

Universidad Nacional Agraria de la Selva
TINGO MARIA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**Departamento Académico de Ciencia, Tecnología é Ingeniería
de Alimentos**



**"Utilización de una Alfa-amilasa Bacterial y
Levadura de Panificación en la Elaboración
del "Masato""**

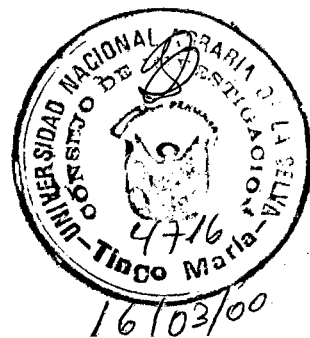
TESIS

Para optar el Título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Carlos Francisco Albornoz Jiménez

Tingo María - Perú
1998



DEDICATORIA

A la memoria de mi padre FRANCISCO.

A mi madre NINFA
por sus sacrificios para
el logro de mi formación
profesional

A mi hermano NICOMEDES (Q.E.P.D.).

A mis hermanos: Timoteo, Nilda, Francisca,
Margoth, Maritza y Gaby.

A mi esposa DÁMARIS

A mi hija CLAUDIA SAMANTA

AGRADECIMIENTOS

- Al Ing. Ramón Julca Roldán, Patrocinador de la presente tesis.
- Al Ing. Pedro Peláez Sánchez, co - Patrocinador del presente trabajo.
- A la Sra. Francisca Albornoz Jiménez
- Al personal de la Planta Piloto E-5, Laboratorio de Nutrición y Laboratorio de Control de Alimentos de la UNAS.
- A todos los que de una o de otra manera han contribuido en la realización de la presente tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
A. CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA	2
1. Clasificación Taxonómica	2
2. Descripción	2
3. Variedades y Rendimientos	3
4. Composición Química	3
5. Importancia Económica	4
B. EL ALMIDÓN	5
1. Definición	5
2. Sacarificación	6
C. ENZIMAS	6
1. Definición	6
2. Tipos	8
3. Factores que afectan la actividad enzimática	11
D. FERMENTACIÓN	12
1. Definición	12
2. Tipos	12
3. Fermentación Alcohólica	13
E. EL MASATO	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
A. LUGAR DE EJECUCIÓN	19
B. MATERIALES	19
1. Materia Prima	19
2. Insumos	19
3. Materiales y Equipos	19
C. MÉTODOS	20
1. Métodos de Análisis	20

2. Métodos de Proceso	22
a). Sacarificación de la Yuca Cocida	22
b). Fermentación del masato	27
c). Comparación entre las bebidas elaboradas	36
d). Almacenamiento.	36
e). Caracterización del producto final	36
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
A. MATERIA PRIMA	37
1. Características Macroscópicas	37
2. Análisis Proximal	37
B. SACARIFICACIÓN DE LA YUCA COCIDA.....	38
1. Pruebas Preliminares	38
a). Determinación de temperatura	38
b). Determinación de pH	39
c). Determinación de concentración de enzima	41
2. Pruebas Finales	43
a). Determinación de temperatura y tiempo óptimo ...	43
b). Determinación del pH óptimo	45
c). Determinación de la concentración óptima de enzima..	47
C. FERMENTACIÓN DEL MASATO	51
1. Pruebas Preliminares	51
a). Cocción	51
b). Licuado.	51
c). Fermentación.	52
d). Estandarización	53
e). Pasteurización	58
2. Pruebas Finales	60
a). Diagrama de Flujo definitivo	60
b). Balance de Materia	60
c). Cambios durante la fermentación	63

3. Cambios en el almacenamiento.....	75
D. DIFERENCIAS ENTRE LAS BEBIDAS OBTENIDAS.....	77
1. Sabor.....	77
2. Aroma.....	79
3. Color.....	80
4. Textura.....	81
E. CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO FINAL.....	82
1. Composición Química.....	82
2. Análisis Físico-Químico.....	82
3. Análisis Microbiológico.....	83
V. CONCLUSIONES.....	84
VI. RECOMENDACIONES.....	85
VII. RESUMEN.....	86
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	87
IX. ANEXOS.....	90

I. INTRODUCCIÓN

El “Masato” es una bebida tradicional de la selva peruana obtenida a partir de la fermentación de la yuca (*Manihot esculenta* Grantz) cocida. Esta bebida es ampliamente consumida por las tribus selváticas, y en las ciudades de la selva peruana.

La elaboración tradicional incluye un proceso de *masticado* de la yuca cocida, este proceso no ha permitido la difusión mayoritaria de su consumo por lo antihigiénico de esta operación. La elaboración tradicional del masato no ha tenido mejoras tecnológicas y tampoco se han realizado estudios que conlleven a su industrialización.

Conociendo que el principal escollo para la aceptación del masato por parte de los consumidores es el proceso de masticado de la yuca, en el presente trabajo sustituimos este proceso con la incorporación de una alfa-amilasa bacterial comercial.

Así mismo se realizó la fermentación de la yuca cocida con levaduras de panificación, con la finalidad de determinar si existen diferencias sensoriales frente a la fermentación tradicional, ya que la utilización de cultivos seleccionados permite un mayor control del proceso de fermentación.

Para la realización del presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar los efectos de la sustitución del proceso de masticado de la yuca cocida por el proceso de sacarificación enzimática sobre las características sensoriales del masato.
- Determinar los efectos sobre las características sensoriales del masato debido a la utilización de levadura de panificación durante el proceso de fermentación.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A. Características de la materia prima

1. Clasificación taxonómica

De acuerdo a Montaldo (1979), la clasificación taxonómica de la yuca es la siguiente:

Reino	:	Vegetal
División	:	Phanerograma
Subdivisión	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledóneas
Subclase	:	Choripétalos
Orden	:	Genariales
Suborden	:	Tricoccae
Familia	:	Euphorbiaceas
Sub-familia	:	Crotonidae
Tribu	:	Manihoteae
Genero	:	Manihot
Especie	:	<i>Manihot esculenta</i> ,Grantz
Sinonimias	:	<i>Manihot utilissima</i> <i>Manihot aipi</i> <i>Manihot dulcis</i>

2. Descripción

La yuca es una planta oriunda de Centro América, que es cultivada generalmente a partir de trozos de tallos durante un periodo de 8 a 24 meses.

La yuca es un arbusto que crece hasta una altura comprendida entre 1 y 5 m. El tallo por lo general es uno solo, largo y simple con escasas ramificaciones en el ápice. Curriel y Velázquez (1977).

Las hojas son alternas, los peciolo son largos y finos de 20 a 40 cm. de largo, son rectos y curvos según el cultivar. El color del peciolo es una característica de la variedad (púrpura, rojo o verde, uniforme o manchado).

3. Variedades y rendimientos

En el cuadro 1 se presentan las variedades de yuca del trópico peruano, edad de cosecha, rendimiento y el porcentaje de almidón.

Cuadro 1: Variedades seleccionadas de yuca, distribuidas a los productores del trópico peruano en 1971 - 1980.

Variedad	Edad de cosecha (meses)	Rendimiento (TM/ha)	Almidón (%)
<u>Tarapoto</u>			
Motelina amarilla	6	20	30
Arpón humo	6	15	25
Auquina amarilla	8 - 10	25	30
Rumo Maqui	10 - 12	20	35
Iracina	12	25	35
<u>Yurimaguas</u>			
Amarilla	12	25	30
Motelo humo	8	20	30
<u>Tingo María</u>			
Negra	9	17	16
Blanca	19	17	16
Morada	11	14	15

Fuente: Solórzano (1983) citado por Peláez (1988)

4. Composición química

En el cuadro 2 se muestra la composición química proximal de las raíces y del follaje de la yuca.

Cuadro 2 :Composición comparativa en base húmeda, de la raíz y del follaje de la Yuca.

Fracciones	Raíz (%)	Follaje (%)
Humedad	6,1	77,2
Proteína	1,2	6,8
Grasa	0,4	1,4
Carbohidratos	34,9	12,8
Fibra	1,2	2,4
Cenizas	1,3	1,8

Fuente: Montaldo (1979)

5. Importancia económica:

La yuca ocupa uno de los rubros importantes económicamente tal como lo planteó Mccan (1976) “ Si la investigación tanto en el frente “agro” como en la industria se realizan al mismo tiempo, la yuca puede ser un proveedor importante de alimentos, químicos y energía, al cabo de una década” .

Así mismo Valdez (1976) sostiene que frente a una futura escasez de trigo, la producción de yuca debe incrementarse con el fin de asegurar la cantidad adecuada de materia prima para las industrias de procesamiento.

La yuca o mandioca es la principal planta alimenticia en regiones tropicales como la cuenca amazónica y el centro del África. Se le considera un alimento energético, que suple por área más calorías que ninguna otra planta, muy superior en ese aspecto al maíz, arroz y tubérculos. León (1968) citado por Pelaez (1988)

Sin embargo Grace (1977) menciona que la yuca o mandioca no es un alimento completo ya que está compuesto principalmente por almidón, no obstante es la más remuneradora de las plantas de cultivo en los países cálidos que da quizás un mayor

rendimiento de almidón por hectárea que cualquier otro cultivo con un mínimo de mano de obra.

Su utilización en la industria alimentaria es extensa, se emplea para la producción de glucosa a partir del almidón y de la harina de yuca, Lages (1978); como sustituto en la industria cervecera Rajagopal (1977), también se utiliza en la industria de panificación Ciacco (1976), Collins (1981) y Pelaez (1988), etc.

La yuca es el principal proveedor de almidón como nutriente para la etapa inicial del proceso de producción de etanol. Crueger (1984).

B. EL ALMIDÓN

1. Definición

Coultate (1984) citado por Torres (1996) define al almidón como un hidrato de carbono complejo compuesto de C, H y O, organizados dentro de una simple molécula de α -Dglucosa enlazadas unas a otras para formar grandes polímeros según la fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$, en la que "n" es probablemente mayor que un millar.

El almidón químicamente es un glucano, o mejor dicho una mezcla de glucanos, pues el gránulo de almidón es un sistema heterogéneo que consta principalmente de dos compuestos distintos:

- La *Amilosa* que es prácticamente un polímero lineal, la cual contiene de 1,000 a 5,000 unidades de monosacáridos unidos en general por uniones $\alpha(1-4)$. Una de sus características mejor conocidas es su capacidad de retener el yodo, para dar un complejo de azul intenso.
- La *Amilopectina* que es un polímero muy ramificado. Se estima que su grado de polimerización esta entre 10^5 a 10^6 monosacáridos por molécula. Las cadenas contienen entre 20 y 30 monosacáridos, con uniones $\alpha(1-6)$. Braverman (1990).

2. Sacarificación

Albuquerque (1969) señala que la sacarificación del almidón es el proceso mediante el cual el almidón es desdoblado hasta niveles de dextrinas límites, maltosa y glucosa. Esta sacarificación puede ser conseguida por tres procesos:

- . Por el cocimiento de la fécula o almidón con ácidos diluidos.
- . Por la acción de la diastasa de malta sobre la fécula.
- . Por la acción de la diastasa de hongos sobre la fécula.

La importancia de la sacarificación radica en el hecho de que gracias a este proceso se producen los azúcares solubles fermentables que hacen posible la fermentación, esto debido a que las levaduras no tienen amilasas. Hansen (1978)

Las células de levadura son capaces de fermentar cuatro azúcares: glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa. También poseen una enzima, la invertasa (sacarasa), que actúa como catalizador para la hidrólisis de la sacarosa. La maltosa es fermentada siempre y cuando el aporte de glucosa y fructosa se haya agotado. Charley (1986)

En la figura 1 se puede apreciar a los productos que se obtienen por la degradación enzimática del almidón.

C. ENZIMAS

1. Definición

El nombre “enzima” fue propuesto en 1878 por Kuhne a partir del término griego “*en la levadura*”. En aquella época se creía que las enzimas podían ejercer su función sólo en el interior de la célula viva. Sin embargo posteriormente los Buchner demostraron que la actividad enzimática no se hallaba limitada al interior de la célula viva. Braverman (1990).

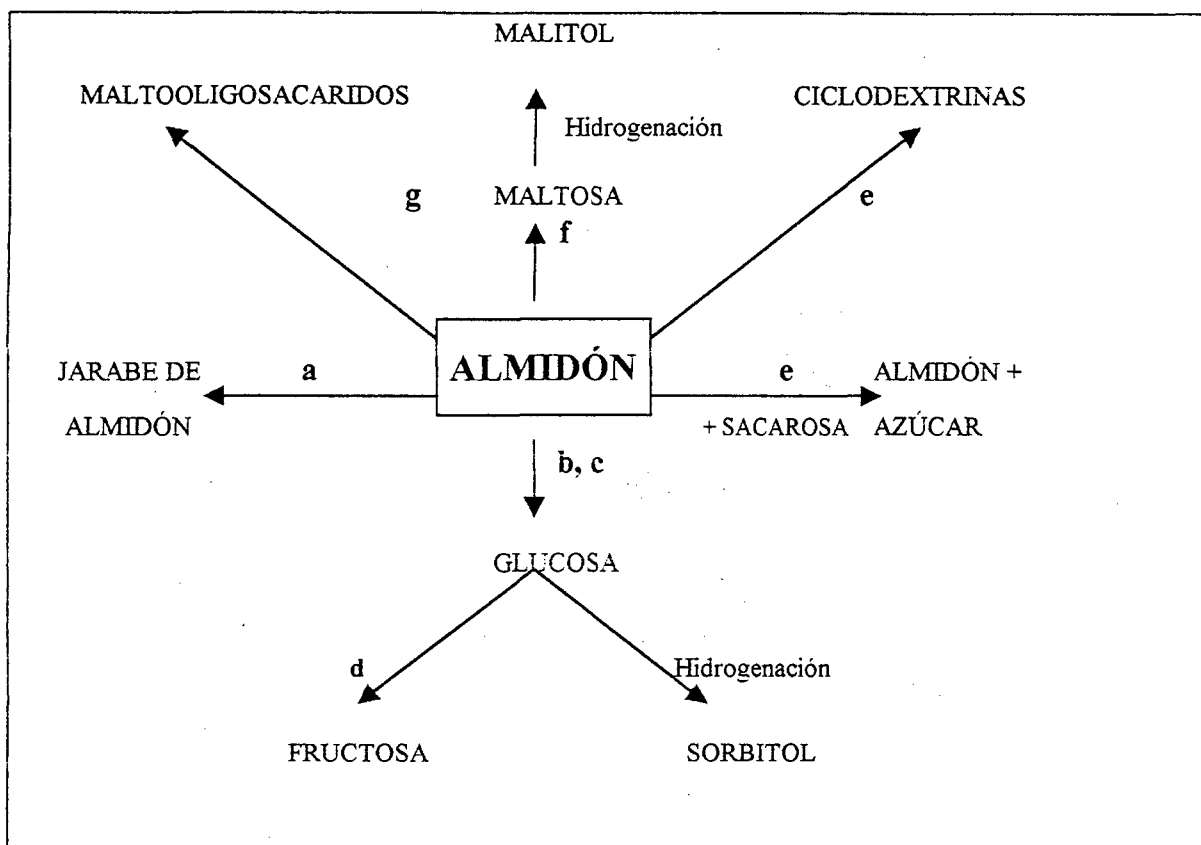


Figura 1: Principales productos de la degradación enzimática del almidón.

a = α -amilasa, b = α -amilasa, c = amiloglucosidasa, d = glucosaisomerasa, e = ciclodextrin-glucosiltransferasa, f = β -amilasa y g = oligosacaridasa.

Fuente: Campos (1997).

Las enzimas son los catalizadores biológicos que las células utilizan para realizar una serie de conversiones químicas que se consideran como la “química de la vida”. Wiseman (1986).

Las enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas. Se encuentran entre las más notables de las biomoléculas conocidas debido a su extraordinaria especificidad y a su poder catalítico que es mucho mayor que la de los catalizadores hechos por el hombre. Lehninger (1979).

Las enzimas son proteínas formadas por las células de los animales vivientes, que aceleran las reacciones químicas, llevándolas más rápidamente a la condición de

equilibrio. Siendo dos sus características en la catálisis general y la enzimática en particular:

- Las enzimas no sufren ninguna modificación en el proceso de la reacción.
- Las enzimas no cambian la constante de equilibrio de una reacción química, simplemente incrementan la velocidad de reacción para conducir a la condición de equilibrio, de modo que no se producen cambios en las propiedades termodinámicas del sistema. Villavicencio (1993).

La primera enzima producida industrialmente fue la amilasa fungal takadiastasa, empleada como un agente farmacéutico (para desórdenes digestivos), en los Estados Unidos en el año 1894. Crueger (1984).

2. Tipos

Existen diferentes tipos de enzimas todas ellas tienen la terminación *asa* como sufijo al nombre del sustrato, ej. La *ureasa* cataliza la producción de amoníaco y CO₂, la *arginasa* cataliza la hidrólisis de la arginina a ornitina y úrea, y la *fosfatasa* cataliza la hidrólisis de los ésteres fosfóricos. Lehninger (1979). En la Tabla 1 se presentan las seis clases principales de enzimas, con sus respectivas subclases, de acuerdo con el tipo de reacción catalizada.

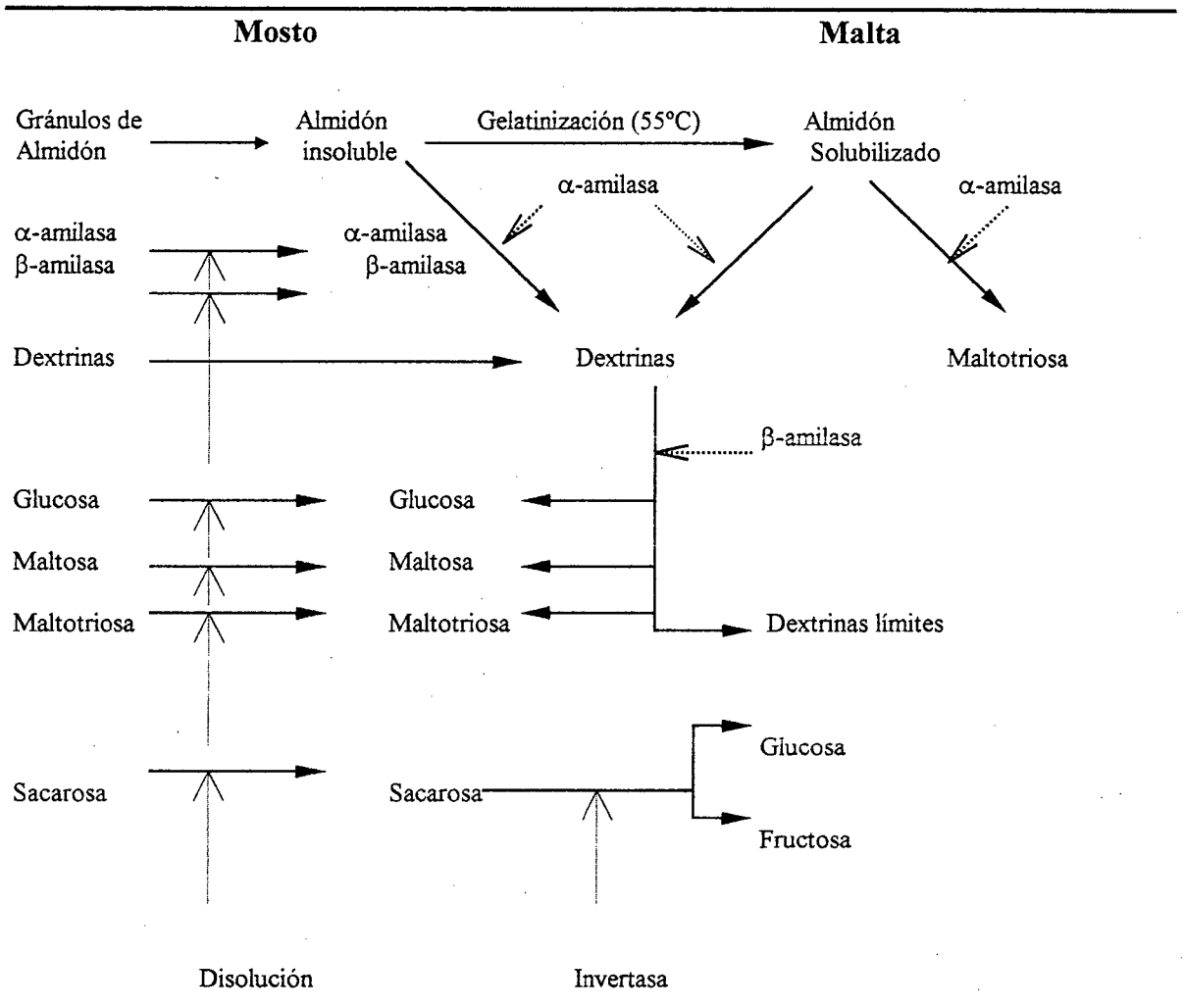
a). Amilasas

Marc et al (1983) presenta la Tabla 2 donde se aprecia la acción de las enzimas sobre la malta de cebada, incluyendo la acción de las α y β amilasas. Los prefijos α y β se refieren sólo a la mutarotación de los productos de la hidrólisis y nada tienen que ver con el tipo de unión atacada. Braverman (1990).

