



Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2 (1): 094-107. Enero-Junio, 2011  
http://www.rvcta.org  
ISSN: 2218-4384 (versión en línea)  
© Asociación RVCTA, 2011. RIF: J-29910863-4. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

Artículo

## **Efecto bifidogénico de jalea de *Lepidium meyenii* Walp. “maca” en el recuento de *Bifidobacterium bifidum* en yogurt probiótico**

Bifidogenic effect of *Lepidium meyenii* Walp. “maca” jelly on viable count of *Bifidobacterium bifidum* in probiotic yogurt

María Elena **León Marrou**

Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Agroindustrial.

Avenida Larco, Cuadra 17, Distrito de Víctor Larco Herrera, Provincia de Trujillo,

Departamento de La Libertad, Perú

Correspondencia: mleon@ucv.edu.pe

Aceptado 20-Mayo-2011

### **Resumen**

Los recuentos de *Bifidobacterium bifidum* en yogures probióticos tienden a disminuir de manera significativa por diferentes factores: pH, oxígeno disuelto, composición antagónica entre las especies, la composición química del medio, temperatura de almacenamiento, entre otros. Para asegurar que la eficacia de los productos que contienen *B. bifidum* sea máxima a menudo se incluyen factores bifidogénicos, los cuales tienen la propiedad de promover no solo el crecimiento adecuado, sino también su viabilidad durante el almacenamiento del producto final. El presente estudio investigó sobre el recuento de *B. bifidum* en yogurt probiótico elaborado en condiciones de laboratorio en relación a dos variables: adición de tres concentraciones diferentes de jalea de *Lepidium meyenii* “maca” (10 %, 20 % y 30 %) y tiempo de almacenamiento. Se realizó el recuento de *B. bifidum* cada tres días, durante un mes. Se utilizó el método de recuento en placa por siembra en profundidad. Los resultados indicaron que todas las muestras a las que se añadieron jalea de *L. meyenii* “maca” en diferentes concentraciones mantuvieron recuentos de *B. bifidum* por encima de los valores establecidos por las normas internacionales. Se concluye que *L. meyenii* “maca”, en razón de algunos de sus componentes, ejerció un efecto bifidogénico y en concentración de 30 % de jalea fue mayor.

**Palabras claves:** *Bifidobacterium bifidum*, factor bifidogénico, *Lepidium meyenii*, maca, recuento microbiano, yogurt probiótico.

### Abstract

The viable counts of *Bifidobacterium bifidum* on probiotic yogurt tend to decrease significantly by several factors: pH, dissolved oxygen, antagonism between the composition of species, chemical composition of the medium, temperature of storage, among others. To ensure that effectiveness of products containing *B. bifidum* is maximum, often, bifidogenics factors are included, which have the property to promote not only appropriate growth but also its viability during storage of the final product. This study investigated the viable count of *B. bifidum* in probiotic yogurt prepared in laboratory conditions for two variables: adding three different concentrations of *Lepidium meyenii* “maca” jelly (10 %, 20 % and 30 %) and time of storage. Counting of viable *B. bifidum* every three days during a month were realized. The plate account by deep sowing method was used. The results indicated that to all samples that were added *L. meyenii* “maca” jelly at different concentrations, the counts of *B. bifidum* remained above the levels established by international standards. Was concluded that in reason of some components, *L. meyenii* “maca” had a bifidogenic effect and at concentration 30 % was higher.

**Key words:** *Bifidobacterium bifidum*, bifidogenic factor, *Lepidium meyenii*, maca, microbial count, probiotic yogurt.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad los consumidores demuestran una marcada preferencia por aquellos alimentos que se anuncian como beneficiosos para la salud, como es el caso de la tendencia al consumo de alimentos suplementados con cultivos probióticos (Alvídrez-Morales *et al.*, 2002; Barrenetxe *et al.*, 2006), como el yogurt, que posee ingredientes alimentarios microbianos vivos que son beneficiosos para la salud (Aggett *et al.* 1999; Roberfroid, 2000).

Entre las especies importantes que tienen aplicación destacan las del género *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* (de las Cagigas-Reig y Blanco-Anesto, 2002; Jones, 2002; Seelee *et al.*, 2009; Cáceres-R. y Gotteland-R., 2010). La introducción de las cepas probióticas de *Bifidobacterium bifidum* dentro de la dieta alimentaria ofrece efectos beneficiosos en la salud humana (Andersson *et*

*al.*, 2001), entre los que se mencionan: reducción de cáncer en el colon (Ku *et al.*, 2009), inducción de cambios en la flora intestinal y modulación de la respuesta inmune humoral (Link-Amster *et al.*, 1994), efecto hipocolesterolémico (Abd El-Gawad *et al.*, 2005), efectos beneficiosos en el tratamiento de infecciones gastrointestinales (Sanz *et al.*, 2006) y mantenimiento del balance de la microflora normal intestinal, entre otros (Hoover, 1993).

Tanto el estándar IDF 163:1992 de la International Dairy Federation (IDF, 1992) reemplazado por estándar Codex (IDF, 2010), como la norma CODEX STAN 243-2003 (FAO/OMS, 2003), establecen que en la composición del yogurt la suma de microorganismos que comprenden el cultivo debe ser mínimo de  $10^7$  UFC/mL. Las investigaciones indican que los efectos beneficiosos en la salud humana, mencionados en el párrafo anterior, solo pueden ser posibles

si los probióticos se encuentran en cantidades adecuadas al momento del consumo de yogurt probiótico (FAO/WHO, 2001; FAO/WHO, 2002).

Para asegurar que la eficacia de los productos que contienen *B. bifidum*, sea máxima, se incluyen factores bifidogénicos llamados prebióticos, los cuales promueven el crecimiento y viabilidad de estas bacterias durante el almacenamiento del producto final (Tamime y Marshall, 1997; Coppola y Turnes, 2004). Los prebióticos son componentes alimentarios no digeribles que afectan beneficiosamente al huésped por estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o un número limitado de bacterias en el colon, que tienen el potencial de mejorar la salud del huésped (Aggett *et al.* 1999; Roberfroid, 2000). Para que un ingrediente alimentario sea clasificado como prebiótico debe: 1) no ser hidrolizado ni absorbido en la parte superior del tracto gastrointestinal, 2) ser un sustrato selectivo para una o un número limitado de bacterias beneficiosas en el colon el cual estimule su crecimiento y actividad metabólica, 3) ser capaz de alterar la flora colónica a favor de una composición más saludable y 4) inducir efectos sistémicos que sean beneficiosos para la salud del huésped (Gibson y Roberfroid, 1995).

