa y mayor radiación solar (24). Cabe señalar que, de acuerdo con Seminario et al. (2003), el llacón es una de las raíces reservantes comestibles con mayor contenido de agua, representando entre el 83 % y el 90 % del peso fresco (13). En este contexto, el bajo porcentaje de materia seca observado es coherente con su naturaleza altamente acuosa. En conjunto, los resultados de este estudio confirman que tanto la altitud como el microclima son factores determinantes en el contenido de materia seca del llacón.

4.2. Características preliminares

4.2.1. Análisis fisicoquímico

Tabla 20. Análisis fisicoquímico de la raíz liofilizada de llacón

CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS	PH	ACIDEZ TITULABLE (%)	SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES	RELACIÓN SST/AT (°Brix)
Repetición 1	6	0,8	80	100
Repetición 2	6,2	0,9	80,4	89,33
Repetición 3	6,34	0,88	80,8	91,82
PROMEDIO	6,18	0,86	80,4	93,72

Grados Brix (°Bx): Mide el contenido de azúcar en un líquido

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

En la Tabla 21 se presentan los resultados de los análisis fisicoquímicos de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius*). El valor de pH se encontró en un rango de 6,00 a 6,34, con un promedio de 6,18. La acidez titulable se registró entre 0,80% y 0,90%, con un promedio de 0,86%. En relación con los sólidos solubles totales, los valores oscilaron entre 80,00 y 80,80 °Brix, con un promedio de 80,40 °Brix. Finalmente, la relación SST/AT presentó un intervalo de 89,33 a 100,00, con un promedio de 93,72.

Análisis y discusión de resultados

Al contrastar los resultados del presente estudio con la literatura, se observa que las características fisicoquímicas del llacón muestran variaciones relevantes, aunque dentro de rangos aproximados. El pH promedio obtenido 6.18 coincide con lo reportado por Saavedra Gálvez (2023)($\approx 6,14$) y Salvatierra Hurtado (2015) ($\approx 6,14$), mientras que el descrito por Ayala Taipe (2017) ($\approx 6,48$) es ligeramente más elevado, aunque todos se mantienen en el rango característico del tubérculo (71–73) . En cuanto a la acidez titulable, el valor de 0,86% supera a los informados por Saavedra Gálvez ($\approx 0,32\%$), Salvatierra Hurtado ($\approx 0,20\%$) y Ayala Taipe ($\approx 0,22\%$)(71–73), diferencia que podría estar asociada al estado de madurez de las raíces. Respecto a los sólidos solubles totales, el promedio de 80,40 °Brix es considerablemente mayor frente a los descritos por Saavedra Gálvez ($\approx 11,17$ °Brix), Ayala Taipe ($\approx 9,25$ °Brix) y Mascoco ($\approx 10,5$ – $17,5$ °Brix)(24,71,73), lo que indica una elevada concentración de azúcares y fructooligosacáridos, posiblemente influida por factores agroecológicos y de almacenamiento. De manera concordante, la relación SST/AT alcanzó 93,48, superando ampliamente los valores consignados por Saavedra Gálvez ($\approx 34,90$) y Ayala Taipe ($\approx 42,04$)(71,73), lo que refleja un perfil sensorial donde predomina el dulzor sobre la acidez. En conjunto, estas diferencias con lo reportado por otros autores podrían estar relacionadas con las condiciones de cultivo, el grado de madurez al momento de la cosecha y el almacenamiento. Los hallazgos del presente estudio aportan evidencia relevante sobre el perfil fisicoquímico del llacón, destacando su alto contenido de sólidos solubles y la marcada relación SST/AT.

4.2.2. Solubilidad

Tabla 21. Solubilidad cualitativa del extracto en diferentes disolventes orgánicos y agua.

SOLUBILIDAD	RESULTADOS
Hexano	-
Cloroformo	+
Acetato de etilo	+
Acetona	+
Etanol 96%	++
Metanol	++
Agua	+++

Leyenda: * Muy soluble: +++, *Soluble: ++, *Poco soluble: +, *Insoluble:-

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

La tabla 20, muestra la solubilidad cualitativa del liofilizado de Ilacón en disolventes de distinta polaridad, el liofilizado fue insoluble en hexano (–), lo que indica una baja presencia de compuestos apolares, baja solubilidad en cloroformo, acetato de etilo y acetona (+), moderada solubilidad en etanol al 96% y metanol (++) , y una solubilidad alta en agua (+++) lo que permite inferir la polaridad de los compuestos presentes.

Análisis y discusión de resultados

La evaluación de la solubilidad del liofilizado de la raíz de llacón en diferentes disolventes evidenció una marcada afinidad por los solventes polares, como agua, metanol y etanol. Este comportamiento confirma la naturaleza hidrofílica de los metabolitos presentes, principalmente los fructooligosacáridos (FOS), compuestos caracterizados por la abundancia de grupos hidroxilo (-OH) capaces de formar puentes de hidrógeno con el solvente, lo que favorece su rápida disolución y estabilidad en medios acuosos. En contraste, la insolubilidad en disolventes no polares como el hexano demuestra la escasa presencia de metabolitos lipofílicos. Este hallazgo concuerda con lo señalado por Seminario et al. (2003), quienes reportaron que la raíz de llacón está compuesta en un 90 % por carbohidratos, mientras que los lípidos se encuentran en proporciones mínimas (13). Por otro lado, la solubilidad intermedia observada en disolventes de polaridad moderada, como cloroformo, acetato de etilo y acetona, indica la presencia de ciertos metabolitos secundarios de carácter semipolar, como flavonoides los cuales han sido reportados en estudios previos(28).

En conjunto, estos resultados confirman que el liofilizado de la raíz de llacón presenta una matriz predominantemente hidrofílica, sustentada en la alta concentración de carbohidratos tipo FOS frente a metabolitos lipofílicos minoritarios.

4.2.3. Análisis fitoquímico cualitativo

Tabla 22. Análisis fitoquímico cualitativo del liofilizado de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)

PRUEBAS	RESULTADOS
Compuestos fenólicos	-
Flavonoides	+
Alcaloides	-
Triterpenos y esteroides	-
Saponinas	-
Taninos	-
Quinonas	-

Leyenda: * Abundante:+++, *Muy poco:++, *Poco:+, *Ausente:-

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

La Tabla 22 muestra los resultados del análisis fitoquímico cualitativo realizado al liofilizado de la raíz de llacón. De acuerdo con los resultados presentados, únicamente la prueba para flavonoides fue positiva (+), indicando la presencia de estos compuestos en el extracto liofilizado. En contraste, las pruebas para compuestos fenólicos, alcaloides, triterpenos y esteroides, saponinas, taninos y quinonas resultaron negativas (-), lo que indica que estos metabolitos secundarios no están presentes en la muestra bajo las condiciones evaluadas en este estudio.

Análisis y discusión de resultados

En el análisis fitoquímico cualitativo, el hallazgo más relevante del liofilizado de la raíz de llacón fue la presencia de flavonoides, metabolitos secundarios reconocidos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas, que en la planta contribuyen a la defensa frente a radiación UV, patógenos y herbívoros.

Estudios previos muestran variabilidad según la procedencia geográfica y el órgano vegetal. Rodríguez N et al (2016) identificaron flavonoides y taninos en muestras de llacón de La Paz, Bolivia (64) y Valero Vaquero (2017) detectó solo flavonoides en la raíz, mientras que en hojas reportó mayor diversidad, incluyendo lactonas, cumarinas y ácidos fenólicos (74) . De manera complementaria, Héctor Vílchez (2018) y Aguilar Bonilla (2002) identificaron flavonoides y ácidos fenólicos en hojas, evidenciando que la presencia y concentración de estos metabolitos dependen del órgano vegetal y las condiciones de cultivo (75,76).

En cuanto a los ácidos fenólicos y otros metabolitos secundarios, la prueba general para compuestos fenólicos resultó negativa, a pesar de que los flavonoides pertenecen a este grupo. Tampoco se detectaron taninos, alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas ni quinonas. La baja concentración de flavonoides detectada en la pulpa de la raíz de llacón puede explicarse por la distribución diferencial de los compuestos dentro de la planta, así como por la procedencia geográfica, la altitud del cultivo y otros factores ambientales que influyen en la síntesis de metabolitos secundarios y también porque estos metabolitos se encuentran en mayor proporción en la cáscara, como ocurre en diversos tubérculos y frutos, donde la capa externa cumple un papel fundamental de defensa frente a factores ambientales y biológicos. Esto sugiere que el aprovechamiento integral de la raíz, incluyendo la cáscara, podría aportar una mayor riqueza fitoquímica y potenciar las propiedades funcionales del llacón

4.3. Análisis proximal

Tabla 23. Composición proximal del liofilizado de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)

ANÁLISIS PROXIMAL	HUMEDAD (%)	PROTEÍNA (%)	GRASA (%)	CENIZA (%)	FIBRA (%)	CARBOHIDRATOS (%)
Repetición 1	3,5	4,59	0,4	3	1,71	86,8
Repetición 2	3,7	4,6	0,38	3,58	1,66	86,08
Repetición 3	3,78	4,61	0,36	3,5	1,73	86,02
PROMEDIO	3,66	4,60	0,38	3,36	1,7	86,30

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

La Tabla 23 presenta los resultados del análisis proximal del liofilizado de raíz de llacón. El contenido de humedad promedio fue de 3,66%, indicando baja retención de agua. La proteína alcanzó un promedio de 4,60%, mientras que la grasa se mantuvo en niveles mínimos, con un promedio de 0,38%. El contenido de ceniza, representativo de los minerales, fue de 3,36%, y la fibra dietética alcanzó un promedio de 1,70%. Los carbohidratos constituyen el componente predominante, con un promedio de 86,30%.

Análisis y discusión de resultados

El análisis proximal de nuestro liofilizado de llacón reveló una composición nutricional que presenta variaciones en comparación con los resultados de otros autores.

El porcentaje de humedad de 3.66% en nuestro estudio es comparable al 3% reportado por Salvatierra Hurtado (2015). Asimismo, es menor que el valor de 5.9% descrito por Mascoco Rosales (2023) en la provincia de Bagua (429 m.s.n.m.), pero superior a los valores de 2.8% en la provincia de Pachitea (3040 m.s.n.m.) (Mascoco Rosales, 2023) y de 2.5% señalados por Calcina Andaluz (2023)(72,24,25). La humedad residual constituye un indicador de la eficiencia del proceso de liofilización; un valor más bajo (como el de 2.5% de Calcina Andaluz) refleja una deshidratación más completa y una mayor estabilidad del producto a largo plazo. La humedad residual refleja directamente la eficiencia de la deshidratación por liofilización. Los valores más bajos de otros estudios indican que se logró una remoción de agua más completa, lo que es deseable para la estabilidad a largo plazo y la vida útil del

