



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Estudio del potencial prebiótico del
epicarpio de mangostino (*Garcinia
mangostana*)**

**Prebiotic potential study of mangosteen epicarp
(*Garcinia mangostana*)**

Paula Daniela Sánchez Vega

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias
Medellín, Colombia

2024

Estudio del potencial prebiótico del epicarpio de mangostino (*Garcinia mangostana*)

Prebiotic potential study of mangosteen epicarp (*Garcinia mangostana*)

Paula Daniela Sánchez Vega

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias - Biotecnología

Directora:

MSc., Olga Inés Montoya Campuzano

Codirector:

MSc., Orlando Simón Ruíz Villadiego

Línea de Investigación:

Metabolitos Bioactivos

Grupo de Investigación:

Probióticos y Bioprospección

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias
Medellín, Colombia

2024

Guardar silencio para escuchar la verdad y la importancia del secreto, hace al hombre un científico de lo humano y lo divino.

OSCAR SANVAR

Agradecimientos

Durante la ejecución de esta tesis, recibí el respaldo y colaboración de personas e instituciones, a quienes deseo expresar mi más profundo agradecimiento.

Quiero brindar mi sincera gratitud a los profesores: Olga Inés Montoya Campuzano; Orlando Simón Ruiz Villadiego y María Elena Márquez Fernández, por su apoyo incondicional e inigualable guía, a nivel académico y personal, durante todo el proceso. De igual manera, al profesor Guillermo Antonio Correa Londoño, por su valiosa orientación desde la rama estadística, lo cual, enriqueció esta investigación.

Agradezco también a Minciencias y la alianza Universidad Nacional de Colombia-Universidad de Antioquia, por el soporte financiero que me brindaron a través de la convocatoria para la formación de capital humano de alto nivel por departamentos, con el aval del Centro de Productividad del Tolima. Así mismo, quiero agradecer a los Laboratorios: Microbiología de Aguas y Alimentos; Suelos; Frutas y Hortalizas; Procesos Agrícolas, adscritos a la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, por su asistencia en el desarrollo experimental.

Finalmente, quiero agradecer a Dios por mi familia; pareja; amigos y compañeros de estudio, quienes, con su amor y optimismo, me alentaron en este largo trayecto de aprendizaje.

Resumen

Estudio del potencial prebiótico del epicarpio de mangostino (*Garcinia mangostana*)

En la actualidad se investigan métodos alternativos como medios de cultivo para el crecimiento de probióticos, económicamente viables, que provengan de subproductos con características prebióticas. Específicamente, el mangostino: fruta exótica colombiana, contiene una voluminosa epidermis que alcanza hasta el 70% del peso total del fruto; cuando se descarta, genera enormes cantidades de residuos que afectan el medio ambiente, sin que a la fecha, se hayan desplegado estrategias biotecnológicas para su valorización. Sin embargo, diversas investigaciones evidencian el potencial del mangostino en la modulación de la microbiota intestinal, razón por la cual, este estudio evaluó una estrategia de aprovechamiento de la cáscara, como sustrato para el crecimiento de tres cepas comerciales de bacterias ácido lácticas (BAL) con propiedades prebióticas: *Lactiplantibacillus plantarum* Lp-115400 B; *Lacticaseibacillus paracasei* LPC-37400 B; *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis*. Los resultados revelaron crecimiento de *L. plantarum* e inhibición de *Escherichia coli* ATCC 8739 en el medio de cultivo elaborado con cáscara y, crecimiento de *B. lactis* en el medio preparado con hemicelulosa. Estos efectos se atribuyen a los carbohidratos y compuestos fenólicos presentes en la cáscara, que estimularon el crecimiento de las BAL probióticas, pero no el de *E. coli*. Adicionalmente, la actividad prebiótica fue positiva para todos los medios de cultivo, siendo mayor en el medio elaborado con cáscara inoculado con *L. plantarum* (80.06 ± 0.78); y acorde al modelo de optimización, la concentración de cáscara que favoreció el crecimiento de *L. plantarum*, fue de 6.41 g/L. Estos hallazgos confirman el potencial prebiótico del epicarpio de mangostino.

Palabras clave: Hemicelulosa, Probióticos, Residuos agroindustriales, Superficie de respuesta

Abstract

Prebiotic potential study of mangosteen (*Garcinia mangostana*) epicarp

Currently, alternative methods are being investigated as economically viable culture media for probiotics growth, which come from by-products with prebiotic characteristics. Specifically, the mangosteen: an exotic Colombian fruit, has a bulky epicarp that reaches up to 70% of the total fruit weight; when it is discarded, generates a large amounts of waste that impact the environment, but to date, biotechnological strategies have not been developed for its valorization. However, some research indicates the mangosteen potential in the gut microbiota modulation. Therefore this study evaluated a strategy of using the peel as a substrate for the growth of three commercial strains of lactic acid bacteria (BAL) with probiotic properties: *Lactiplantibacillus plantarum* Lp-115400 B; *Lacticaseibacillus paracasei* LPC-37400 B; *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis*. The results showed *L. plantarum* growth and inhibition of *Escherichia coli* ATCC 8739 in the culture medium with peel, and *B. lactis* growth in the medium prepared with hemicellulose. This effect was attributed to the peel phenolic and carbohydrates compounds, which stimulate the probiotics BAL growth, but not *E. coli*. In addition, the prebiotic activity was positive for all culture media, being higher the one made with peel inoculated with *L. plantarum* (80.06 ± 0.78); and according to the optimization model, the peel concentration that favored *L. plantarum* growth was 6.41 g/L. These findings confirm the prebiotic potential of the mangosteen epicarp.

Keywords: Food waste, Hemicellulose, Probiotics, Surface response.

Contenido

	Pág.
Resumen.....	I
Contenido.....	III
Lista de figuras.....	V
Lista de tablas.....	VII
Lista de símbolos y abreviaturas.....	VIII
Introducción.....	1
Hipótesis.....	5
Objetivos.....	5
1. Marco teórico.....	
1.1. Generalidades.....	
1.1.1. Descripción del mangostino.....	6
1.1.2. Mercado nacional y alcance del mangostino.....	7
1.2. Agentes bioterapéuticos.....	
1.2.1. Probióticos.....	8
1.2.2. Prebióticos.....	9
1.3. Modelo central compuesto.....	13
2. Metodología.....	
2.1. Obtención de la muestra.....	14
2.2. Preparación de harina de cáscara de mangostino.....	14
2.3. Caracterización bromatológica de la harina.....	15
2.4. Extracción de hemicelulosa.....	17
2.5. Potencial prebiótico <i>in vitro</i>	
2.5.1. Bacterias y condiciones de cultivo.....	17
2.5.2. Preparación de los medios de cultivo.....	18
2.5.3. Recuento de células viables.....	18
2.5.4. Puntaje de actividad prebiótica.....	19
2.6. Optimización <i>in vitro</i> del crecimiento.....	20
2.7. Análisis estadístico.....	21
3. Resultados.....	
3.1. Harina de cáscara de mangostino.....	22
3.2. Caracterización química de la harina de cáscara de mangostino.....	23
3.3. Hemicelulosa de la cáscara de mangostino.....	24
3.4. Potencial prebiótico <i>in vitro</i>	
3.4.1. Crecimiento de las BAL en los medios de cultivo con cáscara de mangostino y hemicelulosa.....	25

3.4.2. Ácidos orgánicos obtenidos posterior a la inoculación.....	27
3.4.3. Actividad prebiótica de los medios de cultivo.....	28
3.5. Crecimiento de <i>L. plantarum</i> en el medio de cultivo con cáscara de mangostino.....	30
4. Discusión.....	34
5. Conclusiones.....	41
6. Recomendaciones.....	42
7. Bibliografía.....	43

Lista de figuras

	Pág.
<p>Figura 3-1: Preparación de la muestra. (A) Limpieza y desinfección del mangostino. (B) Despulpado. (C) Troceado de 5mm de la cáscara para llevar a deshidratar. (D) Disposición de los trozos de cáscara en el horno secador de bandejas de aire caliente (modelo UF750, Memmert). (E) Harina de cáscara de mangostino con tamaño de partícula de 150 μm, posterior al proceso de molienda y tamizado.....</p>	22
<p>Figura 3-2: Método ácido de extracción de hemicelulosa. (A) Primera filtración posterior a la hidrólisis. (B) Precipitación de la hemicelulosa en presencia de etanol, posterior a la percolación. (C) Segunda filtración, hemicelulosa retenida en el papel de filtro. (D) hemicelulosa obtenida después del secado de la muestra.....</p>	24
<p>Figura 3-3: Interacción entre los medios de cultivo y las cepas probióticas evaluadas, en la determinación del crecimiento (UFC/mL)</p>	25
<p>Figura 3-4: Recuentos viables (UFC/mL) de las cepas probióticas y el microorganismo patógeno, en los medios de cultivo. (A) Crecimiento de <i>L. plantarum</i>. (B) Crecimiento de <i>L. paracasei</i>. (C) Crecimiento de <i>B. lactis</i>. (D) Crecimiento de <i>E. coli</i>.</p>	26
<p>Figura 3-5: Obtención de los ácidos orgánicos presentes en los extractos, posterior a la fermentación de los medios de cultivo con cáscara (MRSG⁻C⁺); hemicelulosa (MRSG⁻H⁺); y glucosa (MRSG⁺, control), con las cepas probióticas.....</p>	27

Figura 3-6: Interacción entre los medios de cultivo y las cepas probióticas, en la evaluación de la actividad prebiótica (ap).....	29
Figura 3-7: Interacción entre las cepas probióticas y los medios de cultivo, en la evaluación de la actividad prebiótica (ap).....	30
Figura 3-8: Diagrama de Pareto estandarizado, para el crecimiento de <i>L. plantarum</i> , según las variables: temperatura (°C); tiempo (h); y concentración de cáscara de mangostino (g/L) en el medio de cultivo.....	31
Figura 3-9: Gráficos de contorno que evidencian los efectos de los factores experimentales en el crecimiento de <i>L. plantarum</i> . (A) relación entre la concentración de cáscara y el tiempo de incubación, para una temperatura de 39.94°C. (B) relación entre la concentración de cáscara y la temperatura de incubación, para un tiempo de 81.89 h.....	32
Figura 3-10: Superficie de respuesta obtenida con el modelo de segundo orden que describió el crecimiento de <i>L. plantarum</i> , según las variables: temperatura de incubación y concentración de cáscara de mangostino en el medio de cultivo, en un tiempo de 81.89 h.....	33

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1: Porcentaje de composición proximal de cada uno de los componentes del mangostino.....	7
Tabla 2-1: Factores experimentales en el diseño central compuesto para la optimización del crecimiento de la cepa probiótica en el medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino (MRSG ⁻ C ⁺)	20
Tabla 3-1: Caracterización lignocelulósica de la harina de cáscara de mangostino.....	23
Tabla 3-2: Capacidad antioxidante de la harina de cáscara de mangostino.....	23
Tabla 3-3: Compuestos bioactivos presentes en la harina de cáscara de mangostino.....	24
Tabla 3-4: Puntaje de actividad prebiótica de los medios de cultivo vs las cepas probióticas.....	28

Lista de símbolos y abreviaturas

Abreviatura	Término
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
ATP	Adenosín Trifosfato
BAL	Bacterias ácido lácticas
DO	Densidad óptica
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FOS	Fructooligosacáridos
GOS	Galactooligosacáridos
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
OMS	Organización Mundial de la Salud
UFC	Unidades formadoras de colonia
XOS	Xilooligosacáridos

Unidades de Medida

°C	Grados Celsius
g	Gramos
h	Horas
kg	Kilogramos
lb	Libras

L	Litros
μL	Microlitros
μm	Micrómetros
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mM	Milimolar
min	Minutos
M	Molar
nm	Nanómetros
ppm	Partes por millón
rpm	Revoluciones por minuto

Introducción

Los vegetales son reconocidos como una fuente de micronutrientes y fibra dietética esencial que aporta una amplia gama de fitoquímicos, porque sus componentes bioactivos actúan como antioxidantes (Scarano et al., 2022), que, de manera individual, o en conjunto, proporcionan importantes beneficios para la salud en su consumo a largo plazo. Del mismo modo, promueven el equilibrio intestinal y modulan la microbiota; situación que se relaciona directamente con un menor riesgo de desarrollar desordenes metabólicos, inmunológicos y neurológicos, lo cual se traduce en un correcto funcionamiento del organismo (Borgonovi et al., 2022). Sin embargo, la proporción de frutas y hortalizas que se desechan en cada etapa de la cadena industrial agroalimentaria, supera el 40% en la mayoría de los países, alcanzando casi el 50% en países semi-industrializados, y más del 50% en países de menor industrialización (Scarano et al., 2022).

Es por ello que diversos enfoques sugieren la transformación de los desechos orgánicos en productos biológicos con menor impacto sobre el medio ambiente y la salud humana (Scarano et al., 2022), debido a que en los subproductos o fracciones no comestibles provenientes de la transformación de estos vegetales, abundan oligosacáridos no digeribles o sustratos prebióticos que se derivan de diversos carbohidratos como la celulosa, hemicelulosa, pectina, entre otros; con potencial aplicación en el sector agroindustrial si son utilizados selectivamente por poblaciones microbianas intestinales (Sabater et al., 2021).