Entre las Raíces y Tubérculos Andinos (RTAs), “maca” (*Lepidium meyenii*), es una planta apreciada por el valor nutritivo de sus hipocótilos (Rea, 1992). El alto valor nutritivo de la “maca” la convierte en un cultivo alimenticio de gran potencial, no sólo por su contenido de proteínas y carbohidratos, sino también por el contenido de minerales como Fe, Ca, Cu y Zn (Suní *et al.*, 2002). Las investigaciones en este cultivo andino se han centrado principalmente en su efecto sobre la actividad sexual, aumento de la fertilidad y acciones citostática y antitumoral (Castaño-Corredor, 2008); no obstante, no se han realizado estudios sobre su posible potencial efecto bifidogénico y no existen antecedentes

sobre las propiedades prebióticas de esta planta-raíz (Brinckmann y Smith, 2004).

El presente estudio ha considerado a *L. meyenii* “maca” como una especie con factores bifidogénicos potenciales, porque su composición química es semejante a sustratos ya identificados que favorecen el crecimiento y viabilidad de las *B. bifidum*, como son las raíces de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) (Pedreschi *et al.*, 2003; Maldonado *et al.*, 2008), entre otras (Brinckmann y Smith, 2004).

El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de diferentes concentraciones de jalea de *L. meyenii* “maca” sobre el recuento de *B. bifidum* presentes en yogurt probiótico durante 30 días de almacenamiento a temperatura de  $4,5 \pm 0,5$  °C. Por otro lado, la incorporación de *L. meyenii* “maca” al proceso de elaboración de yogurt promueve la utilización de cultivos andinos en la industria láctea nacional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo, Pabellón E, 6to. piso, en Trujillo, Perú.

Se utilizó el cultivo láctico mixto ABY-424 (Chr. Hansen A/S, Hørsholm, Denmark) que contiene cepas tradicionales de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y la cepa probiótica *B. bifidum*; leche de vaca fresca y entera proveniente de 3 establos (R4J, El Carmen y La Joya) ubicados en la Provincia de Trujillo en Perú, de las que se seleccionó una por presentar mejores criterios de calidad; hipocolitos de *L. meyenii* “maca” en estado de madurez comercial procedentes de Santiago de Chuco (zona altoandina del Departamento de La Libertad) y como medio de cultivo se utilizó agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) para la identificación de *B. bifidum*.

### Elaboración de la jalea de “maca”

Para elaborar la jalea de *L. meyenii* “maca” se siguieron las etapas y requisitos estipulados en la Norma Técnica Peruana NTP 203.040:1982. (INDECOPI, 1982). La elaboración se llevó a cabo de manera artesanal y se adicionó a la producción de yogurt probiótico, con la finalidad de que ésta actúe como un potencial con factor bifidogénico, y pueda mantener en la composición del yogurt el número de *B. bifidum* mínimo requerido de  $10^7$  UFC/mL, al momento de su consumo (FAO/OMS, 2003). El esquema tecnológico se presenta en la Fig. 1 y se describe a continuación:

Selección y clasificación. En primer lugar se realizó una selección, el objetivo de este paso fue separar los hipocolitos dañados o malogrados bajo el criterio “pasa o no pasa” (aceptación o rechazo). En segundo lugar los hipocolitos seleccionados fueron clasificados para poder estandarizar todas las operaciones del proceso de elaboración de la jalea, a nivel práctico los hipocolitos se clasificaron de acuerdo al tamaño, maduración, aspecto, color y textura.

Lavado y desinfección. La limpieza de los hipocolitos se realizó mediante un lavado con agua corriente y limpia, a temperatura ambiental, esta operación tuvo como objetivo eliminar los residuos de tierra y restos de contaminantes presentes, luego se procedió a sanitizar el material mediante inmersión en agua clorinada, la cual se obtuvo agregando una cucharadita de lejía casera en 15 ó 20 litros de agua. Esta operación tuvo como finalidad, la eliminación de posibles contaminantes biológicos que pudiesen degradar el producto y asegurando, de esta manera, su inocuidad.

Pelado. La operación consistió en eliminar la piel de los hipocolitos. La remoción se realizó cuidadosamente, por incidencia en el rendimiento, evitando que parte de la pulpa fuese removida al extraer la piel.

Cortado. Esta operación se realizó con la finalidad de lograr una penetración homogénea del calor en etapa posterior. Se utilizaron

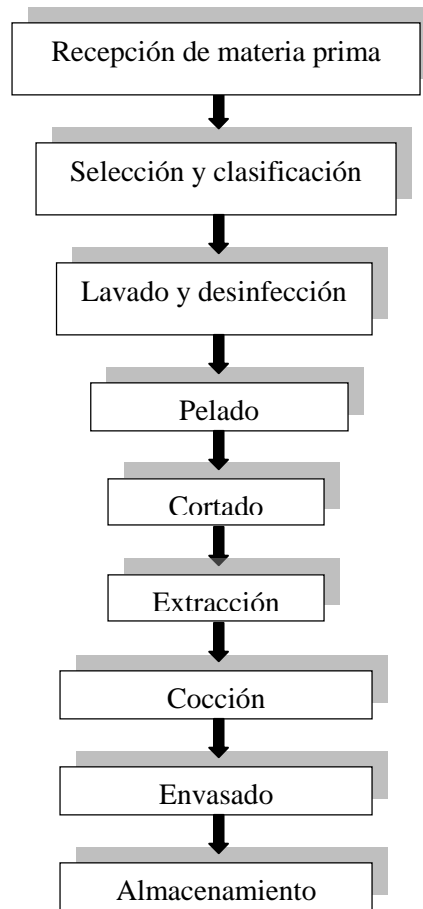
herramientas y equipos que permitieron cortes limpios, obteniendo la mayor cantidad de material aprovechable, se trató de no producir daños masivos en el tejido, y se evitó, en todo momento, los efectos perjudiciales de cambio de color y sabor en el producto.