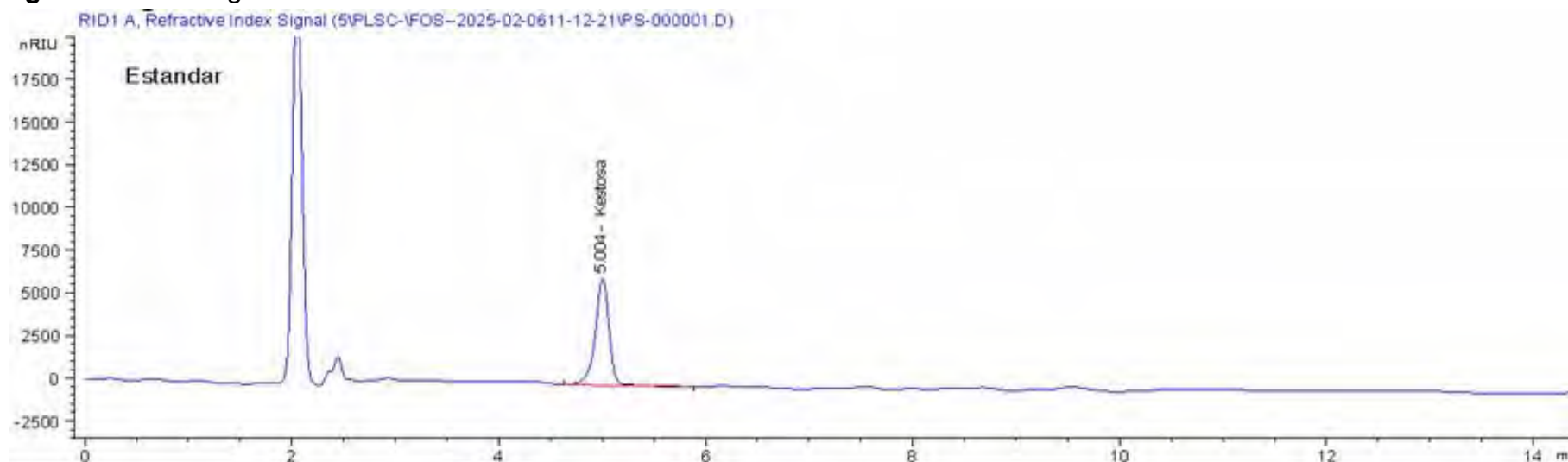
producto. La variación en los resultados se atribuye principalmente a la procedencia de la muestra, ya que las condiciones de cultivo y el estado de madurez de la raíz influyen en el contenido de agua inicial. Dicha humedad inicial actúa como el punto de partida del proceso de deshidratación, y sus diferencias se reflejan en el resultado final, incluso si el proceso de liofilización se lleva a cabo con el mismo equipo. En cuanto a la proteína con un contenido de 4.60%, nuestro liofilizado se encuentra dentro del rango reportado en otros estudios. Mascoco Rosales (2023) informó aproximadamente 4.2% en la provincia de Pachitea (3040 m.s.n.m.) y 6.0% en la provincia de Bagua (429 m.s.n.m.), mientras que Salvatierra Hurtado (2015) registró alrededor de 2.9% (24,72). Estas variaciones pueden atribuirse a la genética de la planta y a las condiciones de cultivo, que afectan directamente la síntesis de proteínas. Factores como la disponibilidad de nitrógeno en el suelo y el clima local influyen en el metabolismo de la planta y, por ende, en su capacidad para producir proteínas. Las diferencias observadas entre las provincias de Bagua (429 m.s.n.m.) y Pachitea (3040 m.s.n.m.), por ejemplo, demuestran el impacto de los factores edafoclimáticos en la composición nutricional. Respecto a la cantidad de carbohidratos nuestro resultado de 86.3% de carbohidratos es ligeramente superior al reportado por Mascoco Rosales (2023) en la provincia de Bagua (429 m.s.n.m.) (82.6%), pero se encuentra por debajo de los valores de la provincia de Pachitea (3040 m.s.n.m.) (88.4%) y del estudio de Salvatierra Hurtado (2015), quien registró aproximadamente 88.6% (24,72). Esto confirma que nuestro liofilizado constituye una excelente fuente de energía, lo cual es esperable, dado que los fructooligosacáridos (FOS) representan los principales componentes de la materia seca del llacón. La liofilización concentra estos carbohidratos de manera muy efectiva. Las ligeras variaciones entre los estudios son comunes y reflejan la diversidad natural en la composición de la raíz de llacón. En lo que concierne al contenido de fibra obtuvimos un 1.7%, nuestro liofilizado presenta un valor intermedio respecto a los reportados por Mascoco Rosales (2023), quien encontró 2.4% en la provincia de Bagua (429 m.s.n.m.) y 1.0% en la provincia de Pachitea (3040 m.s.n.m.). Sin embargo, es considerablemente menor al valor descrito por Salvatierra Hurtado (2015), que alcanzó aproximadamente 6.1% (24,72). Estos resultados destacan el potencial del llacón como fuente de fibra dietética, aunque con variaciones significativas atribuibles a la variabilidad de la materia prima. La marcada diferencia con el estudio de Salvatierra Hurtado, puede deberse a la variedad específica de llacón utilizada y a su

estado de madurez al momento de la cosecha. La composición de la fibra varía con la madurez de la raíz, y es posible que la muestra de Salvatierra tuviera una mayor concentración de este compuesto. Además, las diferencias en los métodos de análisis de laboratorio también pueden influir en los resultados reportados. Con relación al porcentaje obtenido de 3.36% de cenizas en nuestro estudio resulta superior a la mayoría de los valores reportados en investigaciones previas. Mascoco Rosales (2023) informó aproximadamente 1.9% en la provincia de Bagua (429 m.s.n.m.) y 1.0% en la provincia de Pachitea (3040 m.s.n.m.), mientras que Salvatierra Hurtado (2015) registró un valor cercano a 0.4% (24,72). Este mayor contenido de cenizas es un indicador de una mayor concentración de minerales en el suelo de cultivo de donde provino nuestra muestra. A diferencia de otros componentes, el contenido de cenizas está estrechamente relacionado con la absorción de minerales del suelo. Por lo tanto, un valor más alto en nuestro liofilizado puede considerarse una ventaja nutricional, ya que refleja una mayor riqueza mineral. Por último, el contenido de 0.38% de grasa en nuestro liofilizado es consistente con los bajos niveles de lípidos típicamente encontrados en el llacón. Este valor es inferior a los reportados por Mascoco Rosales (2023), quien obtuvo 0.7% en la provincia de P y 1.2% en la provincia de Bagua (429 m.s.n.m.), así como al 2.0% descrito por Salvatierra Hurtado (2015) (24,72). Estos resultados confirman que la raíz de llacón constituye una fuente alimenticia naturalmente baja en grasas. Las variaciones mínimas observadas en la literatura no son significativas y reafirman la consistencia del llacón como una fuente principalmente de carbohidratos.

4.4. Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS)

El análisis del extracto de raíz de llacón, realizado mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) acoplada a un detector de índice de refracción (RID), permitió determinar el perfil y la concentración de fructooligosacáridos (FOS).

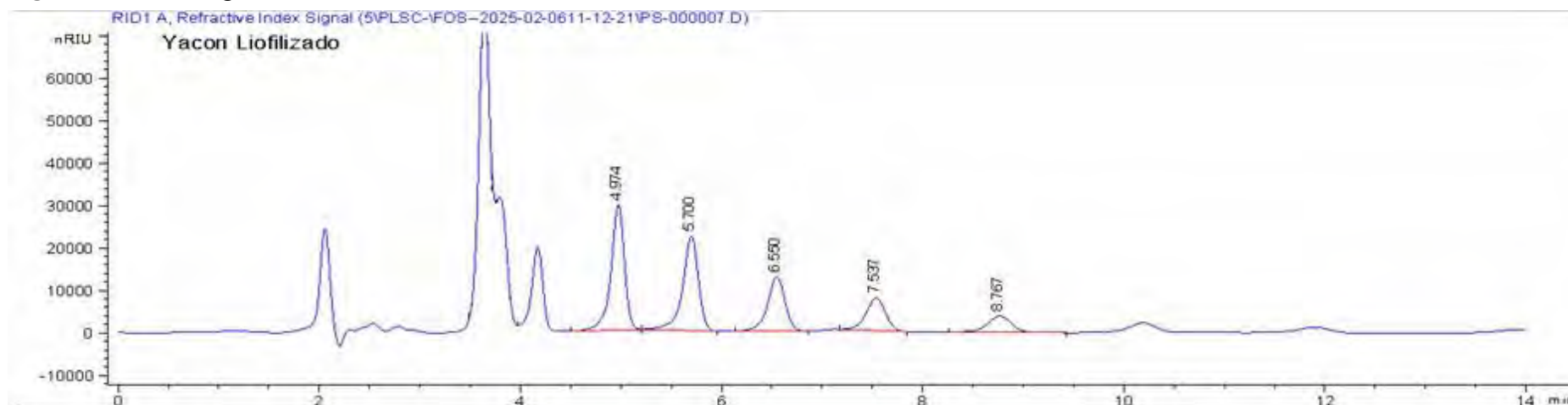
Figura 6. Cromatograma del estándar de 1-Kestosa



Fuente: Laboratorio de cromatografía y espectrofotometría, UNSAAC(2025)

En la figura 6 se presenta el cromatograma correspondiente al estándar de 1-Kestosa, obtenido mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) con detector de índice de refracción (RID). En el eje Y se observa la señal de respuesta del detector expresada en miliunidades de índice de refracción (mRIU), mientras que el eje X representa el tiempo de retención (min), comprendido entre 0 y 14 minutos. El primer pico, de gran intensidad y observado aproximadamente a los 2 minutos, corresponde al tiempo muerto del sistema, asociado al solvente utilizado (acetonitrilo) y a los componentes que no presentan interacción con la fase estacionaria. Este pico suele representar las sustancias no retenidas o débilmente retenidas. El segundo pico, con un tiempo de retención de 5.004 minutos, corresponde al compuesto 1-Kestosa, identificado como el analito de interés. Este presenta una señal máxima cercana a los 6,000 mRIU, evidenciando una respuesta característica y reproducible del estándar bajo las condiciones cromatográficas aplicadas. La presencia de este pico confirma la correcta detección y separación del estándar de referencia.

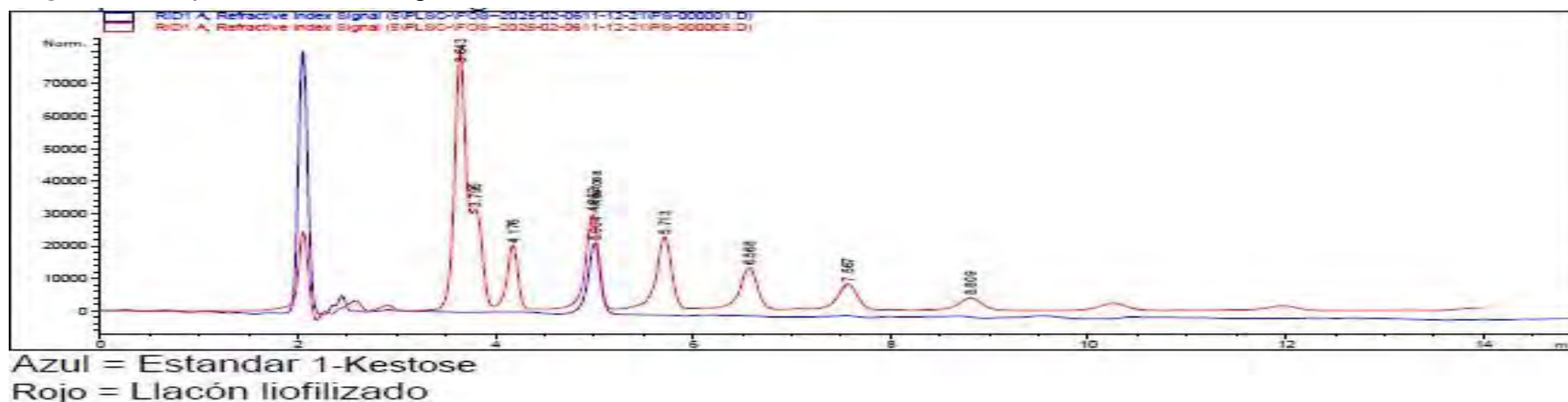
Figura 7. Cromatograma de HPLC de la raíz de llacón liofilizado



Fuente: Laboratorio de cromatografía y espectrofotometría, UNSAAC (2025)

En la figura 7 se presenta el cromatograma correspondiente a la raíz liofilizada de llacón, obtenido mediante HPLC con detector de índice de refracción (RID). Al igual que en el análisis del estándar, el eje Y representa la señal del detector expresada en miliunidades de índice de refracción (mRIU), mientras que el eje X muestra el tiempo de retención en minutos (0–14 min). A diferencia del cromatograma del estándar de 1-Kestosa, este perfil cromatográfico presenta una mayor complejidad, evidenciando la presencia de múltiples compuestos solubles en la muestra. Se observa un grupo de picos intensos entre los 2 y 4 minutos, alcanzando señales superiores a 60,000 mRIU, correspondientes al solvente (acetonitrilo) y a compuestos no retenidos o de bajo peso molecular, presentes en alta concentración. El pico principal registrado a los 4.974 minutos muestra una señal cercana a los 30,000 mRIU y se encuentra muy próximo al tiempo de retención del estándar de 1-Kestosa (5.004 min), por lo que se le atribuye a este compuesto. Posteriormente, se observa un segundo pico de alta intensidad a los 5.700 minutos, con una respuesta superior a 20,000 mRIU, el cual corresponde presumiblemente a otro fructooligosacárido de mayor peso molecular. Asimismo, se identifican picos menores a los 6.550, 7.537 y 8.767 minutos, que podrían ser otros fructooligosacáridos con un mayor grado de polimerización.

