

## Influencia de la concentración de miel de *Furcraea andina* “cabuya” en el comportamiento microbiológico y fisicoquímico de un yogurt probiótico natural

Influence of concentration of *Furcraea andina* “cabuya” honey in the microbiological and physic – chemical behavior of a natural probiotic yogurt

Wilson Augusto Barrantes Vega\*

Escuela de Post Grado Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Av. Juan Pablo II s/n. Ciudad Universitaria. Trujillo, Perú.

\* Autor correspondiente: [Wilsonbv2107@gmail.com](mailto:Wilsonbv2107@gmail.com) (W. Barrantes).

Fecha de recepción: 05 02 2018. Fecha de aceptación: 12 05 2018

### RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la influencia de tres concentraciones de miel de cabuya (55°, 65° y 75 °Bx), previamente estandarizadas y aplicadas al 7,5%, en el comportamiento fisicoquímico y microbiológico de un yogurt natural con y sin el probiótico *Lactobacillus acidophilus*. Se evaluó el comportamiento ácido – láctico y de sólidos solubles como factores fisicoquímicos, y el crecimiento de bacterias ácido – lácticas (BAL) como factor microbiológico, comparándolos con el comportamiento de grupos testigo (yogurt con sacarosa al 9% con y sin probiótico), durante un tiempo de almacenamiento de 30 días. Los resultados indicaron que los grupos experimentales de yogurt con miel a 55 y 65 °Bx (con y sin probiótico) no tuvieron diferencia significativa en su comportamiento ácido – láctico y microbiológico ( $p < 0,05$ ). Se tuvo mejor estabilidad ácido – láctica en presencia del probiótico, generándose un mejor crecimiento de las BAL con recuentos cercanos a  $10^{12}$  UFC/mL con tendencia creciente al finalizar el tiempo de evaluación, garantizándose la viabilidad del probiótico en el yogurt. Se concluyó que la miel de cabuya a 65 °Bx tiene una mayor influencia en la mejora de la estabilidad ácido – láctica y en el estímulo del crecimiento del probiótico en el yogurt, logrando obtener un producto simbiótico.

**Palabras clave:** miel de cabuya; bacterias lácticas; yogurt probiótico; producto simbiótico.

### ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the effect of three concentrations of cabuya honey (55°, 65° and 75 °Bx), previously standardized and applied to 7.5%, in the physic – chemical and microbiological behavior of a natural yogurt with and without the *Lactobacillus acidophilus* probiotic. Acid – lactic and soluble solids behavior was evaluated as physicochemical factors, and the growth of bacteria acid – lactic as microbiologically factor, comparing with the behavior of control groups (yogurt with sucrose to 9% with and without probiotic) for a storage time of 30 days. The results indicated that the experimental groups of yogurts with honey to 55 and 65 °Bx (with and without probiotic) haven't significant difference in their acidic behavior – lactic and microbiological ( $p < 0.05$ ). Better stability acid – lactic was had in the presence of probiotic, generating better growth of BAL with counts near  $10^{12}$  CFU / mL with increasing trend at the end of the evaluation time, ensuring the viability of the probiotic. It was concluded that cabuya honey to 65 °Bx has a greater influence on the improvement of acid – lactic stability and stimulate the growth of probiotic in yogurt, obtaining a symbiotic product.

**Keywords:** honey cabuya; lactic bacteria; probiotic yogurt; symbiotic product.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos decenios, ha aumentado considerablemente el interés de los responsables de la salud pública y de los consumidores por conocer la relación entre la dieta y la salud. Abraham *et al.* (2010) mencionan que, en las últimas décadas, con el creciente interés en los cuidados de la salud y la disminución de riesgos, la atención de los consumidores, así como de la industria y la investigación, se ha centrado en los alimentos probióticos. En este contexto los probióticos, prebióticos y simbióticos adquirieron gran significancia. Se encuentran en el mercado diversas marcas comerciales de productos de probada o potencial actividad probiótica, así como también, existen productos fermentados naturales que se elaboran en forma artesanal y pueden considerarse probióticos (kéfir, yogurt).

Hoy en día el consumidor es más exigente y "exquisito" en sus preferencias alimenticias, convirtiéndose en un explorador de alternativas naturales para su consumo que le brinden beneficios para la salud a través de la innovación de productos; innovación que puede ser mediante la adición de componentes naturales y/o el remplazo de sustituyentes poco benéficos por el de aditivos con mejores características nutricionales. Por lo que Guerrero (2010) menciona que la tendencia de los alimentos es que todos sean de carácter funcional, es decir, que tengan efectos benéficos en la salud del ser humano. De esto se deriva la necesidad que tiene el hombre de consumir alimentos con un valor agregado más allá de lo nutricional, lo cual se consigue con la incorporación de elementos de origen natural como carbohidratos no digeribles y microorganismos de origen bacteriano (Rodríguez-Zevallos *et al.*, 2018).

En el Perú, el estudio de productos agroalimentarios nativos no convencionales, y más aún su industrialización, es todavía incipiente, centrándose básicamente el sector agroexportador en la costa. Sin embargo, en la sierra y selva se puede constatar el gran potencial agroindustrial que se tiene existiendo variedades de cultivos con investigación casi nula, pero

que pueden presentar grandes bondades nutricionales en pro de obtener un producto de características funcionales, sea como prebiótico, e incluso para la producción de un alimento simbiótico. Específicamente en Otuzco – La Libertad se puede apreciar que existen variedades con crecimiento silvestre y sin ningún cuidado agronómico como es el caso de la cabuya (*Furcraea andina*), planta que se investigó para aplicación alimentaria evaluando su viabilidad como alimento funcional, nativa del Perú, y que cumpla con las exigencias y tendencias actuales en relación a los hábitos de consumo citadas anteriormente; atribuyéndosele características peculiares al jugo o "aguamiel" que emana del corazón de esta agavácea y que puede ser utilizada como aditivo natural en la elaboración de un yogurt probiótico otorgándole beneficios adicionales en su constitución normal; y, por ser una agavácea, presentar como principal ventaja un alto contenido de inulina y fibra dietética (fructooligosacáridos), componentes que facilitan el buen funcionamiento del sistema intestinal así como del organismo en general, gracias a que favorecen la producción de bifidobacterias, ayudando también al organismo a metabolizar la glucosa.