Extracción del jugo. A los hipocolitos previamente cortados, se les adicionó agua limpia en una relación de 1:0,5 (kg hipocolito: L agua) y luego se sometieron a ebullición. El tratamiento térmico no fue mayor de 20 minutos, el cual experimentalmente demostró que constituye el tiempo necesario para suavizar la pulpa y permitir la extracción completa del jugo, sin que forme consistencia pastosa.

Cocción (ebullición). La cocción se consideró uno de los pasos más importantes en la elaboración de la jalea. El propósito principal fue aumentar la concentración de azúcar hasta producir la gelificación. Es recomendable no prolongar la ebullición, ya que esto ocasiona una pérdida de sabor del producto. Durante la ebullición, el jugo fue sometido a un proceso de desnatado para remover cualquier material coagulado y luego se agitó para asegurar una buena mezcla y un calentamiento uniforme. El proceso de cocción continuó hasta que se formó una jalea con consistencia adecuada al enfriarse. El producto terminado presentó una lectura de 65 °Bx.

Envasado. El producto terminado fue herméticamente sellado en envases de vidrio. El llenado se realizó a temperatura por encima de los 82 °C, los frascos se llenaron hasta el 90 % de su capacidad dejando no más de media pulgada de espacio de cabeza. Las tapas (previamente esterilizadas) se colocaron sobre los recipientes inmediatamente después de llenados y transcurridos un tiempo de 2 ó 3 min, se cerraron herméticamente.

Almacenamiento. Los productos terminados se almacenaron a temperatura ambiental (23 °C a 25 °C) en lugares bien ventilados y libres de agentes contaminantes.



**Figura 1.-** Esquema tecnológico de elaboración de jalea de *L. meyenii* “maca”.

### Elaboración del yogurt

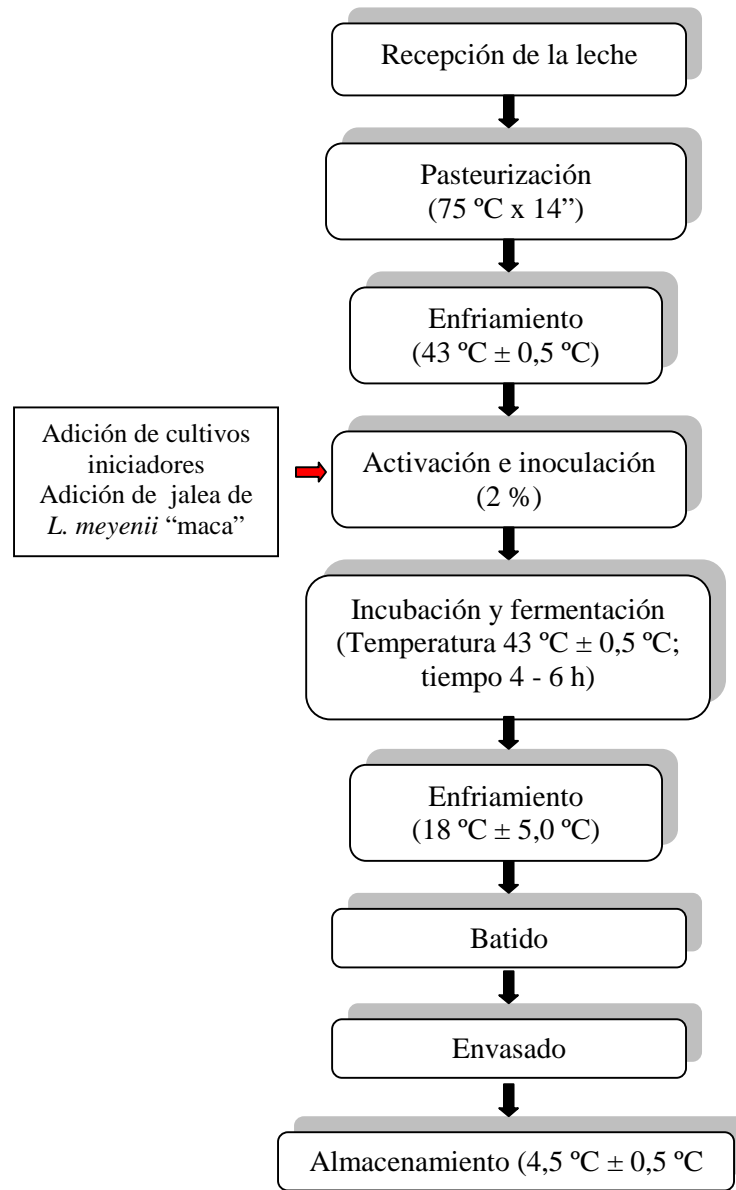
Previo a la elaboración del yogurt probiótico se analizó la calidad de la leche fresca, efectuándose la determinación del porcentaje de grasa mediante la técnica Gerber (INDECOPI, 1998), de la densidad con un lactodensímetro Quevenne mediante el método 925.22 de la AOAC (1990), de la acidez (INDECOPI, 2008a); y por último, determinación de la calidad higiénica de la leche mediante prueba de la reductasa (INDECOPI, 2004).

En condiciones de laboratorio se elaboró yogurt batido según lo estipulado por la Norma Técnica Peruana NTP 202.092:2008, en la cual se definen las etapas y requisitos para

elaboración de yogurt (INDECOPI, 2008b). El proceso de elaboración se presenta en la Fig. 2 y los pasos operacionales se describen a continuación:

Recepción de la leche. La leche para la elaboración de yogurt probiótico procedente del estable La Joya fue de la más alta calidad, tanto nutricional como higiénica, antes de ser adquirida se realizaron pruebas fisicoquímicas y de calidad higiénica.

