

ELABORACIÓN DE HARINA DE *Smallanthus sonchifolius* (POEPP.) H. ROB. "YACÓN" Y SU INFLUENCIA EN EL CRECIMIENTO DE DOS BACTERIAS PROBIÓTICAS

Elaboration of *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. "yacon" flour and its influence on the growth of two probiotic bacteria

Daniel A. Coronado¹, María E. Salazar²

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica. ²Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo", Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos

RESUMEN

Smallanthus sonchifolius Poepp & Endl "yacon", es una planta nativa de Sudamérica cuya raíz almacena carbohidratos en forma de inulina o fructooligosacáridos (FOS) (polímeros de fructosa), los cuales son reconocidos como fibra dietética y prebiótico. El presente trabajo tuvo como objetivo la elaboración de harina de yacon y estudiar su influencia en el crecimiento de dos bacterias probióticas. Mediante la evaluación y comparación de dos diseños: A con molienda de la raíz y B acondicionando el zumo, se pudo optimizar la obtención de harina para lograr mayor cantidad de azúcares totales y reductores, que fue 88,15 y 9,03%, respectivamente. El diseño B se consideró como la mejor forma de producirla. En cuanto a la influencia sobre bacterias probióticas, se pudo apreciar que la harina de yacon mejora considerablemente el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium breve*.

Palabras clave: Harina de yacon, FOS, bacterias probióticas.

SUMMARY

Smallanthus sonchifolius Poepp & Endl "yacon" is a native plant from South America, its root stores carbohydrates in the form of inulin or fructooligosaccharides (FOS) (polymers of fructose), which are recognized as dietary fiber and prebiotic. This study aimed to elaborate yacon flour and investigate its influence in growth of two probiotic bacteria. By the evaluation and comparing two designs: A with grinding of the root and B conditioning the juice, it was able to optimize the production of flour, obtaining an improvement in the amount of total and reducing sugars, which were 88,15 and 9,03%, respectively. The B design was the best way to get yacon flour. About the influence on probiotic bacteria, was observed that yacon flour improve considerably the growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium breve*.

Keywords: Yacon flour, FOS, probiotic bacteria.

INTRODUCCIÓN

El enfoque que existe sobre alimentación y salud en los países occidentales han provocado intenso interés en la identificación de nuevos alimentos e ingredientes funcionales para prevenir enfermedades específicas (diabetes, obesidad, etc.). América del Sur posee amplia variedad de plantas con potencial olvidado, por lo que son poco utilizadas. Uno de estos activos redescubierto, es el *Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl "yacon", que es una fuente muy abundante de fructooligosacáridos (FOS) ^{1,2}, carbohidratos compuestos principalmente por fructosa y escasos residuos de glucosa, considerados como prebióticos que cumplen con todos los criterios de clasificación y seguridad alimentaria ³.

Los prebióticos son ingredientes no digeribles de la dieta que producen efectos beneficiosos estimulando selectivamente el crecimiento o actividad de uno o más tipos de bacterias en el colon, que a su vez tienen la propiedad de elevar el potencial de salud del consumidor. Los probióticos son microorganismos vivos, que al ser agregados como suplemento en la dieta, afectan en forma beneficiosa el desarrollo de la flora microbiana en el intestino ⁴.

El colon humano constituye un complejo ecosistema de diferentes especies de bacterias cuya actividad y cantidad se ve afectada por la fisiología gastrointestinal y por los sustratos

de fermentación con que dispongan ⁵. En este órgano son fermentados los FOS de forma selectiva por muchas bacterias probióticas como bifidobacterias, lactobacilos, entre otros.) Las bifidobacterias, que constituyen hasta un 25% de la flora del colon, al fermentar los fructanos, contribuyen a la disminución y hasta eliminación de cepas patógenas sensibles al medio ácido, por liberación de bacteriocinas y competencia por los sitios de adhesión, entre otros ⁶.

El yacon es una raíz tuberosa oriunda de la región andina, domesticada desde épocas preincaicas. Contiene grandes cantidades de FOS de tipo inulina (50 a 60% de masa seca), que son azúcares con propiedades benéficas para la salud, como la capacidad para estimular el desarrollo de bifidobacterias en el intestino humano y presentar bajo valor calórico (1 a 3 Kcal/g) ⁹. Son de interés para la industria alimentaria, como edulcorante alternativo a la sacarosa o como alimento funcional ^{7,8}. A diferencia de otras fuentes de este tipo de carbohidratos, el yacon es tan rico en ellos, que una dosis efectiva está garantizada por el consumo de una cantidad moderada de la raíz, la cual se describe como agradable al paladar, y de la que pueden extraerse directamente los FOS sin necesidad de proceso de transformación alguno.