Figura 8. Comparación Cromatográfica: Estándar de Kestosa vs. Ilacón liofilizado



Fuente: Laboratorio de cromatografía y espectrofotometría, UNSAAC (2025)

En la figura 8 se presenta la superposición de los cromatogramas correspondientes al estándar de 1-Kestosa y el liofilizado de raíz de Ilacón, obtenidos mediante HPLC con detector de índice de refracción (RID). Esta comparación permite identificar y confirmar la presencia de los fructooligosacáridos característicos del Ilacón mediante la coincidencia de tiempos de retención con el estándar de referencia. El eje X representa el tiempo de retención en minutos (0–14 min), mientras que el eje Y muestra la señal normalizada del detector, expresada en unidades de índice de refracción (RIU) hasta un máximo de 80,000. En la región inicial (2–4 min) se observa un pico muy intenso en ambos cromatogramas, correspondiente al tiempo muerto del sistema y al solvente (acetonitrilo). En el cromatograma del Ilacón aparecen picos adicionales a 3.643, 3.795 y 4.176 minutos, asociados a la presencia de otros compuestos. El pico característico de la 1-Kestosa se presenta a los 5.004 minutos en el cromatograma del estándar, y coincide perfectamente con un pico de igual de 4.982 tiempo de retención en la muestra de Ilacón. Esta coincidencia confirma la presencia de 1-Kestosa en la muestra. Posteriormente, en la región de 5.7 a 8.8 minutos, el cromatograma del Ilacón muestra una serie de picos que no están presentes en el estándar, que podrían ser otros FOS de mayor grado de polimerización (DP).

Nota: En la superposición de los cromatogramas se observaron ligeras variaciones en los tiempos de retención entre el estándar y la muestra, atribuibles a diferencias en la matriz de la muestra y a fluctuaciones instrumentales propias del sistema HPLC-RID. Sin embargo, la coincidencia del pico principal del extracto con el del estándar de 1-Kestose confirma la presencia de este compuesto en la muestra, mientras que los picos adicionales evidencian la existencia de otros fructooligosacáridos de mayor grado de polimerización.

Tabla 24. Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) en el extracto de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) determinado por HPLC-RID

Fructooligosacáridos	Lecturas			Promedio
	1	2	3	Equivalentes de 1-Kestose g/100gr
1-Kestose (Glu-Fru ₂)	5.211	5.168	5.300	5.2
	4.723	4.834	4.689	4.7
Otros	3.179	3.080	3.017	3.1
	2.105	2.157	2.065	2.1
	1.326	1.332	1.292	1.3
TR min = Tiempo de retención en minutos			Total FOS	16.5

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

En la Tabla 24 se presenta un resumen de los resultados, donde se identificaron y cuantificaron tres tipos principales de FOS: 1-Kestosa (Glu-Fru₂), Nistosa (Glu-Fru₃) y 1F-Fructofuranosilnistosa (Glu-Fru₄), con tiempos de retención (TR) de 4.982, 5.713 y 7.567 minutos, respectivamente. El contenido total de FOS en el extracto fue de 16.5 g/100 mL. La 1-Kestosa fue el FOS más abundante, con una concentración de 5.2 g/100 mL, seguida de la Nistosa con 4.7 g/100 mL y la 1F-Fructofuranosilnistosa con 3.1 g/100 mL. Adicionalmente, se detectaron otros fructooligosacáridos menores, con concentraciones de 2.1 g/100 mL y 1.3 g/100 mL.

Análisis y discusión de resultados

La cuantificación mediante HPLC-RID permitió determinar un contenido total de 16.5% de FOS en nuestro liofilizado de raíz de llacón. El perfil estuvo dominado por 1-kestosa (5.2%), seguida de nistosa (4.7%) y 1F-fructofuranosilnistosa (3.1%). La presencia de otros FOS minoritarios (2.1%) evidencia una diversidad estructural relevante para la salud intestinal.

Al contrastar nuestros resultados con los de Mascoco Rosales (2023), quien también cuantificó el liofilizado de llacón, se observa que los valores totales de FOS obtenidos en nuestro estudio son considerablemente superiores. De manera específica, este autor reportó valores aproximados de 7.9% en Pachitea (3040 m.s.n.m.) y 7.7% en Bagua (429 m.s.n.m.), cifras que resultan menores en comparación con las nuestras (24). Sin embargo los resultados de 8.89% de FOS descritos por Jiménez ME, Sammán N(2014) son inferiores a nuestro resultado (77). No obstante, nuestro valor de 16.5% supera ampliamente dichos resultados, lo que puede atribuirse a diversos factores, entre ellos las condiciones agroecológicas (suelo, clima y altitud), la variabilidad genética de las plantas y el estado de madurez de las raíces, considerando que la concentración de FOS tiende a incrementarse conforme la planta alcanza su madurez fisiológica. Es probable que nuestras muestras hayan sido recolectadas en una fase de madurez más completa que las utilizadas por otros autores.

En conjunto, estos hallazgos confirman que el llacón constituye una fuente importante y prometedora de fructooligosacáridos, cuyos valores reportados en la literatura presentan variaciones según la zona de cultivo y las condiciones de cosecha.

4.5. Control microbiológico

Tabla 25. Evaluación microbiológica del extracto acuoso de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)

MUESTRA	MÉTODO DE ANÁLISIS	MICROORGANISMOS	RESULTADO
Extracto de la raíz de llacón	Recuento de coliformes Fecales	Coliformes fecales	Negativo
Extracto de la raíz de llacón	Hongos y levaduras	Hongos y levaduras	Negativo
Extracto de la raíz de llacón	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Negativo
Extracto de la raíz de llacón	Aerobios mesófilos	Aerobios mesófilos	Negativo

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

La Tabla 25 presenta los resultados del control microbiológico realizado al extracto acuoso de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.), evidenciándose la ausencia de contaminación microbiológica, dado que no se detectaron *Salmonella spp.*, coliformes fecales, aerobios mesófilos, ni hongos y levaduras.

Análisis y Discusión de Resultados

El control microbiológico realizado al extracto acuoso de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.) mostró resultados negativos para coliformes fecales, hongos y levaduras, *Salmonella spp.* y aerobios mesófilos. Estos hallazgos evidencian que el extracto se encuentra libre de patógenos indicadores de contaminación fecal y de deterioro, lo que garantiza su inocuidad microbiológica y su adecuación para ser utilizado en la evaluación de la actividad prebiótica in vitro. La ausencia de microorganismos contaminantes respalda que las condiciones de recolección, manipulación y procesamiento del material vegetal fueron apropiadas y se realizaron bajo prácticas de higiene adecuadas. De acuerdo con la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria (DIGESA, 2017) y las normas del Ministerio de Salud del Perú (MINSA, 2019), la ausencia de *Salmonella spp.* y

coliformes en productos destinados al consumo humano constituye un requisito indispensable de inocuidad (78,79) . Asimismo, los resultados concuerdan con los criterios establecidos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 2005), la cual define los componentes de un criterio microbiológico como parámetros esenciales para garantizar la seguridad de los alimentos (69). En este contexto, el extracto acuoso de la raíz de llacón no solo cumple con las exigencias regulatorias nacionales e internacionales, sino que además demuestra condiciones microbiológicas óptimas para su aplicación en ensayos experimentales.

4.6. Actividad prebiótica in vitro del extracto acuoso de la raíz de llacón sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

Tabla 26. Estadísticos descriptivos del crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en función de tratamientos con extracto de raíz de llacón y control positivo (lactulosa)

Descriptivos						
Muestras	%	N°	N° COLONIAS			
			Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Blanco	—	3	354.00	385.00	3.713.333	1.582.193
Control (Lactulosa al 0,01427 %)	0.01427%	3	427.00	446.00	4.350.000	984.886
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob)	1%	3	398.00	425.00	4.136.667	1.401.190
	2%	3	522.00	543.00	5.340.000	1.081.665
	3%	3	535.00	554.00	5.450.000	953.939
	4%	3	480.00	496.00	4.886.667	808.290
	5%	3	438.00	455.00	4.463.333	850.490
Total		21	354.00	554.00	4.620.000	6.112.446

Dilución: 10-5

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

La tabla 26, presenta los resultados descriptivos del crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 cultivado en medio MRS bajo condiciones de incubación anaeróbicas a 37 °C durante 48 horas. Se evaluaron diferentes tratamientos: un control negativo (blanco), un control positivo (Lactulosa al 0,01427 %) y diversas concentraciones (1 % a 5 %) de extracto de raíz de llacón. Para cada tratamiento se registró el número de colonias en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) y se calculó el promedio y la desviación estándar de tres repeticiones. Para comparar el efecto prebiótico del extracto frente al control negativo y positivo se realiza el análisis de varianza (ANOVA) para un diseño completamente aleatorio.

Tabla 27. Análisis de varianza (ANOVA) del efecto del extracto de raíz de llacón y controles sobre el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (UFC/mL)

ANOVA					
Nº COLONIAS	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	72.945.333	6	12.157.556	95.693	0
Dentro de grupos	1.778.667	14	127.048	—	—
Total	74.724.000	20	—	—	—

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

Donde:

- **gl:** grados de libertad
- **F:** estadístico de Fisher
- **Sig.:** nivel de significancia (valor p)

Como en la tabla 27, de ANOVA Sig=0,000 es menor que el nivel de significancia de 0,05 se acepta que existe diferencia significativa en el efecto prebiótico debido a los diferentes tratamientos, control negativo (blanco), un control positivo (Lactulosa al 0,01427 %) y diversas concentraciones (1 % al 5 %) de extracto de raíz de llacón.

Para establecer entre que tratamientos hay diferencia significativa en el efecto prebiótico se realizan comparaciones múltiples con la prueba de Duncan (pruebas post hoc).

Tabla 28. Pruebas post hoc – Test de Duncana para el número de colonias (UFC) de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

Grupo	N°	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Blanco	3	3.713.333				
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob) al 1%	3		4.136.667			
Control (Lactulosa al 0,01427 %)	3			4.350.000		
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob) al 5%	3			4.463.333		
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob) al 4%	3				4.886.667	
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob) al 2%	3					5.340.000
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H.Rob) al 3%	3					5.450.000
Sig.		1.000	1.000	238	1.000	252

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Fuente: Elaboración propia (autoría compartida)

En la tabla 28, las pruebas post hoc se observa que el extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) al 1% presentan efecto prebiótico superior al blanco, mientras que el extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) al 5% no presenta diferencia significativa al efecto prebiótico producido por el control positivo (Lactulosa al 0,01427 %), sin embargo los extractos de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) al 2% y al 3% presentan diferencias altamente significativas respecto a los demás tratamientos, es decir tienen el mayor efecto prebiótico.

Análisis y Discusión de Resultados

El estudio evaluó la actividad prebiótica del extracto de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius*) benéfica para la salud intestinal. Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) confirmaron que existió una diferencia significativa en el crecimiento bacteriano entre los tratamientos ($F=95.693$, $p<0.05$), lo que demuestra que los diferentes sustratos ejercieron un efecto diferencial en la proliferación de *L. acidophilus*.

Los datos descriptivos mostraron que el número de colonias aumentó en todos los tratamientos con extracto en comparación con el blanco. Las concentraciones al 2 % y 3 % destacaron por inducir un crecimiento significativamente mayor (5.34×10^7 y 5.45×10^7 UFC/mL, respectivamente), lo que evidencia una notable estimulación del crecimiento bacteriano. El control positivo (lactulosa) alcanzó una media de 4.3×10^7 UFC/mL, superada por los extractos del 2 %, 3 % y 4 %.