Numerosos trabajos de investigación han propuesto productos biotecnológicamente significativos a partir del metabolismo microbiano de biorresiduos: El PHA o polihidroxiácidos, son una familia de biopolímeros naturales, que son sintetizados por bacterias como *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* ssp.; poseen propiedades biodegradables, biocompatibles y no tóxicas, con aplicaciones en agricultura, implantación médica, entre otras (Kee et al., 2021). En un estudio de fermentación anaeróbica donde se emplearon tratamientos con ácidos orgánicos para la obtención de xilooligosacáridos, una clase de sustrato no digerible, los resultados evidenciaron proliferación de *Bifidobacterium adolescentis* y *Lactobacillus acidophilus*, comprobándose su actividad prebiótica (Yan et al., 2022). También, en la fermentación bacteriana en sustratos con propiedades prebióticas; como, por ejemplo, la cáscara de piña, para el crecimiento de *Lactocaseibacillus rhamnosus* (Jované Garuz, 2019).

Otro estudio determinó que los glucanos provenientes de la hemicelulosa estimularon el crecimiento de *B. adolescentis*, y en menor medida a *Escherichia coli* enteroinvasiva, en roedores (Deloule et al., 2020). Lo cual evidencia la importancia de los probióticos en la inhibición de bacterias patógenas a través de mecanismos como antagonismo; interferencia en la colonización; producción de compuestos antimicrobianos; o coagregación con los patógenos. Ese efecto antagónico frente a otras bacterias ha logrado despertar el interés industrial de transformar los residuos de plantas agroindustriales (Jované Garuz, 2019).

En Colombia, se desperdician aproximadamente 9.7 millones de toneladas de residuos de las cosechas agrícolas, y es por ello que a nivel nacional se han realizado investigaciones para aprovechar, por ejemplo, residuos de los cultivos de mora, aguacate, cítricos y caña, para obtener: holocelulosa como materia prima para la producción de azúcares; lignina para fabricar combustibles; polímeros y materiales compuestos, así como antocianinas que pueden emplearse como colorantes en diferentes industrias. Específicamente en el mangostino, la pulpa y semilla representan el 30% del peso total del fruto, y su gruesa epidermis y pedúnculo, pueden alcanzar hasta el 70% del mismo, siendo estas últimas desechadas, generando enormes cantidades de residuos (Orozco Moreno, 2019).

Adicionalmente, en el país, los porcentajes de industrialización de esta fruta son bajos, porque solo ha sido utilizada en la elaboración de mermeladas, jaleas y pulpas para la venta de bebidas, en regiones como Mariquita en el Tolima; o preparación de vino de manera artesanal, para consumo personal o familiar. Sin embargo, ninguno de estos productos es distribuido bajo una marca específica, ni se encuentran registrados ante el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima). Así mismo, no se ha comercializado ningún subproducto generado a partir de su cáscara, porque la mayoría de los residuos se quedan en las fincas, y algunos se utilizan para elaborar abonos (Orozco Moreno, 2019).

No obstante, numerosos trabajos de investigación evidencian el potencial antioxidante del mangostino; su actividad fungicida; bactericida; antiinflamatoria; antihistamínica y citotóxica en distintos tipos de cáncer (Orozco Moreno, 2019). Se ha estudiado y demostrado que sus compuestos fenólicos, además de estimular el crecimiento de bacterias probióticas, presentan actividad antibacteriana. Con extracto de cáscara de mangostino se indujo el crecimiento de *L. acidophilus*; asociado a la acción de los componentes activos presentes en su epicarpio: ácido hidroxibenzoico, ácido hidroxicinámico, ácido cafeico, xantonas, entre otros (Nanasombat et al., 2018).

Por lo tanto, es imprescindible incorporar nuevas tecnologías de transformación y aprovechamiento integral de cada uno de los componentes de las frutas, que como el mangostino, son una alternativa muy prometedora de diversificación de las exportaciones nacionales, debido al interés internacional por consumir productos exóticos de origen natural y orgánico (Orozco Moreno, 2019); lo que permitiría a nivel local, un fortalecimiento económico, social y ambiental de la cadena productiva agroindustrial.

Del mismo modo, si Colombia contara con productos agrícolas muy demandados por consumidores en países desarrollados, la producción de este sector aumentaría considerablemente y, por ende, la cantidad de residuos generados. Por ello, es fundamental diseñar alternativas sostenibles, donde el subproducto de un sistema pueda transformarse en la materia prima de otro (Machado Pinzón, 2018).

Razón por la cual, y como la mayor pérdida de biomasa en el mangostino es por su epidermis; ésta se considera una fuente promisoría como sustrato con potencial prebiótico, útil para aplicaciones alimentarias o farmacéuticas.

Con base en lo anterior, el objetivo de este proyecto fue explorar una estrategia de aprovechamiento de la cáscara del mangostino, mediante el estudio de su capacidad prebiótica, en el crecimiento de tres cepas comerciales de bacterias ácido lácticas (BAL) con propiedades probióticas.

Hipótesis

La cáscara del mangostino es potencialmente prebiótica en el crecimiento de bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar *in vitro* el efecto prebiótico del epicarpio de mangostino (*Garcinia mangostana*), en el crecimiento de tres cepas comerciales de bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas.

Objetivos específicos

- Verificar el crecimiento de tres cepas comerciales de bacterias ácido lácticas probióticas y una cepa comercial de *Escherichia coli*, sobre medios de cultivo elaborados con cáscara de mangostino y hemicelulosa extraída de la cáscara.
- Determinar la actividad prebiótica de la cáscara de mangostino y la hemicelulosa extraída de la cáscara; en el crecimiento de tres cepas comerciales de bacterias ácido lácticas probióticas.
- Optimizar el crecimiento de la cepa probiótica de mayor proliferación sobre el medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino; considerando las variables: tiempo, temperatura y concentración de cáscara.

1. Marco teórico

1.1. Generalidades

1.1.1. Descripción del mangostino

Árbol tropical originario del sureste asiático, particularmente de Indonesia y Malasia, se extendió al trópico y desde Trinidad y las Antillas llegó a Colombia, específicamente a Mariquita (Tolima) y a Palmira (Valle), a través de los trabajadores ingleses del ferrocarril de La Dorada (Orduz R. & Rangel M., 2002); y posteriormente se expandió a los demás departamentos.

El mangostino se propaga por semillas que pueden conservarse 3 o 4 semanas dentro de la fruta, pero una vez extraídas deben sembrarse en el tiempo más corto posible. Las semillas son de alto valor proteico y bajo contenido de grasas, germinan entre 10 y 15 días, y producen 2 o 3 plántulas que deben ser trasplantadas en 1 o 2 años. Cada árbol genera entre 500 y 1500 frutos por cosecha (Lopera Hurtado & Pérez Franco, 2020). En Mariquita, la recolección del fruto se realiza manualmente uno a uno, con el máximo cuidado y sin apilarlos, se disponen en el mercado local el mismo día de la cosecha para comercializarlos en estado óptimo y transporte idóneo. Los frutos se deben almacenar preferiblemente a 13°C en una humedad relativa entre 85 y 90%, para evitar ablandamiento, pudrición, y pardeamiento (Parra Coronado, 2007).

La pulpa es blanca, jugosa, suave y de agradable sabor; se constituye principalmente por agua y carbohidratos, con bajo contenido de proteínas, grasas y cenizas (Orozco Moreno, 2019). La corteza es firme y consistente, con alto contenido de cenizas y pectina, debido al elevado porcentaje de fibra (Machado Pinzón, 2018; Orozco Moreno, 2019). En la semilla, su aporte proteico es mayor en comparación a los otros dos componentes, sin embargo, debido a su bajo contenido de grasas, no es viable proyectarla para extracción de aceites (Orozco Moreno, 2019).

En la tabla 1-1, se puede apreciar la composición proximal de cada uno de los componentes de este fruto.

Tabla 1-1: Porcentaje de composición proximal de cada uno de los componentes del mangostino. (Orozco Moreno, 2019).

Base húmeda	Humedad	Grasas	Carbohidratos	Proteínas	Cenizas	Fibra dietaria	Fibra soluble	Fibra insoluble	Fibra cruda
Cáscara	61.89	0.26	5.82	1.18	0.90	29.95	2.64	27.49	11.43
Pulpa	80.65	0.07	18.67	0.49	0.13	0.00	—	—	—
Semilla	79.58	0.30	12.74	1.07	0.30	6.00	—	—	—

1.1.2. Mercado nacional y alcance del mangostino

La producción nacional de mangostino se destina en un 50% a exportación, y el porcentaje restante, se comercializa en el mercado interno (Orozco Moreno, 2019). Hasta la fecha, las siguientes empresas son las encargadas de dirigir los procesos de exportación de mangostino: Juan Matas S.A.S; Meraki Fruits S.A.S; y Frutexco, ubicadas en la ciudad de Bogotá; Novacampo S.A.S, en la ciudad de Tunja, Boyacá; Mangostinera Villa Garcinia, y Natturale y Cía S.C.A, en el municipio de Mariquita, Tolima.

El fruto se comercializa en fresco y es de gran interés en empresas del sector cosmético y farmacéutico. Su pulpa y pericarpio son empleados en la elaboración de suplementos alimentarios, bebidas, cosméticos, y en general, toda clase de productos naturales. Por ejemplo, la marca XANGO® es reconocida a nivel mundial por el desarrollo de productos a base de mangostino, y fue la primera compañía en elaborar una bebida de esta fruta. También es el caso de la marca Glimpse®, que actualmente desarrolla productos de belleza y cuidado personal (Lopera Hurtado & Pérez Franco, 2020).

Orozco Moreno (2019) afirma que, desde la experiencia y conocimiento de los cultivos en el Tolima, sería posible producir más de 1000 toneladas de mangostino anualmente, en cerca de 300 hectáreas, debido a que no más una sola empresa cuenta con aproximadamente 3 fincas de 50 hectáreas de mangostino, con 7000 mangostanes que alcanzan producciones cercanas a las 300 toneladas anuales. Cifras que coinciden con lo reportado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia para el año 2022, donde se produjeron 1796.3 toneladas de mangostino en un área de 237.6 hectáreas.

1.2. Agentes bioterapéuticos

1.2.1. Probióticos

Los probióticos, definidos por la FAO y OMS como microorganismos vivos, que al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud del huésped (Mariño García et al., 2016); son altamente valorados en la industria alimentaria, farmacéutica y agropecuaria, por sus propiedades biológicas activas, nutricionales y de capacidad terapéutica; desempeñan un papel fundamental en la función digestiva, inmunitaria y respiratoria del huésped, por lo que pueden incluirse en la preparación de alimentos, medicamentos y suplementos dietéticos (Álvarez Obregón, 2015).

Por lo tanto, la ingesta de probióticos puede modificar o corregir disfunciones de la microbiota intestinal; retardar o inhibir la aparición de ciertos tipos de cáncer; prevenir enfermedades asociadas a respuestas alérgicas y del sistema cardiovascular, y trastornos del aparato urogenital, que a su vez se traduce no solo en la prevención y reducción de enfermedades de alto riesgo, sino en una mejor condición física y benéfica de las funciones fisiológicas del cuerpo (Mariño García et al., 2016; FAO y OMS, 2006).

Para catalogar un microorganismo como probiótico, éste debe sobrevivir en el tracto gastrointestinal y resistir la acidez gástrica; adherirse a las células epiteliales y estimular el epitelio intestinal; incrementar la capacidad digestiva; colonizar y reproducirse en el huésped; producir metabolitos que inhiban a las bacterias patógenas o patobiontes; y modular la actividad inmunológica, demostrando su eficacia y beneficios, al ser sometido a pruebas *in vitro* e *in vivo* (Leone & Ferrante, 2023). Existen una variedad de géneros bacterianos que cumplen con estas propiedades, sobresaliendo: *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus* (Leone & Ferrante, 2023). Particularmente, algunas especies de *Lactobacillus* se han empleado para la conservación de alimentos a través de la fermentación en matrices ricas en carbohidratos (Álvarez Obregón, 2015).

Los probióticos se comercializan como suplemento nutricional porque ayudan a aumentar la masa corporal en animales de engorde, y la producción de leche. Además, actúan como antibióticos en la prevención de infecciones bacterianas; son catalizadores del procesamiento de desechos y la generación de abonos orgánicos que mejoran las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo, funcionalidad que tiene como objetivo mitigar la contaminación ambiental y los costos de producción (Álvarez Obregón, 2015).

1.2.2. Prebióticos

Los prebióticos son sustratos no digeribles que estimulan selectivamente el crecimiento y/o la actividad de un número limitado de especies microbianas establecidas en el intestino, fomentando su desarrollo favorable, y equilibrando los efectos saludables en el huésped, al modular la microbiota intestinal (Mariño García et al., 2016).

Estos efectos se atribuyen a la estimulación de grupos comensales beneficiosos de *Bifidobacterium* spp., y *Lactobacillus* spp., entre otros; y la producción de sus metabolitos (Sabater et al., 2021) como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC): propionato; acetato; butirato, que reducen el pH intestinal, atenúan la microbiota patobionte y favorecen la colonización de los microorganismos probióticos.

El propionato se centra en reducir la síntesis de colesterol y la deposición de tejido adiposo, disminuyendo el apetito y la obesidad (Mariño García et al., 2016); el acetato incrementa la producción de ATP, por medio del ciclo del ácido cítrico, lo que ocasiona un aumento en la capacidad de fermentación; y el butirato es reconocido como un nutriente fundamental para la ejecución de la actividad metabólica y el crecimiento de las células epiteliales del colon, protegiendo éste último frente a cualquier alteración (Shah et al., 2020).

