

UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y AMBIENTALES



Desarrollo de masatos comerciales de *Manihot esculenta* Crantz
“yuca” con incorporación de bacterias ácido lácticas nativas con
potencial probiótico, edulcoradas con panela granulada orgánica

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL Y DE BIOCOMERCIO**

AUTOR

Denis Javier García Cortez

ASESORES

Nilda Doris Montes Villanueva
Teresa Damaris Rebaza Cardenas

Morropón, Perú

2024

METADATOS COMPLEMENTARIOS**Datos de los Autores****Autor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Autor 2

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Autor 3

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Autor 4

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (opcional)	

Datos de los Asesores**Asesor 1**

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

Asesor 2

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	
Número de Orcid (Obligatorio)	

Datos del Jurado

Presidente del jurado

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

Segundo miembro

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

Tercer miembro

Nombres	
Apellidos	
Tipo de documento de identidad	
Número del documento de identidad	

Datos de la Obra

Materia*	
Campo del conocimiento OCDE Consultar el listado:	
Idioma	
Tipo de trabajo de investigación	
País de publicación	
Recurso del cual forma parte (opcional)	
Nombre del grado	
Grado académico o título profesional	
Nombre del programa	
Código del programa Consultar el listado:	

***Ingresar las palabras clave o términos del lenguaje natural (no controladas por un vocabulario o tesauro).**

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 039 - 2024/UCSS/FCAA/DI

Siendo las 10:00 a.m. del viernes 06 de setiembre de 2024 a través de la plataforma virtual zoom de la Universidad Católica Sedes Sapientiae, el Jurado de Tesis integrado por:

- | | |
|----------------------------------|-----------------|
| 1. Wilfredo Mendoza Caballero | presidente |
| 2. José Luis Sosa León | primer miembro |
| 3. José Víctor Ruiz Ccancce | segundo miembro |
| 4. Nilda Doris Montes Villanueva | asesor(a) |

Se reunieron para la sustentación virtual de la tesis titulada:

Desarrollo de masatos comerciales de *Manihot esculenta* Crantz “yuca” con incorporación de bacterias ácido lácticas nativas con potencial probiótico, edulcoradas con panela granulada orgánica

Que presenta el bachiller en **Ingeniería Agroindustrial y de Biocomercio**:

Denis Javier Garcia Cortez

Cumpliendo así con los requerimientos exigidos por el reglamento para la modalidad de titulación; la presentación y sustentación de un trabajo de investigación original, para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Agroindustrial y de Biocomercio**.

Terminada la sustentación y luego de deliberar, el jurado acuerda:

APROBAR **X**
DESAPROBAR ...

La tesis, con el calificativo de **MUY BUENA** y eleva la presente acta al decanato de la **Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales**, a fin de que se declare EXPEDITA para conferirle el TÍTULO de INGENIERO AGROINDUSTRIAL Y DE BIOCOMERCIO.

Lima, 06 de setiembre de 2024.



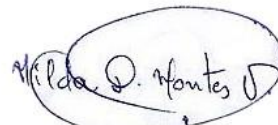
Wilfredo Mendoza Caballero
Presidente



José Luis Sosa León
1° miembro



José Víctor Ruiz Ccancce
2° miembro



Nilda Doris Montes Villanueva
Asesor(a)

Anexo 2

CARTA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR(A) DE TESIS CON INFORME DE EVALUACIÓN DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO

Lima, 26 de enero de 2024

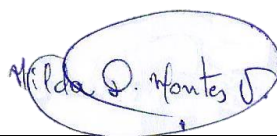
Señor(a),
Wilfredo Mendoza Caballero
Jefe del Departamento de Investigación
Facultad de Ingeniería Agraria

Reciba un cordial saludo.

Sirva el presente para informar que **la tesis**, bajo mi asesoría, con título: “Desarrollo de masatos comerciales con incorporación de bacterias ácido lácticas nativas con potencial probiótico, edulcoradas con panela granulada orgánica”, presentado por Denis Javier García Cortez con código de estudiante 2013101864 y DNI Nro. 75694404 para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial y de Biocomercio, ha sido revisado en su totalidad por mi persona y **CONSIDERO** que el mismo se encuentra **APTO** para ser sustentado ante el Jurado Evaluador.

Asimismo, para garantizar la originalidad del documento en mención, se le ha sometido a los mecanismos de control y procedimientos antiplagio previstos en la normativa interna de la Universidad, **cuyo resultado alcanzó un porcentaje de similitud de 0 % (*)**. Por tanto, en mi condición de asesor(a), firmo la presente carta en señal de conformidad y adjunto el informe de similitud del Sistema Antiplagio Turnitin, como evidencia de lo informado.

Sin otro particular, me despido de usted. Atentamente,



Firma del Asesor (a)

Nilda Doris Montes Villanueva

DNI N°: 08633219

ORCID: 0000-0001-7348-1130

Facultad de Ingeniería Agraria - UCSS

* De conformidad con el artículo 8°, del Capítulo 3 del Reglamento de Control Antiplagio e Integridad Académica para trabajos para optar grados y títulos, aplicación del software antiplagio en la UCSS, se establece lo siguiente:

Artículo 8°. Criterios de evaluación de originalidad de los trabajos y aplicación de filtros

El porcentaje de similitud aceptado en el informe del software antiplagio para trabajos para optar grados académicos y títulos profesionales, será máximo de veinte por ciento (20%) de su contenido, siempre y cuando no implique copia o indicio de copia.

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres con mucho amor y afecto, a mis hermanos: Jaqueline, Rosario, Vanessa y Debora. A César Delgado P., por ser una persona carismática y guía en sus consejos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por darme la vida y brindarme las fuerzas necesarias para luchar día a día en cumplir mis sueños; a mis hermanos y de manera muy especial a mis padres Abraham e Irma en la eternidad por su educación y apoyo. A la Doctora Nilda Montes Villanueva, por darme la oportunidad de participar en el proyecto de investigación “Alimentos Vegetales con Funcionalidad Probiótica para Poblaciones Infantiles Desnutridas”, asimismo por brindarme su asesoría e impartirme conocimientos científicos sobre el manejo de experimentos, la ética y la conducta responsable en la investigación científica.

Mis agradecimientos también para la Bióloga Teresa Rebaza Cárdenas por proporcionarme conocimientos importantes en microbiología y manejo de equipos de laboratorio. Ambas asesoras me han permitido entender todas las fases implicadas en el estudio desde la planificación, compra de materiales e insumos a la ejecución del mismo, así como valorar sus fortalezas y aprender de las debilidades para la generación de nuevas investigaciones. Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) por el financiamiento brindado para la ejecución de esta investigación a través de su unidad ejecutora, el Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT). A la Universidad Católica Sedes Sapientiae por permitirme utilizar sus instalaciones del Laboratorio de Microbiología y Biotecnología para los análisis requeridos por el estudio. Agradecimiento especial a la Dra. Patricia Ruas, quien fue la coordinadora general del proyecto ProInfant a nivel de Iberoamérica y por sus valiosos aportes y sugerencias para el diseño de la investigación.

A mis mejores amigos: Giancarlo, Waldir y Decsy; por los momentos gratos y ayuda mutua en los momentos difíciles de mi vida, a Daniela A., gracias por sus continuas motivaciones y enseñarme con la práctica a ser una persona humilde con mente razonante. A todas las personas que contribuyeron en el desarrollo de esta investigación por su tiempo y colaboración. Asimismo, estoy muy agradecido con todos los peruanos por sus impuestos y al Programa Nacional de Becas y Créditos (PRONABEC) por otorgarme una beca integral para estudiar la carrera profesional de Ingeniería Agroindustrial y de Biocomercio.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE APÉNDICES.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Antecedentes.....	5
1.1.1. Internacionales.....	5
1.1.2. Nacionales.....	18
1.2. Bases teóricas especializadas.....	20
1.2.1. Descripción de la “yuca”.....	20
1.2.2. Bebidas fermentadas.....	22
1.2.3. Panela granulada.....	29
1.2.4. Fermentación alcohólica.....	30
1.2.5. Fermentación ácido láctica.....	31
1.2.6. Las bacterias ácido lácticas (BAL).....	31
1.2.7. Alimentos funcionales.....	39
1.2.8. Microorganismos probióticos.....	39
1.2.9. Las bacteriocinas.....	41
1.2.10. Las levaduras.....	42
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
2.1. Diseño de la investigación.....	44
2.2. Lugar y fecha.....	44
2.3. Descripción del experimento.....	45
2.4. Tratamientos.....	49
2.5. Unidades experimentales.....	49
2.6. Identificación de variables y su mensuración.....	49
2.7. Diseño estadístico del experimento.....	58
2.8. Análisis estadístico de datos.....	58

2.9. Materiales y equipos	59
CAPÍTULO III: RESULTADOS	62
3.1. Efecto de la adición de las cepas nativas de bacterias ácido lácticas en las características fisicoquímicas de las distintas formulaciones de masato	62
3.1.1. Análisis de la temperatura	62
3.1.2. Análisis de los sólidos solubles.....	64
3.1.3. Análisis del pH.....	66
3.1.4. Análisis de la acidez titulable.....	68
3.1.5. Análisis del grado alcohólico	70
3.1.6. Análisis de la densidad.....	72
3.2. Análisis de la viabilidad de las bacterias ácido lácticas nativas durante el proceso de elaboración de los masatos y durante el almacenamiento en refrigeración ...	73
3.2.1. Durante el proceso de elaboración	73
3.2.2. Durante el almacenamiento en refrigeración	75
3.3. Análisis del recuento de la levadura <i>S. cerevisiae</i> durante el proceso de fermentación de los masatos y durante el almacenamiento en refrigeración	77
3.3.1. Durante el proceso de elaboración	77
3.3.2. Durante el almacenamiento en refrigeración	79
3.4. Calidad microbiológica de las formulaciones de masato durante el proceso de fermentación y durante el almacenamiento en refrigeración.....	82
3.4.1. Durante el proceso de elaboración	82
3.4.2. Durante el almacenamiento en refrigeración	82
3.5. Evaluación sensorial a través de pruebas de aceptación con consumidores	83
CAPÍTULO IV: DISCUSION.....	88
4.1. Efecto de la adición de las cepas nativas de bacterias ácido lácticas en las características fisicoquímicas de las distintas formulaciones de masato	88
4.1.1. Temperatura	88
4.1.2. Sólidos solubles.....	89
4.1.3. pH.....	90
4.1.4. Acidez titulable	92
4.1.5. Grado alcohólico	93
4.1.6. Densidad.....	94
4.2. Análisis de la viabilidad de las bacterias ácido lácticas nativas durante el proceso de elaboración de los masatos y durante el almacenamiento en refrigeración ...	95

4.2.1. Durante el proceso de elaboración	95
4.2.2. Durante el almacenamiento en refrigeración	96
4.3. Análisis del recuento de la levadura <i>S. cerevisiae</i> durante el proceso de fermentación de los masatos y durante el almacenamiento en refrigeración	98
4.3.1. Durante el proceso de elaboración	98
4.3.2. Durante el almacenamiento en refrigeración	98
4.4. Calidad microbiológica de las formulaciones de masato durante el proceso de fermentación y durante el almacenamiento en refrigeración	99
4.4.1. Durante el proceso de elaboración	99
4.4.2. Durante el almacenamiento en refrigeración	100
4.5. Aceptabilidad de las formulaciones de masato	101
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES	103
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES	104
REFERENCIAS	105
TERMINOLOGÍA	122
APÉNDICES	124

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. <i>Tabla Composición comparativa de la Manihot esculenta “yuca” amarilla y blanca sin cáscara</i>	21
Tabla 2. <i>Criterios microbiológicos para bebidas jarabeadas y no jarabeadas no carbonatadas</i>	23
Tabla 3. <i>Composición química del masato, la chicha de jora y chicha de maní</i>	24
Tabla 4. <i>Valor nutricional de la azúcar cruda, refinada y panela</i>	29
Tabla 5. <i>Tratamientos experimentales aplicados en las formulaciones de masatos comerciales con incorporación de bacterias ácido lácticas nativas (BAL) de potencial probiótico</i>	49
Tabla 6. <i>VARIABLES, UNIDADES DE MEDIDA Y MÉTODOS DE MEDICIÓN</i>	50
Tabla 7. <i>Materia prima e insumos utilizados en el experimento</i>	59
Tabla 8. <i>Materiales empleados en la investigación</i>	60
Tabla 9. <i>Equipos usados en la realización de la investigación</i>	60
Tabla 10. <i>Instrumentos empleados en la investigación</i>	61
Tabla 11. <i>Medios de cultivo y reactivos usados en la investigación</i>	61
Tabla 12. <i>Análisis de varianza de la temperatura (°C) de las formulaciones de masato</i> ...	62
Tabla 13. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de la temperatura (°C) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato</i>	63
Tabla 14. <i>Análisis de varianza de los sólidos solubles (°Bx) de las formulaciones de masato</i>	64
Tabla 15. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de los sólidos solubles (°Bx) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato</i>	65
Tabla 16. <i>Análisis de varianza del pH de las formulaciones de masato</i>	66
Tabla 17. <i>Valores promedio y desviaciones estándar del pH según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato</i>	67
Tabla 18. <i>Análisis de varianza de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra) de las formulaciones de masato</i>	68
Tabla 19. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato</i>	69
Tabla 20. <i>Análisis de varianza del grado alcohólico (%v/v) de las formulaciones de masato</i>	70

Tabla 21. <i>Valores promedio y desviaciones estándar del grado alcohólico (%v/v) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato</i>	71
Tabla 22. <i>Análisis de varianza de la densidad (g/ml) de las formulaciones de masato</i>	72
Tabla 23. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de la densidad (g/ml) según el tipo de inóculo de las formulaciones de masato</i>	73
Tabla 24. <i>Análisis de varianza de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato</i>	73
Tabla 25. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato</i>	74
Tabla 26. <i>Análisis de varianza de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato</i>	75
Tabla 27. <i>Valores promedio y desviaciones estándar de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y tiempo de almacenamiento de las formulaciones de masato</i>	76
Tabla 28. <i>Análisis de varianza del recuento de Saccharomyces cerevisiae (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato durante el proceso de fermentación</i>	77
Tabla 29. <i>Valores promedio y desviaciones estándar del recuento de S. cerevisiae (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato</i>	78
Tabla 30. <i>Análisis de varianza del recuento de Saccharomyces cerevisiae (Log10 UFC/g) en las formulaciones de masato durante el almacenamiento en refrigeración</i>	80
Tabla 31. <i>Valores promedio y desviaciones estándar del recuento de S. cerevisiae (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento en refrigeración de las formulaciones de masato</i>	81
Tabla 32. <i>Calidad microbiológica de las formulaciones de masato a las 72 horas de fermentación</i>	82
Tabla 33. <i>Calidad microbiológica de las formulaciones de masato a los 17 días de almacenamiento</i>	83
Tabla 34. <i>Medias y desviaciones estándar de la aceptación de la apariencia general, el color, aroma, sabor, textura, calidad global e intención de compra de las formulaciones de masato</i>	86

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Flujograma de la elaboración del masato.	28
<i>Figura 2.</i> Activación de las bacterias ácido lácticas	46
<i>Figura 3.</i> Diagrama de flujo para la elaboración de masato de yuca	47
<i>Figura 4.</i> Elaboración del masato de yuca	48
<i>Figura 5.</i> Medición del pH de las formulaciones de masato.....	50
<i>Figura 6.</i> Medición de los sólidos solubles de las formulaciones de masato.....	51
<i>Figura 7.</i> Determinación del grado alcohólico del masato por el método de destilación simple	52
<i>Figura 8.</i> Medición de la acidez titulable de las formulaciones de masato.....	53
<i>Figura 9.</i> Medición de la densidad de las formulaciones de masato.....	54
<i>Figura 10.</i> Medición de la temperatura de las formulaciones de masato.....	55
<i>Figura 11.</i> Análisis microbiológicos de las formulaciones de masato.....	56
<i>Figura 12.</i> Evaluación sensorial de las formulaciones de masato.....	58
<i>Figura 13.</i> Valores promedio de la temperatura (°C) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación	64
<i>Figura 14.</i> Valores promedio de los sólidos solubles (°Bx) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación.....	66
<i>Figura 15.</i> Valores promedio del pH de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación	68
<i>Figura 16.</i> Valores promedio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación	70
<i>Figura 17.</i> Valores promedio del grado alcohólico (% v/v) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación.....	72
<i>Figura 18.</i> Valores promedio de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación	75
<i>Figura 19.</i> Valores promedio de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento	76
<i>Figura 20.</i> Valores promedio del recuento de <i>S.cerevisiae</i> (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación	79

<i>Figura 21.</i> Valores promedio del recuento de <i>S. cerevisiae</i> (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato según el tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento en refrigeración.....	81
<i>Figura 22.</i> Medias de aceptación de la apariencia general, color, aroma, sabor, textura y calidad global de las formulaciones de masato e intención de compra, según tipo de inóculo y adición de panela orgánica	87

ÍNDICE DE APÉNDICES

	Pág.
Apéndice 1. Ficha para reclutamiento de consumidores de bebidas fermentadas.....	124
Apéndice 2. Ficha de evaluación sensorial del masato de M. esculenta “yuca”	125
Apéndice 3. Códigos para el análisis sensorial de las formulaciones masato de M. esculenta “yuca”.....	127
Apéndice 4. Diseño estadístico para el orden de presentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca” a los consumidores	127
Apéndice 5. Crecimiento de los inóculos en cicloheximida y cloranfenicol	129
Apéndice 6. Análisis de varianza de la aceptación de la apariencia general de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”.....	129
Apéndice 7. Análisis de varianza de la aceptación del color de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”.....	129
Apéndice 8. Análisis de varianza de la aceptación del aroma de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”.....	130
Apéndice 9. Análisis de varianza de la aceptación del sabor de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”.....	130
Apéndice 10. Análisis de varianza de la aceptación de la textura de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”.....	130
Apéndice 11. Análisis de varianza de la aceptación de la calidad global de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”.....	130
Apéndice 12. Análisis de varianza de la intención de compra de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”.....	131
Apéndice 13. Balance de materia para 1000 g de masato de M. esculenta “yuca”.....	132
Apéndice 14. Certificación orgánica de la panela (caña de azúcar).....	133

RESUMEN

El estudio buscó desarrollar masatos comerciales de *Manihot esculenta* Crantz “yuca” con incorporación de 1 % (p/v) de bacterias ácido lácticas (*Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus plantarum*) nativas con potencial probiótico, edulcoradas con panela granulada orgánica. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos y microbiológicos durante las 72 h de fermentación. Luego, se determinaron sólo parámetros microbiológicos en los 17 días de almacenamiento en refrigeración. Para evaluar la aceptación sensorial de las bebidas, al 50 % de estas se les adicionó panela granulada orgánica a 14 °Bx. Durante la fermentación de los masatos, la temperatura aumentó de 18,4 a 27 °C, los sólidos solubles descendieron de 12,5 a 4,0 °Bx, el pH varió de 6,3 a 4,0, la acidez titulable aumentó de 0,1 a 0,5 g ácido láctico/100 g de muestra y el grado alcohólico se incrementó de 0 a 2 % v/v. La viabilidad BAL se mantuvo entre 7,1 y 7,6 Log₁₀ UFC/g. Después de 17 días de almacenamiento, los masatos alcanzaron una viabilidad BAL entre 7,3 y 7,9 Log₁₀ UFC/g. Solo los masatos edulcorados con panela presentaron calificaciones sensoriales promedio de 7,0 (me gustó moderadamente). Solo los masatos con adición de BAL se mantuvieron inocuos en todo el estudio.

Palabras clave: BAL, *Lactobacillus plantarum*, Masato, panela granulada, *Pediococcus acidilactici*.

ABSTRACT

The study sought to develop commercial Masates of *Manihot esculenta* Crantz “cassava” with the incorporation of 1% (w/v) of native lactic acid bacteria (*Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum*) with probiotic potential, sweetened with organic granulated brown sugar. Physicochemical and microbiological parameters were evaluated during the 72 h of fermentation. Then, only microbiological parameters were determined in the 17 days of refrigerated storage. To evaluate the sensory acceptance of the drinks, organic granulated brown sugar was added to 50 % of them at 14 °Bx. During the fermentation of the masates, the temperature increased from 18,4 to 27 °C, the soluble solids decreased from 12,5 to 4,0 °Bx, the pH varied from 6,3 to 4,0, the titratable acidity increased from 0,1 to 0,5 g lactic acid/100 g sample and the alcoholic strength was increased from 0 to 2 % v/v. BAL viability was maintained between 7,1 and 7,6 Log₁₀ CFU/g. After 17 days of storage, the masates reached a BAL viability between 7,3 and 7,9 Log₁₀ CFU/g. Only the masatos sweetened with panela presented average sensory ratings of 7.0 (I liked it moderately). All masatos with the addition of BAL remained safe throughout the study.

Keywords: granulated panela, LAB, *Lactobacillus plantarum*, masato, *Pediococcus acidilactici*.

INTRODUCCIÓN

La *M. esculenta* “yuca” es un arbusto perenne autóctono de Sudamérica que ha sido diseminado a diferentes países de áreas subtropicales y tropicales de Asia, América y África debido a su rusticidad y tolerancia a condiciones ambientales adversas. Es el cuarto alimento básico más importante a nivel global, solo superado por el “arroz”, el “trigo” y el “maíz”, aun así, se encuentra presente en la dieta básica de 800 a 1000 millones de personas en el mundo (Sacsara *et al.*, 2018). La producción de *M. esculenta* “yuca” en el Perú en los años 2010 – 2017 se ha mantenido en un nivel promedio de 1 196,4 miles de toneladas, con un rendimiento medio de 12,01 tm/ha (Instituto Nacional de Estadística e Informática [INEI], 2018).

La *M. esculenta* “yuca” ha desempeñado un papel muy importante en la cultura y alimentación de los pueblos andino-amazónicos del Perú (Meza y Julca, 2015). De hecho, el acervo mitológico de estos pueblos está ligado al descubrimiento, cuidado y consumo de la *M. esculenta* “yuca” (León y Zapata, 2008). Las relaciones ancestrales entre los distintos pueblos de la Amazonía con los pueblos andinos y la población del norte del Perú han permitido la incorporación de la *M. esculenta* “yuca” en sus propias dietas alimentarias (Daza, 2006), dando lugar a cientos de derivados y productos líquidos, semihúmedos o secos; elaborados de manera artesanal o industrial (León y Zapata, 2008). Según Daza (2006) la *M. esculenta* “yuca” es el cultivo más importante para la población de la Amazonía peruana. En una familia de la Amazonía central se consume aproximadamente 6,5 kg de yuca/día, requiriéndose 2 400 kg de yuca/año; para estas familias la *M. esculenta* “yuca” es indispensable para su autoconsumo destinándose menores cantidades para el mercado (Collado, 2002 citado por Daza, 2006).

El masato de *M. esculenta* “yuca” es una bebida tradicional autóctona de los pueblos amazónicos de Perú de consumo masivo y producción artesanal, obtenida a partir de la *M. esculenta* “yuca”. Para su elaboración, éstas son cocidas y molidas para la obtención de una masa, la cual es expuesta a una fermentación espontánea durante 72 – 96 h a temperatura ambiente.

Tradicionalmente, el masato de *M. esculenta* “yuca” es preparado con la saliva de niños y mujeres mayores, siendo esta fuente de enzimas alfa amilasas necesarias para la transformación de los almidones de la *M. esculenta* “yuca” y su posterior fermentación (Daza, 2006). El masato, debido a sus cualidades organolépticas, poco a poco ha ido ganando el mercado y por ende al consumidor ciudadano. Actualmente, el masato se prepara en las ciudades de la selva de forma comercial utilizando levaduras de pan, azúcar o jugo de caña para favorecer el inicio de la fermentación de la *M. esculenta* “yuca”. Sin embargo, la elaboración tradicional del masato de *M. esculenta* “yuca” no ha tenido mejoras tecnológicas y tampoco se han realizado estudios que conlleven a su producción comercial e industrialización (Albornoz, 1998). En un proceso de fermentación tradicional de la *M. esculenta* “yuca” actúan las levaduras sobre los azúcares reductores, sin embargo, existen otros microorganismos a los que se denominan bacterias ácido lácticas probióticas que también son partícipes de este proceso los cuales potencian el sabor, mejoran la conservación del alimento y enriquecen principios nutritivos por la biosíntesis de los aminoácidos esenciales, las vitaminas y las proteínas, proporcionando más micronutrientes y degradando los factores antinutritivos de una bebida fermentada (Domínguez *et al.*, 2005).

Según Kaźmierczak *et al.* (2022) en la actualidad existe un interés creciente por los probióticos para contribuir en el equilibrio microbiano intestinal del ser humano, logrando controlar la microbiota patógeno mediante la estimulación del sistema inmune. La demanda de bebidas probióticas ha tenido un crecimiento exponencial, debido en gran medida a los efectos positivos comprobados que estos alimentos poseen, mejorando la calidad de vida de los consumidores (Machado *et al.*, 2023). Entre los microorganismos probióticos más estudiados y utilizados se encuentran las bacterias ácido lácticas (BAL). El empleo de estas bacterias favorece la actividad del sistema inmune, permiten incrementar la resistencia contra microorganismos patógenos, reducen los problemas generados por la intolerancia a la lactosa, minimizan las enzimas fecales vinculadas al cáncer de colon, previenen las diarreas y logran reducir el colesterol sérico. Estos beneficios dependen de la cepa utilizada, pero en general el aumento de la resistencia contra patógenos es el beneficio más importante de estas bacterias.

Esta resistencia es propiciada por la acción de mecanismos que producen sustancias antimicóticas, bacteriocinas, etc. (González y Gómez, 2001 citado por Aguirre, 2016). Actualmente, muchas investigaciones se vienen realizando para la búsqueda y exploración de microorganismos benéficos para la salud producidos por fermentación espontánea, los cuales se encuentran presentes en alimentos y bebidas fermentadas de producción artesanal, como la chicha de jora y de siete semillas, el masato de *M. esculenta* “yuca”, el tocosh de papa, entre otros.

Sedano (2006) para detectar cepas ácido lácticas con propiedades antimicrobianas del masato de *M. esculenta* “yuca”, procesaron 11 muestras de masato procedentes de Pucallpa–Ucayali. De un total de 81 cepas de *Lactobacillus* aisladas, identificaron 33 (41 %) de *L. plantarum*, 13 (16 %) de *Lactobacillus alimentarius*, 12 (15 %) de *Lactobacillus acidophilus*, 9 (11 %) de *Lactobacillus casei* y en menores porcentajes *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus amylophilus* y *Lactobacillus coryniformis*. En todas las muestras de masato evaluadas, predominó *L. plantarum*, seguido de *L. acidophilus* y *L. alimentarius*. Rebaza *et al.* (2023) aislaron 16 cepas diferentes de bacterias ácido lácticas en dos bebidas fermentadas tradicionales de Perú. En la chicha de siete semillas reconocieron siete cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente *L. plantarum*). En el masato de *M. esculenta* “yuca”, los investigadores identificaron aparte de cinco cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* (M01, M04, M21, M41 y M82), dos cepas de *Limosilactobacillus fermentum* (anteriormente *L. fermentum*) y una cepa de *P. acidilactici* (M71) y una cepa de *Weissella confusa*. Estos resultados evidencian la gran diversidad de bacterias ácido lácticas existentes en el masato.

La presente investigación se divide en seis capítulos: en el primero, se presentan los antecedentes y fundamentos teóricos de la investigación, el segundo capítulo corresponde al proceso metodológico del estudio (materiales y métodos). En el tercer capítulo, se detallan los resultados obtenidos de las variables estudiadas, en el cuarto capítulo se contrastan los resultados con hallazgos de otros autores. Finalmente, se presentan las conclusiones y recomendaciones con el fin de orientar a futuros investigadores que deseen realizar investigaciones relacionadas con el masato de *M. esculenta* “yuca”.

OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar masatos comerciales de *M. esculenta* “yuca” con incorporación de bacterias ácido lácticas nativas con potencial probiótico, edulcoradas con panela granulada orgánica.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la adición de las cepas nativas de bacterias ácido lácticas (*L. plantarum* y *P. acidilactici*) en las características fisicoquímicas de las distintas formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”.
- Evaluar la viabilidad de las bacterias ácido lácticas nativas durante el proceso de elaboración y almacenamiento en refrigeración de las diferentes formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”.
- Determinar el recuento de la levadura *S. cerevisiae* durante el proceso de fermentación y almacenamiento en refrigeración de las diferentes formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”.
- Evaluar la calidad microbiológica de las diversas formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”.
- Evaluar el efecto de la adición de panela granulada orgánica en la aceptabilidad de los masatos de *M. esculenta* “yuca” utilizando pruebas sensoriales con consumidores.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

1.1.1. Internacionales

Alemneh *et al.* (2021) evaluaron la viabilidad del *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG (LGG) y *Lactobacillus plantarum* A6 (LA6) para desarrollar una bebida probiótica a base del cereal africano teff, Debrezeit, Etiopía. En el experimento aplicaron nueve tratamientos a partir de la combinación de dos factores: relación teff/agua (4; 5,5 y 7 % peso/volumen) y la viabilidad inicial del inóculo con sus niveles 5, 6 y 7 Log₁₀ UFC/ml. Las cepas de ambas bacterias fueron activadas en caldo MRS a 37 °C por 24 h luego, para ser inoculadas al 0,1 % en los diferentes tratamientos, evaluándose cada tres horas la viabilidad de las bacterias, el pH, la acidez, la concentración de glucosa y etanol durante las 24 h de fermentación. Los resultados no evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos, el pH descendió de 6,2 a 4, la viabilidad aumentó de 6 a 8,269 y 8,416 Log₁₀ UFC/ml para el LA6 y LGG, respectivamente y la acidez aumentó de 0,4 a 1,5 g/l. En cuanto al sustrato, los microorganismos consumieron la totalidad de la glucosa para producir una bebida con 5 % de etanol. De acuerdo a los resultados, concluyeron que los granos de teff podrían ser empleados para desarrollar bebidas funcionales por su elevado contenido de microorganismos probióticos.

Díaz y Heredia (2020) evaluaron parámetros fisicoquímicos durante el almacenamiento de tres tipos de bebidas fermentadas de “yuca” en Cotopaxi, Ecuador. Para ello, elaboraron a partir de la “yuca” tres tipos de chicha (blanca, negra y wiwis) con ligeras diferencias en sus procesos de elaboración. En la chicha blanca, la yuca triturada fue inoculada con levadura al 0,15 % (p/p) y fermentada a temperatura ambiente por 72 h, mientras que, en la chicha negra y wiwis, la yuca triturada fue expuesta a doble fermentación: la primera, fue espontánea a

temperatura ambiente por cinco días, en la segunda las chichas fueron inoculadas con 0,05 % (p/p) de levadura y 0,05 % (v/v) de kéfir e incubadas a 40 °C por 48 h. Finalmente, todas las bebidas fueron almacenadas a 10 °C por 15 días para la evaluación fisicoquímica de acidez, pH, sólidos solubles y temperatura. Los resultados evidenciaron al final del almacenamiento, la disminución del pH de 5,3 a 4 en todas las bebidas fermentadas. En la acidez, la chicha blanca, negra y wiwis iniciaron con un valor de 4, 3 y 5 (g ácido láctico por cada 100 g) y finalizaron con 15, 16 y 15 (g ácido láctico/100 g), respectivamente. Las bebidas fermentadas obtuvieron una temperatura final entre 7,1 a 8,4 °C. En los sólidos solubles, la chicha blanca inició con 12,1 °Bx y finalizó con 5 °Bx, la chicha negra varió de 9,7 a 5 °Bx y la chicha wiwis inició con 10,6 y finalizó con 5 °Bx. El estudio concluyó que todas las variables evaluadas alcanzaron niveles semejantes a los reportados por otros investigadores.

Pilamala (2020) evaluó la estabilización en cuatro chichas fermentadas con levadura *S. cerevisiae*, *Monilia sitophila* “hongo rojizo de la yuca” y/o kéfir, Cotopaxi, Ecuador. A partir de un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4x3: tipo de chicha (blanca, wiwis, chonta y negra) y tipo de estabilizante (goma xantana, albúmina en polvo y sin estabilizante), aplicaron 12 tratamientos con dos repeticiones cada uno. Para preparar la chicha blanca, 83,69 % “yuca” y 16,31 % “camote”, fueron cocidos, triturados e inoculados con la levadura *S. cerevisiae* a razón de 0,15 %, siendo la masa resultante fermentada a temperatura ambiente por 72 h y diluida en proporción 1:2 (chicha blanca: agua). La chicha wiwis fue elaborada siguiendo el mismo proceso, pero realizando dos fermentaciones consecutivas, en la primera, el agente fermentativo fue el hongo rojizo nativo de la “yuca”, en la segunda, el kéfir al 0,5 %, ambos fermentos actuaron por 72 h a temperatura ambiente. En la chicha negra, la yuca y el camote fueron quemados a 89 °C, triturados y fermentados dos veces. En la preparación de chicha chonta, 95,24 % chonta y 4,76 % de “camote” fueron cocidos, triturados e inoculados con el consorcio (kéfir + levadura) al 0,15 %, para fermentarlos a temperatura ambiente por 72 h y diluirlos a razón de 1:1 (chicha: agua), luego tamizadas y envasadas. Un estabilizante al 0,1 % fue adicionado por separado a cada bebida envasada y luego pasteurizadas a 90 °C por 15 min. Variables fisicoquímicas (pH, densidad, sólidos solubles y acidez), sensoriales (color, olor, textura y aceptabilidad) y el recuento de aerobios mesófilos fueron evaluadas. Los resultados fueron analizados a través de ANOVA ($p \leq 0,05$) y la prueba post-hoc de Tukey ($p \leq 0,05$), evidenciando diferencias significativas en

el tipo de chicha y estabilizante en todas las variables fisicoquímicas. En 72 h de fermentación, la chicha chonta con goma xantana fue la formulación con mejores características fisicoquímicas, con un pH de 4,3; 0,84 % de acidez; 2,55 °Bx y 1,05 g/ml de densidad, obteniendo la mejor calificación sensorial: color claro, olor intermedio, textura y aceptabilidad intermedia. Todas las chichas evidenciaron crecimiento de aerobios mesófilos cercanos a 10^2 UFC/ml. La investigación concluyó que la goma xantana y la chicha chonta presentaron niveles óptimos para desarrollar bebidas fermentadas con características estables.

Machado y Rizzato (2019) elaboraron y analizaron una bebida probiótica de jugo de maracuyá, Sao Paulo, Brasil. Para tal fin, el jugo de maracuyá fue diluido en agua en una relación 1:3 (v/v), a partir de la mezcla aplicaron dos tratamientos: el primero con pH original (T1) y el segundo con pH ajustado a 6 (T2). Antes de iniciar la fermentación de las bebidas, activaron el inóculo *L. casei* en leche desnatada UHT Molico + 0,3 % de levadura a 35 °C durante 48 h, después transfirieron 1 ml del cultivo a 100 ml de caldo MRS incubándose a 35 °C por 24 h, transcurrido este período los tratamientos fueron inoculados con $1,37 \times 10^6$ UFC/ml de *L. casei* y fermentados a 30 °C por 20 h. Las variables como el pH, sólidos solubles, acidez, la viabilidad del *L. casei* y la aceptación sensorial de las bebidas fueron monitoreadas. Los resultados de pH variaron entre 3,03 a 2,72 para el tratamiento T1 y 6 a 4,4 para el tratamiento T2; en ambos casos los sólidos solubles disminuyeron de 3,5 a 2,5 °Bx, la acidez aumentó de 0,18 a 0,45 g/l en el T1 y 0,18 a 5 g/l para el T2. En relación con la viabilidad del *L. casei* durante la fermentación, el T1 aumentó de 6,1 a 7,1 Log₁₀ UFC/ml y el T2 de 6,6 a 8,4 Log₁₀ UFC/ml. El recuento de células viables disminuyó a los 21 días de almacenamiento en refrigeración de 7,1 a 3,4 Log₁₀ UFC/ml para T1, mientras que en T2 la viabilidad estuvo constante en 8,4 Log₁₀ UFC/ml. En la evaluación sensorial, solo el tratamiento T1 fue evaluado por los catadores, donde el 42,3 % mostraron aceptación, el 5,8 % indiferencia y el 51,9 % rechazo. En conclusión, los investigadores concluyeron que el jugo de “maracuyá” es una buena alternativa de sustrato para su fermentación por probióticos.

Sarango y Yanchapanta (2019) estudiaron la cinética de crecimiento de bacterias ácido lácticas durante el proceso de fermentación de tres bebidas ancestrales de “yuca” (chicha

blanca, wiwis y negra) en Cotopaxi, Ecuador. Para ello, colectaron muestras cada seis horas durante 42 h de fermentación de la chicha blanca y 66 h de las chichas wiwis y negra, elaboradas de forma tradicional. Los investigadores determinaron el pH, sólidos solubles, acidez y temperatura de las muestras de chicha. Los resultados evidenciaron mayor crecimiento BAL en la chicha negra con una viabilidad de $2,17 \times 10^7$ UFC/ml a las 54 h de fermentación y un periodo de duplicación de 12,03 h, seguido de la chicha wiwis con una viabilidad de $1,07 \times 10^7$ UFC/ml en 48 h de fermentación y 13,37 h de duplicación; y la chicha blanca con una viabilidad de $3,4 \times 10^6$ UFC/ml en 42 horas de fermentación con un tiempo de duplicación de 6,23 h. El pH de la chicha blanca varió de 4,7 a 3,96, los sólidos solubles disminuyeron de 23,41 a 16,2 °Bx, la acidez aumentó de 0,36 a 0,64 % y la temperatura varió de 25,9 a 25,1 °C. El pH de la chicha wiwis decreció de 4,7 a 3,83, los sólidos solubles variaron de 25 a 15,2 °Bx, la acidez aumentó de 0,36 a 0,64 % y la temperatura varió de 27 a 24 °C. Entretanto, el pH de la chicha negra disminuyó de 5,85 a 4,11, los sólidos solubles variaron de 24,3 a 15,2 °Bx y la temperatura se mantuvo en torno a 25 °C. El estudio concluyó que todas las bebidas fermentadas presentaron condiciones adecuadas de temperatura, pH y sólidos solubles para el crecimiento de las bacterias ácido lácticas.

Sukmawati *et al.* (2019) identificaron las levaduras productoras de amilasa, aisladas de bebidas fermentadas autóctonas de Bali, Indonesia. Para ello, aislaron 50 cepas de levaduras de las bebidas fermentadas Tuak y Bream Lombok en medio YMB (1 % glucosa, 0,3 % extracto de malta, 0,3 % extracto de levadura y 0,5 % peptona). Luego, los aislados fueron sembrados en agar papa dextrosa (PDA) a 28 °C por 48 h para determinar las levaduras productoras de amilasa. Con esta finalidad, vertieron la mezcla de yodo con extracto de levadura, peptona, agar de almidón sobre el PDA, la aparición de una zona clara alrededor de la colonia revelaba su acción amilolítica. De los 50 aislados, 16 fueron capaces de formar una zona clara después de 24 h de incubación, aunque el mayor índice amilolítico lo obtuvo la levadura IL86 con 1,019 mm. La formación de la zona clara es una prueba de que la levadura puede transformar el almidón en azúcares fermentables mediante las enzimas amilasas que posee.