Ahondando en el sector lácteo, uno de los objetivos principales es el desarrollo, innovación y mejoramiento de la producción y calidad de los productos lácteos. El yogurt es un producto cuya investigación debido a los avances de la ciencia y tecnología de alimentos son benéficos a nivel de productores tanto artesanales como industriales (De las Cagigas y Blanco, 2002). En base a lo cual, se sustenta la presente investigación en el desarrollo de un yogurt probiótico que incluya un sustrato estimulador del crecimiento de sus cepas probióticas, evaluando para ello tres diferentes concentraciones de miel de cabuya (55, 65 y 75 °Bx) e investigando el potencial prebiótico que podría poseer y su influencia sobre el comportamiento fisicoquímico y microbiológico de un yogurt natural inoculado con el probiótico *Lactobacillus acidophilus*, apuntando a partir de ello a desarrollar un producto simbiótico novedoso, que mejore los beneficios de un yogurt normal,

estandarizando su proceso de producción y así brindar nuevas alternativas agroalimentarias para el consumo humano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia prima

Se recolectó diariamente el aguamiel de una planta de cabuya oriunda de Otuzco – La Libertad, durante un período estimado entre 3 a 4 meses.

La leche para la producción de yogurt fue proveniente de los establos de Conache – La Libertad. Empleándose: 12 litros de yogurt natural con miel de cabuya por cada concentración evaluada (55, 65 y 75°Brix), haciendo un total de 36 litros; y 12 litros de yogurt natural patrón.

### Diseño experimental

Se trabajó un diseño experimental con estímulo creciente teniendo 3 grupos experimentales problema y 1 testigo, representando cada grupo experimental un estímulo diferente de la variable independiente (concentración de miel de cabuya).

La variable independiente fue la concentración de miel de cabuya y la variable dependiente, el comportamiento fisicoquímico y microbiológico de yogurt natural. El producto final se comparó con un patrón: yogurt natural endulzado con sacarosa.

### Metodología

El flujograma para la obtención del aguamiel y miel de cabuya se muestra en la Figura 1.

El flujograma de elaboración del yogurt natural se muestra en la Figura 2.

### Evaluaciones realizadas

- ✓ Se determinó la acidez a través del método volumétrico 939.05 de la AOAC 2000/NTP 202.116 (INDECOPI, 2008a).
- ✓ Se determinó los grados brix empleando el refractómetro, cuyo procedimiento es realizado según la AOAC 22.024/84.932/90 (AOAC, 1984).
- ✓ Para el recuento de bacterias lácticas totales (BAL) se empleó el método de recuento en placa por siembra en

profundidad según el método de ensayo FIL – IDF 117B de la NTP 202.092 (INDECOPI, 2008b).

- ✓ Se realizó el análisis estadístico ANVA (al 5% de probabilidad) para el comportamiento fisicoquímico y microbiológico, determinándose si existe diferencia significativa entre los tratamientos y la prueba de DUNCAN para determinar el mejor tratamiento.

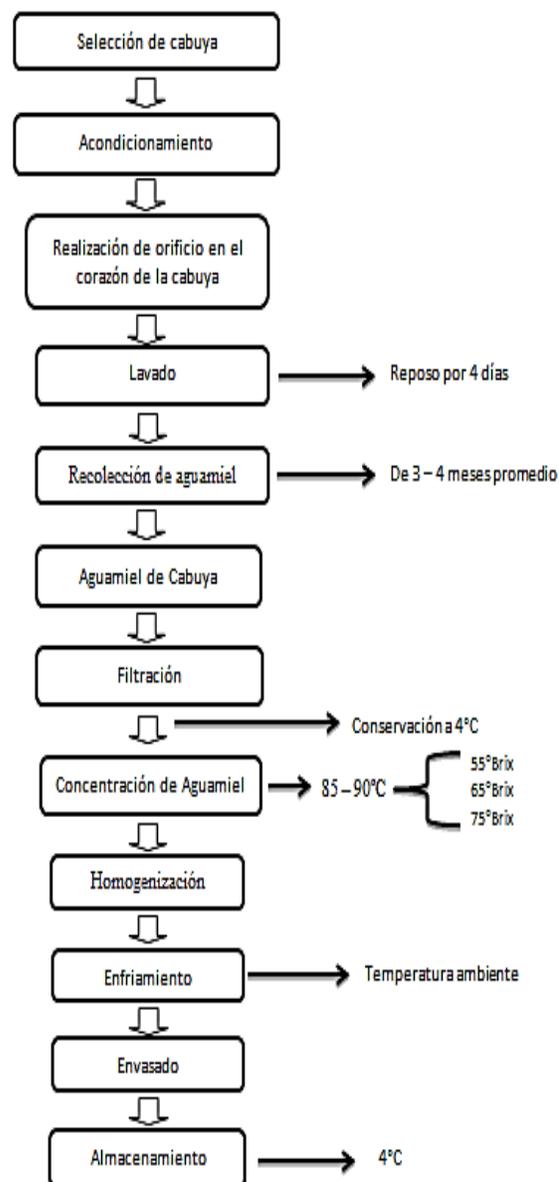


Figura 1. Flujograma de obtención de aguamiel y miel de cabuya.

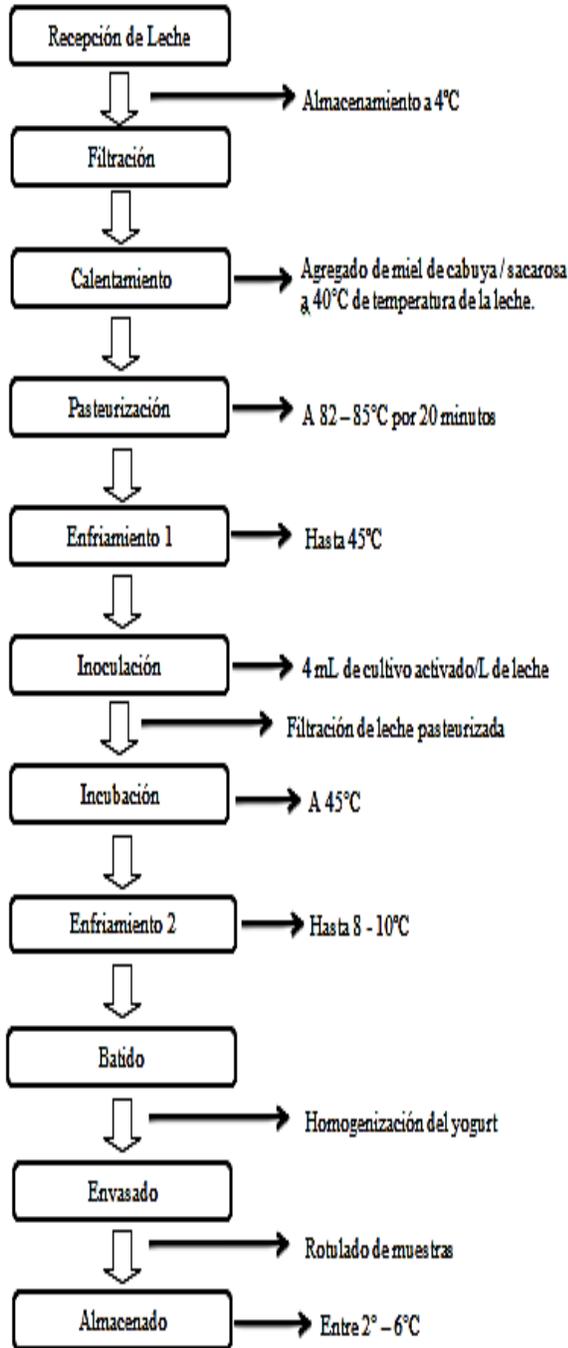


Figura 2. Flujograma de elaboración de yogurt natural.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización del aguamiel obtenido

El comportamiento de los sólidos solubles del aguamiel extraído de la cabuya se muestra en la Figura 3.