α -Amilasas

Las α -amilasas son enzimas que actúan sobre los enlaces $\alpha(1 - 4)$ del almidón gelatinizado o dañado mas no sobre el almidón nativo. La alfa amilasa desdobra el almidón del interior de las moléculas en grandes fragmentos denominados dextrinas. López (1997).

Tabla 2 :Esquema del proceso de hidrólisis enzimática de la malta de cebada.



Fuente: Marc et al (1983)

β-Amilasas

Esta enzima hidroliza los enlaces $\alpha(1-4)$ de la amilosa y la amilopectina, a partir del extremo no reductor, liberando maltosa. No es activa sobre el enlace $\alpha(1-6)$ de la amilopectina, su acción se detiene cerca de las ramificaciones de la amilopectina, produciéndose de 50 a 60% de maltosa y un residuo macromoléculas llamado dextrina límite. Campos (1997). La β -amilasa se halla casi exclusivamente en los vegetales superiores, las mejores fuentes para su aislamiento son la papa y los granos de cebada germinados. Braverman (1990).

3. Factores que afectan la actividad enzimática

Villavicencio (1993) describe los siguientes factores que afectan la actividad enzimática: Tiempo de incubación, Concentración de enzima, Concentración de sustrato, el pH y la Temperatura.

a). Tiempo de incubación

La cantidad de producto formado es proporcional al tiempo de incubación. La reacción es lineal hasta un tiempo determinado. Después de la cual deja de ser lineal por que las reacciones son generalmente reversibles y tienden al equilibrio.

La velocidad de obtención del producto puede disminuir por efectos de desnaturalización o inhibición de la enzima.

b). Concentración de enzima

Cuando el sustrato se encuentra en exceso, a concentraciones saturantes, la velocidad de la reacción es proporcional a la concentración de la enzima.

c). Concentración de sustrato

Cuando la concentración de la enzima se mantiene constante y se va incrementando la concentración del sustrato, inicialmente la velocidad de la reacción varía proporcionalmente a la concentración del sustrato (reacción de primer orden). Luego el incremento de la velocidad va disminuyendo al incrementarse la concentración del sustrato, llegando un momento en que ya no hay más incremento y la velocidad se hace constante, Michaelis y Menten describieron esto como una transición de la velocidad de una fase dependiente de sustrato a otra que es independiente.

d). Efecto del pH

La mayor parte de las enzimas tienen un pH característico en el cual su actividad es máxima. Ese pH se llama pH óptimo. Por encima y por debajo de

este PH la actividad declina, ya sea por modificación del sitio activo o por alteración de la estructura terciaria de la molécula pudiendo llegar a la desnaturalización y por consiguiente no habrá actividad enzimática.

f). Efecto de la temperatura

Al aumentar la temperatura aumenta la actividad enzimática hasta un punto en que la enzima empieza a desnaturalizarse y la velocidad de la reacción comienza a disminuir.

D. FERMENTACIÓN

1. Definición

En términos generales, la fermentación implica el empleo de microorganismos para llevar a cabo transformaciones de la materia orgánica catalizadas por enzimas. La fermentación ha sido realizada como un arte durante muchos siglos; por ejemplo la elaboración del vino se cree que se practicaba hace 10 000 años a.c., mientras que los historiadores creen que los egipcios producían cervezas por los años 5 000 a 6 000 a.c. Los datos acerca de la transformación de la leche en derivados lácteos por ejemplo queso, se remonta al año 5 000 a.c. Ward (1991).

2. Tipos

Crueger (1984) sugiere dos formas en las que comúnmente se clasifican a los procesos de fermentación, la primera de ellas clasifica a las fermentaciones de la siguiente manera: Batch, Semi-continua y Continua. Por otro lado también se puede dividir en procesos Tipo I (Proteína mono celular, etanol y ácido glucónico), Tipo II (Acido cítrico, ácido itacónico y algunos aminoácidos) y Tipo III (Vitaminas y antibióticos), de acuerdo con la dependencia de la formación del producto sobre el metabolismo energético.

Existen diferentes tipos de fermentaciones que se emplean en la industria, para la producción de determinados compuestos como los siguientes:

La levadura mas comúnmente usada es la *S. cerevisiae* sin embargo la *Kluyveromyces fragilis* también ha sido empleada para la fermentación alcohólica. Crueger (1984)

Así mismo indica que bajo condiciones aeróbicas y en presencia de alta concentración de glucosa la *S. cerevisiae* tiene una buena reproducción, pero produce poco alcohol. Bajo condiciones anaeróbicas, la reproducción es baja sin embargo la producción es lenta y el piruvato de la ruta catabólica es desdoblado por la piruvato descarboxilasa en acetaldehido y CO_2 (Figura 2). El etanol entonces es producido a partir del acetaldehido por reducción con la enzima alcohol deshidrogenasa.

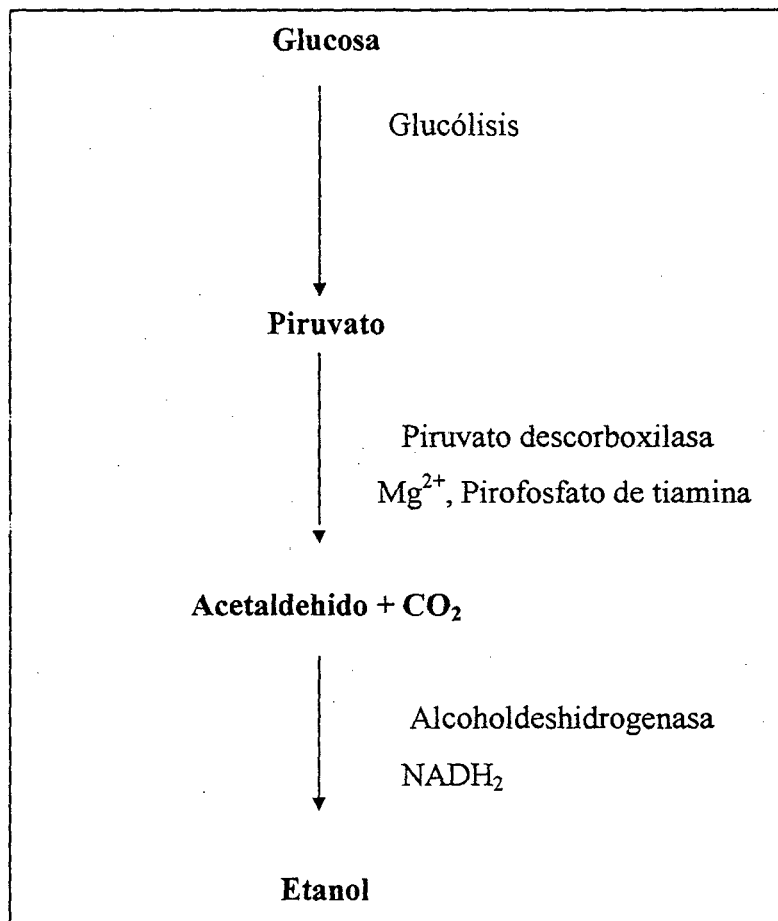


Figura 2 : Biosíntesis del etanol
Fuente : Crueger (1984)

b). Sustratos

Wiseman (1986) proporciona la Tabla 3 en donde se muestran los principales sustratos para la fermentación de bebidas alcohólicas.

c). Controles

1). Temperatura

Es una de las condiciones más importantes durante la fermentación, debe ser mantenida constante durante el proceso dentro del límite máximo permitido. Rasovsky (1973). La temperatura óptima de fermentación está entre 20 y 26 °C, la temperatura mayor a 32 °C paraliza la acción de las levaduras y a temperaturas bajas se han encontrado menos concentraciones de ésteres volátiles, acetaldehidos, entre otros. Viñas (1966).

Frazier (1993) precisa que el intervalo óptimo de crecimiento de la mayoría de las levaduras es en general de 25 a 30 °C y una temperatura máxima en torno a los 35 a 47 °C, y algunas especies pueden crecer a temperaturas de 0° C o inferiores.

Negre (1980) por su parte menciona que la temperatura no debe pasar de 35 °C, ya que por encima de esta temperatura además de hacerse perezosas las levaduras se permite el desarrollo de fermentos infecciosos.

Las células de levadura *Sacharomyces cerevisiae* son incapaces de sobrevivir a la temperatura de 54,4° C, lo que se conoce como el punto de muerte térmica. Charley (1986).

2). pH

La fermentación se debe realizar en medio ácido, a valores de pH de 4.5 a 5 para permitir un buen rendimiento de alcohol. Rasovsky (1986).

Tabla 3: Sustratos que se emplean en la fermentación alcohólica para la producción de bebidas. (Cedido por J.E. Smith, Department of Mycobiology, University of Surrey).

Sustratos	Bebida	País	Agentes sacarificantes
Amiláceos			
(Cebada y otros cereales)	Ale (una clase de cerveza)	Bélgica Alemania occid. Canadá	Malta de cebada
	Lager (otra cerveza)	Australia Todo el mundo occidental	Malta de cebada
Cebada, centeno	Kvass	USSR	Malta de cebada y Centeno
Mijo	Busa Braga Thumba	USSR (Crimea) Rumania India	
Arroz	Arak ¹ Busa Pachway Sake Sonti	India, S.E. de Asia Turquestán, USSR India Japón India	<i>Mucor sp.</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Rhizopus sp.</i>
Arroz rojo	Anchu Hung-chu	Taiwan China	
Sorgo	Dolo	Malawi	Malta de sorgo <i>Aspergillus sp.</i>
	Merissa	Sudán	<i>Mucor roxii</i> <i>Bacillus sp.</i>
Boniato	Aguamori	Japón	
Azucarados			
<i>Agave spp.</i> (Zumo)	Pulque	Méjico	
Manzana (zumo)	Sidra	Gran Bretaña, Francia Norteamérica	
Uvas (zumo)	Vino	Países hemisferios Norte y Sur	(No lo requiere)
Miel	Hidromiel	G. Bretaña	
Pera (zumo)	Sidra de peras	Gr Bretaña, Francia	
Palmira (Zumo)	"Toddy" ³	India, S.E. de Asia	
Zumo de la flor de la Palma	Tuwak	Indonesia	

¹ Con melazas, zumo de la palma, generalmente destilada.

² Arroz fermentado con el hongo pigmentado *Monascus purpureus*.

³ También destilado como el Arak.

Sin embargo los valores de pH comprendidos entre 3 y 6 son la mayoría de veces favorables al crecimiento y actividad fermentaria. Ward (1991)

Frazier (1993) precisa que una reacción ácida con un pH cercano a 4 - 4,5 estimula el crecimiento de la gran parte de las levaduras, mientras que en medios básicos no crecen bien a no ser que se hayan adaptado a los mismos.

Jorgensen (1978) indica que al transcurrir la fermentación el pH va descendiendo, produciéndose una cantidad considerable de hidrogeniones.

3). Oxígeno

Es muy importante y su uso deber ser correctamente dosificado por que él favorece o perjudica la fermentación. Ya que un exceso o insuficiencia tiene efectos negativos sobre la fermentación. Rasovsky (1973)

En presencia de oxígeno el crecimiento de las levaduras es mucho más riguroso que en condiciones anaeróbicas. Amerine (1990).

Las levaduras crecen mejor en aerobiosis, aunque las especies de tipo fermentativo son capaces de crecer aunque lentamente, en anaerobiosis. Frazier (1993).

Vogt (1982) indica que la fermentación en su primera etapa es un proceso aeróbico en el cual se reproducen las células de levadura, degradándose los azúcares en agua, CO₂ y energía., produciéndose enseguida la fermentación anaeróbica.

E. EL MASATO

El I.N.N.(1986) describe la elaboración del masato de la siguiente manera: “ Las yucas se pelan y se ponen a cocer, luego se muelen, o se mastican hasta formar una

pasta, diluyéndola en el agua de cocción; si no es masticada se le agrega azúcar. Esta preparación se deposita en tinajas, varios días, para que fermente”.

El masato es una bebida tradicional de la selva peruana producida a partir de la fermentación de la yuca cocida, no se conoce con exactitud su origen pero su consumo está ampliamente difundido entre las tribus de la selva peruana, quienes lo utilizan como un medio de acercamiento en sus fiestas tradicionales, y es lo primero que ofrecen a los visitantes de sus poblados.

El masato es producido en forma tradicional de la siguiente manera: Las raíces de yuca son peladas y luego lavadas, posteriormente se cortan en trozos los que se cocinan, luego de cocida la yuca es enfriada y se realiza un proceso de masticado de la yuca, posteriormente la yuca masticada es dejada en fermentación por espacio de una semana. Después de este tiempo el masato está listo para ser consumido, ya sea diluido con agua o no.

La inclusión del proceso de masticado no ha permitido la difusión de su consumo, pero sin embargo es posible encontrarlo en cualquier ciudad de la selva, en donde los encargados de su elaboración, mencionan que no realizan el masticado de la yuca y que en vez de realizar esto utilizan azúcar o “Chancaca” para la fermentación de la yuca. También mencionan que la adición de azúcar y/o aguardiente acelera el proceso de fermentación del masato.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LUGAR DE EJECUCIÓN:

El presente trabajo se realizó en la Planta Piloto E-5 y los laboratorios de Nutrición, Control de Alimentos, Control de Calidad y Microbiología, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

B. MATERIALES

1. Materia prima

Para los experimentos preliminares y definitivos se utilizó raíces de Yuca (Manihot esculenta Grantz) variedad “morada”, provenientes del caserío de Santa Rosa ubicado a 10 Km de la carretera Tingo María-Pucallpa.

2. Insumos

- Levadura *Sacharomyces cerevisiae* para panificación, marca Fleischman.
- Enzima: Amilasa bacterial, marca CANHALPHA, importada por BIOCON DEL PERÚ S.A.

3. Materiales y equipos

a). Materiales

- Baldes de plástico de 04 galones de capacidad.
- Cuchillos de acero inoxidable.
- Ollas de aluminio
- Tinajas de arcilla

b). Material de vidrio y otros

- Botellas transparentes de 300 ml de capacidad.
- Probetas
- Placas petri
- Mechero Bunsen
- Buretas graduadas
- Matraces erlenmeyer

- Embudos
- Botellas transparentes de 235 ml de capacidad.
- Termómetros de fabricación húngara graduada en décimas (°C).
- Picnómetro de 50 ml de detenimiento capilar.
- Coronas para botellas.

c). Reactivos

- Hidróxido de Na 01 N.
- Fenolftaleína al 1 %.
- 2,4 dinitrofenol
- Sal de Rochelle
- Glucosa.
- Ácido sulfúrico concentrado

d). Equipos

- Autoclave
- Balanza digital
- Balanza analítica de 100 g de capacidad, marca ETZERGON - Hungría.
- Refractómetro manual de 0 - 50 % de sacarosa, tipo ABBE - Hungría.
- Espectrofotometro, marca BAUSCH AND LOMB, modelo Spectronic 2100 - USA.
- Pulpeadora
- Equipo para determinación de fibra, marca LABCONCO.
- Equipo para determinación de grasa, marca GCA- LABCONCO.
- Mufla THERMOLYNE 1500 FURNACE

C. MÉTODOS

1. Métodos de Análisis

- Humedad.
AOAC (1995), N° 925.10
- Grasa.

AOAC (1995), N° 935.60

- Proteínas. Se obtiene por el método de Microkjeldahl, usando como factor 6,25.

Según AOAC (1995), N° 920.87

- Fibras.

AOAC (1995), N° 920.86

- Cenizas.

Por incineración según AOAC (1995), N° 923.03

- Carbohidratos.

El contenido de carbohidratos se obtuvo “por diferencia”, sustrayendo de 100 la suma de agua, proteínas, grasas y cenizas.

- Acidez titulable

Se determinó por titulación con Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.1 N y expresado mg de ácido láctico por ml

- Determinación del pH

Para su determinación se utilizó un potenciómetro de lectura directa, que expresa las unidades del pH, previo acondicionamiento de la muestra.

- Azúcares Reductores:

Se realizó por Espectrofotometría, utilizando el reactivo de Ross, Método descrito por Peláez (1988).

- Azúcares Totales

Se realizó por Espectrofotometría, utilizando el reactivo de Ross, método descrito por Peláez (1988).

- Almidón

Se realizó por Espectrofotometría, utilizando el reactivo de Ross, método descrito por Peláez (1988).

- Sólidos solubles

Utilizando un refractómetro manual, expresado en °Brix.

- Grado Alcohólico

Siguiendo el método por Picnometría.

- Análisis Microbiológico

- NMCP (Determinando presencia o ausencia de coliformes totales y fecales, método Número Más Probable).
- NMAV (Determinando presencia o ausencia de aerobios viables, método Recuento En Placas REP).
- NH (Determinando presencia o ausencia de Hongos, método REP).

2. MÉTODOS DE PROCESO

La ejecución del presente trabajo fue realizada en dos fases bien definidas:

- Sacarificación de la Yuca cocida.
- Fermentación del masato

a). Sacarificación de la yuca cocida

En esta etapa se determinaron los parámetros óptimos para la utilización de la alfa-amilasa bacterial en la sacarificación de la yuca cocida. Se realizó en dos etapas:

- 1). Pruebas preliminares
- 2). Pruebas Finales.

(1). Pruebas Preliminares:

Debido a que no se conocían los parámetros recomendados para la utilización de la alfa amilasa bacterial (CANALPHA) en la fermentación de la yuca cocida se realizaron las pruebas preliminares utilizando lo recomendado por BIOCON (1988) para la industria cervecera, empleando intervalos más amplios que los recomendados, los cuales se ajustaron en las pruebas finales.

Para esta etapa utilizó como materia prima la yuca variedad “morada”, que es la que más se usa en la elaboración del masato según los especialistas, para lo cual seguimos el diagrama de flujo mostrado en la figura 3, cuya descripción detallamos:

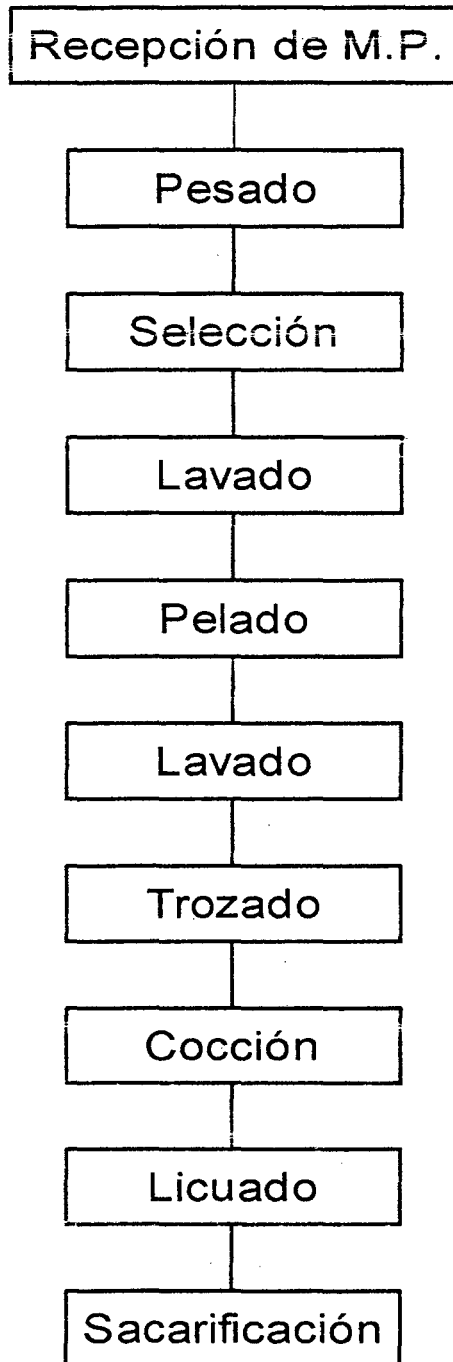


Figura 3.: Diagrama de flujo planteado para la sacarificación de la yuca.

Pesado

Se efectuó el pesado con la finalidad de realizar el balance de materia así como el análisis futuro de costos. Esta operación se realizó después de cada proceso.

Selección

La selección tuvo la finalidad de eliminar aquellas raíces de yuca que se encontraban deterioradas ya sea por golpes, infestaciones, y otros.

Se seleccionó aquellas raíces que tuvieron un diámetro de 5 a 8 cm y un largo de 20 a 30 cm.

Lavado

Se efectuó un lavado por aspersión con agua potable a temperatura ambiental con la finalidad de eliminar residuos de tierra, impurezas, así como disminuir la carga microbiana, etc.

Pelado

Se realizó un pelado manual con cuchillos de acero inoxidable con la finalidad de eliminar la corteza de las raíces, así como también eliminar las puntas de las mismas.

Lavado

Las raíces peladas se lavaron con agua potable a temperatura ambiental con la finalidad de eliminar los residuos de tierra e impurezas adheridas a las raíces por efecto de la operación anterior.

Cortado

Se procedió a cortar las raíces en trozos cúbicos de aproximadamente 3 - 4 cm. de lado, para lograr una cocción rápida y facilitar la licuación.

Cocción

Se sometieron las raíces de yuca a ebullición por 30 minutos a presión atmosférica.

Licuada

Se procedió al licuado de las raíces en una licuadora hasta obtener un puré uniforme con adición de agua en relación 1:1 (peso:volumen).

Sacarificación

Para esta operación se tuvieron en cuenta los parámetros utilizados en la industria cervecera proporcionados por la empresa BIOCON DEL PERÚ S.A., para la enzima CANALPHA : Temperatura de 55 - 85° C, pH 4,7 – 6,5 y concentración de enzima de 0,016 – 0,024%.