Barco (2017) estudió el efecto de la inoculación de bacterias probióticas (*L. plantarum* BG112, *L. casei* BGP93 y una bacteria nativa) en la fermentación de una bebida a base de

extracto de soya y quinua con la finalidad de determinar sus características fisicoquímicas (pH, acidez, humedad, cenizas, proteínas y lípidos), microbiológicas (viabilidad) y sensoriales (color, sabor, aroma, consistencia y aceptación) en Zamorano, Honduras. Los extractos de quinua y soya fueron mezclados en proporciones de 66 % (v/v) y 34 % (v/v), respectivamente. Esta mezcla fue dividida en tres tratamientos y un control, donde en dos tratamientos los inocularon probióticos comerciales, incubados a 37 °C por 20 h, mientras que, el tercer tratamiento fue inoculado con la bacteria nativa, incubado a 25 °C por 24 h. Las bebidas fueron almacenadas a 4 °C por 28 días. El experimento fue realizado en dos fases: la primera inició aproximadamente a las 24 h de fermentación, utilizando un diseño completamente al azar con tres tratamientos y un control (bebida sin fermentar), con tres repeticiones por tratamiento. En la segunda etapa de refrigeración, utilizaron un diseño en bloques completamente al azar para las tres bebidas fermentadas y sus tres repeticiones. El mejor tratamiento fue la bebida fermentada con *L. casei* BGP93, obteniendo 3,23 % de proteína; 0,99 % de lípidos; 87,77 % de humedad; 0,97 % de cenizas; 5,25 de pH y 0,20 % de acidez. Asimismo, esta bebida cumplió con los estándares de una bebida probiótica, recibiendo en la prueba sensorial una valoración de 6,43 (me gusta mucho) en la escala hedónica de nueve puntos.

Ponomarova *et al.* (2017) evaluaron la simbiosis entre bacterias ácido lácticas (*Lactococcus lactis* y *Lactobacillus plantarum*) y la levadura *S. cerevisiae* en Michigan, Estados Unidos. Las bacterias ácido lácticas fueron aisladas de la bebida fermentada kéfir y la levadura del vino de “uva”, luego estos fueron agrupados en monocultivos (*Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* y *S. cerevisiae*) y cocultivos (*Lactococcus lactis* x *S. cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum* x *S. cerevisiae* y *Lactococcus lactis* x *Lactobacillus plantarum* x *S. cerevisiae*). Los cultivos fueron sembrados en agar mixto CDM35 (YPD + MRS + M17 + rapimicina + lactosa + mosto de uva), fermentándolos a temperatura ambiente por 24 h. Los investigadores evaluaron la interacción y la alimentación cruzada entre ambas especies. Los resultados evidenciaron que las bacterias ácido lácticas requieren de muchos nutrientes para su crecimiento como aminoácidos y vitaminas. Un medio apto para el mutualismo entre levaduras y bacterias ácido lácticas debe ser lo suficientemente rico para sustentar el crecimiento de ambas especies, caso contrario solo supliría los requerimientos nutricionales de las levaduras. Los investigadores observaron la liberación de aminoácidos por la levadura, glutamina y treonina para *Lactococcus lactis* y glutamina, treonina, fenilalanina, triptófano

y serina para *Lactobacillus plantarum*. Asimismo, identificaron la importancia del nitrógeno en la interacción levadura-BAL, ya que el nitrógeno disponible ajustaría el metabolismo de la levadura, secretando aminoácidos para la supervivencia de las bacterias ácido lácticas. El estudio concluyó que la dependencia de las BAL a la levadura es unidireccional por su requerimiento de aminoácidos.

Torres (2017) evaluó la interacción entre bacterias ácido lácticas y levaduras con el objetivo de medir su efecto sobre la fermentación del medio MRS y el jugo de “agave” en Jalisco, México. Para ello, propuso nueve cocultivos (levadura x bacteria ácido láctica): *S. cerevisiae* x *Weissella cibaria*, *Pichia kluyveri* x *W. cibaria*, *S. cerevisiae* x *Lactobacillus plantarum*, *S. cerevisiae* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*), *Kluyveromyces marxianus* x *W. cibaria*, *K. marxianus* x *Lactobacillus plantarum*, *K. marxianus* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*), *P. kluyveri* x *Lactobacillus plantarum* y *P. kluyveri* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*) cultivadas en medio MRS y jugo de agave a razón de 10^6 cel/ml por cada co-cultivo. Los cocultivos actuaron en los medios a 30 °C por 96 h, evaluando la interacción de ambos cultivos, la concentración de glucosa y etanol. En el medio MRS, los resultados evidenciaron interacción neutra sin efectos de inhibición entre los cocultivos *S. cerevisiae* x *W. cibaria* y *P. kluyveri* x *W. cibaria*, mientras que, *S. cerevisiae* x *Lactobacillus plantarum*, *S. cerevisiae* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*), *K. marxianus* x *W. cibaria*, *K. marxianus* x *Lactobacillus plantarum*, *K. marxianus* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*), *P. kluyveri* x *Lactobacillus plantarum* y *P. kluyveri* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*) mostraron interacciones de competencia. En el jugo de agave el autor evidenció una interacción neutra entre *S. cerevisiae* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*) e interacción positiva entre los *K. marxianus* x *Leuconostoc* sp. (referido a *Leuconostoc fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*) y *P. kluyveri* x *W. cibaria*. Al final de la fermentación, la cantidad de glucosa aumentó de 0,02 a 0,10 g/L y el etanol alcanzó

concentraciones entre 40 a 70 g/L para todos los cocultivos. El estudio concluyó que los productos fermentados podrían inocularse con cultivos mixtos BAL x levadura, pero dependería de su interacción intra-especie para obtener mejores resultados.

Grivanesa (2016) comparó bromatológica y microbiológicamente chichas elaboradas con dos variedades de yuca, Pastaza, Ecuador. A partir de un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x3: tipo de “yuca” (amarilla y blanca) y tiempo de fermentación (uno, tres y cinco días), fueron aplicados seis tratamientos con tres repeticiones cada uno. Las chichas fueron preparadas de forma tradicional sin inoculación de ningún microorganismo fermentador. En la investigación evaluaron variables fisicoquímicas (temperatura, pH, sólidos solubles, grado alcohólico y humedad) y la calidad microbiológica con el recuento de aerobios mesófilos, hongos y coliformes. Para el análisis de los resultados, el investigador aplicó ANOVA ($p \leq 0,05$) y la prueba post-hoc de Tukey para determinar diferencias significativas entre las formulaciones. Los resultados evidenciaron diferencias significativas solo para los sólidos solubles en relación con el tipo de “yuca”, aunque el tiempo de fermentación influyó significativamente en todos los parámetros fisicoquímicos de las bebidas. En los cinco días de fermentación, la chicha de “yuca” amarilla mantuvo una temperatura constante de 23 °C; el pH descendió de 4,74 a 4,06; los sólidos solubles disminuyeron de 26,17 a 19,17 °Bx; el grado alcohólico varió de 0 a 5 % y la humedad aumentó de 67,67 a 79 %. Para la chicha de “yuca” blanca durante los cinco días de fermentación, la temperatura aumentó de 23 a 23,33 °C; el pH descendió de 4,71 a 4,20; los sólidos solubles disminuyeron de 25,17 a 15 °Bx; el grado alcohólico aumentó de 0 a 5 % y la humedad varió de 58,67 a 82 %. En cuanto a la calidad microbiológica, ambas chichas evidenciaron crecimiento de aerobios mesófilos y hongos cercanos a 10^6 UFC/ml, incluso bacterias coliformes del género *Citrobacter*. El estudio concluyó que las características bromatológicas y microbiológicas de las chichas dependen del tipo de yuca (amarilla y blanca) y el tiempo de fermentación (uno, tres y cinco días).

Ríos *et al.* (2016) desarrollaron una bebida fermentada a base de arroz con adición de bacterias probióticas utilizando diferentes concentraciones de azúcar (10, 15, 20 %) resultando tres formulaciones de bebidas, Santander, Colombia. Cada formulación fue dividida en dos tratamientos (una pasteurizada y una sin pasteurizar), inoculando con *L.*

acidophilus (probiótico) en una concentración de 2,025 mg/l solo a los tratamientos pasteurizados, luego todas estas bebidas fueron incubadas a 37 ± 1 °C. Los investigadores evaluaron variables fisicoquímicas (pH, sólidos solubles, acidez y grado de alcohol), variables sensoriales (aceptabilidad) y microbiológicas (mohos y levaduras, aerobios mesófilos y *L. acidophilus*), siendo las primeras evaluadas antes de la pasteurización y las dos últimas después de la pasteurización. Los resultados fueron analizados a través de ANOVA ($p \leq 0,05$) y la prueba post-hoc de diferencia mínima significativa (LSD) entre todas las formulaciones. Los resultados de pH evidenciaron que, en las tres formulaciones, los niveles alcanzados fueron de 3,68 a 3,78. En la acidez, la formulación tres alcanzó el valor más alto de 0,15 %, mientras que, en el grado alcohólico, las formulaciones dos y tres alcanzaron un nivel del 1,5 %. En todas las formulaciones el promedio de aerobios mesófilos fue ≤ 100 UFC/cm³ y para mohos y levaduras fueron ≤ 20 UFC/cm³. En cuanto a la aceptabilidad, la formulación que tuvo mayor puntaje fue la formulación tres. Finalmente, el estudio demostró la viabilidad del *L. acidophilus*, que alcanzó cantidades mayores a 1×10^6 UFC / ml en todos los tratamientos.

Miguel *et al.* (2015) describieron las características fisicoquímicas y microbiológicas del caxiri, una bebida fermentada de “yuca” y “maíz”, con el objeto de identificar los microorganismos involucrados en la fermentación de esta bebida en el Estado de Minas Gerais, Brasil. Para ello, fermentaron por dos días la “yuca” sumergida en agua para remover al ácido cianhídrico presente. Luego, la “yuca” fue pelada, cortada, prensada y cocida por dos horas, adicionando a continuación, agua, “maíz” y “camote” en cantidades proporcionales para fermentar la mezcla a temperatura ambiente durante 120 h. En intervalos de 24 h, realizaron recuentos y la identificación de bacterias ácido lácticas, levaduras y bacterias acéticas involucradas en la fermentación. Asimismo, los investigadores determinaron el pH, sólidos solubles, la concentración de ácido láctico y etanol en la bebida. Los resultados evidenciaron que la levadura *S. cerevisiae* y las bacterias ácido lácticas *L. fermentum* y *Lactobacillus helveticus* fueron las especies predominantes en la fermentación del caxiri, y en menor cantidad *Bacillus subtilis*. En relación con las características fisicoquímicas, el pH disminuyó de 6,5 a 3,0, los sólidos solubles descendieron de 9 a 5,5 °Bx y las concentraciones de etanol y ácido láctico aumentaron de 0,16 a 88,15 g/l y 5,85 a 14,25 g/l, respectivamente. En conclusión, el estudio determinó que la levadura *S. cerevisiae* fue la responsable de la alta concentración de etanol, mientras que, las bacterias

ácido lácticas *L. fermentum* y *L. helveticus*, responsables de la producción del ácido láctico. Oyedeji *et al.* (2013) estudiaron la predominancia de bacterias ácido lácticas implicadas en la fermentación del Fufu, Ibadan, Nigeria. Para tal fin, la “yuca” pelada fue fermentada espontáneamente a temperatura ambiente por 72 h, luego triturada, tamizada y prensada hasta obtener el almidón de “yuca” húmedo (fufu). Los investigadores evaluaron el pH, la temperatura, la acidez titulable a las 0, 24, 48 y 72 h de fermentación y la diversidad de las bacterias ácido lácticas. Los resultados evidenciaron a las 72 h de fermentación una disminución del pH de 5,6 a 3,7, variación de la temperatura de 26 a 30 °C y aumento en la acidez de 0,07 a 0,21 % (expresado en ácido láctico). Los resultados mostraron que el fufu presentaba bacterias ácido lácticas predominantemente heterofermentativas: 18 cepas de *Lactobacillus plantarum* (57 %), seis cepas de *Leuconostoc mesenteroides* (19 %), dos cepas de *Lactococcus lactis* (6 %), dos cepas de *Lactobacillus coprophilus* (6 %), dos cepas de *L. acidophilus* (6 %) y dos cepas de *Lactobacillus brevis*. Los autores concluyeron que las bacterias ácido lácticas heterofermentativas están involucradas en la fermentación de la “yuca”.

Chaparro *et al.* (2012) elaboraron una bebida vegetal a base de harina de arroz con la adición de *L. delbrueckii* (probiótico) con el objetivo de obtener una bebida funcional, Bogotá, Colombia. La harina de “arroz” fue hidrolizada en dos etapas: en la primera, usaron α -amilasa BAN 800 MG la cual actuó durante 30 minutos a 70 °C, en la segunda dejaron actuar la glucoamilasa AMC 800 BG durante 60 minutos a 60 °C, obteniéndose azúcares reductores ($0,78 \pm 0,08$ g/g) para el proceso de fermentación. Esta masa hidrolizada fue inoculada y fermentada con *L. delbrueckii* NRRL B-763 a un nivel de 10^7 UFC/ml durante 72 h a 37 °C. Este último proceso fue desarrollado en dos ensayos, con fermentación bajo condiciones de anaerobiosis y aerobiosis, en el que evaluaron en ambos ensayos, la concentración de probiótico. Aunque el pH y los azúcares reductores disminuyeron para ambos ensayos, no lograron obtener una bebida funcional debido a que la concentración de probiótico disminuyó a un nivel poco aceptable ($6,4 \times 10^6$ a $7,23 \times 10^4$ UFC/ml), por lo que los investigadores sugirieron añadir una concentración más alta de probiótico que la aplicada, recomendando dejar la etapa de incubación y pasar directamente al almacenamiento bajo condiciones de refrigeración.

Proaño (2012) obtuvo lacto-jugo a partir de la fermentación láctica del “camote” para evaluar el efecto del uso de probióticos (*L. plantarum* y *L. casei*) en el proceso de fermentación, Ambato, Ecuador. Para ello, el autor hidrolizó el almidón presente en el camote con las enzimas amilasas (Fungamyl y pectinasas) fermentándolo luego a 28 ± 2 °C durante 48 h mediante la inoculación de los probióticos. El investigador aplicó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 2x2x3: concentración de jugo de camote con niveles de 1:5 y 1:10, tipo de edulcorante (fructosa y Stevia) y especies de microorganismos probióticos (*L. plantarum*, *L. casei* y *L. plantarum* + *L. casei*); obteniéndose 12 tratamientos con tres réplicas cada uno y un testigo. El investigador evaluó variables fisicoquímicas (pH, acidez titulable y sólidos solubles) y sensoriales (color, olor, sabor y aceptabilidad). Los resultados evidenciaron el efecto significativo causado por los probióticos sobre el camote hidrolizado. Los valores de pH variaron de 3,3 a 4, la acidez de 0,9-1,5 (g ácido láctico/100 g) y los sólidos solubles disminuyeron de 6 a 3 °Bx. En cuanto a las variables sensoriales, el tratamiento con 1:5 de jugo de camote, edulcorado con Stevia e inoculado con *L. plantarum* obtuvo el mejor puntaje con una media en torno a dos de una escala hedónica de cinco puntos. Esta investigación proporcionó información relevante para la elaboración de lacto-jugos a base de camote, ya que al inocularlos con bacterias probióticas en especial el *L. plantarum*, lograron mejorar también sus características sensoriales.

Serna (2012) evaluó *in vitro* el potencial probiótico de cuatro bacterias ácido lácticas (dos *L. plantarum* y dos *L. fermentum*) aisladas de diferentes alimentos con el objetivo de utilizarlas como aditivo en la elaboración de jugos de fruta en Cundinamarca, Colombia. Todas las bacterias ácido lácticas aisladas fueron identificadas mediante secuenciación parcial del gen ARNr 16S, evaluando su potencial probiótico a través de la medición de la resistencia frente a sales biliares, pH ácido y antibióticos, además de su actividad antimicrobiana, su capacidad de adherencia a células de la mucosa intestinal humana y su viabilidad en jugos de fruta. Adicionalmente, fue evaluada la viabilidad de la cepa que presentó mayor potencial probiótico en los jugos de fruta de fresa, mango y lulo, estableciéndose tres tratamientos con tres repeticiones y un control negativo. Los resultados evidenciaron que de las cuatro bacterias ácido lácticas, las cepas de mayor potencial probiótico fueron los *L. plantarum* aisladas de la coliflor y harina de maíz, presentando un potencial probiótico de 100 y 87,5 %, respectivamente. Además, el investigador observó que en los tres jugos inoculados con estas cepas disminuyeron su concentración celular en dos ciclos logarítmicos: de

10^{10} UFC/ml a 10^8 UFC/ml. Las propiedades de acidez y pH entre los jugos inoculados y los de control presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$), mientras que, en sólidos solubles no evidenciaron diferencias significativas. El estudio concluyó que la inoculación de bacterias ácido lácticas de la especie *L. plantarum* permite obtener jugos con porcentajes muy altos de aceptabilidad, semejantes a los jugos no inoculados.

Pereira *et al.* (2011) elaboraron una bebida probiótica de jugo de marañón (*Anacardium occidentale*) fermentada con *L. casei* para optimizar las condiciones de fermentación (pH, temperatura, cantidad de inóculo y tiempo de fermentación) en Pacajus, Brasil. Los investigadores aplicaron un diseño experimental central compuesto rotatable, variando el pH de 4,29 a 7,11 y la temperatura de fermentación de 10,44 a 41,44 °C. El estudio fue dividido en dos etapas: en la primera inocularon 7 Log₁₀ UFC/ml de *L. casei* en 100 ml de jugo de marañón, fermentándolo durante 24 h a temperatura y pH propuestos en el diseño para determinar la viabilidad de la bacteria. En la segunda, *L. casei* fue inoculado en 100 ml de jugo de marañón para evaluar el pH, viabilidad y color durante 24 h bajo condiciones óptimas a diferentes concentraciones de inoculación (7, 7,30 y 7,48 Log₁₀ UFC/ml). Finalmente, el jugo de marañón fue expuesto a refrigeración por 42 días con el fin de evaluar la viabilidad del *L. casei*. Los resultados de la primera etapa evidenciaron condiciones óptimas con 30 °C y pH 6,4 para obtener una viabilidad máxima de 8 Log₁₀ UFC/ml cuando la inoculación inicial de *L. casei* fue 7,48 Log₁₀ UFC/ml. En la segunda, los resultados reflejaron que la inoculación de 7,48 Log₁₀ UFC/ml de *L. casei* en el jugo de marañón, fermentado a 30 °C y 6,4 de pH obtuvo 4,6 de pH, color amarillo intenso y una viabilidad en torno a 8,49 Log₁₀ UFC/ml. En 42 días de almacenamiento en refrigeración, la viabilidad del *L. casei* disminuyó de 8,41 a 8,13 Log₁₀ UFC/ml, en los primeros 21 días la viabilidad aumentó de 8,41 a 8,72 Log₁₀ UFC/ml, manteniéndose así hasta el día 35, periodo donde la viabilidad comenzó a descender hasta el final del almacenamiento. El estudio concluyó que, el jugo de marañón es ideal para la inoculación de *L. casei* bajo condiciones de 30 °C/16 h de fermentación, 6,4 de pH y 7,48 Log₁₀ UFC/ml de viabilidad inicial. Además, el *L. casei* es capaz de tolerar temperaturas de refrigeración (4 °C) manteniendo una viabilidad cercana a 8 Log₁₀ UFC/ml.

Hernández *et al.* (2008) caracterizaron fisicoquímicamente los almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. El almidón de los tubérculos “makal”, “camote”, “yuca” y “sagú” fue obtenido por separado. Los tubérculos fueron pelados, trozados, molidos y expuestos a una solución de bisulfito de sodio con una concentración de 1500 ppm y en relación de 1:3 (p/v). Luego, la masa resultante fue filtrada, sedimentada, secada a 55 °C/24 h, tamizada y almacenada para su posterior evaluación. Los investigadores evaluaron la cantidad de amilosa y amilopectina con la temperatura de gelatinización. Los resultados fueron analizados por análisis de varianza de una vía, considerando como único factor el tipo de tubérculo. Además, realizaron la comparación de medias para establecer diferencias significativas entre los tubérculos en las características evaluadas ($p \leq 0,05$). Los resultados evidenciaron menor contenido de amilosa en la yuca con 17 %, mientras que, su contenido de amilopectina fue mayor (83 %), a diferencia de los demás tubérculos. La temperatura de gelatinización fue mayor para el “makal” y el sagú con un valor promedio de 78,4 y 74,9 °C, respectivamente, seguido de la yuca con 65,2 °C. La investigación concluyó que, los almidones de “makal”, “camote”, “yuca” y “sagú” poseen valores funcionales del contenido de amilosa, amilopectina y temperatura de gelatinización, útiles para la elaboración de productos alimenticios como jarabes glucosados, productos enlatados y otros derivados.

Kostinek *et al.* (2007) caracterizaron y evaluaron las propiedades bioquímicas de las bacterias ácido lácticas predominantes en la “yuca” fermentada para su selección como cultivos iniciadores en Benin, Kenya. Para tal fin, 10 g de yuca fermentada fue preparada en diluciones sucesivas (10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7}) para ser sembradas en agar MRS e incubadas a 30 °C por 48 h bajo condiciones aeróbicas. Después, de una a cinco colonias fueron elegidas al azar para cultivarlas nuevamente en agar MRS con el propósito de verificar su pureza. Los investigadores evaluaron el genotipo, fenotipo, actividad enzimática, actividad antimicrobiana y pH para seleccionar a las mejores bacterias como cultivos iniciadores. Los resultados fenotípicos y genotípicos evidenciaron 375 cepas de bacterias ácido lácticas divididas en cinco grupos: 57,9 % cepas de bacilos facultativamente heterofermentativos (solo *Lactobacillus*), 14,1 % bacilos heterofermentativos obligados (*Lactobacillus* y *Weissella*), 13,9 % cocos heterofermentativos (*Leuconostoc* y *Weissella*), 13,3 % cocos homofermentativos (*Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*) y 0,8 % bacilos homofermentativos obligados (*Lactobacillus* y *Weissella*). Las bacterias ácido lácticas

mostraron actividad enzimática leve de la enzima tanasa (hidrolizador de taninos) y α -amilasa (catalizador de polisacáridos). Los resultados evidenciaron actividad bacteriocinogénica en casi todos los grupos de BAL debido a la presencia de halos de inhibición, excepto en las cepas del grupo bacilos homofermentativos obligados. De 50 a 55 % de las cepas facultativamente heterofermentativas fueron capaces de disminuir el pH en torno de 4. Los investigadores identificaron 32 cepas con una o más propiedades bioquímicas deseables para cultivos iniciadores, correspondiendo 18 a *Lactobacillus plantarum*, 4 a *Lactobacillus pentosus*, 2 *Leuconostoc fallax*, 2 *Weissella paramesenteroides*, 2 *Lactobacillus fermentum*, 3 *Leuconostoc mesenteroides* y 1 *Weissella cibaria*. El estudio concluyó que la yuca fermentada presenta cultivos potencialmente iniciadores.

Cheirsilp *et al.* (2003) estudiaron las interacciones entre *Lactobacillus kefiranofaciens* y *S. cerevisiae* para la producción de Kefiran. Para ello, aplicaron dos tratamientos: T1 (*L. kefiranofaciens*) y T2 (*L. kefiranofaciens* + *S. cerevisiae*) donde evaluaron la concentración de ácido láctico y la producción de Kefiran bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Para el cultivo puro, 1 ml de *L. kefiranofaciens* (T1) fue inoculado con una población de 10^7 UFC/ml en 100 ml de caldo MRS, dejándolo fermentar a 30 °C por dos días. En el cultivo mixto (T2) 200 ml de caldo MRS modificado fueron preparados para ser inoculados con 1 ml de *L. kefiranofaciens* a 10^7 UFC/ml y 1 ml *S. cerevisiae* a 10^6 UFC/ml, fermentándolo a 30 °C por dos días. Los resultados evidenciaron mayor consumo del ácido láctico por la levadura *S. cerevisiae* en condiciones aeróbicas. En la producción de Kefiran no existieron diferencias significativas entre el cultivo puro (solo *L. kefiranofaciens*) y el consorcio (*L. kefiranofaciens* + *S. cerevisiae*), aunque el intercambio de metabolitos entre *L. kefiranofaciens* y *S. cerevisiae* es importante para mejorar la producción de kefiran. Los investigadores concluyeron que la adición de *S. cerevisiae* en cultivos mixtos no perjudica la acción del *L. kefiranofaciens*, ya que secreta nutrientes necesarios para la bacteria y consume el ácido láctico.

Delfini *et al.* (2002) estudiaron la capacidad de producción y/o degradación de DL-ácido láctico por levaduras enológicas durante la fermentación alcohólica en Asti, Italia. Para ello, 48 cepas de *Saccharomyces* (44 *cerevisiae*, 3 *bayanus* y 1 *uvarum*) y 47 no *Saccharomyces*

(2 *Brettanomyces*, 2 *Candida*, 1 *Cryptococcus*, 6 *Hanseniaspora*, 3 *Hansenula*, 1 *Kloeckera*, 1 *Metschnikowia*, 6 *Pichia*, 1 *Saccharomyces*, 8 *Schizosaccharomyces*, 8 *Torulaspora* y 8 *Zygosaccharomyces*) fueron aisladas de mostos y vinos. Los investigadores emplearon tres medios de cultivo: NSM (medio sintético de nutrientes), ChMcl (Mosto de uva Chardonnay clarificado sin hollejos) y ChMsk (Mosto de uva Chardonnay con hollejos) con o sin la adición de 2 g/l de DL-ácido láctico. Los medios fueron inoculados a razón de 5 ml de cepa/100 ml de medio y fermentados a 25 °C por 20 días. Luego, la producción y consumo de los dos isómeros de ácido láctico fueron cuantificados. Los resultados evidenciaron mayor degradación de ácido láctico en el medio NSM suplementado con DL-láctico, el 100 % de las cepas de *Saccharomyces* mostraron capacidad para degradar los isómeros del ácido láctico, hasta el -26 % del L (+)-láctico y -15 % del ácido D (-) láctico. Asimismo, en este medio encontraron cepas productoras de ácido láctico, 24 cepas de *Saccharomyces* incrementaron la cantidad de D (-) láctico (hasta + 15 %). En cuanto a las levaduras no *Saccharomyces* incrementaron la cantidad de los dos isómeros de ácido láctico alrededor del + 50 % para D (-) láctico y + 40 % para L (+)-láctico. Por otro lado, en el mosto de uva Chardonnay clarificado sin hollejos más del 80 % de *S. cerevisiae* aumentaron la cantidad de ambos isómeros en + 34 %. Los resultados evidenciaron que la producción y/o consumo de DL- ácido láctico dependería de la riqueza nutricional del medio, si la cantidad de DL-láctico es abundante y los carbohidratos son escasos, lo más probable es que las levaduras tiendan a consumir los dos isómeros del ácido láctico.

1.1.2. Nacionales

Cubas y Quispe (2019) estudiaron la concentración de panela y tiempo de fermentación en una bebida probiótica de “mango ciruelo” con la incorporación de tíficos, Jaén, Cajamarca. El zumo de mango ciruelo fue fermentado entre 25 a 30 °C durante dos, cuatro y seis días con la inoculación de tíficos. Los investigadores aplicaron un diseño completamente aleatorizado (DCA), con arreglo factorial de dos factores: concentración de panela (4, 6 y 8 %) y tiempo de fermentación (dos, cuatro y seis días); obteniendo nueve tratamientos con tres réplicas cada uno. En la investigación evaluaron variables fisicoquímicas (grados Brix, grado alcohólico, acidez y pH) y sensoriales (color, aroma y sabor). El mejor tratamiento fue la bebida con 6 % de panela y cuatro días de fermentación con una acidez de 0,12 % (expresado en ácido láctico), 5 °Bx; 3,3 de pH y 0,28 mg/l de alcohol. En la prueba sensorial, este tratamiento obtuvo un puntaje promedio de 3,97 para el color, 3,6 para el olor y 3,9 para

el sabor en la escala hedónica de cinco puntos. El estudio concluyó que el empleo de panela en la bebida probiótica de mango ciruelo con la incorporación de tíficos, mejora sus cualidades organolépticas.

Castillo (2014) evaluó la viabilidad de probióticos en yogurt batido durante su almacenamiento en refrigeración en Lima, Perú. Para ello, aplicó un diseño completamente aleatorizado (DCA), con arreglo factorial de dos factores: tipo de inóculo (Yo-Fast 88, ABT-4 y ABY-3) y días de almacenamiento en refrigeración (1, 7, 14, 21 y 28 días), estableciendo tres tratamientos con tres réplicas cada uno. Para el experimento, la leche fue inoculada con 4 ml de cultivo activado por cada litro de yogurt con una viabilidad de 10^6 a 10^9 UFC/g, dejándola fermentar a 43 °C por 12 h, luego el yogurt fue enfriado a 20 °C para finalizar la fermentación, seleccionando posteriormente el yogurt con el cultivo cuya viabilidad superó los 10^7 UFC/g. En el yogurt seleccionado, evaluaron variables fisicoquímicas (pH, acidez titulable, viscosidad y sinéresis), calidad microbiológica (recuento de coliformes, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras), viabilidad de los cultivos probióticos y la aceptabilidad sensorial durante los 28 días de almacenamiento en refrigeración. Los resultados indicaron que el yogurt inoculado con ABY-3 obtuvo una viabilidad mayor a 10^7 UFC/g, que expuesto a 28 días de almacenamiento en refrigeración redujo su pH de 4,42 a 4,27, incrementando su acidez de 0,76 a 0,80 %, mientras que la sinéresis varió de 47,62 a 40,75, la viscosidad disminuyó de 2925,33 a 2190,00 cP, la viabilidad de las bacterias disminuyó de 7,50 a 7,24 Log₁₀ UFC/g y los recuentos de coliformes totales, *S. aureus*, *Escherichia coli*, mohos y levaduras fueron nulos. La aceptabilidad sensorial de este yogurt obtuvo una puntuación en torno a cuatro (“ni me gusta ni me disgusta”) de una escala hedónica de siete puntos. El estudio concluyó que el yogurt inoculado ABY-3 mantuvo la viabilidad de las bacterias probióticas durante el almacenamiento en refrigeración.

Huapaya (2014) elaboró una bebida probiótica a partir de la fermentación láctica de la harina de quinua hidrolizada con la enzima α -amilasa del *Bacillus licheniformis* a un pH de 7,8 en Lima, Perú. La enzima actuó durante 40 minutos a 100 °C, luego por 60 minutos más a 90 °C. La hidrólisis permitió aumentar los sólidos solubles de 2 a 9,5 °Bx. El investigador aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x3: concentración de probióticos (1, 5 y 10 %) y tiempo de fermentación (8, 10 y 12 h), obteniéndose nueve

tratamientos con tres repeticiones cada uno y tres controles. La harina de quinua hidrolizada fue fermentada a 42 ± 1 °C, en condiciones microaerófilas y en los tiempos establecidos. Los resultados fueron analizados a través de un análisis de varianza ($p \leq 0,05$) y la prueba post-hoc de Tukey ($p \leq 0,05$). El mejor tratamiento fue la bebida inoculada con 10 % de probióticos y 10 h de fermentación, cuya acidez fue la más alta (0,22 %). Este tratamiento fue formulado en tres diferentes presentaciones: natural (sin saborizantes), sabor a mango y sabor a naranja. Estas formulaciones fueron sometidas a una prueba de preferencia con consumidores. La bebida con el primer puesto calificada como la “más agradable” fue sometida a análisis proximal (calorías totales, carbohidratos, grasa, proteína, cenizas y fibra cruda) y microbiológico (aerobios mesófilos totales, mohos y levaduras, coliformes totales y *Lactobacillus* spp. referido a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Lactobacillus acidophilus*). Los resultados evidenciaron que la bebida con sabor a mango fue la “más agradable” con el 39,5 % de preferencia, obteniendo 84,6 kcal de energía, 19,3 % de carbohidratos, 0,2 % de grasa, 78,8 % de humedad, 0,3 % de cenizas, 1,4 % de proteína y 0,1 % de fibra cruda, además de cumplir con los estándares microbiológicos de calidad. Asimismo, las colonias probióticas aumentaron de $2,53 \times 10^6$ UFC/ml a $1,15 \times 10^8$ UFC/ml demostrando que a partir de la harina de quinua es posible elaborar una bebida probiótica agradable a los consumidores.

1.2. Bases teóricas especializadas

1.2.1. Descripción de la “yuca”

La *M. esculenta* “yuca” es autóctona del área tropical de América, su distribución se extiende desde Arizona (Estados Unidos) hasta la cuenca del Río de la Plata (Argentina). La planta de *M. esculenta* “yuca” crece hasta una altura de 1,5 – 4 m, sus raíces son fibrosas, algunas de ellas son usadas como medios de transporte de nutrientes por la planta y otras son las responsables de almacenar almidón. Éstas son las raíces comestibles, con un tamaño aproximado de 1 m de largo, un diámetro de 10 cm y un peso de 1 a 8 kg cada una (Aguilar *et al.*, 2017). Una vez que la planta alcanza el año de edad es desarraigada entera con el fin de extraer las raíces comestibles; las cuales son cilíndricas y oblongas. La pulpa comestible de las raíces es firme, atravesada por fibras longitudinales aún más rígidas, pero muy ricas en azúcares (Sebastián, 2008 citado por Encinas *et al.*, 2017).

Las características productivas, organolépticas y adaptativas varían según la variedad de *M. esculenta* “yuca”, siendo la blanca y amarilla las de mayor preferencia comercial por su rusticidad, cocción rápida, composición harinosa y rendimiento (Meza, 2014). Según Tropicos (2020), la clasificación taxonómica de la *M. esculenta* “yuca” es la siguiente:

Clase:	Equisetopsida
Subclase:	Magnoliidae
Superorden:	Rosanae
Orden:	Malpighiales
Familia:	Euphorbiaceae
Género:	<i>Manihot</i>
Especie:	<i>Manihot esculenta</i> Crantz

Composición química de la *M. esculenta* “yuca”

En la Tabla 1 se observa la composición química proximal de la *M. esculenta* “yuca” amarilla y blanca sin cáscara.

Tabla 1

Tabla de composición comparativa de la M. esculenta “yuca” amarilla y blanca sin cáscara

Para 100 g	Yuca amarilla sin cáscara	Yuca blanca sin cáscara
Agua (g)	59	65,8
Proteína (g)	0,6	0,7
Grasa total (g)	0,2	0,5
Carbohidratos disponibles (g)	37,3	28,3
Fibra (g)	1,8	3,5
Cenizas (g)	1,1	1,3
Energía (kJ)	613	480

Nota. Elaboración propia a partir de Collazos *et al.* (2017). Tablas peruanas de composición de alimentos. <https://goo.su/0qfzE>

La raíz adulta de la *M. esculenta* “yuca” cortada transversalmente revela dos partes bien definidas que son el núcleo y la corteza donde el núcleo es menos fibroso que la corteza, pero muy rico en almidón, con gránulos de mayor tamaño que los del almidón presente en la corteza (Pinto, 1980 citado por Encinas *et al.*, 2017).

La *M. esculenta* “yuca” posee dos glucósidos cianogénicos la lotaustralina y linamarina, que se hidrolizan en presencia de linamaraza para producir ácido cianhídrico (HCN) que pueden llegar a ser mortales cuando la “yuca” está cruda (Torres *et al.*, 2022). La ingesta de HCN puede provocar diarreas, vómitos, dolor de estómago e inclusive la muerte (Carpio y Portugal, 2014). Las variedades de “yuca” que se recomienda consumir frescas son las “yucas dulces” porque presentan contenidos de HCN menores que 180 ppm. Las “yucas amargas” presentan contenidos mayores de 300 ppm de HCN y no deben ser consumidas frescas, Torres *et al.* (2022) recomienda cocinarlas con el fin de reducir el contenido de HCN y así el riesgo de intoxicación. Las “yucas amargas” presentan mejor calidad de almidón y mayor rendimiento que la “yuca” dulce (Cumari, 2019).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] (2013) el ácido cianhídrico es un líquido incoloro, tóxico para las personas y animales, y es altamente volátil a 28 °C, con débil olor amargo similar al de las almendras. El consumo de yuca amarga y sus derivados, procesados inadecuadamente podrían tener un efecto tóxico por el ácido cianhídrico presente, causando un envenenamiento drástico, daños al sistema nervioso central y bocio, incluso enfermedades asociadas a la ingesta casi exclusiva de *M. esculenta* “yuca” mal procesada, como la neuropatía atáxica tropical (TAN) y el konzo (Rivadeneira *et al.*, 2017).

1.2.2. Bebidas fermentadas

La elaboración de bebidas fermentadas involucra el crecimiento y la actividad microbiana. Existen un gran número de bebidas fermentadas en el mundo, los cuales forman parte importante de la dieta de muchos grupos étnicos desde tiempos inmemoriales. El estudio de bebidas fermentadas ha llevado al desarrollo de nuevos productos, la selección de microorganismos con características especiales, la producción industrial de enzimas, entre otros resultados (Ferrari *et al.*, 2020).

Las bebidas fermentadas son agrupadas por el tipo de microorganismo involucrado en el proceso de fermentación. Los mohos de los géneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Amylomyces*, *Aspergillus*, *Monascus* y *Neurospora* son empleados para la producción de bebidas

orientales como el tempe y el oncom. Las bacterias lácticas como *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *P. acidilactici* y *Lactobacillus plantarum* son utilizadas para fermentar maíz, arroz, yuca, frutas y cereales. En otras bebidas como el kéfir, el koumiss y el tepache, la microbiota está conformada por cultivos mixtos de levaduras y bacterias lácticas (Ferrari *et al.*, 2020).

Parámetros microbiológicos para bebidas fermentadas

El masato de *M. esculenta* “yuca” como bebida de consumo humano debe cumplir con ciertos parámetros de calidad microbiológica para garantizar su inocuidad. La Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA (2008) no establece las Condiciones Microbiológicas de Calidad Sanitaria e Inocuidad para bebidas fermentadas, solo cuenta con parámetros microbiológicos para bebidas carbonatadas y no carbonatadas. El masato de *M. esculenta* “yuca” al ser una bebida no carbonatada (sin contenido de ácido carbónico), con el fin de valorar su calidad microbiológica, se podría tomar como referencia los requisitos microbiológicos requeridos para bebidas jarabeadas y no jarabeadas no carbonatas especificadas en la Tabla 2.

En esta tabla se eluden los límites mínimos y máximos para aerobios mesófilos y levaduras como indicadores de calidad del masato de *M. esculenta* “yuca”, debido a que, durante su elaboración, el masato fue inoculado con levaduras y bacterias ácido lácticas, cuyas características físicas las ubican dentro del grupo de aerobios mesófilos.

Tabla 2

Criterios microbiológicos para bebidas jarabeadas y no jarabeadas no carbonatadas

Agente microbiano	Unidad	Limite por ml	
		Mínimo	Máximo
Coliformes	UFC/ml	< 2,2	
Mohos	UFC/ml	1	10

Nota. Adaptación a partir de Resolución Ministerial N° 591-2008-MINSA (2008). Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/247682-591-2008-minsa>.

El masato de *M. esculenta* “yuca”

Es una bebida originaria de la selva peruana obtenida de la fermentación de la *M. esculenta* “yuca” cocida, las tribus amazónicas prepararon diferentes tipos de masatos a partir de 30 variedades de *M. esculenta* “yuca”, siendo las más empleadas la amarilla y blanca. Ésta bebida forma parte de su dieta, es consumida en las faenas agrícolas, la caza, pesca, las ceremonias religiosas y como un medio de acercamiento en sus fiestas tradicionales, y es lo primero que ofrecen a los visitantes locales, nacionales o extranjeros (Rebaza *et al.*, 2023). La Real Academia Española [RAE] (2010) define al masato como una bebida fermentada preparada a partir de “arroz”, “yuca”, “piña” o “maíz” con “canela”, azúcar, agua y “clavos de olor”. Además, Sedano (2006) señala al masato como sustrato de diferentes microorganismos como las bacterias ácido lácticas que son partícipes de su fermentación maloláctica y láctica.