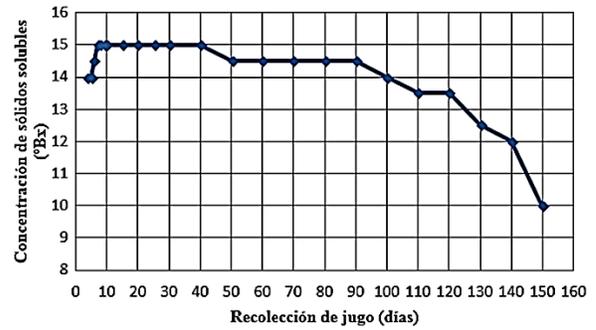


Figura 3. Comportamiento de los sólidos solubles durante el tiempo de recolección del aguamiel

La caracterización del aguamiel óptimo recolectado se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. Características del aguamiel de cabuya

Sólidos solubles	15 °Bx
Color	Dorado brillante translúcido
Olor	Característico a cabuya
Sabor	Dulce característico a cabuya
Aspecto	Líquido poco viscoso, con bajo contenido de espuma

Así mismo, en la Tabla 2 se muestra la cantidad de aguamiel obtenida por semana y su rendimiento en todo el período de recolección.

Tabla 2. Rendimiento de aguamiel por planta

Semana	Sólidos Solubles (°Bx)	Cantidad (L)	Rendimiento (L/día)
1	14,5	4	1,3
2	15	8,5	1,2
3	15	8,2	1,2
4	15	8	1,1
5	15	8,5	1,2
6	15	8,5	1,2
7	14,5	8	1,1
8	14,5	8	1,1
9	14,5	8,4	1,2
10	14,5	8,3	1,2
11	14,5	8,1	1,2
12	14,5	8,3	1,2
13	14,5	8	1,1
14	14	8	1,1
15	14	8	1,1
16	13,5	7,4	1,1
17	13,5	6,5	0,9
18	12,5	6	0,9
19	12	5	0,7
20	10	5	0,7
Total		148,7	1,1

En la Figura 3 podemos observar la concentración de sólidos solubles que alcanzó el jugo durante los 5 meses de su recolección, superando el tiempo estimado de recolección de 3 a 4 meses descrito en la metodología. Partir de este estudio resulta

importante ya que nos permite conocer el tiempo de vida útil del jugo por planta de producción, debido a que, como bien lo menciona Jurado y Sarzosa (2009) se debe tener la medida de Grados Brix como un indicador de calidad del aguamiel debido a que mientras mayor sea el contenido de azúcares en el aguamiel, mayores rendimientos se obtendrá en los procesos de elaboración de miel de cabuya. Dichos autores en su investigación realizada a la *Agave americana*, cabuya oriunda del Valle Pujilí (Ecuador), obtuvieron aguamiel con una concentración inicial de 12,5 °Bx la cual fue disminuyendo conforme transcurría el tiempo llegando a 2 °Bx a los 130 días de recolección, con un tiempo máximo de obtención de jugo de 3 meses. En contraste con los resultados obtenidos por dichos autores, el aguamiel de la cabuya peruana (*Furcraea andina*), se recolectó en un total de 150 días (5 meses) partiendo de 14 °Bx de concentración. Así mismo se puede observar en la Figura 3 que se alcanzó una concentración máxima de 15 °Bx durante los primeros 40 días, llegando a los 140 días con 12 °Bx siendo una concentración adecuada para la producción de miel sin indicios de fermentación.

Los últimos 10 días se recolectó un jugo con características propias de un proceso fermentativo, alcanzando concentraciones de 10 °Bx, no óptimas para una producción de miel siendo fundamentado por Rendón (2007) (citado por Jurado y Sarzosa, 2009) quien menciona que el aguamiel de agave es un líquido dulce, de sabor agradable pero inestable, que, si hace calor, debe ser procesado en el día para evitar la fermentación. En base a estos resultados, se tiene una gran diferencia con los resultados obtenidos por Jurado y Sarzosa (2009), encontrando que la cabuya peruana goza de mayor calidad y estabilidad.

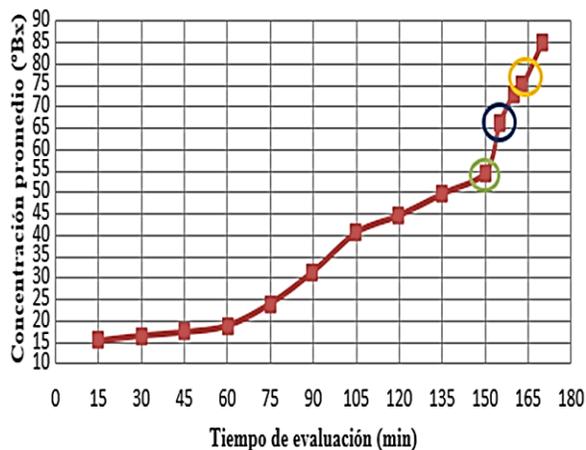
Así mismo en la Tabla 1 se contempla las principales características que posee el aguamiel de cabuya. Dichos resultados concuerdan con lo mencionado por Bautista (2006) quien indica que la variedad *Agave americana*, oriunda de Ecuador, posee un color dorado translúcido con olores a azúcares y sabor lo más dulce posible, por lo que el jugo de cabuya

variedad *Furcraea andina*, originaria del Perú, es diferente de la otra variedad mencionada en relación a la concentración de azúcares, siendo la cabuya peruana 3 °Bx mayor que la variedad ecuatoriana, variación que es factible deberse principalmente a factores agronómicos de tipo de variedad, clima, suelo y hábito de cultivo.