Para lo cual se realizó el diseño experimental mostrado en la figura 4, donde se evaluaron los siguientes parámetros:

(a). Determinación del pH de trabajo:

El puré obtenido en la operación de licuado se estandarizó a diferentes valores de pH (4, 5, 6, 7 y 8), utilizando ácido cítrico para bajar el pH e hidróxido de sodio para subirlo. A continuación se colocó 100 g del puré de cada pH en vasos de precipitado y se calentó en baño maría a temperatura de 60° C, una vez que el puré alcanzó la temperatura del baño maría se adicionó la enzima en un porcentaje de 0,02% y se agitó con una bagueta por espacio de 30 minutos, posteriormente se calentaron los vasos a 100° C, con la finalidad de inactivar la enzima.

Luego se tomaron las muestras para la determinación de azúcares reductores según el método descrito por Pelaez (1988).

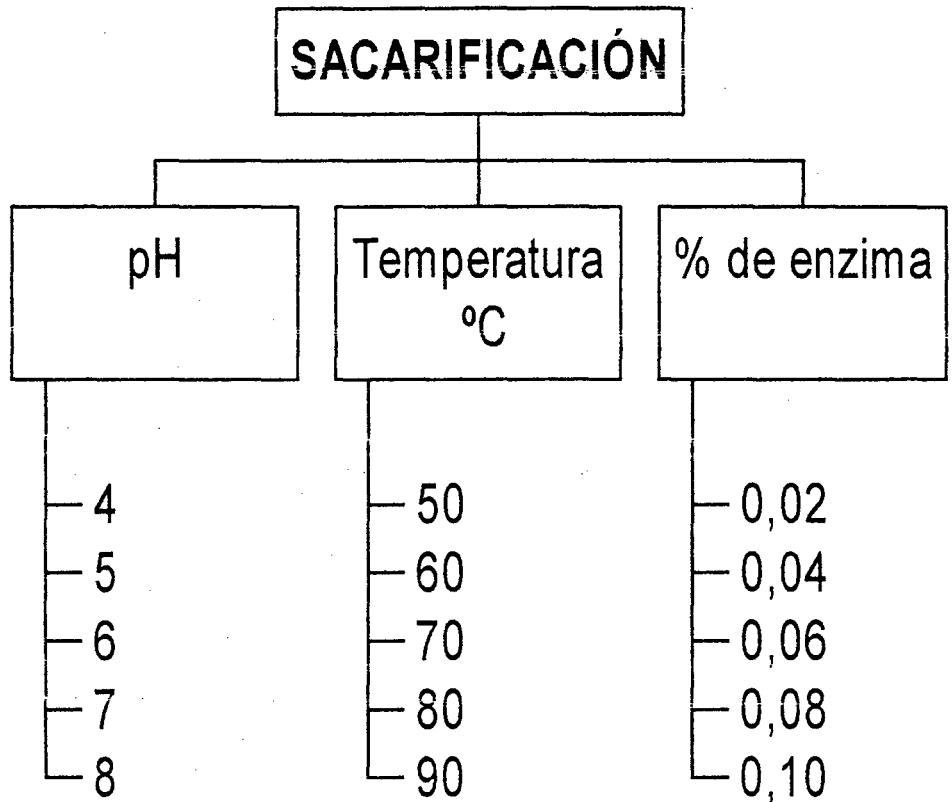


Figura 4: Diseño experimental para las pruebas preliminares de sacarificación.

(b). Determinación de la temperatura de trabajo:

Se colocaron 100 g de la masa obtenida en la operación de licuado, en vasos de precipitado de 150 ml de capacidad, luego se llevaron a baño maría a diferentes valores de temperatura (50, 60, 70, 80, y 90° C), una vez alcanzada la temperatura del baño maría, se adicionó la enzima en un porcentaje de 0,02 % previamente diluida con un poco de agua, luego se agitó el puré por espacio de 30 minutos, y se calentó el vaso a 100° C por 1 minuto para inactivar la enzima.

Posteriormente se tomaron muestras para el análisis de azúcares reductores.

(c). Determinación de Concentración de enzima:

Se colocaron 100 gr de puré de yuca en vasos de precipitado de 150 ml de capacidad, se llevó a baño maría a temperatura de 60° C, una vez alcanzada la temperatura del baño maría se adicionó la enzima en diferentes porcentajes (0,02; 0,03; 0,04; 0,05 y 0,06 %), se mantuvo agitando el puré por espacio de 30 minutos, luego se calentaron las muestras a 100°C por 1 min. para inactivar la enzima.

Posteriormente se tomaron muestras para el análisis de azúcares reductores.

(2). Pruebas finales de sacarificación

Con los valores encontrados en las pruebas preliminares se realizaron las pruebas finales, en las que se evaluaron los datos más aproximados a los ya encontrados.

En esta etapa se determinaron los parámetros óptimos para la sacarificación de la yuca cocida (pH, Tiempo, Temperatura y Concentración(%) de enzima, dichos parámetros se muestran en la figura 5.

b). Fermentación del masato

En esta etapa se determinaron los parámetros tecnológicos para la elaboración del masato, así también se determinaron los porcentajes de utilización de levadura durante el proceso de fermentación.

(1). Pruebas preliminares

Para las pruebas preliminares de la fermentación se utilizó el diagrama de flujo mostrado en la Figura 6, a nivel de laboratorio, cuya descripción detallamos :

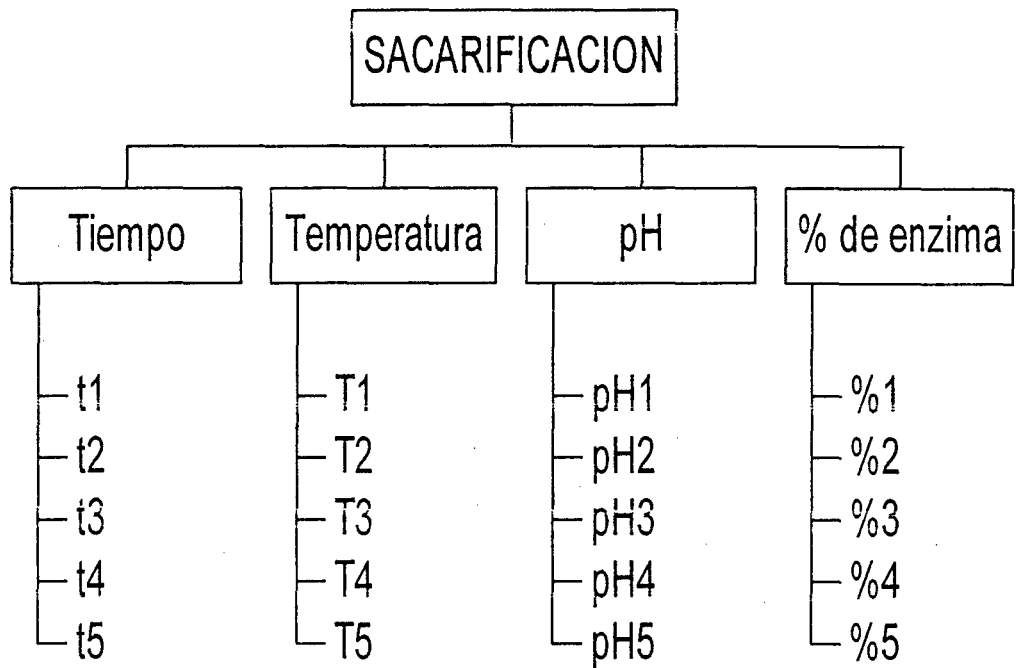


Figura 5: Diseño experimental para las prueba final de sacarificación.

Pesado.

Se realizó el pesado con la finalidad de evaluar los rendimientos de operación y de proceso, así como para realizar el balance de materia.

Lavado

Se realizó esta operación con agua corriente para eliminar las impurezas y residuos de tierra.

Pelado

Se realizó un pelado manual de las yucas con cuchillos de acero inoxidable.

Cortado

Se realizó un cortado manual de las raíces de yuca con cuchillos de acero inoxidable, en trozos de aproximadamente 3 - 4 cm.

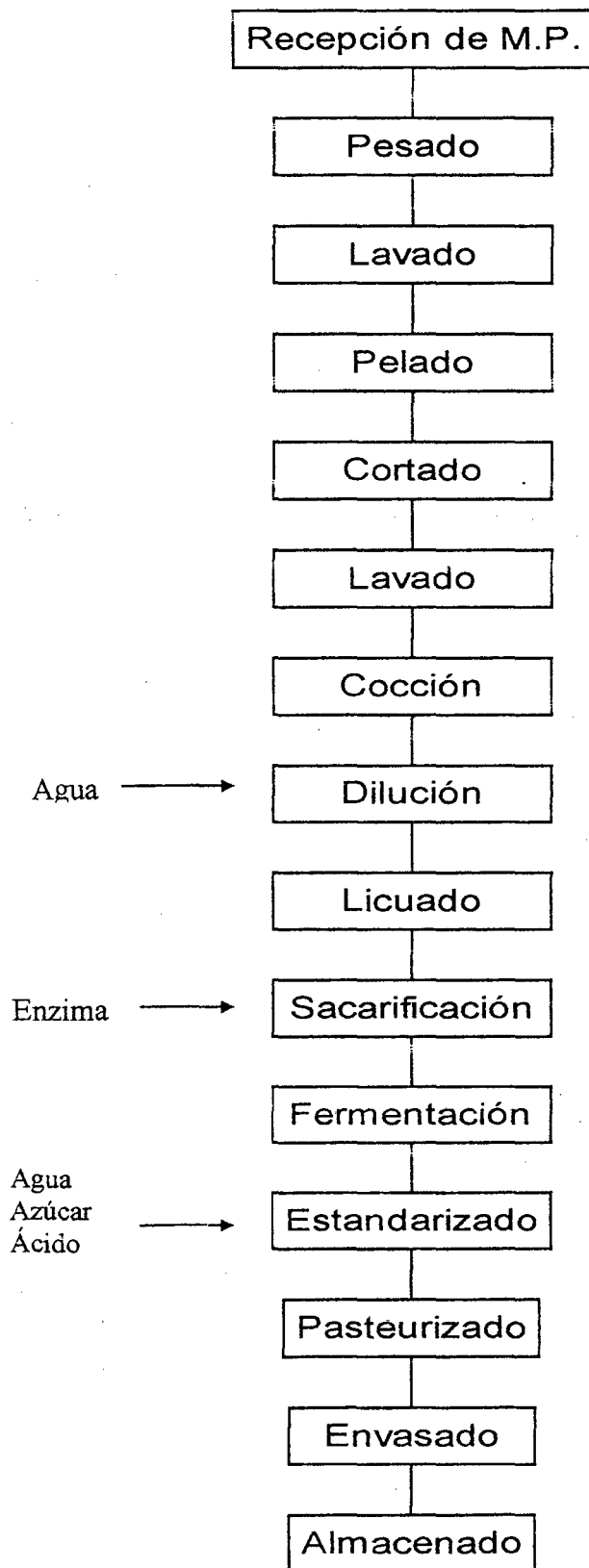


Figura 6 : Diagrama de flujo para la elaboración del masato en las pruebas preliminares.

Lavado

Se realizó el lavado por inmersión en agua a temperatura ambiental, frotando los trozos con las manos.

Cocción

Los trozos de yuca se colocaron en una olla y se agregó agua hasta cubrirlos totalmente. En esta etapa se evaluaron tres tiempos de cocción: 10, 20 y 30 min. Contados a partir de la ebullición del agua, con la finalidad de determinar el tiempo de cocción óptimo para la cocción de la yuca. El cual fue evaluado por inspección visual y por degustación.

Dilución

Se realizó una dilución 1:1, en relación peso de yuca/volumen de agua. Con la finalidad de facilitar la eficiencia del licuado.

Licuado

Esta operación tuvo la finalidad de obtener un puré para realizar la operación siguiente.

Sacarificación

Con los datos obtenidos en los estudios de la sacarificación se realizó esta operación, tomando en cuenta los parámetros óptimos de Tiempo, Temperatura, pH y Concentración de enzima(%).

Enfriado

Se realiza esta operación debido a que la masa que sale del proceso de sacarificación tiene una disminución lenta de temperatura, permitiendo el crecimiento de microorganismos no deseables, por lo que la temperatura se disminuye hasta los 30 °C.

Fermentación

Se evaluaron dos tipos de fermentación : una fermentación espontánea al medio ambiente y una fermentación controlada al medio ambiente utilizando levadura de panificación evaluándose tres 3 porcentajes de levadura fresca (1, 2 y 3 %); por espacio de 10 días.

Para la determinación del porcentaje de levadura óptimo se utilizó la prueba de escala no estructurada realizando el análisis de varianza y la prueba de Tukey.

Estandarización

Para la estandarización se evaluaron tres factores utilizando análisis sensorial mediante la prueba de ordenamiento.

- **pH** : Se evaluaron tres valores de pH : 3,5; 3,8 y 4,5.
Donde 3.8 corresponde al pH del masato.
- **Dilución** : Se evaluaron tres diluciones; 1/1, 1/2 y 1/3. En relación Peso/Volumen.
- **°Brix** : Se evaluaron tres concentraciones de azúcar; 12°, 13° y 14° Brix.

Pasteurizado

Se evaluaron tres tiempos de pasteurización: 10, 15 y 20 min.; con una Temperatura de 75 °C. Posteriormente se evaluó la eficiencia de la operación mediante un análisis microbiológico. Utilizando las siguientes pruebas: Numeración de coliformes totales y fecales (NMCP), Numeración de Aerobios viables (NMAV) y Número de hongos (NH). Indicando presencia o ausencia de los microorganismos.

Envasado

Se envasaron en botellas de vidrio y se taponaron con coronas para gaseosas.

Almacenado

Se almacenó a temperatura ambiente para su posterior evaluación.

(2). Pruebas Finales

Las pruebas finales se realizaron de acuerdo con los resultados de las pruebas preliminares a nivel de planta piloto, siguiendo el diagrama de flujo de la Figura 7. En esta etapa realizamos lo siguiente:

- Diagrama de flujo definitivo:

El diagrama de flujo definitivo se muestra en la figura 7, cuyas operaciones detallamos a continuación:

Pesado

Se realizó un pesado con la finalidad de realizar el balance de materia, lo que posteriormente permitirá evaluar costos.

Lavado

Se realizó el lavado de las raíces de yuca utilizando escobillas con la finalidad de eliminar restos de tierra adheridas a las mismas.

Pelado

Se pelaron las raíces de yuca en forma manual con cuchillos de acero inoxidable.

Cortado

Se cortaron las raíces de yuca en forma manual con cuchillos de acero inoxidable en trozos de 3 - 4 cm. aproximadamente.

Lavado

Se lavaron los trozos de yuca por inmersión en agua a temperatura ambiental frotándolos con la mano.

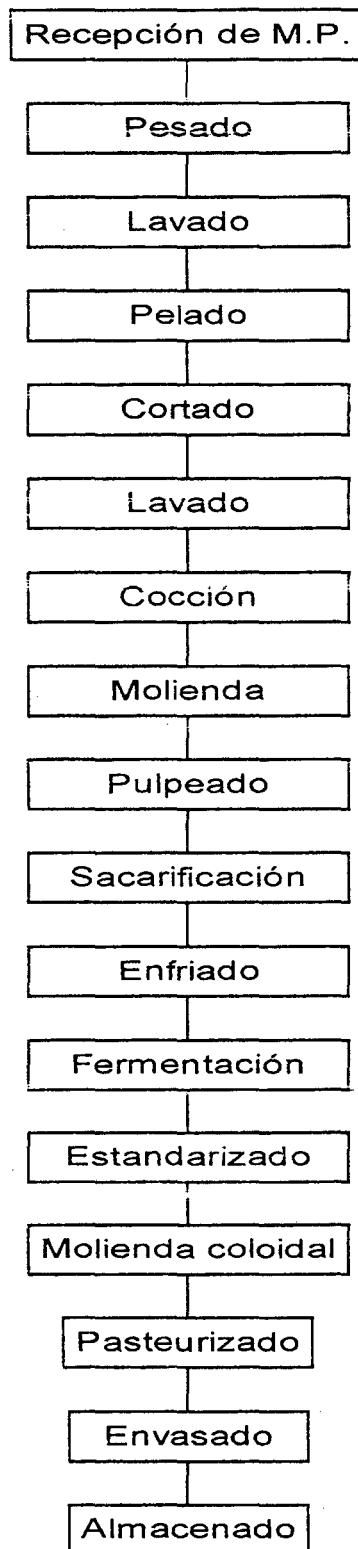


Figura 7 : Diagrama de flujo de para la elaboración del masato en las pruebas finales.

Cocción

Se realizó la cocción a ebullición y a presión atmosférica por 30 minutos.

Molienda

Se realizó una molienda en el molino universal de la planta piloto.

Pulpeado

La masa obtenida en el proceso anterior se mezcló con agua en relación 1:1 (peso de masa : volumen de agua), aprovechando el agua de la cocción. Para posteriormente se realizar el pulpeado con malla gruesa y semigruesa.

Sacarificación

Se emplearon las siguientes condiciones de sacarificación:

Porcentaje de Enzima	: 0,02%
Temperatura	: 65° C.
pH	: 5,5
Tiempo	: 30 min.

Enfriado

Se realizó el enfriado debido a que la disminución de la temperatura en la masa es lenta lo que ocasiona la proliferación de otro tipo de microorganismos permitiendo la formación olores desagradables. Se enfrió hasta una temperatura de 30° C aproximadamente.

Fermentación

La fermentación se realizó a temperatura ambiente en tinajas de arcilla cubriéndolas con una tela fina para evitar la contaminación por insectos. Por espacio de 5 días.

Estandarizado

Para el estandarizado se tomaron en cuenta los resultados de las pruebas preliminares cuyos parámetros fueron:

Grados Brix : 14°

pH : 3,8

Dilución : 1:2

Molienda Coloidal

Se realizó el refinado o molienda coloidal con la finalidad de reducir al máximo las partículas y que la textura sea uniforme. Se utilizó una luz de 0,30 mm.

Pasteurizado

De acuerdo con las pruebas preliminares se realizó el pasteurizado a 75° C por 15 minutos.

Envasado

Se envasó en botellas de vidrio transparente y luego cerrados con coronas de hojalata.

Almacenado

Se almacenaron las botellas a temperatura ambiente

- Balance de Materia

Se realizó el balance de materia, sobre la base de 100 kg de yuca.

- Evaluación de los cambios durante la fermentación.

1. Azúcares reductores
2. Etanol
3. pH
4. Efectos del pH inicial sobre la producción de azúcares reductores

5. Efectos del pH inicial sobre la producción de acidez titulable.

c). Comparación entre las bebidas elaboradas

Para las comparaciones entre el “masato” tradicional se solicitó a una persona especialista que elaborara una muestra de masato en forma tradicional utilizando el proceso de masticado, la cual fue comparada con el masato elaborado con levaduras y elaborado con alfa-amilasa bacterial mediante la prueba de ordenamiento.

d). Almacenamiento

El almacenamiento fue de 90 días, se evaluaron cada 15 días los siguientes parámetros: Azúcares reductores y Acidez titulable.

e). Caracterización del masato

En esta etapa se realizó el Análisis Proximal, Análisis Físico-químico y Microbiológico del masato.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. DE LA MATERIA PRIMA

1. Características Macroscópicas

En el cuadro 3 se muestran los resultados de las características macroscópicas de la yuca, en él podemos apreciar el color de la cáscara (morada), lo que permitirá su fácil identificación frente a las demás variedades que se expenden en el mercado. Estos valores concuerdan con los presentados por Montaldo(1979).

CUADRO 3 : Características macroscópicas de la materia prima.

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	
Color de corteza media	Morada
Color de pulpa	Blanca
Largo de raíces (cm)	20 - 30
Diámetro de raíces (cm)	5 - 8
Impurezas (%)	8,25
Cáscara (%)	15,40
Pulpa (%)	76,35

2. Análisis Proximal

En el cuadro 4 se presenta la composición química de la yuca variedad morada, estos valores están dentro del rango de composición química de la yuca presentada por Montaldo (1979) y Grace (1972).

CUADRO 4: Composición química de la Yuca (*Manihot esculenta* Grantz) variedad "Morada"

COMPONENTES	PORCENTAJE	
	<u>Base húmeda</u>	<u>Base seca</u>
Humedad	64,74	-----
Extracto seco	35,26	100,00
Carbohidratos totales	31,52	89,39
Fibra total	0,95	2,69
Proteína total	1,34	3,80
Ceniza	1,10	3,12
Grasa	0,35	1,00

B. SACARIFICACIÓN DE LA YUCA COCIDA

1. Pruebas Preliminares

a). Determinación de temperatura

En el Cuadro 5 se encuentran los resultados de las pruebas preliminares de la sacarificación de la yuca cocida a diferentes valores de temperatura, los cuales se presentan en la Figura 8 donde se puede observar que existe un aumento en la producción de azúcares reductores hasta los 60° C, luego disminuye hasta valores cercanos a cero, a 90° C.