La presencia de ácido láctico, principal producto de la fermentación láctica del masato y otros ácidos orgánicos, reducen el nivel de pH de esta bebida (Prakash *et al.*, 2015). Esta disminución del pH inhibe el desarrollo y crecimiento de microorganismos no involucrados en la fermentación alcohólica y láctica del masato (Rivera, 2019). En la Tabla 3 se observa la composición química proximal del masato en relación con otras bebidas fermentadas por cada 100 g.

Tabla 3

Composición química del masato, la chicha de jora y chicha de maní

Componente	Masato	Chicha de Jora	Chicha de maní
Energía (Kcal)	37	28	34
Agua (g)	90,4	93,2	92,1
Proteína (g)	0,2	0,4	0,5
Ceniza (g)	0,4	0,3	0,3
Carbohidratos totales (g)	8,9	5,8	6,3
Grasa total (g)	0,1	0,3	0,8
Fósforo (mg)	14	18	6
Calcio (mg)	11	22	12
Ac. Ascórbico (mg)	4,2	2,4	0
Niacina (mg)	0,19	0,2	0,4
Hierro (mg)	0,6	1,8	1

Nota. Adaptación a partir de Collazos *et al.* (2017). Tablas peruanas de composición de alimentos. <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/sequence=3&isAllowed=y>

Una de las mayores virtudes del masato es su poder energizante, esto debido a su alto contenido de humedad con un valor del 90,4 %, podría considerarse una bebida rehidratante. En ambientes con temperaturas que alcanzan los 32 grados donde se desarrollen trabajos físicos exigentes, es comprensible que la regulación del equilibrio hídrico en el cuerpo lo lleve a cabo el masato (Encinas *et al.*, 2017).

Paralelamente, la *M. esculenta* “yuca” y sus derivados contienen en su composición sodio y potasio, lo que permite al masato ser una bebida muy adecuada para combatir la deshidratación. Justamente los entrenadores de los deportistas de élite sugieren adicionar a las bebidas rehidratantes una cierta cantidad de carbohidratos, ya que este nutriente mejora el sabor y facilita el transporte del sodio en el organismo, lo que significa que al poseer el masato en su composición carbohidratos podría considerarse al mismo como una bebida energizante con poder rehidratante de primera calidad similar a las bebidas isotónicas del tipo Cyclon, Red Bull, Vortex, etc. (Encinas *et al.*, 2017).

Descripción del proceso de elaboración del masato de *M. esculenta* “yuca”

Recepción de la materia prima: la *M. esculenta* “yuca” es recibida en la cantidad necesaria y en la calidad adecuada, sin ninguna presencia de daños físicos (Arévalo, 2011).

Pesado: se realiza con el fin de medir la cantidad de entrada y salida de materia prima y así establecer el balance de materia, para el análisis futuro de costos. Esta operación se realiza como método de monitoreo después de cada proceso.

Selección: en esta operación se eliminan aquellas raíces de *M. esculenta* “yuca” que presentan deterioro físico, ya sea por infestaciones, golpes, y otros. Además, se seleccionan aquellas raíces que poseen un diámetro de cinco a ocho centímetros y un largo de 20-30 cm (Albornoz, 1998).

Lavado: la materia prima es lavada con agua clorada a 100 ppm con el objetivo de eliminar impurezas, residuos de tierra, reduciendo así la carga microbiana, entre otros (Arévalo, 2011).

Pelado: esta operación es realizada mediante cuchillos de acero inoxidable con el fin de eliminar la corteza y las puntas de las raíces. El corte se realiza en los dos extremos de la *M. esculenta* “yuca” para luego realizarle un corte longitudinal superficial retirando la cáscara (Daza, 2006).

Lavado: las raíces ya peladas y cortadas son lavadas con agua potable para eliminar aquellas impurezas o residuos de tierra adheridas a las raíces por efecto de las operaciones anteriores (Albornoz, 1998).

Cocción: las raíces de *M. esculenta* “yuca” sumergidas en agua son sometidas a ebullición durante 30 minutos (Díaz y Heredia, 2020).

Machacado: las raíces de *M. esculenta* “yuca” son escurridas, y el agua de la cocción almacenada para su posterior uso. Las raíces son machacadas como un puré aun estando calientes, ya que así facilita su trituración (Núñez *et al.*, 2018).

Acondicionamiento: se añade un poco de agua de la cocción y azúcar al puré de *M. esculenta* “yuca” con el fin de favorecer su posterior fermentación (Daza, 2006; Núñez *et al.*, 2018).

Activación de la levadura: para activar la levadura en concentración de 1 % (masa de levadura/l de masa yuca) esta es disuelta en 150 ml de agua a 35 °C con 5 g de azúcar y se deja en espera durante 10 minutos (Arévalo, 2011).

Inoculación de la levadura: una vez activada la levadura se vierte al puré de *M. esculenta* “yuca” en un recipiente con trampa de aire, luego se agita ligeramente en forma circular para una distribución homogénea del inóculo en todo el fluido (Arévalo, 2011).

Fermentación: el período de fermentación del masato de *M. esculenta* “yuca” varía mucho, siendo generalmente de dos a cuatro días; a más días de fermentación la concentración de alcohol será mayor. El masato con 24-72 h de fermentación se le considera suave (bebida alimenticia), y con más de cinco días bebida fuerte (Núñez *et al.*, 2018). La fermentación se realiza entre 26-35 °C y a un pH de 4-5,2 (Parapouli, 2020). Durante esta operación, los

azúcares contenidos en el puré de la *M. esculenta* “yuca” son transformados a alcohol etílico por las levaduras.

Estandarizado: luego de la fermentación el fluido obtenido es diluido en agua, en una relación 1:2 (peso/volumen) siendo el pH regulado a 3,8 y 14 °Bx (Albornoz, 1998).

Pasteurizado: se realiza a 75 °C por 15 minutos (Albornoz, 1998).

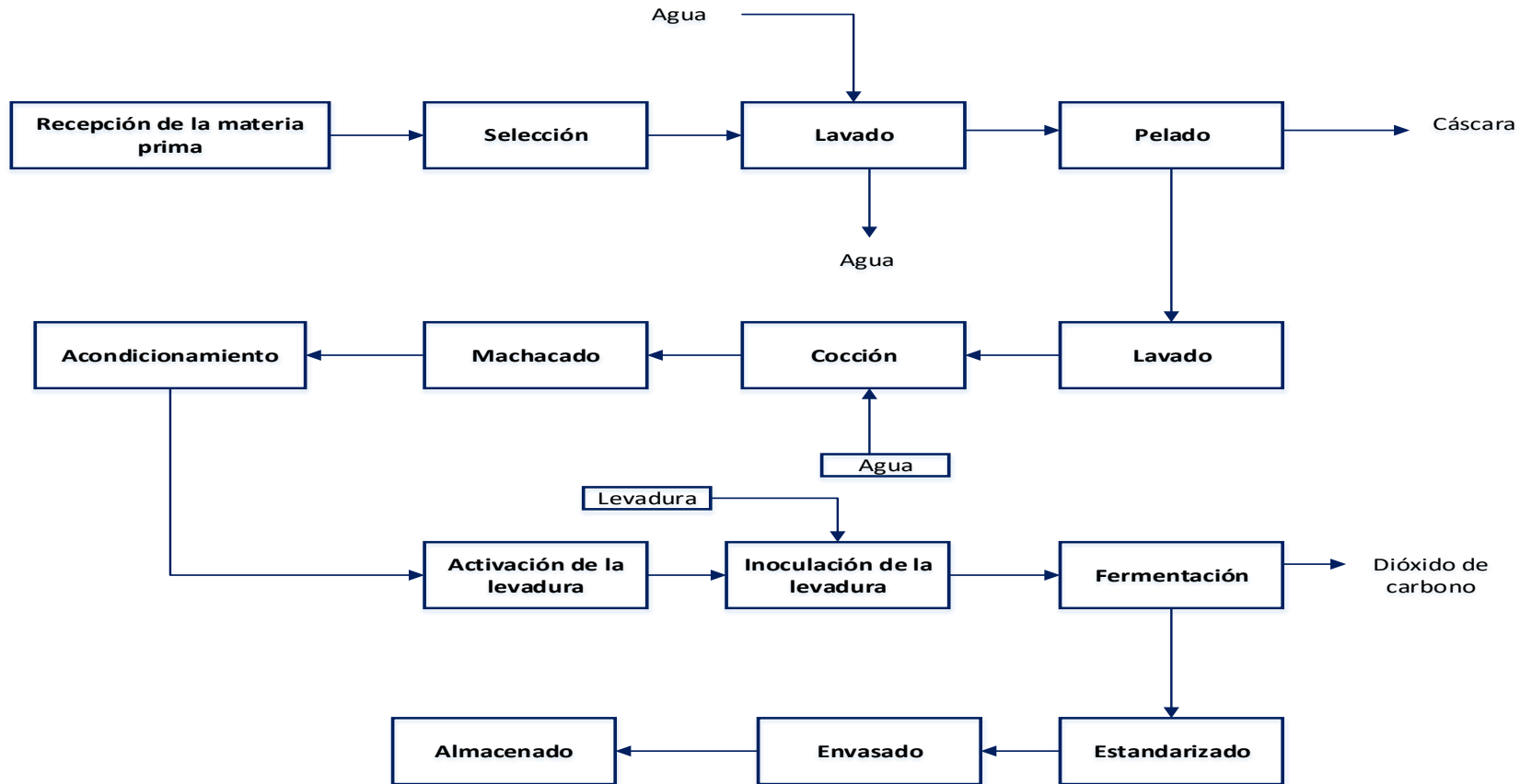
Envasado: el masato de *M. esculenta* “yuca” es envasado en botellas de vidrio transparente de 250, 500 o 1000 ml.

Almacenado: las botellas son almacenadas a temperatura ambiente.

En la Figura 1 se muestra el diagrama de flujo de la elaboración de masato de *M. esculenta* “yuca”, en la cual se detalla la secuencia de las operaciones necesarias para su elaboración. El proceso inicia con la selección, lavado y pelado de la *M. esculenta* “yuca”, seguido de un período de cocción y fermentación. Luego las características fisicoquímicas (pH y °Bx) del masato son modificadas con el estandarizado. Finalmente, el masato es pasteurizado para mejorar su calidad microbiológica a fin de ser envasado y almacenado a temperatura ambiente.

Figura 1

*Flujograma de la elaboración del masato de *M. esculenta* “yuca”*



Nota. Adaptado de Elaboración del masato de *M. esculenta* “yuca”, por Albornoz (1998). <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/342> y Diagrama de flujo de la elaboración de chicha blanca por Díaz y Heredia (2020). <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/7000>.

1.2.3. Panela granulada

La panela granulada es un endulzante natural, el cual se obtiene mediante la evaporación del jugo de *Saccharum officinarum* L. “caña de azúcar” alcanzando una humedad cercana al 3 %, luego del batido y deshidratación de las mieles (Marlo y Granda, 2015). Este tipo de edulcorante presenta forma de cristales con un diámetro de grano de 1-2,5 mm, desempeña las mismas funciones que el azúcar, pero a diferencia de ésta no posee ningún tipo de procesamiento químico (centrifugado, refinamiento o blanqueado) por lo que logra mantener la mayoría de los compuestos de la caña de azúcar (vitaminas, minerales, aminoácidos, proteínas y antioxidantes) (Dávila, 2018). La panela granulada por su alto grado nutritivo y antioxidante en relación con el azúcar (rubia o refinada) puede ser utilizada como insumo para la elaboración de bebidas, por ejemplo, el masato de *M. esculenta* “yuca”.

En la Tabla 4 se muestra el valor nutricional del azúcar cruda, refinada y panela. Según esta tabla, la panela granulada posee menores cantidades de sacarosa en comparación al azúcar cruda y refinada, pero mayores concentraciones de fructuosa y glucosa, azúcares reductores de mayor valor biológico para el organismo que la sacarosa. Además, sobresalen sus cantidades notables de minerales y vitaminas a diferencia de los demás edulcorantes donde sus niveles son insignificantes o inexistentes.

Tabla 4

Valor nutricional de la azúcar cruda, refinada y panela

Para 100 g	Azúcar cruda	Azúcar refinada	Panela
	Carbohidratos (g)		
Sacarosa	96-99	99,6	72-78
Fructuosa	0-1	-	1,5-7
Glucosa	0-1	-	1,5-7
	Minerales (mg)		
Calcio	70-90	0,5-5	40-100
Potasio	1,7-4	0,5-1	10-13
Magnesio	3-6	-	70-90
Sodio	0,7-1	0,6-0,9	19-30
Fósforo	3-5	-	20-90
Hierro	1,9-4	0,5-1	10-13
Cobre	0,1-0,3	-	0,1-0,9
Manganeso	0,1-3	-	0,2-0,5
Vitaminas (mg)			
Vitamina A	0,32	0,32	3,8

Valor nutricional de la azúcar cruda, refinada y panela (Continuación)

Provitamina A	0,34	0,34	2
Vitamina B1	Trazas	Trazas	0,01
Vitamina B5	Trazas	Trazas	0,01
Vitamina B2	Trazas	Trazas	0,06
Vitamina C	Trazas	Trazas	7
Vitamina B6	Trazas	Trazas	0,01
Vitamina D2	Trazas	Trazas	6,5
Vitamina E	40	40	111,3
Proteínas (mg)	100	100	280
Agua (g)	0,05-0,98	0,01	1,5 – 7
Energía (kcal)	382	384	312

Nota. Silva (2013). Análisis comparativo del azúcar refinado, crudo y panela. <https://pirhua.udep.edu.pe/handle/11042/1741>

Además de los componentes nutritivos ya mencionados, la panela previene las lesiones pulmonares ocasionadas por el humo del cigarro, debido a sus propiedades anticancerígenas y antitoxigénicas (Kouhestani y Honarvar, 2021). Según Jaffé (2012) la panela es utilizada para combatir la anemia en países con altos índices de esta enfermedad.

Ramírez (2018) menciona otras propiedades de la panela como la protección del sistema nervioso, participa en la asimilación de azúcares, previene los calambres musculares, refuerza el sistema inmunológico y es antialérgico.

Harish-Nayaka *et al.* (2009) reportaron que los componentes de la panela brindan un efecto citroprotector, protegiendo las células de agentes nocivos siendo benéficos en el tratamiento de infecciones del sistema respiratorio.

1.2.4. Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico propio de algunos microorganismos (hongos y bacterias) que degradan los hidratos de carbono, principalmente glucosa y fructuosa en alcohol, aldehídos, ácidos grasos y otros compuestos que otorgan en las cantidades adecuadas características deseables a las bebidas fermentadas. Además, producto de este proceso los microorganismos obtienen unidades de ATP para su propio metabolismo (Malakar *et al.*, 2020; Pari, 2013).

El etanol resultante de la fermentación se presenta a concentraciones variables en las diferentes bebidas alcohólicas fermentadas como el masato, vino, cerveza, sidra, etc., y se determina, ya sea por su grado o volumen de alcohol que contenga (Cardenas y Melendez, 2017).

1.2.5. Fermentación ácido láctica

La fermentación ácido láctica es un método de conservación de alimentos comúnmente usado para preservar vegetales, carnes y productos lácteos por extensos períodos de tiempo (Malo y Urquhart, 2016). Este es un proceso celular anaerobio realizado por las bacterias ácido lácticas (BAL), algunos protozoos y hongos. El piruvato oxidado en NADH^+ durante el ciclo del ácido cítrico es reoxidado a NAD^+ bajo ausencia de oxígeno, liberando ácido láctico o una mezcla de dióxido de carbono, ácido láctico, ácido acético y/o etanol, además, otros metabolitos podrían ser producidos en el proceso, como el acetaldehído, diacetilo y peróxido de hidrógeno. Todos estos productos contribuyen a la textura y sabor de los alimentos fermentados (Abdel-Rahman *et al.*, 2013). El poder acidificante del ácido láctico elimina y/o retarda la proliferación de microorganismos indeseables creando las condiciones favorables para la asociatividad entre las levaduras y los microorganismos productores de ácido láctico (Malo y Urquhart, 2016).

1.2.6. Las bacterias ácido lácticas (BAL)

Son bacterias grampositivas, presentan forma de bacilos y/o de cocos, son catalasas negativas (-), son anaeróbios, microaerófilicos o aerotolerantes, según el tipo de catabolismo de la glucosa que posean, las bacterias ácido lácticas se clasifican en homofermentativas y heterofermentativas. Las homofermentativas producen 2 moles de ácido láctico y 2 moles de ATP a partir de la fermentación de un mol de glucosa mediante la vía Embden – Meyerhoff – Parnas. La fructosa 1,6 - difosfato aldolasa es la enzima clave de este proceso (Holzapfel y Wood, 2014).

Las BAL heterofermentativas son incapaces de realizar la glucólisis debido a que carecen de la enzima aldolasa y usan la vía de la fosfocetolasa (6 – fosfogluconato) para convertir un

mol de glucosa en 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol/acetato, 1 mol de dióxido de carbono y una molécula de ATP (Holzapfel y Wood, 2014).

Dentro de las BAL que son homofermentativas se encuentran los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, etc. y entre las heterofermentativas están presentes los géneros *Leuconostoc* y *Lactobacillus* grupo III (Olivera, 2011).

En un ambiente con presencia de pentosas, algunas BAL metabolizan a la arabinosa, ribosa y xilosa por la vía de la fosfocetolasa. Este grupo de bacterias ácido lácticas dependiendo la especie fermentan pentosas y hexosas, ya sea por la vía de la fosfocetolasa o por separado, las hexosas por el glicólisis y las pentosas por la ruta de la fosfocetolasa (Holzapfel y Wood, 2014; Madigan *et al.*, 2014).

Uden y Zaunmüller (2009) señalaron que las bacterias ácido lácticas heterofermentativas metabolizan azúcares y ácidos orgánicos en mostos de uva. Las bacterias heterofermentativas ácido lácticas (BALH) son comunes en el mosto de uva y el vino, donde predominan cepas de *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus hilgardii*, *L. brevis*, *L. plantarum* y *L. pentosus* adaptadas a la acidez y al alto grado alcohólico. El crecimiento de las BALH depende de los azúcares y ácidos presentes en el mosto de uva. Estas bacterias degradan hexosas (glucosa, fructosa, galactosa, manosa) inclusive pentosas (arabinosa, xilosa, ribosa, ramnosa) a lactato, etanol y CO₂. Algunas BAL heterofermentativas son capaces de metabolizar ácidos orgánicos del mosto de uva como malato, tartárico, glucónico, galacturónico y fumarato. En la fermentación maloláctica, el malato es catabolizado a lactato y dióxido de carbono por la enzima maloláctica de las BALH.

La fermentación del fumarato transcurre con la degradación de este ácido a lactato y CO₂ provocada también por la enzima maloláctica de las BALH. En el caso del ácido tartárico, es degradado por la deshidratasa de las BALH a oxacetato seguido de su reducción a acetato y dióxido de carbono. En casos particulares, donde las BALH requieran electrones los

tomarán de los ácidos glucónico y galacturónico reduciéndolos en sus formas simples (Uden y Zaubmüller, 2009).

Las BAL requieren para su metabolismo de complejos que contengan aminoácidos (L-glutámico, la L-isoleucina, la L-leucina, L-valina, L-metionina, L-tirosina y L-triptófano), vitaminas (el pantotenato y el niacina) y minerales (magnesio, manganeso, hierro, calcio, potasio, sodio, zinc, etc.) (Mora y García, 2007). Los requerimientos de estos metabolitos dependen de cada especie.

Saeed y Salam (2013) señalaron que las bacterias ácido lácticas juegan un rol importante en la industria alimentaria y agrícola por su rápido crecimiento y actividad metabólica, sin embargo, son exigentes en cuanto a sus requisitos nutricionales (azúcares, aminoácidos, minerales y vitaminas). La exigencia en los requisitos nutricionales depende de cada especie y cepa, esta exigencia podría tener efectos negativos en la formación de medios de cultivo, la optimización y el control de sus actividades metabólicas, la disminución de su viabilidad y su funcionalidad durante el almacenamiento.

Las cepas BAL muestran preferencias por los diferentes azúcares, ya sea glucosa, maltosa, salicina, rafinosa, maltosa, almidón y melibiosa variando su capacidad para fermentarlos. En cuanto a los aminoácidos, las BAL no poseen la cualidad para producirlos, por tanto, la prolina, histamina, metionina, cisteína, leucina, valina, asparagina, alanina, isoleucina, glicina, serina y treonina deben ser añadidos a los medios de cultivo. Por otro lado, el ácido pantoténico, la riboflavina, el ácido nicotínico, la tiamina, la biotina y el ácido ascórbico son vitaminas esenciales para la mayoría de las cepas BAL. Asimismo, la falta de minerales esenciales como hierro, magnesio, manganeso y calcio podrían afectar el crecimiento y desarrollo de las bacterias ácido lácticas (Saeed y Salam, 2013).

Gómez (1996) señaló que las bacterias ácido lácticas podrían consumir citrato o proteínas como sustratos alternativos ante la deficiencia de azúcares. Los microorganismos *Lactococcus lactis* y especies del género *Leuconostoc* fermentan el citrato por la enzima

permeasa a diacetilo y acetoina. Sin embargo, el *Lactococcus lactis* produce mayor cantidad de acetoina que diacetilo, mientras que, la producción de especies del género *Leuconostoc* es equivalente para ambos elementos. Además, algunas bacterias ácido lácticas tienen la capacidad de degradar proteínas, géneros como *Lactococcus* y *Lactobacillus* poseen enzimas proteolíticas. Las proteinasas del *Lactococcus* son serina-proteinasas, su actividad depende del pH, la concentración de calcio, la temperatura, el tipo de cepa y su acción ocurre sobre los enlaces glutámico, glutamina y serina. Las proteinasas del *Lactobacillus* son serina proteinasas degradan las caseínas alfa y beta bajo 1 pH de 7,5 a 8. En conclusión, especies de los géneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Lactobacillus* tendrían la capacidad de degradar el citrato y las proteínas presentes en el sustrato.

Lindgren *et al.* (1990) estudiaron la degradación del L-lactato por la bacteria ácido láctica *L. plantarum* bajo condiciones anaeróbicas. Para tal fin, cinco cepas de *L. plantarum* fueron inoculadas por separado en medio CSM (10 ml de glucosa, 10 ml de citrato y 10 µl de ácido láctico), dejándolo fermentar a temperatura ambiente, bajo anaerobiosis por 60 días. Los investigadores evaluaron la degradación del L-lactato (forma ionizada del ácido láctico) cada cuatro semanas. Los resultados evidenciaron un periodo de adaptación de las cinco cepas de *L. plantarum* para degradar el 50 % de lactato en acetato y formato por efecto de la enzima lactato deshidrogenada, la concentración de citrato aumentó en el medio y la glucosa fue metabolizada a lactato y acetato.

Las BAL son consideradas microorganismos seguros para salud o GRAS (“Generally Recognized As Safe”) por la autoridad americana de la alimentación FDA permitiendo su utilización a nivel mundial en numerosas aplicaciones alimentarias, como cultivos iniciadores en productos lácteos, probióticos y en la producción de enzimas, macromoléculas y metabolitos (Klaenhammer *et al.*, 2005).

En productos fermentados como derivados de la *M. esculenta* “mandioca”, se han identificado diferentes especies de BAL, entre las que destacan *L. plantarum*, *L. alimentarius*, *L. acidophilus* y *L. casei*, *L. fermentum* y *L. pentosus* (Oguntoyinbo y Narbad, 2012). Estos tipos de microorganismos forman simbiosis con las levaduras quienes les

proporcionan los nutrientes requeridos mientras ellas les facilitan un hábitat seguro libre de competencia (Malo y Urquhart, 2016).

Furukawa *et al.* (2013) mencionaron la coexistencia simbiótica entre levaduras, bacterias ácido lácticas y mohos koji, en bebidas fermentadas. En la bebida fermentada de “arroz” (sake), los mohos koji son agentes de sacarificación y las levaduras proporcionan a las bacterias ácido lácticas el ácido nicotínico y la tiamina necesarios para su crecimiento. En la bebida fermentada de “arroz”, “trigo” o “batata” (shochu), los hongos koji producen enzimas para la degradación de polisacáridos de las materias primas y ácido cítrico para evitar la proliferación de microbiota foránea. Por otra parte, en el fermentado salado a base de soya y trigo, los investigadores evidenciaron la simbiosis entre mohos koji, levaduras y bacterias ácido lácticas tolerantes a la sal.

Estos microorganismos cooperan entre sí, los mohos koji degradan el almidón a glucosa, sustrato empleado tanto por las levaduras halófilas (*Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida etchellsii*, *Candida versatilis* y *Candida etchellsii*) como la bacteria ácido láctica halófila *Tetragenococcus halophilus*. Por su parte, esta bacteria halófila aumenta la cantidad de ácido láctico en la bebida para evitar la proliferación de microorganismos degradantes, mientras que, las levaduras aportan nutrientes a la bacteria ácido láctica. Las bacterias ácido lácticas requieren nutrientes como aminoácidos, ácidos grasos y/o vitaminas para su crecimiento, por tanto, las levaduras son responsables de estas necesidades y la protección de las BAL al estrés oxidativo. Asimismo, las levaduras consumen ácido láctico en condiciones aeróbicas para evitar la muerte progresiva de las BAL (Furukawa *et al.*, 2013).

Es importante señalar que algunas especies BAL son resistentes a los antibióticos, Mora y García (2007) analizaron *in vitro* la resistencia de cepas BAL frente a diferentes antibióticos. Para tal fin, 20 cepas BAL (6 *Lactobacillus plantarum*, 1 *Lactobacillus pentosus*, 1 *Lactocaseibacillus rhamnosus*, 5 *Leuconostoc mesenteroides*, 2 *Leuconostoc pseudomesenteroides*, 3 *Lactococcus lactis* y 2 *Lactococcus raffinolactis*) aisladas de quesos artesanales fueron sembradas en agar MRS a 30 °C por 24 h para alcanzar una población de 10⁷ UFC/ml por cada cepa. Luego, los investigadores tomaron una colonia de cada cepa,

para sembrarlas en caldo MRS e incubarlas a 30 °C por 18 h, después colocaron los 11 antibióticos (amoxicilina de 500 mg, metronidazol de 500 mg, ampicilina de 500 mg, fosfomicina de 500 mg, clindamicina de 500 mg, cloranfenicol de 500 mg, clortetraciclina de 500 mg, eritromicina de 250 mg, estreptomina de 500 mg, tetraciclina de 250 mg y penicilina de 800 000 U) en forma circular de 5 mm sobre el agar e incubaron las placas a 30 °C/24 h. Finalmente, midieron los halos de inhibición (mm) por cada antibiótico. En la amoxicilina, *Lactococcus lactis* tuvo un halo de inhibición de 11,33 mm, en la ampicilina, *Lactobacillus plantarum* con 16,67 mm, en la penicilina, *Leuconostoc mesenteroides* con 25 mm; en la fosfomicina, *Lactobacillus plantarum* con 20 mm; en el metronidazol, *Lactocaseibacillus rhamnosus* con 13 mm, en la clindamicina, *Lactococcus lactis* con 7 mm; en el cloranfenicol, *Lactobacillus plantarum* con 8,33 mm; en la eritromicina, *Leuconostoc mesenteroides* con 11,33 mm; en la estreptomina, *Lactobacillus plantarum* con 8 mm; en la clortetraciclina, *Lactococcus raffinolactis* con 19,67 mm y en la tetraciclina, *Lactobacillus plantarum* con 9,67 mm.

Importancia de las bacterias ácido lácticas

Extensión de la vida útil de los alimentos: Las bacterias ácido lácticas poseen la capacidad de prolongar la vida útil de determinados alimentos, al inhibir el desarrollo de los microorganismos alterantes (Agriopoulou *et al.*, 2020) al descender el pH, liberan bacteriocinas y otros productos de actividad antimicrobiana como el peróxido de hidrógeno en el medio según sea el género y especie a la que pertenecen (Olivera, 2011). Los procesos fermentativos de estas bacterias involucran la oxidación de hidratos de carbono en alcohol, CO₂, diacetilo, acetaldehídos, vitaminas, antioxidantes, péptidos bioactivos (bacteriocinas) y ácidos orgánicos como el ácido láctico. Este ácido con las bacteriocinas ejerce efecto antimicrobiano en los alimentos por su interferencia en el mantenimiento del potencial de membrana, la inhibición del transporte activo y reducción del pH intracelular de microorganismos indeseables (Gorbeña y Sáenz, 2008). Asimismo, estas bacterias, mejoran la textura, el sabor, el aroma y el valor alimenticio de los productos fermentados (Waters *et al.*, 2015).

Producción de aditivos alimentarios: Con el cultivo de bacterias ácido lácticas se obtienen espesantes (exopolisacáridos), saborizantes, ácido láctico y bacteriocinas (bioconservantes), pero su producción depende de la cepa que la produce (Olivera, 2011). Las bacteriocinas son proteínas antimicrobianas producidas por bacterias, son empleadas en la extensión de la vida útil, la biopreservación, la acción antimicrobiana y el control de fermentaciones en los alimentos. Entre las bacteriocinas de mayor relevancia para la industria alimentaria destacan la nisina, pediocina, plantaricina, divergicina y helveticina, todas ellas secretadas por bacterias ácido lácticas (Londoño *et al.*, 2015).

La nisina es sintetizada por el *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*., actúa sobre el *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* spp., *Escherichia coli*, entre otros, formando poros sobre sus membranas citoplasmáticas, causando la fuerza motriz de protones y el equilibrio de pH, la hidrólisis del ATP y en efecto, la muerte celular. La pediocina es producida por el *P. acidilactici*, *Pediococcus parvulus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus damnosus* y una cepa del *Lactobacillus plantarum*. Esta bacteriocina destruye la membrana plasmática de las bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Brochotrix*, *Listeria* y *Staphylococcus*. Su mecanismo de acción es similar a la nisina, sin embargo, requiere la unión a un receptor quiral en las membranas celulares para despolarizar la célula objetivo. La plantiricina es sintetizada por el *Lactobacillus plantarum*, actúa perforando la membrana citoplasmática de las bacterias grampositivas estrechamente relacionadas con el *Lactobacillus*. La divergicina es producida por *Caernobacterium divergens*, inhibe el crecimiento de la *Listeria* interfiriendo en la formación del septo durante su división celular. (Londoño *et al.*, 2015).

Efectos benéficos al hospedero: Impiden la instalación de microorganismos exógenos a la flora microbiana del hospedero gracias a sus sustancias antimicrobianas (bacteriocinas) y a su influencia del peristaltismo en el intestino de su hospedero (Olivera, 2011). Las propiedades beneficiosas para la salud son específicas de la cepa. Hay cada vez más pruebas de los efectos beneficiosos atribuidos a los probióticos, incluida la mejora de la salud intestinal, mejora de la respuesta inmune, reducción del colesterol sérico y prevención del cáncer (Kechagia *et al.*, 2013).

Géneros de bacterias ácido lácticas

Lactobacillus spp. Pertenecientes a la familia Lactobacillaceae son anaerobios estrictos, tiene forma de bastón generalmente, pero se les suele encontrar en formas de corniformes y cocobacilos, su tamaño varía entre 0,5-1,2 μm por 1-10 μm (Olivera, 2011). Pueden ser mesófilos o termófilos con capacidad de crecer a 10 °C y 45 °C en un pH óptimo de 4,5-6,2 (Olivera, 2011).

Pediococcus spp. Forman parte de la familia Lactobacillaceae son cocos esféricos, inmóviles, con diámetros de 0,5–0,8 μm , son organismos mesófilos logrando crecer a 10 °C, 35 °C y 45 °C en un pH de 5 (Olivera, 2011).

Streptococcus spp. Son bacterias Gram positivas, de forma ovoide, con tamaño de 0,8 a 1,2 μm , son inmóviles, catalasas negativas, anaerobias, crecen a 37 °C con concentraciones de NaCl al 4 % (García, 2007).

Enterococcus spp. Son Gram positivas, esféricas, dispuestas individualmente en pares o en cadenas cortas, catalasas negativas, no esporuladas, sus condiciones óptimas de crecimiento son 10 a 45 °C con concentraciones de NaCl del 6,5 % (García, 2007).

Lactococcus spp. Poseen forma de cocos dispuestos en pares, no presentan esporas, son Gram positivas, crecen a 30 °C y 9,6 de pH (García, 2007).

Leuconostoc spp. Son bacterias Gram positivas, con forma de cocobacilos, anaerobias facultativas, catalasa negativa, su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 20 a 30 °C (García, 2007).

1.2.7. Alimentos funcionales

Los alimentos funcionales son alimentos naturales o procesados, que poseen compuestos biológicamente activos, y que, en cantidades determinadas, contribuyen a la prevención o al tratamiento de enfermedades crónicas, clínicamente probados y documentados (Martirosyan y Singh, 2015).

El aumento de las reacciones desfavorables a los alimentos (mala absorción, intolerancia alimentaria y alergias), alta morbilidad de enfermedades cardiovasculares y nuevos estilos de vida del consumidor, han permitido la creciente demanda de alimentos funcionales (Zannini *et al.*, 2011). Las bebidas fermentadas a base de vegetales, cereales, tubérculos y raíces (especialmente la *M. esculenta* “yuca”) y lácteos poseen un gran potencial como alternativas de consumo (Yépez, 2018). Asimismo, existen varios ejemplos de este tipo de derivados que facilitan el suministro de compuestos funcionales como fibras dietéticas, antioxidantes, minerales, vitaminas y microorganismos probióticos (Waters *et al.*, 2015).

1.2.8. Microorganismos probióticos

Los probióticos son microbios vivos que al ser aplicados en cantidades adecuadas otorgan beneficios para la salud del huésped mejorando el balance microbiano del intestino (De Montijo, 2017).

Según De Montijo (2017) para que un microorganismo sea probiótico debe cumplir los siguientes criterios:

- Capacidad para adherirse a las superficies mucosas y a las células epiteliales del tracto gastrointestinal limitando la colonización epitelial a otras bacterias.
- Ser tolerantes al duro e inhóspito ambiente del tracto gastrointestinal. En bebidas fermentadas tradicionales, Rebaza *et al.* (2023) evidenciaron que *L. plantarum* Ch13, es una cepa robusta capaz de enfrentar mejor las condiciones desafiantes del tracto gastrointestinal y que muestra una mayor capacidad de adhesión al epitelio intestinal en comparación con la cepa probiótica comercial 299v.

- No deben poseer antecedentes de patogenicidad ni estar ligados a desórdenes gastrointestinales.
- No deben tener resistencia transferible para miembros microbianos menos inocuos frente a antibióticos de interés clínico.
- Capacidad de ser usados a gran escala, cualidades sensoriales, estabilidad genética y mantenimiento de su viabilidad.

Los probióticos son microorganismos vivos administrados en cantidades adecuadas para conferir beneficios a la salud del huésped, la mayoría de estos microorganismos son bacterias ácido lácticas las cuales degradan los azúcares en ácidos orgánicos principalmente láctico. Estos ácidos inhiben el crecimiento de otras bacterias responsables de trastornos gastrointestinales, respiratorios y alérgicos. Asimismo, muchas bacterias del ácido láctico producen péptidos antibacterianos (bacteriocinas) como la lactacina B por *Lactobacillus acidophilus*, plantaricina por *Lactobacillus plantarum* y nisina por *Lactococcus lactis*, estas bacteriocinas tienen un espectro de actividad estrecho que actúa sobre bacterias relacionadas (Wohlgemuth *et al.*, 2010).

Otro efecto probiótico de las bacterias ácido lácticas es la exclusión competitiva de bacterias patógenas donde compiten con ellas por la colonización intestinal del huésped. Este mecanismo permite al probiótico contribuir al refuerzo de la barrera mucosa intestinal y su reparación posterior a la destrucción del entomopatógeno *E. coli*. Además, los probióticos trabajan en la modulación inmunitaria donde regulan la producción de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias mediante interacciones directas con las células inmunitarias (Wohlgemuth *et al.*, 2010). La mayoría de los microorganismos más usados como probióticos son bacterias ácido lácticas de los géneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y ciertas cepas de levaduras y bacilos (De Montijo, 2017).

A nivel comercial, los probióticos son activados a partir de cepas individuales o asociadas presentes como cultivos liofilizados o en gránulos congelados siendo incorporados en

unidades de 10^6 - 10^9 UFC/ml a la matriz alimentaria a la cual le otorgarían la característica de alimento probiótico (Castillo, 2014; Grajek *et al.*, 2005). En el etiquetado de alimentos probióticos se deberá presentar la identidad y el número viable al final de la vida útil de la cepa inoculada, la dosis recomendada de ingestión, condiciones de almacenamiento, declaración de propiedades saludables y la dirección de contacto (FAO, 2006).

Grajek *et al.* (2005) indicaron que los microorganismos probióticos deben cumplir criterios relacionados con la seguridad, efectos funcionales y propiedades tecnológicas para ser empleados en los alimentos. En la seguridad alimentaria, los probióticos no deben ser patógenos, transferir genes de resistencia a antibióticos o mantener estabilidad genética. Los probióticos como componentes funcionales deben ser estables a los ácidos y la bilis, ser resistentes a las enzimas digestivas, adherirse a la superficie del intestino y mostrar actividad antagonica contra microorganismos patógenos. En cuanto a las propiedades tecnológicas, deben presentar actividad fermentativa, tolerar temperaturas de secado o congelación, ser viables en los productos alimenticios y resistir a los fagos. A nivel comercial, cantidades superiores a 10^6 UFC/ml en los alimentos son considerados como probióticos.

1.2.9. Las bacteriocinas

Las bacteriocinas son péptidos de síntesis ribosomal, con actividad antimicrobiana, segregadas por bacterias ácido lácticas. Estos compuestos son de interés en la industria por su estatus de “Presunción Cualificada de Seguridad o QPS” considerándolas como metabolitos seguros para la salud, siendo consumidas en productos fermentados por generaciones sin presentar efectos adversos en la población. Entre las bacteriocinas más representativas está la nisina cuyo productor es el *Lactococcus lactis* subs. *lactis*. Esta bacteriocina es empleada como aditivo en productos lácteos para evitar la descomposición ocasionada por bacterias grampositivas como *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Listeria*. La Pediocina es una bacteriocina segregada por el *P. acidilactici*, es utilizada como conservador en productos vegetales cárnicos por su actividad antimicrobiana contra especies de *Listeria*. Las Plantaricinas más representativas son E/F y J/K producidas todas ellas por el *Lactobacillus plantarum* (Monroy *et al.*, 2009).

En general, el modo de acción de las bacteriocinas ocurre con la unión inicial por atracción electrostática ente los lípidos cargados negativamente de la membrana bacteriana y la carga positiva de la bacteriocina. Luego, la bacteriocina ingresa a la bicapa lipídica bacteriana causando la permeabilización de la membrana celular lo que provoca la pérdida de iones y metabolitos esenciales. Las bacteriocinas también podrían inhibir la biosíntesis del ADN conllevando la muerte bacteriana como mecanismo secundario (Monroy *et al.*, 2009).

Bacterias ácido lácticas con potencial probiótico

Lactobacillus plantarum: Son heterofermentativos facultativos, aplicados como cultivos iniciadores en carnes y vegetales, difieren al resto de especies de su género en el tamaño de su genoma, pueden fermentar lactosa, glucosa, sacarosa y fructosa; requieren de una mayor fuente de manganeso y poseen una alta tolerancia al pH ácido (Cermeño, 2012). Se encuentran en un amplio rango de ambientes, como productos cárnicos y lácteos fermentados, en el tracto gastrointestinal humano, pero su hábitat más frecuente son los alimentos vegetales fermentados (Kleerebezem *et al.*, 2003).