Pasteurización. Se efectuó a temperatura de 75 °C por 14'', esta operación tuvo los siguientes objetivos: eliminar los microorganismos patógenos, reducir la población bacteriana banal de manera que no interfiera con el desarrollo de las bacterias lácteas del cultivo iniciador, desnaturalizar las proteínas del suero



**Figura 2.-** Flujograma de proceso de elaboración de yogurt probiótico.

para mejorar la textura del producto final y para ayudar a evitar la separación del suero durante la conservación del yogurt.

Enfriamiento. La leche se enfrió a  $43\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ , para favorecer la activación del cultivo.

Activación e inoculación. Los cultivos liofilizados se adquirieron en sobres herméticamente cerrados, el procedimiento de

activación y estandarización se realizó de la siguiente forma: se calentó 100 mL de agua previamente hervida fría a temperatura de  $50\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$  y adicionaron 50 g de leche en polvo descremada, se removió hasta su completa disolución y enfrió hasta  $4\text{ °C}$ . Posteriormente se disolvió el sobre con los cultivos liofilizados y se distribuyeron 4 mL en cada vasito plástico

utilizado, previamente lavados y desinfectados con agua clorinada (0,2 a 0,3 ppm), se conservaron a temperaturas de congelación ( $-2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), manteniéndose los cultivos activos por un período de tres meses a esta temperatura. Posteriormente se inoculó el 2 % de los cultivos activados en relación a la cantidad de materia prima utilizada (leche fresca). Simultáneamente se adicionó jalea de “maca” en concentraciones establecidas de 10 %, 20 % y 30 %, manteniendo una muestra testigo o muestra control (sin adición de jalea de “maca”).

**Incubación y fermentación.** La incubación se realizó hasta que la leche alcanzó un pH menor o igual a 4,6; se mantuvo constante la temperatura de  $43\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La fermentación es el proceso en el cual las bacterias ácido lácticas transforman la lactosa en ácido láctico; se produjo la agregación de las micelas de caseína a partir de un pH de 4,6 formándose un gel de caseína ácida irreversible, esta etapa duró entre 4 y 6 horas.

**Enfriamiento.** Cuando se aproximó al pH requerido, se procedió a disminuir la temperatura rápidamente de  $43\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  con el objeto de retardar el incremento posterior de la acidez.

**Batido.** Una vez que el yogurt alcanzó la temperatura antes mencionada ( $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) el gel o cuajada fue sometido a un tratamiento mecánico suave de batido hasta que se obtuvo una consistencia homogénea.

**Envasado.** Utilizando jarras medidoras se procedió a envasar el yogurt en condiciones asépticas, se utilizaron envases de plástico de grado alimentario, de 250 mL de capacidad y luego se cerraron herméticamente.

**Almacenamiento.** El producto terminado se almacenó a temperatura de refrigeración ( $4,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y se controló que se mantuviera constante durante todo el tiempo de almacenamiento (30 días).

### **Identificación y conteo (recuento) de *B. bifidum***

Para la identificación de *B. bifidum* se utilizó el método de recuento en placa por siembra en profundidad, empleando como medio de cultivo agar MRS. Con la finalidad de hacer al medio de cultivo selectivo para el crecimiento de *B. bifidum*, se agregó 5 % de antibiótico NNL compuesto por ácido nalidíxico, sulfato de neomicina y cloruro de litio, con ello se logra inhibir el crecimiento de otras cepas probióticas y el procedimiento que se utilizó fue el siguiente: se realizó una primera dilución utilizando 90 mL de agua peptonada tamponada a la que se le añadieron 10 mL de yogurt probiótico; a partir de la primera dilución se realizaron diluciones seriadas desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-8}$  en tubos de 9 mL que contenían agua peptonada estéril, luego se procedió a pipetear por duplicado a las placas de Petri estériles alícuotas de 1 mL a partir de las diluciones previamente preparadas. Se preparó el medio de cultivo (esterilizó y atemperó a  $44\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y se agregó a las placas de Petri en cantidad aproximada de 15 mL e inmediatamente se procedió a mezclar las alícuotas con el medio de cultivo mediante movimientos de vaivén y rotación de las placas. Una vez solidificado el agar, las placas se invirtieron e incubó en condiciones anaeróbicas a temperatura de  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 72 horas. Finalmente, se realizó el cómputo de recuento en placa. Las *B. bifidum* se presentaron como colonias pequeñas de color marrón. El recuento de *B. bifidum* se realizó cada tres días, durante un mes.

### **Diseño experimental**

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar en un arreglo factorial de  $4 \times 11$ , con 6 repeticiones. Un factor estuvo constituido por 4 concentraciones de jalea de “maca” en yogurt (0, 10, 20 y 30 %) y el otro factor fueron los tiempos de almacenamiento bajo refrigeración en días (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 y 30).

Las variables estudiadas se sometieron a análisis de varianza de una vía (ANAVAR) y prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) utilizando el software Statistix for Windows, versión 9.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA) y las gráficas se elaboraron con el programa Microsoft® Office Excel, versión 2003 (Microsoft® Corporation, Redmond, WA, USA). Asimismo se compararon los valores de 4 curvas obtenidas mediante análisis de varianza con medidas repetidas (ANAVAR-MR) y se graficaron nuevamente utilizando el software MedCalc®, versión 11.3.1.0 (MedCalc Software bvba, Mariakerke, Belgium).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Calidad de la leche

Los análisis físicoquímicos de las muestras de leche de vaca entera cruda de los 3 establos proveedores, se presentan en el Cuadro 1. La prueba de la reductasa indicó valores cualitativos que se encuentran entre 'regular' y 'muy buena'. El contenido de grasa de la leche puede oscilar entre 3,40 y 5,37 %. La densidad normal de la leche se encuentra entre 1,027 y 1,033 g/mL. Una leche normal puede presentar valores de acidez Dornic de entre 16 y 18 °D. La calidad de la leche cruda es influenciada por múltiples condiciones entre las que se destacan los factores zootécnicos, asociados al manejo, alimentación y potencial genético de los animales así como factores relacionados a la obtención y almacenamiento de la leche recién ordeñada, siendo la grasa el componente de la leche que presenta mayor variabilidad (de los Reyes-González-Cu *et al.*, 2010). Por lo expresado, y en función de los valores presentados en el Cuadro 1, en la presente investigación se empleó como materia prima a la leche fresca procedente del Establo La Joya, por considerarse de mejor calidad.