Este comportamiento concuerda con las especificaciones técnicas proporcionadas por BIOCON(1988) en las que se aprecia que la actividad relativa va en aumento a medida que se aumenta la temperatura comenzando a ser asintótica la curva a partir de los 70° , además la actividad relativa se mantiene constante en un valor de 100% a 60° C, a medida que transcurre el

tiempo disminuye notablemente hasta valores cercanos al 10% a 75° C después de una hora de aplicación del producto.

Sobre la base de estas consideraciones planteamos que nuestro rango de trabajo para las pruebas finales sea de 50° C a 70° C, con intervalos de 5° C.

Cuadro 5 : Resultados de las pruebas preliminares para la determinación de la temperatura de trabajo.

Temperatura (° C)	Azúcares reductores (%)
50	3,95
60	6,34
70	4,46
80	3,26
90	0,70

b). Determinación del pH

En el Cuadro 6 se encuentran los resultados de las pruebas preliminares de la sacarificación de la yuca cocida a diferentes valores de pH, los cuales se presentan en la Figura 9 donde se puede observar que existe un incremento en la producción de azúcares reductores conforme se incrementa el pH llegando a un máximo a pH 6, para decrecer hasta pH 8.

Estos valores concuerdan con el perfil de pH presentados por BIOCON (1988), donde se aprecia que la enzima mantiene una actividad máxima entre pH 5 a 6.

A partir de estos resultados planteamos que para las pruebas finales nuestro intervalo de trabajo estará dentro del pH de 5 a 7, con intervalos de 0,5.

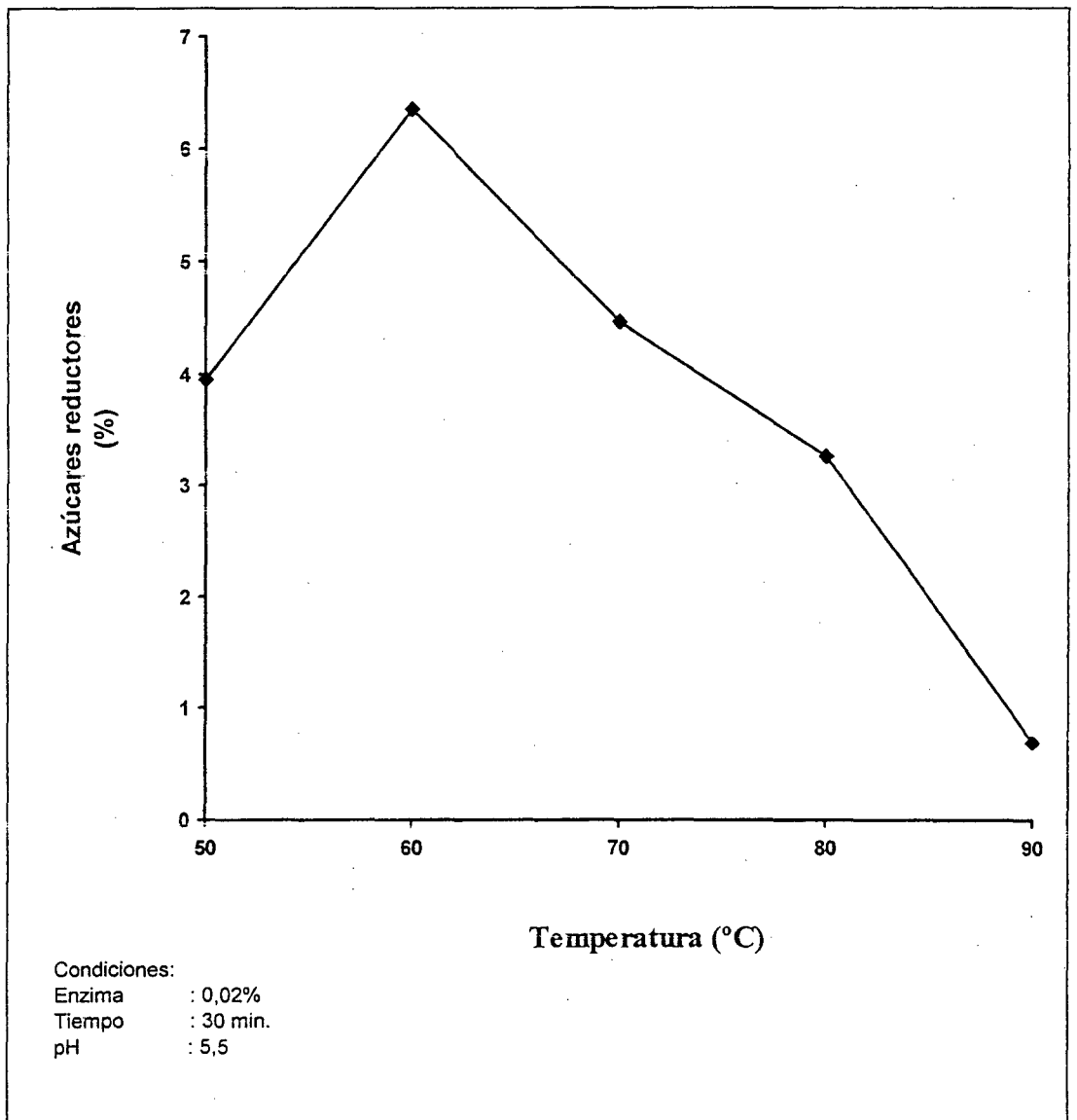


Figura 8: Resultados preliminares del proceso de sacarificación de la yuca cocida a diferentes temperaturas.

Cuadro 6: Resultados de las pruebas preliminares para la determinación del pH de trabajo.

pH	Azúcares reductores (%)
4	0,53
5	5,29
6	5,49
7	5,32
8	5,30

c). Determinación de concentración de enzima

En el Cuadro 7 se encuentran los resultados de las pruebas preliminares de la sacarificación de la yuca cocida a diferente concentración de enzima, los cuales se presentan en la Figura 10, donde se puede apreciar una curva con un crecimiento a partir de una concentración de 0,02 % hasta 0,04 % a partir del cual la curva va haciéndose asintótica, debido a la saturación por la enzima. Villavicencio(1993).

Sobre la base de estas consideraciones planteamos que nuestro intervalo de trabajo en las pruebas finales fuera de 0,01 % a 0,10 %.

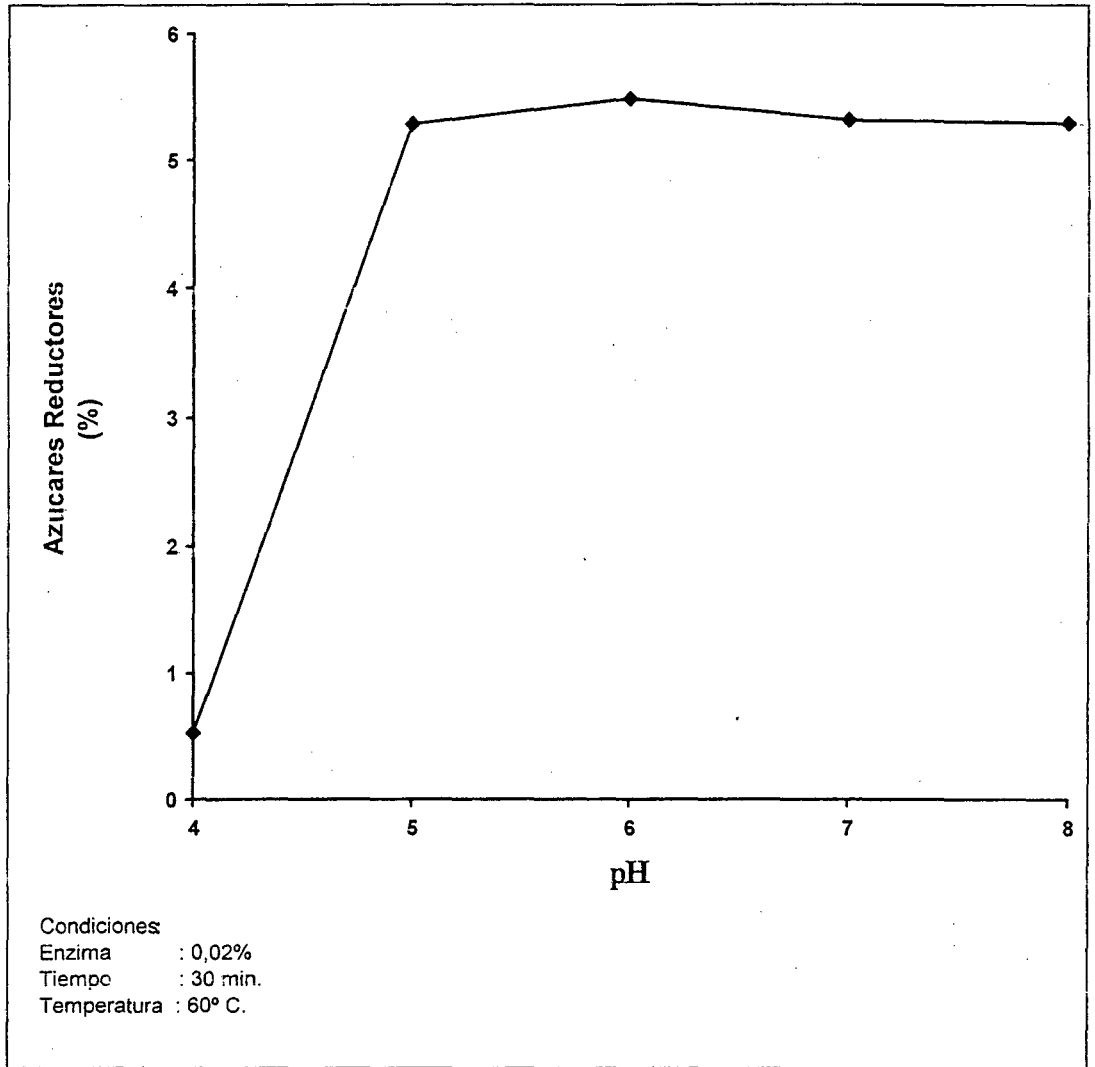


Figura 9 : Resultados preliminares de la sacarificación de la yuca cocida a diferentes valores de pH.

Cuadro 7 : Resultados de las pruebas preliminares para la determinación de la concentración de enzima.

Enzima (%)	Azúcares reductores (%)
0,02	6,00
0,03	6,51
0,04	7,54
0,05	7,71
0,06	7,88

2. Pruebas Finales

a). Determinación de tiempo y temperatura óptimos

En el Cuadro 8 se encuentran los resultados de las pruebas finales de la sacarificación de la yuca cocida a diferentes valores de temperatura, los cuales se presentan en la figura 11, en ella podemos evaluar dos parámetros específicos, la temperatura y el tiempo óptimo de proceso.

En lo que se refiere a la temperatura podemos apreciar que la temperatura óptima es de 65° C, ya que al aumentar la temperatura aumenta la producción de azúcares reductores desde los 50° C hasta los 65° C, para posteriormente notarse una disminución en la producción de azúcares reductores a los 70° C, esto concuerda con las especificaciones de BIOCON (1988), así como por lo mencionado por Braverman (1990) quien sostiene que la temperatura tiende a aumentar la velocidad de la reacción y por ende se obtiene mayor producción al aumentar la temperatura, sin embargo este mismo aumento acelerará la inactivación de la enzima debido a su desnaturalización.

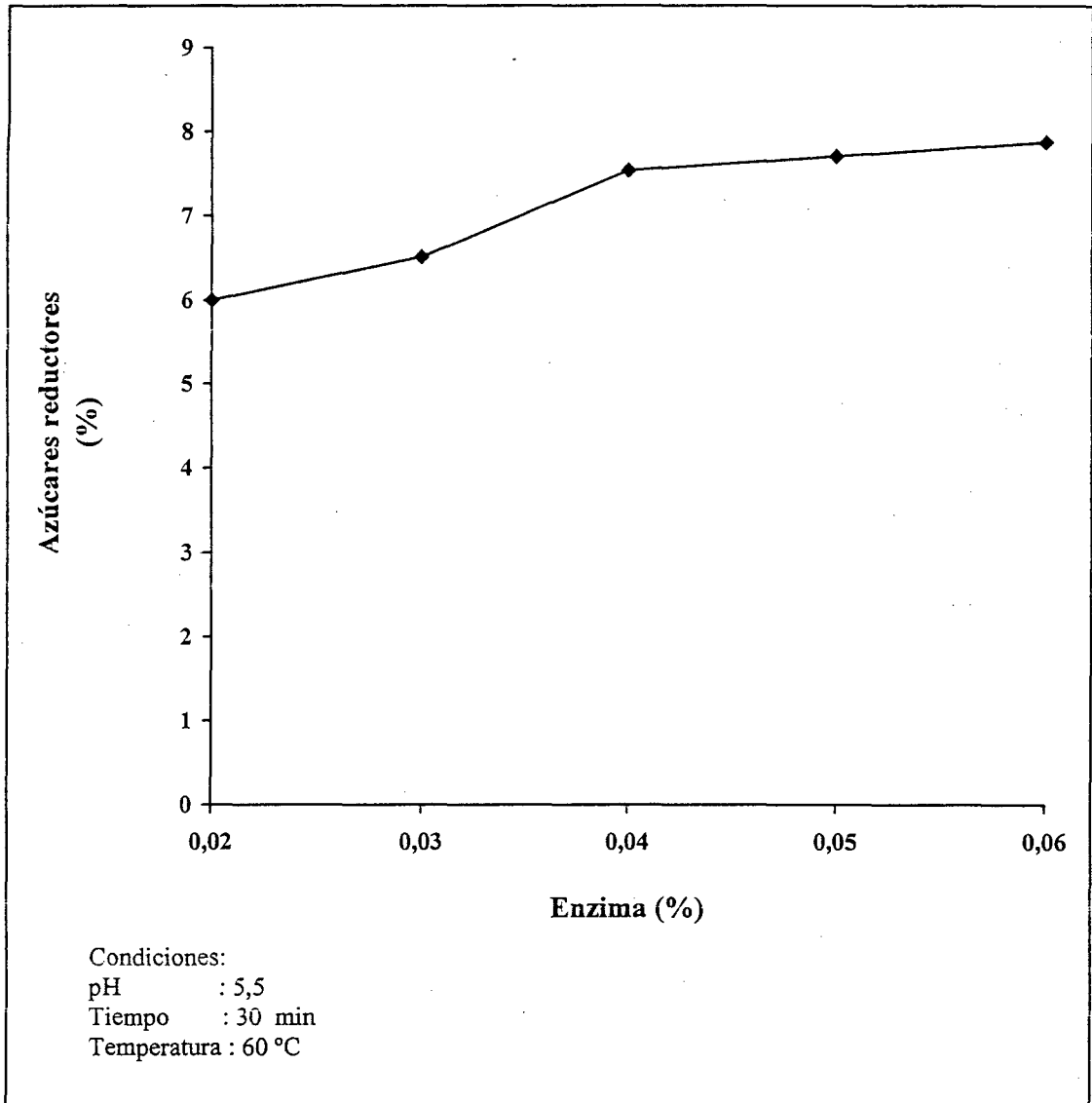


Figura 10: Resultados preliminares del proceso de sacarificación de la yuca cocida con diferentes concentraciones de amilasa

Dondero (1978) al elaborar un hidrolizado de papa usando alfa amilasa muestra en sus resultados las mismas curvas características de la Figura 11, sin embargo la temperatura óptima encontrada es de 80° C, esto debido a que la enzima utilizada era una enzima termoestable.

En lo que se refiere al tiempo óptimo podemos apreciar que existe una mayor producción de azúcares reductores durante los 30 minutos iniciales del proceso esto concuerda con los resultados de Dondero (1978) quien presenta una curva similar a la de la Figura 11, sin embargo determinó un tiempo óptimo de 2 horas, esto debido a la calidad de la enzima y a la materia prima utilizada.

Cuadro 8 : Resultados de las pruebas finales para la determinación del tiempo y temperatura óptimos. En porcentaje de azúcares reductores.

Tiempo (hr.)	TEMPERATURA (°C)			
	55°	60°	65°	70°
0,0	0,57	0,57	0,57	0,57
0,5	7,80	8,22	8,79	7,70
1,0	8,12	9,17	9,43	8,79
1,5	8,92	9,99	10,66	9,52
2,0	9,43	10,49	11,36	10,61
2,5	9,70	11,12	12,01	11,68
3,0	10,44	11,30	12,90	11,70

b). Determinación de pH óptimo

En el Cuadro 9 se encuentran los resultados de las pruebas finales de la sacarificación de la yuca cocida a diferentes valores de pH, mostrados en la Figura 12, donde se aprecia que el pH óptimo del proceso es 5,5 que corresponde al pH de la yuca cocida, que concuerda con lo especificado por BIOCON (1988), así como por lo indicado por Menzi et al (1957) citados por

Dondero (1978), quienes encontraron que la actividad de la alfa amilasa del *Bacillus subtilis* no presenta cambios significativos en un pH entre 5,0 y 7,0.

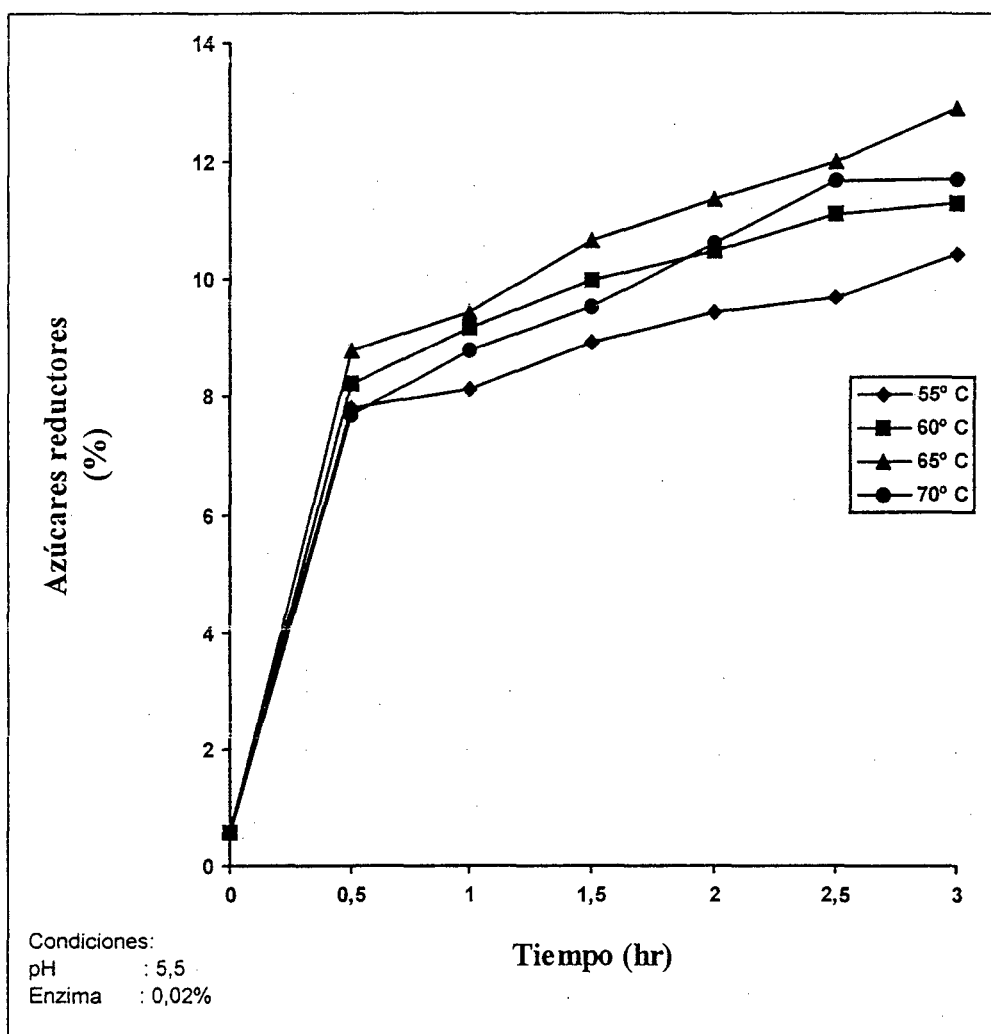


Figura 11 : Resultados de las pruebas finales de sacarificación de la yuca cocida a diferentes temperaturas.

Cuadro 9: Resultados de las pruebas finales para la determinación del pH óptimo.

PH	Azúcares reductores (%)
4,5	6,19
5,0	7,20
5,5	7,61
6,0	7,26
6,5	7,10
7,0	6,67

c). Determinación de concentración óptima de enzima

En el cuadro 10 se encuentran los resultados de las pruebas finales de la sacarificación de la yuca cocida a diferente concentración de enzima, los cuales se presentan en la Figura 13, los resultados presentados concuerdan con lo especificado por BIOCON (1988), que indica que la enzima puede ser utilizada en la industria cervecera entre rangos de 0,016 a 0,024%.

En dicha figura se puede apreciar que la producción de azúcares reductores aumenta significativamente conforme aumenta la concentración de enzima de 0,01 % a 0,02%, para luego notar que no existen diferencias significativas al aumentar la concentración por encima de este valor, por lo que determinamos que la concentración óptima es de 0,02%.

Dondero (1978) encontró que la concentración óptima de la enzima es de 0,3% para la hidrólisis de puré de papa. Según Campos (1997) esto puede deberse a las condiciones iniciales para obtener el puré, así como por la pureza y calidad de la enzima.