Las cepas del *L. plantarum* podrían aliviar síntomas inflamatorios intestinales, reducir la recurrencia de *Clostridium difficile*, estimular el sistema inmune, minimizar la concentración de fibrinógeno en la sangre, pero estos beneficios son específicos de cada cepa (Cermeño, 2012).

Pediococcus spp: son homofermentativas, fermentan monosacáridos, disacáridos, trisacáridos y polisacáridos. En este grupo se encuentran el *P. acidilactici* y *P. pentosaceus* como las especies de mayor uso industrial en la elaboración de suplementos probióticos, producción de bacteriocinas (pediocina) y como cultivos iniciadores en procesos fermentativos (Porto *et al.*, 2017).

1.2.10. Las levaduras

Las levaduras son consideradas hongos unicelulares de diferentes formas (esféricas, cilíndricas o elípticas) y tamaños (4-5 µm de diámetro), producen etanol por la fermentación

de carbohidratos (Suárez *et al.*, 2016). Son esenciales en la producción de bebidas y alimentos, tales como la cerveza, el vino, la sidra y el pan (Uribe, 2007). Las levaduras poseen una actividad y crecimiento favorable a una temperatura óptima de 30 °C en un pH de 4-5,2 (Parapouli, 2020).

Dentro del grupo de levaduras más utilizadas y estudiadas en el mundo se tiene a la *S. cerevisiae* cuyas cepas son consideradas aptas para el consumo humano. A estas levaduras naturalmente se las encuentra en diversos hábitats, como el suelo, el agua, así como en diversas especies de plantas (Suárez *et al.*, 2016).

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño de la investigación

El enfoque de este estudio fue cuantitativo con alcance exploratorio debido a que hasta la fecha no se ha dilucidado concretamente la actividad metabólica de las bacterias ácido lácticas en la fermentación y almacenamiento del masato de *M. esculenta* “yuca”, por otro lado, tuvo un alcance explicativo, debido a que se explicó los efectos de la incorporación de bacterias ácido lácticas nativas con potencial probiótico en la calidad microbiológica, fisicoquímica y organoléptica del masato de *M. esculenta* “yuca” (Hernández *et al.*, 2014).

Además, este estudio fue experimental, se evaluó los efectos de la adición de bacterias ácido lácticas nativas en las características fisicoquímicas y el efecto de la adición de panela orgánica granulada en las características sensoriales de las distintas formulaciones de masatos de *M. esculenta* “yuca”.

2.2. Lugar y fecha

La investigación se ejecutó en dos lugares: la primera parte, en el laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la sede central de la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS) ubicada en el distrito de Los Olivos, Lima, donde se realizaron los análisis fisicoquímicos y microbiológicos.

El segundo, en las aulas de la UCSS Filial Morropón – Chulucanas, Piura donde se desarrollaron las pruebas sensoriales de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”. La ejecución de la parte experimental de la investigación se inició el día 16 de abril y finalizó el día 15 de julio del 2021.

2.3. Descripción del experimento

El desarrollo de la presente investigación se inició con la activación de las cepas M71 (*P. acidilactici*) y M82 (*L. plantarum*) para ser inoculadas en las diferentes formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”. El proceso de fermentación de las bebidas se llevó a cabo a 30 °C durante 72 h, período en el cual los parámetros fisicoquímicos (pH, sólidos solubles, grado alcohólico, acidez titulable, densidad y temperatura) y microbiológicos (viabilidad de las BAL y recuento de *S. cerevisiae*) fueron monitoreados a las 0, 24, 48 y 72 h, finalizado este proceso se determinó la calidad microbiológica de los masatos de *M. esculenta* “yuca”. Luego, estos fueron envasados y almacenados en refrigeración durante 17 días, donde se evaluó la viabilidad de las BAL y el recuento de *S. cerevisiae* a las 8, 11, 14 y 17 días de almacenamiento; a fin de evaluar la inocuidad de los masatos de *M. esculenta* “yuca” se determinó su calidad microbiológica al término del almacenamiento en refrigeración. Finalmente, se evaluaron la aceptación del color, aroma, apariencia general, sabor, textura y calidad global de los masatos de *M. esculenta* “yuca”, así como su intención de compra.

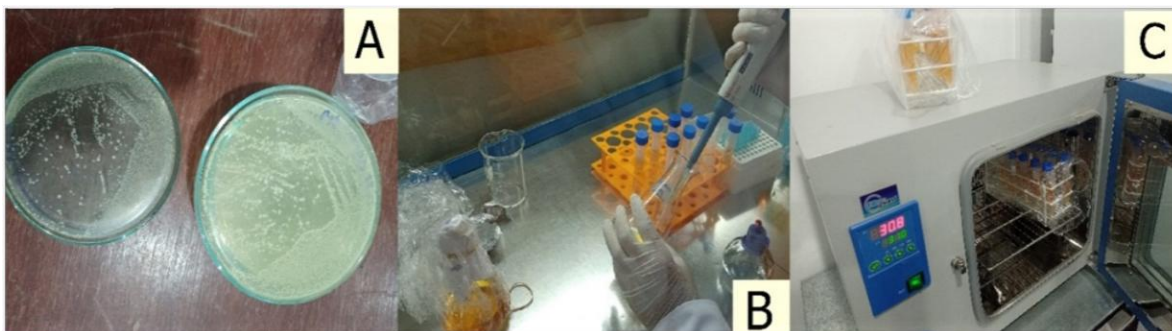
Activación de las bacterias ácido lácticas (BAL) M71 y M82

Para activar las cepas M71 (*P. acidilactici*) y M82 (*L. plantarum*) se disolvieron por separado 0,05 g de cada cultivo liofilizado en 0,5 ml de agua peptonada al 0,1 %. Se sembraron 100 µl de ambas disoluciones en placas con agar MRS (Man Rogosa y Sharpe) y se incubaron durante 48-72 h a 32 °C (Serna, 2012). Luego, se tomaron una colonia de cada cepa y se inocularon por separado en 10 ml de caldo MRS, incubándolas por 24 h a 32 °C. Transcurridas las 24 h los pre inóculos fueron homogenizados y se transfirieron 100 µl de los mismos a nuevos tubos con 10 ml de caldo MRS que se incubaron a 32 °C por 18 ± 2 h (Lee *et al.*, 2021). Concluido el tiempo de incubación de los inóculos, ambas cepas quedaron aptas para su inoculación en el masato de *M. esculenta* “yuca” alcanzando una viabilidad de 1×10^9 UFC/g para el caso del *L. plantarum* y $2,3 \times 10^9$ UFC/g para el *P. acidilactici*.

En la Figura 2 se muestra la activación de las bacterias ácido lácticas. En la sección A se observan colonias BAL en Agar MRS, a partir de estas se extrajo una colonia para prepararla como preinóculo e inóculo en caldo MRS (sección B y C).

Figura 2

Activación de las bacterias ácido lácticas



Nota. A: Colonias BAL en Agar MRS. B: Siembra del pre inóculo en caldo MRS. C: Incubación de los inóculos de bacterias ácido lácticas.

Preparación de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Se prepararon dos lotes de masatos de *M. esculenta* “yuca”, uno para el análisis fisicoquímico y microbiológico y el otro para el análisis sensorial. En el primer lote se empleó 5 kg de *M. esculenta* “yuca” para evaluar los tratamientos sin adición de panela granulada mientras en el segundo lote se emplearon 10 kg de *M. esculenta* “yuca” para evaluar los tratamientos con y sin adición de panela granulada. Para la elaboración del masato se utilizó *M. esculenta* “yuca” amarilla con una longitud entre 20 a 30 cm y un diámetro de 5 a 8 cm, sin presencia de daño físico (Albornoz, 1998). Inicialmente, se determinó mediante un refractómetro marca ATAGO 0 a 80 °Bx los sólidos solubles de la *M. esculenta* “yuca”. Para ello, se tomaron 10 g de muestra molida y diluida en 50 ml de agua destilada, a partir de la solución se colocaron dos gotas de muestra en el prisma del refractómetro y luego se procedió a dar lectura obteniendo el valor de 2 °Bx para la muestra (Figueiredo *et al.*, 2016).

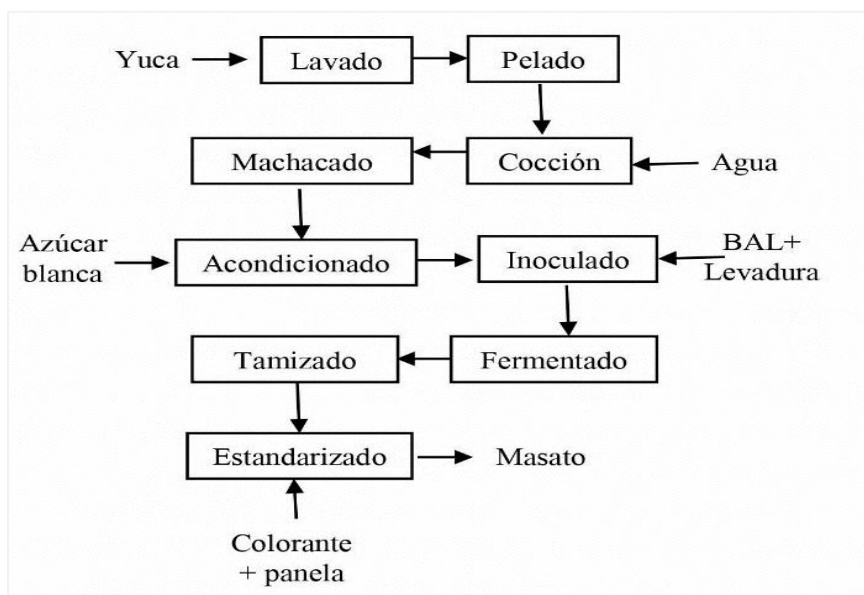
Luego de la determinación de sólidos solubles, la *M. esculenta* “yuca” fue lavada en una solución de hipoclorito de sodio (3 gotas de cloro por cada litro de agua) para posteriormente enjuagarla en agua limpia (Dirección General de Salud Ambiental [DIGESA], 2010). A continuación, la *M. esculenta* “yuca” pelada fue cocida en relación de 1:2 (kg de yuca/l de agua) durante 30 min contados a partir de la ebullición del agua. Al finalizar la cocción y antes de que la *M. esculenta* “yuca” se enfríe y se endurezca, fue machacada hasta lograr la textura de un puré (Amagua y Chancusig, 2020), en seguida, se determinó su peso.

En un recipiente se vertió agua de la cocción y el puré de *M. esculenta* “yuca” a razón de 1:1,6 (p/p) (Núñez *et al.*, 2018). A fin de favorecer la fermentación se adicionó a la mezcla azúcar blanca al 30 % (p/p), la masa resultante fue homogenizada y dividida en porciones iguales de 700 g c/u, una para cada formulación (Núñez *et al.*, 2018). Según la formulación, se adicionaron a cada una de las porciones, la levadura *S. cerevisiae* al 0,34 % (p/v) y las bacterias ácido lácticas (*P. acidilactici* y *L. plantarum*) en una concentración del 1 % (p/v) (Brandão *et al.*, 2011; Shuña, 2019). Para ello, las bacterias ácido lácticas activadas fueron resuspendidas en 10 ml de agua estéril, de la misma manera, la levadura fue disuelta en agua esterilizada en proporción de 1 g de levadura/10 ml de agua (De la Cruz y Terán, 2013). Todas las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” inoculadas fueron fermentadas a 30 °C durante 72 h (Núñez *et al.*, 2018).

Al término de la fermentación, los masatos de *M. esculenta* “yuca” fueron tamizados obteniéndose alrededor de 520 g de cada formulación para ser envasados y almacenados en refrigeración durante 17 días donde se les evaluó microbiológicamente (Daza, 2006). Concluido este período, se preparó un nuevo lote con seis formulaciones de masato siguiendo los procedimientos descritos en la Figura 3. Después del tamizado, tres tratamientos de masato fueron edulcorados con panela granulada orgánica a 14 °Bx de acuerdo a la Tabla 5, además, el color de todas las bebidas fue modificado con la adición del colorante natural Bixin 50 pp en una concentración de 350 mg/g de masato.

Figura 3

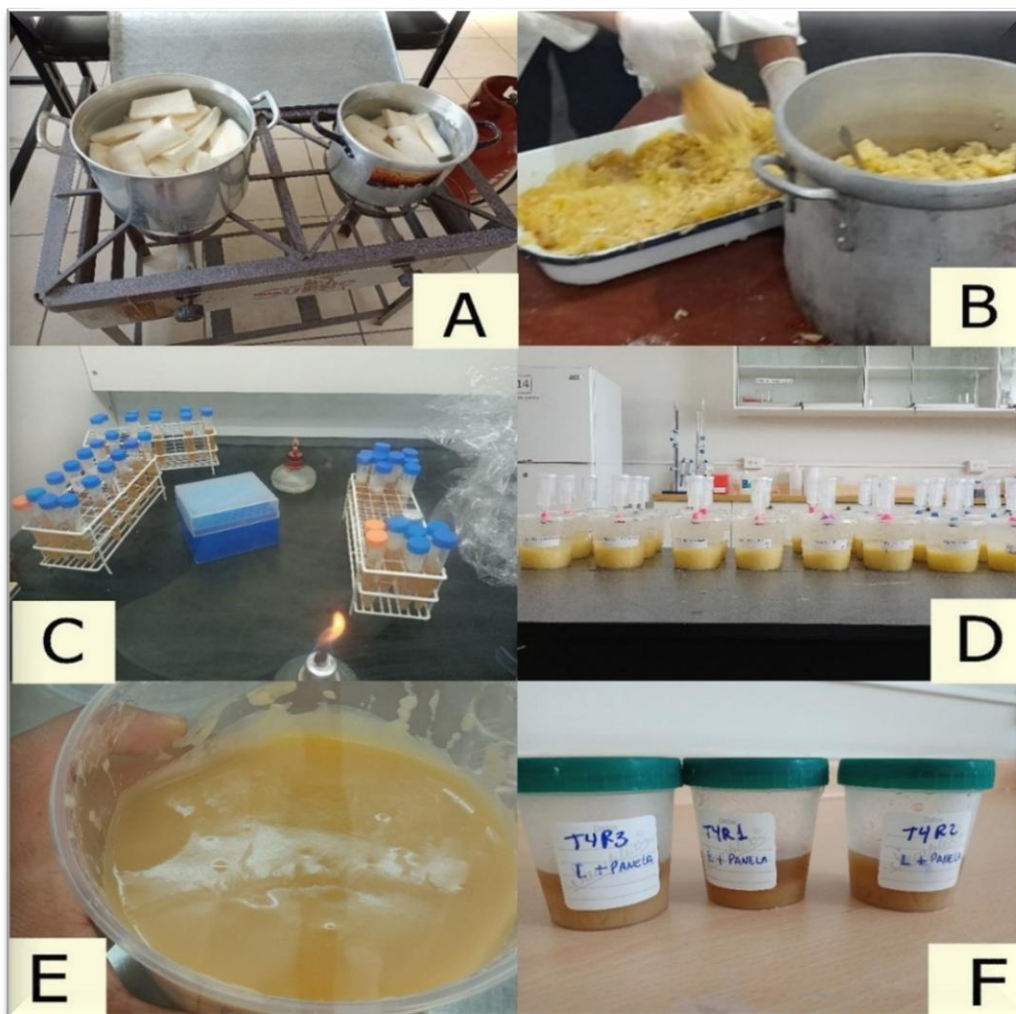
Diagrama de flujo para la elaboración de masato de M. esculenta “yuca”



En la Figura 4 se muestra la elaboración del masato de *M. esculenta* “yuca”. En la sección A se observa la cocción de la misma, seguido del machacado en un batán de madera (sección B), para continuar con la inoculación de las bacterias ácido lácticas en el masato (sección C) y su posterior fermentación (sección D). Finalmente, las formulaciones de masato fueron estandarizadas de acuerdo con el color y la adición de panela granulada orgánica (sección E y F). Para mayor detalle se desarrolló el balance de materia para 1000 g de masato en el Apéndice 13.

Figura 4

Elaboración del masato de M. esculenta “yuca”



Nota. A: Cocción de la *M. esculenta* “yuca”. B: Machacado de la *M. esculenta* “yuca”: Inoculación del masato. D: Fermentación del masato. E: Estandarizado del color del masato. F: Formulaciones de masato con adición de panela.

2.4. Tratamientos

La Tabla 5 muestra los tratamientos experimentales de la investigación.

Tabla 5

Tratamientos experimentales aplicados en las formulaciones de masatos comerciales de M. esculenta “yuca” con incorporación de bacterias ácido lácticas nativas (BAL) de potencial probiótico

Tratamientos	Descripción
T1*	Sin panela, <i>S. cerevisiae</i> + <i>L. plantarum</i>
T2*	Sin panela, <i>S. cerevisiae</i> + <i>P. acidilactici</i>
T3*	Sin panela, <i>S. cerevisiae</i> + consorcio de BAL
T4	Con panela, <i>S. cerevisiae</i> + <i>L. plantarum</i>
T5	Con panela, <i>S. cerevisiae</i> + <i>P. acidilactici</i>
T6	Con panela, <i>S. cerevisiae</i> + consorcio de BAL

Nota. *Tratamientos para análisis fisicoquímicos. Tratamientos para evaluación sensorial: T1 al T6.

2.5. Unidades experimentales

Para el análisis fisicoquímico y microbiológico, las unidades experimentales fueron envases de polietileno de 1 l de capacidad conteniendo 700 ml de cada formulación de masato de *M. esculenta* “yuca”. Por cada tratamiento se consideró tres repeticiones y solo el control tuvo dos réplicas, con un total de 11 unidades experimentales.

Para la evaluación sensorial, participaron 36 consumidores (36 repeticiones), quienes degustaron 35 ml de muestra de masato de *M. esculenta* “yuca” siguiendo el orden de presentación de las formulaciones establecidas en el diseño experimental (Apéndice 4).

2.6. Identificación de variables y su mensuración

En la Tabla 6 se indican las variables fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales evaluadas, sus unidades de medida y el método/equipo de medición empleado.

Tabla 6*Variables, unidades de medida y métodos de medición*

Tipo	Variable	Unidad	Método de medición
Físico-química	pH		Potenciómetro
	Sólidos solubles	°Bx	NTE INEN ISO 2173
	Grado alcohólico	g/l	Método de destilación
	Acidez titulable	g/g	Titulación
	Densidad	g/ml	Picnómetro
Microbiológica	Temperatura	Celsius	Termómetro de mercurio
	Viabilidad BAL		
	Recuento de <i>S. cerevisiae</i>	UFC/g	Método de recuento en Placas
Sensorial	Coliformes totales		
	Hongos y mohos		
	Aceptación del color	Calificaciones	Pruebas de aceptación con escala hedónica de nueve puntos.
	Aceptación del aroma		
	Aceptación de la apariencia general		
	Aceptación del sabor		
Aceptación de la textura			
Aceptación de la calidad global			
	Intención de compra		Escala de cinco puntos

Análisis fisicoquímicos

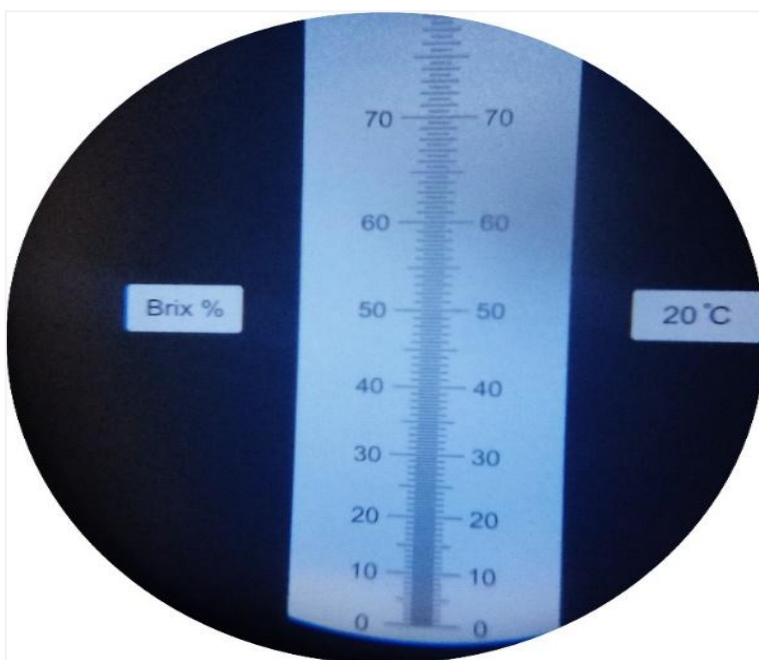
Potencial de hidrógeno (pH). Para efectuar la medición del pH se introdujo el electrodo del pH-metro digital HI 98103 previamente calibrado en un vaso precipitado de 50 ml que contenía 20 ml de muestra y se anotó el valor de pH cuando la lectura fue estable (Grivanesa, 2016), conforme se muestra en la Figura 5.

Figura 5*Medición del pH de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”*

Sólidos solubles. La cuantificación de los sólidos solubles se realizó mediante el refractómetro manual ATAGO 0-80 °Bx previamente calibrado (Figura 6). Se colocaron dos gotas de la muestra sobre el prisma del refractómetro, se orientó el refractómetro hacia una fuente de luz y se procedió a dar lectura directa a través del ocular de °Bx (NTE INEN ISO 2173, 2013).

Figura 6

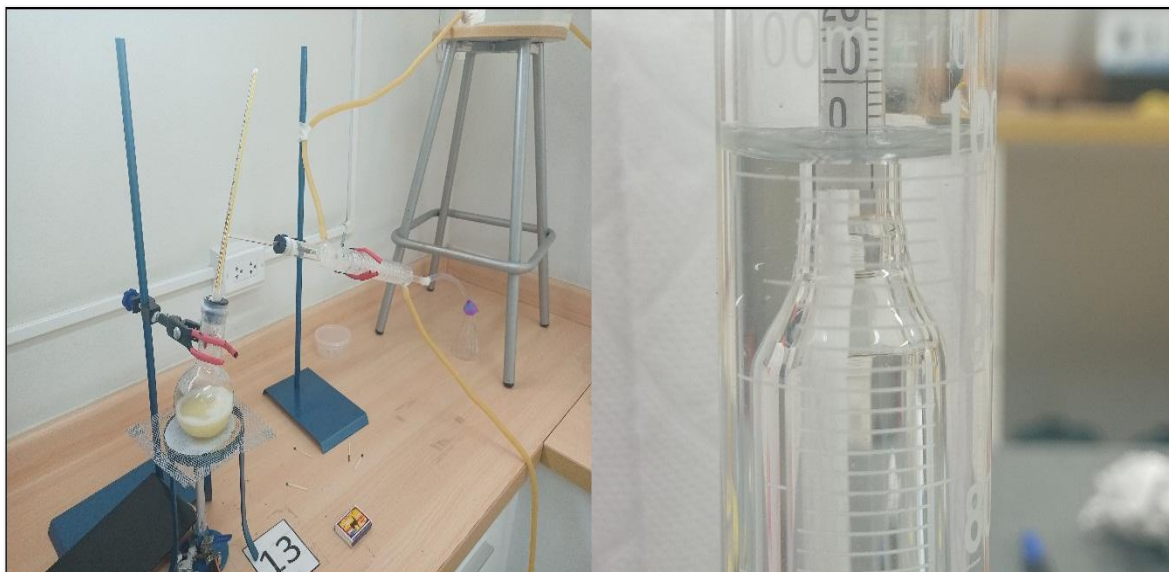
*Medición de los sólidos solubles de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”*



Grado alcohólico volumétrico o % (v/v) de etanol por destilación. La determinación del grado alcohólico se realizó por el método de destilación simple. Para ello, en un matraz aforado de 250 ml de capacidad se colaron 100 ml de la muestra y fragmentos de vidrio poroso con el fin de regular la ebullición. A continuación, se destiló el etanol de la muestra mediante arrastre de vapor de agua y se colectó en un matraz Erlenmeyer (Benavides, 2012). Para la determinación aerométrica, el destilado se colectó en una probeta, se enrasó con agua destilada al volumen inicial de 100 ml y se prosiguió a dar lectura al grado alcohólico con un alcoholímetro corrigiendo si la temperatura del destilado era diferente a 20 °C (Benavides, 2012). Las lecturas del grado alcohólico se hicieron por triplicado. La muestra fue calentada en un destilador simple hasta colectar el etanol en una probeta, donde se sumergió el alcoholímetro para medir el grado alcohólico del masato de *M. esculenta* “yuca” (Figura 7).

Figura 7

Determinación del grado alcohólico del masato de M. esculenta “yuca” por el método de destilación simple



Acidez titulable. La medición de la acidez titulable expresado en ácido láctico se realizó siguiendo los protocolos establecidos por Nieto (2022), la titulación se efectuó con hidróxido de sodio al 0,15 N y se empleó tres gotas de fenolftaleína al 2 % como indicador (Figura 8). La acidez titulable se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra)} = \frac{G \cdot N \cdot f \cdot 100}{m}$$

Donde:

G: Gasto de hidróxido de sodio (ml)

N: Normalidad de hidróxido de sodio (eq/ml)

m: Masa de la muestra (g)

f: factor de conversión (0,09 g/eq)

Figura 8

Medición de la acidez titulable de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”



Densidad. Para determinar la densidad de la muestra de masato de *M. esculenta* “yuca” se empleó un picnómetro de 50 ml de capacidad (Figura 9). Primero, se calculó la masa del agua a 20 °C, para esto se pesó el picnómetro vacío, luego se llenó con agua destilada a 20 °C, seguidamente se colocó la tapa y se pesó nuevamente, siendo la masa resultante la diferencia entre el peso del picnómetro con agua y el peso del picnómetro vacío. Siguiendo este mismo procedimiento, se calculó también la masa de la muestra de masato de *M. esculenta* “yuca” (Salazar, 2020). Finalmente, la densidad de la muestra se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\rho(b) = \frac{\text{masa } (b)}{\text{masa } (a)} * \rho(a)$$

$\rho(b)$ = densidad de la muestra de masato de *M. esculenta* “yuca”

$m(a)$ = masa del agua a 20 °C

$m(b)$ = masa de la muestra de masato de *M. esculenta* “yuca”

$\rho(a)$ = densidad del agua a 20 °C =1 g/ml

Figura 9

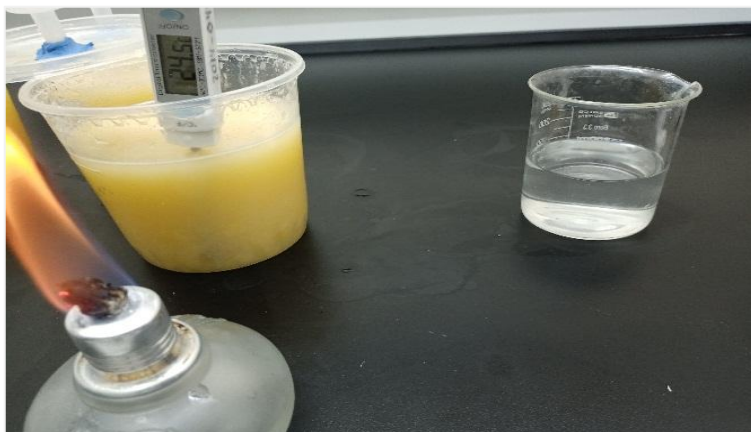
Medición de la densidad de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”



Temperatura. La medición de la temperatura se realizó de manera directa utilizando el termómetro digital marca AZ Instruments, modelo TP101 durante la elaboración de los masatos de *M. esculenta* “yuca” y un termómetro de mercurio para el análisis fisicoquímico de los mismos (Figura 10) (Sarango y Yanchapanta, 2019).

Figura 10

Medición de la temperatura de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”



Análisis microbiológicos

Para el análisis microbiológico, se empleó el método de recuento en placa, para lo cual se realizaron diluciones sucesivas y se sembraron en los medios de cultivo respectivos. Para el recuento de colonias de *L. plantarum* y *P. acidilactici* se usó Agar MRS complementado con Cicloheximida a 50 mg/l para inhibir el crecimiento de levaduras y mohos (Tangler y Erten, 2012) (ver Apéndice 5). Todas las muestras se incubaron a 32 °C por un período de 48-72 h, para finalmente evaluar la viabilidad de las bacterias ácido lácticas.

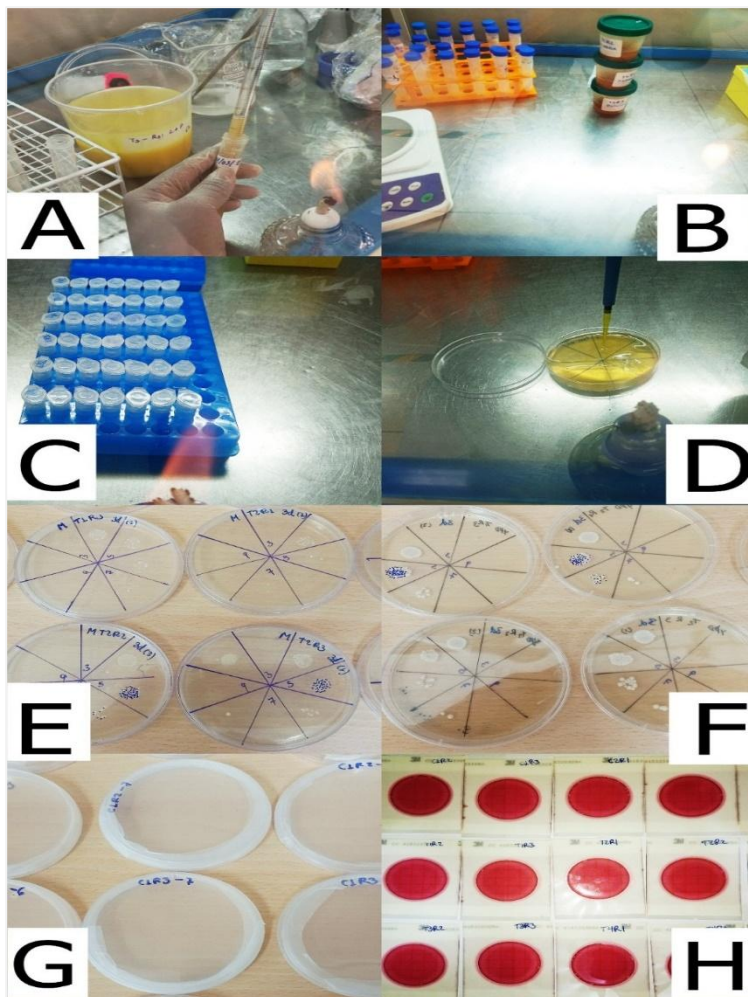
La cuantificación de *S. cerevisiae* se realizó mediante recuentos microbianos en medio de cultivo Agar YPD, suplementado con el antibiótico Cloranfenicol (50 mg/l) (Suhr *et al.*, 2017) (ver Apéndice 5); las placas inoculadas fueron incubadas a temperatura ambiente de tres a cinco días.

Para el análisis de la calidad microbiológica de los masatos de *M. esculenta* “yuca” se siguieron los protocolos establecidos en el Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos de la DIGESA (2001). En el recuento de coliformes totales se emplearon placas petrifilm de la marca 3M, incubadas a 35-37 °C por 24 h. En tanto que, la numeración de hongos y mohos se realizó en medio Agar Patata Dextrosa incubando las muestras entre 22-24 °C durante 3-5 días (Dirección General de Salud Ambiental [DIGESA], 2001).

La Figura 11 muestra el análisis microbiológico de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”. En la sección A se observa la extracción de la muestra con el fin de preparar las diluciones seriadas (Sección B y C). Luego se sembraron alícuotas de las diluciones seriadas en Agar MRS para el recuento de bacterias ácido lácticas, Agar YPD para levaduras, Agar PDA para hongos y mohos; y placas petrifilm 3M para el recuento de coliformes (Sección D-H).

Figura 11

Análisis microbiológicos de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”



Nota. A: Extracción de muestra de masato. B-C: Diluciones seriadas de los masatos. D: Siembra de la muestra de masato en medio sólido. E: Recuento de bacterias ácido lácticas en Agar MRS. F: Recuento de levaduras en Agar YPD. G: Recuento de mohos y hongos en agar Patata Dextrosa. H: Recuento de coliformes en placas petrifilm 3M.

Evaluación sensorial

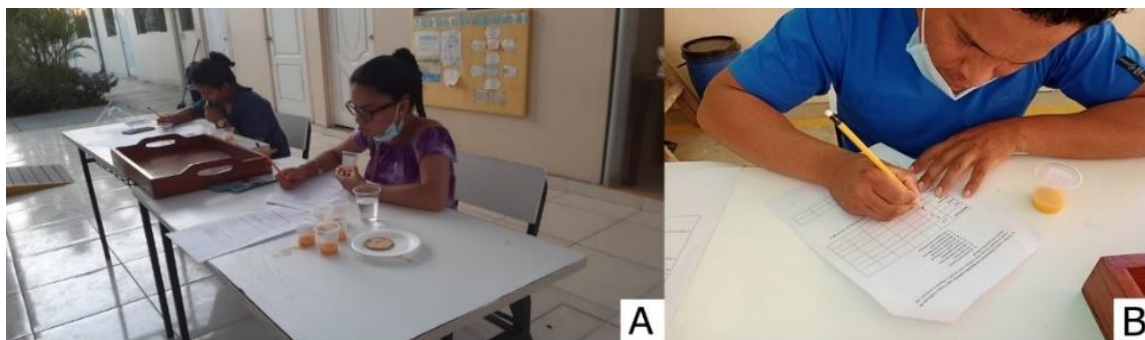
La evaluación sensorial de los masatos de *M. esculenta* “yuca” inició con el reclutamiento de 36 consumidores habituales o potenciales de masato mediante la ficha de reclutamiento de consumidores de bebidas fermentadas (ver Apéndice 1) (Espinoza, 2007). De los 36 consumidores, 19 eran varones y 17 mujeres, con edades entre 18 y 41 años. Los consumidores, antes de iniciar su evaluación fueron instruidos sobre el uso de la escala, la naturaleza de los productos y el tipo de evaluación a ser realizada.

La evaluación de las seis muestras de masato de *M. esculenta* “yuca” fue realizada de forma monádica, es decir, una muestra por vez (Espinoza, 2007). Aproximadamente 35 ml de cada muestra fueron servidas a una temperatura entre 10 y 15 °C, codificadas con números aleatorios de tres dígitos (ver Apéndice 3). Los participantes evaluaron la aceptación de la apariencia general, el color, el aroma, el sabor, la textura y la calidad global de las muestras, indicando cuanto les gustó o disgustó cada muestra de acuerdo con la escala hedónica de nueve puntos (9= me gustó extremadamente, 5= no me gustó ni me disgustó, 1= me disgustó extremadamente) (Wichchukit y Mahony, 2015). Luego de la degustación de cada muestra, los consumidores indicaron su intención de compra utilizando una escala de cinco puntos (1= seguramente no compraría, 3= tal vez compraría / tal vez no compraría, 5= seguramente compraría) (Cantos, 2018).

En la Figura 12 se observa la evaluación sensorial de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”. Se inició con la presentación de las muestras codificadas en el orden previamente establecido por el diseño experimental (ver Apéndice 4), donde el consumidor evaluó la aceptación de las características sensoriales del masato (Sección A), siendo los resultados anotados en una ficha de evaluación sensorial (Sección B, ver Apéndice 2).

Figura 12

Evaluación sensorial de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”



Nota. A: Evaluación sensorial de los masatos de *M. esculenta* “yuca”. C: Llenado de la ficha de evaluación sensorial del masato.

2.7. Diseño estadístico del experimento

Para la determinación de los datos fisicoquímicos (temperatura, sólidos solubles, pH, acidez titulable, grado alcohólico y densidad) y microbiológicos (viabilidad de las BAL y recuento de la levadura *S. cerevisiae*) durante el proceso de elaboración de los masatos de *M. esculenta* “yuca”, se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con arreglo factorial 4x4, teniendo como factores el tipo de inóculo (*S. cerevisiae*, *L. plantarum*, *P. acidilactici* y el consorcio de *L. plantarum* + *P. acidilactici*) y el tiempo de fermentación (0, 24, 48, 72 h). En tanto que, la determinación de la viabilidad de las BAL y el recuento de la levadura *S. cerevisiae* en la etapa del almacenamiento en refrigeración, se realizó a los 8, 11, 14 y 17 días.

Para la generación de datos sensoriales se usó el diseño en cuadrado latino (DCL) para control del efecto del orden de presentación de las muestras de masato de *M. esculenta* “yuca” y del efecto de los consumidores (Apéndice 4).

2.8. Análisis estadístico de datos

Los resultados fisicoquímicos y microbiológicos obtenidos durante el proceso de elaboración de los masatos de *M. esculenta* “yuca” fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) ($p \leq 0,05$), considerando como fuentes de variación el tipo de inóculo,

el tiempo de fermentación (0, 24, 48, 72 h) y la interacción del tipo de inóculo x tiempo de fermentación. En tanto que los resultados del recuento de *Saccharomyces cerevisiae* y viabilidad de las BAL durante el almacenamiento en refrigeración de los masatos de *M. esculenta* “yuca” fueron analizados a través de ANOVA ($p \leq 0,05$), considerando como fuentes de variación el tipo de inóculo, el tiempo de almacenamiento (8, 11, 14 y 17 días) y la interacción tipo de inóculo x tiempo de almacenamiento.

Los resultados sensoriales fueron analizados mediante ANOVA ($p \leq 0,05$) acorde al diseño estadístico utilizado, considerando como fuentes de variación: consumidor, orden de presentación, adición de panela, tipo de inóculo y la interacción de adición de panela x tipo de inóculo. Adicionalmente, se realizaron pruebas post hoc de Tukey ($p \leq 0,05$) para comparación pareada de las medias de aceptación de los atributos evaluados. Todos los análisis fueron complementados con tablas estadísticas de medias y desviaciones estándar y gráficos de interacción. El análisis estadístico se realizó en STATISTICA, Versión 10.

2.9. Materiales y equipos

En las Tablas 7 al 11 se describen: la materia prima, insumos, materiales, equipos, instrumentos, medios de cultivos y reactivos empleados en el ensayo.

Tabla 7

Materia prima e insumos utilizados en el experimento

Denominación	Definición
<i>M. esculenta</i> “yuca”	Variedad blanca, con una longitud de 20-30 cm y un diámetro de 5-8 cm. Sin presencia de daño físico.
Agua de mesa	Sin gas y de marca reconocida comercialmente.
Azúcar blanca	100 % de la caña de azúcar y de excelente calidad.
Bacterias ácido lácticas	Cepas puras de M71 (<i>P. acidilactici</i>) y M82 (<i>L. plantarum</i>) en formato polvo.
Levadura	<i>S. cerevisiae</i> tipo 2, marca comercial SIGMA.
Panela granulada orgánica	Certificada internacionalmente en CAAE, marca Norandino.
Colorante natural	Bixin 50 pp, marca BIOCONCOLORS.
Agua potable	Usada para el lavado de materiales y la <i>M. esculenta</i> “yuca”.
Agua destilada	Usada en la limpieza de los materiales e instrumentos. Se esterilizó con el fin de emplearla en la suspensión del inóculo, los airlocks y como solvente del colorante.