El análisis de varianza (ANOVA) confirmó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). La prueba de Duncan permitió observar que el extracto al 1 % mostró un efecto superior al blanco, el extracto al 5 % no difirió significativamente del control positivo, y las concentraciones del 2 % y 3 % presentaron el mayor efecto prebiótico con diferencias altamente significativas respecto al resto de tratamientos. Esto sugiere un efecto dosis-dependiente hasta un punto óptimo. Estos hallazgos concuerdan con la literatura científica que respalda el efecto prebiótico del llacón. González Rodríguez (2021) reportaron que el medio MRS–extracto de llacón produjo un incremento significativo en el crecimiento de *Lactobacillus* sp. ($F=19.884$, $p=0.0012$) (17), Además, Zanardi et al. (2023) evidenciaron que el consumo de llacón influye positivamente en el microbioma intestinal, reduciendo la inflamación sistémica en modelos animales, lo cual refuerza su potencial funcional. Asimismo, Hércia et al. (2020) demostraron que el extracto soluble de llacón mejora la funcionalidad intestinal y estimula la microbiota benéfica in vivo en *Gallus gallus* (80).

Por otra parte, estudios como el de Oñate Perpiñán YM. (2023) han resaltado el potencial de los prebióticos del llacón para aplicaciones digestivas y metabólicas, lo cual se alinea con los resultados obtenidos en esta investigación, que evidencian un efecto positivo y significativo sobre el crecimiento de bacterias probióticas (22). Finalmente, el trabajo de Condado Huerta et al. (2024) señala que los fructanos, como los presentes en el llacón, favorecen la formación de biopelículas y la actividad sinérgica en consorcios probióticos, lo que respalda la idea de que estos compuestos no solo estimulan el crecimiento, sino también la estabilidad y funcionalidad de las cepas (21). En conjunto, estos hallazgos confirman que el extracto de raíz de llacón, especialmente en concentraciones del 2 % y 3 %, presenta una actividad prebiótica superior a la lactulosa.

CONCLUSIONES

1. El extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) presenta una actividad prebiótica in vitro significativa sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, evidenciada por el incremento en el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) en comparación con el control. El mayor efecto prebiótico se observó a las concentraciones de extracto al 2 % ($5,34 \times 10^7$ UFC) y al 3 % ($5,45 \times 10^7$ UFC), donde se alcanzaron los valores más elevados de crecimiento bacteriano.
2. El porcentaje de rendimiento del proceso de liofilización obtenido para la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)) proveniente de Limacpunko–Marcapata, Cusco, fue de 9,87 %, valor que refleja su contenido de materia seca y cumple con el objetivo planteado en el estudio.
3. Se realizaron los ensayos preliminares del liofilizado de raíz de llacón llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob), obteniéndose un perfil fisicoquímico caracterizado por pH ligeramente ácido (6.18), baja acidez titulable (0.86%) y alto contenido de sólidos solubles totales (80.4 °Brix), con una elevada relación SST/AT (93.72), lo que indica un producto estable y con predominio de sabor dulce. La prueba de solubilidad evidenció alta afinidad por solventes polares (agua, metanol y etanol) e insolubilidad en hexano, confirmando el carácter polar de la muestra. Finalmente, el análisis fitoquímico cualitativo determinó la ausencia de alcaloides, triterpenos, saponinas, taninos y quinonas, y confirmó únicamente la presencia de flavonoides, cuya baja concentración en la raíz se explica por su mayor acumulación en las partes aéreas de la planta.
4. El análisis proximal del liofilizado de la raíz llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) evidenció un alto contenido de carbohidratos (86.30%), bajo porcentaje de grasa (0.38%) y humedad (3.66%), así como niveles moderados de proteína (4.60%) ,ceniza (3.36%) fibra cruda (1.7%).
5. Se extrajeron y cuantificaron los fructooligosacáridos (FOS) a partir del liofilizado de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.)

siguiendo el método de Villafán y utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se determinó una concentración total de 16.5 g/100 mL, con predominio de 1-kestosa (5.2 g/100 mL), seguida de nistosa (4.7 g/100 mL) y 1F-fructofuranosilnistosa (3.1 g/100 mL).

6. Se realizó el control microbiológico del extracto acuoso de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.) (*Smallanthus sonchifolius*) mediante el método de cultivo, evidenciándose la ausencia de coliformes fecales, *Salmonella* spp., aerobios mesófilos, hongos y levaduras. Estos resultados confirman que la muestra es microbiológicamente inocua, segura para el consumo y elaborada bajo condiciones higiénicas adecuadas.
7. Se determinó la actividad prebiótica in vitro del extracto de raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). Los resultados evidenciaron un efecto estimulante significativo en el crecimiento bacteriano ($p < 0.05$), siendo las concentraciones de 2% y 3% las más efectivas, incluso superiores al control positivo (lactulosa). La concentración del 5% mostró un efecto similar al de la lactulosa, mientras que las dosis más altas (4% y 5%) no potenciaron el crecimiento. Estos hallazgos confirman que el extracto de raíz de llacón es una fuente natural de prebióticos, con concentraciones óptimas del 2% y 3% para favorecer el desarrollo de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

SUGERENCIAS

A LAS AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

1. Impulsen la investigación científica aplicada sobre recursos biológicos locales, como el llacón, con potencial funcional y terapéutico.
2. Fortalezcan el financiamiento y equipamiento de laboratorios, garantizando estudios con alto rigor y relevancia.
3. Fomenten la vinculación interinstitucional y la publicación científica, posicionando a la UNSAAC como referente en innovación biotecnológica.

A LOS DOCENTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

1. Integrar el estudio de plantas andinas con potencial funcional, como el llacón, en los cursos de Farmacognosia y Microbiología.
2. Fomentar investigaciones orientadas a prebióticos y microbiota intestinal con enfoque en productos naturales locales.
3. Impulsar el uso de metodologías experimentales actualizadas en trabajos de tesis, especialmente en estudios in vitro.
4. Promover la difusión de investigaciones estudiantiles en revistas científicas y eventos académicos.
5. Fortalecer la articulación entre enseñanza, investigación y biodiversidad regional para generar soluciones en salud.

A LOS ALUMNOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

1. Aprovechen la biodiversidad local como fuente de investigación científica con valor funcional y terapéutico.
2. Fortalezcan su formación práctica participando en proyectos que integren microbiología, farmacognosia y biotecnología.
3. Desarrollen investigaciones con enfoque innovador, priorizando problemas de salud pública y el uso de productos naturales.
4. Publiquen y difundan sus hallazgos, contribuyendo al conocimiento científico y al prestigio académico de la escuela.
5. Comprométanse con la excelencia científica, usando metodologías rigurosas y herramientas actualizadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Méndez LC, Pineda AMC. Yacón Como Planta Promisoria En El Manejo De Enfermedades. *Investig Andina*. 2018;20(36):145-57.
2. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. junio de 1995;125(6):1401-12.
3. González Rodríguez NC. Evaluación del efecto prebiótico del extracto de yacón (*smallanthus sonchifolius*) en la viabilidad de *lactobacillus* sp bajo condiciones gastrointestinales humanas simuladas in vitro. 2021.
4. Gao H, Li X, Chen X, Hai D, Wei C, Zhang L, et al. The Functional Roles of *Lactobacillus acidophilus* in Different Physiological and Pathological Processes. *J Microbiol Biotechnol*. 28 de octubre de 2022;32(10):1226-33.
5. Canavan C, West J, Card T. The epidemiology of irritable bowel syndrome. *Clin Epidemiol*. 4 de febrero de 2014;6:71-80.
6. Obesidad y sobrepeso [Internet]. [citado 10 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
7. Prevención de la obesidad - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. 2025 [citado 10 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/prevencion-obesidad>
8. Pontet Y, Olano C, Pontet Y, Olano C. Prevalencia de síndrome de intestino irritable en América Latina. *Rev Gastroenterol Perú*. julio de 2021;41(3):144-9.
9. Minsa: 15 millones de personas tienen sobrepeso y obesidad [Internet]. [citado 10 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/634511-minsa-15-millones-de-personas-tienen-sobrepeso-y-obesidad>
10. Perú es uno de los países con mayor incidencia del Síndrome de Intestino Irritable en Latinoamérica - Noticias - Ministerio de Salud - Plataforma del Estado

- Peruano [Internet]. [citado 21 de enero de 2025]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/26151-peru-es-uno-de-los-paises-con-mayor-incidencia-del-sindrome-de-intestino-irritable-en-latinoamerica>
11. ANÁLISIS Y RESUMEN DEL YACON | Esquemas y mapas conceptuales de Análisis Térmico | Docsity [Internet]. [citado 11 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.docsity.com/es/docs/analisis-y-resumen-del-yacon/9747038/>
 12. Conlon MA, Bird AR. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients*. 24 de diciembre de 2014;7(1):17-44.
 13. Seminario J, Valderrama M, Manrique I. El yacón: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE); 2003. 60 p.
 14. Estudios in vitro: una visión general | Temas de ScienceDirect [Internet]. [citado 10 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/in-vitro-studies>
 15. Pacururu Reyes AR. Probióticos y prebióticos: Una revisión de la normativa internacional. 2017;
 16. Villafán González DL, Betancur Ancona D, Gallegos Tintoré SM. Pulpa y cáscara liofilizada de pitahaya (*Selenicereus undatus*): propiedades fisicoquímicas y fuente potencial de fructooligosacáridos. *Rev Colomb Investig Agroindustriales*. 2024;11(1):80-94.
 17. Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de fructooligosacáridos en un helado prebiótico [Internet]. [citado 31 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/4960/496055771006/html/>
 18. Lactulosa: una visión general | Temas de ScienceDirect [Internet]. [citado 8 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.sciencedirect->

com.translate.goog/topics/agricultural-and-biological-sciences/lactulose?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=tc

19. PubChem. Lactulose [Internet]. [citado 22 de enero de 2025]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11333>
20. Dodge R, Ludington WB. Fast Colony Forming Unit Counting in 96-Well Plate Format Applied to the Drosophila Microbiome. J Vis Exp JoVE. 13 de enero de 2023;(191):10.3791/64298.
21. Condado Huerta MCC, Antunez-Mojica M, Martínez Plascencia H, Barrera Molina AI. Los fructanos de agave promueven la formación de biopelícula in vitro en el consorcio probiótico *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Rev Argent Microbiol. 1 de julio de 2024;56(3):322-8.
22. Prototipo derivado de los prebióticos del yacón para problemas digestivos y diabetes | Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar [Internet]. [citado 21 de enero de 2025]. Disponible en: <https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/7171>
23. Cruz QD la, Ancelma YR. Identificación de fructanos y evaluación de la capacidad antioxidante de jarabes de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). comportamiento cinético. 2024 [citado 21 de enero de 2025]; Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/6442>
24. Mascoco Rosales JL. Cuantificación de fructooligosacáridos por HPLC-RID e inulina mediante UV-VIS en productos de yacón (*Smallanthus Sonchifolius*) provenientes de dos regiones del Perú de diferentes altitudes. 2023 [citado 21 de enero de 2025]; Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/5712>
25. Interacción entre harina de yacón y aceite de copaiba sobre la morfometría intestinal y parámetros productivos en pollos de engorde en condiciones de altura [Internet]. [citado 15 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/7870>

26. Ccoyori Quispe R, Huahuatico Cano V. Obtención de yogurt simbiótico liofilizado a diferentes temperaturas y porcentajes de jarabe de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). 2022 [citado 21 de enero de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/6939>
27. Quispe Cahuana AD. Estudio comparativo y determinación de la actividad prebiótica in vitro de los extractos acuosos secos del bulbo de cebolla (*Allium cepa* L.) y del bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) sobre *Lactobacillus acidophilus* cepa ATCC 4356. Univ Nac San Antonio Abad Cusco [Internet]. 2019 [citado 21 de enero de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/4511>
28. Manrique I, Párraga A, Hermann M. Jarabe de yacón: Principios y procesamiento.
29. Caetano BFR, de Moura NA, Almeida APS, Dias MC, Sivieri K, Barbisan LF. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a Food Supplement: Health-Promoting Benefits of Fructooligosaccharides. *Nutrients*. 21 de julio de 2016;8(7):436.
30. Yan MR, Welch R, Rush EC, Xiang X, Wang X. A Sustainable Wholesome Foodstuff; Health Effects and Potential Dietotherapy Applications of Yacon. *Nutrients*. 3 de noviembre de 2019;11(11):2632.
31. Minchola-Castañeda K, Luzuriaga-Tirado E, Montalvo-Rodríguez A, Moncada-Carrera J, Morales-Ibañez F, Gil-Reyes W. Propiedades beneficiosas del yacón (*smallanthus sonchifolius*) en la salud. *Más Vita*. 30 de septiembre de 2022;4(3):87-98.
32. Bussmann RW, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía - La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. *Ethnobot Res Appl* [Internet]. 1 de diciembre de 2018 [citado 12 de agosto de 2025];15. Disponible en: <http://journals.sfu.ca/era/index.php/era/article/view/1281>
33. Fernandes PAR, Antunes BL, Liu J, Ferreira SS, Fernandes F, Alves VD, et al. Utilization of Yacon Damaged Roots as a Source of FOS-Enriched Sweet-Tasting Syrup. *Appl Sci*. enero de 2024;14(2):894.