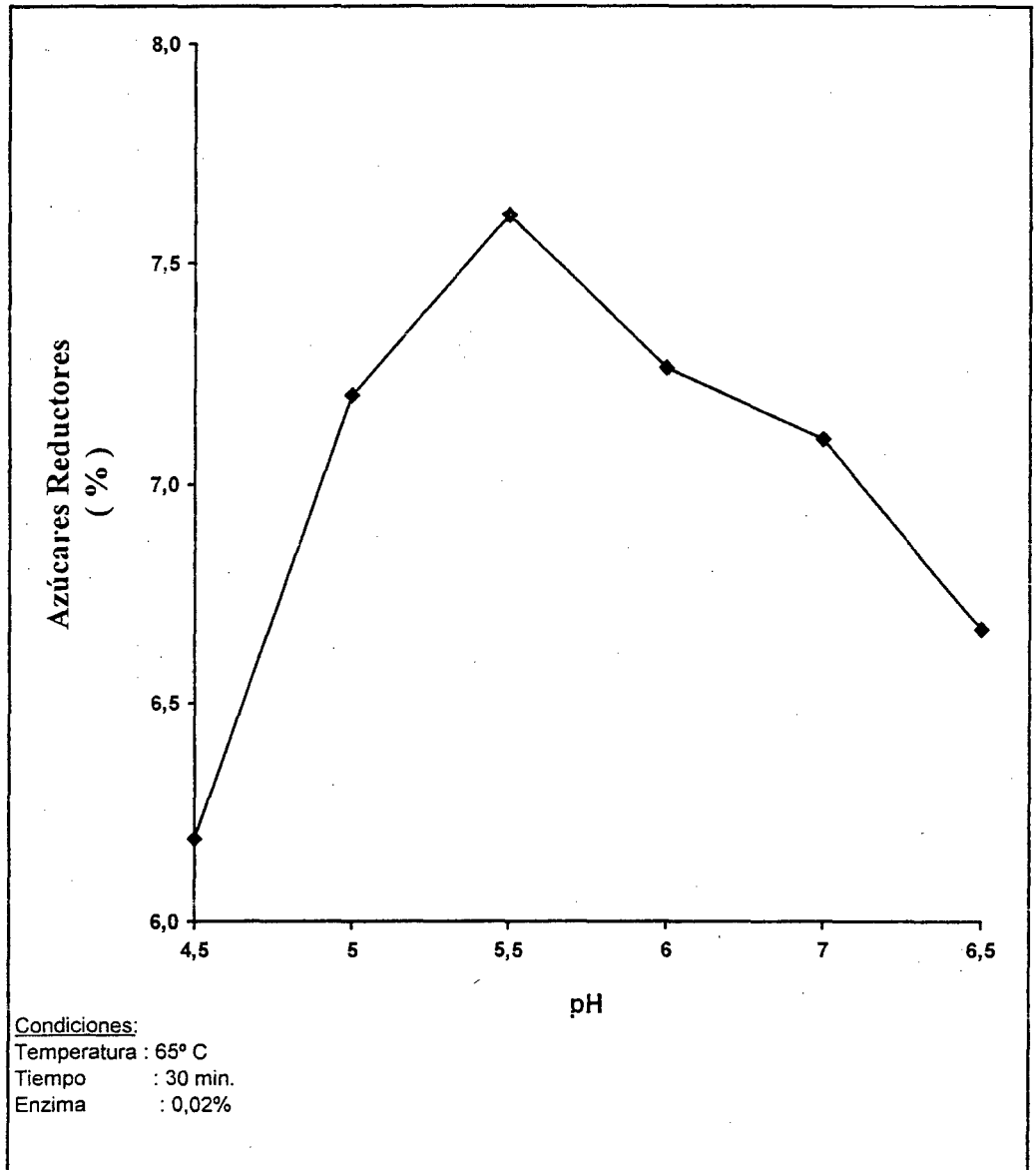


Figura 12: Resultados de las pruebas finales para la determinación del pH óptimo de sacarificación

Cuadro 10 : Resultados de las pruebas finales para la determinación del porcentaje óptimo de enzima

PORCENTAJE DE ENZIMA

Tiempo (min.)	0,01	0,02	0,03	0,04	0,06	0,08	0,10
0	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
30	5,36	6,87	7,23	7,51	7,84	8,16	8,22
40	6,06	7,05	7,41	8,01	8,08	8,22	8,37
50	6,14	7,61	7,70	8,22	8,30	8,52	8,64
60	6,29	7,80	7,91	8,45	8,79	8,75	8,92
70	6,70	7,91	8,22	9,21	9,34	8,96	9,56
80	7,05	8,01	8,33	9,29	9,43	9,38	9,79

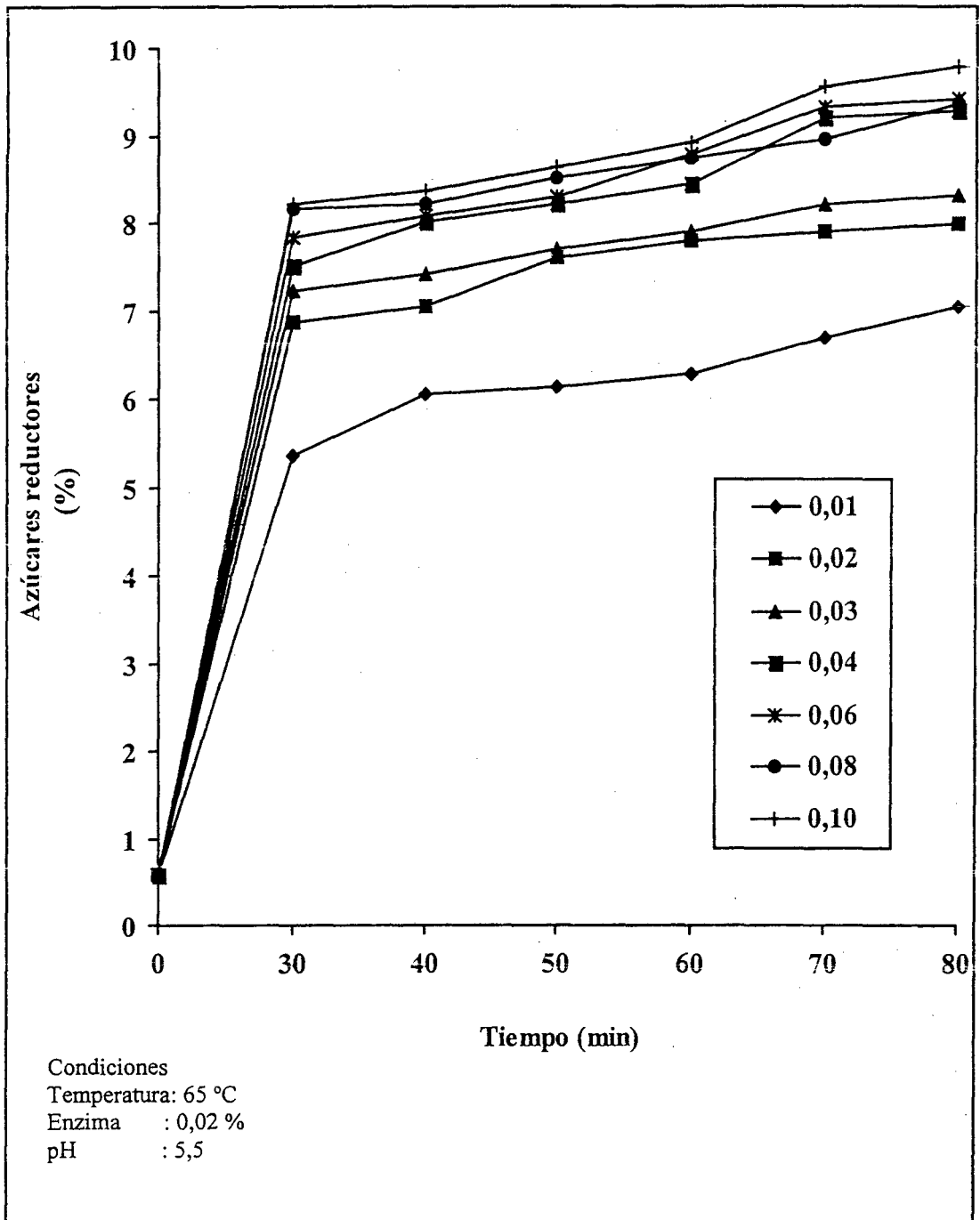


Figura 13 : Resultados de las pruebas finales del proceso de sacarificación de la yuca cocida, a diferentes concentraciones de amilasa.

D. FERMENTACIÓN DEL MASATO

1. Pruebas preliminares

a). Cocción:

En el Cuadro 11 se presentan los resultados de las pruebas de cocción, en el cual podemos apreciar que a un tiempo de 30 minutos la yuca está completamente cocida y lista para la etapa siguiente. También se tuvo en cuenta la textura de la yuca cocida, como un aspecto secundario.

CUADRO 11 : Determinación del tiempo de cocción de la yuca.

TIEMPO (min.)	CARACTERÍSTICA
10	Sabor a yuca cruda
20	Sabor a yuca cruda
30	Sabor a yuca cocida

b). Licuado:

Se evaluaron las tres diluciones (1:1, 1:2 y 1:3) para verificar la eficiencia del licuado encontrándose que con una dilución de 1:3, se podía realizar el licuado sin ningún inconveniente pero existía la dificultad de que no se formaba la masa característica recomendada en la elaboración artesanal, lo mismo sucedió con la dilución 1:2, por lo que decidimos utilizar la dilución 1:1, la cual permitía la formación de la masa característica para la elaboración del masato.

c). Fermentación:

1). Determinación del porcentaje de levadura:

En el cuadro 12 se presentan los resultados de la prueba de escala no estructurada para la determinación del porcentaje óptimo de levadura. Para determinar si existen diferencias significativas en cuanto a la aceptabilidad de las muestras realizamos el análisis de varianza (ANVA) utilizando el método descrito por Anzaldúa (1994).

Cuadro 12 Resultados de la prueba de escala no estructurada para la determinación del porcentaje óptimo de levadura.

PANELISTAS	PORCENTAJE DE LEVADURA		
	1 %	2 %	3 %
1	4,62	5,07	6,57
2	4,13	5,42	2,27
3	8,13	5,52	3,58
4	5,80	5,70	3,05
5	6,62	5,78	3,30
6	9,53	8,10	2,00
7	8,12	1,38	1,38
8	4,97	4,70	4,53
9	8,53	6,32	3,05
10	3,53	8,77	0,97
11	4,87	3,75	2,65
12	0,92	1,73	6,40
13	7,33	7,32	6,58
14	1,27	8,67	0,83
15	6,02	3,03	2,83
16	6,62	5,42	6,00
17	8,23	7,52	6,72
18	6,50	2,58	1,00

Determinación del Análisis de Varianza para levadura óptima:

En el cuadro 13 se indica que existe diferencia significativa para los tratamientos. Al realizar la prueba de Tukey, se encontró que las muestras con 1% y 2% de levadura, eran significativamente diferentes que la muestra con 3% de levadura, pero no existiendo diferencias significativas entre las dos primeras.

Por lo que concluimos que la adición de 1% y 2% de levaduras en la fermentación de la yuca cocida presentan mayor aceptabilidad que la elaborada con 3%, en tal sentido para las pruebas finales utilizaremos el 1% de levaduras.

Cuadro 13 : Análisis de Varianza para la determinación del porcentaje óptimo de Levadura.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Varianza Estimada	F
Tratamientos	2	38,81	19,40	3,90 *
Panelistas	17	89,14	5,24	1,05
Residual	34	169,11	4,97	
Total	53	297,06		

d). Estandarización

(1). Sin Levadura

Dilución

En el cuadro 14 se presentan los resultados de la prueba de ordenamiento con respecto a la dilución, extraídos del Anexo 8. En el Anexo 7, encontramos que para 18 panelistas y 3 tratamientos la suma de grados para que no existan diferencias significativas debe estar dentro de los siguientes rangos:

Rangos : 29 - 43
30 - 42

Como se puede apreciar la dilución 1:1 y la dilución 1:3 no muestran diferencias significativas entre ellas por encontrarse dentro de los rangos. Sin embargo la dilución 1:2 se encuentra fuera de este rango, pero como se solicitó que se evaluara de mayor a menor aceptabilidad concluimos que ésta es la dilución óptima.

Cuadro 14: Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de la dilución óptima en la estandarización del masato.

	1:1	1:2	1:3
SUMA DE GRADOS (*)	38	28,33	41,67

(*) Resultados de 18 panelistas

pH

En el Cuadro 15 se presentan los resultados de las pruebas de ordenamiento para la determinación del pH óptimo en la estandarización del masato, extraídos del Anexo 9. En el Anexo 7 podemos ver que para 13 panelistas y 3 tratamientos la suma de grados debe estar dentro de los siguientes rangos:

Rangos : 20 - 32
21 - 31

Como podemos apreciar los tres tratamientos no presentan diferencias significativas entre ellos, por encontrarse dentro de los rangos de no significancia. Sobre la base de estos resultados determinamos que el pH óptimo es el de 3,8, por cuanto este valor corresponde al pH del masato, sin necesidad de agregarle ningún aditivo para disminuir o aumentar el pH.

Cuadro 15 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación del pH óptimo en la estandarización del masato.

	3,5	3,8	4,5
SUMA DE GRADOS ^(*)	25,00	25,67	27,33

^(*) Resultados de 13 panelistas

Grados Brix

En el Cuadro 16 se presentan los resultados de la prueba de ordenamiento para la determinación de los grados Brix óptimos para la estandarización del masato, extraídos del Anexo 10. En el Anexo 7 se encuentra que para 16 panelistas y 3 tratamientos la suma de grados debe estar dentro de los siguientes rangos para que no existan diferencias significativas.

Rangos : 25 - 39
27 - 37

Como se puede apreciar el 14° Brix es el óptimo, ya que este valor se encuentra por debajo de los rangos y además se solicitó que se ordenara de mayor a menor preferencia.

(2). Con Levadura

Dilución

En el Cuadro 17 se presentan los resultados de la prueba de ordenamiento para obtener la dilución óptima en la fermentación con levaduras. Extraídos del Anexo 11. En el Anexo 7 se ubica que para 18 panelistas y 3 tratamientos los rangos son los siguientes:

Rangos : 29 - 43
30 - 42

Nuestros resultados demuestran que la dilución óptima es 1:2, ya que esta dilución presenta una suma de grados que se encuentra por debajo de los rangos establecidos para que no existan diferencias significativas y además se solicitó que se evaluara de mayor a menor aceptabilidad.

Cuadro 16 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de los Grados Brix óptimos en la estandarización del masato.

	12°	13°	14°
SUMA DE GRADOS ^(*)	39,33	32	25,00

^(*) Resultados de 16 panelistas

Cuadro 17 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de la dilución óptima en la estandarización de la bebida fermentada por levaduras.

	1:1	1:2	1:3
SUMA DE GRADOS ^(*)	48	23,33	36,67

^(*) Resultados de 18 panelistas

pH

En el cuadro 18 se presentan los resultados de la prueba de ordenamiento para la determinación del pH óptimo de la bebida fermentada con levaduras, extraídos del Anexo 12. En el Anexo 7 podemos encontrar los rangos para 13 panelistas y 3 tratamientos, encontrándose los siguientes rangos:

Rangos : 20 - 32
: 21 - 31

De acuerdo con esto podemos decidir que el pH óptimo es de 3.8 ya que este valor presenta diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos y además como se encuentra por debajo de los rangos de la tabla quiere decir que es el de mejor preferencia ya que se solicitó que se colocara en orden de mayor a menor aceptabilidad.

Cuadro 18: Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación del pH óptimo en la estandarización de la bebida fermentada por levaduras.

	3,5	3,8	4,5
SUMA DE GRADOS ^(*)	32,33	18,67	27,33

^(*) Resultados de 13 panelistas

Grados Brix

En el Cuadro 19 se presentan los resultados de la prueba de Ordenamiento para la determinación de los grados Brix óptimos para la estandarización de la bebida fermentada con levaduras. Ver Anexo 13. En el Anexo 7 encontramos que para 16 panelistas y 3 tratamientos los rangos son:

Rangos : 25 - 39
27 - 37

Como se puede apreciar el grado Brix óptimo es el de 13° ya que este valor se encuentra debajo de los rangos establecidos, y por consiguiente tiene diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos, pero estas diferencias implican una mayor preferencia en este caso ya que se solicitó que se ordenara de mayor a menor aceptabilidad.

Cuadro 19 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de los Grados Brix óptimos en la estandarización de la bebida fermentada por levaduras.

	12°	13°	14°
SUMA DE GRADOS ^(*)	37,33	24,67	34,00

^(*) Resultados de 16 panelistas

e). Pasteurización:

(1). Sin levaduras

En el Cuadro 20 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos para la determinación del tiempo de pasteurización del masato. En él podemos apreciar que el tiempo óptimo para la pasteurización del masato es de 15 minutos, ya que en este tiempo se nota una total ausencia de microorganismos.

Sobre la base de estas consideraciones determinamos que la combinación tiempo - temperatura óptima para la pasteurización del masato es de: 75° C por 15 minutos.

(2). Con Levaduras

En el cuadro 21 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos para la pasteurización de la bebida fermentada usando levaduras.

De acuerdo con los resultados presentados deducimos que el tiempo óptimo de pasteurización es el de 15 minutos, por lo que la combinación óptima es de 75° C por 15 minutos.

Cuadro 20 : Resultados de las pruebas microbiológicas para la evaluación de la pasteurización del masato.

ANÁLISIS	TIEMPO ^(*)		
	5'	10'	15'
NMCP	Presente	Presente	Ausente
NMAV	Presente	Presente	Ausente
NH	Presente	Ausente	Ausente

(*) Temperatura = 75° C.

Cuadro 21 : Resultados de las pruebas microbiológicas para la evaluación de la pasteurización de la bebida fermentada usando levadura.

ANÁLISIS	TIEMPO ^(*) (Min.)		
	5'	10'	15'
NMCP	Presente	Presente	Ausente
NMAV	Presente	Presente	Ausente
NH	Presente	Ausente	Ausente

NMCP = Numeración de Coliformes Totales y Fecales

NMAV = Número de Aeróbicos Viables NH = Número de Hongos

2. Pruebas Finales

a). Diagrama de flujo definitivo

En la figura 14 se presentan los resultados de las pruebas finales para la elaboración del masato.

b). Balance de materia

En el Cuadro 21 se aprecia el balance de materia elaborado a partir de la figura 15, en donde se indican los rendimientos de cada operación en la elaboración del masato. Como podemos ver existe un rendimiento de 343,84 % en la estandarización debido a la adición de agua y azúcar que hace rentable al proceso de elaboración del masato, esto se puede notar de acuerdo con la cantidad de material que entra (100 Kg) y la cantidad de material que sale (542,15 Kg) obteniéndose un rendimiento global del proceso de 542,15 %.

Cuadro 21 : Balance de materia en la elaboración del masato, sobre la base de 100 Kg de materia prima a procesar.

OPERACIÓN	MATERIAL QUE INGRESA EN OPERACIÓN (Kg)	MATERIAL QUE SALE DE LA OPERACIÓN (Kg)	MATERIAL QUE CONTINÚA EN OPERACIÓN (Kg)	RENDIMIENTO O (%)
Pesado	100,00	---	100,00	100,00
Lavado	100,00	3,00	97,00	97,00
Pelado	97,00	15,00	82,00	84,54
Cortado	82,00	1,00	81,00	98,78
Lavado	81,00	---	81,00	100,00
Cocción	81,00	---	84,00	103,70
Molienda	84,00	---	168,00	200,00
Pulpeado	168,00	8,00	160,00	95,24
Sacarificación	160,00	---	160,20	100,12
Fermentación	160,20	2,00	158,20	98,75
Estandarización	158,20	---	543,95	343,84
Molienda Col.	543,95	---	543,65	00,00
Pasteurización	543,65	0,50	543,15	99,90
Envasado	543,15	1,00	542,15	99,81
Almacenado	542,15	--	542,15	100,00

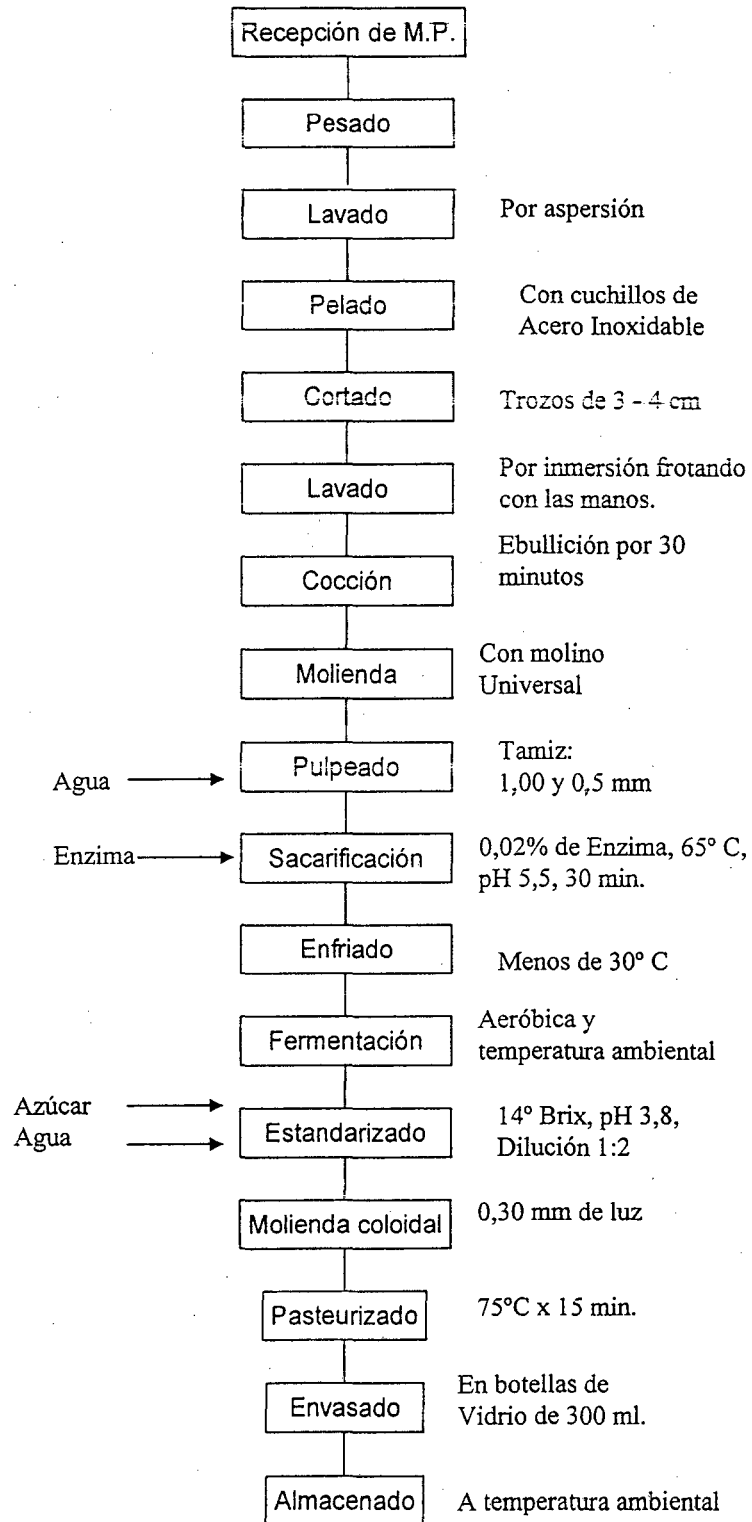


Figura 14 : Diagrama de flujo definitivo para la elaboración del masato.