Tabla 8

Materiales empleados en la investigación

Nombre	Descripción
Olla	De aluminio, con 10 kg de capacidad.
Envases	Capacidad de 250 ml y 1 l.
Airlock	De polipropileno, formado por 3 piezas.
Tela Horganza	De color blanco, utilizado como tamizador en la elaboración del masato de <i>M. esculenta</i> “yuca”.
Pipetas	Volumen de 1, 5 y 10 ml.
Probetas	Capacidad de 50, 100 y 250 ml.
Vaso precipitado	50, 250 y 500 ml de capacidad.
Tips	De capacidad de 100 μ l y 1000 μ l.
Tubos de centrifuga	Capacidad de 10 y 15 ml.
Matraz Erlenmeyer	500 y 1 000 ml de capacidad.
Frascos de tapa azul	Capacidad de 500 ml.
Guantes quirúrgicos, Toca, Tapaboca	Materiales usados como parte de la indumentaria para evitar la contaminación antes, durante y después de la elaboración del masato de <i>M. esculenta</i> “yuca”.

Tabla 9*Equipos usados en la realización de la investigación*

Nombre	Descripción
Cocina industrial	Con sistema de gas, de 2 hornillas.
Vortex Mixer Kyntel	Equipo empleado para la homogenización de muestras diluidas.
Cabina de flujo laminar Kyntel	Modelo SWCJ1F, con sistema de luz UV.
Balanza digital dp	Modelo SFE-200, con precisión de 0,01 g.
Centrifuga Labnet	Modelo spectrafuge 6C, usado para separar la fase líquida (medio de cultivo) de la fase sólida (biomasa) en la preparación del inóculo.
Autoclave Andina	Modelo XFS-280 M13, con capacidad de 24 l.
Baño Maria KertLab	Modelo CDK-S22, 6 l de capacidad y control de temperatura (10-100 °C).
Equipo de destilación simple	De 250 ml de capacidad.
Balanza analítica de precisión dp	Modelo ESJ200-4, con precisión de 0,1 mg.

Tabla 10*Instrumentos empleados en la investigación*

Nombre	Definición
pHmetro Hanna	Modelo HI 98103, con precisión de 0,01.
Refractómetro	Con una escala de medición de 0-80 °Bx
Picnómetro	De 25 ml de capacidad, calibrado a una temperatura de trabajo de 20 °C.
Termómetro digital	De vástago, modelo TP101 y rango de temperatura: -50 °C a 150 °C
Alcoholímetro	Con una escala de medición de 0-100 %, calibrado a 20 °C.
Bureta graduada	Con 25 ml de capacidad, usado para determinar la acidez titulable en las muestras.

Tabla 11*Medios de cultivo y reactivos usados en la investigación*

Denominación	Definición
Fenolftaleína	Al 2 % de concentración. Reactivo utilizado en la determinación de la acidez titulable de las muestras
Hidróxido de sodio	Solución al 0,15 N empleada en la medición de la acidez titulable de las muestras.
Buffer	Solución buffer 4 y 7 para calibrar el electrodo del potenciómetro en rangos ácidos y básicos.
Agua destilada	Empleado como solvente en los análisis microbiológicos y fisicoquímicos.
Caldo MRS	Preparación de las bacterias ácido lácticas antes de ser inoculadas al masato de <i>M. esculenta</i> "yuca".
Agar Agar Type II	Usado como agente gelificante en los medios de cultivo.
Peptona	Solución de peptona al 0,1 %, usada para suspender las muestras en los análisis microbiológicos.
Agar plate count	Numeración de aerobios mesófilos.
Ácido tartárico	Solución al 10 %, usado como regulador de pH en la preparación del Agar PDA.
Placas petrifilm 3M	Recuento de coliformes.
Cloranfenicol	Antibacteriano administrado en el Agar YPD.
Cicloheximida	Antimicótico administrado en el Agar MRS.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1. Efecto de la adición de las cepas nativas de bacterias ácido lácticas en las características fisicoquímicas de las distintas formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

3.1.1. Análisis de la temperatura

Los resultados del análisis de varianza evidenciaron que el tipo de inóculo no tuvo efecto significativo sobre la temperatura (°C) de las formulaciones de masatos de *M. esculenta* “yuca” ($p > 0,05$), mientras que, el tiempo de fermentación y la interacción del tipo de inóculo x tiempo de fermentación presentaron efecto significativo ($p \leq 0,05$) (Tabla 12). El análisis de los resultados de las tablas ANOVA se restringe a los efectos significativos de las fuentes de variación consideradas.

Tabla 12

Análisis de varianza de la temperatura (°C) de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	0,033	3	0,00	1,568	0,219
Tiempo de fermentación	725,02	3	241,67	34407,88	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de fermentación	0,183	9	0,00	2,895	0,015
Error	0,197	28	0,00		

La Tabla 13 muestra las medias y desviaciones estándar de la temperatura (°C) en las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación, en la que se observa un aumento progresivo de la temperatura durante la fermentación con un comportamiento similar para el control (sólo levadura) y los tratamientos con adición de BAL, habiendo iniciado todos ellos con un valor de 18,4 °C y finalizado a las 72 h con una temperatura media de 27 °C.

En la Tabla 13 y Figura 13, se observa que, para todos los tratamientos, el mayor incremento de temperatura se dio en las primeras 24 h de fermentación, produciéndose un incremento de 8 °C en este periodo, luego en las siguientes 24 h, la temperatura se incrementó en 3,3 °C, registrándose, entre las 48 y 72 h de fermentación un descenso aproximado de 2,4 °C en los cuatro tipos de inóculos.

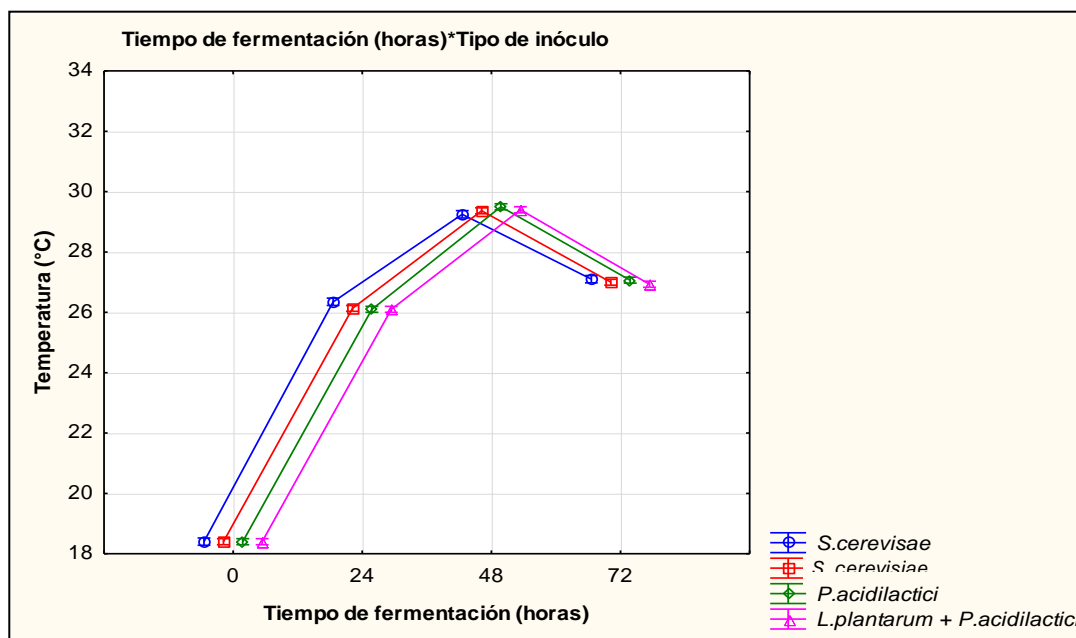
Tabla 13

Valores promedio y desviaciones estándar de la temperatura (°C) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (horas)	n	Promedio de la temperatura (°C)	Desviación estándar de la temperatura (°C)
C	<i>S. cerevisiae</i>	0	2	18,4	0,00
	<i>S. cerevisiae</i>	24	2	26,4	0,07
	<i>S. cerevisiae</i>	48	2	29,3	0,07
	<i>S. cerevisiae</i>	72	2	27,1	0,14
T1	<i>L. plantarum</i>	0	3	18,4	0,00
	<i>L. plantarum</i>	24	3	26,2	0,14
	<i>L. plantarum</i>	48	3	29,4	0,07
	<i>L. plantarum</i>	72	3	27,1	0,07
T2	<i>P. acidilactici</i>	0	3	18,4	0,00
	<i>P. acidilactici</i>	24	3	26,1	0,07
	<i>P. acidilactici</i>	48	3	29,5	0,14
	<i>P. acidilactici</i>	72	3	27,1	0,07
T3	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	0	3	18,4	0,00
	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	24	3	26,1	0,07
	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	48	3	29,5	0,07
	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	72	3	26,9	0,00

Figura 13

Valores promedio de la temperatura (°C) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación



3.1.2. Análisis de los sólidos solubles

En la Tabla 14, se presenta el análisis de varianza (ANOVA) respecto a los sólidos solubles (°Bx) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” considerando al tiempo de fermentación (horas) y el tipo de inóculo como fuentes de variación. Se observa que el tipo de inóculo, el tiempo de fermentación y la interacción de ambos factores ejercieron efecto significativo sobre los resultados de los sólidos solubles de los masatos de *M. esculenta* “yuca” ($p \leq 0,05$).

Tabla 14

Análisis de varianza de los sólidos solubles (°Bx) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	52,344	3	17,448	259,63	0,000
Tiempo de fermentación	319,87	3	106,62	1586,61	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de fermentación	26,947	9	2,994	44,554	0,000
Error	1,882	28	0,067		

En la Tabla 15, se muestran las medias y desviaciones estándar de los sólidos solubles según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”, donde se observa que, para los cuatro tipos de inóculo se produjo una reducción gradual de los sólidos solubles durante el tiempo de fermentación, siendo esta reducción más baja en el masato control (solo con levadura).

En la Tabla 15 y Figura 14, se observa que en los masatos de *M. esculenta* “yuca” con adición de *L. plantarum*, *P. acidilactici* y el consorcio, se produjo un padrón de reducción muy similar de sólidos solubles durante el tiempo de fermentación, iniciando con 12,5 °Bx y finalizando en 72 h de fermentación, con promedios entre de 4,0 y 4,2 °Bx; entretanto en el masato con levadura, en 72 h de fermentación registró un promedio de 9,2 °Bx. Además, se observa que en las formulaciones con cepas BAL, se produjo una reducción aproximada de 2,5 °Bx en las primeras 24 h de fermentación, mientras que, entre 24 y 48 h, se produjo una reducción en torno a 4,0 °Bx y de 48 a 72 h, una reducción de 2 °Bx.

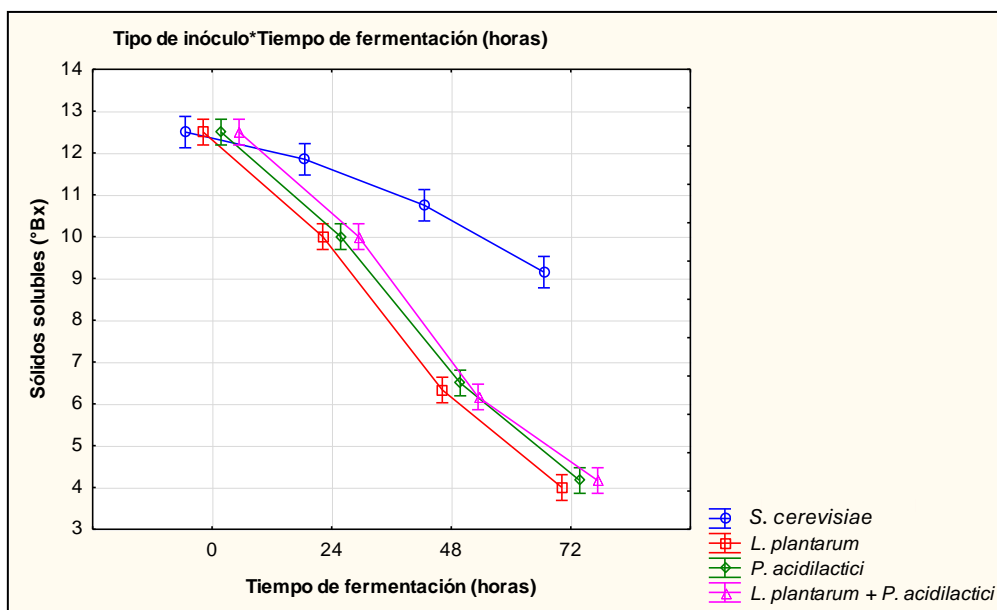
Tabla 15

Valores promedio y desviaciones estándar de los sólidos solubles (°Bx) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (h)	n	Promedio de sólidos solubles (°Bx)	Desviación estándar de sólidos solubles (°Bx)
C	<i>S. cerevisiae</i>	0	2	12,5	0,00
	<i>S. cerevisiae</i>	24	2	11,9	0,21
	<i>S. cerevisiae</i>	48	2	10,8	0,35
	<i>S. cerevisiae</i>	72	2	9,2	0,21
T1	<i>L. plantarum</i>	0	3	12,5	0,00
	<i>L. plantarum</i>	24	3	10,0	0,00
	<i>L. plantarum</i>	48	3	6,3	0,58
	<i>L. plantarum</i>	72	3	4,0	0,00
T2	<i>P. acidilactici</i>	0	3	12,5	0,00
	<i>P. acidilactici</i>	24	3	10,0	0,00
	<i>P. acidilactici</i>	48	3	6,5	0,50
	<i>P. acidilactici</i>	72	3	4,2	0,29
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	0	3	12,5	0,00
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	24	3	10,0	0,00
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	48	3	6,2	0,29
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	72	3	4,2	0,29

Figura 14

Valores promedio de los sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación



3.1.3. Análisis del pH

Los resultados del ANOVA (Tabla 16) de los valores del pH de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” evidenciaron que el tipo de inóculo, el tiempo de fermentación y la interacción de ambos factores tuvieron un efecto significativo ($p \leq 0,05$), indicando que cada una de estas fuentes de variación influyeron en los valores de pH obtenidos.

Tabla 16

Análisis de varianza del pH de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	0,842	3	0,281	27,970	0,000
Tiempo de fermentación	75,531	3	25,177	2507,98	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de fermentación	0,378	9	0,042	4,184	0,002
Error	0,281	28	0,010		

En la Tabla 17, se muestran las medias y desviaciones estándar del pH según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”, en la que se evidencia un comportamiento similar en todos los tratamientos durante el tiempo de fermentación. Asimismo, se observa que el mayor descenso en los valores de pH se dio en las primeras 24 h, disminuyendo en este periodo entre 2,8 y 3,2 unidades de pH, luego entre las 24 y 48 h de fermentación se observó una reducción menor, presentando un promedio de 0,5 unidades de pH, para volver a incrementarse en todos los tratamientos en las últimas 24 h de fermentación, dándose el mayor incremento en los masatos inoculados con *P. acidilactici* y el consorcio con un valor de 1,1 unidades de pH, mientras que en los masatos control (solo levadura) y *L. plantarum* se registraron un incremento en torno a 0,7 y 0,8 unidades de pH, respectivamente.

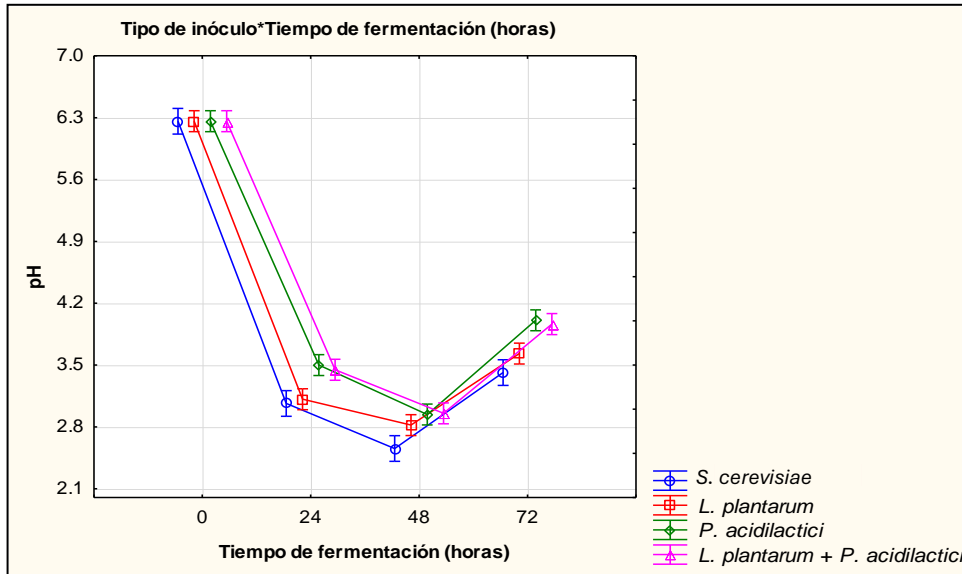
Tabla 17

Valores promedio y desviaciones estándar del pH según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (horas)	n	Promedio del pH	Desviación estándar del pH
C	<i>S. cerevisiae</i>	0	2	6,3	0,00
	<i>S. cerevisiae</i>	24	2	3,1	0,09
	<i>S. cerevisiae</i>	48	2	2,6	0,08
	<i>S. cerevisiae</i>	72	2	3,4	0,30
T1	<i>L. plantarum</i>	0	3	6,3	0,00
	<i>L. plantarum</i>	24	3	3,2	0,01
	<i>L. plantarum</i>	48	3	2,9	0,01
	<i>L. plantarum</i>	72	3	3,6	0,12
T2	<i>P. acidilactici</i>	0	3	6,3	0,00
	<i>P. acidilactici</i>	24	3	3,4	0,26
	<i>P. acidilactici</i>	48	3	2,9	0,06
	<i>P. acidilactici</i>	72	3	4,0	0,05
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	0	3	6,3	0,00
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	24	3	3,5	0,04
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	48	3	2,9	0,02
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	72	3	4,0	0,04

Figura 15

Valores promedio del pH de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación



3.1.4. Análisis de la acidez titulable

Los resultados del análisis de varianza de los valores de la acidez titulable de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” (Tabla 18) evidenciaron que todas las fuentes de variación (tipo de inóculo, tiempo de fermentación e interacción de ambos factores) tuvieron efecto significativo ($p \leq 0,05$). La interacción entre el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación evidenciaron que estos factores no actuaron de forma independiente y que los valores de acidez titulable variaron en el tiempo según el tipo de inóculo.

Tabla 18

Análisis de varianza de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	0,008	3	0,003	3,126	0,042
Tiempo de fermentación	2,210	3	0,737	898,46	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de fermentación	0,187	9	0,021	25,329	0,000
Error	0,023	28	0,001		

La Tabla 19 y Figura 16 evidencian el aumento progresivo de la acidez titulable para los cuatro tipos de inóculo, iniciando con 0,1 g ácido láctico/100 g de muestra y finalizando con un valor cercano a 0,7 g ácido láctico/100 g de muestra en las primeras 48 h de fermentación. Luego de este período el masato de *M. esculenta* “yuca” control (solo levadura) continuó aumentando su acidez titulable a 0,8 g ácido láctico/100 g de muestra, mientras que, los masatos de *M. esculenta* “yuca” con adición de *L. plantarum*, *P. acidilactici* y el consorcio descendieron su valor a 0,5 g ácido láctico/100 g de muestra. Asimismo, se observó en las formulaciones con cepas BAL, un aumento promedio de 0,4 g ácido láctico/100 g de muestra en la acidez titulable durante las primeras 24 h de fermentación, en tanto que de 24 a 48 h de fermentación se registró en promedio, apenas un aumento de 0,1 g ácido láctico/100 g de muestra y de 48 a 72 h de fermentación, una reducción de casi 0,2 g ácido láctico/100 g de muestra en la acidez titulable de los masatos de *M. esculenta* “yuca”.

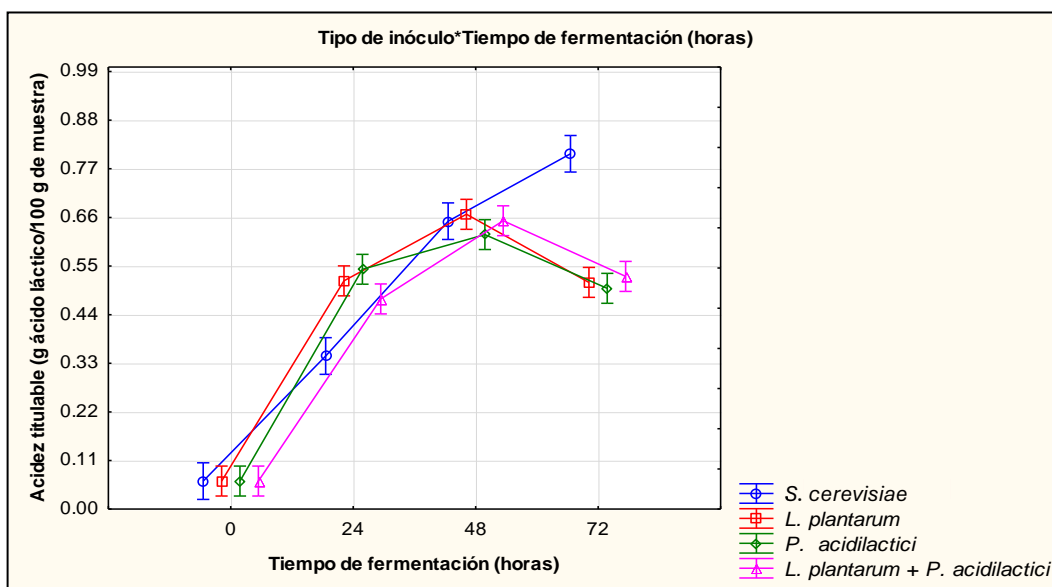
Tabla 19

Valores promedio y desviaciones estándar de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (horas)	n	Promedio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra)	Desviación estándar de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra)
C	<i>S. cerevisiae</i>	0	2	0,1	0,00
	<i>S. cerevisiae</i>	24	2	0,4	0,05
	<i>S. cerevisiae</i>	48	2	0,7	0,05
	<i>S. cerevisiae</i>	72	2	0,8	0,01
T1	<i>L. plantarum</i>	0	3	0,1	0,00
	<i>L. plantarum</i>	24	3	0,5	0,01
	<i>L. plantarum</i>	48	3	0,7	0,04
	<i>L. plantarum</i>	72	3	0,5	0,04
T2	<i>P. acidilactici</i>	0	3	0,1	0,00
	<i>P. acidilactici</i>	24	3	0,6	0,03
	<i>P. acidilactici</i>	48	3	0,6	0,02
	<i>P. acidilactici</i>	72	3	0,5	0,04
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	0	3	0,1	0,00
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	24	3	0,5	0,02
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	48	3	0,7	0,02
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	72	3	0,5	0,01

Figura 16

Valores promedio de la acidez titulable (g ácido láctico/100 g de muestra) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación



3.1.5. Análisis del grado alcohólico

La Tabla 20 muestra el análisis de varianza de los resultados del grado alcohólico de los masatos de *M. esculenta* “yuca”, donde se indica que hubo efectos significativos para el tipo de inóculo, tiempo de fermentación y la interacción entre el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación ($p \leq 0,05$), significando que cada una de estas fuentes de variación influyeron en los valores de esta variable.

Tabla 20

Análisis de varianza del grado alcohólico (%v/v) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	0,326	3	0,109	124,77	0,000
Tiempo de fermentación	20,124	3	6,708	7693,81	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de fermentación	0,313	9	0,035	39,844	0,000
Error	0,014	16	0,001		

En la Tabla 21 y Figura 17, se presentan las medias y desviaciones estándar del grado alcohólico (%v/v) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación. La Tabla 21 muestra el aumento gradual del grado

alcohólico con un comportamiento similar para todos los tratamientos, iniciando con un valor de 0 %v/v y finalizando con 2,0 %v/v en las 72 h de fermentación. Aunque el valor obtenido del grado alcohólico para todos los masatos de *M. esculenta* “yuca” al final de la fermentación fue el mismo, se presentaron diferencias en sus incrementos. Entre las 24 y 48 h el masato control (solo levadura) presentó un incremento del 0,7 %v/v, pero el incorporado con BAL 1,1 %v/v, esta diferencia cambió en las últimas 24 h de fermentación donde el masato control aumentó su grado alcohólico en 1,0 %v/v, mientras que, los tratamientos con BAL 0,5 %v/v.

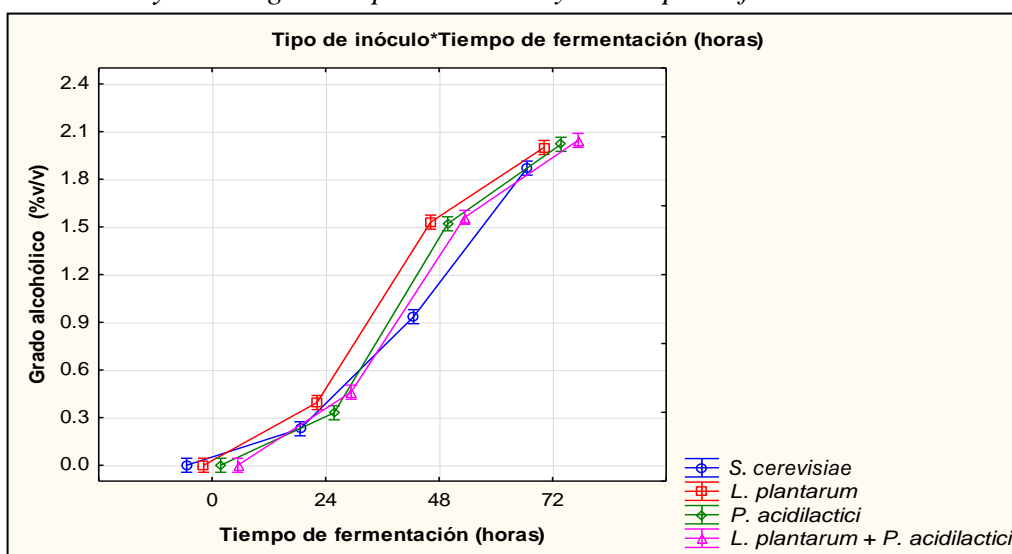
Tabla 21

Valores promedio y desviaciones estándar del grado alcohólico (%v/v) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (horas)	n	Promedio del grado alcohólico (%v/v)	Desviación estándar del grado alcohólico (%v/v)
C	<i>S. cerevisiae</i>	0	2	0,0	0,00
	<i>S. cerevisiae</i>	24	2	0,2	0,03
	<i>S. cerevisiae</i>	48	2	0,9	0,02
	<i>S. cerevisiae</i>	72	2	1,9	0,04
T1	<i>L. plantarum</i>	0	2	0,0	0,00
	<i>L. plantarum</i>	24	2	0,4	0,01
	<i>L. plantarum</i>	48	2	1,5	0,01
	<i>L. plantarum</i>	72	2	2,0	0,03
T2	<i>P. acidilactici</i>	0	2	0,0	0,00
	<i>P. acidilactici</i>	24	2	0,3	0,04
	<i>P. acidilactici</i>	48	2	1,5	0,03
	<i>P. acidilactici</i>	72	2	2,0	0,01
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	0	2	0,0	0,00
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	24	2	0,5	0,01
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	48	2	1,6	0,03
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	72	2	2,1	0,08

Figura 17

Valores promedio del grado alcohólico (%v/v) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación



3.1.6. Análisis de la densidad

Por lo que se refiere a la densidad de los masatos de *M. esculenta* “yuca”, medido al final de la fermentación, el tipo de inóculo no tuvo efecto significativo sobre esta variable ($p > 0,05$) (Tabla 22). Las medias de las diferentes formulaciones de masato variaron en un rango de $1,006 \pm 0,002$ a $1,009 \pm 0,001$ g/ml (Tabla 23).

Tabla 22

Análisis de varianza de la densidad (g/ml) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	0,00002	3	0,00	3	0,096
Error	0,00001	7	0,00		

Tabla 23

Valores promedio y desviaciones estándar de la densidad (g/ml) según el tipo de inóculo de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Tratamiento	Tipo de inóculo	n	Densidad (g/ml)
Control	<i>S. cerevisiae</i>	2	1,006 ± 0,002
T1	<i>L. plantarum</i>	3	1,009 ± 0,002
T2	<i>P. acidilactici</i>	3	1,007 ± 0,001
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	3	1,009 ± 0,001

3.2. Análisis de la viabilidad de las bacterias ácido lácticas nativas durante el proceso de elaboración de los masatos de *M. esculenta* “yuca” y durante el almacenamiento en refrigeración

3.2.1. Durante el proceso de elaboración

La Tabla 24 muestra el análisis de varianza respecto a la viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de los masatos de *M. esculenta* “yuca”, en la que se observa que todas las fuentes de variación (tipo de inóculo, tiempo de fermentación y su interacción) ejercieron un efecto significativo ($p \leq 0,05$), por tanto, en la población de bacterias ácido lácticas influyeron la cepa inoculada, el tiempo de fermentación y la interacción entre el tipo de cepa y el tiempo de fermentación.

Tabla 24

Análisis de varianza de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	22,049	3	7,350	120,972	0,000
Tiempo de fermentación	14,572	3	4,857	79,953	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de fermentación	108,03	9	12,003	197,56	0,000
Error	1,701	28	0,061		

En relación a la Tabla 25, los masatos de *M. esculenta* “yuca” incorporados con bacterias ácido lácticas tendieron a disminuir su viabilidad durante las primeras 24 h de fermentación, en contraste, el masato control lo incrementó, pese a que no había sido inoculado con ningún tipo de bacteria ácido láctica.

Agregando a lo anterior, en la Tabla 25 y Figura 18 se muestra que el masato control (solo levadura) incrementó su viabilidad BAL de 0,0 a 8,0 Log10 UFC/g en 72 h de fermentación, entretanto, el tratamiento T1 (*L. plantarum*) disminuyó su viabilidad en 0,9 Log10 UFC/g en 72 h de fermentación, mientras que el tratamiento T2 (*P. acidilactici*) disminuyó en un valor de 1,6 Log10 UFC/g y el tratamiento T3 (consorcio), en 2,0 Log10 UFC/g, siendo este último el que presentó una mayor disminución de su viabilidad en 72 h de fermentación.

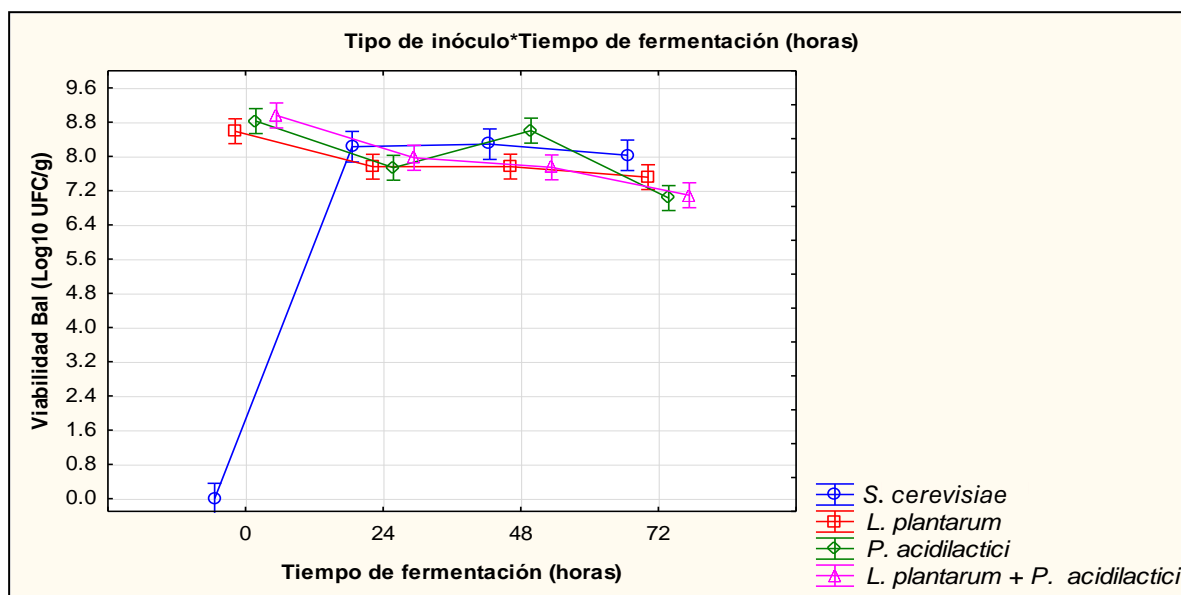
Tabla 25

Valores promedio y desviaciones estándar de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) según el tipo e inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (horas)	n	Promedio de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g)	Desviación estándar de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g)
C	<i>S. cerevisiae</i>	0	2	0,0	0,00
	<i>S. cerevisiae</i>	24	2	8,2	0,18
	<i>S. cerevisiae</i>	48	2	8,3	0,05
	<i>S. cerevisiae</i>	72	2	8,0	0,04
T1	<i>L. plantarum</i>	0	3	8,5	0,16
	<i>L. plantarum</i>	24	3	7,6	0,14
	<i>L. plantarum</i>	48	3	7,5	0,06
	<i>L. plantarum</i>	72	3	7,6	0,00
T2	<i>P. acidilactici</i>	0	3	8,7	0,38
	<i>P. acidilactici</i>	24	3	7,7	0,26
	<i>P. acidilactici</i>	48	3	8,5	0,60
	<i>P. acidilactici</i>	72	3	7,1	0,22
T3	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	0	3	9,1	0,07
	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	24	3	8,0	0,03
	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	48	3	7,6	0,12
	<i>L. plantarum + P. acidilactici</i>	72	3	7,1	0,12

Figura 18

Valores promedio de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación



3.2.2. Durante el almacenamiento en refrigeración

La Tabla 26 muestra el análisis de varianza respecto a la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de los masatos de *M. esculenta* “yuca” considerando al tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento como fuentes de variabilidad. De acuerdo a esta tabla, el tipo de inóculo, tiempo de almacenamiento y su interacción evidenciaron un efecto significativo en la viabilidad BAL de los masatos ($p \leq 0,05$).

Tabla 26

Análisis de varianza de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	2,878	3	0,959	35,959	0,000
Tiempo de almacenamiento	6,091	3	2,030	76,106	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de almacenamiento	4,939	9	0,549	20,568	0,000
Error	0,747	28	0,027		

En la Tabla 27 y Figura 19, se muestran la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” respecto al tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento, evidenciando que la viabilidad de las bacterias ácido lácticas (*L. plantarum*, *P. acidilactici* y el consorcio) durante el almacenamiento en refrigeración de los masatos alcanzaron valores entre 7,3 y 7,9 Log10 UFC/g a los 17 días de almacenamiento. Entre los días 8 y 11, los tratamientos T2 (*P. acidilactici*) y T3 (consorcio) mostraron el mayor incremento de su viabilidad, con un valor cercano a 1,5 Log10 UFC/g. Entretanto, el masato inoculado con *L. plantarum* presentó el menor incremento con 0,1 Log10 UFC/g. Entre los 11 y 14 días todos los masatos presentaron una disminución de la viabilidad BAL, siendo esta reducción mayor en el masato con *P. acidilactici* que presentó 1,2 Log10 UFC/g. En los últimos tres días de almacenamiento pese a que el tratamiento T1 y T2 no evidenciaron una reducción considerable de su viabilidad BAL, el masato incorporado con el consorcio tuvo una reducción del número de bacterias ácido lácticas de 1,4 Log10 UFC/g.

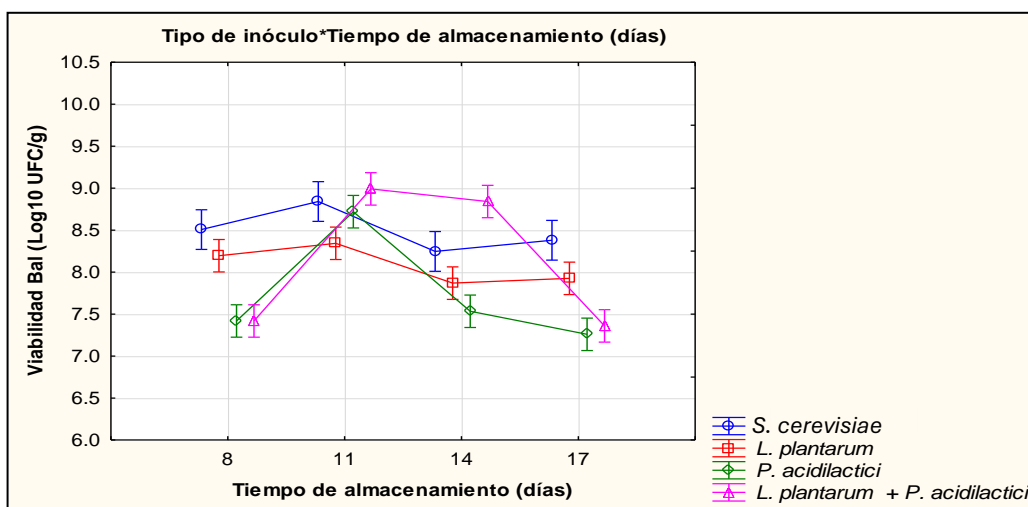
Tabla 27

Valores promedio y desviaciones estándar de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y tiempo de almacenamiento de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de almacenamiento (días)	n	Promedio de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g)	Desviación estándar de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g)
C	<i>S. cerevisiae</i>	8	2	8,5	0,23
	<i>S. cerevisiae</i>	11	2	8,8	0,13
	<i>S. cerevisiae</i>	14	2	8,3	0,19
	<i>S. cerevisiae</i>	17	2	8,4	0,18
T1	<i>L. plantarum</i>	8	3	8,2	0,15
	<i>L. plantarum</i>	11	3	8,3	0,13
	<i>L. plantarum</i>	14	3	7,9	0,15
	<i>L. plantarum</i>	17	3	7,9	0,13
T2	<i>P. acidilactici</i>	8	3	7,4	0,10
	<i>P. acidilactici</i>	11	3	8,7	0,04
	<i>P. acidilactici</i>	14	3	7,5	0,21
	<i>P. acidilactici</i>	17	3	7,3	0,24
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	8	3	7,4	0,10
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	11	3	9,0	0,02
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	14	3	8,8	0,05
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	17	3	7,4	0,32

Figura 19

Valores promedio de la Viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento



3.3. Análisis del recuento de la levadura *S. cerevisiae* durante el proceso de fermentación de los masatos de *M. esculenta* “yuca” y durante el almacenamiento en refrigeración

3.3.1. Durante el proceso de elaboración

Los resultados del análisis de varianza evidenciaron que todas las fuentes de variación (tipo de inóculo, tiempo de fermentación y su interacción) tuvieron efecto significativo sobre el recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” ($p \leq 0,05$) (Tabla 28) durante el proceso de fermentación, significando que cada una de estas fuentes influyeron en los valores de recuento de *S. cerevisiae*.

Tabla 28

Análisis de varianza del recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” durante el proceso de fermentación

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	1,819	3	0,606	14,551	0,000
Tiempo de fermentación	3,084	3	1,028	24,672	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de fermentación	2,783	9	0,309	7,423	0,000
Error	1,167	28	0,042		

En la Tabla 29, se muestran las medias y desviaciones estándar del recuento de la levadura *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) en los masatos de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación, donde se observa que para el masato control se mantuvo estable durante la fermentación, iniciando con 6,2 Log10 UFC/g y finalizando con 6,5 Log10 UFC/g a las 72 h de fermentación, mientras que, para los masatos con BAL el recuento descendió de 7,1 Log10 UFC/g a 6,6 Log10 UFC/g para el *L. plantarum*, de 7,5 Log10 UFC/g a un valor de 6,3 Log10 UFC/g para el *P. acidilactici* y de 7,3 Log10 UFC/g a 6,5 Log10 UFC/g para el consorcio.