34. Esquer JC. Manual de Probióticos. Ergon; 2020. 290 p.
35. World Gastroenterology Organisation (WGO) [Internet]. [citado 21 de enero de 2025]. World Gastroenterology Organisation (WGO). Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org>
36. Corzo N, Alonso JL, Azpiroz F, Calvo MA, Cirici M, Leis R, et al. [Prebiotics: concept, properties and beneficial effects]. Nutr Hosp. 7 de febrero de 2015;31 Suppl 1:99-118.
37. Brunser O. Fisiopatología y mecanismos de acción de los prebióticos. Medwave [Internet]. 1 de enero de 2004 [citado 8 de agosto de 2025];4(1). Disponible en: <http://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/Cursos/3163>
38. Sabater-Molina M, Larqué E, Torrella F, Zamora S. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. J Physiol Biochem. septiembre de 2009;65(3):315-28.
39. Laboratory Chemicals-FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation [Internet]. [citado 10 de agosto de 2025]. Fructooligosaccharides · 062-02381 · 064-02385[Detail Information] | [Analytical Chemistry]. Disponible en: <https://labchem-wako.fujifilm.com/us/product/detail/W01W0106-0238.html>
40. You S, Ma Y, Yan B, Pei W, Wu Q, Ding C, et al. The promotion mechanism of prebiotics for probiotics: A review. Front Nutr. 5 de octubre de 2022;9:1000517.
41. Compuestos prebióticos y biodisponibilidad de minerales y oligoelementos | Gastroenterología y Hepatología [Internet]. [citado 12 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-compuestos-prebioticos-biodisponibilidad-minerales-oligoelementos-13043246>
42. Yoo S, Jung SC, Kwak K, Kim JS. The Role of Prebiotics in Modulating Gut Microbiota: Implications for Human Health. Int J Mol Sci. 29 de abril de 2024;25(9):4834.

43. Dmytriv TR, Storey KB, Lushchak VI. Intestinal barrier permeability: the influence of gut microbiota, nutrition, and exercise. *Front Physiol.* 8 de julio de 2024;15:1380713.
44. Brosseau C, Selle A, Palmer DJ, Prescott SL, Barbarot S, Bodinier M. Prebiotics: Mechanisms and Preventive Effects in Allergy. *Nutrients.* 8 de agosto de 2019;11(8):1841.
45. Rolanía TR, Martínez CP. La microbiota intestinal. Los Libros De La Catarata; 2017. 88 p.
46. Abad MJG, Layunta FA, Marina MLM. probióticos, prebióticos y simbióticos. Ediciones i; 2017. 119 p.
47. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet Lond Engl.* 8 de febrero de 2003;361(9356):512-9.
48. Alam A, Neish A. Role of gut microbiota in intestinal wound healing and barrier function. *Tissue Barriers.* 7 de noviembre de 2018;6(3):1539595.
49. Ciabattini A, Olivieri R, Lazzeri E, Medaglini D. Role of the Microbiota in the Modulation of Vaccine Immune Responses. *Front Microbiol.* 3 de julio de 2019;10:1305.
50. Ellis JL, Karl JP, Oliverio AM, Fu X, Soares JW, Wolfe BE, et al. Dietary vitamin K is remodeled by gut microbiota and influences community composition. *Gut Microbes.* 13(1):1887721.
51. María Remes Troche J, Coss Adame E, Ángel Valdovinos Díaz M, Gómez Escudero O, Eugenia Icaza Chávez M, Antonio Chávez-Barrera J, et al. *Lactobacillus acidophilus* LB: a useful pharmabiotic for the treatment of digestive disorders. *Ther Adv Gastroenterol.* 24 de noviembre de 2020;13:1756284820971201.
52. *Lactobacillus acidophilus*: descripción general | Temas de ScienceDirect [Internet]. [citado 21 de enero de 2025]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/lactobacillus-acidophilus>

53. Álvarez J, Fernández Real JM, Guarner F, Gueimonde M, Rodríguez JM, Saenz de Pipaon M, et al. Microbiota intestinal y salud. *Gastroenterol Hepatol*. 1 de agosto de 2021;44(7):519-35.
54. Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2019;103(16):6463-72.
55. López YLP, Torres-Rosas R, Argueta-Figueroa L. Mecanismos de acción de los probióticos en la inhibición de microorganismos cariogénicos. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 1 de mayo de 2023;34(3):216-23.
56. Mazziotta C, Tognon M, Martini F, Torreggiani E, Rotondo JC. Probiotics Mechanism of Action on Immune Cells and Beneficial Effects on Human Health. *Cells*. 2 de enero de 2023;12(1):184.
57. Valdovinos MA, Montijo E, Abreu AT, Heller S, González-Garay A, Bacarreza D, et al. Consenso mexicano sobre probióticos en gastroenterología. *Rev Gastroenterol México*. 1 de abril de 2017;82(2):156-78.
58. Alimentos funcionales | AGROVOC [Internet]. [citado 22 de enero de 2025]. Disponible en: <https://www.fao.org/agrovoc/es/concepts-of-the-month/alimentos-funcionales>
59. Disbiosis - Gut Microbiota for Health [Internet]. [citado 13 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/es/glossary/disbiosis/>
60. ASALE R, RAE. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. [citado 9 de mayo de 2025]. extracto | Diccionario de la lengua española. Disponible en: <https://dle.rae.es/extracto>

61. Food & Feed Analysis [Internet]. [citado 9 de mayo de 2025]. Ensayos microbiológicos. Disponible en: <https://food.r-biopharm.com/es/tecnologias/ensayos-microbiologicos/>
62. MRS Agar | Lactobacilos | Medio de cultivo [Internet]. Bioser. [citado 9 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://www.bioser.com/productos/mrs-agar-1309p/>
63. Unidades formadoras de colonias - Labster [Internet]. [citado 9 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://theory.labster.com/es/cfu/>
64. Mendoza Nina RH, Yupayccana Negrón JC. Variabilidad morfológica y anatómica de dos especies del género capsicum (Solanaceae) en las localidades de Ttio-Marcapata y Puente Santiago-Quellouno. Univ Nac San Antonio Abad Cusco [Internet]. 2016 [citado 5 de junio de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/2673>
65. Google Maps [Internet]. [citado 10 de agosto de 2025]. Google Maps. Disponible en: https://www.google.com/maps/place/Limacpunko/@-13.5603709,-70.9126133,1237m/data=!3m1!1e3!4m6!3m5!1s0x916f09893dd99d39:0x3e576e296f2b52d7!8m2!3d-13.5596362!4d-70.911615!16s%2Fg%2F11c2mcly4f?hl=es&entry=ttu&g_ep=EgoyMDI1MDgwNi4wIKXMDSOASAFQAw%3D%3D
66. Hernández Sampieri R, Fernandez-Collado CF. Metodología de la investigación. Sexta edición. Baptista Lucio P, editor. México D.F.: McGraw-Hill Education; 2014.
67. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL | AOAC Publications | Oxford Academic [Internet]. [citado 31 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://academic.oup.com/aoac-publications/book/45491#>
68. Lock Sing de Ugaz O, Ciencias PUC del PD de. Investigación fitoquímica : métodos en el estudio de productos naturales [Internet]. Pontificia Universidad Católica del Perú. Departamento de Ciencias; 1994 [citado 30 de abril de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/181719>

69. ICMSF | Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos – Evaluación de cuestiones y realización de contribuciones oportunas sobre nuevas preocupaciones emergentes en materia de seguridad alimentaria. [Internet]. [citado 5 de junio de 2025]. Disponible en: <https://www.icmsf.org/>
70. Fresno AV. Farmacognosia general [Internet]. Síntesis Editorial; 1999. (Síntesis Farmacia Series). Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=yPoeAQAACAAJ>
71. Saavedra Gálvez YB. Elaboración y evaluación de una bebida funcional de Yacón (*Smallanthus sanchofilius*) y Maracuyá (*Passiflora edulis* S.) edulcorado con stevia. 2023.
72. Salvatierra Hurtado D. Determinación de la composición química proximal, carbohidratos totales, azúcares libres y fructanos del tipo inulina - fructooligosacáridos del yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson). 2015 [citado 29 de abril de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/668>
73. Ayala Taipe F. “Optimización de parámetros fisicoquímicos y sensoriales en la calidad y vida útil del yacón (*Smallanthus sonchifolia*) mínimamente procesado”. 2017.
74. Valero Baquero AA. Introducción a condiciones in vitro y análisis cualitativo de componentes fitoquímicos de yacón (*smallanthus sonchifolius* poepp. Et endl). 2017 [citado 15 de mayo de 2025]; Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12495/7655>
75. Actividad hipoglucemiante de los extractos de *Smallanthus sonchifolius* «yacón» y *Vitis vinífera* «uva» en ratas con diabetes inducida por aloxano [Internet]. [citado 28 de agosto de 2025]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992018000200013
76. Aguilar F. E. Antioxidant activity and immunological of flavonoids isolated from leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon). 2009;

77. Jiménez ME, Sammán N. Caracterización química y cuantificación de fructooligosacáridos, compuestos fenólicos y actividad antirradical de tubérculos y raíces andinos cultivados en el noroeste de Argentina.
- 78.: :: DIGESA - Dirección General de Salud Ambiental.... [Internet]. [citado 17 de mayo de 2025]. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/actz_615_2003.htm
79. Manual de análisis microbiológico de alimentos [Internet]. [citado 25 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/352931-manual-de-analisis-microbiologico-de-alimentos>
80. Zanardi KR, Grancieri M, Silva CW, Trivillin LO, Viana ML, Costa AGV, et al. Functional effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and kefir on systemic inflammation, antioxidant activity, and intestinal microbiome in rats with induced colorectal cancer. Food Funct. 2 de octubre de 2023;14(19):9000-17.

ANEXOS

Anexo 1: Carta de presentación para Validación a través de Juicio de Experto

CARTA DE PRESENTACIÓN

Mgtr/Doctor:

.....

Presente

Asunto: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS A TRAVÉS DE JUICIO D EXPERTO

Me dirijo a usted con el propósito de saludarlo cordialmente y, a la vez, solicitar su colaboración como **experto evaluador** para la validación por juicio de expertos del instrumento de recolección de datos utilizado en mi investigación titulada:

“Actividad prebiótica *in vitro* del extracto de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius*) proveniente de Limacpunko-Marcapata-Cusco sobre la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356”.

La presente investigación se desarrolla en el marco del programa de tesis de la **Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco**, y tiene como objetivo garantizar la validez de los instrumentos utilizados mediante el criterio de profesionales con experiencia y formación en el área.

El expediente de validación que le hago llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Definiciones conceptuales de las variables y dimensiones
- Matriz de operacionalización de la variables
- Certificado de validez de contenido de los instrumentos.

Agradezco de antemano su disposición y valioso aporte académico al proceso de validación de este trabajo.

Sin otro particular, quedo atento a su amable respuesta.