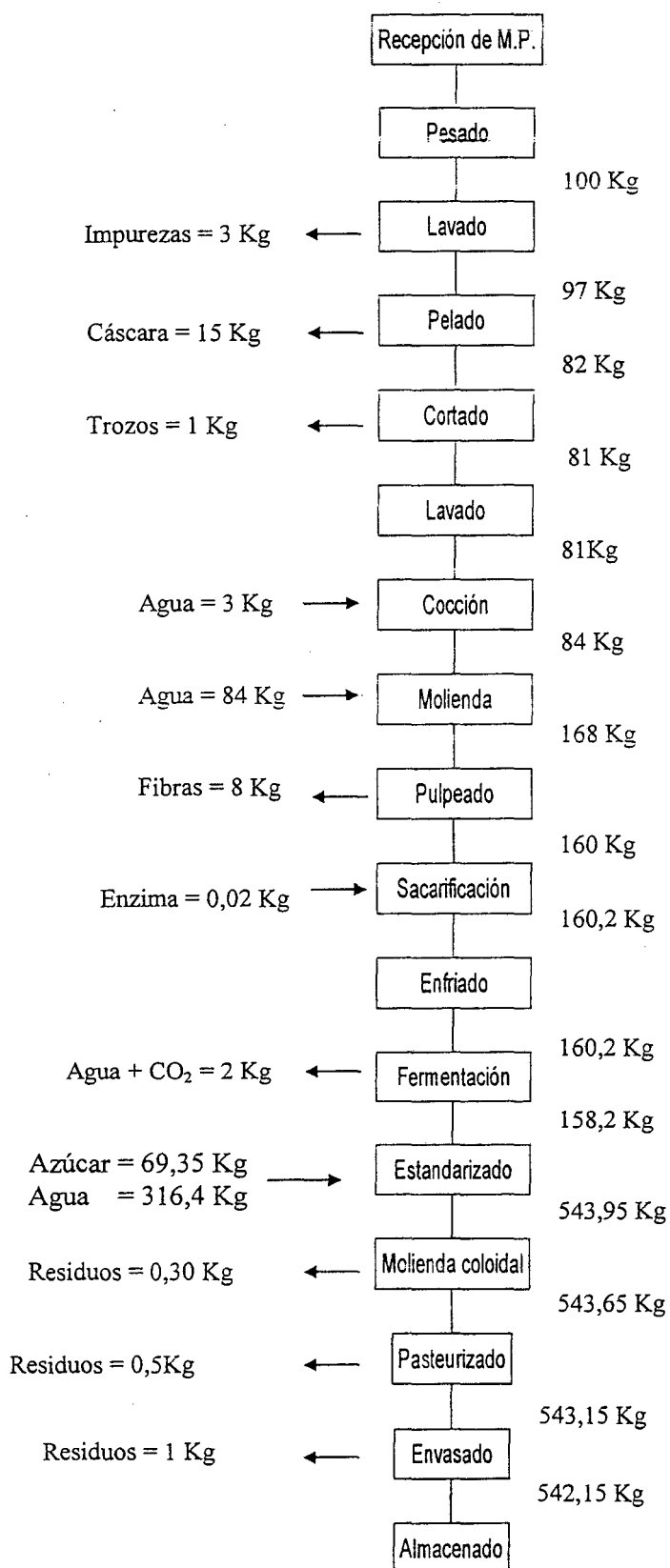


Figura 15 : Diagrama de flujo para el balance de materia en la elaboración del masato

c). Cambios durante la fermentación

(1). Azúcares Reductores

En el Cuadro 22 se encuentran los resultados del consumo de azúcares reductores durante la fermentación, los cuales se presentan en la Figura 16, en donde el tratamiento T_1 corresponde a una fermentación espontánea sin levadura mientras que T_2 corresponde a una fermentación espontánea con 1 % levaduras.

En ella podemos apreciar que el consumo de azúcares reductores sigue la curva típica de consumo en el caso de la fermentación con levaduras en cambio en el caso del consumo realizado por la fermentación sin levadura se nota que existe una disminución de los azúcares reductores hasta el segundo día de fermentación para luego notarse un aumento en la cantidad de azúcares reductores.

Una de las causas probables de este fenómeno es lo indicado por Wiseman (1986) que indica que los cultivos “tradicionales” se sostienen nutricionalmente, es decir que la probable presencia de organismos capaces de desdoblar azúcares de peso molecular alto permite que exista un aumento en los azúcares reductores tal como lo indica Ngaba (1979) que encontró en la fermentación tradicional de la yuca en África, dos bacterias ácido lácticas: *Lactobacillus* sp. y *Streptococcus* sp.

(2). Etanol

En el Cuadro 23 se encuentran los resultados de la producción de alcohol durante la fermentación, los cuales se presentan en la Figura 17 donde podemos apreciar la producción de alcohol tanto en la fermentación con levaduras (E_1) como en la fermentación sin ella (E_2).

Cuadro 22 : Resultados de los efectos de la fermentación con levadura (T1) y sin levadura (T2), sobre la producción de azúcares reductores.

Tiempo (días)	T1	T2
0	8,69	8,69
1	8,64	8,47
2	8,23	8,34
3	8,69	8,30
4	8,54	7,40
5	8,04	6,95
6	7,49	6,47
7	7,20	6,47
8	6,94	6,45
9	6,63	6,45
10	6,42	6,48

T1 = Sin levadura T2 = Con 1% de levadura

Cuadro 23 : Resultados de los efectos de la fermentación con levadura (E1) y sin levadura (E2), sobre la producción de etanol.

Tiempo (días)	E1	E2
1	0,00	-
2	0,22	0,00
3	0,31	0,10
4	0,43	0,25
5	0,59	0,43
6	0,68	0,63
7	0,89	0,78
8	1,21	1,15
9	1,42	1,24
10	1,51	1,31

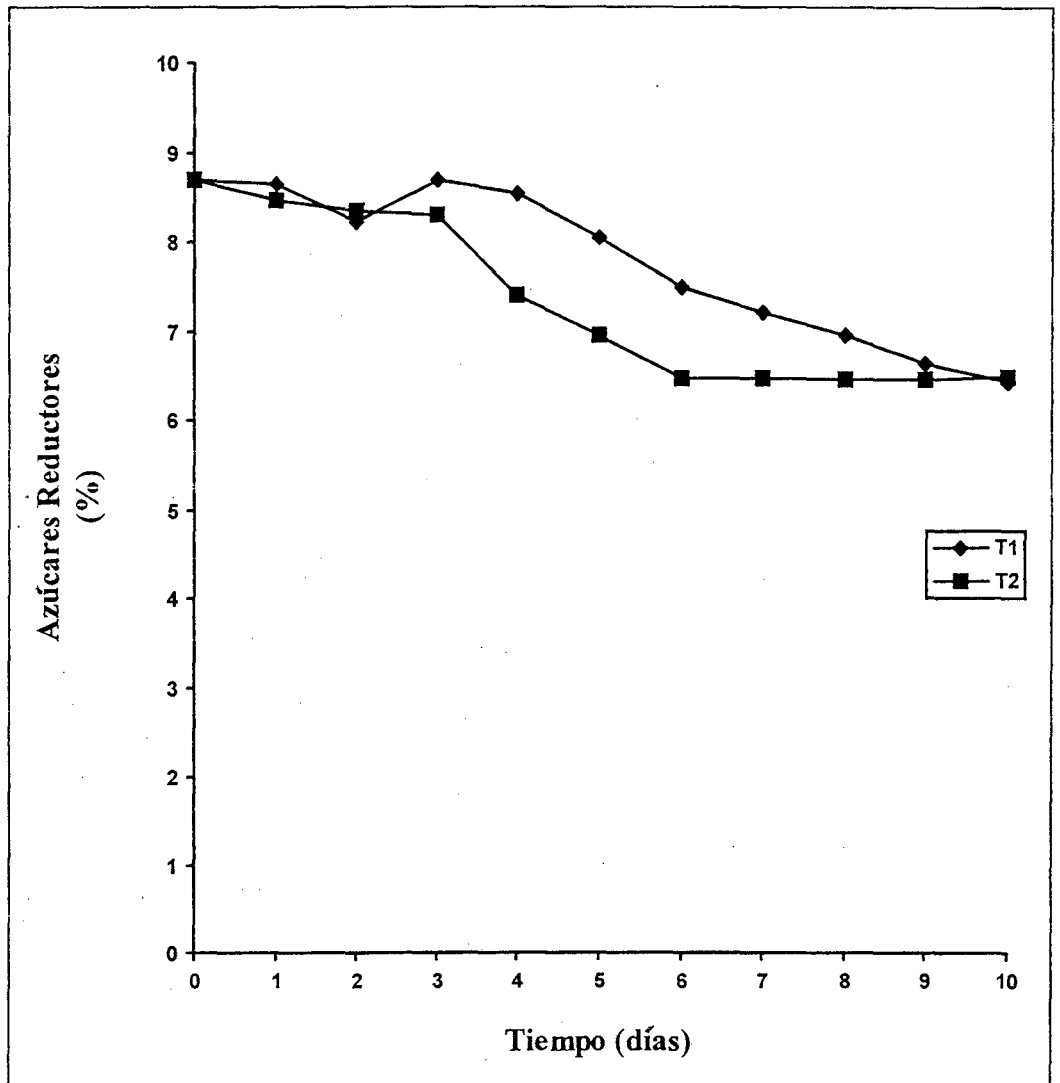


Figura 16 : Consumo de azúcares reductores durante la fermentación de la yuca cocida. T1 = Sin levadura; T2 = Con levadura.

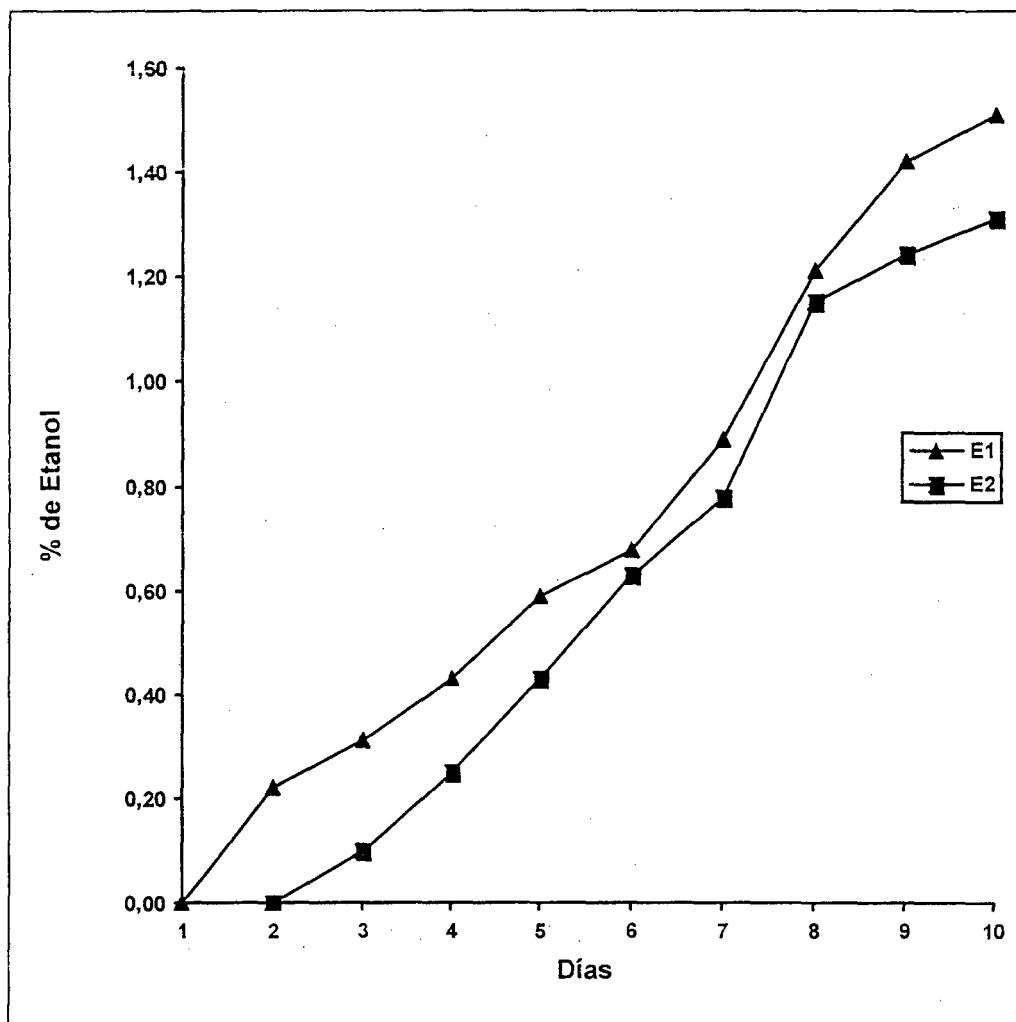


Figura 17 : Variación del etanol durante la fermentación de la yuca cocida.
E1 = Con 1% de Levadura ; E2 = Sin Levadura.

La mayor producción de etanol en el caso de la fermentación con levadura se debe a la especificidad que tiene ésta para consumir hexosas y producir alcohol, Manrique (1978) señala que la levadura Fleishman (utilizada en este trabajo) es recomendable para la producción de bebidas alcohólicas.

Sin embargo los resultados nos demuestran que la producción de alcohol es relativamente baja, esto se explica debido a que al tratarse de una fermentación aeróbica existe una mayor producción de CO₂ y energía debido a la reproducción de las levaduras Vogt (1982) y Amerine (1990).

La producción de alcohol se presenta en el caso de la fermentación sin levadura de pan a partir del tercer día de iniciado el proceso, esto debido a que en este tiempo se presentan las condiciones de anaerobiosis necesarias para la producción de alcohol Vogt (1982).

(3). pH

En el Cuadro 24 se encuentran los resultados de la variación del pH durante la fermentación, los cuales se presentan en la Figura 18, donde se aprecia la variación del pH con respecto al tiempo de fermentación tanto para la fermentación con Levaduras (P₁) y sin levaduras (P₂), donde se puede ver que el pH disminuye más en el caso de la fermentación sin levaduras debido a que se trata de una fermentación aeróbica, en donde existe el crecimiento de diferentes tipos de microorganismos que pueden hacer que el pH disminuya notablemente hasta un punto en que todos los microorganismos involucrados puedan desarrollarse sin afectarse unos a otros, tal como lo demostró Ngaba (1979) quien encontró en la fermentación tradicional de la yuca en África, los siguientes microorganismos: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, entre otros; cuyos pH final fluctuaban entre 3,65 y 3,95, coincidiendo con el pH 3,8 encontrado en nuestro caso.

Cuadro 24 : Resultados de los efectos de la fermentación con levadura (P1) y sin levadura (P2), sobre la producción de azúcares reductores.

Tiempo (días)	P1	P2
1	5,5	5,5
2	5,3	5,1
3	5,3	5,0
4	5,2	4,7
5	5,2	4,0
6	5,2	3,8
7	5,1	3,8
8	5,1	3,8
9	5,0	3,7
10	5,0	3,7

P1 = Con 1% de levadura; P2 = Sin levadura

(4). Efectos del pH inicial sobre la producción de Azúcares reductores

En el Cuadro 25 se encuentran los resultados de la variación de los azúcares reductores frente al pH inicial de la fermentación, los cuales se presentan en la Figura 19, donde podemos notar que las tres curvas presentan el mismo comportamiento, es decir que existe un consumo de azúcares reductores durante el primer y segundo día, para que a partir del tercer día se note un aumento de los mismos hasta el cuarto día, para posteriormente notarse la disminución de los azúcares reductores.

También podemos notar que al disminuir el pH inicial existe una mayor producción de azúcares reductores, este comportamiento nos indica la presencia de otros microorganismos que son capaces de producir azúcares fermentables para las levaduras permitiendo que se autosostengan tal como lo indica Wiseman (1986) y Ngaba (1979).

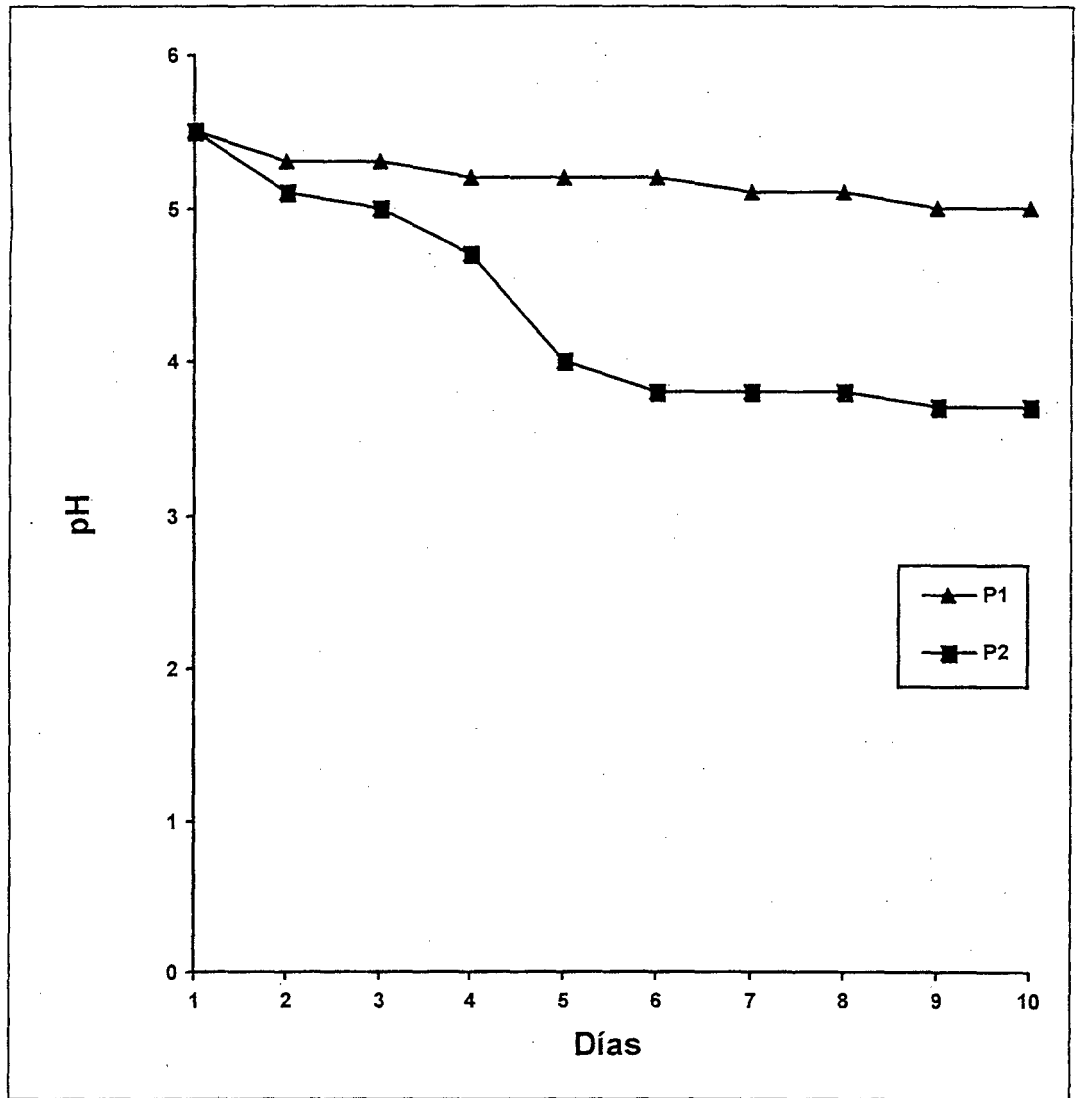


Figura 18 : Variación del pH durante la fermentación de la yuca cocida. P1= Con Levadura; P2= Sin Levadura.