Estos resultados respaldan y confirman lo mencionado por el presente investigador en el primer estudio realizado a esta planta, citando que es importante remarcar el hábito de cultivo del agave, en México este cultivo se encuentra muy intensificado teniendo cuidados agronómicos de la planta (NOM, 2005, citado por Barrantes, 2012) lo que en Perú aún no se da, ya que el tipo de agave de nuestro país crece, se reproduce y muere de forma silvestre sin cultivarlo, como es el caso de la cabuya que crece en Otuzco, La Libertad (Barrantes, 2012). Por otra parte, Pardo (2005) hace alusión que las cantidades de producción diaria de aguamiel de cabuya son muy variadas. Mientras algunos informantes señalan 2 a 4 litros durante un mes, otros indican 8 litros y hasta 20 litros; en base a lo citado por el autor, la Tabla 2 muestra que en la presente investigación se obtuvo un rendimiento de jugo de 1,1 litros por día por planta, llegando a obtener un total de 148,7 litros durante 20 semanas de recolección, es decir, un promedio de 30 litros de aguamiel mensuales, cantidad que supera lo estimado por el citado autor. Cabe mencionar además que dichos rendimientos se obtuvieron en base a dos recolecciones realizadas por día: turno mañana y turno noche, no contabilizando el turno tarde por estar a temperaturas ambientales elevadas, presentando características de fermentación. Sin embargo, es importante aludir que, si las condiciones de recolección se mejoran a escala industrial, los rendimientos de jugo pueden llegar a ser aún mayores.

#### **Pruebas preliminares de miel de cabuya**

En la Figura 4 se observa el comportamiento promedio, en base a tres repeticiones de estandarización realizadas, de concentración de sólidos solubles del jugo hasta la obtención de miel a 55, 65 y 75 °Bx.



**Figura 4.** Comportamiento de los sólidos solubles en la concentración de miel a 55, 65 y 75 °Bx.

En la Tabla 3 se muestra el rendimiento de miel para cada concentración, a partir de 10 L de muestra experimental para cada tipo de miel.

**Tabla 3.** Rendimiento de miel por concentración obtenida

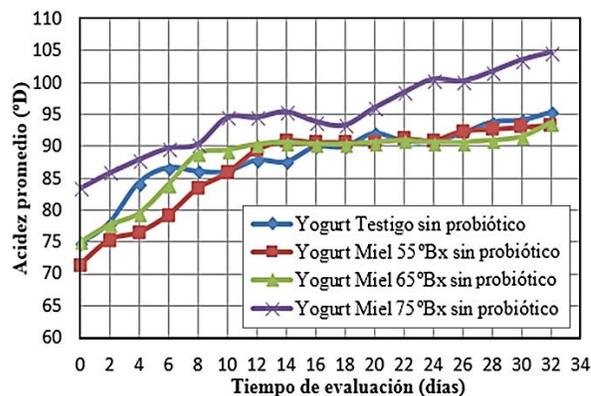
Tipo de Miel	55 °Bx	65 °Bx	75 °Bx
Cantidad de Jugo	10 litros de aguamiel experimental		
Cantidad de miel obtenida (Kg)	1,35	1,2	1,16
Rendimiento de miel	13,5%	12%	11,6%

Durante la concentración por evaporación del aguamiel se midieron los grados Brix y temperatura cada 15 minutos durante todo el tiempo de tratamiento térmico al que se sometió el aguamiel de cabuya. En la Figura 4 se muestra el promedio consolidado de tres pruebas (repeticiones) realizadas al jugo hasta producir concentraciones de 55, 65 y 75 °Bx de miel obtenida a temperaturas entre 85 – 90°C. Estos resultados permitieron obtener una estandarización del proceso en relación con el tiempo necesario para concentrar el jugo hasta la obtención de miel a las concentraciones experimentales deseadas, teniendo como resultado una obtención de miel de cabuya 55 °Bx a los 150 min (2h 30'), miel de cabuya 65 °Bx a los 155 min (2h 35') y miel de cabuya 75 °Bx a los 163 min (2h 43'); obteniendo mayores rendimientos de producción en la miel a 55 °Bx, tal como se muestra en la Tabla 3.

**Resultados experimentales del yogurt**

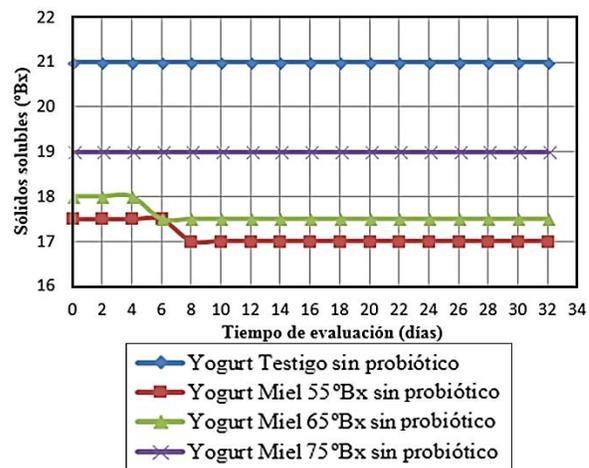
**Comportamiento fisicoquímico**

En la Figura 5 se observa el comportamiento de la acidez en yogurt sin probiótico con miel de cabuya a las tres concentraciones estudiadas y el yogurt testigo sin probiótico.



**Figura 5.** Comportamiento de la acidez en grupos problema y testigo de yogurt sin probiótico

Así mismo se observa en la Figura 6 el comportamiento de los sólidos solubles de los grupos problema y testigo sin probiótico.



**Figura 6.** Comportamiento de los sólidos solubles en grupos problema y testigo de yogurt sin probiótico.

En la Figura 7 se observa el comportamiento de la acidez en yogurt con probiótico con miel de cabuya a las tres concentraciones estudiadas (55, 65 y 75 °Bx) y el yogurt testigo con probiótico (con sacarosa al 9%). En la Figura 8 se observa el comportamiento de los sólidos solubles de los grupos problema y testigo con probiótico.

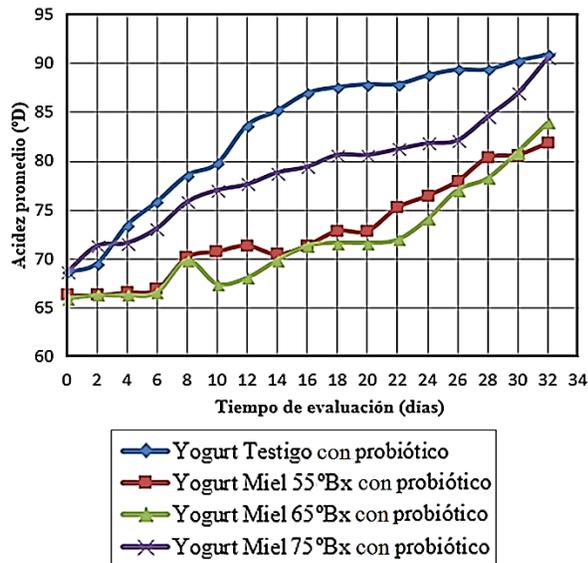


Figura 7. Comportamiento de la acidez en grupos problema y testigo de yogurt con probiótico.