Los FOS se emplean en la elaboración de alimentos nutracéuticos o funcionales, es decir aquellos alimentos

que independientemente de su valor nutritivo ejercen un efecto favorable sobre la salud del consumidor⁹. Como el mercado para este tipo de productos está en expansión, el yacón podría posicionarse en él, sin embargo, su potencial no se limita a ello, pues también se puede obtener una gama de productos procesados que permitirían generar valor agregado, con los que desarrollaría y afianzaría aceptación; uno de estos derivados es la harina de yacón. Por ello el presente trabajo tuvo como objetivos la elaboración de harina de *Smallanthus sonchifolius* “yacón”, estudiar su contenido de azúcares y evaluar la influencia de éstas en el crecimiento de dos bacterias probióticas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo es experimental y prospectivo. Se desarrolló en el laboratorio de Farmacognosia y en el Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

La recolección de las muestras de yacón se realizó a 2100 m de altitud, en la localidad de Jaípe, distrito de Lonya Grande, provincia de Utcubamba en el departamento de Amazonas. La muestra fue estudiada y clasificada científicamente como *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob., ocupando las siguientes categorías taxonómicas:

División : Magnoliophyta
 Clase : Magnoliopsida
 Sub Clase: Asteridae
 Orden : Asterales
 Familia : Asteraceae
 Género : *Smallanthus*
 Especie : *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.

El resto de la planta fue almacenada a 5°C para su respectivo análisis y elaboración de harina.

Para mejor uniformidad de la muestra, se hizo la selección de raíces en base a diámetro promedio, longitud y peso.

Obtención de la harina

La elaboración de la harina se realizó de dos formas: A: molienda de la raíz; y B: acondicionando la muestra (zumo de yacón)⁸.

Selección: se seleccionó la materia prima separando las muestras que estaban maltratadas, secas u oscuras. **Lavado y desinfectado:** las raíces se lavaron para eliminar residuos indeseables presentes. La desinfección se realizó con una solución de hipoclorito de sodio 2% para eliminar posibles microorganismos adheridos a la muestra. **Pelado:** fue de forma manual con la ayuda de peladores de acero inoxidable, se utilizó ácido ascórbico 0,07% como antioxidante para prevenir el pardeamiento enzimático y preservar el color. **Troceado:** las raíces se redujeron de tamaño hasta un espesor aproximado de 15 mm, de esta manera se optimizó el proceso de blanqueado. **Escaldado o blanqueado:** se sometió la materia prima a un baño de agua hirviendo (92°C) con la finalidad de: a) terminar la limpieza del producto, b) provocar la destrucción de oxidasas que pardean el producto, c) fijar y conservar el color y, d) mejorar las condiciones del material para la desecación. El proceso de escaldado contribuye a una

esterilización parcial, puesto que la elevada temperatura que alcanza destruye los microorganismos.

Obtención de harina según el diseño A:

Molienda: luego del paso anterior, parte de las muestras se trituraron en un molino de martillos para obtener la harina según el diseño A.

Obtención de harina según el diseño B:

Obtención del zumo: las muestras restantes fueron licuadas y filtradas en telas de tocuyo para eliminar sólidos insolubles y restos groseros, facilitando la evaporación y la concentración de azúcar (grados Brix). **Concentración:** el zumo fue colocado en baño maría a 60°C hasta 20°Bx en promedio, con la finalidad de reducir el peso y el volumen y así facilitar el proceso de secado⁴. **Secado:** la muestra obtenida se trasladó a bandejas de acero inoxidable para eliminar el resto de agua contenida en la raíz en una estufa a 60 y 40°C por al menos 48 horas. El secado concluyó cuando el producto se tornó duro y quebradizo. **Molienda:** se molió el producto deshidratado en molino de cuchillas obteniéndose harina según el diseño B.