Cuadro 25 : Resultados del efecto del pH inicial sobre la producción de azúcares reductores.

Tiempo (días)	4,5	5,0	5,5
0	9,07	9,07	9,07
2	8,22	8,00	7,63
3	8,69	8,22	8,00
4	9,07	8,69	8,57
5	8,11	7,89	7,19
7	7,43	6,73	5,78

(5). Efectos del pH inicial sobre la producción de Acidez Titulable

En el Cuadro 26 se encuentran los resultados de la variación de la acidez titulable frente al pH inicial de la fermentación, los cuales se presentan en la Figura 20, donde se aprecia que en los tres valores de pH inicial, las curvas presentan un aumento de acidez, notándose una mayor producción de acidez a un pH 4,5 y una menor producción a pH 5,5, estos resultados nos demuestran que al disminuir el pH inicial existe una mayor producción de azúcares reductores (Figura 18) y una mayor producción de acidez, Zumarriva (1990) menciona que existen microorganismos que se reproducen inicialmente en el medio, regulando la producción de acidez y azúcares fermentables para los microorganismos que van a desarrollarse posteriormente sin afectar el desarrollo de ninguno de ellos.

Cuadro 26: Resultados del efecto del pH inicial sobre la producción de acidez titulable. Los resultados se presentan en mg de ácido láctico/ml

Tiempo (días)	4,5	5,0	5,5
1	1,26	0,90	0,60
2	4,08	3,24	3,15
3	5,08	4,62	3,96
4	5,40	5,04	4,74
5	6,30	6,06	5,64
6	7,00	6,37	5,83
7	7,20	7,02	6,15

(6). Desarrollo del Sabor

En el Cuadro 27 podemos ver los resultados de la prueba triangular para determinar el tiempo óptimo de fermentación en base al desarrollo del sabor característico del masato, las diferencias se determinan en base al número de respuestas correctas que luego son interpretadas por la tabla del Anexo 7 (D).

Se puede apreciar que al hacer la comparación del sabor de la bebida fermentada frente al sabor del masato elaborado en forma tradicional, durante los primeros días se presentan diferencias significativas con respecto al masato elaborado con amilasa, a partir del quinto día de fermentación ya no se encuentran diferencias significativas y estos resultados coinciden con lo apreciado en la Figura 19, en donde se ve que existe un aumento de los azúcares reductores hasta el día 4, y posteriormente se nota una disminución de los azúcares.

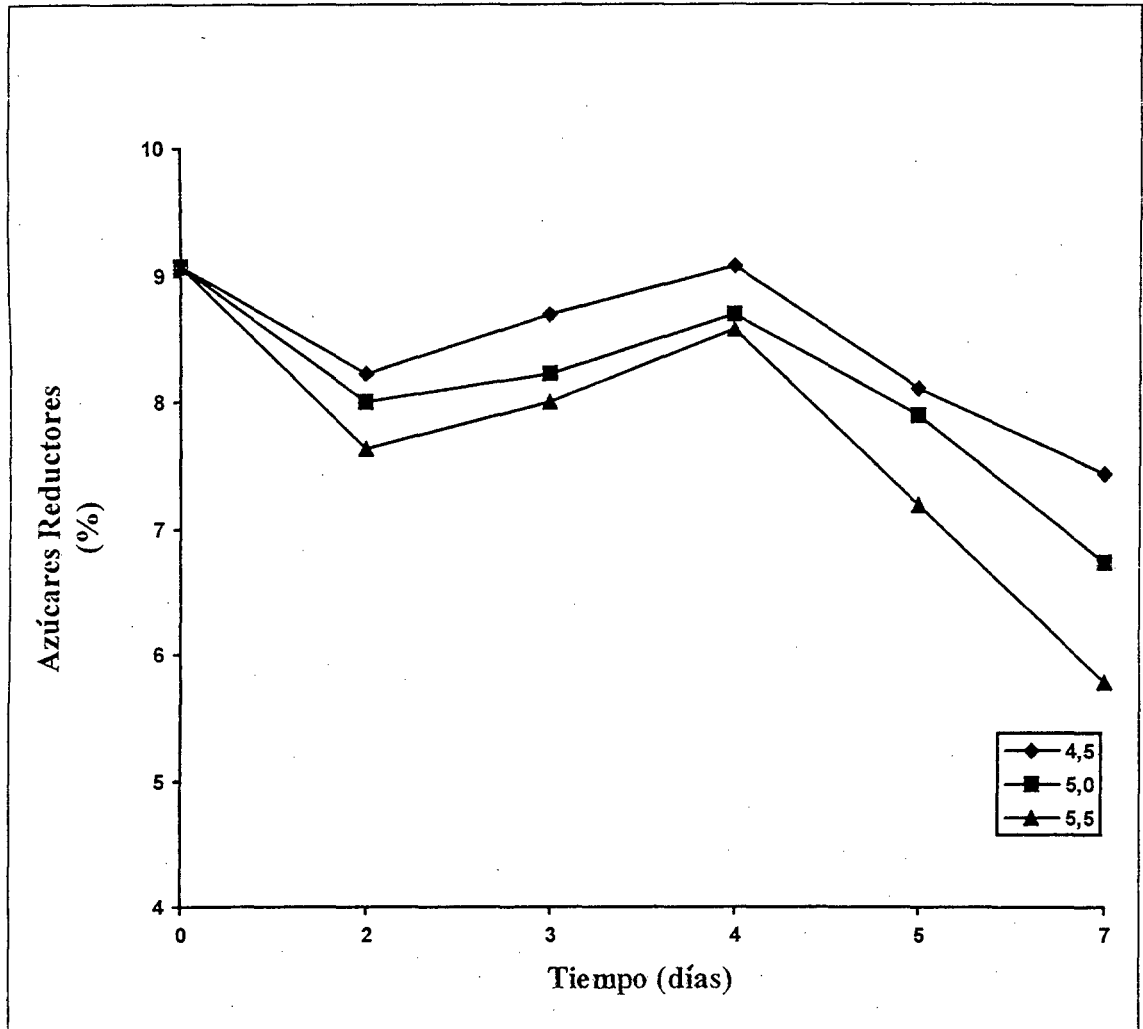


Figura 19 : Efecto del pH inicial sobre la producción de azúcares reductores durante fermentación de la yuca cocida ("Masato").

Así mismo estos resultados explican las apreciaciones de los especialistas en la elaboración del masato, quienes indican que al añadir aguardiente o azúcar a la masa para la elaboración del masato se acelera el tiempo de fermentación del mismo, sin embargo notamos que una vez desarrollado el sabor característico del masato el único efecto que tienen el aguardiente o azúcar, es permitir que exista mayor cantidad de alcohol al adicionar aguardiente o proporcionar azúcares fermentables para la producción del mismo, ya que se cree que el masato es una bebida alcohólica, pero que nosotros demostramos lo contrario.

Estos resultados concuerdan con Ngaba (1979) quien encontró que bajo condiciones controladas las bacterias ácido lácticas responsables del desarrollo del sabor en la producción del "Gari" (yuca fermentada) eran capaces de producir este sabor característico luego de 30 horas de iniciada la fermentación.

Cuadro 27 : Resultados de la prueba triangular para la determinación del tiempo óptimo de fermentación.

Días	Panelistas	Aciertos	Diferencias
3	18	15	Si
4	18	16	Si
5	18	10	No
6	16	10	No
7	16	9	No
8	16	9	No

5. Cambios en el Almacenamiento

a). Azúcares Reductores

En el Cuadro 28 se encuentran los resultados de la variación de los azúcares reductores con respecto al tiempo de almacenamiento, los cuales se presentan en la Figura 21, donde se puede notar un leve incremento de los azúcares reductores, lo cual puede explicarse de dos maneras: la primera de ellas es lo referido por Macavilca (1993) quien sostiene que este proceso se debe a la inversión de la sacarosa, proceso por el cual ésta se desdobra en glucosa y fructosa, y la segunda explicación es lo indicado por Braverman (1990) quien menciona que existe un proceso de “regeneración” de las enzimas inactivadas por el calor,. A pesar de que este proceso es lento, sin embargo es importante en el almacenamiento de los alimentos procesados por enzimas.

Cuadro 28 : Resultados de la variación de los azúcares reductores con respecto al tiempo de almacenamiento..

Tiempo (días)	Azúcares Reductores (%)
15	1,780
30	1,780
45	1,785
60	1,800
75	1,800
90	1,830

b). Acidez Titulable

En el Cuadro 29 se encuentran los resultados de la variación de la acidez titulable con respecto al tiempo de almacenamiento, los cuales se presentan en la Figura 22, en la figura podemos ver que la acidez aumenta ligeramente, esto debido a la disociación de los ácidos orgánicos por efectos de la temperatura de almacenamiento Braverman (1990).

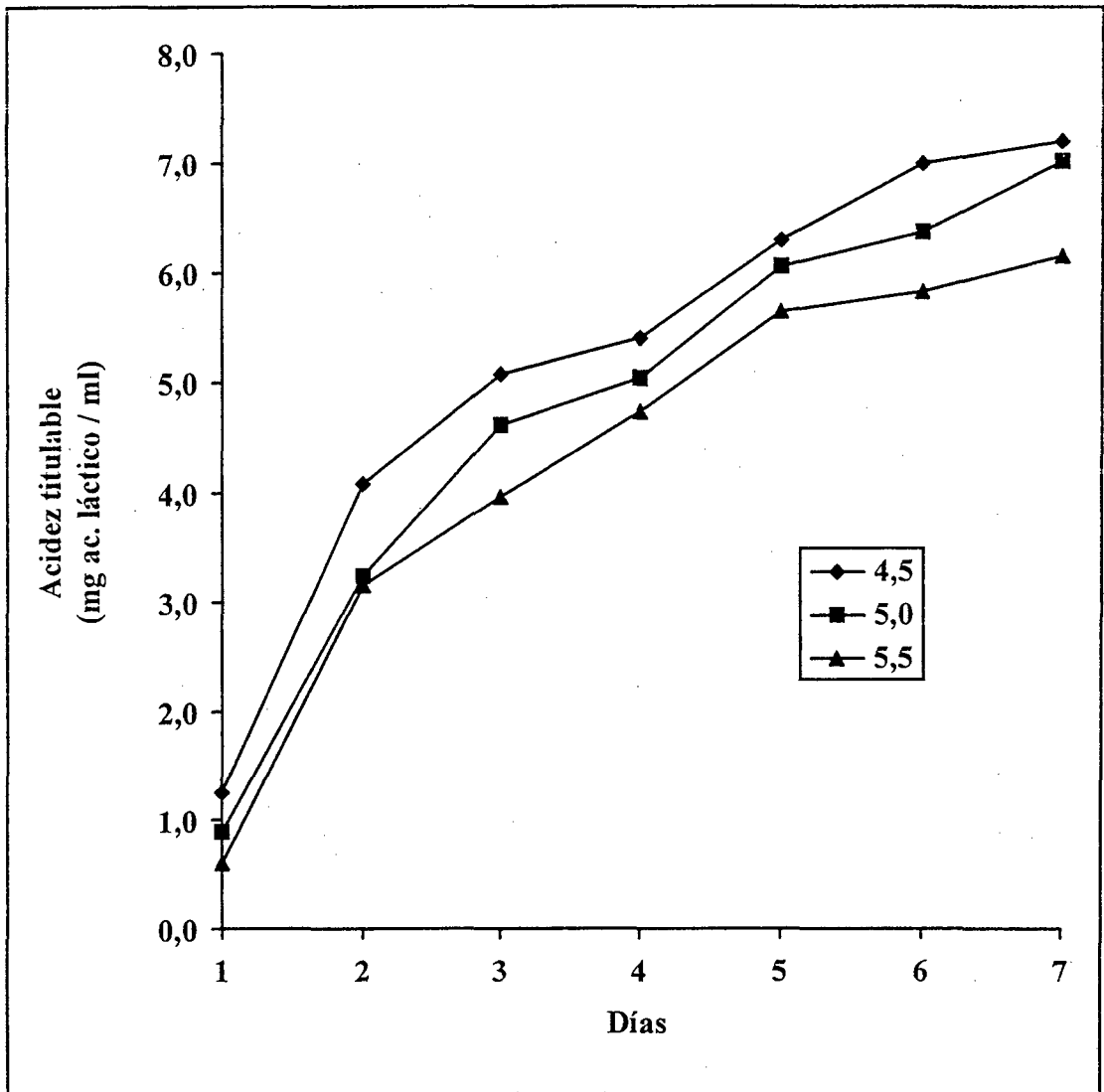


Figura 20 : Efecto del pH inicial sobre la producción de acidez , durante la fermentación del masato.

Cuadro 29 : Resultados de la variación de la acidez titulable con respecto al tiempo de almacenamiento. Acidez titulable en mg de ácido láctico/ml

Tiempo (días)	Acidez titulable (%)
15	1,930
30	1,930
45	1,930
60	1,940
75	1,940
90	1,945

E. DIFERENCIAS ENTRE LAS BEBIDAS OBTENIDAS

1. Sabor:

En el Cuadro 30 se presentan los resultados de la prueba de ordenamiento para la determinación de las diferencias de sabor entre las muestras presentadas, extraídos del Anexo 14. Donde el tratamiento A corresponde a una fermentación con 1% de levadura, el tratamiento B corresponde al tratamiento con amilasa bacterial sin levadura y el tratamiento C corresponde al masato elaborado tradicionalmente utilizando el proceso de masticado.

En el Anexo 7 se ubica que para 18 panelistas y 3 tratamientos los rangos son los siguientes:

Rangos : 29 - 43
30 - 42

Al analizar el cuadro apreciamos que la suma de grados para el sabor, en el caso de la bebida elaborada con levadura y la bebida tradicional no muestran diferencias significativas por cuanto se encuentran dentro del rango de no-significancia entre muestras.

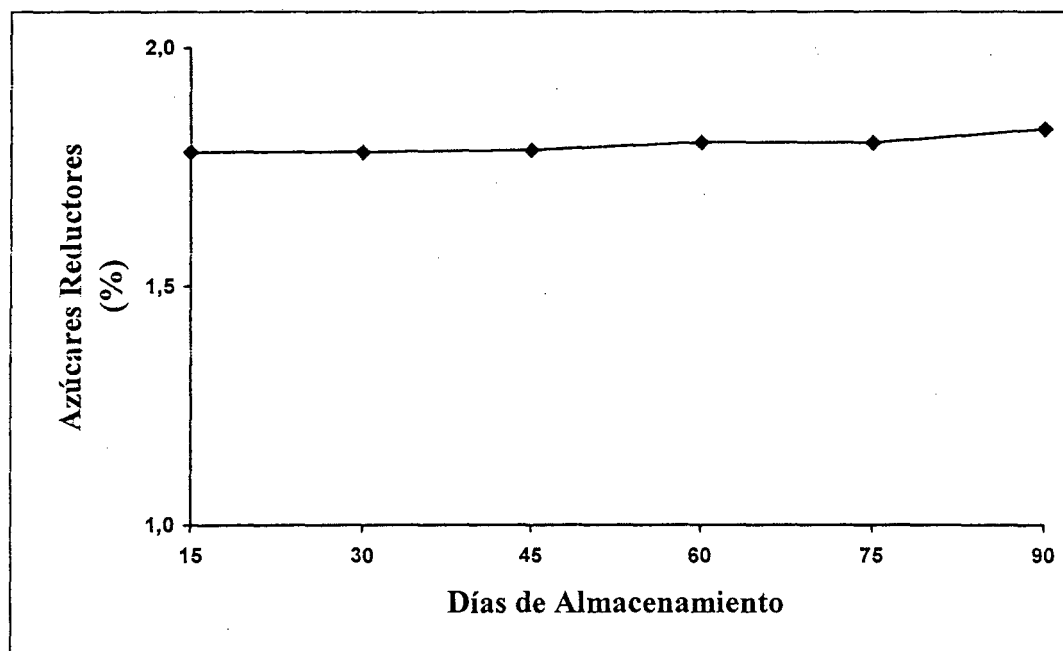


Figura 21: Variación de los azúcares reductores con respecto al tiempo de almacenamiento.

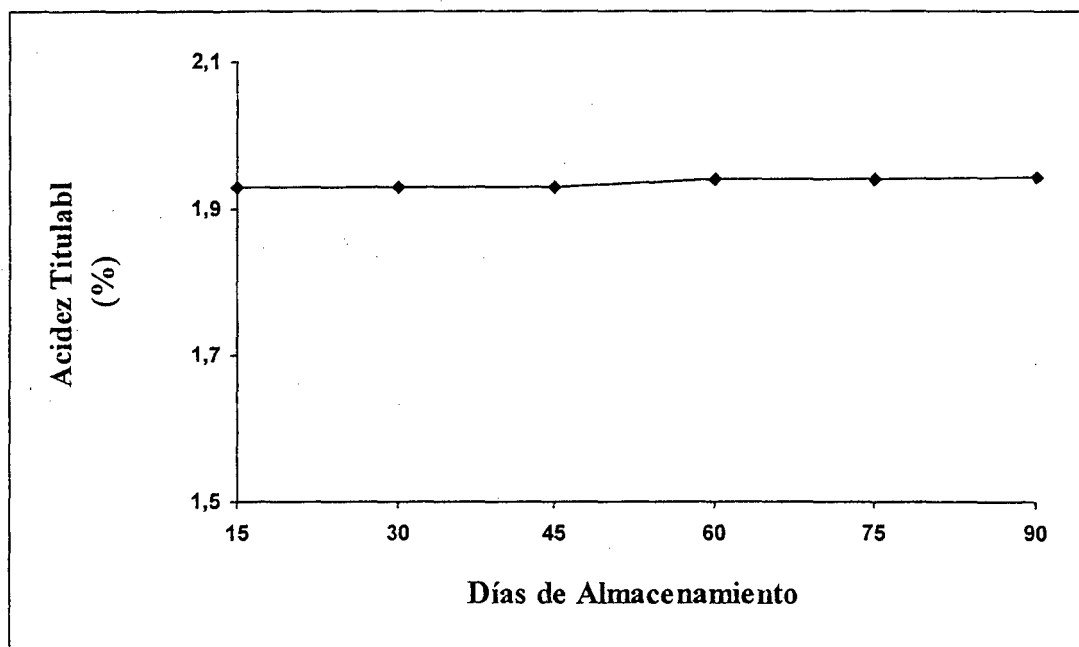


Figura 22: Variación de la Acidez titulable durante el almacenamiento

En el caso de la bebida elaborada con levadura podemos apreciar que ésta se encuentra fuera del rango de no-significancia y además está por encima de los rangos, por lo que concluimos que esta muestra presenta diferencias significativas en cuanto al sabor y que es la menos aceptable ya que se solicitó que se ordenara de mayor a menor preferencia.

Cuadro 30 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de diferencias de sabor entre tres muestras.

	A	B	C
SUMA DE GRADOS ^(*)	44,00	31,33	32,67

^(*) Resultados de 18 panelistas

A = Con 1% de levadura; B = Sin levadura; C = Elaboración Tradicional.

2. Aroma:

En el Cuadro 31 se presentan los resultados de la prueba de ordenamiento para la determinación de las diferencias de aroma entre las muestras presentadas, extraídos del Anexo 15. Donde el tratamiento A corresponde a una fermentación con 1% de levadura, el tratamiento B corresponde al tratamiento con amilasa bacteriana sin levadura y el tratamiento C corresponde al masato elaborado tradicionalmente utilizando el proceso de masticado. En el Anexo 7 ubicamos que para 18 panelistas y 3 tratamientos los rangos son los siguientes:

Rangos : 29 - 43
30 - 42

De acuerdo a esto concluimos que no existen diferencias significativas en cuanto al aroma entre la bebida elaborada sin levadura y la bebida tradicional, por encontrarse dentro del rango de no-significancia. En lo que se refiere a la bebida elaborada con levadura esta presenta diferencias significativas con respecto a las muestras anteriores y es la de menor aceptabilidad por encontrarse fuera del rango y haberse pedido que se ordenara de mayor a menor preferencia.

Cuadro 31 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de diferencias de Aroma entre tres muestras.

	A	B	C
SUMA DE GRADOS ^(*)	44,00	31,00	32,67

^(*) Resultados de 18 panelistas

A = Con 1% de levadura

B = Con amilasa bacterial, sin levadura.

C = Elaborado tradicionalmente.

2. Color

En el Cuadro 32, se presentan los resultados de la prueba de ordenamiento para la determinación de diferencias de color de las muestras presentadas, extraídos del Anexo 16. Donde el tratamiento A corresponde a una fermentación con 1% de levadura, el tratamiento B corresponde al tratamiento con amilasa bacterial sin levadura y el tratamiento C corresponde al masato elaborado tradicionalmente utilizando el proceso de masticado.