Atentamente,

Nombres y Apellidos

DNI:

Anexo 2: Recolección, Taxonomía y Caracterización Botánica

I. Ficha de recolección de datos de ubicación espacial y temporal

1. Ubicación espacial

A. Ubicación política

Descripción	Ubicación política
Latitud oeste	
Longitud	
Altitud Media	

B. Ubicación geográfica

Descripción	Ubicación geográfica
Latitud oeste	
Longitud	
Altitud Media	

C. Ubicación Hidrográfica

Cuenca:	
Vertiente:	

D. Ubicación ecológica

Clima	
Temperatura	
Humedad	
Precipitación	
Zona de vida	

2. Ubicación temporal

FECHA:

REALIZADO POR:

II. Ficha de recolección de muestra

A. Anotar todos los datos en el cuadro de colecta de muestras

Departamento:			
Provincia:			
Distrito:			
Localidad:			
Comunidad:			
Colector:			
Número de colección			
Hábitat:			
Hábito de la planta (Marcar una X)			
Árbol	Arbusto	☐	☐
Flores:			
Frutos:			
Nombre común:			
Fecha de colecta:			
Uso tradicional:			
Forma de uso:			

B. Procedimiento

DESCRIPCIÓN	OBSERVACIONES	REALIZADO POR
a. La muestra debe tener flores y/o frutos		
b. La muestra debe ser del tamaño de un pliego de periódico		
c. La muestra quedará depositada en el pliego de periódico		
d. Colocar el número de colecta en uno de los bordes.		
e. Se apilan los pliegos de papel periódico.		
f. Se colocan cartulinas, se procede a amarrar y se envía		

Anexo 3: Formato de Control del Proceso de Liofilización

Fecha de recolección:	
Lugar de procedencia:	
Responsable del análisis:	
Datos iniciales de la muestra	
Parámetro	Valor / Observación
Peso fresco (g)	
Estado de la muestra	() Entera () Picada () Triturada
Humedad estimada (%)	
Temperatura de congelación	
Tiempo de congelación (h)	
Parámetros del proceso de liofilización	
Parámetro	Valor / Observación
Marca y modelo del liofilizador	
Temperatura de la cámara (°C)	
Presión de vacío (mBar)	
Tiempo total de liofilización (h)	
Observaciones del proceso	
Resultados finales	
Parámetro	Valor / Observación
Peso seco (liofilizado) (g)	
% de liofilización	
Color del producto	
Textura del producto	
Observaciones finales	

Cálculos

$$\text{Porcentaje de liofilización (\%)} = \left(\frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso liofilizado}}{\text{Peso fresco}} \right) \times 100$$

Anexo 4: Registro de Características Físico-Químicas

Peso			
Muestra(g):	M1	M2	M3
Peso promedio(g):			
Diámetro ecuatorial y polar			
Diámetro ecuatorial			
Diámetro polar			
Método utilizado:			
Acidez Titulable:			
Método:	M1	M2	M3
Peso de la muestra (g):			
Solvente utilizado:			
Indicador utilizado:			
Concentración de la solución titulante (N):			
Volumen de solución titulante gastado (mL):			
Acidez Titulable (expresar como % de [ácido]):			
Cálculo:			
Método utilizado:			
Sólidos Solubles Totales (SST):			
Método:	M1	M2	M3
Concentración de la solución (% p/v):			
Temperatura de la medición (°C):			
Valor (°Brix):			
Equipo utilizado: Refractómetro			
Método utilizado:			
pH			
Muestra	M1	M2	M3
Temperatura de la medición (°C):			
Valor de pH:			
Equipo utilizado: pH-metro			
Método utilizado:			
FECHA:		RESPONSABLE:	

Anexo 5: Ensayo de Solubilidad con Distintos Solventes

TUBO	SOLVENTE	SOLUTO	PROCEDIMIENTO	RESULTADOS	REALIZADO POR:
1	Agua destilada	Muestra liofilizada	Pesar 0.5 mg de la muestra liofilizada y añadir 1 mL de agua destilada y agitar por 5 minutos.		
2	Metanol	Muestra liofilizada	Pesar 0.5 mg de la muestra liofilizada y añadir 1 mL de metanol y agitar por 5 minutos.		
3	Etanol absoluto	Muestra liofilizada	Pesar 0.5 mg de la muestra liofilizada y añadir 1 mL de etanol absoluto y agitar por 5 minutos.		
4	Acetona	Muestra liofilizada	Pesar 0.5 mg de la muestra liofilizada y añadir 1 mL de acetona y agitar por 5 minutos.		
5	Acetato de etilo	Muestra liofilizada	Pesar 0.5 mg de la muestra liofilizada y añadir 1 mL de acetato de etilo y agitar por 5 minutos.		
6	Cloroformo	Muestra liofilizada	Pesar 0.5 mg de la muestra liofilizada y añadir 1 mL de cloroformo y agitar por 5 minutos.		
7	Hexano	Muestra liofilizada	Pesar 0.5 mg de la muestra liofilizada y añadir 1 mL de hexano.		

Fuente: Elaboración propia

Donde:

★ **Muy soluble** : +++

★ **Soluble** : ++

★ **Poco soluble** : +

★ **Insoluble** : -

Nota: Si es necesario, coloca los tubos en un baño termostático a 25 °C (o la temperatura de interés).

Observación inicial: Observa si la muestra se disuelve completamente, parcialmente, o no muestra cambios visibles.

Filtración (si es necesario): Si hay partículas insolubles visibles, filtra la solución con un papel filtro de poro pequeño o centrifuga para separar los sólidos.

Anexo 6: Ensayo Fitoquímico Cualitativo

PRUEBAS	PROCEDIMIENTO	RESULTADOS	REALIZADO POR:
Compuestos fenólicos	Pesar 1 g de la muestra liofilizada y agregar 1 a 2 gotas de cloruro férrico 1%		
Flavonoides	Reacción de Shinoda: Pesar 1 g de muestra liofilizada se añade pequeñas limaduras de magnesio metálico y unas 2 a 3 gotas de HCL(c) clorhídrico con el que desarrollará una coloración rojo, púrpura, azul dependiente del tipo de flavonoide.		
Alcaloides	Reacción de Dragendorff: Pesar 1 g de muestra liofilizada se le agrega 2 a 3 gotas de reactivo, la presencia de precipitado rojo a naranja, indica prueba positiva.		
Triterpenos y esteroides	Reacción de Liebermann-Burchard: Pesar 1 g de muestra liofilizada se la agrega 2 a 3 gotas de ácido acético y añadir 2 mL de la mezcla de anhídrido acético-ácido sulfúrico.		
Saponinas	Prueba de la espuma: Pesar 1 g de muestra liofilizada y añadir 5 mL de etanol al 40 %, filtrar si es necesario, el filtrado se agita por 30 segundos.		
Taninos	Pesar 1 g de muestra liofilizada y añadir 2-3 gotas de cloruro férrico al 1%.		
Quinonas	Reacción de Borntrager: Pesar 1 g de muestra liofilizada se la agrega 0.5 mL de hidróxido gotas de ácido acético y añadir 2 mL de la mezcla de hidróxido de potasio al 0.5%, calentar, filtrar si es necesario, enfriar y acidular para luego extraer con benceno separada, agregar 0.5 mL de hidróxido de amonio.		

Donde:

• Abundante	+++
• Poco	++
• Muy poco	+
• Ausente	-

Anexo 7: Ensayo de Análisis Proximal de la Raíz Liofilizada de Llacón
(*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)

Identificación de la Muestra:			
Responsable del Análisis:			
Fecha del Análisis:			
Determinación de Humedad:			
Método:	M1	M2	M3
Crisol/Recipiente:			
Peso del crisol/recipiente vacío (g):			
Peso del crisol/recipiente + muestra inicial (g):			
Peso del crisol/recipiente + muestra seca (g):			
Peso de la muestra inicial (g):			
Peso de la muestra seca (g):			
Peso de la humedad perdida (g):			
Humedad (%):			
Determinación de Cenizas:			
Método:	M1	M2	M3
Crisol:			
Peso del crisol vacío (g):			
Peso del crisol + muestra seca (g):			
Peso del crisol + cenizas (g):			
Peso de las cenizas (g):			
Cenizas (%):			
Temperatura de incineración (°C):			
Determinación de Grasa (Método Soxhlet):			
Método:			

Matraz de extracción:			
Peso del matraz vacío (g):			
Peso del matraz + grasa extraída (g):			
Peso de la muestra seca (g):			
Peso de la grasa extraída (g):			
Grasa (%):			
Solvente de extracción:			
Tiempo de extracción (horas):			
Determinación de Proteína (Método Kjeldahl):			
Método:	M1	M2	M3
Peso de la muestra (g):			
Volumen de ácido sulfúrico (mL):			
Catalizador utilizado:			
Volumen de NaOH para destilación (mL):			
Volumen de ácido bórico (mL):			
Volumen de ácido titulante (mL):			
Factor de conversión de nitrógeno a proteína:			
% Nitrógeno:			
% Proteína:			
Determinación de Carbohidratos Disponibles (Cálculo por Diferencia):			
% Carbohidratos Disponibles: (100 - (% Humedad + % Cenizas + % Grasa + % Proteína))			

Anexo 8: Curva de calibración de 1-Kestosa por HPLC-RID

Procedimiento

1. Preparación de soluciones estándar para 1-kestosa

Se elabora una curva de calibración utilizando estándares de 1-kestosa en concentraciones de 1.0, 6.0 y 12.0 mg/mL

Estándar	Concentración (mg/mL)
1	1.000
3	6.000
4	12.000

2. Análisis por HPLC-RID

Las soluciones son analizadas por HPLC-RID y se registra el área bajo el pico correspondiente al tiempo de retención de ~5.0 minutos. Los datos obtenidos se ajustan por regresión lineal, presentando un coeficiente de correlación R^2 de 0.9999, lo que indica una alta linealidad y precisión del método para la cuantificación.

Estándar	Concentración (mg/mL)	Área (mAU·s)
1	1.000	11,391.4
3	6.000	147,986.0
4	12.000	296,025.0

Ecuación de la curva:

$$\text{Área} = 24\,625.2(X) + 3\,185.7$$

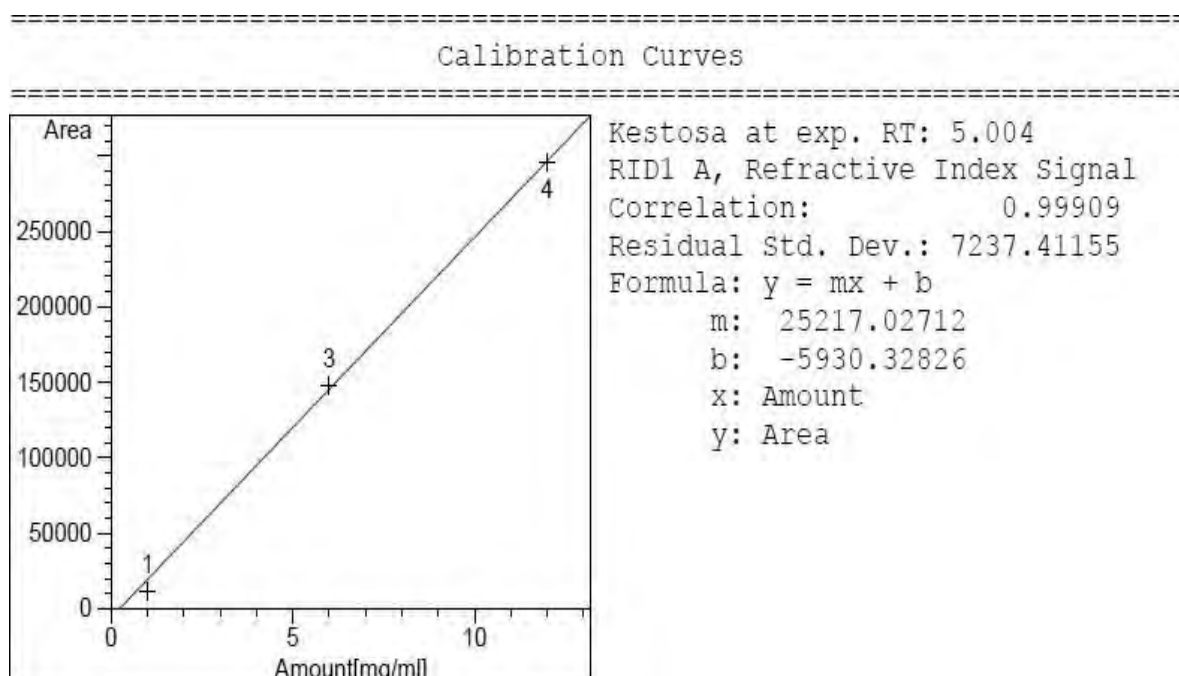
Coeficiente de correlación (R^2):

$$R^2 = 0.9999$$

Interpretación:

La curva de calibración muestra una relación lineal positiva entre la concentración de 1-kestosa y el área detectada en el HPLC-RID. Esto valida el uso de este método para determinar la concentración de 1-kestosa en extractos de llacón y otras muestras vegetales, con alta sensibilidad y precisión.