La microbiota intestinal descompone glicanos o polisacáridos que no pueden ser metabolizados de otro modo. Sin embargo, las especies microbianas difieren en sus preferencias de glicanos, y esa selectividad influye en su proliferación en el tracto gastrointestinal. En el caso de los oligosacáridos no digeribles, clasificados como prebióticos, se ha demostrado que estimulan el crecimiento de bifidobacterias endógenas (Deloule et al., 2020).

Dentro de los sustratos no digeribles se encuentran algunos oligosacáridos emergentes como la inulina, fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS), y la lactulosa; calificados como prebióticos. Cuentan con una serie de cualidades, incluida su fermentación selectiva por parte de las bacterias beneficiosas de la microbiota intestinal; estimulación de efectos fisiológicos benéficos; resistencia a la acidez gástrica y a la hidrólisis enzimática; y no absorción en el intestino delgado. (Mariño García et al., 2016).

▪ Polifenoles

Los polifenoles son una clase diversa de metabolitos secundarios vegetales, constituidos por un anillo aromático y al menos un grupo hidroxilo; desde monómeros hasta polímeros de alto peso molecular. Se clasifican en dos grandes grupos: flavonoides, como las antocianinas, catequina, epicatequina, quercetina, entre otros; y no flavonoides, como los ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos. Por su estructura química, solo una pequeña parte se absorbe, y la porción restante llega intacta al colon, donde impacta a la microbiota residente, generando efectos potencialmente prebióticos al estimular selectivamente a bacterias beneficiosas; y ejerciendo efectos antimicrobianos porque inhiben el desarrollo de especies patógenas o patobiontes asociadas a desordenes metabólicos, protegiendo el epitelio intestinal y restaurando la homeostasis (Rodríguez-Daza et al., 2021).

Particularmente, los polifenoles favorecen especies bacterianas como *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Faecalibacterium prausnitzii*, y en general, los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, originando cambios ecológicos bacterianos, y favoreciendo las relaciones sintróficas. Las bacterias productoras de enzimas asociadas a polifenoles permiten la transformación de estos en metabolitos fenólicos bioactivos, que se transportan a los órganos y pueden absorberse libremente, brindando beneficios al huésped. Por lo anterior, los alimentos ricos en polifenoles permiten atenuar enfermedades inflamatorias; aumentar la producción de moco intestinal en el huésped; inducir la secreción de péptidos antimicrobianos e inmunoglobulinas intestinales; y modular ácidos biliares hepáticos (Rodríguez-Daza et al., 2021).

▪ Hemicelulosa

La hemicelulosa es un heteropolisacárido que se compone de cadenas largas formadas por una serie de carbohidratos como pentosas: xilosa y arabinosa; hexosas: manosa, glucosa y galactosa; y ácidos urónicos: ácido galacturónico y glucurónico, que al ser despolimerizados dan lugar a carbohidratos, azúcares y oligómeros de menor peso molecular (Rodrigues Reis et al., 2023).

Es fácilmente hidrolizable, debido a que no presenta estructura cristalina, y su solubilidad depende de la temperatura, pH y contenido de humedad (Loja Sánchez, 2017). Es reconocida como una fuente importante de xilooligosacáridos (XOS), que ejercen un efecto prebiótico e inmunoestimulante, con propiedades antiinflamatorias y antiinfecciosas (Pérez-Pérez et al., 2023). En la hemicelulosa, el xilano después de la hidrólisis controlada produce los XOS, que ejercen su efecto prebiótico al ser fermentados por la microbiota del intestino, produciendo los AGCC, asociados al equilibrio de la salud intestinal, actividad antioxidante, antitumoral, de control metabólico e inmunomodulación (Banerjee et al., 2017), tal como se mencionó previamente.

La extracción es la etapa más relevante en la obtención de los polisacáridos bioactivos presentes en las frutas; los métodos utilizados deben ser rápidos, no destructivos y cuantificables, razón por la cual, en la actualidad se emplean en mayor medida tecnologías como la extracción con agua caliente, alcalina o ácida, con ultrasonidos, microondas, enzimas, aguas subcríticas, y de ultra presión (Mohan et al., 2020). El proceso de selección del método más eficaz o idóneo para llevar a cabo el tratamiento, depende más de la evaluación del consumo energético y los costos del proceso, como también, de la generación de efluentes y el impacto ambiental asociado (Rodrigues Reis et al., 2023).

Una de las técnicas más reportadas en la literatura para el aprovechamiento agroindustrial de diversos residuos constituidos principalmente por biomasa lignocelulósica: hemicelulosa, celulosa y lignina, es el tratamiento con ácido diluido (Ramírez Amador et al., 2012). Con este último, aunque la lignina obtiene una modificación estructural, se solubiliza de manera eficiente la hemicelulosa, y la celulosa se ve afectada en menor proporción (Rodrigues Reis et al., 2023). Por ejemplo, el ácido sulfúrico en concentraciones que varían entre el 2 y 6% v/v, y rangos de temperatura entre 100 y 128°C, se cataloga como un extractante muy potente para llevar a cabo el procedimiento (Ramírez Amador et al., 2012).

1.3. Modelo central compuesto

La metodología de superficie de respuesta es una herramienta matemática y estadística que permite estudiar la relación de diversas variables de entrada, simultáneamente, sobre una respuesta de salida. Se ha utilizado ampliamente en la optimización de varios estudios acerca de compuestos bioactivos, debido a su capacidad de modelar factores de entrada para generar respuestas, como también, para analizar las interacciones entre los factores, y determinar la región óptima del nivel de estos. Dentro de los diseños más comúnmente seleccionados en la metodología de superficie de respuesta, se encuentran el modelo central compuesto y el diseño Box Behnken; el primero, conformado por una parte cúbica que es factorial y permite la determinación de los efectos principales y de interacción, y un diseño de estrella para cuantificar los efectos principales y cuadráticos; y el segundo, compuesto por diseños rotados de menor dimensión, y diseños globulares de tres niveles (Yoong Cheek et al., 2012).

2. Metodología

2.1. Obtención de la muestra

El acopio de las muestras del fruto de mangostino (*Garcinia mangostana*) se realizó en la finca ubicada en la vereda el Porvenir, del municipio de San Sebastián de Mariquita en el departamento del Tolima. La finca cuenta con 1012 árboles en producción, y el terreno es propiedad de la empresa familiar Mangostinera Villa García. Se solicitó al proveedor, previo acuerdo, escoger 10 kg de frutas en condiciones óptimas de maduración, y enviarlas directamente a la terminal de transportes de la ciudad de Medellín, donde fueron recogidas y trasladadas hacia el Laboratorio de Frutas y Hortalizas, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, para su posterior acondicionamiento.

2.2. Preparación de harina de cáscara de mangostino

El acondicionamiento de la fruta se realizó con base al procedimiento planteado por Machado Pinzón (2018), y Orozco Moreno (2019), con las siguientes modificaciones. La fruta completa se sometió a un proceso de limpieza y desinfección con hipoclorito de sodio (50 ppm), se extrajo la pulpa con semilla y se almacenó a 4°C, para realizar una fermentación posterior. Por otro lado, la cáscara se cortó en trozos de 5mm y se deshidrató por convección forzada a 50°C durante 24 h, en un horno secador de bandejas de aire caliente (modelo UF750, Memmert), para evitar la degradación de los compuestos bioactivos.

El producto deshidratado se pulverizó a 0.1 mm en un molino de martillos (modelo V-MOLM) y se llevó a la tamizadora eléctrica (SIEMENS) en 5 tamices de 1192 μm , 600 μm , 250 μm , 180 μm y 150 μm , acorde al manual de procesamiento de alimentos, del Laboratorio de Frutas y Hortalizas de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Finalmente, se empacaron y almacenaron las harinas de los diferentes tamaños hasta su posterior estudio.

2.3. Caracterización bromatológica de la harina

Para la determinación del material lignocelulósico se efectuaron los siguientes análisis: lignina soluble, por el método propuesto por la NREL; lignina insoluble, bajo la norma TAPPI 222 om-02; celulosa y hemicelulosa, bajo la norma NREL/ TP-510-42618 (Sluiter et al., 2012); extractivos liposolubles, por medio de extracción con acetona; extractivos hidrosolubles, por el método de sumersión en punto de ebullición; humedad y cenizas, por el método gravimétrico por calcinación completa a 550°C.

De igual manera, se realizó la identificación y cuantificación de compuestos bioactivos (α -mangostina, catequina, epicatequina, quercetina, ácido p-cumarico y manguiferina) y los ácidos orgánicos (ácido cítrico, láctico, propiónico y acético), por cromatografía líquida de alta definición (HPLC, Shimadzu, Prominence LC-20AT), con detector de diodos (PDA, SPD 20AT). Para los compuestos bioactivos la separación se realizó en una columna C-18 Zorbax Eclipse Plus Agilent (5 μ , 150x4.6mm) y se utilizó una pre-columna Zorbax NH₂ 4-Pack (5 μ , 12.5x4.6mm).

Con lo anterior, el contenido de α -mangostina se determinó bajo las siguientes condiciones: horno a 30°C; volumen de inyección de 20 μL ; y velocidad de flujo de 1 mL/min. La fase móvil la constituyó agua acidulada a 0.05% H₃PO₄ (A) y acetonitrilo (B), siguiendo el gradiente: 0-70% B (15 min), 70-75% B (3 min), 75-80% B (1 min), 80% B (6 min), 80-70% B (1 min) y 70% B (4 min). La medición espectral se efectuó a 243 nm, en un tiempo de retención de 23.37 min.

En los demás compuestos bioactivos las condiciones fueron: horno a 25°C; volumen de inyección de 10 µL; y velocidad de flujo de 0.8 mL/min. La fase móvil la conformó agua acidulada a 0.1% ácido fórmico (A) y metanol (B), siguiendo el gradiente: 0-10% B (1 min), 25% B (8 min), 25% B (16 min), 45% B (25 min), 45% B (28 min), 80% B (45 min), 10% B (50 min), y 0% B (53 min). Las mediciones espectrales fueron: 254 nm para quercetina; 257 nm para manguiferina; 278 nm para catequina y epicatequina; y 310 nm para ácido p-cumárico, con tiempos de retención de 39.39; 25.13; 14.90; 20.68; y 26.25 min, respectivamente.

Para los ácidos orgánicos la separación se llevó a cabo en una columna AMINEX HPX-87H (300x7.8mm; 9µm), y se utilizó una pre-columna Bio-Rad cation H⁺ (30x4.6 mm). El horno operó a 355°C, el volumen de inyección fue 20 µL, y la velocidad de flujo fue de 0.6 mL/min, en modo isocrático. La fase móvil la conformó agua acidulada 5 mM con ácido sulfúrico. Las mediciones espectrales se realizaron a 210 nm, con los siguientes tiempos de retención: 7.81 para el ácido cítrico; 12.45 para el ácido láctico; 14.70 para el ácido acético; y 17.20 para el ácido propiónico.

También se calculó el índice de solubilidad en agua y se determinó la capacidad antioxidante, por el método espectrofotométrico de contenido de antioxidante por evaluación de radical ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)) y DPPH (2,2-di(4-tert-octilfenil)-1-picrilhidrazilo). Para determinar antioxidantes y compuestos bioactivos, los extractos se obtuvieron de la siguiente manera: harina de cáscara de mangostino y etanol al 96% v/v, en una relación 1:10, se agitó la mezcla durante 1 h a 230 rpm, y se percoló 24 h, para finalmente centrifugar durante 15 min a 6000 rpm y tomar el sobrenadante. Para la determinación de los ácidos orgánicos, los extractos se obtuvieron mezclando el medio de cultivo posterior a la inoculación con los probióticos (sección 3.4.1) con agua destilada en una relación 5:30, siguiendo el proceso anterior.

2.4. Extracción de hemicelulosa

Se realizó la extracción con base en Ramírez Amador (2012), con las siguientes modificaciones. En un Erlenmeyer se tomaron 10 g de la harina con el tamaño de partícula de 150 μm , y se adicionó ácido sulfúrico al 6.19 % p/v en una relación 1:10; la mezcla se incubó a 98°C durante 2 h y 10 min; se filtró en papel de filtro (whatman) cuantitativo banda negra; se añadió etanol al 96% v/v, en una relación 1:2, y se percoló durante 24 h. Posteriormente, se filtró nuevamente la mezcla en papel de filtro (whatman), cuantitativo banda azul; el material retenido se secó a temperatura ambiente, y se almacenó hasta su posterior estudio.

2.5. Potencial prebiótico *in vitro*

2.5.1. Bacterias y condiciones de cultivo

Las cepas comerciales BAL: *Lactiplantibacillus plantarum* Lp-115400 B, *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis*, y *Lactocaseibacillus paracasei* LPC-37400 B; se activaron en caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS, Merck, Alemania) e incubaron a 37°C y 5% CO₂, durante 24 h en condiciones de anaerobiosis (Thermo Fisher Scientific, USA). Se confirmó la pureza de cada cepa, replicándolas en agar MRS bajo las mismas condiciones de cultivo (Alves-Santos et al., 2023).

Escherichia coli ATCC 8739 se activó en caldo Brain Heart Infusion (BHI, Merck, Alemania) a 37°C durante 20 h en condiciones de aerobiosis. Se confirmó su pureza en agar Eosina azul de metileno (EMB, Merck, Alemania) bajo las mismas condiciones de cultivo (Alves-Santos et al., 2023).