### Comportamiento de *B. bifidum* en yogurt probiótico con adición de jalea de "maca"

La adición de *B. bifidum* al yogurt

frecuentemente presenta problemas tecnológicos habiendo sido demostrado que debido a sus elevadas exigencias nutricionales y ambientales estas bacterias tienen la tendencia a disminuir su población bacteriana a través del tiempo de almacenamiento hasta su consumo final (Torres-Vitela, 2002).

Los valores promedios de las 6 repeticiones que se efectuaron a cada grupo experimental, mostraron un incremento directamente proporcional al recuento de las *B. bifidum* en relación a la variable concentración de jalea de "maca" adicionada al proceso de elaboración del yogurt probiótico y el recuento de *B. bifidum* presentó una tendencia a disminuir en relación a la variable tiempo de almacenamiento (Cuadro 2 y Fig. 3).

La muestra testigo (sin adición de jalea de "maca"), se inició con un recuento promedio de  $44 \times 10^{10}$  UFC/mL, es decir, inmediatamente después de elaborado el producto, observándose un crecimiento exponencial hasta el día 6, presentando recuentos de  $32 \times 10^{12}$  UFC/mL y manteniéndose estos valores hasta el día 12; luego presentó una tendencia a disminuir de manera progresiva, llegando en los días 27 y 30 a presentar recuentos de  $25 \times 10^5$  UFC/mL y  $33 \times 10^5$  UFC/mL respectivamente, estos valores se encuentran por debajo del valor mínimo requerido de  $10^7$  UFC/mL (FAO/OMS, 2003), por lo que se recomienda su comercialización solo hasta el día 24.

Con la adición de 10 % de jalea de "maca", al inicio, se observó un incremento de *B. bifidum* en dos ciclos logarítmicos. En relación a las otras dos muestras, con 20 % y 30 % de jalea de "maca", el incremento inicial de las cepas probióticas fue de 4 ciclos logarítmicos aproximadamente, en comparación con la muestra testigo. Esto sugiere la existencia de componentes en la jalea de "maca" que estimulan el crecimiento y/o actividad de uno o un número limitado de bacterias probablemente con carácter prebiótico o bien podrían llamarse tentativamente "alimentos colónicos".

Entre los ingredientes de un alimento, algunos carbohidratos no digeribles (oligo y polisacáridos), péptidos, proteínas y ciertos



**Cuadro 1.-** Análisis fisicoquímicos de la leche fresca proveniente de tres establos ubicados en la Provincia de Trujillo.

Establo	Resultados			
	Grasa (%)	Densidad (g/mL)	Acidez en grados Dornic (°D)	Prueba de la reductasa
R4J	3,0	1,029	18	Buena
El Carmen	3,2	1,028	20	Regular
La Joya	3,3	1,035	16	Muy Buena

**Cuadro 2.-** Recuento del número de *B. bifidum* presentes en yogurt probiótico con adición de tres concentraciones de jalea de *L. meyerii* “maca” almacenado a  $4,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , analizado cada 3 días, durante 30 días.

Jalea de “maca”	Parámetro estadístico	Tiempo de almacenamiento (días)										
		Inicio	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Muestra testigo	Media	4,4E+09	9,4E+11	3,2E+13	2,4E+13	2,6E+13	2,1E+11	4,8E+09	2,3E+09	4,9E+08	2,5E+06	3,3E+06
	D. S.	1,2E+09	1,1E+12	3,0E+13	1,4E+13	2,4E+11	1,7E+11	2,6E+09	8,7E+08	7,0E+07	5,7E+05	8,0E+05
10 %	Media	3,2E+11	2,7E+13	4,5E+16	2,9E+16	2,2E+16	3,0E+16	4,2E+14	3,2E+11	3,7E+10	6,8E+09	2,4E+09
	D. S.	1,7E+11	1,6E+13	2,4E+16	1,9E+16	2,4E+16	2,7E+14	2,3E+14	3,0E+11	1,7E+10	3,1E+09	6,5E+08
20 %	Media	1,3E+13	1,5E+16	7,3E+16	9,9E+16	5,1E+16	1,7E+16	9,1E+14	1,2E+14	1,1E+14	7,2E+12	4,6E+10
	D. S.	3,1E+13	2,0E+16	9,1E+15	8,4E+16	3,1E+16	4,9E+15	4,9E+14	3,0E+14	2,7E+14	1,8E+13	9,0E+10
30 %	Media	8,6E+13	4,7E+15	9,5E+16	3,1E+17	2,4E+17	5,6E+17	4,7E+17	8,8E+15	4,0E+15	9,0E+14	4,2E+14
	D. S.	7,5E+13	3,6E+13	9,9E+16	1,2E+17	1,2E+17	3,2E+15	1,3E+14	7,0E+14	3,7E+14	6,9E+13	1,9E+11