La Tabla 29 y la Figura 20 muestran que en las primeras 24 h de fermentación la cantidad de levadura disminuyó en un rango de 0,3 a 1,0 Log10 UFC/g para los cuatro tipos de inóculo, obteniéndose una mayor reducción en el masato de *M. esculenta* “yuca” incorporado con *P. acidilactici*, cuya disminución fue de 1 Log10 UFC/g. Entre las 24 y 48 h, solo el masato control y el inoculado con *L. plantarum* presentaron un incremento de 0,8 Log10 UFC/g y 0,7 Log10 UFC/g, respectivamente. En tanto, los tratamientos T2 (*P. acidilactici*) y T3 (consorcio) mantuvieron prácticamente constantes el recuento de *S. cerevisiae*. En las últimas 24 h, el tratamiento con *L. plantarum* obtuvo la mayor reducción de levaduras con un decremento de 0,7 Log10 UFC/g, mientras que los demás tratamientos presentaron una reducción en torno 0,2 Log10 UFC/g.

Tabla 29

Valores promedio y desviaciones estándar del recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

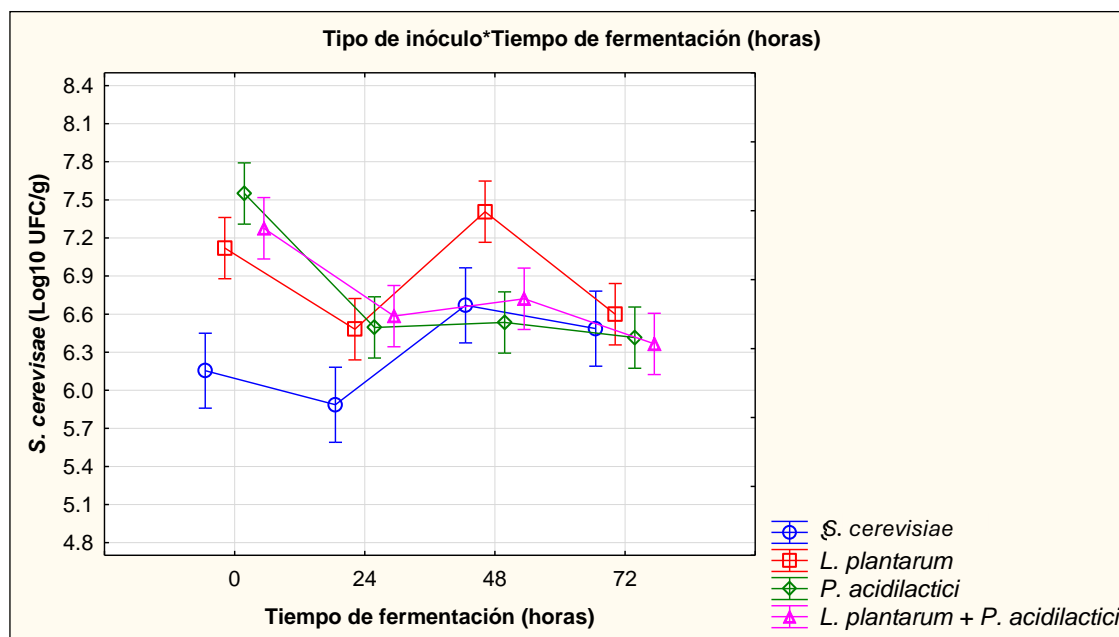
Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (horas)	n	Promedio del recuento de <i>S. cerevisiae</i> (Log10 UFC/g)	Desviación estándar del recuento de <i>S. cerevisiae</i> (Log10 UFC/g)
C	<i>S. cerevisiae</i>	0	2	6,2	0,06
	<i>S. cerevisiae</i>	24	2	5,9	0,07
	<i>S. cerevisiae</i>	48	2	6,7	0,21
	<i>S. cerevisiae</i>	72	2	6,5	0,10
T1	<i>L. plantarum</i>	0	3	7,1	0,16
	<i>L. plantarum</i>	24	3	6,6	0,04
	<i>L. plantarum</i>	48	3	7,3	0,08

Valores promedio y desviaciones estándar del recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y tiempo de fermentación de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” (“Continuación”)

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de fermentación (horas)	n	Promedio del recuento de <i>S. cerevisiae</i> (Log10 UFC/g)	Desviación estándar del recuento de <i>S. cerevisiae</i> (Log10 UFC/g)
T1	<i>L. plantarum</i>	72	3	6,6	0,16
	<i>P. acidilactici</i>	0	3	7,5	0,54
T2	<i>P. acidilactici</i>	24	3	6,5	0,07
	<i>P. acidilactici</i>	48	3	6,5	0,28
	<i>P. acidilactici</i>	72	3	6,3	0,28
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	0	3	7,3	0,32
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	24	3	6,6	0,01
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	48	3	6,7	0,22
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	72	3	6,5	0,00

Figura 20

Valores promedio del recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de fermentación



3.3.2. Durante el almacenamiento en refrigeración

Los resultados del análisis de varianza para el recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) (Tabla 30) evidenciaron efectos significativos en el tipo de inóculo ($p \leq 0,05$), el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0,05$) y la interacción entre el tipo de inóculo y el tiempo de

almacenamiento ($p \leq 0,05$), significando que cada una de estas fuentes de variación influyeron en los recuentos obtenidos.

Tabla 30

*Análisis de varianza del recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) en las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” durante el almacenamiento en refrigeración*

Fuente de variación	SS	GL	MS	F	p
Tipo de inóculo	2,376	3	0,792	58,108	0,000
Tiempo de almacenamiento	12,645	3	4,215	309,24	0,000
Tipo de inóculo*Tiempo de almacenamiento	1,228	9	0,136	10,015	0,000
Error	0,382	28	0,014		

En la Tabla 31 y Figura 21 se muestran las medias y desviaciones estándar del recuento de la levadura *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) en las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” respecto al tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento. En esta tabla, se evidenció la viabilidad de la levadura en el período de refrigeración de los masatos cuyos valores variaron entre 6,8 y 7,1 Log10 UFC/g a los 14 días de almacenamiento. Entre los 8 y 11 días de refrigeración, los masatos con adición de *L. plantarum*, *P. acidilactici* y el consorcio obtuvieron el mayor incremento de *S. cerevisiae* con un aproximado de 1,2 a 1,5 Log10 UFC/g frente a los 0,7 Log10 UFC/g del masato control (sólo levadura). Por otro lado, durante los 11 y 14 días de almacenamiento se produjo una reducción en el recuento de *S. cerevisiae* para los cuatro tipos de inóculos, siendo 0,7 Log10 UFC/g para los masatos incorporados con BAL y 1,1 Log10 UFC/g para el masato control. Finalmente, en los tres últimos días de refrigeración, la población de *S. cerevisiae* siguió disminuyendo, pero en este periodo los masatos incorporados con BAL presentaron la mayor reducción con un valor en torno a 0,9 Log10 UFC/g, mientras que, el masato control mostró un decremento de 0,1 Log10 UFC/g.

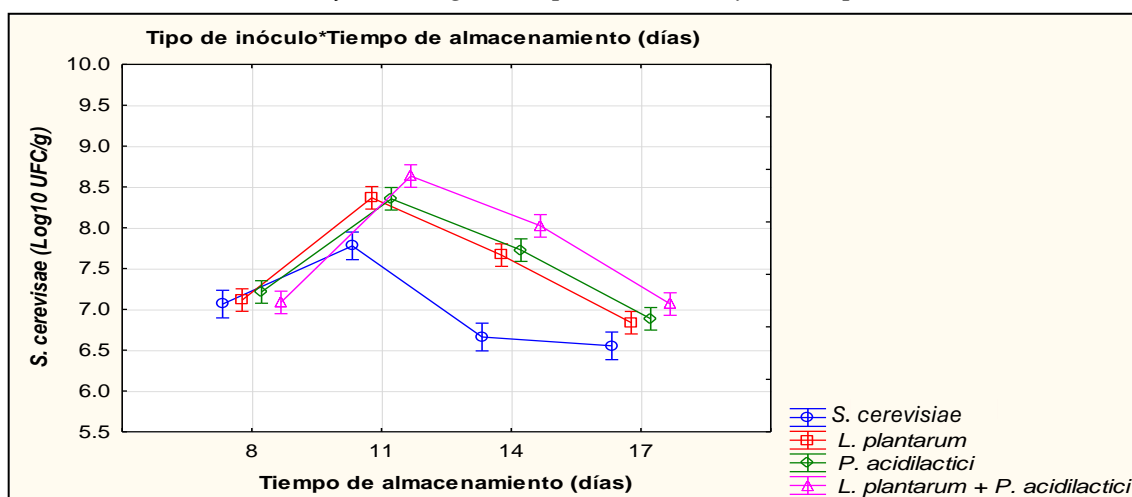
Tabla 31

Valores promedio y desviaciones estándar del recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) según el tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento en refrigeración de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Trat.	Tipo de inóculo	Tiempo de almacenamiento (días)	n	Promedio del recuento de <i>S. cerevisiae</i> (Log10 UFC/g)	Desviación estándar del recuento de <i>S. cerevisiae</i> (Log10 UFC/g)
C	<i>S. cerevisiae</i>	8	2	7,1	0,16
	<i>S. cerevisiae</i>	11	2	7,8	0,25
	<i>S. cerevisiae</i>	14	2	6,7	0,26
	<i>S. cerevisiae</i>	17	2	6,6	0,07
T1	<i>L. plantarum</i>	8	3	7,1	0,16
	<i>L. plantarum</i>	11	3	8,4	0,04
	<i>L. plantarum</i>	14	3	7,7	0,08
	<i>L. plantarum</i>	17	3	6,8	0,10
T2	<i>P. acidilactici</i>	8	3	7,2	0,10
	<i>P. acidilactici</i>	11	3	8,4	0,04
	<i>P. acidilactici</i>	14	3	7,7	0,03
	<i>P. acidilactici</i>	17	3	6,9	0,16
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	8	3	7,1	0,15
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	11	3	8,6	0,03
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	14	3	8,0	0,05
	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	17	3	7,1	0,04

Figura 21

Valores promedio del recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” según el tipo de inóculo y el tiempo de almacenamiento en



3.4. Calidad microbiológica de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” durante el proceso de fermentación y durante el almacenamiento en refrigeración

3.4.1. Durante el proceso de elaboración

Por lo que se refiere a la calidad microbiológica de los masatos de *M. esculenta* “yuca” a las 72 h de fermentación, la Tabla 32 muestra recuentos nulos de coliformes, mohos y hongos para todos los tipos de inóculo, evidenciando inocuidad en todas las formulaciones de masato.

Tabla 32

Calidad microbiológica de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca” a las 72 horas de fermentación

Tratamiento	Tipo de inóculo	n	Coliformes (Log10 UFC/g)	Mohos (Log10 UFC/g)	Hongos (Log10 UFC/g)
Control	<i>S. cerevisiae</i>	2	0	0	0
T1	<i>L. plantarum</i>	3	0	0	0
T2	<i>P. acidilactici</i>	3	0	0	0
T3	<i>L. plantarum +P. acidilactici</i>	3	0	0	0

3.4.2. Durante el almacenamiento en refrigeración

La Tabla 33 presenta la calidad microbiológica de los masatos de *M. esculenta* “yuca” a los 17 días de almacenamiento en refrigeración, evidenciándose recuentos nulos de coliformes, mohos y hongos para los masatos incorporados con *L. plantarum*, *P. acidilactici* y el consorcio, sin embargo, se produjo crecimiento de hongos en el control (*S. cerevisiae*), alcanzando un recuento de 9,5 Log10 UFC/g.

Tabla 33

Calidad microbiológica de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca” a los 17 días de almacenamiento

Tratamiento	Tipo de inóculo	Réplicas	Coliformes (Log10 UFC/g)	Mohos (Log10 UFC/g)	Hongos (Log10 UFC/g)
Control	<i>S. cerevisiae</i>	2	0	0	9,5
T1	<i>L. plantarum</i>	3	0	0	0
T2	<i>P. acidilactici</i>	3	0	0	0
T3	<i>L. plantarum</i> + <i>P. acidilactici</i>	3	0	0	0

3.5. Evaluación sensorial a través de pruebas de aceptación con consumidores

Los resultados del análisis de varianza de los datos de aceptación de la apariencia general, color, aroma, sabor, textura, calidad global y los datos de intención de compra (ver Apéndice 6 al 12) revelaron que la adición de panela granulada orgánica influyó significativamente ($p \leq 0,05$) en la aceptación de estos atributos, excepto en el color, en tanto que, el tipo de inóculo no presentó efecto significativo ($p > 0,05$). Asimismo, no se observaron efectos de interacción ($p > 0,05$). En la Tabla 34, se presentan las medias y desviaciones estándar de las puntuaciones de aceptación de la apariencia general, color, aroma, sabor, textura y calidad global de cada una de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”, así como las puntuaciones promedio y desviaciones estándar de la intención de compra.

En esta Tabla se observa que la aceptación promedio de la apariencia general varió de 6,4 a 7,0 en la escala hedónica de nueve puntos, correspondiendo menores calificaciones a los tratamientos sin adición de panela, que presentaron un promedio de aceptación en torno a 6,5, mientras que, las formulaciones con mayor aceptación de este atributo correspondieron a los tratamientos con adición de panela, que presentaron una calificación promedio en torno de 7,0 (me gustó moderadamente). La Figura 22a muestra que las formulaciones con adición de panela fueron ligeramente mejor calificadas en su apariencia que las formulaciones sin panela.

La aceptación del color no mostró diferencias significativas entre las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” (Tabla 34), las mismas presentaron una calificación promedio en torno de 7,0 (me gustó moderadamente) en la escala hedónica de nueve puntos, independientemente de la adición de panela.

En la aceptación del aroma la adición de panela influyó significativamente, correspondiendo los menores puntajes de aceptación a las formulaciones sin adición de panela (T1, T2 y T3), cuya aceptación promedio fue cercano a 6,0 (me gustó ligeramente), mientras que, las formulaciones con panela tuvieron una aceptación promedio de 7,0 (me gustó moderadamente) (Tabla 34 y Figura 22b).

En lo referente a la aceptación del sabor, la adición de panela tuvo un efecto altamente significativo ($p \leq 0,05$). En la Tabla 34 y Figura 22c, se observa que las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” sin adición de panela (T1, T2 y T3) presentaron calificaciones bastante menores que las formulaciones con adición de panela. En este atributo se observó la mayor diferencia de aceptación entre las formulaciones con y sin panela, obteniendo en el caso de los masatos sin adición de panela, una aceptación promedio en torno de 4,6 (no me gustó ni disgustó) en la escala hedónica, mientras que, las formulaciones con adición de panela presentaron una aceptación promedio de 7,0 (me gustó moderadamente) (Tabla 34 y Figura 22c).

En la aceptación de la textura la adición de panela también influyó significativamente ($p \leq 0,05$), correspondiendo los menores puntajes de aceptación a las formulaciones sin adición de panela (T1, T2 y T3), que presentaron una aceptación promedio en torno de 6,0 (me gustó ligeramente), mientras que, las formulaciones con panela tuvieron una aceptación promedio de 7,0 (me gustó moderadamente) (Tabla 34 y Figura 22d).

Finalmente, en la aceptación de la calidad global la adición de panela influyó significativamente ($p \leq 0,05$), correspondiendo los menores puntajes de aceptación a las formulaciones sin adición de panela (T1, T2 y T3), cuya aceptación promedio fue en torno

de 6,0 (me gustó ligeramente), mientras que, en las formulaciones con panela se obtuvo una aceptación promedio de 7,0 (me gustó moderadamente) (Tabla 34 y Figura 22e).

Las medias y desviaciones estándar de la intención de compra, según la adición de panela y tipo de inóculo, se presentan en la Tabla 34. Se observa que las puntuaciones promedio de la intención de compra de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” con adición de panela fueron significativamente mayores que las formulaciones sin adición de panela, obteniendo en el caso de las formulaciones con panela, promedios en torno de 4,0 (probablemente lo compraría), mientras que, las formulaciones sin adición de panela presentaron promedios en torno de 3,0 (tal vez compraría/ tal vez no compraría) (Tabla 34 y Figura 22f). Los resultados evidenciaron que la adición de panela en las formulaciones de masato tuvo un efecto significativo positivo, aumentando considerablemente su aceptación e intención de compra por parte de los consumidores.

Tabla 34

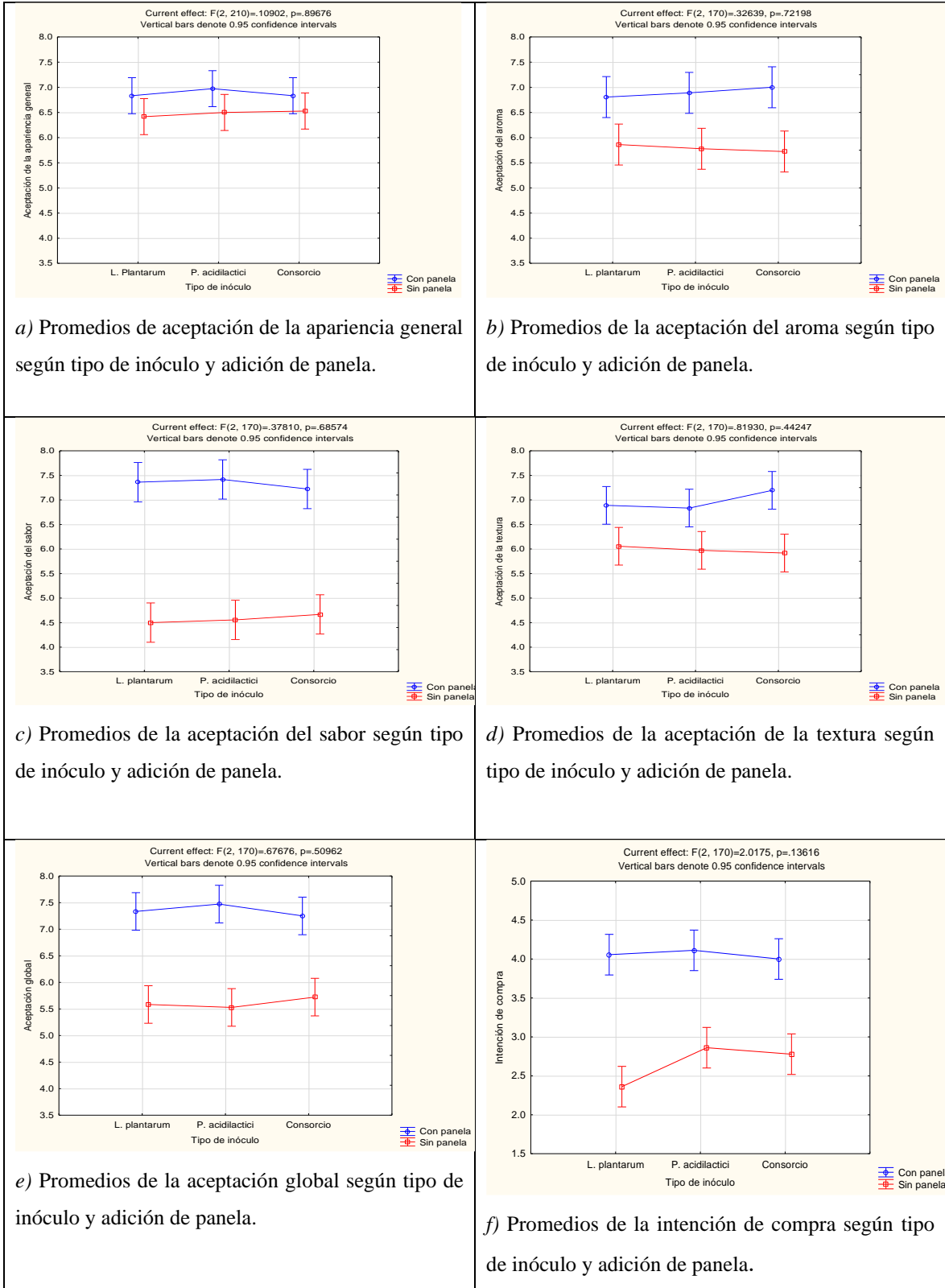
Medias y desviaciones estándar de la aceptación de la apariencia general, el color, aroma, sabor, textura, calidad global e intención de compra de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Trat.	Apariencia general		Color		Aroma		Sabor		Textura		Calidad global		Intención de compra	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
T1	6,4 ^a	0,91	7,1 ^a	1,15	5,9 ^a	1,40	4,5 ^a	2,04	6,1 ^a	1,60	5,6 ^a	1,54	2,4 ^a	0,87
T2	6,5 ^{ab}	1,00	7,0 ^a	1,21	5,8 ^a	1,62	4,6 ^a	1,90	6,0 ^a	1,38	5,5 ^a	1,38	2,9 ^a	1,13
T3	6,5 ^{ab}	1,08	7,1 ^a	1,26	5,7 ^a	1,43	4,7 ^a	1,96	5,9 ^a	1,56	5,7 ^a	1,77	2,8 ^a	0,96
T4	6,8 ^{ab}	1,18	6,9 ^a	1,15	6,8 ^b	1,47	7,4 ^b	0,96	6,9 ^b	1,39	7,3 ^b	0,93	4,1 ^b	0,83
T5	7,0 ^b	1,18	7,0 ^a	1,41	6,9 ^b	1,45	7,4 ^b	1,40	6,8 ^b	1,48	7,5 ^b	0,88	4,1 ^b	0,89
T6	6,8 ^{ab}	1,16	6,9 ^a	1,24	7,0 ^b	1,39	7,2 ^b	1,27	7,2 ^b	0,95	7,2 ^b	1,30	4,0 ^b	0,86
Promedio general	6,7		7,0		6,3		6,0		6,5		6,5		3,4	

Nota. T1: Sin adición de panela + *L. plantarum*, T2: Sin adición de panela + *P. acidilactici*, T3: Sin adición de panela + *L. plantarum* + *P. acidilactici*, T4: Con adición de panela + *L. plantarum*, T5: Con adición de panela + *P. acidilactici*, T6: Con adición de panela + *L. plantarum* + *P. acidilactici*.

Figura 22

Medias de aceptación de la apariencia general, color, aroma, sabor, textura y calidad global de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca” e intención de compra, según tipo de inóculo y adición de panela orgánica



CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la adición de las cepas nativas de bacterias ácido lácticas en las características fisicoquímicas de las distintas formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

4.1.1. Temperatura

De acuerdo con el análisis estadístico de los valores de temperatura de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”, el tiempo de fermentación y la interacción del tipo de inóculo x tiempo de fermentación mostraron efecto significativo sobre esta variable. En las primeras 48 h de fermentación la temperatura aumentó de 18,4 a 29,5 °C y en las siguientes 24 h descendió a 27 °C para los cuatro tipos de inóculos de los masatos. Grivanesa (2016) determinó una mínima diferencia de temperatura en las 120 h de fermentación de una chicha de *M. esculenta* “yuca” amarilla, donde la temperatura de esta bebida se incrementó de 22 a 23,33 °C en las 72 h de fermentación, pero después mantuvo una temperatura de 23 °C hasta el final de la fermentación. Sarango y Yanchapanta (2019) reportaron un descenso de temperatura de 25,9 a 25,1 °C en 42 h de fermentación de una chicha de *M. esculenta* “yuca” blanca. En las primeras 12 h, la temperatura disminuyó de 25,9 a 24,3 °C, luego aumentó de 24,3 a 25,1 °C en las 30 h siguientes. En ambos estudios, la fermentación se dio a temperatura ambiente y de forma espontánea (sin la inoculación de algún microorganismo fermentador). Aunque los autores referidos evidenciaron una temperatura casi constante durante la fermentación de la *M. esculenta* “yuca”, para el presente estudio la temperatura varió según el tipo de inóculo empleado (*S. cerevisiae*, *L. plantarum*, *P. acidalactici* y consorcio BAL) y el tiempo de fermentación (0, 24, 48 y 72 h).

Mora y García (2007) refieren que las bacterias ácido lácticas fermentan los azúcares mediante dos rutas metabólicas según dispongan o no de la enzima aldolasa. Las bacterias

homofermentativas degradan la glucosa mediante la enzima aldolasa en la vía Embden-Meyerhof-Parnas para producir 2 moles de ácido láctico y 2 moles de ATP, mientras que, las heterofermentativas, al carecer de esta enzima utilizan la ruta de la fosfoctolasa para convertir la glucosa en 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de ATP. El empleo de ATP en el desarrollo de las BAL genera 30,5 kJ/mol de energía en forma de calor (Sosa *et al.*, 2018). Entonces, el aumento de la temperatura durante la fermentación del masato de *M. esculenta* “yuca” dependería del calor liberado en forma de ATP por la degradación de los azúcares según el tipo de cepa: el *P. acidilactici* al ser homofermentativa generaría el doble de energía que el *L. plantarum* de naturaleza heterofermentativa.

4.1.2. Sólidos solubles

El tipo de inóculo y el tiempo de fermentación, así como su interacción influyeron significativamente sobre los sólidos solubles de los masatos de *M. esculenta* “yuca”. En los cuatro tipos de inóculo se presentó una reducción gradual de los sólidos solubles durante la fermentación, siendo esta reducción más baja en el masato control (solo levadura). Ríos *et al.* (2016) fermentaron dos veces una bebida de “arroz”, siendo en la primera fermentación el agente fermentador la levadura *S. cerevisiae* al 0,5 % (p/v) el cual consumió los sólidos solubles de 25,2 a 22,2 °Bx en 12 h de fermentación, resultando en una tasa de consumo de 0,25 °Bx/hora para este parámetro. La segunda fermentación donde la misma bebida fue previamente pasteurizada y luego inoculada con *L. acidophilus* al 0,002 % (p/v), los sólidos solubles disminuyeron de 22,20 a 18,9 °Bx en 48 h de fermentación con una tasa de consumo 0,07 °Bx/ hora. Esto aumentó la acidez titulable por la transformación de los azúcares en ácido láctico, representando a nivel sensorial, la acidificación de la bebida hasta llegar al sabor característico del masato. En otro estudio con fermentación espontánea de caxiri (bebida fermentada de yuca y maíz), los sólidos solubles se redujeron de 9 a 5,5 °Bx en 72 h, con una tasa consumo de 0,05 °Bx/hora (Miguel *et al.*, 2015), siendo el microbiota predominante durante la fermentación del caxiri: la levadura *S. cerevisiae*, seguido de las bacterias ácido lácticas *L. fermentum* y *L. helveticus*.

En el presente estudio, el masato control (levadura) de *M. esculenta* “yuca” presentó una disminución de sólidos solubles de 12,5 a 9,5 °Bx en 72 h de fermentación con una tasa de consumo de 0,04 °Bx/hora, mientras que, los sólidos solubles de los masatos inoculados con

BAL descendieron de 12,5 a 4,1 °Bx en el mismo periodo con una tasa de consumo de 0,12 °Bx/hora. Además, para estos masatos, el mayor consumo de azúcares se produjo entre las 24 y 48 h de fermentación, con un consumo en torno a 4,0 °Bx. Por tanto, el mayor descenso de sólidos solubles se evidenció en los masatos incorporados con bacterias ácido lácticas, resultado que podría deberse a que las mismas fueron previamente activadas en caldo MRS, un medio de cultivo que contiene factores de crecimiento como polisorbato, acetato, magnesio y manganeso (Merck, 2021), que habrían permitido que las cepas BAL activen su metabolismo y aumenten su número de colonias ocasionando un mayor descenso de sólidos solubles. En el caso de la levadura no se siguió ningún procedimiento de activación, sino que fue disuelta directamente en agua esterilizada y adicionada al masato, lo que podría haber dificultado su adaptación al nuevo hábitat. En relación al mayor consumo de azúcares de los masatos entre las 24 y 48 h de fermentación por parte de las bacterias ácido lácticas, podría deberse a que éstas se encontraban en su fase exponencial, donde se daría el mayor consumo del sustrato (Maier y Pepper, 2015).

4.1.3. pH

De acuerdo al análisis estadístico de los valores de pH de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”, el tipo de inóculo, el tiempo de fermentación y la interacción del tipo de inóculo x tiempo de fermentación tuvieron un efecto significativo en el pH de los masatos. En las primeras 24 h de fermentación los valores de pH disminuyeron notablemente, produciéndose un decrecimiento de 2,8 a 3,2 unidades de pH. Entretanto, de 24 a 48 h, el ritmo de disminución fue apenas de 0,5 unidades de pH; transcurrido este periodo, el pH aumentó en todos los tratamientos, siendo este incremento mayor en los masatos inoculados con *P. acidilactici* y el consorcio de 2,9 a 4,0 unidades de pH mientras que el control se incrementó de 2,6 a 3,4 unidades de pH. Huapaya (2014) determinó que el pH de una bebida fermentada de “quinua” inoculada con una disolución de cultivo mixto (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* spp. referido a *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis* y *Bifidobacterium longum*) dependió de la dosis del inóculo (5 y 10 %) y el tiempo de fermentación (8, 10 y 12 h), asimismo indicó que el mayor descenso de pH (2,95 unidades) la obtuvo la bebida fermentada con 5 y 10 % de inóculo en un periodo de 10 h de fermentación. Según este autor, la disminución del pH podría indicar la transformación de los azúcares en ácidos durante la fermentación, al ser la mayoría bacterias homolácticas el

principal ácido producido sería el láctico. Chaparro *et al.* (2012) evidenció el mayor descenso de pH con 1,4 unidades de pH durante las primeras 24 h de fermentación en una bebida fermentada de harina de arroz inoculada con *L. delbrueckii*, luego de este periodo el pH se mantuvo constante en 4 unidades hasta las 72 h de fermentación. Miguel *et al.* (2015) también observó la reducción del pH en el caxiri durante las 120 h de la fermentación espontánea de la *M. esculenta* “yuca”, donde el pH se redujo de 6,5 a 3,0 en las primeras 48 h manteniéndose constante hasta el final de la fermentación.

El descenso de pH en las bebidas fermentadas podría deberse a la transformación de los azúcares en productos acidificantes durante la fermentación alcohólica, ocasionada por la levadura y la fermentación láctica, llevada a cabo por las BAL. En la fermentación alcohólica, se obtienen aparte del etanol, ácidos orgánicos como el ácido acético, butírico, fumárico, succínico y propiónico (Hidalgo *et al.*, 2016). Además, en la fermentación láctica se tienen como productos el ácido láctico y el acético, siendo este último producido solo por especies heterofermentativas (Gorbeña y Sáenz, 2008).

El aumento del pH de los masatos de *M. esculenta* “yuca” entre las 48 y 72 h podría significar el consumo de los ácidos producidos en la fermentación por parte de los microorganismos fermentadores (levadura y/o bacterias ácido lácticas) como recurso alternativo frente a la limitada disponibilidad de los azúcares en este mismo período. Delfini *et al.* (2002) reportaron que el 100 % de las cepas de *S. cerevisiae* tuvieron la capacidad de degradar las dos formas de ácido láctico (D y L) en mostos de uvas con altas concentraciones de este ácido y escasa disponibilidad de carbohidratos. Asimismo, Lindgren *et al.* (1990) evidenciaron la degradación del ácido láctico en un medio líquido con 10 ml de glucosa, 10 ml de citrato y 10 µl de ácido láctico. Asimismo, otros estudios han revelado que algunas bacterias ácido lácticas heterofermentativas degradan ácidos orgánicos como el málico, tartárico, glucónico, galacturónico y fumarato en mostos de uva (Unden y Zaunmüller, 2009).

4.1.4. Acidez titulable

El análisis de varianza de los valores de la acidez titulable reveló que todas las fuentes de variación (tipo de inóculo, tiempo de fermentación e interacción de ambos factores) ejercieron efecto significativo sobre esta variable. En todas las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”, la acidez titulable aumentó gradualmente hasta las 48 h de fermentación, posteriormente se produjo una ligera disminución solo en los masatos de *M. esculenta* “yuca” inoculados con BAL. Huapaya (2014) manifiesta que las mayores variaciones de ácido láctico se presentaron en las formulaciones de bebidas de quinua con 10 y 12 h de fermentación, alcanzando una acidez titulable entre 0,23 a 0,30 %. Según Ríos *et al.* (2016), la bebida de arroz inoculada solo con la levadura *S. cerevisiae* alcanzó una acidez titulable de 0,15 % en 12 h de fermentación; luego al pasteurizar e inocular la bebida con *L. acidophilus* la acidez titulable aumentó a 0,17 % en 48 h de fermentación. Miguel *et al.* (2015) en su estudio con caxiri tradicional reportó un aumento de la acidez titulable de 0,85 a 1,51 % en 96 h de fermentación; mientras que, en el masato de *M. esculenta* “yuca”, la acidez titulable varió de 0,1 a 0,7 % en 48 h de fermentación. El aumento de la acidez titulable en las bebidas fermentadas podría deberse, al consumo de los azúcares por parte de las bacterias BAL, las cuales metabolizaron el sustrato en ácido láctico, asimismo, una acidez titulable más alta indicaría que dichas bacterias aumentaron su población paulatinamente liberando mayor cantidad de ácido láctico al medio (Abdel-Rahman *et al.*, 2013). Sin embargo, las levaduras también son capaces de producir ácido láctico, Delfini *et al.* (2002) encontró que 24 cepas de *Saccharomyces* incrementaron la cantidad de D (-) láctico (hasta + 15 %) en un medio sintético de nutrientes (NSM). Asimismo, Dequin *et al.* (1999) demostraron que el nivel de ácido láctico L (+) producido y la acidificación resultante estaban influenciados por la cepa de *Saccharomyces* y, en mayor medida, por la composición del mosto de uva durante la fermentación del vino.

Por otro lado, el consumo del ácido láctico entre las 48 y 72 h sería causado por las bacterias BAL o el efecto que ejercerían estas en la disponibilidad de los azúcares y/o la acidificación del medio limitando la acción de las levaduras, las cuales optarían por utilizar el ácido láctico como sustrato alternativo (Cheirsilp *et al.*, 2003; Furukawa *et al.*, 2013). Ponomarova *et al.* (2017) afirman que las bacterias ácido lácticas requieren de muchos nutrientes como aminoácidos y vitaminas para su crecimiento y desarrollo. Un medio apto para el mutualismo

entre levaduras y bacterias ácido lácticas debe ser lo suficientemente rico para sustentar el crecimiento de ambas especies, caso contrario solo supliría los requerimientos nutricionales de las levaduras. Según estos autores, otra fuerza que podría establecer o deshacer el mutualismo entre ambas especies es el nitrógeno, ya que un ambiente con nitrógeno disponible ajustaría el metabolismo de la levadura, secretando aminoácidos para la supervivencia de las bacterias ácido lácticas. Según Rebaza *et al.* (2023), la capacidad de metabolizar aminoácidos (valina y leucina) de las BAL aisladas de la chicha siete semillas y el masato de *M. esculenta* “yuca” está asociado al consumo de los azúcares L-arabinosa, D-sorbitol, D-manitol, metil-D-manopiranosido, D-rafinosa y arbutina.

En relación a ello, se puede suponer que los masatos de *M. esculenta* “yuca” han sido capaces de mantener el mutualismo entre la levadura *S. cerevisiae* y las cepas de bacterias ácido lácticas, las BAL producirían ácido láctico como sustrato para la levadura, en tanto estas suplirían las necesidades de aminoácidos de las BAL, estableciendo así una relación de simbiosis entre ambos grupos (Malo y Urquhart, 2016).

4.1.5. Grado alcohólico

El análisis estadístico de los valores del grado alcohólico de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” evidenció que el tipo de inóculo, tiempo de fermentación y su interacción afectaron significativamente sobre esta variable. El grado alcohólico aumentó paulatinamente en los cuatro tipos de inóculos, observándose un mayor incremento entre las 24 y 48 h de fermentación en los masatos con adición BAL de 0,4 a 1,5 %v/v, sin embargo, entre las 48 y 72 h se produjo un aumento considerable en el masato control (solo levadura) de 0,9 a 1,9 %v/v. Ríos *et al.* (2016) durante 12 h de fermentación de la bebida a base de “arroz” incorporada con *S. cerevisiae* obtuvo un aumento de 0 a 1,5 % del grado alcohólico, mientras que con la adición del *L. acidophilus* esta graduación aumentó a 1,8 % en seis horas de fermentación. Miguel *et al.* (2015) reportaron un aumento en la graduación alcohólica del caxiri de 0,016 a 9,22 % en 96 h de fermentación espontánea. En ambos estudios el incremento del grado alcohólico estuvo directamente relacionado con el metabolismo de las levaduras (comercial o nativas) que fermentaron los azúcares a etanol, pero también las bacterias ácido lácticas heterofermentativas como el *L. plantarum* podrían haber actuado sobre estos azúcares para producir alcohol, aunque en menor cantidad.

En el presente estudio, el incremento del grado alcohólico en las 24 y 48 h de fermentación podría deberse a las bacterias nativas de la *M. esculenta* “yuca” que toleraron los procesos de desinfección y cocción de esta, siendo estas en su mayoría heterofermentativas. Según Oyedeji *et al.* (2013) la *M. esculenta* “yuca” fermentada por 72 h presentó crecimiento de colonias de bacterias pertenecientes a las especies *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus coprophilus* y *Lactobacillus acidophilus*, todas ellas de naturaleza heterofermentativa. Por otro lado, el aumento diferenciado del grado alcohólico del masato control de *M. esculenta* “yuca” entre las 48 y 72 h podría significar que las levaduras se han adaptado a sustratos alternativos como el ácido láctico (producido por las BAL) para suplir sus necesidades e incrementar la concentración de etanol [en los masatos] según lo indica Delfini *et al.* (2002).

4.1.6. Densidad

El tipo de inóculo no tuvo efecto significativo sobre esta variable, por lo que los valores promedios de densidad estuvieron en torno a 1,007 g/ml para todas las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”. Pilamala (2020) en su estudio con tres tipos de chicha a base de *M. esculenta* “yuca” (wiwis, blanca y negra) obtuvo densidades semejantes en torno a 1,03 g/ml en 72 h de fermentación. Los resultados de este estudio indican que los masatos han presentado valores de densidad semejantes a las encontradas por la literatura, probablemente ocasionada por la degradación del almidón de la *M. esculenta* “yuca”, que tiende a gelatinizarse a temperaturas entre 50 y 70 °C (durante la cocción) por el hinchamiento de sus gránulos, tal efecto reduciría la densidad a valores menores de 1 g/ml (Hernández *et al.*, 2008). El desdoblamiento del almidón se podría atribuir a la acción amilolítica de las levaduras (inoculadas en todos los masatos), específicamente a las enzimas amilasas que poseen, ya que estas rompen las moléculas de almidón en azúcares fermentables como la glucosa (Sukmawati *et al.*, 2019), permitiendo obtener densidades cercanas a 1 g/ml como las obtenidas en los masatos.

4.2. Análisis de la viabilidad de las bacterias ácido lácticas nativas durante el proceso de elaboración de los masatos de *M. esculenta* “yuca” y durante el almacenamiento en refrigeración

4.2.1. Durante el proceso de elaboración

De acuerdo con los resultados el tipo de inóculo, el tiempo de fermentación y la interacción de ambas variables ejercieron efecto significativo en la viabilidad BAL (Log10 UFC/g) de los masatos de *M. esculenta* “yuca”; incrementándose en el masato control 8 unidades logarítmicas en 72 h de fermentación, mientras que, los tratamientos inoculados con las BAL disminuyeron su viabilidad en casi dos unidades logarítmicas. En el estudio realizado por Huapaya (2014) con una bebida de harina de quinua, se presentó un aumento de 1,6 unidades logarítmicas en 10 h de fermentación de la viabilidad de las BAL, inoculadas con *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* spp. (referido a *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*); asimismo Machado y Rizzato (2019) reportaron un incremento de 1,8 unidades logarítmicas de *L. casei* en 20 h de fermentación de una bebida de jugo de maracuyá con pH ajustado a 6. En otro estudio con chicha de *M. esculenta* “yuca” con fermentación espontánea (sin inoculación previa), Sarango y Yanchapanta (2019) evidenciaron un incremento de dos unidades logarítmicas de la viabilidad de bacterias ácido lácticas sin identificación de las colonias.