2.5.2. Preparación de los medios de cultivo

El medio comercial MRS (Merck, Alemania) está constituido por triptona (10g/L), extracto de carne (8 g/L), extracto de levadura (4 g/L), hidrógeno fosfato dipotásico (2 g/L), tween 80 (1 g/L), acetato de sodio (5 g/L), citrato de amonio tribásico (2 g/L), sulfato de magnesio (0.2 g/L), sulfato de manganeso (0.04 g/L), fuente de carbono (glucosa, 20 g/L).

Con base en Alves-Santos (2023), y teniendo en cuenta la formulación anterior del caldo MRS, se prepararon cuatro medios basales modificando la fuente de carbono de la siguiente manera: medio de cultivo MRSG⁺ (con glucosa, control), medio de cultivo MRSG⁻I⁺ (sin glucosa, con inulina, prebiótico estándar de control), medio de cultivo MRSG⁻H⁺ (sin glucosa, con hemicelulosa extraída de la harina de cáscara de mangostino) y medio de cultivo MRSG⁻C⁺ (sin glucosa, con harina completa de la cáscara de mangostino).

Por otro lado, se utilizó el caldo M9 constituido por fosfato de sodio dibásico heptahidratado (25.6 g/L), fosfato monopotásico (6 g/L), cloruro de sodio (1 g/L), cloruro de amonio (2 g/L), y fuente de carbono (glucosa, 20 g/L); para evaluar el crecimiento de *E. coli* ATCC 8739, empleando las modificaciones descritas en el párrafo anterior (Alves-Santos et al., 2023).

2.5.3. Recuento de células viables

Las cepas BAL de estudio fueron inoculadas (2% v/v, 1×10^8 UFC/mL, DO=620 nm), de acuerdo con el patrón de McFarland en solución salina (8.5 g/L), en los respectivos medios de cultivo. Las mezclas se homogeneizaron e incubaron a 37°C y 5% CO₂, durante 48 h en condiciones de anaerobiosis. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas (100 µL, hasta 10⁻⁶) en solución salina estéril (8.5 g/L) de los diferentes cultivos bacterianos, y se inocularon 20 µL de cada dilución, en agar MRS, por el método de agotamiento en superficie. Los cultivos se incubaron bajo las mismas condiciones descritas anteriormente (Alves-Santos et al., 2023).

De igual manera, la cepa de *E. coli* se inoculó (2% v/v, 1×10^8 UFC/mL, DO=620 nm), de acuerdo con el patrón de McFarland en solución salina (8.5 g/L), en los respectivos medios de cultivo. Las mezclas se homogeneizaron e incubaron a 37°C, durante 48 h, en condiciones de aerobiosis. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas (100 µL, hasta 10^{-6}) en solución salina estéril (8.5 g/L), y se inocularon 20 µL de cada dilución, en agar EMB, por el método de agotamiento en superficie. Los cultivos se incubaron a 37°C durante 24 h en condiciones de aerobiosis (Alves-Santos et al., 2023).

2.5.4. Puntaje de actividad prebiótica

La puntuación de actividad prebiótica se estimó con base en la ecuación propuesta por Huebner, Wehling y Hutkins (2007) (Alves-Santos et al., 2023), teniendo en cuenta, tanto el crecimiento de cada probiótico, como el de la cepa de *E. coli*, durante la fermentación *in vitro*, como se aprecia en las ecuaciones 2.1 y 2.2.

$$Puntaje\ de\ actividad\ prebiótica = Probiótico \left[\frac{\frac{\Delta \log UFC}{ml} \text{ prebiótico}}{\frac{\Delta \log UFC}{ml} \text{ glucosa}} \right] - Cepa\ entérica \quad (2.1)$$

$$\left[\frac{\frac{\Delta \log UFC}{ml} \text{ prebiótico}}{\frac{\Delta \log UFC}{ml} \text{ glucosa}} \right]$$

$$\frac{\Delta \log UFC}{ml} = \left[\frac{\log UFC}{ml} \right]_{t=48} - \left[\frac{\log UFC}{ml} \right]_{t=0}, \quad (2.2)$$

para cada uno de los sustratos

2.6. Optimización *in vitro* del crecimiento

Se seleccionó el microorganismo que presentó mejor crecimiento sobre el medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino (MRSG⁻C⁺), para realizar un proceso de optimización, variando tres factores: temperatura (X1) y tiempo de crecimiento (X2); y concentración de cáscara en el medio (X3).

Se realizó un estudio de selección para determinar los rangos adecuados de las variables de selección (Tabla 2-1), y en el software de Statgraphics Centurion XVI.I, se diseñó el experimento basado en un modelo central compuesto: ortogonal con cinco réplicas del punto central, obteniendo 19 ensayos. Adicionalmente, se aplicaron tres niveles para cada una de las variables independientes.

Tabla 2-1: Factores experimentales en el diseño central compuesto para la optimización del crecimiento de la cepa probiótica en el medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino (MRSG⁻C⁺).

Factor	Bajo (-1)	Medio (0)	Alto (1)
X1: Temperatura (°C)	35	37	39
X2: Tiempo (h)	30	51	72
X3: Concentración harina de cáscara (g/L)	10	20	30

2.7. Análisis estadístico

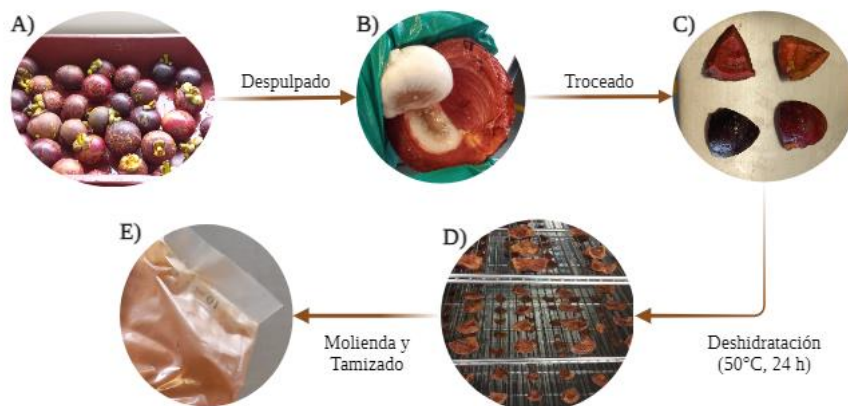
Para los objetivos 1 y 2 se empleó un diseño factorial 4x3 y 3x3, respectivamente, con 3 réplicas, y el análisis estadístico se realizó en el software de R, versión 4.4.0. Los datos se sometieron a un análisis de varianza. Las desviaciones de normalidad de los residuos se evaluaron con la prueba de Shapiro-Wilk, seguido por la prueba de Levene y Tukey. Todas las pruebas se efectuaron bajo un nivel de significancia de 0.01 (valor $p < 0.01$). Adicionalmente, en el método ajustado de Holm se empleó un nivel de significancia de 0.05 ($p < 0.05$). Para el objetivo 3 se utilizó el software de Statgraphics (Centurion XVI.I) en la elaboración y análisis del diseño experimental.

3. Resultados

3.1. Harina de cáscara de mangostino

Se extrajo completamente la pulpa de la fruta (Figura 3-1A, B) y el peso de la cáscara fue de 6.63 kg, con una humedad de 42.73% (Figura 3-1C). Posterior al secado, el peso de la cáscara deshidratada fue de 1.18 kg (Figura 3-1D), obteniendo finalmente 1.04 kg de harina de cáscara después del proceso de molienda y tamizado, con una humedad del 8% (Figura 3-1E), evidenciando el correcto troceado de la cáscara, que permitió un secado idóneo.

Figura 3-1: Preparación de la muestra. (A) Limpieza y desinfección del mangostino. (B) Despulpado. (C) Troceado de 5mm de la cáscara para llevar a deshidratar. (D) Disposición de los trozos de cáscara en el horno secador de bandejas de aire caliente (modelo UF750, Memmert). (E) Harina de cáscara de mangostino con tamaño de partícula de 150 μm , posterior al proceso de molienda y tamizado.



3.2. Caracterización química de la harina de cáscara de mangostino

En la determinación de la biomasa lignocelulósica presente en la harina de cáscara de mangostino, se evidenció alto contenido de lignina insoluble, seguido de celulosa y hemicelulosa; y bajo contenido de humedad, cenizas y lignina soluble (Tabla 3-1).

Tabla 3-1: Caracterización lignocelulósica de la harina de cáscara de mangostino.

Harina de cáscara de mangostino	
Humedad (%)	7.97
Liposolubles (%)	18.20
Hidrosolubles (%)	16.62
Lignina soluble (%)	0.009
Lignina insoluble (%)	51.48
Celulosa (%)	28.23
Hemicelulosa (%)	13.01
Cenizas (%)	2.02

Los valores de capacidad antioxidante (Tabla 3-2), reflejaron en la cáscara de mangostino, su potencial para prevenir la oxidación a través de sus compuestos bioactivos, como por ejemplo la epicatequina, que se presentó en mayor concentración, seguido de α -mangostina (Tabla 3-3).

Tabla 3-2: Capacidad antioxidante de la harina de cáscara de mangostino.

Método	$\mu\text{mol (eq-T)}^1/\text{L extracto}$	$\text{g (eq-T)}^1/100 \text{ g muestra seca}$
DPPH	762.50	20.74
ABTS	937.54	25.50

¹eq-T: Equivalente Trolox

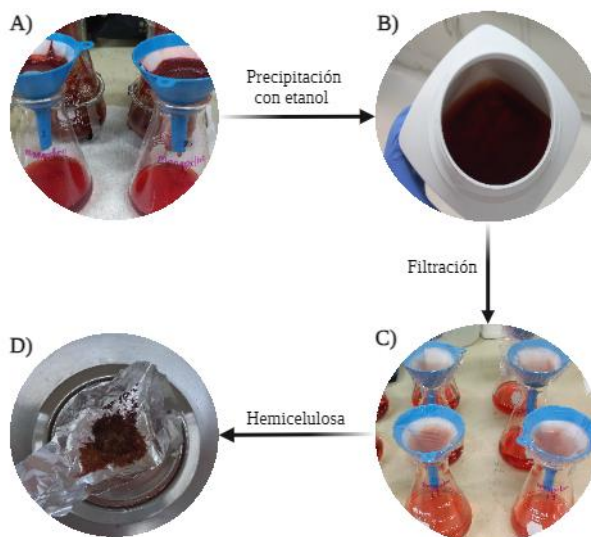
Tabla 3-3: Compuestos bioactivos presentes en la harina de cáscara de mangostino.

Componente	mg/L extracto	mg/g muestra seca
α -mangostina	73.26	79.64
Catequina	72.67	78.96
Epicatequina	530.37	576.30
Quercetina	16.31	17.72
Ácido p-cumarico	13.39	14.55
Manguiferina	0.37	0.40

3.3. Hemicelulosa de la cáscara de mangostino

Los rendimientos de extracción fueron del 3% aproximadamente (Figura 3-2). Se consideró un rendimiento bajo puesto que el análisis bromatológico reportó 13% de hemicelulosa presente en la harina de cáscara de mangostino.

Figura 3-2: Método ácido de extracción de hemicelulosa. (A) Primera filtración posterior a la hidrólisis. (B) Precipitación de la hemicelulosa en presencia de etanol, posterior a la percolación. (C) Segunda filtración, hemicelulosa retenida en el papel de filtro. (D) hemicelulosa obtenida después del secado de la muestra.

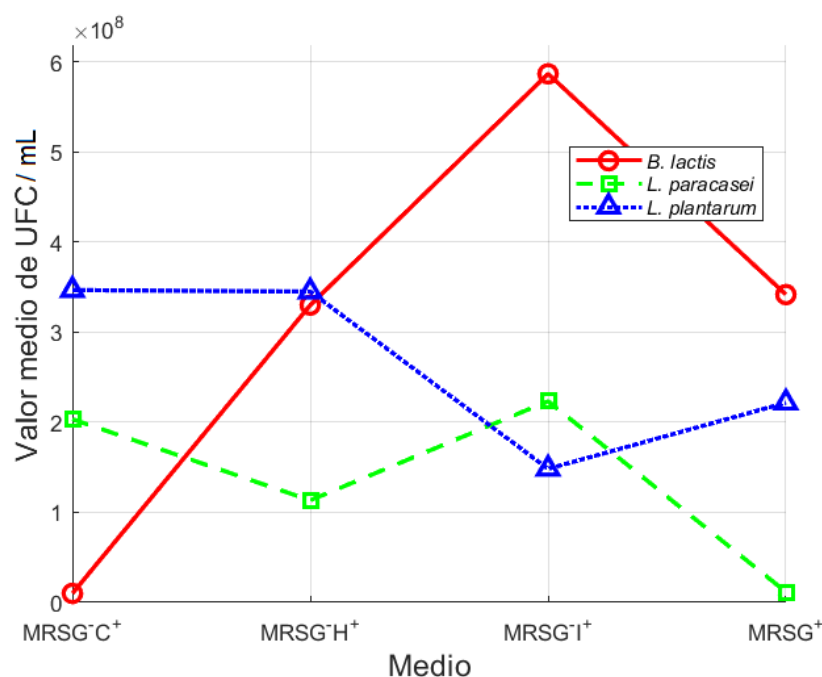


3.4. Potencial prebiótico *in vitro*

3.4.1. Crecimiento de las BAL en los medios de cultivo con cáscara de mangostino y hemicelulosa

Con la prueba de Shapiro-Wilk no se detectaron desviaciones severas del supuesto de normalidad. Tampoco se detectaron desviaciones severas del supuesto de homocedasticidad evaluado con el test de Levene, ni desviaciones del supuesto de aditividad con la prueba de Tukey (valor $p > 0.01$). El análisis de varianza arrojó interacciones significativas entre los medios de cultivo y las BAL probióticas, por lo cual se elaboró el gráfico de interacciones (Figura 3-3), y se evaluaron los efectos simples de medios de cultivo en microorganismos y viceversa, con el método ajustado de Holm.