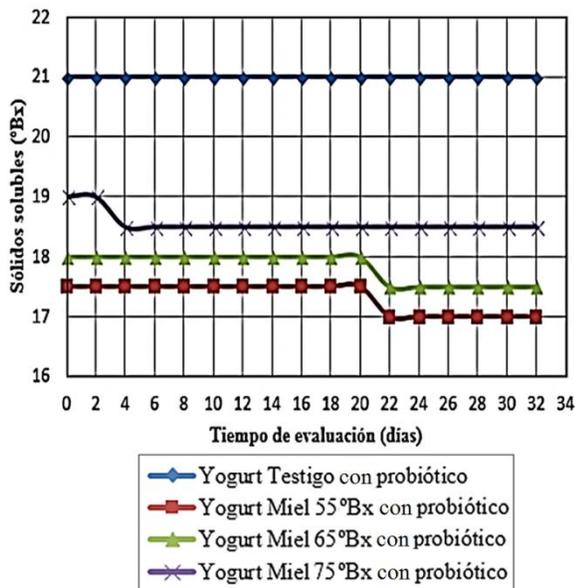


Figura 8. Comportamiento de los sólidos solubles en grupos problema y testigo de yogurt con probiótico.

La Prueba de Duncan para los grupos experimentales sin probiótico muestra:

- ✓ Yogurt con miel a 75 °Bx es significativamente diferente a todos los demás grupos.

- ✓ Yogurt testigo presenta diferencia significativa con el yogurt con miel a 55 °Bx, pero no presenta diferencia significativa con el yogurt con miel a 65 °Bx.

- ✓ Yogurt con miel a 65 °Bx y yogurt con miel a 55 °Bx no presentan diferencia significativa.

La Prueba de Duncan para los grupos experimentales con probiótico arroja los siguientes resultados:

- ✓ Yogurt testigo es significativamente diferente a todos los demás grupos.

- ✓ Yogurt con miel a 75 °Bx presenta diferencia significativa con el yogurt con miel a 55 °Bx y con el yogurt con miel a 65 °Bx.

- ✓ Yogurt con miel a 55 °Bx y yogurt con miel a 65 °Bx no presentan diferencia significativa.

En la Figura 6 se observa que en los grupos sin probiótico los sólidos solubles para el yogurt testigo se mantuvieron en 21 °Bx sin sufrir ninguna variación, para el yogurt con miel a 55 °Bx y 65 °Bx se observó que guardan una relación proporcional de disminución en casi el mismo tiempo de almacenamiento, siguiendo un comportamiento muy similar; por otro lado para el grupo con miel a 75 °Bx el comportamiento fue diferente ya que se inició con 19 °Bx no sufriendo variación en los 30 días de análisis.

En comparación con la Figura 8, donde se presenta el comportamiento de grados Brix de los grupos con probiótico, podemos observar que para el yogurt testigo el comportamiento fue igual que en el testigo sin probiótico, manteniéndose en 21 °Bx sin variación, lo que nos indica que la concentración de sólidos solubles no se ve afectada con la presencia del *Lactobacillus acidophilus* y sacarosa; sin embargo, sí se evidenció una diferencia en el comportamiento para los grupos problema.

Tabla 4. Análisis de varianza para el comportamiento de acidez en grupos experimentales de yogurt con y sin probiótico

Fuente de variación	Relación F Yogurt sin probiótico		Relación F Yogurt con probiótico	
	Calculada	Tabular (p < 0,05)	Calculada	Tabular (p < 0,05)
Tratamientos (Tr)	63,16	2,81	110,16	2,81
Tiempo de evaluación (P)	37,83	1,84	29,76	1,84

Los grupos de yogurt con miel a 55 °Bx y 65 °Bx mantuvieron un comportamiento similar entre ellos al igual que en los grupos sin probiótico, aunque se observó que las variaciones se dieron en tiempos más prolongados que en los grupos sin probiótico (a los 20 días para ambos casos), lo cual indica que la presencia de *Lactobacillus acidophilus* con miel de cabuya a 55 y 65 °Bx brinda mayor estabilidad en la concentración de sólidos solubles del yogurt. Por otro lado, se observó que el yogurt probiótico con miel de cabuya a 75 °Bx sufrió una rápida caída de su concentración inicial por efecto del *Lactobacillus acidophilus* junto a una miel con mayor concentración. García *et al.* (1999) mencionan que la leche en la producción de yogurt se concentra normalmente hasta un contenido de sólidos de 15 a 18%, obteniendo resultados que se encuentran dentro de este rango para los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx.

En relación con la acidez, se observa en la Figura 5 y 7 que todos los grupos (problema y testigo) alcanzaron a lo largo del tiempo de estudio porcentajes de acidez dentro de los rangos establecidos por la NTP 202.092: 2008 (acidez de 0,6 – 1,5%, es decir, 60 – 150°D). Sin embargo, existieron diferencias de comportamiento al comparar los grupos con y sin probiótico. En la Figura 5 se evidencia un comportamiento similar de acidez entre el yogurt con miel a 55 y 65 °Bx y el yogurt testigo sin probiótico, siendo el yogurt con miel a 75 °Bx el grupo con mayor índice de acidez; en cotejo con la Figura 6, se evidencia que en los yogurts con probiótico sólo se presenta un comportamiento similar de acidez entre los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx, teniendo el yogurt testigo y el yogurt con miel a 75 °Bx una acidez mayor que en promedio superó a los otros tratamientos. Ruiz y Ramírez (2009) investigaron que una formulación de probióticos *Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus acidophilus* e inulina muestran mayor estabilidad fisicoquímica durante el tiempo de almacenamiento que una formulación de sólo cultivo iniciador o de cultivo iniciador más probióticos sin inulina; y dentro del mismo contexto Parra *et al.* (2012) realizaron una investigación de