La diferencia en el aumento de la viabilidad BAL reportada en la literatura y el descenso de este parámetro en el masato de *M. esculenta* “yuca” podría deberse a que, en los estudios revisados se inocularon BAL con una viabilidad inicial menor o igual a 6 unidades logarítmicas a diferencia de las casi 9 unidades logarítmicas inoculadas en el masato, que habrían generado un estado de competencia en la población de bacterias ácido lácticas por el aprovechamiento de los nutrientes ocasionando la disminución de su viabilidad durante la fermentación. En relación a ello, Saeed y Salam (2013) señalan que las bacterias ácido lácticas son el grupo más exigente en cuanto a sus requisitos nutricionales que pueden variar entre especies e incluso entre cepas afectando directamente en su crecimiento.

Por otro lado, el mayor incremento de la viabilidad BAL del masato control de *M. esculenta* “yuca” podría deberse a la activación de las especies nativas en la fermentación de la *M. esculenta* “yuca” que hayan tolerado los procesos de desinfección y cocción. De acuerdo a Kostinek *et al.* (2007) en la *M. esculenta* “yuca” fermentada se aislaron grupos de bacterias ácido lácticas siendo los géneros más predominantes: *Lactobacillus* (57,9 %), *Weissella* (14,1 %), *Leuconostoc* (13,9 %) y el consorcio *Enterococcus* + *Lactococcus* + *Streptococcus* (14,1 %). En tanto, Rebaza *et al.* (2023) aislaron siete cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente *Lactobacillus plantarum*) (Ch13, Ch17, Ch23, Ch33, Ch41, Ch43 y Ch51) de la chicha de siete semillas y en el masato de *M. esculenta* “yuca”, identificaron cinco cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* (M01, M04, M21, M41 y M82), dos cepas de *Limosilactobacillus fermentum* (anteriormente *Lactobacillus fermentum*) (M02 y M31), una cepa de *P. acidilactici* (M71) y una cepa de *Weissella confusa* (M81). La mayor presencia de *Lactiplantibacillus plantarum* en ambos fermentados da cuenta que esta especie es “generalista” capaz de ocupar una amplia gama de nichos ecológicos por su versatilidad y plasticidad genómica, capaz de adquirir o perder diferentes características genéticas ligadas a los requerimientos ambientales.

Sin embargo, otro grupo de bacterias se hicieron evidentes en otros fermentados de *M. esculenta* “yuca” como la especie *B. subtilis*, la cual podría fermentar la glucosa y celobiosa en ácido láctico mediante la enzima amilasa que posee (Hernández y Martínez, 2001). Esto permitiría inducir que entre las BAL del masato control de *M. esculenta* “yuca” se encuentren cepas del *B. subtilis*, ya que el Agar MRS empleado para el recuento BAL no es un medio selectivo, ni diferencial para bacterias ácido lácticas, por tanto, el desarrollo de otros microorganismos como los *Bacillus* es probable (Merck, 2021).

4.2.2. Durante el almacenamiento en refrigeración

En el almacenamiento en refrigeración de los masatos de *M. esculenta* “yuca” el tipo de inóculo, tiempo de almacenamiento y su interacción evidenciaron un efecto significativo en la viabilidad BAL. A los ocho días de almacenamiento se observó un aumento en el masato control de 1×10^8 a $3,2 \times 10^8$ UFC/g y para los tratamientos inoculados con las BAL $1,3 \times 10^7$ a $6,3 \times 10^7$ UFC/g, estos últimos mantuvieron su viabilidad en $3,1 \times 10^7$ UFC/g en los 14 días de almacenamiento en refrigeración. Huapaya (2014) investigando una bebida probiótica a

partir de la fermentación láctica de la harina de quinua hidrolizada almacenada en refrigeración durante 14 días evidenció un decrecimiento en la viabilidad BAL de 1,5 unidades logarítmicas, siendo el recuento final de $3,9 \times 10^6$ UFC/g. Machado y Rizzato (2019) reportaron un valor constante en la viabilidad de *L. casei* de 10^8 UFC/g a los 21 días de almacenamiento en refrigeración del jugo de maracuyá. Estos resultados indican que todas las bebidas, incluyendo al masato, mantuvieron el número mínimo de microorganismos para ser consideradas bebidas probióticas (Castillo, 2014; Grajek *et al.*, 2005).

Por otra parte, Serna (2012) indicó que, en bebidas fermentadas de frutas almacenadas en refrigeración, las bacterias ácido lácticas potencialmente probióticas se mantuvieron viables a temperaturas bajas, ya que metabolizaron gradualmente los azúcares del medio. Según Pereira *et al.* (2011) el empleo de frutas y vegetales como sustratos, podría conferir una ventaja citroprotectora a los probióticos para tolerar temperaturas bajas por los antioxidantes, fibra y vitaminas que poseen. En el masato de *M. esculenta* “yuca” se evidenció un mayor aumento de la viabilidad BAL entre los días 8 y 11 de almacenamiento en refrigeración para los masatos inoculados con *L. plantarum* y el consorcio, siendo el incremento de casi 1,5 unidades logarítmicas, aun cuando se presentaba escasez de sustrato (4 °Bx), ya que éste había sido consumido casi en su totalidad durante la fermentación por los microorganismos fermentativos. Por tanto, las bacterias ácido lácticas no tendrían por qué haber aumentado su viabilidad en este periodo, puesto que, no tendría azúcares para consumir, a menos que hayan aprovechado otros sustratos alternativos como el citrato, el lactato o las proteínas del masato para su desarrollo. Lindgren *et al.* (1990) y Uden y Zaunmüller (2009) indicaron que algunas bacterias ácido lácticas heterofermentativas como el *L. plantarum* son capaces de degradar ácidos orgánicos como el láctico, málico, tartárico, glucónico, galacturónico y fumarato en mostos de uva. En tanto, Gómez (1996) señaló que las bacterias ácido lácticas podrían consumir citrato o proteínas como sustratos alternativos ante la deficiencia de azúcares.

4.3. Análisis del recuento de la levadura *S. cerevisiae* durante el proceso de fermentación de los masatos de *M. esculenta* “yuca” y durante el almacenamiento en refrigeración

4.3.1. Durante el proceso de elaboración

El recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) dependió del tipo de inóculo, tiempo de fermentación y la interacción de ambos factores. El masato control de *M. esculenta* “yuca” mantuvo su recuento entre 6 a 6,5 unidades logarítmicas en 72 h de fermentación, mientras que, los masatos inoculados con BAL presentaron una disminución en casi una unidad logarítmica, posiblemente debido a que la levadura *S. cerevisiae* no se adaptó a los cambios ocasionados por las bacterias ácido lácticas en las características fisicoquímicas del masato o que entre los microorganismos haya existido competencia por el sustrato, originando la reducción gradual del número de levaduras. Serna (2012) señaló que la disminución del número de levaduras podría deberse al agotamiento de los nutrientes en el medio y por el aumento en la acidez titulable generado por las bacterias BAL. Asimismo, Torres (2017) manifiesta que las interacciones entre bacterias ácido lácticas y levaduras durante la fermentación podrían ser positivas como el mutualismo, donde ambas especies se benefician o el comensalismo, donde una especie se beneficia sin afectar a la otra; en contraste también se presentarían interacciones negativas como el amensalismo donde el producto metabólico de una especie posee efecto negativo sobre la otra y el antibiosis, interacción en la que una especie es detrimental para la otra, ya que produce sustancias perjudiciales específicas para el daño celular; otra interacción negativa sería la competencia, donde los microorganismos interactuantes competirían por consumir la mayor cantidad de sustrato para suplir sus necesidades nutricionales.

4.3.2. Durante el almacenamiento en refrigeración

En el almacenamiento en refrigeración de los masatos de *M. esculenta* “yuca”, el tipo de inóculo, tiempo de almacenamiento y la interacción de ambos factores ejercieron efecto significativo en el recuento de *S. cerevisiae* (Log10 UFC/g) de los masatos. En este periodo de 17 días, las levaduras mantuvieron recuentos cercanos a 6,9 Log10 UFC/g, asimismo, se observó un aumento en el recuento de las levaduras durante los primeros ocho días de almacenamiento en refrigeración. La explicación sería que de la misma forma que lo

sucedido con las bacterias ácido lácticas, la levadura *S. cerevisiae* toleró temperaturas de refrigeración debido a que continuaron metabolizando de forma paulatina el ácido láctico, principal desecho de las BAL.

4.4. Calidad microbiológica de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca” durante el proceso de fermentación y durante el almacenamiento en refrigeración

4.4.1. Durante el proceso de elaboración

En la fermentación los masatos de *M. esculenta* “yuca” incorporados con *L. plantarum*, *P. acidilactici* y su consorcio, se mantuvieron inocuos, libres de coliformes, mohos y hongos. Este hecho podría deberse, a que las BAL evitaron el crecimiento de otros microorganismos competidores (coliformes, mohos y hongos) en el masato. Huapaya (2014) en su bebida fermentada de quinua con un consorcio BAL (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* spp. referido a *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*) después de 10 días de fermentación obtuvo recuentos de hongos, levaduras y coliformes totales menores a 3 UFC/ml. Los recuentos nulos de coliformes, mohos y hongos encontrados en este estudio, podrían deberse a dos razones: el descenso del pH y la producción de bacteriocinas.

En el metabolismo de las BAL, la producción de ácido láctico y otros ácidos orgánicos disminuyen el pH del medio, el cual inhibe el crecimiento de otras bacterias (Wohlgemuth *et al.*, 2010). Parra (2010) señala que la formación de ácido láctico por las BAL es conveniente para mantener una fermentación inocua, ya que este compuesto actúa como agente buffer o inhibidor del crecimiento bacteriano en una amplia variedad de alimentos y bebidas. El ácido láctico con las bacteriocinas ejerce un efecto antimicrobiano en los alimentos debido a la interferencia en el mantenimiento del potencial de membrana, la inhibición del transporte activo y reducción del pH intracelular de microorganismos indeseables (Gorbeña y Sáenz, 2008).

4.4.2. Durante el almacenamiento en refrigeración

En el almacenamiento en refrigeración los masatos de *M. esculenta* “yuca” incorporados con *L. plantarum*, *P. acidilactici* y su consorcio se mantuvieron inocuos, libres de coliformes, mohos y hongos. En cambio, el masato control solo demostró inocuidad durante las 72 h de fermentación, pero después de los 14 días de almacenamiento, presentó crecimiento de hongos. Huapaya (2014) en su bebida fermentada de quinua con un consorcio BAL (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* spp. referido a *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*) después de 14 días de almacenamiento en refrigeración obtuvo recuentos de hongos, levaduras y coliformes totales menores a 3 UFC/ml. Ríos *et al.* (2016) después de 12 días de almacenamiento en refrigeración de una bebida fermentada a base de arroz, evidenciaron el crecimiento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras en torno a 100 UFC/ml, valor que estuvo dentro de los límites permisibles según la normativa vigente.

Los bajos recuentos de coliformes, mohos y hongos encontrados en las bebidas fermentadas con bacterias ácido lácticas, podrían deberse al descenso del pH y la producción de bacteriocinas. Las BAL producen durante su metabolismo, ácido láctico y otros ácidos orgánicos, lo que disminuyen el pH del medio e inhiben el crecimiento de otros microorganismos (Wohlgemuth *et al.*, 2010). En tanto, Jurado *et al.* (2009) indicaron que las bacterias con alta producción de ácido láctico disminuyen el pH del medio favoreciendo la inhibición de microorganismos patógenos.

La liberación de bacteriocinas por las BAL tendría actividad antagónica frente al desarrollo de otros microorganismos. Las bacteriocinas son péptidos antimicrobianos, segregadas por diversas bacterias para inhibir el crecimiento microbiano competidor (Monroy *et al.*, 2009). Por ejemplo, el *L. plantarum* produce plantaricina, una bacteriocina de amplio espectro de inhibición a otros microbios, especialmente, las bacterias grampositivas. La actividad de este péptido consiste en la adhesión electrostática a la membrana bacteriana, insertándose luego a la bicapa lipídica causando la formación de poros y la consecuente permeabilización de la membrana, por tanto, la bacteria afectada perderá iones y metabolitos esenciales conllevándola a una muerte progresiva (Monroy *et al.*, 2009). En el caso del *P. acidilactici*,

se ha reportado que esta especie produce pediocina, una bacteriocina de amplio espectro inhibitorio de bacterias grampositivas. Su mecanismo de acción consiste en la formación de poros en la membrana citoplasmática de la célula bacteriana, en consecuencia, el microorganismo objetivo perderá iones y sus moléculas de ATP serán hidrolizadas, resultando en la muerte celular (Londoño *et al.*, 2015).

4.5. Aceptabilidad de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”

Los resultados de las puntuaciones de la aceptación de las características sensoriales de los masatos de *M. esculenta* “yuca” evidenciaron que las formulaciones con mayor aceptación de la apariencia general, color, aroma, sabor, textura y calidad global, correspondieron a las formulaciones con adición de panela, presentando calificaciones promedios en torno de 7,0 (me gustó moderadamente) en la escala hedónica, las cuales fueron significativamente mayores a las de las formulaciones sin adición de panela que presentaron un promedio en torno de 6,0 (me gustó ligeramente). Del mismo modo en la intención de compra las formulaciones de masato con adición con panela presentaron una mayor intención de compra, con promedios cercanos a 4,0 (probablemente lo compraría) en comparación con las formulaciones sin panela que presentaron promedios de 3,0 (tal vez compraría / tal vez no compraría).

Machado y Rizzato (2019) observaron que la adición de edulcorantes como la Stevia y sacarosa (azúcar comercial) mejoraron la preferencia sensorial del jugo de maracuyá inoculado con *L. casei*. En los jugos edulcorados con estevia, el 36,5 % de los encuestados les gustó mucho y el 21,2 % les gustó extremadamente; mientras que, los endulzados con azúcar obtuvieron mejor aceptación, el 28,8 % les gustó extremadamente y les gustó mucho, respectivamente. A diferencia de los que no se endulzaron, los cuales fueron catalogados como “me disgusta ligeramente” por la mayoría de los participantes correspondiendo al 21,2 %.

La predilección por bebidas azucaradas podría deberse a que el azúcar libera dopamina activando el sistema de recompensa en el cerebro y desensibiliza los receptores dopaminérgicos, encargados de su control; en efecto, esto llevaría a una mayor ingesta o

preferencia por bebidas edulcoradas para alcanzar el estado de satisfacción por parte de los consumidores (Del Toro *et al.*, 2018).

A pesar de que en el masato de *M. esculenta* “yuca” no se encontró efecto significativo del tipo de inóculo en las características sensoriales de la bebida, la producción de metabolitos por parte de las bacterias ácido lácticas habría aportado mínimamente en la aceptación del sabor y aroma como lo encontrado por Serna (2012) en su estudio con bebidas de frutas con adición de *L. plantarum*, las cuales presentaron mejores calificaciones que aquellas sin adición de esta bacteria.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. La adición de bacterias ácido lácticas provocó un mayor consumo de sólidos solubles, el incremento de pH, el descenso de la acidez titulable y el aumento del grado alcohólico en las diferentes formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”.
2. Los masatos de *M. esculenta* “yuca” mantuvieron la viabilidad de las bacterias ácido lácticas (*P. acidilactici* y *L. plantarum*) en torno a 7 unidades logarítmicas tanto en las 72 h de fermentación como en los 17 días de almacenamiento en refrigeración.
3. Se evidenció una ligera disminución en el recuento de la levadura *S. cerevisiae* durante el periodo de fermentación, en tanto que, en el almacenamiento en refrigeración el número de colonias se mantuvo constante sin reducciones significativas.
4. Los masatos de *M. esculenta* “yuca” inoculados con BAL presentaron recuentos nulos en los indicadores de calidad: mohos, hongos y coliformes, ciñéndose a los estándares de inocuidad establecidos en la Resolución Ministerial N° 591-2008-MINSA (2008) y manteniéndose inocuos durante la fermentación y almacenamiento en refrigeración.
5. La adición de panela granulada orgánica tuvo un efecto significativo positivo en la aceptación de los masatos de *M. esculenta* “yuca” en relación con los masatos sin panela. Las formulaciones de masato con adición de panela mostraron mayor aceptabilidad sensorial con calificaciones en torno a 7,0 (me gustó moderadamente) para el aroma, sabor, textura, calidad global y una intención de compra promedio de 4,0 (probablemente lo compraría) valores significativamente diferentes a las calificaciones de los masatos sin panela, los cuales presentaron promedios cercanos a 6,0 (me gustó moderadamente) para el aroma, textura y calidad global, no obstante, para el sabor obtuvo un puntaje en torno a 5 (no me gustó ni me disgustó), siendo su intención de compra promedio de 3,0 (tal vez compraría / tal vez no compraría).

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

1. Evaluar la interacción entre las bacterias ácido lácticas y las levaduras comerciales a diferentes niveles de inoculación en bebidas fermentadas tipo masato, para determinar su simbiosis o competencia y bajo qué condiciones se dan.
2. Identificar las bacterias ácido lácticas nativas presentes en la *M. esculenta* “yuca” y emplear medios de cultivos mucho más específicos como el agar M17 para el género *Pediococcus*, ATP para el género *Leuconostoc* y Agar MRS para el género *Lactobacillus* con el fin de evaluar la viabilidad de las diferentes especies BAL nativas o incorporadas.
3. Evaluar el pH, acidez titulable, sólidos solubles y grado alcohólico durante el almacenamiento en refrigeración de los masatos de *M. esculenta* “yuca”.
4. Determinar el efecto de la adición de la panela granulada orgánica y tiempo de fermentación en las características fisicoquímicas del masato de *M. esculenta* “yuca”.
5. Medir la actividad antimicrobiana del *L. plantarum* M82 y *P. acidilactici* M71 en diferentes especies patógenas de interés sanitario.

REFERENCIAS

- Abdel-Rahman, A., Tashiro, Y. y Sonomoto, K. (2013). Avances recientes en la producción de ácido láctico mediante procesos de fermentación microbiana. *Elsevier*, 31(6), 877-902. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Król, M. y Varzakas, T. (2020). Bacterias ácido lácticas como agentes antibacterianos para prolongar la vida útil de frutas y verduras frescas y mínimamente procesadas: aspectos de calidad y seguridad. *Microorganisms*, 8(6), 952. <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/6/952#cite>
- Aguilar, E., Segreda, A., Saborio, D., Morales, J., Chacón, M., Rodríguez, L., Acuña, P., Torres, S. y Gómez, Y. (2017). Manual del cultivo de yuca. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10918.pdf>
- Aguirre, W. (2016). *Producción de biofertilizante mediante fermentación de la cuyinaza por bacterias del género lactobacillus aisladas del fermento de la chicha de cebada* [Trabajo de grado, Universidad Católica Sedes Sapientiae]. Repositorio institucional Universidad Católica Sedes Sapientiae. <http://repositorio.ucss.edu.pe/handle/UCSS/209>
- Albornoz, F. (1998). *Utilización de una Alfa-amilasa Bacterial y levadura de panificación en la elaboración del masato* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria de la Selva. <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/342>
- Alemneh, T., Emire, A. y Hitzmann, B. (2021). Teff-Based Probiotic Functional Beverage Fermented with *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus plantarum* [Bebida funcional probiótica a base de teff fermentada con *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus plantarum*]. *Foods*, 10(10), 2333. <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/10/2333>
- Amagua, S. y Chancusig, P. (2020). *Estudio del comportamiento de un preparado enzimático (α -amilasa, β -amilasa y amiloglucosidasa) sobre masato semi-sólido de yuca (*Manihot esculenta*) para la obtención de una bebida* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio institucional Universidad Técnica de Cotopaxi. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6693>
- Arévalo, M. (2011). *Uso del almidón de yuca para la obtención de alcohol etílico* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio institucional Universidad Técnica de Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/3212>

- Nieto, A. (2022). *Validación de un método analítico para la determinación de acidez de la leche* [Tesis de Maestría, Escuela Superior Politecnico del Litoral]. Repositorio institucional de la Escuela Superior Politecnico del Litoral. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/56708>
- Barco, M. (2017). *Elaboración de bebida fermentada a base del extracto de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) y soya (Glycine max) con la aplicación de probióticos* [Trabajo de grado, Escuela Agrícola Panamericana]. Repositorio institucional Escuela Agrícola Panamericana. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6029/1/AGI-2017-006.pdf>
- BBC (2017). *Qué es la yuca amarga que vinculan con varias muertes en Venezuela y por qué es tan peligrosa.*
- Benavides, D. y Hermida, M. (2008). *Aislamiento e identificación de flora bacteriana nativa del suelo de los páramos Cruz Verde y Guasca (Cundinamarca)* [Trabajo de grado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio institucional Pontificia Universidad Javeriana. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8610>
- Benavides, Karina. J. (2012). *Parámetros óptimos en la Fermentación Alcohólica para Industrializar la Chicha de Jora en la Procesadora de Alimentos y Bebidas Kutacachi Sara Mama* [Trabajo de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio institucional Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/2576>
- Brandão, A., Mendonça, N., y Benedet, D. (2011). Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en bebida fermentada, saborizada a partir de soro lácteo e inulina [Viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* en bebida fermentada aromatizada con suero e inulina]. *Hig. aliment*, 139-142. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-14187>
- Cantos, A. (2018). Estudio de nuevas herramientas en la respuesta del consumidor [Trabajo de grado, Universidad Politécnica de Valencia]. Repositorio institucional Universidad Politécnica de Valencia. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/107139/CANTOS%20-%20ESTUDIO%20DE%20NUEVAS%20HERRAMIENTAS%20EN%20LA%20RESPUESTA%20DEL%20CONSUMIDOR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cardenas, M. y Melendez, R. (2017). *Determinación de la graduación de etanol en vinos tintos nacionales que se expenden en el mercado Unicachi del distrito de Comas – Lima - período diciembre 2016 – marzo 2017* [Trabajo de grado, Universidad Wiener]. Repositorio institucional Universidad Wiener. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/763>

- Carpio, L. y Portugal, L. (2014). *Determinación de parámetros tecnológicos para la obtención de un colorante natural de Ayrampo (Opuntia soherensii) y su aplicación en la obtención de un alimento a base de harina de yuca (Manihot esculenta)*. [Trabajo de grado, Universidad Nacional de San Agustín]. Repositorio institucional Universidad Nacional de San Agustín. <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3931/IQcaray1052.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Castillo, J. (2014). *Viabilidad de probióticos en yogur batido durante su almacenamiento en refrigeración* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria La Molina. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2406>
- Cermeño, M. (2012). *Estudio de propiedades de interés probiótico y tecnológico de dos cepas de Lactobacillus plantarum* [Tesis de maestría, Universidad de Zaragoza]. Repositorio institucional Universidad de Zaragoza. <https://zaguan.unizar.es/record/8544?ln=es#>
- Chaparro, P., Figuero, M. y Otálvaro, M. (2012). Desarrollo de una bebida vegetal a partir de harina de arroz con adición del probiótico (*Lactobacillus delbrueckii*). *Alimentos hoy*. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/268>
- Cheirsilp, B., Shoji, H., Shimizu, H. y Shioya, S. (2003). Interactions between *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for kefiran production [Interacciones entre *Lactobacillus kefiranofaciens* y *Saccharomyces cerevisiae* en cultivo mixto para la producción de kefirán]. *Journal of bioscience and bioengineering*, 96(3), 279-284. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389172303801949>
- Cobaquil, L. (2014). *Diseño de investigación en la determinación del balance de masa y energía en la panificadora la corona como herramienta de ingeniería para aumentar su productividad* [Trabajo de grado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Repositorio institucional Universidad de San Carlos de Guatemala. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1466_Q.pdf
- Collazos, C., Alvistur, E., Vásquez, J., y Quiroz, A. (2017). Tablas peruanas de composición de alimentos. *Instituto Nacional de Salud - Repositorio científico*. <https://hdl.handle.net/20.500.14196/209>

- Cubas, S. y Quispe, R. (2019). *Optimización de la concentración de panela y tiempo de fermentación para obtener una bebida probiótica saborizada con mango ciruelo (Spondias dulcis Parkinson) usando cultivos de tibicos* [Trabajo de grado, Universidad Nacional de Jaén]. Repositorio institucional Universidad Nacional de Jaén. <http://repositorio.unj.edu.pe/handle/UNJ/54>
- Cumari, G. (2019). *Obtención de alimentos funcionales de Manihot esculenta (Yuca)* [Trabajo de grado, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana]. Repositorio institucional de la Amazonía Peruana. <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6463>
- Dávila, A. (2018). *Factores que limitan el desarrollo de la agroindustria de la panela granulada en la provincia de Lamas región San Martín – 2018* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de San Martín]. Repositorio institucional Universidad Nacional de San Martín. <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3157>
- Daza, G. (2006). *Contexto socio cultural del consumo del masato y la agrodiversidad en el distrito de Padre Felipe Luyando-Naranjillo* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria de la Selva. <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/934>
- Delfini, C., Schellino, R., Minetto, M., Gaia, P., Pagliara, A., Ambrò, S. y Strano, M. (2002). Estudio biométrico de la capacidad de las levaduras enológicas para producir y/o degradar ácido DL-láctico durante la fermentación alcohólica. *Journal of Wine Research*, 13(2), 101-115. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0957126022000017972>
- De La Cruz, V. y Terán, R. (2013). *Evaluación de la viabilidad de Lactobacillus casei libre y encapsulado en alginato sódico como probiótico en jugo de guayaba* [Tesis de grado, Escuela Agrícola Panamericano]. Repositorio institucional Escuela Agrícola Panamericano. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/75e7112a-0da0-4ac5-97f1-0992378ec34a/content>
- De Montijo, M. (2017). *Estudio del potencial probiótico de Lactobacillus plantarum C4* [Tesis doctoral, Universidad de Granada]. Repositorio institucional Universidad de Granada. <https://hera.ugr.es/tesisugr/28915975.pdf>
- Del Toro, U., Hernández, N. y Méndez, E. (2018). ¿El azúcar es una droga? *Ciencia y Luz*. Universidad Veracruzana. <https://www.uv.mx/cienciauv/blog/elazucareunadroga/>

- Dequin, S., Baptista, E. y Barre, P. (1999). Acidificación de mostos de uva mediante cepas de levadura de vino *Saccharomyces cerevisiae* genéticamente modificadas para producir ácido láctico. *American journal of enology and viticulture*, 50(1), 45-50. <https://www.ajevonline.org/content/50/1/45.short>
- Díaz, A. y Heredia, E. (2020). *Estudio de los diferentes procesos de elaboración, estabilidad y almacenamiento de tres tipos de bebidas fermentadas de yuca (Manihot esculenta), con kéfir y levadura* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio institucional Universidad Técnica de Cotopaxi. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/7000>
- Dirección General de Salud Ambiental (2001). Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos. Dirección General de Salud Ambiental. 1-182. http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61_MAN.ANA.MICROB.pdf
- Dirección General de Salud Ambiental (2010). Recomendaciones para el uso de agua segura. Ministerio de Salud, Dirección General de Salud Ambiental. http://www.digesa.minsa.gob.pe/material_educativo/poblacion/agua_segura.asp
- Domínguez, M., Schätzthauer, M. y Zamudio, M. (2005). *Desarrollo de una bebida fermentada a base de maíz utilizando bacterias probióticas* [Congreso]. XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Ciudad de México, México. https://smbb.mx/congresos%20smbb/merida05/TRABAJOS/AREA_III/CIII-45.pdf
- Encinas, F., Espinoza, J., Estela, P., Paredes, A., Ramos R. y Salazar, J. (2017). *Masato envasado de yuca (Manihot esculenta) y su evaluación de tiempo de conservación como refresco, utilizando diferentes concentraciones de conservantes en la ciudad de Pucallpa*. <https://es.scribd.com/document/367630293/351751523-BIOTECNOLOGIA-MASATO-docx-docx>
- Espinoza, J. (2007). Evaluación sensorial de los alimentos. Editorial Universitaria (Cuba). <https://acortar.link/qowm4P>
- Evangelista, W., y Rivas, J. (2015). *Efecto de los edulcorantes (sucralosa y stevia) sobre las características sensoriales de una bebida a base de sanky (Corryocactus brevistylus)* [Trabajo de grado, Universidad Nacional del Callao]. Repositorio institucional Universidad Nacional del Callao. <http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/423/T.664.E96.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Ferrari, A., Vinderola, G. y Weill, R. (2020). Alimentos fermentados: Microbiología, nutrición, salud y cultura. Asociación Civil Dadone para la Nutrición.

https://www.danoneinstitute.org/wp-content/uploads/2020/12/Book-Fermented-Food-2020_sp.pdf

- Figueiredo, A., Ferreira, M., Umsza, A., Florentino, A., Cardoso, F. y De Souza, J.D. (2016). Evaluación fisicoquímica de mandioca almacenada bajo refrigeración y congelación. *Revista A barriguda*, 6(3), 539-0556. https://www.researchgate.net/profile/AlineaureaSilva/publication/312869385_evaluacion_fisico-quimica_de_mandioca_almacenada_bajo_refrigeracion_y_congelacion/links/588ff07192851c9794c4a4a0/evaluacion-fisico-quimica-de-mandioca-almacenada-bajo-refrigeracion-y-congelacion.pdf
- Furukawa, S., Watanabe, T., Toyama, H. y Morinaga, Y. (2013). Significance of microbial symbiotic coexistence in traditional fermentation [Importancia de la coexistencia simbiótica microbiana en la fermentación tradicional]. *Journal of bioscience and bioengineering*, 116(5), 533-539. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389172313001801>
- García, A (2007). *Identificación de bacterias ácido lácticas mediante perfiles de fermentación y Ribotipificación* [Trabajo de grado, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo]. Repositorio institucional Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/jspui/bitstream/231104/382/1/Identificacion%20de%20bacterias.pdf>
- Gómez, M. J. (1996). *Degradación de péptidos hidrófobos por bacterias lácticas* [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid]. Repositorio institucional Universidad Complutense de Madrid. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/3163/1/T21164.pdf>
- Gorbeña, C. y Sáenz, A. (2008). Bacterias ácido lácticas: Biopreservante de los alimentos. *Biotempo*, 8, 54-64. <http://revistas.urp.edu.pe/index.php/Biotempo/article/view/865>
- Grajek, W., Olejnik, A. y Sip, A. (2005). Probióticos, prebióticos y antioxidantes como alimentos funcionales. *Acta Biochimica Polonica*, 52 (3), 665-671. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16086074/>
- Grivanesa, R. (2016). *Comparación bromatológica y microbiológica de chichas elaboradas con dos variedades de yuca (Manihot esculenta)* [Trabajo de grado, Universidad Estatal Amazónica]. Repositorio institucional Universidad Estatal Amazónica. <https://repositorio.uea.edu.ec/handle/123456789/661>

- Harish-Nayaka, A., Sathisha, V., Manohar, P., Chandrashekar, B. y Dharmesh, M. (2009). Estudios de actividad citoprotectora y antioxidante del azúcar moreno. *Food Chemistry*, 115, 113–118. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814608014167>
- Hernández, I. y Martínez, A. (2001). *Producción de l-lactato con Bacillus subtilis a partir de glucosa y celobiosa* [Congreso]. XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Cuernava, México. https://smbb.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA_II/CARTEL/CII-10.pdf
- Hernández, M., Torruco, G., Chel, L. y Betancur, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Food Science and Technology*, 28, 718-726. <https://www.scielo.br/j/cta/a/BFmq3pZQMP33pwHsyNjk9Yf/abstract/?lang=es>
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). Metodología de la investigación (6th Ed). Mc Graw Hill Education, Interamericana Editores S.A. <https://academia.utp.edu.co/grupobasicoclinicayaplicadas/files/2013/06/Metodolog%C3%ADa-de-la-Investigaci%C3%B3n.pdf>
- Hidalgo, Y., Hatta, B. y Palma, C. (2016). Influencia del nivel de fermentación del vino base sobre algunos compuestos volátiles del pisco peruano de uva Italia. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82(2), 128-141. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2016000200004&script=sci_arttext
- Holzäpfel, H. y Wood, J. (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy* [Bacterias del ácido láctico: biodiversidad y taxonomía]. *Nhbs Wildlife*, Wiley - Blackwell. <https://www.nhbs.com/lactic-acid-bacteria-book>
- Huapaya, S. (2014). *Elaboración de una bebida probiótica a partir de la fermentación láctica del almidón hidrolizado de harina de quinua Chenopodium quinoa* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria la Molina. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/1903>
- Hurtado, C. (2000). La alimentación en el Tahuantinsuyo. *La casa del Corregidor*, 1(1). 1 – 247. http://casadelcorregidor.pe/biblioteca/_biblio_Hurtado.php
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (2018). Compendio estadístico del Perú 2018 (1th Ed), Agrario. pp. 1 – 88. INEI

https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1635/cap13/cap13.pdf

- Jaffé, R. (2012). Health Effects of Non-Centrifugal Sugar (NCS): A Review [Efectos sobre la salud del azúcar no centrífugo (NCS): una revisión]. *Sugar Tech*, 4(2), 87–94. <http://www.panelamonitor.org/documents/7/health-effects-non-centrifugal-sugar-ncs-review/>
- Jurado, H., Aguirre, D. y Ramírez, C. (2009). Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos. *Revista MVZ Córdoba*, 14(2), 1723-1735. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682009000200009&script=sci_arttext
- Każmierczak, K., Skonieczna, K., Hupp, T., Duchnowska, R., Marek, N. y Połom, K. (2022). Next-generation probiotics—do they open new therapeutic strategies for cancer patients? [Probióticos de próxima generación: ¿abrirán nuevas estrategias terapéuticas para los pacientes con cáncer?]. *Gut Microbes*, 14(1), 2035659. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19490976.2022.2035659>
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N. y Fakiri, M. (2013). Health Benefits of Probiotics: A Review [Beneficios para la salud de los probióticos: una revisión]. *ISRN Nutrition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4045285/>
- Klaenhammer, R., Barrangou, R., Buck, L., Azcarate-Peril, A. y Altermann, E. (2005). Características genómicas de las bacterias del ácido láctico que afectan el bioprocesamiento y la salud. *FEMS Microbiol*, 29, 393–409. <https://academic.oup.com/femsre/article/29/3/393/545187>
- Kleerebezem, M., Boekhorst, J., Kranenburg, R., Molenaar, D., Kuipers, P., Leer, R., Tarchini, R., Peters, A., Sandbrink, M., Fiers, W., Stiekema, W., Lankhorst, M., Bron, A., Hoffer, M., Groot, N., Kerkhoven, R., Vries, M., Ursing, B., Vos, M. y Siezen, J. (2003). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 [Secuencia completa del genoma de *Lactobacillus plantarum* WCFS1]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (4), 1990-1995. <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.0337704100>
- Kostinek, M., Specht, I., Edward, A., Pinto, C., Egounlety, M., Sossa, C. y Holzappel, H. (2007). Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures [Caracterización y propiedades bioquímicas de bacterias ácido lácticas predominantes en fermentación

- de yuca para su selección como cultivos iniciadores]. *International Journal of Food Microbiology*, 114(3), 342–351. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17188771/>
- Kouhestani, S. y Honarvar, M. (2021). An overview on Panela [Una visión general sobre la panela]. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 11(1), 35-42. https://jfbt.srbiau.ac.ir/article_16846.htm
- Lee, M., Song, H., Choi, J., Yun, R., Lee, W. y Chang, Y. (2021). UPLC-QTOF-MS/MS and GC-MS characterization of phytochemicals in vegetable juice fermented using lactic acid bacteria from kimchi and their antioxidant potential [Caracterización UPLC-QTOF-MS/MS y GC-MS de fitoquímicos en jugo de vegetales fermentados usando bacterias del ácido láctico del kimchi y su potencial antioxidante]. *Antioxidants*, 10(11), 1761. <https://doi.org/10.3390/antiox10111761>
- León, R. y Zapata, A. (2008). Chicha peruana, una bebida, una cultura. Universidad San Martín de Porres. <https://docplayer.es/11180664-Chicha-peruana-una-bebida-una-cultura.html>
- Lindgren, E., Axelsson, T. y McFeeters, F. (1990). Anaerobic L-lactate degradation by *Lactobacillus plantarum* [Degradación anaeróbica del L-lactato por *Lactobacillus plantarum*]. *FEMS Microbiology Letters*, 66(1-3), 209-213. <https://academic.oup.com/femsle/article-abstract/66/1-3/209/511021>
- Londoño, A., Taborda, T., López, A. y Acosta, V. (2015). Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Alimentos hoy*, 23(36), 186-205. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/356>
- Machado, F. y Rizzatto, L. (2019). Produção e análises físico-químicas de bebida probiótica de suco de maracujá [Producción y análisis físicoquímico de una bebida probiótica de jugo de maracuyá]. *Cogitare*, 2(1), 50-69. <https://ojs.ifsp.edu.br/index.php/cogitare/article/view/1167>
- Machado, M., Sousa, C., Rodríguez, M., Pintado, M. y Gomes, M. (2023). Functional lipid enriched probiotic cheese: Gastrointestinal stability and potential health benefits [Queso probiótico funcional enriquecido con lípidos: estabilidad gastrointestinal y posibles beneficios para la salud]. *International Dairy Journal*, 144, 105700. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095869462300119X>
- Macias, M y Jiménez, J. (2013). *Estandarización de chicha a partir de yuca Manihot esculenta variedad armenia fermentada con levadura Saccharomyces cerevisiae*. [Trabajo de grado, Universidad Industrial de Santander]. Repositorio institucional

- Madigan, T., Martinko, M., Bender, S., Buckley, H. y Stahl, A. (2014). *Brock biology of microorganisms* [Biología de Brock de los microorganismos]. (13th Ed). Estados Unidos de Norte América: Pearson Education, Inc. https://bibliotecadigital.uchile.cl/discovery/fulldisplay/alma991000837539703936/56UDC_INST:56UDC_INST
- Maier, M. y Pepper, L. (2015). Bacterial growth [Crecimiento bacteriano]. *Environmental microbiology*, 37-56. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012394626300003X>
- Malakar, S., Kr, S. y Jolvis, R. (2020). Biotechnological interventions in beverage production [Intervenciones biotecnológicas en la producción de bebidas]. *Academic press*, 19, 1-37. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128166789000011?via%3Dihub>
- Malo, M. y Urquhart, A. (2016). Fermented foods: Use of starter cultures [Alimentos fermentados: uso de cultivos iniciadores]. *Elsevier*, 681-685. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123849472002828?via%3Dihub>
- Marlo, M. y Granda, S. (2015). *Elaboración de un chocolate para taza enriquecido con harina de plátano (Musa paradisiaca) y edulcorado con panela* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas]. Repositorio institucional Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNTR_18079bd363682794ecba78df307601ae/Details
- Martirosyan, M. y Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: What makes a new definition unique? [Una nueva definición de alimento funcional según FFC: ¿Qué hace que una nueva definición sea única?]. *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 209-223. <https://ffhdj.com/index.php/ffhd/article/view/183>
- Merck (2021). MRS Broth (*Lactobacillus Broth* acc. to de Man Rogosa and Sharpe) [Caldo MRS (*Lactobacillus Broth* acc. to de Man Rogosa and Sharpe)]. https://www.merckmillipore.com/PE/es/product/MRS-broth,MDA_CHEM-110661
- Meza, I. y Julca, A. (2015). Sustentabilidad de los sistemas de cultivo con yuca (*Manihot esculenta*) en la subcuenca de Santa Teresa, Cusco. *Ecología Aplicada*. 14(1).55 –

63. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162015000100005

Meza, Y. (2014). *Sustentabilidad de los sistemas de cultivo con yuca (Manihot esculenta) en la subcuena de Santa Teresa, Cusco* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria la Molina. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2331>