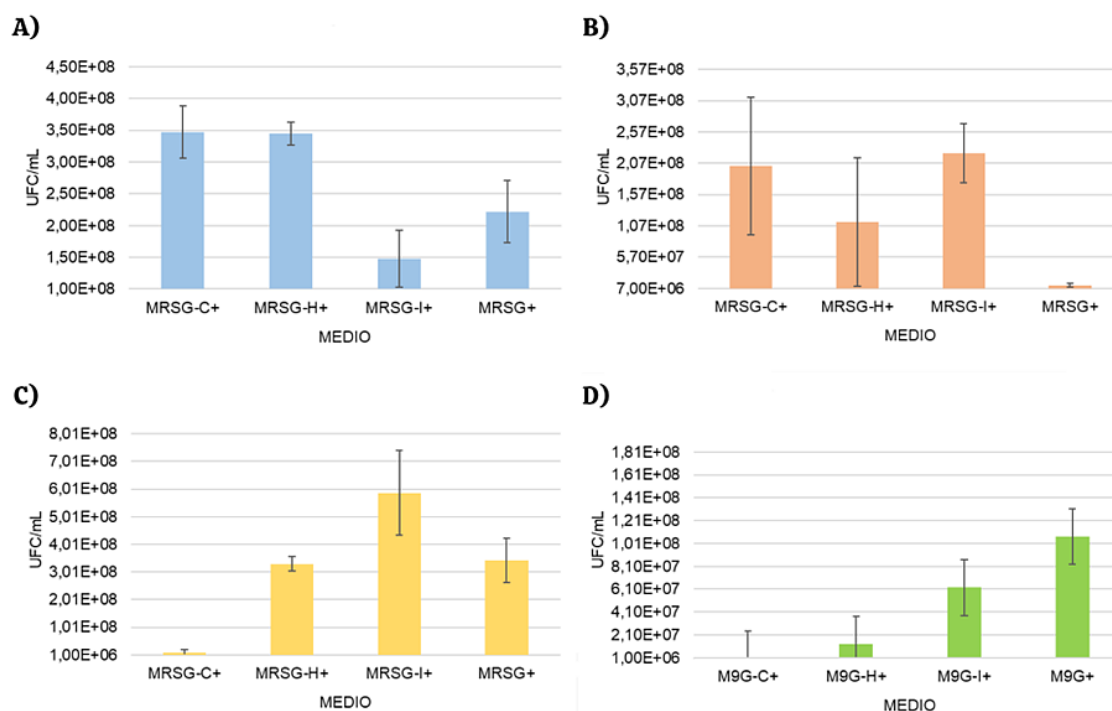
Figura 3-3: Interacción entre los medios de cultivo y las cepas probióticas evaluadas, en la determinación del crecimiento (UFC/mL).



MRSG⁻C⁺: medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino; MRSG⁻H⁺: medio de cultivo elaborado con hemicelulosa extraída de la cáscara; MRSG⁻I⁺: medio de cultivo elaborado con inulina (control); MRSG⁺: medio de cultivo con glucosa (control).

En todas las pruebas, los recuentos viables (UFC) de *L. plantarum* en el medio con cáscara (MRSG-C⁺) fueron muy similares al medio con hemicelulosa (MRSG-H⁺) ($p > 0.05$), y superaron a los recuentos en los medios de cultivo comerciales con inulina (MRSG-I⁺) y glucosa (MRSG⁺) ($p < 0.05$) (Figura 3-4A). De igual manera, los recuentos viables de *L. paracasei* en el medio de cultivo con cáscara (MRSG-C⁺) fueron superiores a los recuentos en los medios con hemicelulosa (MRSG-H⁺) y glucosa (MRSG⁺) ($p < 0.05$). No obstante, fueron muy similares a los recuentos en el medio con inulina (MRSG-I⁺) ($p > 0.05$) (Figura 3-4B). Sin embargo, el medio con cáscara (MRSG-C⁺) no estimuló el crecimiento de *B. lactis* en ninguno de los ensayos (Figura 3-4C), contrario a los medios de cultivo con hemicelulosa (MRSG-H⁺), inulina (MRSG-I⁺) y glucosa (MRSG⁺), que, si favorecieron su crecimiento, siendo superior en inulina que en hemicelulosa ($p < 0.05$).

Figura 3-4: Recuentos viables (UFC/mL) de las cepas probióticas y el microorganismo patógeno, en los medios de cultivo. (A) Crecimiento de *L. plantarum*. (B) Crecimiento de *L. paracasei*. (C) Crecimiento de *B. lactis*. (D) Crecimiento de *E. coli*.

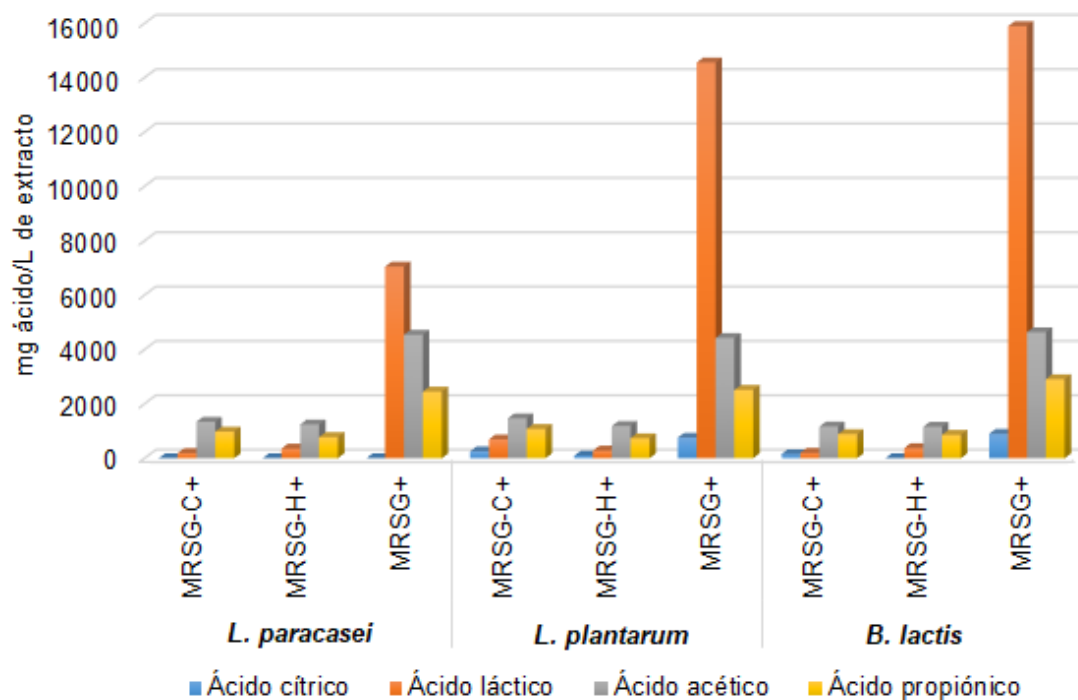


MRSG-C⁺: medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino; MRSG-H⁺: medio de cultivo elaborado con hemicelulosa extraída de la cáscara; MRSG-I⁺: medio de cultivo elaborado con inulina (control); MRSG⁺: medio de cultivo con glucosa (control). La nomenclatura M9 reemplaza a MRS en los medios de cultivo elaborados para el crecimiento de *E. coli*, preparados bajo las mismas condiciones.

3.4.2. Ácidos Orgánicos obtenidos posterior a la inoculación

Los ácidos orgánicos que se generaron durante el metabolismo de los carbohidratos por parte de las BAL fueron principalmente el ácido láctico, seguido del ácido acético y propiónico (Figura 3-5). El ácido láctico se produjo en mayor proporción para los medios de cultivo control con glucosa (MRSG⁺) fermentados con las tres BAL. Sin embargo, para los medios con cáscara (MRSG^{-C+}) y hemicelulosa (MRSG^{-H+}) fermentados con los tres microorganismos, se produjo en mayor proporción el ácido acético, siendo superior en el metabolismo del medio de cultivo con cáscara por *L. plantarum*.

Figura 3-5: Obtención de los ácidos orgánicos presentes en los extractos, posterior a la fermentación de los medios de cultivo con cáscara (MRSG^{-C+}); hemicelulosa (MRSG^{-H+}); y glucosa (MRSG⁺, control), con las cepas probióticas.



De igual manera, las tres BAL probióticas generaron mayor cantidad de ácido propiónico al fermentar el medio de cultivo control con glucosa (MRSG⁺), seguido del medio elaborado con cáscara (MRSG^{-C+}).

No se produjo ácido cítrico en la fermentación de los dos medios con *L. paracasei*, y aunque en la fermentación de la cáscara (MRSG⁻C⁺) y el medio control (MRSG⁺) con *B. lactis* si se generó ácido cítrico, no se obtuvo en la fermentación con hemicelulosa. Sin embargo, las fermentaciones de los tres medios de cultivo con *L. plantarum* fueron las únicas donde se produjo este ácido.

3.4.3. Actividad prebiótica de los medios de cultivo

Todos los valores de actividad prebiótica fueron positivos para los cultivos bacterianos que fermentaron la cáscara, la hemicelulosa, y la inulina (Tabla 3-4). Es decir, el crecimiento de los probióticos fue mucho mayor que el de *E. coli* en todos los medios de cultivo. El valor más alto de actividad prebiótica se presentó en el medio con cáscara (MRSG⁻C⁺) fermentado con *L. plantarum* (80.06 ± 0.78). Con la prueba de Shapiro-Wilk no se detectaron desviaciones severas del supuesto de normalidad. Tampoco se detectaron desviaciones severas del supuesto de homocedasticidad evaluado con el test de Levene, ni desviaciones del supuesto de aditividad con la prueba de Tukey (valor p>0.01).

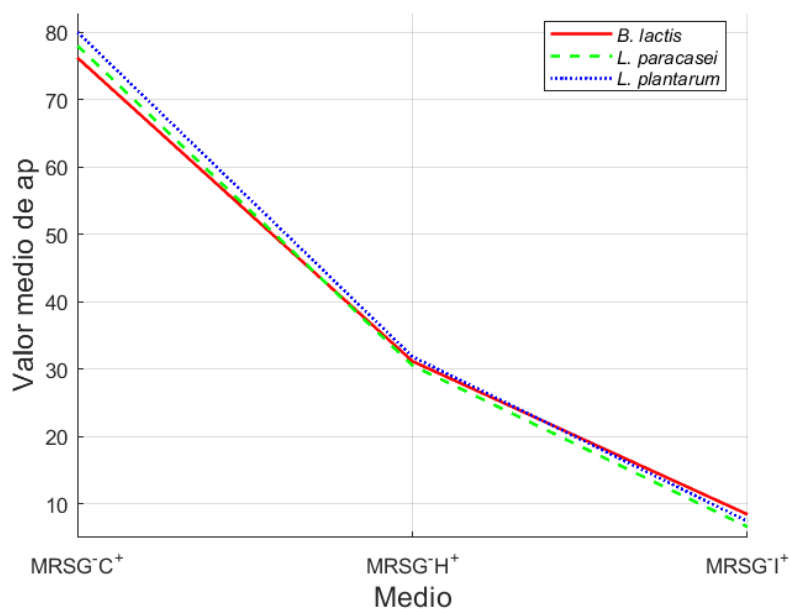
Tabla 3-4: Puntaje de actividad prebiótica de los medios de cultivo vs las cepas probióticas.

Medio	Microorganismo	Puntaje actividad prebiótica
MRSG ⁻ C ⁺	<i>L. paracasei</i>	78.03 ± 0.21
	<i>L. plantarum</i>	80.06 ± 0.78
	<i>B. lactis</i>	76.25 ± 0.37
MRSG ⁻ H ⁺	<i>L. paracasei</i>	30.54 ± 1.04
	<i>L. plantarum</i>	31.86 ± 0.56
	<i>B. lactis</i>	31.18 ± 0.28
MRSG ⁻ I ⁺	<i>L. paracasei</i>	6.59 ± 0.07
	<i>L. plantarum</i>	7.41 ± 0.28
	<i>B. lactis</i>	8.44 ± 0.46

MRSG⁻C⁺: medio elaborado con cáscara de mangostino; MRSG⁻H⁺: medio elaborado con hemicelulosa extraída de la cáscara; MRSG⁻I⁺: medio elaborado con inulina (probiótico estándar). No se emplea el medio de cultivo control MRSG⁺ porque fue el medio de referencia utilizado para calcular el puntaje de actividad prebiótica (ap).

El análisis de varianza arrojó interacciones significativas entre los medios de cultivo y las BAL probióticas (Figura 3-6), por lo tanto, se evaluaron los efectos simples de los medios de cultivo en las BAL y viceversa, con el método ajustado de Holm. Sin embargo, como el gráfico de microorganismo en medio (Figura 3-7) no evidenció interacción, se evaluaron los efectos principales de medios de cultivo.