Las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno de alta densidad y selladas con el fin de asegurar el aislamiento completo del medio ambiente (oxígeno, humedad) y contribuir a su conservación. Ambos productos obtenidos fueron sometidos a análisis químicos y a la evaluación de la actividad prebiótica.

Análisis químicos

Se realizó el análisis proximal, determinación de sólidos solubles y pH, según AOAC¹⁰.

Se determinó la concentración de azúcares reductores, mediante el ensayo del ácido dinitrosalicílico (DNS) que en medio alcalino reacciona con el grupo reductor de la glucosa formando un compuesto de color rojo cuya intensidad es proporcional a la cantidad de azúcares reductores presentes, expresados como glucosa equivalente. Para esta prueba se añadieron DNS (1 mL) y agua (1 mL) a cada muestra y a una solución de glucosa estándar (1 mL), llevándose a ebullición por 15 minutos, para luego enfriarlas en baño de hielo por 2 minutos. Luego se fue añadiendo agua (9 mL) y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. El contenido de azúcares reductores de la muestra se comparó con la curva estándar de glucosa^{2,6,9}.

Se determinó la concentración de azúcares totales^{2,6,9}, con el método del ácido sulfúrico-fenol que fue calibrado con D-glucosa estándar de 0 a 100 µg/mL y los resultados expresados en equivalentes de glucosa. A las muestras y a una solución estándar de glucosa (1 mL) se les añadió solución de fenol 5% (1 mL) y ácido sulfúrico concentrado (5 mL) agitándose 10 minutos. Luego se dejaron en reposo por 20 minutos a temperatura ambiente y después se midió la absorbancia a 490 nm.

Análisis microbiológicos

Se prepararon inóculos por triplicado, para los oligosacáridos provenientes de las harinas A y B y un control.

El inóculo de *Lactobacillus acidophilus* se cultivó en caldo MRS a 37°C por 48 horas hasta obtener una concentración de 5×10^7 ufc/mL y luego se diluyó con 250

Tabla 1. Características físicas de la raíz de yacón.

	Promedio	Mínimo	Máximo
Peso (g)	401,64	260,95	715,95
Diámetro central (cm)	4,25	2,30	5,45
Longitud (cm)	21,71	15	25
Color (pulpa)		Amarillo	
Color (cáscara)		Marrón	

Tabla 2. Análisis proximal de las muestras de harina de yacón obtenidas según dos diseños.

Componentes	Diseño A (%)	Diseño B (%)
Humedad	2,58	2,30
Cenizas	3,09	2,98
Proteína total	5,52	5,50
Fibra	0,85	0
Grasa	0,93	1,07
Carbohidratos	87,03	88,15

Tabla 3. Recuento de *L. acidophilus*.

Muestra	Recuento microbiano (UFC/mL)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Inóculo (control)	3x10 ⁴	1,0x10 ⁶	2x10 ⁷	5x10 ⁸
Inóculo + harina obtenida según el diseño A	5x10 ⁴	1,08x10 ⁶	4x10 ⁷	7x10 ⁸
Inóculo + harina obtenida según el diseño B	6x10 ⁴	1,94x10 ⁶	7x10 ⁷	1,3x10 ⁹

Tabla 4. Absorbancias de *L. acidophilus*.

Muestra	Absorbancia (A)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Inóculo (control)	0,016	0,243	0,464	0,908
Inóculo + harina obtenida por según el diseño A	0,032	0,105	0,433	0,939
Inóculo + harina obtenida por según el diseño B	0,072	0,127	0,453	0,984

Tabla 5. Recuento de *B. breve*.

Muestra	Recuento microbiano (UFC/mL)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Inóculo (control)	3x10 ⁴	1,0x10 ⁶	2x10 ⁷	1,10x10 ⁸
Inóculo + harina obtenida según el diseño A	5x10 ⁴	1,28x10 ⁶	4x10 ⁷	2,3x10 ⁸
Inóculo + harina obtenida según el diseño B	6x10 ⁴	2,43x10 ⁶	7x10 ⁷	2,78x10 ⁹

Tabla 6. Absorbancias de *B. breve*.

Muestra	Absorbancia (A)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Inóculo (control)	0,019	0,243	0,433	0,581
Inóculo + harina obtenida por según el diseño A	0,029	0,274	0,453	0,608
Inóculo + harina obtenida por según el diseño B	0,038	0,296	0,464	0,624

mL de caldo MRS hasta una concentración de 5×10^4 ufc/mL. Se prepararon soluciones al 1% p/v de las muestras y se añadieron a los caldos con inóculo. Se incubaron a 37°C por 72 horas en condiciones anaeróbicas.