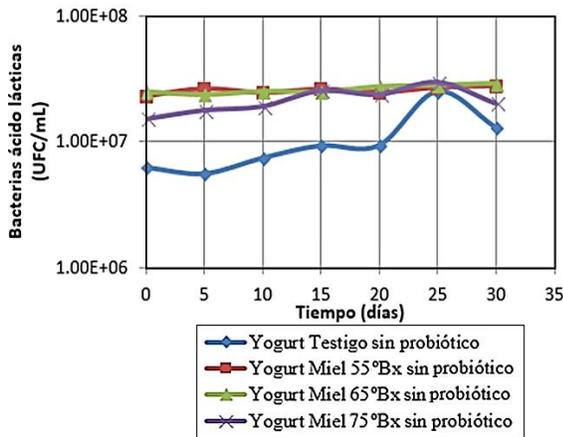
yogurt suplementado con yacón el cual mostró una mejor viabilidad fisicoquímica en su acidez y pH comparándolas con un yogurt control sin yacón. A pesar de no tener investigaciones relacionadas a la cabuya peruana variedad *Furcraea andina*, se tiene como base lo fundamentado por Cárdenas (2012) que el jarabe de agave producido a partir de *Agave americana* es rico en contenido de inulina (fibra líquida dietética de gran valor nutritivo) y que las agaváceas se caracterizan por tener un alto contenido de fructooligosacáridos (FOS); por lo cual, existe evidencia confiable que la variedad nativa del Perú presente en su estructura un gran contenido de inulina, fructooligosacáridos, o fructosa como azúcar simple.

En base a ello, se observa que los estudios presentados guardan relación con los resultados fisicoquímicos obtenidos en la presente investigación que, como se puede observar en las Figuras 5 y 7, los yogurts con probiótico más miel presentan una mejor estabilidad en su comportamiento de acidez frente a los yogurts sin probiótico, siendo aún más óptimo cuando se emplea miel a 55 y 65 °Bx, y de la misma manera dichos grupos experimentales presentan una acidez más estable que los yogurts testigo, detectando que la miel a concentraciones de 55 y 65 °Bx en combinación con el probiótico *Lactobacillus acidophilus* en el yogurt siguen un comportamiento muy similar y de mejor estabilidad que los otros grupos; lo cual se ve reflejado en el análisis estadístico donde la prueba de Duncan indica que, tanto para los grupos con y sin probiótico, los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx no presentaron diferencia significativa en su comportamiento ácido – láctico siendo incluso más estables que el yogurt testigo. Ello demuestra que la sinergia de la miel a las concentraciones de 55 y 65 °Bx con el probiótico *Lactobacillus acidophilus* otorgan una estabilidad fisicoquímica (comportamiento de acidez) mejor que al emplearlos por separado.

### Comportamiento microbiológico

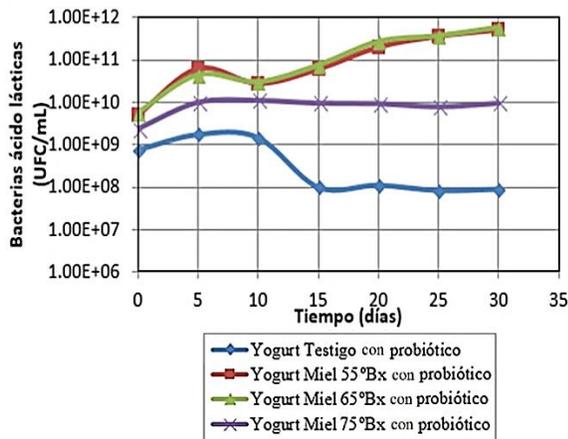
En la Figura 9 se muestra el comportamiento microbiológico de bacterias ácido –

láticas de los grupos problema y testigo de yogurt sin probiótico.



**Figura 9.** Comportamiento microbiológico de grupos problema y testigo de yogurt sin probiótico

En la Figura 10 se observa el comportamiento microbiológico de bacterias ácido – lácticas de los grupos problema y testigo de yogurt con probiótico.



**Figura 10.** Comportamiento microbiológico de grupos problema y testigo de yogurt con probiótico.

La Prueba de Duncan para los grupos experimentales sin probiótico muestra:

- ✓ Yogurt con miel a 65 °Bx no presenta diferencia significativa con el yogurt con miel a 55 °Bx, pero sí es significativamente diferente al yogurt testigo y al yogurt con miel a 75 °Bx.

- ✓ Yogurt con miel a 55 °Bx presenta diferencia significativa con el yogurt testigo y con el yogurt con miel a 75 °Bx.

- ✓ Yogurt con miel a 75 °Bx presenta diferencia significativa con el yogurt testigo.

La Prueba de Duncan para los grupos experimentales con probiótico arroja los siguientes resultados:

- ✓ Yogurt con miel a 65 °Bx no presenta diferencia significativa con el yogurt con miel a 55 °Bx, pero sí presenta diferencia significativa con el yogurt con miel a 75 °Bx y con el yogurt testigo.

- ✓ Yogurt con miel a 55 °Bx presenta diferencia significativa con el yogurt con miel a 75 °Bx y con el yogurt testigo.

- ✓ Yogurt con miel a 75 °Bx y el yogurt testigo no presentan diferencia significativa.

Las Figuras 9 y 10 muestran comportamientos microbiológicos muy diferentes. La presente investigación evidencia la notable diferencia de recuentos para cada tipo de tratamiento (con y sin probiótico), siendo el probiótico *Lactobacillus acidophilus* el que aumenta su crecimiento estimulado por la miel de cabuya hasta alcanzar recuentos cercanos a 10<sup>12</sup> UFC/mL para las concentraciones de miel a 55 y 65 °Bx (con mejor crecimiento entre ambas en la miel a 65 °Bx) frente a recuentos de 10<sup>7</sup> UFC/mL para las mismas concentraciones sin probiótico y para el testigo, también sin probiótico; detectándose así mismo que a una miel de 75 °Bx el crecimiento microbiano, que si bien se encuentra dentro de rangos estimados de 10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> UFC/mL para yogurts probióticos (Abraham *et al.*, 2010), no genera un estímulo creciente mayor como en las anteriores concentraciones mencionadas, alcanzando recuentos de hasta 10<sup>10</sup> UFC/mL pero decreciendo rápidamente hasta valores de 10<sup>9</sup> UFC/mL, induciendo una estabilidad menor al igual que en su comportamiento fisicoquímico de acidez descrito anteriormente.