Miguel, G., Collela, F., de Almeida, G., Dias, R. y Schwan, F. (2015). Physicochemical and microbiological description of Caxiri—a cassava and corn alcoholic beverage [Descripción fisicoquímica y microbiológica del Caxiri, bebida alcohólica de yuca y maíz]. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(12), 2537-2544. <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ijfs.12921>

Monroy, C., Castro, T., Fernández, J. y Mayorga, L. (2009). Bacteriocinas producidas por Bacterias probióticas. *Contactos*, 63-72. <http://www2.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n73ne/bacterio.pdf>

Mora, N. y García, A. (2007). *Susceptibilidad de bacterias ácido lácticas frente a diversos antibióticos* [Trabajo de grado, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo]. Repositorio institucional Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/handle/231104/190>

NTE INEN ISO 2173 (2013). Productos vegetales y frutas. Determinación de sólidos solubles- método refractométrico (IDT). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN ISO 2173:2013. <https://docplayer.es/10151566-Quito-ecuador-norma-tecnica-ecuatoriana-nte-inen-iso-2173-2013-extracto.html>

Núñez, C., Brañas, M., Del Águila, M. y Zárate, R. (2018). Conocimientos tradicionales vinculados a la yuca (*Manihot esculenta*) en el pueblo ticuna. *Arnaldoa*, 26 (1), 339 – 358. <http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26116>

Oguntoyinbo, A. y Narbad, A. (2012). Molecular characterization of lactic acid bacteria and in situ amylase expression during traditional fermentation of cereal foods [Caracterización molecular de bacterias ácido lácticas y expresión de amilasa in situ durante la fermentación tradicional de alimentos a base de cereales]. *Food Microbiol*, 31, 254–262. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002012000597?via%3Dihub>

Olivera, J. (2011). *Caracterización tecnológica de cepas de bacterias ácido lácticas aisladas de la leche* [Trabajo de grado, Universidad de la República]. Repositorio institucional

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2013). *Código de prácticas para reducir el ácido cianhídrico (hcn) en la yuca (mandioca) y los productos de yuca*. <http://surl.li/qzqtuj>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2006). *Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación - informe de la consulta de expertos FAO/OMS sobre evaluación de las propiedades saludables y nutricionales de los probióticos en los alimentos*. <http://www.fao.org/documents/card/es/c/7dccb60a-88be-53fa-9c77-d6f81b7ca368/>
- Oyedepi, O., Ogunbanwo, T. y Onilude, A. (2013). Predominant lactic acid bacteria involved in the traditional fermentation of fufu and ogi, two Nigerian fermented food products [Bacterias de ácido láctico predominantes involucradas en la fermentación tradicional de fufu y ogi, dos productos alimenticios fermentados nigerianos]. *Food and Nutrition Sciences*, 4(11), 40. <https://www.scirp.org/html/39062.html?pagespeed=noscript>
- Parapouli, M, Vasileiadis, A., Afendra, S. y Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications [Saccharomyces cerevisiae y sus aplicaciones industriales]. *AIMS microbiology*, 6(1), 1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7099199/>
- Pari, D. (2013). *Cinética de conversión de los carbohidratos presentes en la cáscara de plátano (Musa cavendish) para la obtención de etanol* [Trabajo de grado, Universidad Nacional del Altiplano]. Repositorio institucional Universidad Nacional del Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2879>
- Parra, A. (2010). Bacterias ácido lácticas: Papel funcional nos alimentos. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 8(1), 93-105. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612010000100012&script=sci_abstract&tlng=pt
- Pereira, A., Maciel, T. y Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei* [Bebida probiótica a partir de jugo de anacardo fermentado con *Lactobacillus casei*]. *Food Research International*, 1276-1283. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910004680>

- Pilamala, J. (2020). *Estabilización de cuatro bebidas ancestrales envasadas fermentadas con kefir y levadura* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio institucional Universidad Técnica de Cotopaxi. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6697>
- Ponomarova, O., Gabrielli, N., Sévin, C., Mülleder, M., Zirngibl, K., Bulyha, K. y Patil, R. (2017). Yeast creates a niche for symbiotic lactic acid bacteria through nitrogen overflow [La levadura crea un nicho para las bacterias simbióticas del ácido láctico mediante el desbordamiento de nitrógeno]. *Cell systems*, 5(4), 345-357. <https://cyberleninka.org/article/n/87590.pdf>
- Porto, C, Kuniyoshi, M., Azevedo, O., Vitolo, M. y Oliveira, P. (2017). *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers [Un género importante de bacterias del ácido láctico y productoras de pediocina]. *Biotechnology Advances*, 35 (3), 361-374. DOI: doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.03.004
- Prakash, J., Thapa, N., Tamang, B., Rai, A. y Chettri, R. (2015). Microorganisms in fermented foods and beverages [Microorganismos en alimentos y bebidas fermentados]. <http://surl.li/ozalzv>
- Proaño, L. (2012). *El efecto del uso de probióticos (Lactobacillus plantarum & Lactobacillus casei) y enzimas amilasas (Fungamyl) & pectinasas (AFPL), en la fermentación ácido-láctica de Camote (Ipomoea batatas L.)* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio institucional Universidad Técnica de Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/3162>
- Ramírez, H. (2018). *Desarrollo y evaluación de chocolate edulcorado con panela y relleno con nuez de nogal (Juglans neotropica)* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas]. Repositorio institucional Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. <http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/1355>
- Real Academia Española. (2010). Diccionario de americanismos. *Asociación de Academias de la Lengua Española*. <https://lema.rae.es/damer/?key=masato>
- Rebaza, D., Silva, K., Sabater, C., Delgado, S., Montes, D. y Ruas, P. (2023). “Masato de yuca” and “Chicha de Siete Semillas” two traditional vegetable fermented beverages from Peru as source for the isolation of potential probiotic bacteria [“Masato de yuca” y “Chicha de Siete Semillas” dos bebidas fermentadas vegetales tradicionales del Perú como fuente para el aislamiento de potenciales bacterias probióticas]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 15(2), 300-311. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-021-09836-x>

- Resolución Ministerial N° 591 de 2008. Norma sanitaria que estable los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (2008). Diario Oficial el Peruano Lima, Perú, 27 de agosto del 2008. <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/247682-591-2008-minsa>
- Ríos, C., Maldonado, L. y Caballero, L. (2016). Bebida fermentada a base de arroz con adición de probióticos. @LIMENTECH Ciencia y Tecnología Alimentaria, 14(1), 58 – 73. http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/ALIMEN/article/view/2126
- Rivadeneira, E., Rodríguez, J. y Luna, M. (2017). Toxicidad de la yuca (Manihot esculenta Crantz). https://www.uv.mx/qfb/files/2020/10/2017-L-Toxicidad-de-la-yuca_Eduardo-Rivadeneira-Dominguez.pdf
- Rivera, P. (2019). *Identificación de los microorganismos fermentadores de diferentes chichas de jora (cerveza Andina) provenientes de la región Norte del Ecuador* [Trabajo de grado, Universidad San Francisco de Quito]. Repositorio institucional Universidad San Francisco de Quito. <https://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/8546>
- Sacsara, Y., Caichihua, M., Rojas, J., Crisóstomo, L., Leiva, E., Quispe, R. y Ignacio, A. (2018). Evaluación comparativa del comportamiento morfológico y productividad del cultivo de Yuca en Centro Poblado Chilcal-San Vicente de Cañete, 2018. <https://es.scribd.com/document/419278679/yuca>
- Saeed, H. y Salam, I. (2013). Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: a review [Limitaciones y desafíos actuales con las bacterias del ácido láctico: una revisión]. *Food and Nutrition Sciences*, 4(11), 15. https://www.scirp.org/html/10-2700895_40133.htm?pagespeed=noscript
- Salazar, I. (2020). *Análisis de adulterantes en la leche cruda* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio institucional Universidad Técnica de Machala. http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16325/1/E8502_SALAZAR%20OGAONA%20JORDY%20ISRAEL.pdf
- Salvador, R., Sotelo, M. y Paucar, L. (2014). Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Scientia Agropecuaria*, 5(3), 157-163. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172014000300006&script=sci_arttext&tlng=en

- Sarango, M. y Yanchapanta, D. (2019). *Cinética del crecimiento de microorganismos durante el proceso de fermentación de tres bebidas ancestrales a partir de yuca (Manihot esculenta)* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. Repositorio institucional Universidad Técnica de Cotopaxi. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6134>
- Sedano, L. (2006). *Selección de cepas nativas de lactobacillus con actividad inhibitoria y tolerantes al etanol aisladas de masato* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio institucional Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/942677>
- Serna, A. (2012). *Elaboración de jugos de fruta con adición de bacteria ácido lácticas con potencial probiótico* [Tesis de maestría, Universidad de La Sabana]. Repositorio institucional Universidad de La Sabana. https://intellectum.unisabana.edu.co/bitstream/handle/10818/3633/Johanna%20Serna%20Jim%C3%A9nez_157728.pdf?sequence=1
- Shuña, C. (2019). *Elaboración de chicha de maiz amarillo duro utilizando diferentes proporciones de levadura comercial (Saccharomyces cerevisiae) en Pucallpa – Ucayali* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Ucayali]. Repositorio institucional Universidad Nacional de Ucayali. <http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/3900>
- Silva, K. (2013). *Propuesta de norma técnica para la panela granulada y proceso para su elaboración y aprobación* [Trabajo de grado, Universidad de Piura]. Repositorio institucional Universidad de Piura. <https://pirhua.udep.edu.pe/handle/11042/1741>
- Sosa, N., Marranzini, C., Tejada, P., Bonnelly, R. y Boluda, J. (2018). El origen de la variación de la energía libre asociada a la hidrólisis del ATP y la enseñanza de la bioquímica. *Ciencia, ambiente y clima*, 1, 2636-2333. <https://repositoriobiblioteca.intec.edu.do/bitstream/handle/123456789/2352/10.22206cac.2018.v1i1.pp39-44.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Suárez, C., Garrido, A. y Guevara, A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Cuba*, 50(1), 20-28. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>
- Suhr, J., Gomes, C., Banjara, N., Florescu, F., Mercer, F., Iwen, C. y Hallen, E. (2017). Investigación epidemiológica de especies de *Candida* que causan infección del torrente sanguíneo en receptores pediátricos de trasplante de intestino delgado. *Repositorio institucional Mycoses*, 60(6), 366-374. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/myc.12603>

- Sukmawati, D., Arman, Z., Sondana, A., Fikriyah, N., Hasanah, R., Afifah, N. y Puspitaningrum, R. (2019). Levadura potencialmente productora de amilasa aislada de bebidas fermentadas autóctonas originarias de Bali, Indonesia. *Journal of Physics: Conference Series*, 1402(5), 55021. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1402/5/055021/meta>
- Tanguler, H. y Erten, H. (2012). Chemical and microbiological characteristics of shalgam (şalgam): a traditional turkish lactic acid fermented beverage [Características químicas y microbiológicas del shalgam (salgam): una bebida tradicional ácido láctica turca]. *Journal of Food Quality*, 35(4), 298-306. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4557.2012.00447.x>
- Torres, E., Aleaga, Y., Hermosilla, R. y Ramos, M. (2022). Determinación de cianuro en harina de almidón de yuca (*Manihot esculenta*) de la variedad censa 64 -7329. *Revista Cubana de Mexico*, 34 (3), 462 – 476. <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v34n3/2224-5421-ind-34-03-462.pdf>
- Torres, R. (2017). Estudio de las interacciones bacterias ácido lácticas-levaduras en fermentación para la elaboración de una bebida alcohólica [Tesis de Maestría, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco]. Repositorio institucional Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. <https://acortar.link/ZWDYFt>
- Tropicos (2020). *Tropicos Name - Manihot esculenta Crantz*. <https://www.tropicos.org/name/12800237>
- Uden, G. y Zaunmüller, T. (2009). Metabolism of sugars and organic acids by lactic acid bacteria from wine and must [Metabolismo de azúcares y ácidos orgánicos por bacterias lácticas del vino y mosto]. *Biology of Microorganisms on Grapes, Must and in Wine*, 135-147. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-85463-0_7
- Universidad de Guanajuato (2018). Términos Anatómicos. NDO Universitario, Digital UG. <https://blogs.ugto.mx/enfermeriaenlinea/unidad-didactica-2-terminos-anatomicos/>
- Uribe, A. (2007). *Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filósfera de mora* [Trabajo de grado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio institucional Pontificia Universidad Javeriana. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8298?locale-attribute=pt>
- Waters, M., Mauch, A., Coffey, A., Arendt, K. y Zannini, E. (2015). Las bacterias del ácido láctico como fábrica de células para la entrega de biomoléculas e ingredientes

funcionales en bebidas a base de cereales: una revisión. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 503-520.
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2012.660251>

- Wichchukit, S. y Mahony, M. (2015). The 9-point hedonic scale and hedonic ranking in food science: some reappraisals and alternatives [La escala hedónica de 9 puntos y el ranking hedónico en ciencia de los alimentos: algunas reevaluaciones y alternativas]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(11), 2167–2178.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.6993>
- Wohlgemuth, S., Loh, G. y Blaut, M. (2010). Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects [Desarrollos recientes y perspectivas en la investigación de los efectos de los probióticos]. *International Journal of Medical Microbiology*, 3-10.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422109000794>
- Yépez, A. (2018). *Potencial biotecnológico de bacterias lácticas aisladas de productos fermentados de Latinoamérica y su aplicación en alimentos funcionales* [Tesis doctoral, Universitat de València]. Repositorio institucional Universitat de València.
<https://roderic.uv.es/handle/10550/68840>
- Yi, A. (2017). *Importancia del proceso de temperado en la elaboración del chocolate a nivel industrial* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria la Molina.
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3026>
- Zamora, J. (2009). Parámetros fisicoquímicos de dureza total en calcio y magnesio, pH, conductividad y temperatura del agua potable analizados en conjunto con las Asociaciones Administradoras del Acueducto, (ASADAS), de cada distrito de Grecia, cantón de Alajuela, noviembre del 2008. *Revista Pensamiento Actual, Universidad de Costa Rica*, 9 (12-13), 125-134.
<https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/pensamiento-actual/article/view/2842>
- Zannini, E., Pontonio, E., Waters, M. y Arendt, K. (2011). Aplicaciones de fermentaciones microbianas para la producción de productos sin gluten y perspectivas. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 473–485.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-011-3707-3>

TERMINOLOGÍA

ATP: El ATP es la “moneda energética” de la célula que durante su hidrólisis libera 30,5 kJ/mol de energía en forma de calor. Esta elevada producción de energía depende de factores electrónicos como fosfatos de alta energía, repulsión electrostática, reactividad química y un elevado volumen molecular de los grupos fosfato (Sosa *et al.*, 2018).

Balance de materia. Cimentada en la Ley fundamental de la Conservación de la Masa, donde se establece que la materia ingresante a un sistema debe salir del sistema o acumularse dentro del mismo, excluyendo las reacciones atómicas o nucleares (Cobaquil, 2014).

***B. subtilis* WB700CH2:** Es un microorganismo que degrada la glucosa y celobiosa en L-lactato ópticamente puro mediante la enzima amilasa con rendimientos del 80 % y requiere fuentes adicionales de vitaminas y aminoácidos para su crecimiento (Hernández y Martínez, 2001).

Cepas. Microbiológicamente, es una población de microorganismos provenientes de una única célula, la cual ha sido propagada clonalmente, debido al gran interés de la conservación de sus cualidades para sus diferentes usos al ser humano (Benavides y Hermida, 2008).

Control. Comprobación y evaluación de un proceso productivo (Macias y Jiménez, 2013).

Corte longitudinal. Corte realizado a lo largo o paralelo al eje de un cuerpo u objeto (Universidad de Guanajuato, 2018).

Grados Brix (°Bx). Expresa la concentración de sólidos disueltos (%) en una solución de sacarosa pura, para medirlo se utiliza el equipo denominado refractómetro (Macias y Jiménez, 2013).

Edulcorante. Es una sustancia permitida para su utilización como aditivo en los productos alimentarios. Esta sustancia es capaz de endulzar un alimento (Evangelista y Rivas, 2015).

Potencial de hidrógeno (pH). Indica la concentración de iones de hidrógeno presente en una sustancia lo cual indica cuan ácido o alcalino es dicha sustancia (Macias y Jiménez, 2013).

Partes por millón (ppm). Es una medida que expresa la concentración de una sustancia disuelta en una solución, su unidad equivalente es mg/l (Zamora, 2009).

Refinado. Proceso donde se reduce el tamaño particular de una sustancia donde sus partículas miden varios milímetros y se reducen a micrones, todo ello con el fin de obtener una sustancia de textura aceptable (Yi, 2017).

Stevia: Es una planta que pertenece a la familia Asteraceae y que por su composición rica en glucosídicos bajos en calorías tiene la capacidad de edulcorar 300 veces más que el azúcar (Salvador *et al.*, 2014).

APÉNDICES

Apéndice 1

Ficha para reclutamiento de consumidores de bebidas fermentadas

Nombre:	_____	Edad:	_____	Sexo: M	<input type="checkbox"/>	F	<input type="checkbox"/>	
Teléf. de contacto:	_____	E-mail:	_____					
<p>1. ¿A usted le gustan las bebidas típicas fermentadas peruanas, como el clarito, la chicha de jora, chicha de 7 semillas o el masato de <i>M. esculenta</i> “yuca”?</p>								
Si				<input type="checkbox"/>	No			<input type="checkbox"/>
<p>2. Indique en la escala abajo, cuanto le gusta o disgusta las bebidas típicas fermentadas peruanas:</p>								
Me gusta extremadamente				<input type="checkbox"/>				
Me gusta mucho				<input type="checkbox"/>				
Me gusta moderadamente				<input type="checkbox"/>				
Me gusta ligeramente				<input type="checkbox"/>				
No me gusta ni me disgusta				<input type="checkbox"/>				
Me disgusta ligeramente				<input type="checkbox"/>				
Me disgusta moderadamente				<input type="checkbox"/>				
Me disgusta mucho				<input type="checkbox"/>				
Me disgusta extremadamente				<input type="checkbox"/>				
<p>3. Indique en la escala abajo, con qué frecuencia, en promedio, usted consume bebidas fermentadas:</p>								
Casi siempre (casi todos los días)				<input type="checkbox"/>				
Mucho (1 a 2 veces/ semana)				<input type="checkbox"/>				
Moderado (1 a 2 veces/ mes)				<input type="checkbox"/>				
Poco (menos de 1 vez/ mes)				<input type="checkbox"/>				
Casi nunca (menos de 1 vez/año)				<input type="checkbox"/>				

Apéndice 2

Ficha de evaluación sensorial del masato de *M. esculenta* “yuca”

Nombre: _____

Fecha: _____

Edad: _____ Sexo: Masculino () Femenino: ()

1. Lugar de origen _____

2. ¿A usted le gustan las bebidas típicas fermentadas peruanas, como el clarito, la chicha de jora, chicha de 7 semillas o el masato de *M. esculenta* “yuca”?

Si

No

3. Indique que bebidas fermentadas típicas acostumbra a consumir (puede marcar más de una opción):

Clarito

Chicha de jora

Chicha de maní

Chicha de 7 semillas

Masato

Otros (especifique) _____

4. ¿Usted ha consumido alguna vez masato de *M. esculenta* “yuca”?

Si

No

5. Si la respuesta es positiva, mencione donde lo ha consumido:

Preparado en casa

En un restaurante de comidas típicas

En una feria gastronómica

En alguna festividad o fiesta patronal

En otro lugar(especifique) _____

6. Por favor, evalúe cuidadosamente, **de izquierda a derecha**, cada muestra codificada de masato de *M. esculenta* “yuca” y utilizando la escala abajo, califique cuanto le gustó o disgustó el producto con relación a los siguientes atributos:

- 9 - Me gustó extremadamente
- 8 - Me gustó mucho
- 7 - Me gustó moderadamente
- 6 - Me gustó ligeramente
- 5 - No me gustó ni me disgustó
- 4 - Me disgustó ligeramente
- 3 - Me disgustó moderadamente
- 2 - Me disgustó mucho
- 1 - Me disgustó extremadamente

MUESTRA N°:						
Color						
Aroma						
Apariencia general						
Sabor						
Textura						
Calidad global						

7. Utilizando la escala abajo, exprese su parecer en relación a la intención de compra de la muestra evaluada de masato de *M. esculenta* “yuca”.

- 5 – Seguramente compraría
- 4 - Probablemente compraría
- 3 - Tal vez compraría / tal vez no compraría
- 2 - Probablemente no compraría
- 1 - Seguramente no compraría

MUESTRA N°						
NOTA						

8. Si tuviera algún comentario con relación a los atributos que más le gustaron o disgustaron de alguna muestra de masato de *M. esculenta* “yuca”, hágalas con sus propias palabras en los renglones abajo, identificando a que muestra (o muestras) se refieren:

Muestra

Nº: _____

¡Muchas gracias por su participación!

Apéndice 3

Códigos para el análisis sensorial de las formulaciones masato de M. esculenta “yuca”

Formulación	Composición	Código
1	Lp,SP	367
2	Pa,SP	892
3	Consortio, SP	453
4	Lp,CP	274
5	Pa,CP	798
6	Consortio, CP	935

Nota. Lp: *L. plantarum*, SP: sin panela, Pa: *P. acidilactici*, CP: con panela.

Apéndice 4

Diseño estadístico para el orden de presentación de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca” a los consumidores

Consumidor	Orden de presentación de muestras					
	1	2	3	4	5	6
1	274	892	453	798	367	935
2	798	367	935	274	892	453
3	453	798	892	935	274	367
4	892	935	798	367	453	274
5	367	453	274	892	935	798
6	935	274	367	453	798	892

Orden de presentación de muestras						
Consumidor	1	2	3	4	5	6
7	892	274	453	935	367	798
8	453	367	892	798	274	935
9	935	453	798	367	892	274
10	274	935	367	453	798	892
11	367	798	274	892	935	453
12	798	892	935	274	453	367

Orden de presentación de muestras						
Consumidor	1	2	3	4	5	6
13	935	798	274	892	453	367
14	367	453	798	935	274	892
15	798	892	367	274	935	453
16	453	935	892	798	367	274
17	274	367	935	453	892	798
18	892	274	453	367	798	935

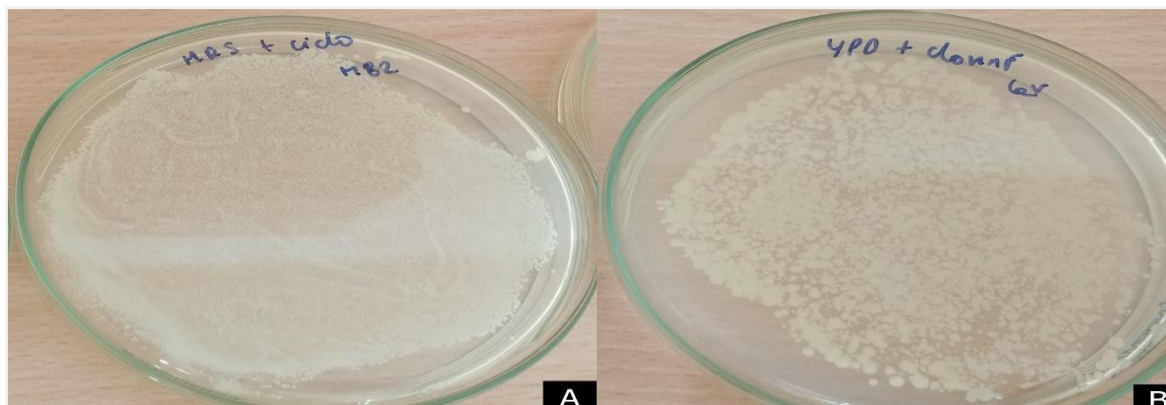
Orden de presentación de muestras						
Consumidor	1	2	3	4	5	6
19	367	274	935	892	453	798
20	935	892	798	367	274	453
21	892	453	367	274	798	935
22	453	935	274	798	367	892
23	274	798	892	453	935	367
24	798	367	453	935	892	274

Orden de presentación de muestras						
Consumidor	1	2	3	4	5	6
25	798	892	935	367	453	274
26	453	367	274	798	935	892
27	367	274	453	892	798	935
28	935	798	892	453	274	367
29	892	935	798	274	367	453
30	274	453	367	935	892	798

Orden de presentación de muestras						
Consumidor	1	2	3	4	5	6
31	367	274	935	892	798	453
32	798	935	892	274	453	367
33	453	892	274	935	367	798
34	274	367	798	453	935	892
35	935	798	453	367	892	274
36	892	453	367	798	274	935

Apéndice 5

Crecimiento de los inóculos en cicloheximida y cloranfenicol



Nota. A: Crecimiento de *L. plantarum* en agar MRS con adición de cicloheximida. B: Crecimiento de levadura en agar YPD con cloranfenicol.

Apéndice 6

*Análisis de varianza de la aceptación de la apariencia general de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”*

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Consumidor	110,458	35	3,156	3,95	0,000
Orden de presentación	3,542	5	0,708	0,89	0,491
Adición de panela	8,560	1	8,560	10,72	0,001
Tipo de inóculo	0,444	2	0,222	0,28	0,757
Adición de panela*tipo de inóculo	0,259	2	0,130	0,16	0,850
Error	135,694	170	0,798		

Apéndice 7

*Análisis de varianza de la aceptación del color de las formulaciones de masato de *M. esculenta* “yuca”*

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Consumidor	127,26	35	3,64	3,399	0,000
Orden de presentación	13,48	5	2,70	2,520	0,031
Adición de panela	0,67	1	0,67	0,623	0,431
Tipo de inóculo	0,12	2	0,06	0,056	0,945
Adición de panela*tipo de inóculo	0,53	2	0,26	0,247	0,782
Error	181,87	170	1,07		

Apéndice 8

Análisis de varianza de la aceptación del aroma de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Consumidor	186,315	35	5,323	3,475	0,000
Orden de presentación	2,204	5	0,441	0,288	0,919
Adición de panela	66,667	1	66,667	43,518	0,000
Tipo de inóculo	0,037	2	0,019	0,012	0,988
Adición de panela*tipo de inóculo	1,000	2	0,500	0,326	0,722
Error	260,426	170	1,532		

Apéndice 9

Análisis de varianza de la aceptación del sabor de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Consumidor	305,870	35	8,739	5,898	0,000
Orden de presentación	5,426	5	1,085	0,732	0,600
Adición de panela	411,130	1	411,130	277,492	0,000
Tipo de inóculo	0,120	2	0,060	0,041	0,960
Adición de panela*tipo de inóculo	1,120	2	0,560	0,378	0,686
Error	251,870	170	1,482		

Apéndice 10

Análisis de varianza de la aceptación de la textura de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Consumidor	176,718	35	5,049	3,708	0,000
Orden de presentación	9,579	5	1,916	1,407	0,224
Adición de panela	53,005	1	53,005	38,922	0,000
Tipo de inóculo	0,843	2	0,421	0,309	0,734
Adición de panela*tipo de inóculo	2,231	2	1,116	0,819	0,442
Error	231,509	170	1,362		

Apéndice 11

Análisis de varianza de la aceptación de la calidad global de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Consumidor	167,926	35	4,798	4,150	0,000
Orden de presentación	10,204	5	2,041	1,765	0,123
Adición de panela	163,630	1	163,630	141,536	0,000
Tipo de inóculo	0,065	2	0,032	0,028	0,972
Adición de panela*tipo de inóculo	1,565	2	0,782	0,677	0,510
Error	196,537	170	1,156		

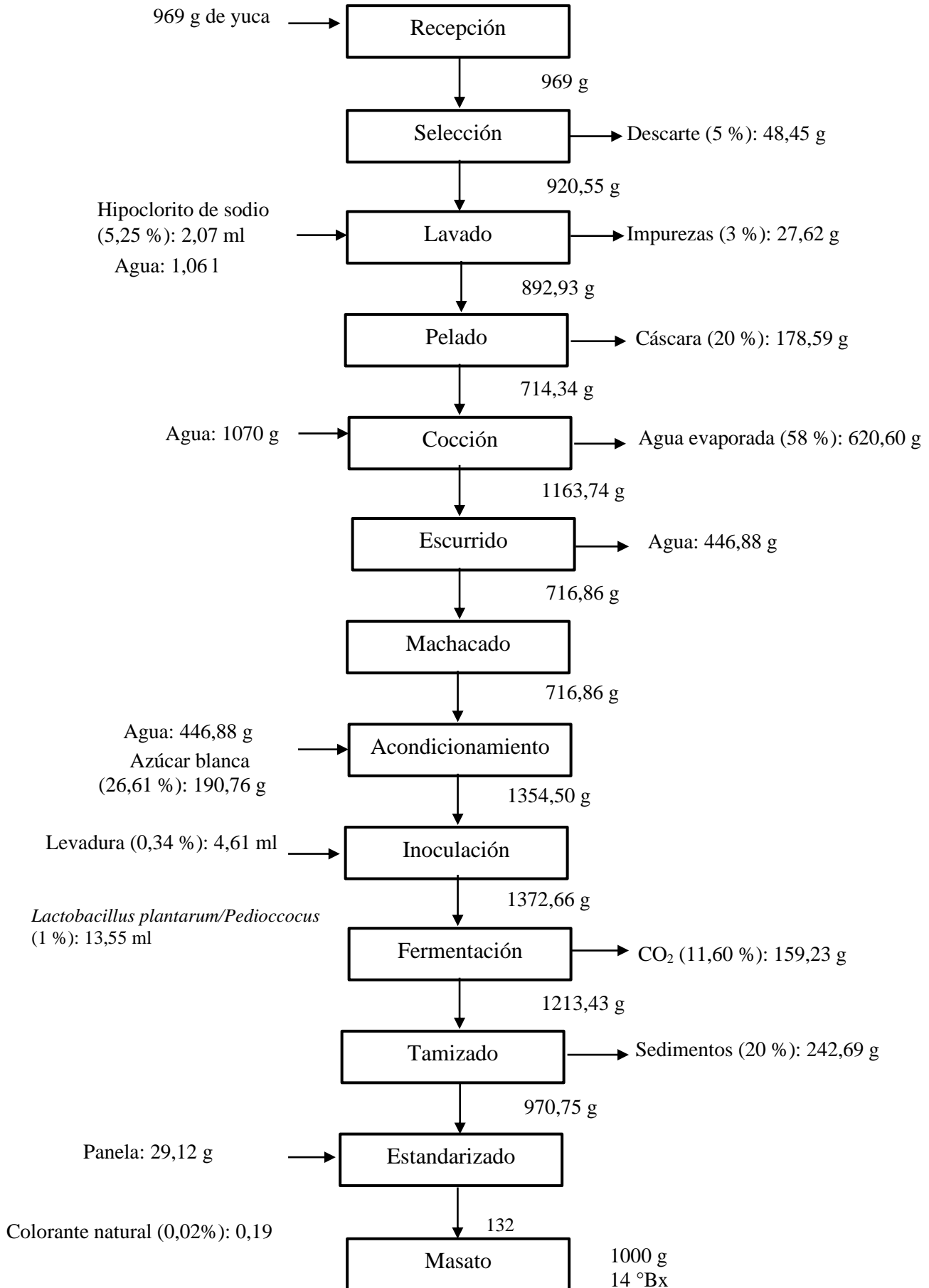
Apéndice 12

Análisis de varianza de la intención de compra de las formulaciones de masato de M. esculenta “yuca”

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p
Consumidor	71,500	35	2,043	3,261	0,000
Orden de presentación	2,278	5	0,456	0,727	0,604
Adición de panela	104,167	1	104,167	166,275	0,000
Tipo de inóculo	2,861	2	1,431	2,284	0,105
Adición de panela*tipo de inóculo	2,528	2	1,264	2,017	0,136
Error	106,500	170	0,626		

Apéndice 13

Balace de materia para 1000 g de masato de *M. esculenta* “yuca”



Apéndice 14

Certificación orgánica de la panela (caña de azúcar)



ORGANISMO DE CERTIFICACIÓN DE PRODUCTOS
ACREDITADO POR EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA
CON REGISTRO N° OCP - 034



CERTIFICADO DE CONFORMIDAD

N° de documento: CE-022084-2023

CAAE AMÉRICA SAC ⁽¹⁾

como entidad de certificación de producto por el Reglamento Técnico para los Productos Orgánicos en el Perú, según el **Decreto Supremo N° 044-2006-AG**, autorizada por el SENASA en Perú, como organismo Certificador de productos orgánicos de acuerdo al requerimiento establecido en la **ley 29196, DS N° 002-2020-MINAGRI** y conforme al esquema de certificación 6 de la norma NTP-ISO/IEC 17067, confirma y avala que los productos indicados son producidos y comercializados bajo la responsabilidad de:

COOPERATIVA AGRARIA NORANDINO LTDA.
AV. LOS DIAMANTES MZA. X LOTE. 3Y4 Z.I. II ETA (POR DEPOSITO
DE LA MUNICIPALIDAD)
20009-VEINTISEIS DE OCTUBRE (PIURA)
N° 41682

REC:2060355239

Periodo de validez desde **29/12/2023** hasta **29/12/2024**

Fecha de control (2): **27/11/2023**

Se emite el presente documento, que ha sido expedido en base a la **ley 29196, DS N° 002-2020-MINAGRI**. El operador declarado ha sometido sus actividades a control y cumple los requisitos establecidos en el citado Reglamento.

Lima a, **Viernes, 29 de Diciembre de 2023**



Mario Alberto Muñoz Borrego
CAAE AMÉRICA

(Ver alcance del certificado en las páginas siguientes)

1) Autorizada como entidad de certificación en Perú con el código de organismo de control PE-024-MINAGRI-SENASA

(2) Si ha transcurrido más de un año desde la fecha del último control consulte en con CAAE AMÉRICA la validez del certificado.

Este documento es propiedad de CAAE AMÉRICA, por lo que deberá devolverse con un simple requerimiento, su validez puede verificarse consultando con CAAE AMÉRICA. Este documento sustituye y anula a cualquier otro emitido con anterioridad.

CAAE AMÉRICA puede emitir un certificado por cada operador y grupo de productos/actividad.

Los productos indicados como Conversión T1 tienen que comercializarse como No Orgánicos



ORGANISMO DE CERTIFICACIÓN DE PRODUCTOS
ACREDITADO POR EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA
CON REGISTRO N° OCP - 034



CERTIFICADO DE CONFORMIDAD

N° de documento: CE-022084-2023

PRODUCTOS	CATEGORÍA
Vegetales y productos vegetales Cacao Café Caña de azúcar	Conversión T2
Vegetales y productos vegetales Cacao Café Caña de azúcar	Conversión T3
Vegetales y productos vegetales Cacao Café Caña de azúcar	Producción Orgánica

REC-20002-ES219

Estos productos proceden de la explotación/instalaciones indicada/s a continuación

ACTIVIDAD COMO PRODUCTOR PARA GRUPOS:

ZONA	ID	PRODUCTORES	HAS	FECHA INICIO	CULTIVO	VOLUMEN (TN)	CATEGORIA
ZH01	41682-01	451	470,84	14/11/2023	CACAO	580,97	ORGÁNICO
		7	8,64	14/11/2023	CACAO	10,66	CONVERSIÓN T3
		35	27,99	14/11/2023	CACAO	34,54	CONVERSIÓN T3
		20	20,31	14/11/2023	CACAO	25,06	CONVERSIÓN T2
		9	11,77	14/11/2023	CACAO	14,52	CONVERSIÓN T1
		1497	2157,04	14/11/2023	CAFÉ	2988,36	ORGÁNICO
		25	18,49	14/11/2023	CAFÉ	25,62	CONVERSIÓN T3
		114	160,35	14/11/2023	CAFÉ	222,15	CONVERSIÓN T3
		15	17,82	14/11/2023	CAFÉ	24,69	CONVERSIÓN T2
		3	1,76	14/11/2023	CAFÉ	2,44	CONVERSIÓN T1

(continúa en siguiente página)

1) Autorizada como entidad de certificación en Perú con el código de organismo de control PE-024-MINAGRI-SENASA

(2) Si ha transcurrido más de un año desde la fecha del último control consulte en con CAAE AMÉRICA la validez del certificado.

Este documento es propiedad de CAAE AMÉRICA, por lo que deberá devolverse con un simple requerimiento, su validez puede verificarse consultando con CAAE AMÉRICA. Este documento sustituye y anula a cualquier otro emitido con anterioridad.

CAAE AMÉRICA puede emitir un certificado por cada operador y grupo de productos/actividad.

Los productos indicados como Conversión T1 tienen que comercializarse como No Orgánicos



ORGANISMO DE CERTIFICACIÓN DE PRODUCTOS
ACREDITADO POR EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA
CON REGISTRO N° OCP - 034



CERTIFICADO DE CONFORMIDAD

N° de documento: CE-022084-2023

ZONA	ID	PRODUCTORES	HAS	FECHA INICIO	CULTIVO	VOLUMEN (TN)	CATEGORIA
ZH01	41682-01	598	696,81	14/11/2023	CAÑA DE AZÚCAR	42020,57	ORGÁNICO
		45	48,26	14/11/2023	CAÑA DE AZÚCAR	2910,28	CONVERSIÓN T3
		10	8,07	14/11/2023	CAÑA DE AZÚCAR	486,65	CONVERSIÓN T2
		1	0,20	14/11/2023	CAÑA DE AZÚCAR	12,06	CONVERSIÓN T1
ZH02	41682-02	240	337,51	14/11/2023	CAFÉ	467,59	ORGÁNICO
		5	5,45	14/11/2023	CAFÉ	7,55	CONVERSIÓN T3
		11	17,55	14/11/2023	CAFÉ	24,31	CONVERSIÓN T3
		3	4,00	14/11/2023	CAFÉ	5,54	CONVERSIÓN T2
		52	99,42	14/11/2023	CAÑA DE AZÚCAR	5995,44	ORGÁNICO
		1	2,00	14/11/2023	CAÑA DE AZÚCAR	120,61	CONVERSIÓN T3
ZH03	41682-03	330	747,47	14/11/2023	CAFÉ	1035,54	ORGÁNICO
		77	142,25	14/11/2023	CAFÉ	197,07	CONVERSIÓN T3
		10	17,20	14/11/2023	CAFÉ	23,83	CONVERSIÓN T3
		1	3,00	14/11/2023	CAFÉ	4,16	CONVERSIÓN T2
		4	8,56	14/11/2023	CAFÉ	11,86	CONVERSIÓN T1
ZH04	41682-04	9	21,01	14/11/2023	CAÑA DE AZÚCAR	1266,99	ORGÁNICO
		224	362,32	14/11/2023	CACAO	447,07	ORGÁNICO
		58	101,26	14/11/2023	CACAO	124,94	CONVERSIÓN T3
		2	3,65	14/11/2023	CACAO	4,50	CONVERSIÓN T3
		3	3,83	14/11/2023	CACAO	4,73	CONVERSIÓN T2
2	3,15	14/11/2023	CACAO	3,89	CONVERSIÓN T1		

Observaciones: Para consulta de la localización detallada de los productores véase el anexo al certificado de conformidad.

1) Autorizada como entidad de certificación en Perú con el código de organismo de control PE-024-MINAGRI-SENASA

(2) Si ha transcurrido más de un año desde la fecha del último control consulte en con CAAE AMÉRICA la validez del certificado.

Este documento es propiedad de CAAE AMÉRICA, por lo que deberá devolverse con un simple requerimiento, su validez puede verificarse consultando con CAAE AMÉRICA. Este documento sustituye y anula a cualquier otro emitido con anterioridad.

CAAE AMÉRICA puede emitir un certificado por cada operador y grupo de productos/actividad.

Los productos indicados como Conversión T1 tienen que comercializarse como No Orgánicos