La otra cepa probiótica, *Bifidobacterium breve*, fue cultivada en caldo MRS reforzado con clorhidrato de cisteína (0,5 g/L), dicloxacilina (0,05 g/L) y cloruro de litio (2 g/L). El inóculo se incubó a 37°C por 48 horas para obtener una concentración de 5×10^7 ufc/mL que se diluyó

con 250 mL de caldo MRS reforzado para obtener una concentración de 5×10^4 ufc/mL, luego se añadieron las soluciones de las muestras al 1% p/v y se incubaron a 37°C por 72 horas en condiciones anaeróbicas.

Evaluación del crecimiento por espectrofotometría y recuento por dilución

Se tomaron muestras al inicio y a las 24, 48 y 72 horas, midiéndose en cada una la absorbancia a 500 nm y realizando diluciones seriadas de $1/10^5$ a $1/10^9$ que se sembraron por incorporación en agar MRS para *L. acidophilus* y agar MRS reforzado para *B. breve*, por duplicado. Luego se incubaron en condiciones apropiadas por 72 horas a 37°C y se realizó el recuento expresado en ufc/mL.

RESULTADOS

Los datos correspondientes a las medidas de diámetro, longitud y peso se aprecian en la tabla 1.

La cuantificación de los componentes de las muestras de harina obtenidas por los dos diseños, se realizó mediante el análisis proximal, los resultados se exhiben en la tabla 2.

El porcentaje de azúcares reductores y pH para la harina obtenida por el diseño A fueron 7,65% y 4,40, respectivamente, mientras que para la obtenida según B fueron 9,03% y 4,49, respectivamente.

Los promedios de los resultados de la evaluación de la actividad prebiótica de ambas harinas con cada microorganismo, se expresaron como recuentos (ufc/mL) a las 0, 24, 48 y 72 horas (tablas 3 y 5), y como absorbancias (tablas 4 y 6).

DISCUSIÓN

Los carbohidratos representan alrededor del 90% del peso seco de las raíces del yacón¹¹. Los resultados obtenidos, se aproximan mucho a los de Seminario¹, que reportó una concentración de carbohidratos y valores de azúcares reductores para la segunda cosecha muy cercanos a los del presente estudio, aunque en cuanto al pH aquí se evidenció ligera acidez. Dicha similitud podría deberse a que Cajamarca y Amazonas presentan condiciones climáticas relativamente parecidas.

Es importante mencionar que en el proceso de obtención de la harina de yacón, el secado fue artificial y esto evita significativamente que disminuya la cantidad de fructanos en comparación con el tratamiento solar, donde parte de ellos se convierten en fructosa¹².

Al yacón se le han atribuido efectos benéficos a nivel gastrointestinal, pues mejora la flora microbiana y la respuesta del sistema inmunológico, lo que previene infecciones intestinales¹³. El presente estudio podría reforzar la afirmación referente a la flora, puesto que el resultado de los recuentos indica que la harina obtenida, incrementó la cantidad de *Lactobacillus acidophilus* a lo largo del tiempo.

Entre las dos formas de harina obtenidas, el mejor resultado –en lo referente a *L. acidophilus*– se logró con el diseño B, sobre todo al tercer día de incubación, posiblemente porque contiene mayor cantidad de

azúcares, lo que concuerda con lo reportado por Kaplan *et al.* quienes trabajaron con con *L. paracasei*¹⁴.

El crecimiento de *Bifidobacterium breve* no mostró diferencia considerable entre ambas harinas, posiblemente porque esta bacteria es más exigente nutricionalmente y la mejora en su multiplicación requeriría la presencia de otros factores de crecimiento. La modulación de la comunidad bacteriana intestinal hacia una dirección benéfica, ya sea alimentando con bacterias vivas (probióticos) o con carbohidratos especializados (prebióticos) para estas bacterias favorecedoras, puede ser lograda cambiando la dinámica intestinal a través de las modulaciones dietéticas¹⁵.