**Tabla 5.** Análisis de varianza para el comportamiento microbiológico en grupos experimentales de yogurt con y sin probiótico

Fuente de variación	Relación F Yogurt sin prob.		Relación F Yogurt con prob.	
	Calculada	Tabular (p<0,05)	Calculada	Tabular (p<0,05)
Tratamientos (Tr)	33,31	3,16	5,41	3,16
Tiempo de evaluación (P)	4,32	2,66	2,96	2,66

Ante ello, es importante mencionar que en una fermentación homoláctica se puede además dar lugar a una mezcla de ácidos cuando existe una concentración de glucosa limitante, se incrementa de pH, se incrementa de temperatura, o se fermentan azúcares diferentes a la glucosa; esto genera una diferencia en el metabolismo del piruvato, ya que además de producirse lactato, se produce formiato y acetil CoA por la enzima formiatoliasa, y también acetaldehído y acetato. Estos últimos productos contribuyen a un incremento de la acidez, generando una barrera para el crecimiento normal de los *Lactobacillus*, disminuyendo así su número (Serna y Rodríguez, 2005). Ello explica la diferencia existente entre el crecimiento de los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx en relación al yogurt con miel a 75 °Bx, que a pesar de ser aplicados en la misma proporción de 7,5%, esta última genera saturación de azúcares diferentes a la glucosa (inulina – fructooligosacáridos), por lo cual, si bien el *Lactobacillus acidophilus* es una bacteria homofermentativa que produce exclusivamente ácido láctico a partir de glucosa, su vía metabólica se vio afectada debido a la presencia de inulina o cadenas de fructooligosacáridos, originándose un cambio en el metabolismo del piruvato produciendo además de lactato, formiato y acetil CoA, dando origen a acetaldehído, acetato y su posterior ácido acético, lo que generó un efecto barrera para el crecimiento del probiótico, inhibiéndolo a través del tiempo; y a su vez se observa que dicho efecto no se origina en concentraciones menores (55 y 65 °Bx) en los que no se evidenció una saturación de azúcares que afecten la viabilidad del probiótico, siendo muy homogéneos y de comportamientos similares para ambos tratamientos. Lo cual también se ve evidenciado en la investigación de Pinheiro de Souza *et al.* (2012) referente al uso de inulina u oligofruktanos como prebióticos en presencia de probióticos *Lactobacillus rhamnosus* en co – cultivo con *Streptococcus thermophilus*, donde se resuelve que la inulina estimula tanto el crecimiento de la biomasa y los niveles de todos los productos finales, como el

resultado probable de la liberación de fructosa a partir de su hidrólisis parcial y posterior metabolización como fuente de carbono y energía adicional, evidenciando que *Lactobacillus rhamnosus* produce mayor ácido acético que el *Streptococcus thermophilus* además de producir mayor ácido acético durante su metabolismo y etanol, lo cual demuestra que la inulina estimula en un probiótico como *Lactobacillus rhamnosus* que se modifique la ruta metabólica hasta la obtención de ácido acético y etanol, lo que también se generó en acción del *Lactobacillus acidophilus* con presencia de la miel de cabuya a 75 °Bx.

Estos resultados también denotan una comparación con el estudio realizado por Villavicencio (2006), donde se evaluó la capacidad probiótica de *L. casei*, *L. acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, obteniendo que *L. casei* y *L. acidophilus* son capaces de proliferar en concentraciones entre  $10^7$  y  $10^9$  UFC/g a pH menor de 3.5. Dichos recuentos fueron alcanzados para esta investigación en los yogurts sin probiótico, logrando superarlas en los yogurts con probiótico, lo cual va dejando evidencia de la importancia del uso de la miel en el crecimiento de *L. acidophilus*.

Por otra parte, queda demostrado que para los yogurts testigo el crecimiento microbiano fue mucho menor al de los yogurts problema no llegando a más de  $10^7$  UFC/mL sin probiótico y de  $10^9$  UFC/mL con probiótico ambos con tendencia decreciente, por lo que se concluye que en presencia de sacarosa no se estimula el crecimiento del probiótico *Lactobacillus acidophilus* ni de los cultivos iniciadores de forma óptima como sí se genera en los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx, principalmente; así también en la investigación realizada por García *et al.* (2007) sobre la fermentación de inulina por bacterias ácido – lácticas con características probióticas, usando dos cepas de *Lactobacillus salivarius* (7 y 65) demostrando que ambas cepas utilizan la inulina como fuente energética estimulándose su crecimiento, lo cual, según manifiestan los autores, se podría destinar para la obtención de productos simbióticos, lo que

se logró obtener en la presente investigación, demostrando la simbiosis entre la miel de cabuya y el *Lactobacillus acidophilus*.

De la misma forma que para el estudio fisicoquímico, se evidenció estadísticamente las diferencias obtenidas en los resultados microbiológicos mediante el análisis estadístico de varianza y posterior prueba de Duncan realizada, determinándose como resultados finales, en cotejo con el análisis para los yogurts con y sin probiótico, que en ambos casos los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx no presentaron diferencia significativa en su comportamiento microbiológico (a pesar de obtener crecimientos ligeramente mayores con la miel a 65 °Bx) pero sí son significativamente diferentes con el yogurt con miel a 75 °Bx y testigo, gozando de mayor estabilidad en ambos casos, lo que sustenta lo mencionado anteriormente en relación a estas dos concentraciones. Estas evidencias demuestran que existe una estrecha relación entre el comportamiento microbiológico y fisicoquímico, siendo explicado uno en base del otro.

Por lo fundamentado en el comportamiento fisicoquímico, principalmente en el estudio de la acidez presentado a lo largo del periodo de evaluación, se demuestra que dichos resultados guardan relación y son explicados, con referencia a la estabilidad de acidez presentada en los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx, por los resultados microbiológicos obtenidos, considerando la posible existencia de una gran producción de bacteriocinas en la fase log de las bacterias probióticas, ya constatado su buen crecimiento en dichos grupos problema, alargando así su tiempo de vida útil, lo cual también genera un nuevo motivo de investigación en el campo de los bioconservantes.

A partir de los resultados presentados, es válido mencionar la relación existente entre prebiótico (miel de cabuya, con mejores comportamientos y crecimiento microbiano a 55 y 65 °Bx) y probiótico (*Lactobacillus acidophilus*), fundamentando dicha relación en que es responsabilidad de las bifidobacterias y los lactobacilos la producción de ácidos grasos de cadena corta y

ácido láctico, como consecuencia de la fermentación de carbohidratos no digeribles, constituyendo los prebióticos el sustrato fundamental de las bacterias probióticas (De las Cagigas y Blanco, 2002), lo cual se evidenció en los resultados de la presente investigación, logrando obtener una óptima simbiosis entre la miel a 55 y 65 °Bx junto al *Lactobacillus acidophilus*, con mayor crecimiento microbiano en la última concentración (65 °Bx), y que tal como indica Cáceres y Gotteland (2010) que el *Lactobacillus acidophilus* en asociación con *L. bulgaricus*, *B. lactis* y *S. thermophilus* y en presencia de oligofructosa modulan la microbiota intestinal y disminuye la translocación bacteriana en pacientes colectomizados, sugiriendo que estas cepas contribuyen a estabilizar la función intestinal de barrera; por lo que en el presente estudio se define a los yogurts probióticos con miel a 55 y 65 °Bx como productos simbióticos con gran potencial de aceptabilidad sensorial y aportes benéficos propios de un producto multifuncional,

## CONCLUSIONES

El aguamiel de cabuya se obtuvo en un tiempo de 150 días, presentando como características una concentración óptima entre 13 y 15 °Bx, de color dorado brillante translúcido, olor característico a cabuya, sabor dulce y aspecto líquido poco viscoso con bajo contenido de espuma; con un rendimiento promedio de 1,1 litros por día por planta, llegando a obtener 148,7 litros en 20 semanas de recolección (30 litros mensuales).