Curva de calibración de 1-kestosa por HPLC-RID



Leyenda:

Curva de calibración obtenida para 1-kestosa utilizando HPLC-RID a un tiempo de retención aproximado de 5.004 minutos. Se prepararon estándares a concentraciones de 1.0, 6.0 y 12.0 mg/mL. El análisis mostró una relación lineal directa entre la concentración y el área del pico (mAU·s), con una ecuación de calibración.

Anexo 9: Procedimiento para la Cuantificación de FOS

Preparación de la Muestra:

1. Pesar con precisión una cantidad adecuada de extracto liofilizado de raíz de llacón (5 g) en un vaso de precipitado.
2. Disolver el extracto en un volumen conocido de solvente de extracción (agua). Agitar suavemente o utilizar un baño de ultrasonido para asegurar la completa disolución.
3. Transferir la solución a un matraz volumétrico del volumen apropiado (50 mL) y completar el volumen con el solvente de extracción.
4. Filtrar una alícuota de la solución utilizando una membrana de filtro de 0.45 μm a un vial para HPLC.

Preparación de las Soluciones Estándar:

1. Pesar con precisión cantidades conocidas del estándar los estándares de 1-kestosa, nistosa y 1F-fructofuranosilnistosa. Registrar los pesos exactos.
2. Disolver cada estándar por separado en agua ultrapura para obtener soluciones madre de concentración conocida (1000 mg/L).
3. Preparar una serie de diluciones de trabajo a partir de las soluciones madre para cada estándar, cubriendo un rango de concentraciones esperado en la muestra. Asegurarse de que las concentraciones estén dentro del rango de linealidad del detector RID.

Anexo 10: Cálculos

Datos:

- **Dosis diaria:** 15 mL de jarabe de lactulosa
- **Concentración del jarabe:** 3.33 g de lactulosa por 5 mL
- **Persona promedio:** 70 kg

Paso 1: Calcular cuántos gramos hay en 15 mL

$$\frac{3.33 \text{ g de lactulosa}}{5 \text{ mL de jarabe de lactulosa}} = 0.666 \text{ g de lactulosa}$$

$$15 \text{ mL} \times 0.666 \text{ g/mL} = 9.99 \text{ g de Lactulosa}$$

Paso 2: Calcular la dosis por kg de peso corporal

$$9.99 \text{ g} / 70 \text{ Kg} = 0.1427 \text{ g/Kg/día}$$

Paso 3: Calcular la cantidad de Lactulosa para preparar 100 mL de Agar MRS

Tomando en cuenta la equivalencia Kg = L

$$0.1427 \text{ g/Kg} = 0.1427 \text{ g/L}$$

La cantidad de agar a preparar es de 100 mL por lo que se requiere de:

$$\text{Xg de lactulosa} = \frac{0.1427 \text{ g/L de lactulosa} \times 100 \text{ mL de Agar MRS}}{1000 \text{ mL Agar MRS}}$$

$$\text{Xg de Lactulosa} = 0.01427 \text{ g} = 0.01427 \%$$

Cantidad de jarabe comercial de Lactulosa en mL

$$\text{X mL de jarabe comercial} = \frac{0.01427 \text{ g de lactulosa} \times 5 \text{ mL de jarabe comercial}}{3.33 \text{ g de lactulosa}}$$

$$\text{X mL de jarabe comercial} = 0.02143 \text{ mL} = 21.43 \text{ uL}$$

Volúmenes de extracto de Ilacón para cada grupo:(1mL, 2mL,3mL,4mL,5mL)

Anexo 11: Ficha de datos para la estandarización de la dilución a utilizar

Tubo N.º	Dilución	Nº de colonias en promedio
1	10^{-1}	
2	10^{-2}	
3	10^{-3}	
4	10^{-4}	
5	10^{-5}	
6	10^{-6}	
7	10^{-7}	

Anexo 12: Ficha de procedimiento y recolección de datos: Actividad *in vitro* del Extracto de Ilacón

PLACA	DILUCIÓN	VOLUMEN (mL)	MEDIO DE CULTIVO	INCUBACIÓN (Temperatura, Tiempo, Atmósfera)	OBSERVACIONES (turbidez, crecimiento, contaminación)	RECuento EN PLACA (UFC/mL)	PROMEDIO	REALIZADO POR
1	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
2	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
3	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
4	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
5	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
6	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
7	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				
	10 ⁻⁶	1	MRS	37°C, 24, 48h, anaerobiosis				

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{Número de colonias} \times \text{Factor de dilución}}{\text{Volumen sembrado(mL)}}$$

Donde:

- **Número de colonias contadas:** colonias visibles en la placa
- **Factor de dilución:** el inverso de la dilución usada
- **Volumen sembrado:** el volumen de muestra que se colocó

Anexo 13: Constancia de Taxonomía y Caracterización Botánica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Recuperación y Consolidación de la Economía Peruana"

CONSTANCIA N° 054-USM-MHN-2025

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

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Frida Hancoo Champi**, estudiante de pregrado de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco ha sido estudiada y clasificada como: *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Asterales Link

FAMILIA : Asteraceae Bercht. & J. Presl

GÉNERO : *Smallanthus* Mack.

ESPECIE : *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.

Nombre vulgar: "Llacón"

Procedencia: Marcapata, Quispicanchis, Cusco

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

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

Lima, 7 de abril de 2025

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Anexo 14: Constancia de Resultados Características físico químicas

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABADEL CUSCO**
FACULTAD DE CIENCIAS
Av. de la Cultura 733 - Pabellón "C" Of. 106 1er piso - Telefax: 2248311 Apartado Postal 921 - Cusco Perú

**UNIDAD DE PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO**
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA
INFORME DE ANÁLISIS
Nº0045-25-LAQ

SOLICITANTE : FRIDA HANCCO CHAMPI
GIANCARLA CACERES QUISPE

MUESTRA : LLAON LIOFILIZADO
LUGAR : C.P. LIMACPUNKO
DISTRITO : MARCAPATA
PROVINCIA : QUISPICANCHI
REGION : CUSCO
FECHA : C/03/02/2025

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO:

pH	6,18
Acidez % (Ac. Cítrico)	0,86
Sólidos solubles total %	80,40

Métodos: AOAC 981.12 , AOAC 942.15
Cusco, 04 de Febrero 2025


Melitades Herrera Arzú
RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO

Anexo 15: Constancia de Resultados Fitoquímicos



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Solubilidad en diferentes solventes del Llacón liofilizado

	Hexano	Cloroformo	Acetato de Etilo	Acetona	Etanol 96%	Metanol	Agua
Extracción %	0.0	0.3	1.6	2.0	15.8	43.9	45.7

Marcha Fitoquímica

Ensayo	Llacón liofilizado
Compuestos Fenólicos	—
Flavonoides	+
Alcaloides	—
Saponinas	—
Taninos	—
Triterpenos y Esteroides	—
Quinonas	—

Ausente = —
Muy Poco = +
Poco = ++
Abundante = +++

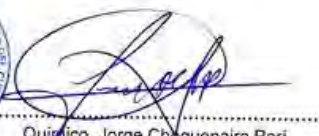
Nota:

El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios.

Referencia

- Lock de Ugaz O. 1994. "Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio en los productos naturales" Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.




Químico. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

Anexo 16: Constancia de Resultados Análisis Proximal



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

Av. de la Cultura 733 - Pabellón "C" Of. 106 1er. piso - Telefax: 224831 - Apartado Postal 921 - Cusco Perú



UNIDAD DE PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA

INFORME DE ANÁLISIS

Nº0567-2024-LAQ

SOLICITANTE

:

FRIDA HANCCO CHAMPI
GIANCARLA CACERES QUISPE

MUESTRA

:

LLACON Smallantus sonchifolius, LIOFILIZADO

LUGAR

:

C.P. LIMACPUNCO

DISTRITO

:

MARCAPATA

PROVINCIA

:

QUISPICANCHI

REGION

:

CUSCO

FECHA

:

C/02/12/2024

ANALISIS FISICOQUIMICO:

Humedad %	3,66
Proteína %	4,60
Grasa %	0,38
Ceniza %	3,36
Fibra %	1,70
Carbohidratos %	88,00

Métodos: AOAC 930.15, 2000
AOAC 984.13, 2021
AOAC 920.039, 1990
AOAC 942.05, 2012
AOAC 962.09, 2012

Cusco, 11 de Diciembre 2024



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
UNIDAD DE PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO
Melgosa Herrera Arístides
RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO

Anexo 17: Constancia de Resultados Cuantificación de FOS



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 13 de Febrero del 2025

Solicitantes : Giancarla Cáceres Quispe, Frida Hanco Champi
Tipo de Análisis : Determinación de FOS, Solubilidad y Marcha Fitoquímica
Método : Cromatografía líquida HPLC-RID
: Extracción con solventes
: Reacciones de coloración o precipitación
Tipo de Muestras : Raíz de Llacón liofilizado
Cantidad de Muestra : 1 frasco conteniendo sólido con 5gr aprox
Almacenamiento : 4 °C.

Fructooligosacáridos	Lecturas			Promedio
	1	2	3	Equivalentes de 1-Kestose g/100gr
1-Kestose (Glu-Fru2)	5.211	5.168	5.300	5.2
	4.723	4.834	4.689	4.7
Otros	3.179	3.080	3.017	3.1
	2.105	2.157	2.065	2.1
	1.326	1.332	1.292	1.3
TR min = Tiempo de retención en minutos			Total FOS	16.5

Nota:

Se ha detectado la presencia de 1-Kestose en la muestra mediante la comparación de la señal del estándar, las otras señales podrían ser Nystose y 1F-Fructofuranosyl-nystose según literatura reportada, se ha utilizado una curva de calibración de diferentes concentraciones del estándar 1-Kestose, expresa el contenido de Fructooligosacáridos en equivalentes de 1-Kestose en gramos por 100 gramos de muestra.

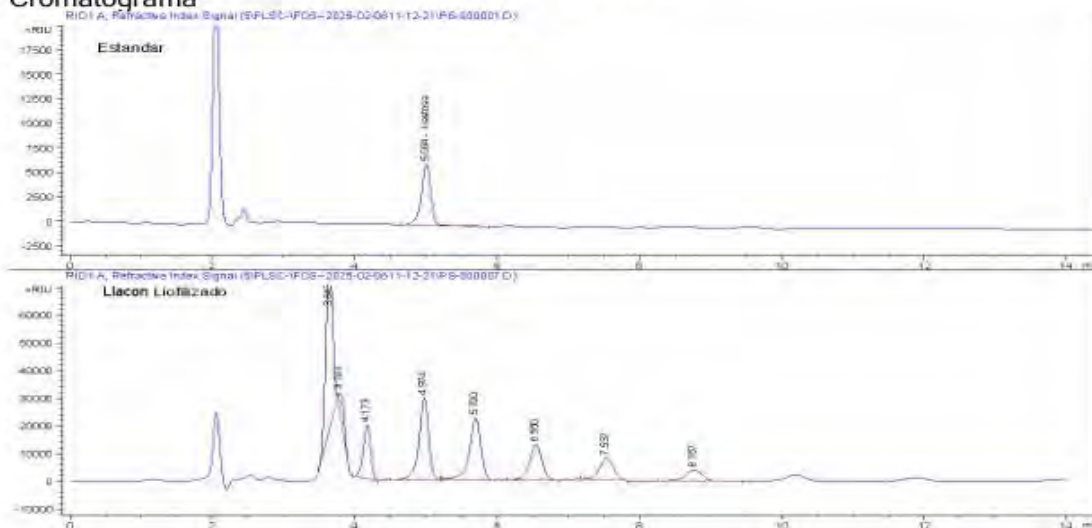


Químico, Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC,
CQP - 914

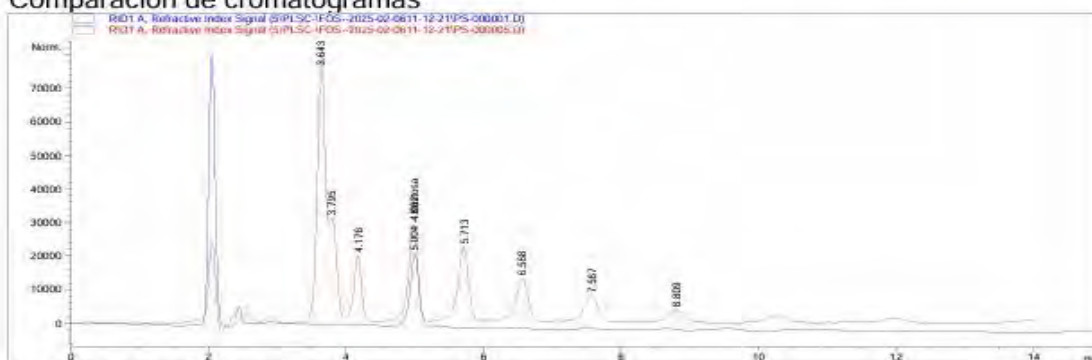


RESULTADOS

Cromatograma



Comparación de cromatogramas



Azul = Estandar 1-Kestose
Rojo = Llacton liofilizado



Químico. Jorge Chequenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC,
CQP - 914