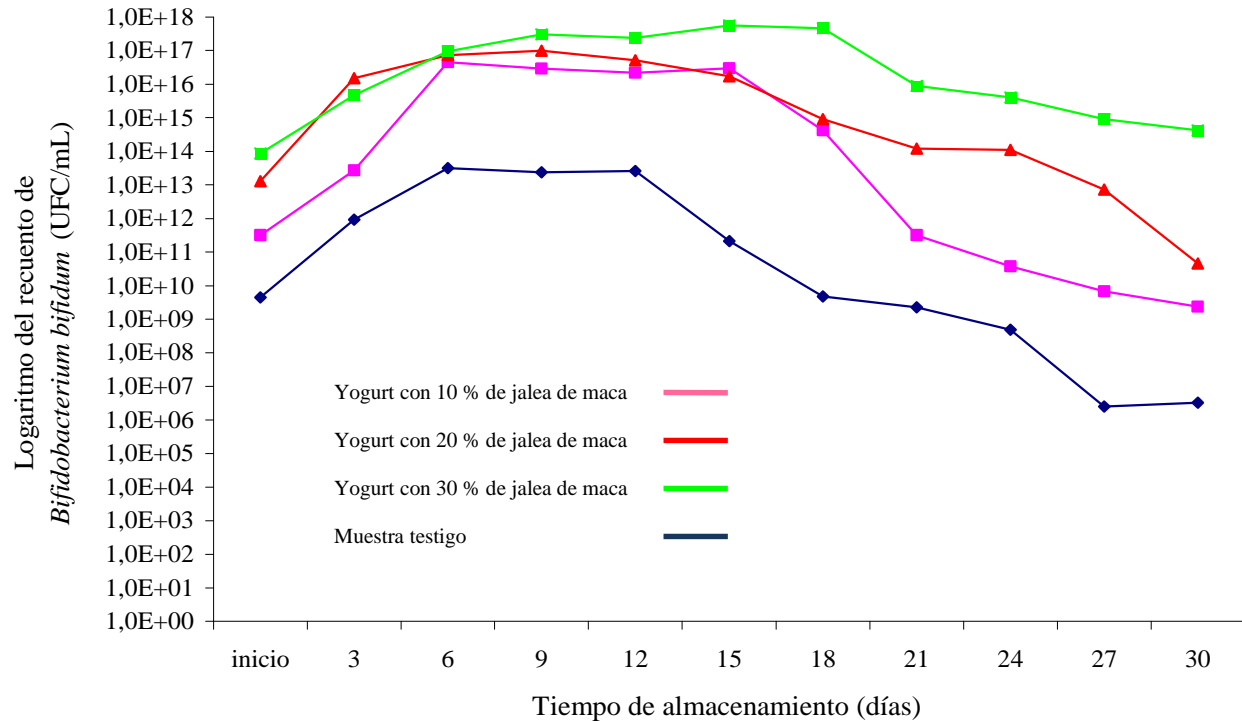
Las medias son promedios de 6 muestras. *D. S.*: desviación estándar.

lípidos (ésteres) son candidatos a prebióticos debido a su estructura química, estos compuestos no son absorbidos en la parte superior del tracto intestinal o hidrolizados por enzimas digestivas humanas, tales ingredientes podrían llamarse “alimentos colónicos”, es decir alimentos que en el colon sirven como sustrato para las bacterias endógenas e indirectamente proporcionan energía, sustratos metabólicos y micronutrientes esenciales. Sin embargo no son prebióticos, debido a que actúan tanto sobre especies bacterianas beneficiosas como dañinas, careciendo de selectividad (Gibson y Roberfroid, 1995).

En relación al tiempo de almacenamiento, en todos los casos, se observó

una disminución de las *B. bifidum* durante el almacenamiento refrigerado lo que concuerda con otras investigaciones en las que se describe una curva ‘típica’ de crecimiento para la población de bacterias ácido lácticas (BAL) (Hamann y Marth, 2001), con un incremento inicial de la población durante e inmediatamente después de la manufactura del producto hasta aproximadamente 6 días de almacenamiento, luego una fase estacionaria, desde el día 6 hasta el día 18, para finalmente un descenso progresivo hasta los 30 días.

Las muestras que contenían jalea de *L. meyerii* “maca”, si bien presentaron la misma tendencia a una disminución en el recuento de *B. bifidum* durante el almacenamiento en



**Figura 3.-** Relación comparativa del recuento de *B. bifidum* presentes en un yogurt probiótico con adición de tres concentraciones de jalea de *L. meyenii* “maca”, analizado cada 3 días, durante 30 días de almacenamiento a  $4,5\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ , incluye la muestra testigo.

refrigeración, se mantuvieron por encima del valor mínimo requerido ( $10^7$  UFC/mL) durante todo el período en estudio, esta condición de viabilidad de las células bacterianas durante la comercialización del producto, son criterios de calidad que entre otros beneficios, le confieren una propiedad terapéutica al yogurt (Briceño *et al.*, 2001).

### Evaluación estadística

Los resultados del ANAVAR indicaron la existencia de diferencias significativas ( $p = 0,047$ ) en relación a las diferentes concentraciones de *L. meyenii* “maca” y los tiempos de almacenamiento. Mediante la prueba de comparación de medias se determinaron 2 grupos, el grupo *a* conformado por Maca30% y el grupo *b* integrado por

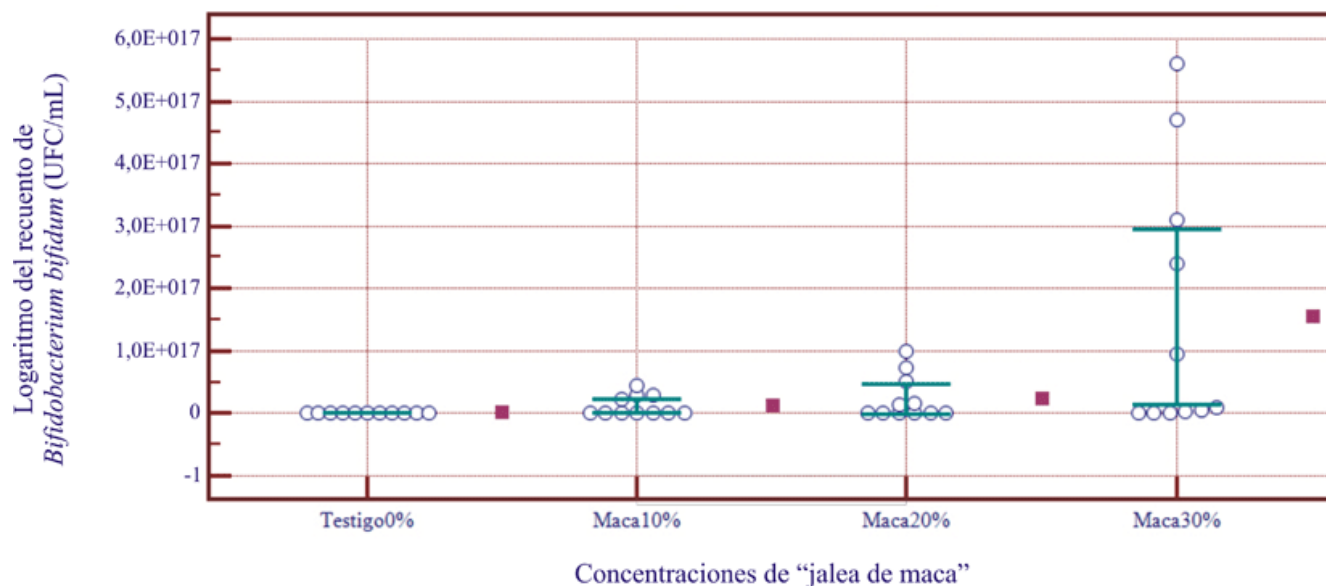
Testigo0%, Maca10% y Maca20%, lo que sugiere que el mejor tratamiento fue el correspondiente a las muestras a las que se le adicionó 30 % de jalea de *L. meyenii* “maca”.