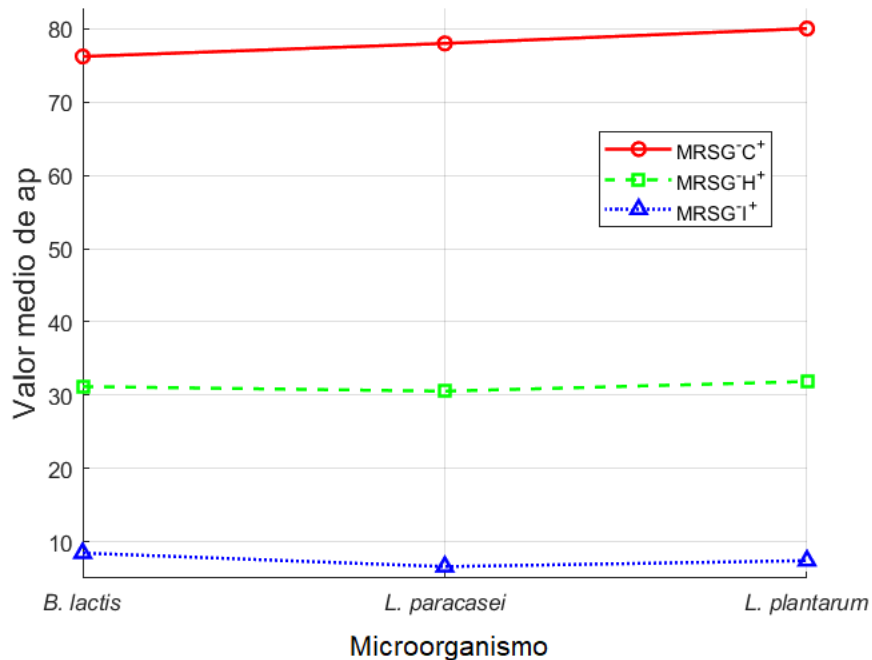
Figura 3-6: Interacción entre los medios de cultivo y las cepas probióticas, en la evaluación de la actividad prebiótica (ap).



Análisis de varianza (ANOVA) altamente significativo ($p < 0.01$). No se emplea el medio de cultivo control MRSG⁺ porque fue el medio de referencia utilizado para calcular el puntaje de actividad prebiótica (ap).

El medio de cultivo con cáscara (MRSG·C⁺) arrojó un valor mayor de actividad prebiótica en *L. plantarum* y *L. paracasei* en comparación a *B. lactis* ($p < 0.05$); siendo mayor en *L. plantarum* respecto a *L. paracasei* ($p < 0.05$). En el medio con hemicelulosa (MRSG·H⁺), la actividad prebiótica fue mayor con *L. plantarum* respecto a *L. paracasei* ($p < 0.05$); sin embargo, no se puede afirmar que sea superior a *B. lactis* ($p > 0.05$). En el medio con inulina (MRSG·I⁺) fermentado con *B. lactis*, se obtuvieron valores superiores de actividad prebiótica en comparación a *L. paracasei* ($p < 0.05$), pero no a *L. plantarum* ($p > 0.05$), no obstante, no se puede afirmar que exista diferencia significativa entre la actividad prebiótica de *L. plantarum* y *L. paracasei* en este medio.

Figura 3-7: Interacción entre las cepas probióticas y los medios de cultivo, en la evaluación de la actividad prebiótica (ap).



No se emplea el medio de cultivo control MRSG⁺ porque fue el medio de referencia utilizado para calcular el puntaje de actividad prebiótica (ap).

3.5. Crecimiento de *L. plantarum* en el medio de cultivo con cáscara de mangostino

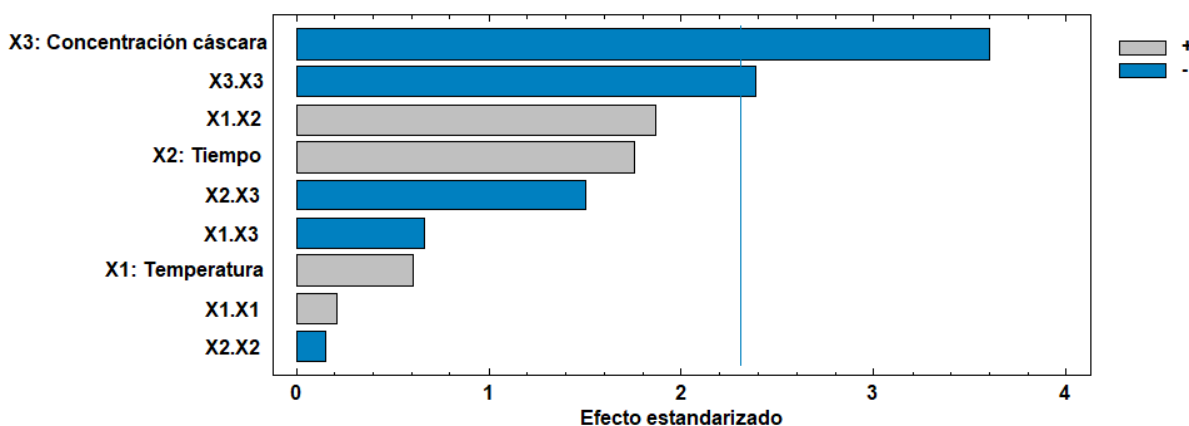
Se optimizó el crecimiento de *L. plantarum* en el medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino (MRSG⁻C⁺), porque el puntaje de actividad prebiótica del medio con cáscara fue superior en la fermentación con *L. plantarum* (Tabla 3-4), respecto a los demás medios y microorganismos.

La ecuación polinómica ajustada de segundo orden (3.1) que explicó el crecimiento de *L. plantarum* en el medio con cáscara de mangostino, empleando el análisis de superficie de respuesta, proporcionó un coeficiente de determinación (R^2) de 78.01%.

El análisis de varianza del modelo arrojó como factor altamente significativo ($p < 0.05$) la concentración de cáscara en el medio, lo cual se evidencia en el diagrama de Pareto (Figura 3-8), donde se aprecia la influencia de cada una de las variables sobre el crecimiento de *L. plantarum*.

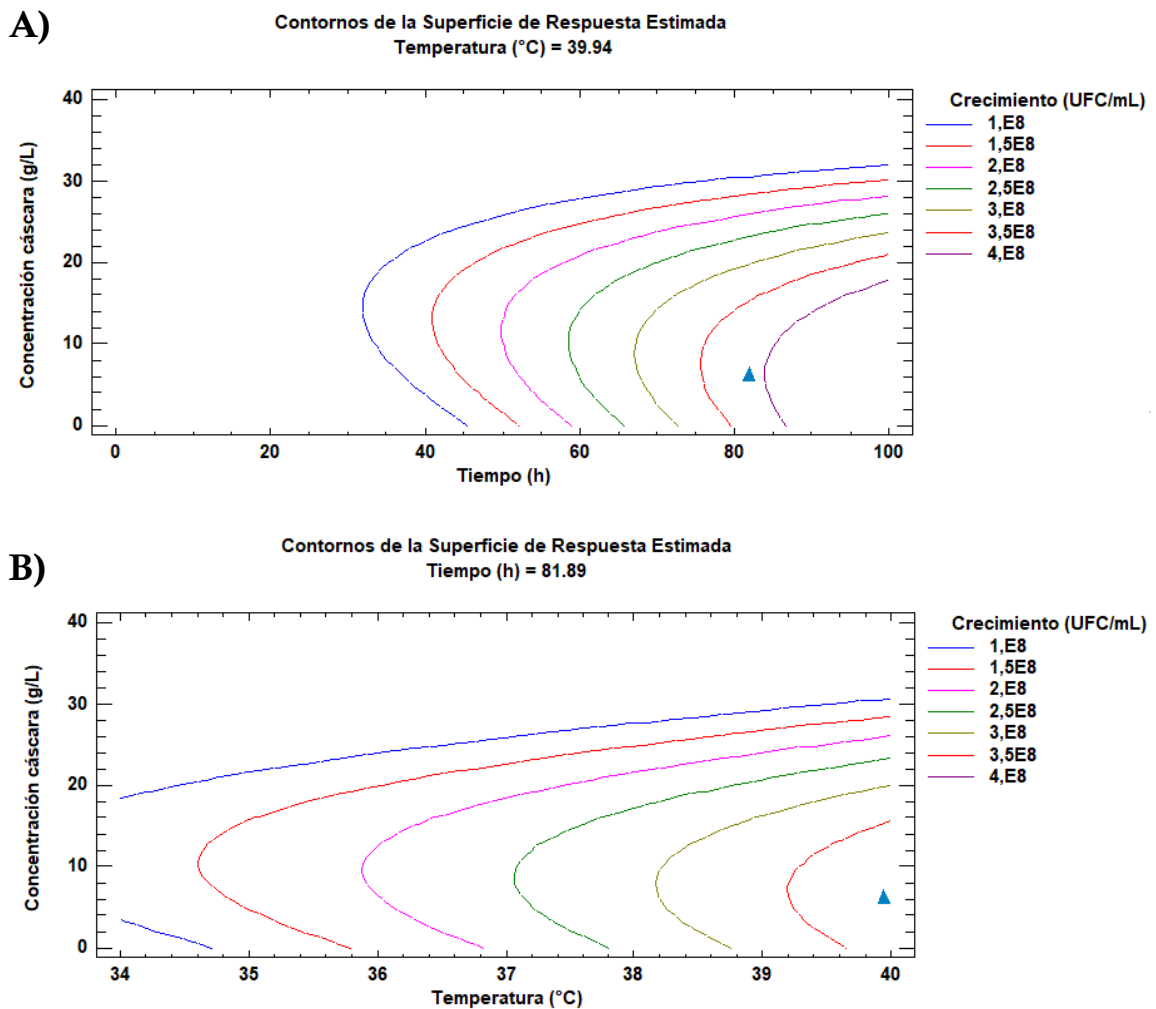
$$\text{Crecimiento} = 2.43 \times 10^9 - 1.11 \times 10^8 X_1 - 3.08 \times 10^7 X_2 + 4.88 \times 10^7 X_3 + 1.10 \times 10^6 X_1^2 \quad (3.1) \\ + 977679 X_1 X_2 - 734384 X_1 X_3 - 7289.21 X_2^2 - 157440 X_2 X_3 - 498788 X_3^2$$

Figura 3-8: Diagrama de Pareto estandarizado, para el crecimiento de *L. plantarum*, según las variables: temperatura (°C); tiempo (h); y concentración de cáscara (g/L) de mangostino en el medio de cultivo.



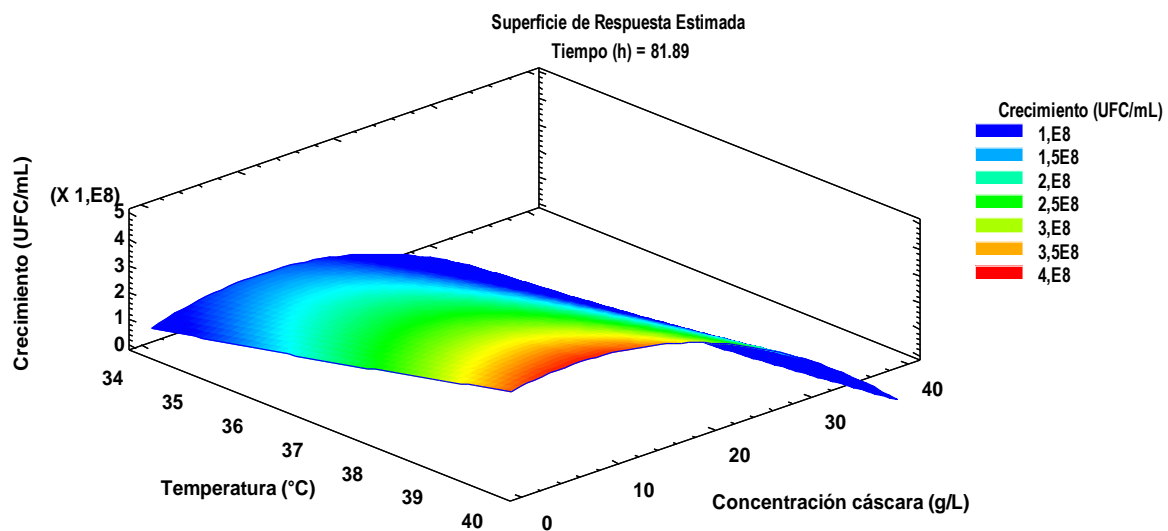
Los gráficos de contorno (Figura 3-9A, B), que corroboran la interacción entre todos los factores, porque las líneas son curvas y no paralelas a los ejes; evidencian que el crecimiento de *L. plantarum* se vio favorecido en la medida que se incrementaron el tiempo y la temperatura, disminuyendo la concentración de cáscara. No obstante, existe un límite óptimo de temperatura y tiempo que favorecen el crecimiento, debido a que se percibe una leve disminución en este último cuando se alcanzan los extremos más altos de temperatura en tiempos prolongados (Figura 3-10). Estos valores de los factores que optimizaron el crecimiento (3.88×10^8 UFC/mL) son: 39.94°C, 81.89 h, y 6.41 g/L para temperatura, tiempo y concentración de cáscara, respectivamente.