Los resultados indican que se podría utilizar la harina de yacón como alimento prebiótico para favorecer el crecimiento de microorganismos que forman parte de la flora microbiana no sólo humana sino también animal¹⁶. Además, por ser perecibles, requieren de procesamiento, lo que ofrecería diversas alternativas a la comercialización tradicional de las raíces frescas^{17,18}, una de las cuales sería la elaboración de harina bajo condiciones óptimas que mantengan los valores de sus principales componentes.

CONCLUSIONES

La mayor cantidad de carbohidratos (azúcares totales y reductores) se encuentran en la harina obtenida por el diseño B.

Los azúcares presentes en la harina de yacón obtenida por los diseños A y B estimulan el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* incrementando su número de 5×10^4 a 7×10^8 y de 6×10^4 a $1,3 \times 10^9$ ufc/mL, respectivamente, así como también actúan estimulando el crecimiento de *Bifidobacterium breve* incrementando su número de 5×10^4 a $2,3 \times 10^8$ y 6×10^4 a $2,78 \times 10^8$ ufc/mL, respectivamente.

Agradecimiento

Al VRI de la UNMSM por el financiamiento Proyecto N° 110400097.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Seminario J, Valderrama M, Manrique I. Yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Centro Internacional de la Papa, Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Lima; 2003.
- Chávarry R. Influencia en las condiciones de almacenaje del yacón fresco (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) en sus compuestos bioactivos. [Tesis]. Universidad Nacional Agraria. Lima, 2007.
- Chacón A. Perspectivas agroindustriales actuales de los oligofruetosacáridos (FOS). Agron Mesoam. 2006; 17(2): 265-86.
- Ávila J, Ávila M, Tovar B, Brizuela M, Perazzo Y, Hernández H. Capacidad probiótica de cepas del género *Lactobacillus* extraídas del tracto intestinal de animales de granja. Rev Cient Maracaibo. 2010; 20(2): 161-70.
- Mabel MJ, Sangeetha PT, Platel K, Srinivasan K, Prapulla SG. Physicochemical characterization of fructooligosaccharides and evaluation of their suitability as a potential sweetener for diabetics. Carbohydr Res. 2008; 343(1): 56-66.
- López-Molina D, Navarro-Martínez MD, Rojas F, Hiner AN, Chazarra S, Rodríguez-López JN. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). Phytochemistry. 2005; 66(12): 1476-84.
- Faustino A. Extrato acuoso de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) deshidratado por atomización. [Tesis de Maestría]. Universidade Federal de Goias. Goiania, 2012.
- Ojansivu I, Ferreira CL, Salminen S. Yacón, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. Trends Food Sci Tech. 2011; 22(1): 40-6.
- Wichienchot S, Jatupornpipat M, Rastall RA. Oligosaccharides of pitaya (Dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. Food Chem. 2010; 120(3): 850-7.
- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington: AOAC Inc, 1995.
- Lachman J, Fernández EC, Orsák M. Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Et Endl. H. Robinson) chemical composition and use – a review. Plant Soil Environ. 2003; 49(6): 283-90.
- Carvalho S, Toledo I, Araujo F, Pereira G. Fructanos en raíces tuberosas de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. and Endl.) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. Agro-Ciencia. 2004; 20(1): 17-23.
- Roberfroid M. Concept in functional foods: the case of inulin and oligofructose. J Nutr. 1999; 129 Suppl 7: S1398-401.
- Kaplan H, Hutckins R. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. Appl Environ Microbiol. 2003; 69(4): 2217-22.
- Apajalahti J. Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. J Appl Poult Res. 2005; 14(2): 444-53.
- Fuentes N, Figueroa E, Carcelén F, Arbaiza T. Harina de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como prebiótico en dietas de patos Muscovy (*Cairina moschata*) en etapa de engorde. Rev Inv Vet Perú. 2012; 23(1): 105-11.
- González H. Evaluación de la harina de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como prebiótico en dietas de pavos de engorde. [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2009.
- Indecopi. Boletín BioPat Perú. Tema: Yacón. [Internet]. Abril 2015 [Citado 22 julio 2016]; 1(4): 1-20. Disponible en https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/202940/04.-Boletin4_YACON.pdf

Manuscrito recibido el: 16/03/2016

Aceptado para su publicación el: 19/09/2016

Correspondencia

Nombre: María Elena Salazar Salvatierra

Dirección: Jr. Puno 1002 – Lima

e-mail: msalazars@unmsm.edu.pe