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Condiciones de Análisis por HPLC

Cromatógrafo:	Agilent serie 1200
Software:	Chemstation V03.02
Columna:	Zorbax Carbohidrate 4.6 x 250mm, 5µm
Flujo de Columna:	1.4 ml/min.
Temperatura:	35 °C
Fase Movil:	Acetonitrilo: Agua (60:40)
Volumen de Inyección:	5µL
Detección:	Índice de Refracción RID, 40°C
Tiempo de Análisis:	15 minutos

Referencia consultada

1. Agilent Technologies USA 2003 Typical Performance of ZORBAX Carbohydrate Analysis Column N° 820629-008c
2. Analytical Chemistry, 1. Food Analysis A. Fructooligosaccharide Analysis. Wako Product Update No.16, <https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/journal/docs/proup16.pdf>
3. L. Yuanita, P. R. Wikandari, Isnawati and W. B. Sabtiawan (2018) The Effect of Storage and Boiling Time of Yacon Tubers to Scfa And Lactic Acid Concentrations by Bifidobacteriumlongum. Reuter ATCC 15707 and Lactobacillus acidophilus IFO 13951 Rasayan J. Chem., 11(4), 1635-1642 <http://dx.doi.org/10.31788/RJC.2018.1143053>
4. González-Aguirre, C. L., & Ramírez-Navas, J. S. (s. f.). (2018) Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de fructooligosacáridos en un helado prebiótico. 9. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 6 (2), 108-116, 2018 ISSN 0719-4250 <http://jppres.com/jppres>




Químico. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

Anexo 18: Constancia de Resultados Control Microbiológico



CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO DE LA RAÍZ DE LLACÓN (*Smallanthus sonchifolius*)

Cusco 10 de diciembre del 2024

Solicitante:

- Bach. Caceres Quispe Giancarla
- Bach. Hanco Champi Frida

Para la tesis de Investigación intitulada **ACTIVIDAD PREBIÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO DE LA RAÍZ DE LLACÓN (*Smallanthus sonchifolius*) PROVENIENTE DE LIMACPUNCO – MARCAPATA – CUSCO SOBE LA CEPA *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**

Muestra: Extracto de la Raíz de Llacón (*Smallanthus sonchifolius*)

Lugar y fecha: Cusco 10 de diciembre del 2024

Indicadores microbiológicos:

1. **Criterio imperativo:** Presencia de *Salmonella* spp (Agar SS)
2. **Criterio indicativo de higiene:** Número de coliformes fecales – *Escherichia coli* (Caldo lactosado verde brillante bilis 2%)
3. **Criterio de alerta o límites críticos:**
 - 3.1. Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos Viables (Agar Plate Count).
 - 3.2. Recuento de hongos y levaduras (Agar Sabouraud)

Reporte de resultados del control microbiológico del extracto de la Raíz de Llacón (*Smallanthus sonchifolius*)

CRITERIOS	RESULTADOS EN LA DILUCIÓN 10^{-1}	LIMITES MICROBIOLÓGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio Imperativo	Ausencia de <i>Salmonella</i> spp	Ausencia de <i>Salmonella</i> spp	La muestra cumple LMP
Criterios Indicativos de higiene	Número de coliformes fecales – <i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	La muestra cumple LMP
Criterio de alerta o límites críticos	Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos viables: $< 10^2$ UFC	$10^4 - 10^5$ UFC	La muestra cumple LMP
	Recuento de hongos y levaduras: 10^2 UFC	$10^2 - 10^3$ UFC	La muestra cumple LMP

El método es el de la IMCSF (Comisión Internacional en Especializaciones Microbiológicas para Alimentos) laboratorio General de Calidad de Agua Ministerio de Salud.

Conclusión: La muestra cumple con los criterios de los límites microbiológicos permisibles.



[Firma]
Kevin Kater Cusi Canshin
Biólogo
C.R.P. 18379

Av. Alameda 1001, Cusco 08001, Perú
Tel: 051 974 000 000 / 051 974 000 001
Fax: 051 974 000 002 / 051 974 000 003

Anexo 19: Estandarización de la dilución utilizado de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 para evaluar la actividad prebiótica del extracto de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob)

Tubo N.º	Dilución	Nº de colonias en promedio
1	10^{-1}	No se pudo realizar el conteo
2	10^{-2}	No se pudo realizar el conteo
3	10^{-3}	No se pudo realizar el conteo
4	10^{-4}	No se pudo realizar el conteo
5	10^{-5}	328
6	10^{-6}	47
7	10^{-7}	No hubo presencia

Anexo 21: Resultados del conteo de colonias de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medios con extracto de raíz de llacón y control (lactulosa), bajo condiciones *in vitro*

GRUPO	PLACA	TRATAMIENTO				RESULTADOS		
		[(%)	MICROORGANISMO	MEDIO DE CULTIVO	COND. INCUBACIÓN	Nº COLONIAS	Σ	RESULTADOS (UFC/mL)
Blanco	1	—	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	385	371,33	$3,71 \times 10^6$
	2	—	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	384		
	3	—	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	375		
Control (Lactulosa)	1	0.01427%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	427	435,00	$4,35 \times 10^6$
	2	0.01427%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	446		
	3	0.01427%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	432		
Extracto de la raíz de llacón (<i>Smilaxanthus sonchifolius</i> (Poepp.) H. Rob)	1	1%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4357	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	426	413,67	$4,14 \times 10^6$
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4358	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	418		
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4359	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	388		
	1	2%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4357	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	522	534,00	$5,34 \times 10^6$
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4358	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	543		
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4359	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	537		
	1	3%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4357	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	535	545,00	$5,45 \times 10^6$
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4358	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	554		
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4359	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	546		
	1	4%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4357	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	490	488,67	$4,89 \times 10^6$
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4358	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	480		
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4359	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	498		
	1	5%	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4357	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	438	446,3333	$4,46 \times 10^6$
	2		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4358	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	455		
	3		<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4359	MRS	37°C, 24h, anaerobiosis	448		

Anexo 22: Registro fotográfico de los procedimientos experimentales

I. Etapa de recolección de la muestra de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob)

Fotografía 3. Plantación de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob) .



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 4. Recolección de raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 5. Selección de la muestra raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 6. Rotulado de muestra de raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

II. Etapa de la elaboración del liofilizado de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob)

Fotografía 7. Pesado de la muestra de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 8. Pelado y trozado de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 9. Cortes de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 10. Muestras puestas a congelamiento a -30°C de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 11.Pre Congelación



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

Fotografía 12. Liofilización



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Junio, 2024)

III. Etapa de la elaboración de la solución madre a partir del liofilizado de llacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob).

Fotografía 13. Esterilizado de materiales de laboratorio



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 14. Autoclavado de materiales de laboratorio



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 15. Pesaje del liofilizado del llacón



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 16. Molienda del liofilizado del llacón
(*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 17. Disolución del liofilizado de llacón



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 18. Calentando a 20°C la disolución del
liofilizado de la raíz de llacón (*Smallanthus sonchifolius*
(Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 19. Obtención de la disolución completa de de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 20. Filtrado de la disolución del liofilizado de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 21. Filtrado de la solución madre del liofilizado de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



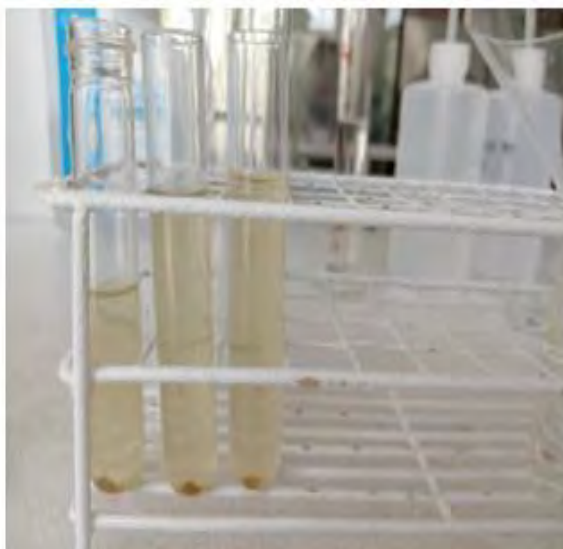
Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 22. Centrifugación del filtrado de la solución de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 23. Disolución del liofilizado de Ilacón



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 24. Calentando a 80°C la disolución del liofilizado de de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 25. Obtención de la disolución completa del liofilizado de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 26. Filtrado de la disolución del liofilizado de la raíz de Ilacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H.Rob).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

IV. Etapa del enriquecimiento del agar MRS con las respectivas diluciones de solución madre del liofilizado de de Ilacón(*Smallanthus sonchifolius*) en las concentraciones 1%,2%,3%,4% Y 5%.

Fotografía 27. Se esterilizan los materiales de laboratorio	Fotografía 28. Materiales listos para usarlos
	
Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)	Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)
Fotografía 29. Pesando y disolución de el Agar MRS para su autoclavado	Fotografía 30. Se observa el autoclavado del agar MRS con las respectivas diluciones
	
Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)	Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 31. Filtrado de la solución madre del liofilizado del



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 32. Centrifugación del filtrado de la solución



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

V. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en el blanco, patrón y concentraciones del extracto acuoso 1%,2%,3%,4% Y 5%.

Fotografía 33. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 mas Agar MRS (Patrón negativo).



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 34. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medio con lactulosa (patrón positivo)



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 35. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medio con extracto acuoso de llacón al 2%.



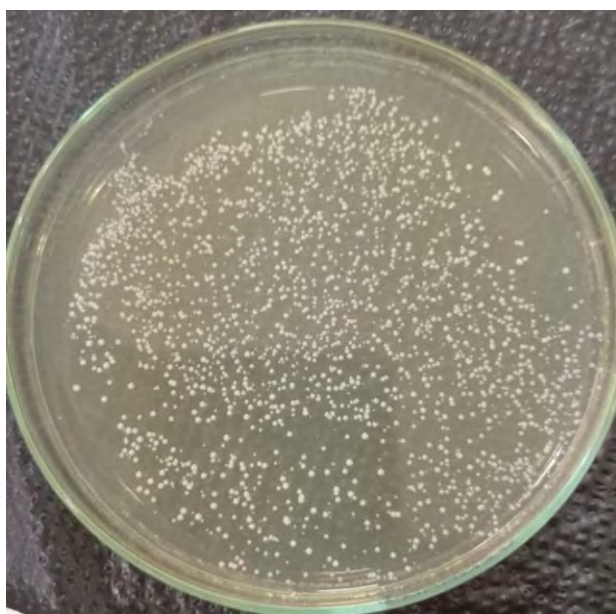
Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 36. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medio con extracto acuoso de llacón al 3%.



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 37. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medio con extracto acuoso de llacón al 3%.



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 38. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medio con extracto acuoso de llacón al 4%.



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

Fotografía 39. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en medio con extracto acuoso de llacón al 5%.



Fuente: Cáceres, G y Hanco, F. (Enero, 2024)