Figura 3-9: Gráficos de contorno que evidencian los efectos de los factores experimentales en el crecimiento de *L. plantarum*. (A) relación entre la concentración de cáscara y el tiempo de incubación, para una temperatura de 39.94°C. (B) relación entre la concentración de cáscara y la temperatura de incubación, para un tiempo de 81.89 h.



El símbolo Δ se ubica en las coordenadas de las variables que optimizan el crecimiento de *L. plantarum*: temperatura, 39.94°C; tiempo, 81.89 h; y concentración de cáscara, 6.41 g/L.

Figura 3-10: Superficie de respuesta obtenida con el modelo de segundo orden que describió el crecimiento de *L. plantarum*, según las variables: temperatura de incubación y concentración de cáscara de mangostino en el medio de cultivo, en un tiempo de 81.89 h.



4. Discusión

La capacidad antioxidante refleja las diferencias en la madurez de la fruta y los métodos utilizados, lo mismo que las condiciones de los ensayos; composición de los extractos y solubilidad de los antioxidantes. Los valores de capacidad antioxidante obtenidos: 937.54 $\mu\text{mol eq-T/L}$ extracto, por el método ABTS; y 762.50 $\mu\text{mol eq-T/L}$ extracto, por el método DPPH, fueron superiores al reporte del estudio de producción de vinagre de cáscara de mangostino: 339.3 $\mu\text{mol eq-T/L}$ extracto y 50.9 $\mu\text{mol eq-T/L}$ extracto, para ABTS y DPPH, respectivamente (Suksamran et al., 2022). Sin embargo, no superaron los valores reportados por Machado Pinzón (2018) en el aprovechamiento del epicarpio de mangostino como colorante, con actividad antioxidante de: 583500 $\mu\text{mol eq-T/L}$ extracto, obtenido con el método DPPH, y 735147 $\mu\text{mol eq-T/L}$ extracto, obtenido con el método ABTS; lo cual, puede sustentarse en las diferencias metodológicas de ambos estudios.

Por otra parte, los resultados obtenidos de epicatequina (530.37 mg/L extracto), presente en mayor concentración en la cáscara de mangostino, seguido de α -mangostina (73.26 mg/L extracto), son similares a lo reportado por Suksamran et al., (2022) en la producción de vinagre de cáscara de mangostino, donde el contenido de epicatequina fue mucho mayor respecto a la catequina y α -mangostina. De igual manera, los resultados concuerdan con lo reportado por Machado Pinzón (2018) y Lopera Hurtado & Pérez Franco (2020); la actividad farmacológica del mangostino en extractos etanólicos se debe a α -mangostina, y algunos flavonoides como la epicatequina.

El bajo rendimiento en la extracción de la hemicelulosa presente en la harina de cáscara de mangostino se puede explicar en que, pese a seleccionar un método de extracción ampliamente reportado (Ramírez Amador, 2012), éste no cuenta con la robustez necesaria en la separación y purificación de la hemicelulosa. En este caso, se recomienda combinar distintos métodos de pretratamiento de la muestra, considerando tratamientos alcalinos, aunque impliquen más problemas medioambientales, producto de las corrientes residuales.

Sin embargo, emplear una solución ácida poco concentrada, aunque no garantizó altos porcentajes de conversión, si evitó la degradación de carbohidratos hacia productos no fermentables y tóxicos para los microorganismos, como lo es el hidroximetilfurfural (Loja Sánchez, 2017). Los productos generados a partir de la reacción, no implicaron un efecto inhibitorio sobre las BAL probióticas, sino por el contrario, favorecieron su crecimiento.

Adicionalmente, aunque la hemicelulosa no se sometió a un proceso de purificación, y posiblemente conservó trazas de otros componentes, se asume que la fracción extraída en la presente investigación es mayoritariamente hemicelulosa; bajo las condiciones empleadas para llevar a cabo la hidrólisis, tanto la lignina como la celulosa no reaccionaron. La celulosa está conformada por enlaces fuertes que forman una estructura cristalina que no se hidroliza en tratamientos con ácidos a bajas concentraciones (Ramírez Amador et al., 2012). Adicionalmente, la hemicelulosa forma una capa con la lignina alrededor de la celulosa, la cual debe removerse previo a una hidrólisis de celulosa. Y debido a que los enlaces de la hemicelulosa son más débiles, el tratamiento con ácido sulfúrico en baja concentración fue selectivo hacia ésta (Rodrigues Reis et al., 2023).

En cuanto a la lignina, debido a su estructura química tan compleja, puede degradarse a través de fuertes tratamientos alcalinos, o por medio de microorganismos que tengan dentro de su batería enzimática las peroxidasas. Razón por la cual, se asume que la fracción extraída en la presente investigación es mayoritariamente hemicelulosa, y bajo las condiciones empleadas para llevar a cabo la hidrólisis, la lignina se mantuvo intacta.

De la cuantificación de células viables, se asume que la cáscara de mangostino fue utilizada como fuente de carbono por *L. plantarum* y *L. paracasei* de mejor manera, en comparación a los sustratos comerciales. Y aunque este medio de cultivo con cáscara (MRSG⁻C⁺) no estimuló el crecimiento de *B. lactis*, el medio elaborado con hemicelulosa extraída de la cáscara (MRSG⁻H⁺), si lo hizo, de manera equiparable al crecimiento en el medio de cultivo control con glucosa (MRSG⁺).

Está demostrado que los componentes de las frutas, como sus fibras, pueden metabolizarse como fuente de carbono al estimular el crecimiento *in vitro* de las BAL (Borgonovi et al., 2022). Estos resultados de UFC obtenidas para los probióticos en el medio de cultivo con cáscara de mangostino (MRSG⁻C⁺), se asemejan a los resultados expuestos por Nanasombat et al., (2018) para el crecimiento de *L. acidophilus* sobre caldo MRS suplementado con extracto de cáscara de mangostino, lo cual se atribuye a la acción de sus compuestos activos fenólicos.

Según Borgonovi et al., (2022) los polifenoles presentes en las frutas pueden estimular la población de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en los estudios *in vitro*, y dependiendo de la dosis de estos fitoquímicos, pueden ejercer efectos beneficiosos sobre las BAL, que se detectan en su viabilidad. Al evaluar el efecto prebiótico de oligosacáridos pécticos extraídos de la cáscara de limón, *L. plantarum* IFPL935; *Limosilactobacillus reuteri* DSM17938; *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG; *B. lactis* Bb-12; *Bifidobacterium breve* 26M2, tuvieron la capacidad de fermentar los medios de cultivo (Borgonovi et al., 2022); datos que se equiparan a los resultados obtenidos en el presente estudio.

L. plantarum contiene un repertorio enzimático idóneo para degradar polifenoles y transformarlos en metabolitos bioactivos. Las cepas de *L. plantarum* tienen la capacidad de producir: β -glucosidasas, que permiten aumentar la bioaccesibilidad de compuestos funcionales, a partir del catabolismo de los glucósidos fenólicos u O-glucósidos, transformándolos en azúcares y agliconas: polifenoles de estructura simple que se difunden pasivamente; feruloil esterasas, responsables de hidrolizar los esteres de ácidos

hidroxicinámicos, como el ácido p-cumárico, liberando moléculas bioaccesibles (Rodríguez-Daza et al., 2021).

En el caso de *L. paracasei*, enzimas como α -L-ramnosidasas, transforman glucósidos de ramnosas para liberar agliconas y glucosa (Rodríguez-Daza et al., 2021). Por ejemplo, en la revisión elaborada por Kee et al., (2021); β -mananasa en *L. plantarum* RI11, participó en la bioconversión de residuos lignocelulósicos de paja de arroz. Por lo cual, es posible afirmar que la biomasa lignocelulósica de la cáscara de mangostino, como sustrato, indujo la actividad prebiótica estimulando el crecimiento de las BAL probióticas.

Los resultados de este estudio también coinciden con los reportados por Alves-Santos et al., (2023), donde observaron una disminución del crecimiento de *B. lactis* a las 48 h de fermentación en un medio de cultivo enriquecido con pulpa de barú, confirmando que el microorganismo presenta en menor medida genes asociados al metabolismo de estas fuentes de carbono, ricas en fibras dietéticas insolubles y polifenoles, como lo es la cáscara de mangostino, lo cual dificulta su capacidad para adaptarse a este sustrato. Borgonovi et al., (2022) también reportaron un estudio donde se investigó el crecimiento de *B. lactis* Bb-12 en el medio de cultivo MRS suplementado con el polisacárido purificado de *Crataegus pinnatifida*, y el microorganismo no fue estimulado.

Por otro lado, en un estudio sobre adición de prebióticos en alimentos para pollos de engorde, la inulina estimuló el crecimiento de cepas de *Bifidobacterium* (Leone & Ferrante, 2023). Datos que coinciden con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde el medio de cultivo con inulina (MRSG^{-I+}) estimuló el crecimiento de *B. lactis*. Sin embargo, el medio con hemicelulosa extraída de la cáscara de mangostino (MRSG^{-H+}), aunque no estimuló en igual medida el crecimiento de *B. lactis* como lo hizo el medio con inulina, si evidenció un crecimiento similar al obtenido en el medio con glucosa (MRSG⁺), lo cual se asemeja a los reportes de la revisión elaborada por Sabater et al., (2021), donde los xilooligosacáridos extraídos de la caña de azúcar, estimularon principalmente al género *Bifidobacterium*.

En cuanto a los ácidos orgánicos que se obtuvieron, el ácido láctico se produce a partir de la fermentación de las hexosas (Jurado-Gómez et al., 2014), por lo cual, en el presente estudio, se pudo observar la producción de este ácido en el medio de cultivo control elaborado con glucosa (MRSG⁺), en mayor proporción a los otros dos medios analizados. En el caso del medio de cultivo elaborado con hemicelulosa (MRSG^{-H⁺}), no se produjo ácido láctico de igual manera que en el medio elaborado solo con glucosa, porque la hemicelulosa es un heteropolisacárido compuesto por distintos tipos de monómeros. Del mismo modo ocurrió con el medio de cultivo elaborado con cáscara (MRSG^{-C⁺}), ésta al estar constituida por un heteropolímero aromático y no de hidrato de carbono, pudo inducir la producción de ácido acético en mayor proporción a la del ácido láctico.

La formación de ácido acético se produce por la desacetilación de las cadenas hemicelulósicas (Rodrigues Reis et al., 2023), por ende, en este estudio los valores de ácido acético en el medio de cultivo con hemicelulosa (MRSG^{-H⁺}) y cáscara (MRSG^{-C⁺}) fueron muy superiores respecto a los demás ácidos; la biomasa lignocelulósica contenida en la cáscara de la fruta presentaba estos grupos acetilo que se hidrolizaron. Datos que coinciden con lo reportado por Deloule et al., (2020); una fracción derivada de la hemicelulosa generó un impacto significativo al incrementar la producción de acetato y propionato. Yan et al., (2022) afirman que las preparaciones que contienen xilooligosacáridos, intervienen positivamente sobre bacterias probióticas, demostrando, por ejemplo, la capacidad de estimular a *L. acidophilus*.

En general, estos prebióticos son utilizados por las bacterias comensales: *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., para sus fermentaciones, y a su vez producen ácidos grasos de cadena corta (Leone & Ferrante, 2023), que, al ser ácidos débiles, ocasionan una disminución del pH, obstaculizando el crecimiento de bacterias patógenas como las de la familia enterobacteriaceae debido a su sensibilidad a pH bajos (Shah et al., 2020); lo cual se verifica en el presente estudio, donde el medio con cáscara (MRSG^{-C⁺}) no favoreció el crecimiento de *E. coli*.

Sin embargo, aunque la producción de ácidos orgánicos en el medio de cultivo control (MRSG⁺) fermentado con las tres BAL, fue superior respecto a los medios a evaluar, lo que verifica que la glucosa es necesaria para garantizar mayor producción de acetato y propionato; no garantiza que el crecimiento bacteriano sea superior también. En este estudio se comprobó que existen otros componentes con mayor capacidad de estimulación del crecimiento para los probióticos, que, en el caso de la cáscara del mangostino, se considera son los polifenoles y los xilooligosacáridos.

Los resultados representan el consumo selectivo de los componentes de la cáscara por parte de los probióticos, y el potencial efecto prebiótico que se sugirió como hipótesis de la investigación. Según la revisión de Rodríguez-Daza et al., (2021), en pacientes con síndrome metabólico, los polifenoles del vino tinto estimularon la población de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y al tiempo inhibieron a los productores de lipopolisacáridos, como *E. coli*. También, el extracto de polifenoles del arándano rojo, reguló de manera negativa los genes que codifican proteínas de la membrana externa de *E. coli* O157:H7. Se ha demostrado la poca capacidad de *E. coli* para fermentar las hemicelulosas (Deloule et al., 2020); lo que se corrobora en el presente estudio con el crecimiento nulo del patógeno sobre el medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino (MRSG^{-C+}) y el bajo crecimiento sobre el medio con hemicelulosa, en comparación a los medios control.

En un experimento donde se evaluaron extractos de algunas plantas medicinales sobre bacterias patógenas orales y gastrointestinales, el extracto de la cáscara de mangostino inhibió el crecimiento de *Yersinia enterocolitica* DMST 9380, por la acción de sus compuestos activos (Nanasombat et al., 2018). De igual manera, se ha demostrado que las xantonas presentes en el mangostino, registran actividad bactericida, fungicida y antiviral contra algunos patógenos como *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis* (Orozco Moreno, 2019).