En el Cuadro 3 se presenta la comparación por pares de las 4 concentraciones luego del ANAVAR-MR, en el mismo se aprecia que para todos los factores hubo diferencias significativas, correspondiendo los menores valores de  $p$  ( $p$ -valor) a Maca20% y Maca30% cuando se comparan con la muestra testigo (Testigo0%). Finalmente, en la comparación de las 4 curvas (4 concentraciones) la tendencia observada fue un mayor recuento de *B. bifidum* en la medida en que la concentración de jalea de *L. meyenii* “maca” fue mayor (Fig. 4), por lo que se concluye que la jalea de “maca” ejerce un efecto bifidogénico, en razón de algunos de sus

**Cuadro 3.-** Comparación por pares de las 4 concentraciones de “jalea de maca”.

Factores		Cociente de las medias geométricas	$p^*$
Testigo0%	- Maca10%	0,00102	0,0001
	- Maca20%	0,0000366	<0,0001
	- Maca30%	0,00000161	<0,0001
Maca10%	- Testigo0%	977,695	0,0001
	- Maca20%	0,0358	0,0267
	- Maca30%	0,00157	0,0033
Maca20%	- Testigo0%	27300,999	<0,0001
	- Maca10%	27,924	0,0267
	- Maca30%	0,0439	0,0343
Maca30%	- Testigo0%	622204,386	<0,0001
	- Maca10%	636,399	0,0033
	- Maca20%	22,791	0,0343

\* Bonferroni corregido.

**Figura 4.-** Comparación de curvas de concentración de jalea de “maca” y su influencia en el recuento de *B. bifidum*.

componentes, en el recuento de *B. bifidum*, siendo mayor a concentración de 30 %; probablemente debido a la presencia de fructanos, ya que ha sido demostrada la preferencia de las bifidobacterias por estos, como fuente de carbono y energía (Gibson y Wang, 1994).

Algunos oligosacáridos son bifidogénicos porque ellos entran al intestino grueso y promueven allí el crecimiento de bifidobacterias. Los oligosacáridos bifidogénicos pertenecen a los componentes de los alimentos funcionales. Estos son productos que no solo tienen puro valor nutricional sino que también ofrecen ventajas fisiológicas lo cual supone promover la salud. Los oligosacáridos bifidogénicos e inulina pertenecen al grupo de los prebióticos (Belitz *et al.*, 2009).

Finalmente, los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la elaboración del yogurt probiótico con incorporación de jalea de “maca” ofrece un alimento simbiótico (palabra que sugiere sinergismo (Coppola y Turnes, 2004)), es decir, una mezcla de probióticos y prebióticos, que afectarían beneficiosamente al huésped por mejorar la supervivencia e implantación de suplementos dietéticos microbianos vivos en el tracto intestinal (Aggett *et al.* 1999; Roberfroid, 2000).

## CONCLUSIONES

*Lepidium meyenii* “maca” ejerció un efecto bifidogénico (en razón de algunos de sus componentes) cuando se incorpora en forma de jalea al yogurt probiótico; ya que todas las muestras a las que se les adicionó jalea de *L. meyenii* “maca” presentaron incrementos en los recuentos de *Bifidobacterium bifidum*.

Los recuentos de *B. bifidum* obtenidos con la incorporación de 10 %, 20 % y 30 % de jalea de *L. meyenii* “maca” estuvieron por encima del parámetro mínimo establecido de  $10^7$  UFC/mL durante los 30 días de almace-

miento del producto; siendo las muestras de yogurt con adición de 30 % de jalea las que presentaron mayor recuento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd El-Gawad, Ibrahim A.; El-Sayed, E.M.; Hafez, S.A.; El-Zeini, H.M. and Saleh, F.A.. 2005. The hypocholesterolaemic effect of milk yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *International Dairy Journal*. 15(1):37-44.
- Aggett, P.J.; Alexander, J.; Alles, M.; Anderson, A.; Antoine, J.M.; Ashwell, M.; Asp, N.G.; Barth, C.A. *et al.* 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *British Journal of Nutrition*. 81:S1-S27.
- Alvídrez-Morales, Alicia; González-Martínez, Blanca Edelia y Jiménez-Salas, Zacarias. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 3(3). [http://www.respyn.uanl.mx/iii/3/ensayos/alimentos\\_funcionales.html](http://www.respyn.uanl.mx/iii/3/ensayos/alimentos_funcionales.html)
- Andersson, Henrik; Asp, Nils-Georg; Bruce, Åke; Roos, Stefan; Wadström and Wold, Agnes E. 2001. Health effects of probiotics and prebiotics. A literature review on human studies. *Scandinavian Journal of Nutrition/Naringsforskning*. 45:58-75.
- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemist. *Official Methods of Analysis*. (15ta. ed.). Washington, USA.
- Barrenetxe, J.; Aranguren, P.; Grijalba, A; Martínez-Peñuela, J.M.; Marzo, F. y Urdaneta, E. 2006. Modulación de la fisiología gastrointestinal mediante cepas probióticas de *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum*. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 29(3):337-343.
- Belitz, H.D.; Grosch, W. and Schieberle, P. 2009. *Food Chemistry*. (4th. ed.).

- Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. pp. 867.
- Briceño, Ana Graciela; Martínez, Raul y García, Karely. 2001. Viabilidad y actividad de la flora láctica (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) del yogurt en Venezuela. *Acta Científica Venezolana*. 52(1):46-54.
- Brinckmann, Josef and Smith, Ed. 2004. Maca culture of the Jenin Plateau. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 10(3):426-430.
- Cáceres-R., Paola y Gotteland-R., Martín. 2010. Alimentos probióticos en Chile: ¿Qué cepas y que propiedades saludables?. *Revista Chilena de Nutrición*. 37(1):97-109.
- Castaño-Corredor, María Paola. 2008. Maca (*Lepidium peruvianum* Chacón): Composición química y propiedades farmacológicas. *Revista de Fitoterapia*. 8(1):21-28.
- Coppola, Mario de Menezes e Turnes, Carlos Gil. 2004. Probióticos e resposta imune. *Ciência Rural*. 34(4):1297-1303.
- de las Cagigas-Reig, Ana Lydia y Blanco-Anesto, Jorge. 2002. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 16(1):63-68.
- de los Reyes-González-Cu, Gaspar; Molina-Sánchez, Baldomero y Coca-Vázquez, Rafael. 2010. Calidad de la leche cruda. *Agroentorno*. (Noviembre):33-36.
- FAO/OMS. 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations-Organización Mundial de la Salud. Norma del Codex para leches fermentadas. CODEX STAN 243-2003.
- FAO/WHO. 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and Nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 1-4 October. Córdoba, Argentina.
- FAO/WHO. 2002. Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. April 30 and May 1. London, Ontario, Canada.
- Gibson, G.R. and Wang, X. 1994. Bifidogenic properties of different types of fructo-oligosaccharides. *Food Microbiology*. 11(6):491-498.
- Gibson, Glenn R. and Roberfroid, Marcel B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*. 125:1401-1412.
- Hamann, W.T. and Marth, E.H. 1984. Survival of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in commercial and experimental yogurts. *Journal of Food Protection*. 47:781-786.
- Hoover, D. 1993. Bifidobacteria: activity and potencial benefits. *Food Technology*. 47(6):120-124.
- IDF. 1992. International Dairy Federation. General standard of identity for fermented milks. Standard IDF 163:1992.
- IDF. 2010. International Dairy Federation. IDF Publications catalogue. <http://ns6924.ov.net/Residents/filidf/Files/media/IDF.ORG/Publications/Freeofcharge/Catalogue.pdf>
- INDECOPI. 1982. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual. Jalea de frutas. Norma Técnica Peruana NTP 203.040:1982.
- INDECOPI. 1998. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual. Leche y productos lácteos. Leche cruda.

- Ensayo de materia grasa. Técnica de Gerber. (2da. ed.). Norma Técnica Peruana NTP 202.028:1998.
- INDECOPI. 2004. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual. Leche y productos lácteos. Leche cruda. Ensayo de reductasa o ensayo de azul de metileno. (3era. ed.). Norma Técnica Peruana NTP 202.014:2004.
- INDECOPI. 2008a. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual. Leche y productos lácteos. Leche cruda. Determinación de acidez de la leche. Método volumétrico. (3era. ed.). Norma Técnica Peruana NTP 202.116:2008.
- INDECOPI. 2008b. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual. Leche y productos lácteos. Yogurt. Requisitos. (4ta. ed.). Norma Técnica Peruana NTP 202.092:2008.
- Jones, Peter J. 2002. Clinical nutrition: 7. Functional foods - more than just nutrition. *Canadian Medical Association Journal*. 166(12):1555-1563.
- Ku, Seockmo; You, Hyun Ju and Ji, Geun Eog. 2009. Enhancement of anti-tumorigenic polysaccharide production, adhesion, and branch formation of *Bifidobacterium bifidum* BGN4 by phytic acid. *Food Science and Biotechnology*. 18(3):749-754.
- Link-Amster, H; Rochat, F.; Saudan K.Y.; Mignot, O. and Aeschlimann, J.M. 1994. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 10(1):55-63.
- Maldonado, Silvina; Luna-Pizarro, Patricia; Martínez, Vilma; Villatarco, Mariela y Singh, Judith. 2008. Producción y comercialización de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en comunidades rurales del noroeste argentino. *Agroalimentaria*. 14(26):119-125.
- Pedreschi, Romina; Campos, David; Noratto, Giuliana; Chirinos, Rosana and Cisneros-Zevallos, Luis. 2003. Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(18):5278-5284.
- Rea, J. 1992. La agricultura andina. Raíces andinas. En *Cultivos marginados, otra perspectiva de 1492*. Colección FAO: Producción y protección vegetal. N° 26. Roma.
- Roberfroid, Marcel B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 71:1682S-1687S.
- Sanz, Y.; Collado, M.C. y Dalmau, J. 2006. Contribución de la microbiota intestinal y del género «*Bifidobacterium*» a los mecanismos de defensa del huésped frente a patógenos gastrointestinales. *Acta Pediátrica Española*. 64(2):74-78.
- Seelee, W.; Tungjaroenchai, W. and Natvaratat, M. 2009. Development of low fat set-type probiotic yoghurt from goat milk. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. 2(04):771-779.
- Suni, Mery L.; Bravo, Jorge A. y Fabián-S, Julio. 2002. Absorción de hierro en "Maca" *Lepidium meyenii* Walp. (Brassicaceae). *Revista Peruana de Biología*. 9(1):11-15.
- Tamime, A.Y. and Marshall, V.M.E. 1997. Microbiology and technology of fermented milks. In *Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*. (2nd. ed.). (pp. 95-105). London, UK: Blackie Academic & Professional.
- Torres-Vitela, María del Refugio. 2002. Flora intestinal, probióticos y salud. (2da. ed.). México: Editorial de las Universidades Iberoamericanas. ISBN: 968-7822-03-1.