Se estandarizó el tiempo de obtención de cada muestra de miel de cabuya en relación con el tiempo de tratamiento térmico y la concentración medida en las muestras. Se obtuvo miel a 55 °Bx a los 150 minutos de iniciado el proceso de concentración del jugo, miel a 65 °Bx a los 155 minutos y miel a 75 °Bx a los 163 minutos, con rendimientos de 13,5%, 12% y 11,6%, respectivamente.

El análisis del comportamiento fisicoquímico pone en evidencia que los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx demuestran no tener diferencia significativa entre ambos tratamientos ( $p <$

0,05) mejorando su estabilidad en acción con el probiótico *Lactobacillus acidophilus*, con evidencia estadística de ser los grupos experimentales con mejor comportamiento y estabilidad ácido – láctica.

El análisis del comportamiento microbiológico pone en evidencia que los yogurts con miel a 55 y 65 °Bx demuestran no tener diferencia significativa entre ambos tratamientos ( $p < 0,05$ ), logrando estimular el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus* en los yogurts con probiótico, teniendo evidencia estadística que estas concentraciones son las que presentan mejor comportamiento microbiológico con óptimo crecimiento de las bacterias ácido – lácticas.

La miel de cabuya a 65 °Bx tiene una mayor influencia en mejorar la estabilidad ácido – láctica de un yogurt probiótico con *Lactobacillus acidophilus*, estimulando el crecimiento y viabilidad del probiótico con tendencia creciente antes y después de los 30 días de estudio, obteniendo un producto simbiótico con gran potencial de aceptabilidad sensorial.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham, A.; Álvarez, J.; Araujo, C.; Binetti, A.; Carvajal, M.; Demarco, V.; Díaz, J. 2010. Aspectos probióticos y tecnológicos de las bacterias lácticas. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. 413 pp.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemist. 1984. Official methods of analysis of AOAC Inc. 14 ed., Arlington.
- Bautista, N. 2006. Estudio químico – bromatológico y elaboración de néctar de aguamiel de *Agave americana L.* (maguey) procedente de Ayacucho. Tesis de grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 89 pp.
- Barrantes, W. 2012. Efecto de la concentración de sólidos solubles de aguamiel de cabuya (*Furcraea andina*) en las características sensoriales de una bebida destilada tipo tequila blanco. Revista Científica – K 1(1): 47 – 61.
- Cáceres, P.; Gotteland, M. 2010. Alimentos probióticos en Chile: ¿Qué cepas y qué propiedades saludables? Revista Chilena de Nutrición 37 (1): 97 – 109.
- Cárdenas, M. 2012. El Agave, propiedades que ayudan al control de enfermedades. Amazon Andes, Perú. Disponible en: <http://agaveperu.blogspot.com/>
- De Las Cagigas, A.; Blanco, J. 2002. Prebióticos y Probióticos, una relación beneficiosa. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. La Revista Cubana de Alimentación y Nutrición 16(1): 63 – 68.
- García, Y.; Boucourt, R.; Albelo, N.; Núñez, O. 2007. Fermentación de inulina por bacterias ácido – lácticas con características probióticas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 41(3): 263 – 267.
- García, M.; Quintero, R.; López, A. 1999. Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa, Toluca – México D.F. 636 pp.
- Guerrero, J. 2010. Alimentos fortificados con prebióticos. Editorial Reciteia. Universidad del Valle, Colombia; 10(1): 5 – 23.
- INDECOPI. 2008a. Norma Técnica Peruana (NTP) 202.116: 2008. Leche y productos lácteos. Leche cruda. Determinación de acidez de la leche. Método Volumétrico. Lima, Perú, 3ª Edición.
- INDECOPI. 2008b. Norma Técnica Peruana (NTP) 202.092: 2008. Leche y productos Lácteos. Yogurt. Requisitos. Lima, Perú, 4ª Edición.
- Jurado, S.; Sarzosa, X. 2009. Estudio de la cadena agroindustrial de la cabuya en la producción de miel y licor de cabuya. Tesis de grado, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. 179 pp.
- Pardo, O. 2005. El agave americano (*Agave americana L.*): Uso Alimentario en el Perú. Revista Chloris Chilensis 8(2). disponible en: <http://www.chlorischile.cl/agavepardo/Agavetexto.htm>
- Parra, R.; Medina, M.; Moreno, D. 2012. Propiedades sensoriales, físicas y bromatológicas de yogurt suplementado con yacón. Revista Vitae. Universidad de Antioquía. Medellín, Colombia; 19(1): 195 – 197.
- Pinheiro de Souza, R.; Perego, p.; Nogueira de Oliveira, M.; Converti, A. 2012. Effect of inulin on the growth and metabolism of a probiotic strain of *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. El Sevier Journal. LWT – Food Science and Technology 47: 358 – 363.
- Rodríguez-Zevallos, A.; Hayayumi-Valdivia, M.; Siche, R. 2018. Optimization of polyphenols and acceptability of jelly candies with ginger (*Zingiber officinale R.*) extract and honey with Mixture Design. Braz. J. Food Technol. 21: e2017132.
- Ruiz, J.; Ramírez, A. 2009. Elaboración de yogurt con probióticos (*Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina. Revista de la Facultad de Agronomía (Aragua – Venezuela) 26: 223 – 242.
- Serna, L.; Rodríguez, A. 2005. Producción Biotecnológica de Ácido Láctico: Estado del Arte. Ciencia y Tecnología Alimentaria 5 (1): 54 – 65.
- Villavicencio, L. 2006. Viabilidad de *Lactobacillus casei Shirota* y *Lactobacillus rhamnosus* en Jugo de Cranberry. Tesis de grado. Universidad Austral de Chile. Valdivia – Chile. 60 pp.