Por otra parte, la variación del 78.01% en el crecimiento de *L. plantarum* sobre el medio de cultivo elaborado con cáscara de mangostino, puede explicarse por las variables temperatura, tiempo y concentración de cáscara. Este porcentaje representa la capacidad de predicción del modelo matemático; y aunque no sea inadecuado, un valor superior puede esperarse, si se evalúan mayor número de variables.

El crecimiento de *L. plantarum* en este medio, fue afectado significativamente por la concentración de cáscara ($p < 0.05$), por encima de las variables: tiempo y temperatura de incubación. El diagrama de pareto evidenció ese efecto negativo significativo de la concentración de cáscara, es decir, a medida que ésta aumenta, se espera una disminución en el crecimiento del microorganismo; contrario a las variables tiempo y temperatura, que al aumentar, favorecen el crecimiento. Lo cual sugiere, que desde que se conserve la concentración óptima de cáscara en el medio de cultivo, el microorganismo debería crecer en un rango de tiempo entre 30 y 72 h; y temperaturas entre 35 y 39°C, según los requerimientos de estudio.

Del mismo modo, los valores óptimos de las variables: temperatura, 39.94°C; tiempo, 81.89 h; y concentración de cáscara, 6.41 g/L; que aseguran mayor crecimiento del microorganismo, solo obedecen a un análisis matemático del modelo. Por ende, se requiere corroborar experimentalmente, porque, aunque la concentración de cáscara sea menor, la temperatura y tiempo de incubación son más altas, en comparación a las condiciones empleadas durante la ejecución de los dos primeros objetivos (sección 2.5.3). Entonces, al trabajar con temperaturas y tiempos de incubación superiores, será mayor el consumo energético de la incubadora, lo cual, no impactaría al medio ambiente de manera positiva.

5. Conclusiones

La composición de la cáscara de mangostino evidenció principalmente la presencia de lignina insoluble, celulosa, hemicelulosa y liposolubles. La epicatequina es el compuesto bioactivo identificado en mayor proporción en la cáscara. Los rendimientos de extracción de la hemicelulosa presente en la cáscara fueron muy bajos.

Los medios de cultivo elaborados con cáscara y hemicelulosa, fermentados con: *L. plantarum*, *L. paracasei* y *B. lactis*, revelaron su potencial prebiótico. Mientras la cáscara favoreció el crecimiento de *L. plantarum* e inhibió a *E. coli*, la hemicelulosa estimuló el crecimiento de *B. lactis*.

El metabolismo de los componentes de la cáscara por las bacterias ácido lácticas, evidenció formación de ácidos orgánicos, principalmente ácido acético (1469.30 mg ácido/L extracto) en la fermentación con *L. plantarum*.

La mayor actividad prebiótica (80.06 ± 0.78) se encontró en el medio de cultivo con cáscara inoculado con *L. plantarum*. Adicionalmente, con la metodología de optimización por superficie de respuesta, en el diseño central compuesto; el crecimiento de *L. plantarum* se favoreció al emplear una concentración de 6.41 g/L de cáscara de mangostino en el medio.

6. Recomendaciones

Es importante caracterizar funcional y estructuralmente los compuestos de la cáscara, por medio de técnicas analíticas, tales como, análisis termogravimétrico (TGA); espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR), con el fin de estimar con exactitud los componentes que estimulan selectivamente los distintos grupos microbianos.

Se recomienda efectuar estudios *in vivo* e *in vitro* para evaluar el crecimiento de los probióticos en los medios de cultivo con cáscara de mangostino, y realizar pruebas de competencia y antagonismo entre los microorganismos. También, incluir ensayos de resistencia a la acidez gástrica, a la hidrólisis por enzimas y absorción gastrointestinal, para confirmar el crecimiento y conservación de las propiedades probióticas de estas bacterias ácido lácticas en los medios de cultivo, y así validar su potencial prebiótico.

7. Bibliografía

- Álvarez Obregón, M. (2015). EVALUACIÓN DE ABONOS ORGÁNICOS A BASE DE PROBIÓTICOS EN ALMÁCIGO DE CAFÉ; ZUNILITO, SUCHITEPÉQUEZ. Obtenido de: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2015/06/14/Alvarez-Mario.pdf> (consultado el 10 de marzo de 2024)
- Alves-Santos, A., Brito Sampaio, K., dos Santos Lima, M., Guedes Coelho, A., Leite de Souza, E., & Veloso Naves, M. (2023). Chemical composition and prebiotic activity of baru (*Dipteryx alata* Vog.) pulp on probiotic strains and human colonic microbiota. *Food Research International*, 164, 112366. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112366>
- Banerjee, J., Singh, R., Vijayaraghavan, R., MacFarlane, D., F. Patti, A., & Arora, A. (2017). Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. *Food Chemistry*, 225, 10-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.093>
- Borgonovi, T., Borghi Virgolin, L., Soares Janzantti, N., Neves Casarotti, S., & Barretto Penna, A. (2022). Fruit bioactive compounds: Effect on lactic acid bacteria and on intestinal microbiota. *Food Research International*, 161, 111809. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111809>
- Deloule, V., Boisset, C., Hannani, D., Suau, A., Le Gouellec, A., Chroboczek, J., . . . Toussaint, B. (2020). Prebiotic role of softwood hemicellulose in healthy mice model. *Journal of Functional Foods*, 64, 103688. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103688>
- Jované Garuz, D. M. (2019). Efecto de un biopreparado de cáscaras de frutas en el crecimiento de *Lactobacillus casei* y evaluación antagónica contra bacterias patógenas. Obtenido de: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/ac1d1e6a-2e00-4ce8-927d-9bdb9e178cb5/content> (consultado el 10 de marzo de 2024)

- Jurado-Gómez, H., Calpa-Yamá, F., & Chaspuengal-Tulcán, A. (2014). Determinación de parámetros cinéticos de *Lactobacillus casei* en dos medios probióticos. *Revista Veterinaria Y Zootecnia (On Line)*, 8(2), 15–35. DOI: 10.17151/vetzo.2014.8.2.2
- Kee, S.H., Chiongson, J.B.V., Saludes, J.P., Vigneswari, S., Ramakrishna, S., & Bhubalan, K. (2021). Bioconversion of agro-industry sourced biowaste into biomaterials via microbial factories – A viable domain of circular economy. *Environmental Pollution*, 271, 116311. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116311>
- Leone, F., & Ferrante, V. (2023). Effects of prebiotics and precision biotics on performance, animal welfare and environmental impact. A review. *Science of the Total Environment*, 901, 165951. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165951>
- Loja Sánchez, C. (2017). OPTIMIZACIÓN DE LOS RESIDUOS DE CASCARILLA DE ARROZ MEDIANTE PRETRATAMIENTO POR HIDRÓLISIS ÁCIDA PARA LA OBTENCIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES. Obtenido de: <https://rest-dspace.ucuenca.edu.ec/server/api/core/bitstreams/b37b54d7-bb82-4546-b19a-bc09c57c8b2f/content> (consultado el 23 de marzo de 2025)
- Lopera Hurtado, D., & Pérez Franco, L. (2020). Estudio de la factibilidad del desarrollo de un alimento funcional a base de Mangostino en Colombia. Obtenido de: https://repository.ces.edu.co/bitstream/handle/10946/5012/1017246269_2020.pdf?sequence=5&isAllowed=y (consultado el 10 de marzo de 2024)
- Machado Pinzón, Y. (2018). APROVECHAMIENTO DEL EPICARPIO DE MANGOSTINO (GARCINIA MANGOSTANA), COMO COLORANTE Y ANTIOXIDANTE NATURAL PARA USO EN ALIMENTOS. Obtenido de: https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/bitstream/handle/20.500.12746/3592/YEFRI%20JHOAN%20MACHADO%20PINZON_APROVECHAMIENTO%20DEL%20EPICARPIO%20DE%20MANGOSTINO%20%28GARCINIA%20MANGOSTANA%29%2c%20COMO%20COLORANTE%20Y%20ANTIOXIDANTE%20NATURAL%20PARA%20USO%20EN%20ALIMENTOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y (consultado el 10 de marzo de 2024).
- Mariño García, A., Núñez Velázquez, M., & Barreto Penié, J. (2016). Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. Obtenido de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2016/acm161g.pdf> (consultado el 10 de marzo de 2024)
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. (s.f.). Sistema de estadísticas agrícolas. Reporte: Área, Producción y Rendimiento Nacional por Cultivo. Obtenido de: <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1> (consultado el 18 de marzo de 2025)
- Mohan, K., Muralisankar, T., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., Revathi, N., Ramu Ganesan, A., . . . Seedevi, P. (2020). Trends in the extraction, purification, characterisation and biological activities of polysaccharides from tropical and subtropical fruits – A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers*, 238, 116185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116185>

- Nanasombat, S., Kuncharoen, N., Ritcharoon, B., & Sukcharoen, P. (2018). Antibacterial Activity of Thai Medicinal Plant Extracts Against Oral and Gastrointestinal Pathogenic Bacteria and Prebiotic Effect on the Growth of *Lactobacillus acidophilus*. *Chiang Mai Journal of Science*, 45, 33-44.
- Orduz R., J., & Rangel M., J. (2002). FRUTALES TROPICALES POTENCIALES PARA EL PIEDEMONTE LLANERO. Obtenido de: [https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13427/41247_Fruta lestropical%20escartilla.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13427/41247_Fruta%20tropical%20escartilla.pdf?sequence=1&isAllowed=y) (consultado el 10 de marzo de 2024)
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Organización Mundial de la Salud (OMS). (2006). Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Obtenido de: <https://www.fao.org/3/a0512s/a0512s.pdf> (consultado el 10 de marzo de 2024)
- Orozco Moreno, C. (2019). Propuesta técnico económica para el aprovechamiento integral del fruto de mangostino (*Garcinia mangostana*) en aplicaciones alimentarias. Obtenido de: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/75914/1032474657.2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (consultado el 10 de marzo de 2024)
- Parra Coronado, A. (2007). TÉCNICAS DE ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS. Bogotá, D.C.: UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. SEDE BOGOTÁ. FACULTAD DE INGENIERÍA.
- Pérez-Pérez, A., Gullón, B., Lobato Rodríguez, Á., Garrote, G., & Del Río, P. (2023). Microwave-assisted extraction of hemicellulosic oligosaccharides and phenolics from *Robinia pseudoacacia* wood. *Carbohydrate Polymers*, 301, 120364. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120364>
- Ramírez Amador, K., Rojas Carrillo, Ó., Alvarado Aguilar, P., & Vega-Baudrit, J. (2012). OBTENCIÓN DE XILOSA A PARTIR DE DESECHOS LIGNOCELULÓSICOS DE LA PRODUCCIÓN Y PROCESO INDUSTRIAL DE LA PIÑA (*Ananascomusus*). Obtenido de: <https://www.redalyc.org/pdf/4759/475947764008.pdf> (consultado el 31 de marzo de 2024).
- Rodrigues Reis, C., Milessi, T., Ramos, M., Singh, A., Mohanakrishna, G., Aminabhavi, T., . . . Chandel, A. (2023). Lignocellulosic biomass-based glycoconjugates for diverse biotechnological applications. *Biotechnology Advances*, 68, 108209. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108209>
- Rodríguez-Daza, M., Pulido-Mateos, E., Lupien-Meilleur, J., Guyonnet, D., Desjardins, Y., & Roy, D. (2021). Polyphenol-Mediated Gut Microbiota Modulation: Toward Prebiotics and Further. *Frontiers in Nutrition*, 8, 689456. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.689456>
- Sabater, C., Calvete-Torre, I., Villamiel, M., Moreno, F., Margolles, A., & Ruiz, L. (2021). Vegetable waste and by-products to feed a healthy gut microbiota: Current

- evidence, machine learning and computational tools to design novel microbiome-targeted foods. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 399-417. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.002>
- Scarano, P., Sciarrillo, R., Tartaglia, M., Zuzolo, D., & Guarino, C. (2022). Circular economy and secondary raw materials from fruits as sustainable source for recovery and reuse. A review. *Trends in Food Science & Technology*, 122, 157-170. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.003>
- Shah, B., Li, B., Al Sabbah, H., Xu, W., & Mráz, J. (2020). Effects of prebiotic dietary fibers and probiotics on human health: With special focus on recent advancement in their encapsulated formulations. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 178-192. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.010>
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., & Crocker, D. (2012). Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. National Renewable Energy Laboratory. Technical Report NREL-TP-510-42618. Obtenido de: <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf> (consultado el 27 de marzo de 2025).
- Suksamran, N., Anantawat, V., Wattanaarsakit, P., Wei, C., Rahman, M., Majima, H., & Tangpong, J. (2022). Mangosteen vinegar from *Garcinia mangostana*: quality improvement and antioxidant properties. *Heliyon*, e11943. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11943>
- Yan, B., Huang, C., Lai, C., Ling, Z., & Yong, Q. (2022). Production of prebiotic xylooligosaccharides from industrial-derived xylan residue by organic acid treatment. *Carbohydrate Polymers*, 292, 119641. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119641>
- Yoong Cheok, C., Ling Chin, N., Aniza Yusof, Y., Talib, R., & Lim Law, C. (2012). Optimization of total phenolic content extracted from *Garcinia mangostana* Linn. hull using response surface methodology versus artificial neural network. *Industrial Crops and Products*, 40, 247-253. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.03.019>