En el Anexo 7 ubicamos que para 18 panelistas y 3 tratamientos los rangos son los siguientes:

Rangos : 29 - 43
30 - 42

De acuerdo con esto podemos concluir que no existen diferencias significativas en cuanto al color entre las muestras por encontrarse dentro del rango de no-significancia.

Cuadro 32 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de diferencias de Color entre tres muestras.

	A	B	C
SUMA DE GRADOS ^(*)	35,00	36,00	37,00

^(*) Resultados de 18 panelistas

A = Con 1% de levadura

B = Con amilasa bacterial, sin levadura.

C = Elaborado tradicionalmente.

4). Textura:

En el Cuadro 33, presentamos los resultados de la prueba de ordenamiento para la determinación de diferencias significativas de textura entre las bebidas elaboradas, extraídos del Anexo 17. Donde el tratamiento A corresponde a una fermentación con 1% de levadura, el tratamiento B corresponde al tratamiento con amilasa bacterial sin levadura y el tratamiento C corresponde al masato elaborado tradicionalmente utilizando el proceso de masticado.

En el Anexo 7 se ubica que para 18 panelistas y 3 tratamientos los rangos son los siguientes:

Rangos : 29 - 43
30 - 42

Como podemos apreciar no existen diferencias significativas de textura entre la bebida elaborada con levaduras y la elaborada sin levadura, mientras que la bebida comercial si presenta diferencias significativas con respecto a estas dos. Esto se debe fundamentalmente más a factores de proceso que a la presencia de levaduras o de enzimas. Es decir que la bebida tradicional por no tener un proceso de homogeneización, su textura es poco aceptable como demuestra el valor alto que sale fuera del rango de aceptabilidad

Cuadro 33 : Resultados de la Prueba de ordenamiento para la determinación de diferencias de Textura entre tres muestras.

	A	B	C
SUMA DE GRADOS ^(*)	32,67	31,33	44,00

(*) Resultados de 18 panelistas

A = Con 1% de levadura

B = Con amilasa bacteriana, sin levadura.

C = Elaborado tradicionalmente.

F. CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO FINAL

1. Composición Química

En el cuadro 34 se presentan los resultados del análisis químico proximal del masato. Podemos observar que el masato es un producto que tiene gran aporte de Carbohidratos complejos conforme lo recomienda la O.M.S. (1990).

Cuadro 34 : Composición química proximal del masato.

COMPONENTES	CANTIDAD (%)
Humedad	88,63
Extracto seco (11,37%)	
Carbohidratos totales	10,43
Fibra total	0,19
Proteína total	0,30
Ceniza	0,36
Grasa	0,09

2. Análisis Físico - Químico

En el cuadro 35 se presentan los resultados del análisis físico-químico del masato obtenido con alfa-amilasa bacteriana. En él podemos apreciar que la cantidad de alcohol presente es de 0.8° GL, lo que significa que esta bebida no es bebida alcohólica, como es lo común escuchar entre los conocedores del masato.

Cuadro 35 : Análisis Físico - Químico del masato

COMPONENTES	CANTIDAD
pH	3,8
Acidez Total *	1,93
°Brix	14,0
Acidez volátil *	1,01
Acidez fija *	0,92
°GL	0,8
Azúcares Reductores	1,78

* Expresado en mg/ml de ácido láctico

3. Análisis Microbiológico

En el Cuadro 36, se presentan los resultados del análisis microbiológico del masato. De acuerdo con estos resultados podemos concluir que no se presentaron contaminaciones durante el almacenamiento, debido a la calidad de los envases y a la eficiencia del 'coronado'. También es importante reconocer la eficiencia del pasteurizado que fue demostrado en el estudio de pasteurización.

CUADRO 36 : Resultados del análisis microbiológico del masato.

ANÁLISIS	TIEMPO DE ALMACÉN	TEMPERATURA	MÉTODO	OBSERVACIONES
NMCP	90	AMBIENTE	NMP	NEGATIVO
NMAV	90	AMBIENTE	REP	NEGATIVO
NH	90	AMBIENTE	REP	NEGATIVO

NMCP = Numeración de Coliformes Totales y Fecales

NMAV = Número de Aeróbios Viables

NH = Número de Hongos

V. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, llegamos a las siguientes conclusiones:

1. Es posible la utilización de la alfa-amilasa bacterial CANALPHA en la elaboración del masato sin afectar significativamente en las características organolépticas del mismo.
2. La utilización de la levadura de panificación FLEISCHMAN influye significativamente en las características sensoriales del Sabor y Aroma, sin afectar en la característica del Color del masato, cuando se emplea un nivel del 1% de levadura.
3. Los parámetros óptimos para la elaboración del masato son los siguientes:
 - Para la cocción de la yuca: 100° C y a presión atmosférica por 30 minutos.
 - Para la sacarificación : 65° C, por 30 minutos, con 0,02% de enzima y pH 5,5.
 - Para el estandarizado: 14° Brix, con pH 3,8 y dilución 1:2 (peso:volumen)
 - Para el pasteurizado: 75° C por 15 minutos.
4. Durante el almacenamiento por 90 días el masato no presentó cambios significativos en lo que respecta a los azúcares reductores y la acidez titulable.

VI. RECOMENDACIONES

En función de los resultados del presente estudio planteamos las siguientes recomendaciones:

1. Utilizar la alfa-amilasa bacteriana, como sustituto de la amilasa salival, en la elaboración del masato.
2. Realizar estudios para la elaboración del masato a escala industrial, dando a conocer que durante su elaboración se emplea alfa-amilasa bacteriana como sustituto de la alfa-amilasa salival, con la finalidad de lograr una mayor aceptabilidad en el mercado.
3. Utilizar saborizantes naturales tal como pulpas de frutas con el fin de elevar el aporte nutricional del masato y permitir la diversificación de los sabores que conlleven a aumentar el número potencial de consumidores.
4. Identificar a los organismos responsables del desarrollo del sabor en el masato, de tal forma de tener cultivos puros como "Starters" que permitan un mayor control y menor tiempo de proceso.
5. Evaluar la influencia de la utilización de otras variedades de Yuca sobre las características sensoriales del masato.
6. Evaluar la utilización de una alfa-amilasa fúngica en la elaboración del masato, ya que esta enzima tiene temperatura de trabajo más baja que la alfa-amilasa bacteriana, lo que permitiría reducir el tiempo de proceso, al obviar la etapa de enfriamiento.

VII. RESUMEN

La presente de investigación se realizó en los laboratorios de Análisis de Alimentos, Nutrición, Microbiología de Alimentos, Análisis Sensorial y en la Planta Piloto E-5 de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, de la Ciudad de Tingo María del Departamento de Huánuco en el Perú.

Se utilizó como materia prima yuca (*Manihot esculenta* Grantz) var. Morada, evaluándose la sustitución del proceso de masticado (sacarificación salival) de la yuca durante la elaboración del "masato" (Yuca cocida fermentada) con un proceso de sacarificación enzimática utilizando una alfa amilasa bacterial comercial proporcionado por la empresa BIOCON DEL PERÚ S.A., encontrándose que dicha sustitución no afecta significativamente en las características organolépticas del masato. Determinándose los siguientes parámetros tecnológicos para su empleo: Temperatura de 65° C, pH de 5,5, Concentración de enzima 0,02% y un tiempo de 30 minutos.

Se evaluó la utilización de levadura de panificación en el proceso de fermentación durante la elaboración del masato encontrándose que la adición del 1% de levadura de panificación afecta significativamente en las características organolépticas de Sabor y Aroma del masato, afectando negativamente en la aceptabilidad del mismo.

Se evaluaron los cambios que pudieran presentarse durante el almacenamiento del masato en botellas de vidrio transparente y a temperatura ambiental, por un tiempo de 90 días, no encontrándose cambios significativos tanto en las características fisico-químicas como organolépticas del mismo.

Se determinó el flujograma para la elaboración del masato encontrándose la siguiente secuencia de operaciones: Pesado, Lavado, Pelado, Cortado, Lavado, Cocción, Molienda, Pulpeado, Sacarificación (adición de enzimas), Enfriado, Fermentación, Estandarizado, Molienda Coloidal, Pasteurizado, Envasado y Almacenado.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. ALBUQUERQUE, M. 1969. Á mandioca na amazonía. Belem, Brasil. Superintendencia de desenvolvimento da amazonía.
2. AMERINE, M. Y CRUESS, S. 1990. Análisis de vinos y mostos. Zaragoza, España. Acribia. 403 p.
3. ANZALDÚA, A. 1994. La Evaluación Sensorial de los Alimentos: En la Teoría y la Práctica. Zaragoza, España. Acribia. 198 p.
4. BIOCON. 1988. Product Information (CANALPHA). Ireland. Pp. A10 - A10 (b).
5. BRAVERMAN, J.B. 1990. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. El Manual Moderno S.A. México. 358 p.
6. CAMPOS, D. 1993. Aplicaciones Biotecnológicas en el Procesamiento de Frutas y Vegetales. Programa de desarrollo empresarial. INDDA - UNALM. Lima.
7. CAMPOS, D. 1997. Aplicaciones de la Biotecnología Enzimática en Procesos Agroindustriales. Curso Teórico - Práctico. UNALM. Lima, Perú.
8. CHARLEY, H. 1986. Tecnología de Alimentos. Edit. Limusa. Mexico. 767 p.
9. CIACCO, C. 1976. Kinetic study of retrogradation of cassava starch gels. North Dakota State, USA. Journal of food science. volume 47. 5. pp. 1249-1250.
10. COLLINS, J. and TEMALILWA, C. 1981. Cassava (*Manihot esculenta* Grantz) Flour Fortification with Soy Flour. Journal of Food Science. Tennessee, USA. Volume 46. Pp. 1025-1028.
11. CRUEGER, W y CRUEGER, A. 1984. BIOTECHNOLOGY: A Textbook of Industrial Microbiology. Science Tech, Inc. Madison. U.S.A. 308 p.
12. CURRIEL, N.F.; VELÁZQUEZ E.J. 1977. Técnicas para la Producción de Yuca. Caracas (Ven.). Centro Nacional de Investigación Agropecuaria. 479 p.
13. DONDERO, L. 1978. Preparation of a Hydrolysate Using α -amylase. Journal of Food Science. Oregon, U.S.A. Vol. 40. Pp. 1698-1701.
15. FRAZIER, W.C. 1993. Microbiología de los Alimentos. Zaragoza. Acribia. 631 p.
16. GRACE M. R. 1977. Elaboración de la Yuca. Colección FAO. Producción y Protección vegetal.

17. HANSEN, J. 1978. Microbiología de las Fermentaciones Industriales, Zaragoza, España. Acribia.
18. I.N.N. 1986. La Composición de los Alimentos Peruanos. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Nutrición. Reimpresión del Programa Especial de Alimentación. Lima, Perú. 35 p.
19. JORGENSEN, A. 1978. Microbiología de las Fermentaciones Industriales. Zaragoza, España. Acribia. 591 p.
21. LAGES, A. and TANNENBAUM, S. 1978. Production of Glucose from Tapioca (Cassava Starch) and Farinha de Mandioca (Cassava Meal). Cambridge, USA. Journal of Food Science. Volume 43. Pp. 1012-1014.
22. LEHNINGER, A. 1979. Bioquímica. Barcelona, España. Ediciones Omega. 1117 p.
23. LÓPEZ, X. 1997. Aplicación de Enzimas en el Tratamiento de Harinas para Panificación y Galletería. I Seminario - Taller Internacional :Panificación y Pastelería Industrial. INDDA, Lima, Perú.
24. MACAVILCA, E. 1993. Obtención y Clarificado del Jugo de Carambola (Averrhoa carambola Linn) con el Uso de Enzimas Pectolíticas. Tesis. UNAS. Tingo María, Perú.
25. MARC, A. et al. 1983. A Kinetic Model of Starch Hydrolysis by \rightarrow - and \uparrow -Amylase during Mashing. France. Biotechnology and Bioengineering. Vol. XXV. Pp. 481-496.
26. MANRIQUE, J. 1978. Flora Microbiana de la Chicha de Jora y Fermentación Experimental de la Levadura Seleccionada. Tesis. Programa de Farmacia. UNMSM. 105 p.
27. McCAN, D.J. 1976 Utilización de la Yuca en procesos Agroindustriales. Cuarto simposio de la Sociedad Internacional de raíces comestibles tropicales. Cali, Colombia. CIAT. Pp. 49.
28. MONTALDO, A. 1979. La Yuca o Mandioca : Cultivo, Industrialización. San José. C.R. IICA. 320 pp.
29. NEGRE, E. y FRANCOT, J. 1980. Manual práctico de vinificación y conservación de vinos. Barcelona, España. Montesi. 285 p.

30. NGABA, P. and LEE, J. 1979. Fermentation Of Cassava (*Manihot esculenta* Grantz). Oregon, USA. Journal of Food Science. Volume 44. Pp. 1570-1571.
31. O.M.S. 1990. Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas. Organización Mundial de la Salud. Serie de informes técnicos, 797. Gráficas Reunidas. España. 223 p.
32. PELAEZ, P. 1988. Estudio Técnico Comparativo en la Elaboración de Harina de Tres Variedades de Yuca (*Manihot esculenta* Grantz) para su uso en panificación. Tesis, UNAS, Tingo María.
33. RAJAGOPAL, M. 1977. Production of Beer from Cassava. Nsukka, Nigeria. Journal of food science. Vol. 42, 2. Pp. 532-533.
34. RAMETTE, R.W. 1983. Equilibrio y Análisis Químico. EEUU. Fondo educativo Interamericano. pp. 134 -169.
35. RASOVSKY, 1978. Alcool, Destilarias. Coleção Canaveira. Numero 12. Rio, Brasil. Instituto de açúcar e alcool.
36. TORRES, W.J. 1996. Obtención de Jarabe de Glucosa del Almidón de Pituca (*Colocasia esculenta* Schott) por acción de la alfa-amilasa y amiloglucosidasa. Tesis, UNAS, Tingo María.
37. VALDEZ S. H. 1976. Importancia del procesamiento de yuca en la economía de Colombia. Cuarto simposio de la Sociedad Internacional de raíces comestibles tropicales. Cali, Colombia. CIAT. Pp. 50.
38. VOGT, C. 1982. Fabricación de vinos. Zaragoza, España. Acribia. 231 p.
39. VILLAREAL, C. 1993. Elaboración de una bebida fermentada a partir del gritz del Maíz (*Zea mays*) var Cuban Yelow. Tesis, UNAS, Tingo María.
40. VILLAVICENCIO, M. 1993. BIOQUÍMICA. Lima- Perú. Concytec. Tomo I. 541 p.
41. WARD, O. 1991. Biotecnología de la Fermentación. Zaragoza, España. Acribia S.A. 274 p.
42. WISEMAN, A. 1986. Principios de Biotecnología. Zaragoza, España. Acribia. 252 p.
43. ZUMARRIVA, L. 1990. Fermentaciones Industriales. Escuela de Post-Grado. Facultad de Oceanografía, Pesquería y Ciencias Alimentarias. UNFV. Lima, Perú.

IX. ANEXOS

ANEXO 1**Método espectrofotométrico para la determinación de almidones, azúcares reductores, azúcares totales y no reductores.**

Para este método se utilizan los siguientes reactivos:

- 2,4 Dinitrofenol
- Fenol
- Tartrato de sodio y potasio (Sal de Rochelle).
- Sulfito de sodio.
- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido clorhídrico al 5%.
- Hidróxido de sodio 4 N.
- Solución patrón de glucosa al 0,11%, también se puede usar glucosa monohidratada, efectuando la respectiva conversión.

a. Reactivo de Ross

Se prepara teniendo en cuenta las siguientes soluciones:

Solución A:

Disolver 7,145 g de 2,4 Dinitrofenol en 230 ml de hidróxido de sodio al 5%. Calentar en agua hirviendo hasta que el 2,4 Dinitrofenol se disuelva. Luego adicionar 2,5 g de fenol, calentar de 2 a 4 minutos, hasta que la solución tenga trazas de color claro, o transparente.

Solución B:

Disolver 100 g de Sal de Rochelle en 500 ml de agua destilada. Luego se procede a mezclar las soluciones A y B, completando a 1000 ml en una fiola, cuidando que el líquido esté frío

Seguidamente se procede a determinar la curva patrón, a partir de la solución patrón, preparándose diferentes concentraciones a partir de ésta. Las concentraciones se deben preparar utilizando 0,1 ml de solución madre o patrón, completándose con agua destilada. Las concentraciones preparadas se tratan como a una muestra adicionándosele 6 ml de Reactivo de Ross, se calientan por 6 minutos, se enfrían y se realiza la lectura de tramitancia en el espectrofotómetro L & B - 20, a una longitud de onda de 620 nm.

Se construye la curva planteando en la ordenada la Absorbencia (previa transformación de la lectura en tramitancia), versus la Concentración de glucosa en mg/ml, la curva debe ser inspeccionada de vez en cuando; y cada vez que se hace uso del espectrofotómetro, se debe chequear el blanco (8 ml de agua destilada), la lectura del blanco debe ser 0,0 % de tramitancia.

Según Ramette (1983), la tramitancia puede ser transformada a absorvancia, en función de la ley de BEER:

$$\frac{P}{P_0} = T = 10^{-abc}$$

$$A = \text{Log} \left(\frac{1}{T} \right) = \left(\frac{100}{\%T} \right) = abc$$

Donde :

T = Tramitancia

A = Absorvancia

Además indica que la lectura de las soluciones no debe ser mayor a 0,8 de absorvancia, cuando se utiliza el espectrofotómetro L & B.

Un ejemplo del cálculo de transformación de tramitancia a absorvancia es el siguiente:

- Si se tiene una lectura en tramitancia de 50% (debe tenerse en cuenta que la lectura más correcta es en tramitancia), entonces se utiliza la ley de BEER:

$$A = \text{Log} \left(\frac{100}{\%T} \right) \quad \text{ó} \quad A = \text{Log} \left(\frac{100}{50} \right) = 0.30103$$

b. Determinación de azúcares reductores

Se toma 01 g de muestra seca finamente molida, se coloca en un erlenmeyer y se agrega 50 ml de agua destilada, luego se agrega 0,5 g de sulfito de sodio. Agitar bien, filtrar con papel Watman No. 40, del filtrado se toman 02 ml, al cual se le agregan 06 ml del reactivo de Ross. Se calienta en agua hirviendo por 6 min. exactamente, enfriar con agua corriente sobre las paredes del tubo, luego se coloca la solución

problema en los recipientes de lectura del espectrofotómetro y se realiza la lectura a 620 nm, las lecturas deben realizarse en el menor tiempo posible.

c. Determinación de azúcares totales

Se procede de la misma forma que en los azúcares reductores, se toma 01 g de muestra, se agrega 50 ml de agua destilada y 0,5 g de sulfito de sodio; luego se filtra con papel Watman No. 40. Del filtrado se toman 25 ml utilizando una pipeta, luego se agrega 2,5 ml de ácido clorhídrico concentrado, posteriormente se lleva a baño María a una temperatura de 65 a 70 °C por 5 min. Es muy importante que no pase de esta temperatura para evitar la hidrólisis de los almidones, seguidamente se neutraliza con soda 4 N.

Los 25 ml de solución neutralizada son colocados en una fiola de 50 ml, enrasándose con agua destilada y agitándose para homogeneizar la mezcla (solución). Se toma 01 ml de solución problema y se completa a 02 ml con agua destilada, agregándose seguidamente 06 ml de reactivo de Ross, se calienta exactamente por 06 min., se enfría y se hace la lectura en el espectrofotómetro a 620 nm.

d. Determinación de almidones

Se toma 0,5 g de muestra en un erlenmeyer de 250 ml, luego se agrega 10 ml de ácido clorhídrico al 5% y se lleva al autoclave por 45 min. a 15 lb/ pulg² de presión manométrica y 121 °C. Luego de esta hidrólisis se neutraliza con soda 4 N, pasándose a una fiola de 250 ml, se enrasa con agua destilada, y se agita. Se toma 0,5 ml de solución problema con una pipeta y se coloca en un tubo de prueba, añadiéndose 1,5 ml de agua destilada y 06 ml de reactivo de Ross. Se calienta por 06 min., se enfría y se realiza la lectura en el espectrofotómetro a 620 nm.

e. Cálculos

Los cálculos dependen de la cantidad de muestra tomada inicialmente para los análisis, de las alícuotas y de la respectiva equivalencia en mg/ml

A continuación se presenta una tabla de equivalencias entre la alícuota de solución patrón tomada y la cantidad de mg de glucosa presente en cada alícuota:

ml de solución patrón	mg de glucosa
0,1	0,11
0,5	0,35
1,0	1,10
2,0	2,20

Al elaborar la curva patrón se plotea en la ordenada la absorbancia y en la abcisa la concentración de glucosa en mg. Al conjunto de datos se puede aplicar una ecuación de regresión lineal, que para nuestro caso es la siguiente:

$$A = -0,045098 + 0,36667 \text{ mg}$$

$$Y = -0,045098 + 0,36667 X$$

$$X = \frac{Y + 0,045098}{0,36667}$$

Es decir si tenemos una lectura de 0,4334 de absorbancia (trasformada de transmitancia); la concentración en mg de glucosa en esa muestra será 1,2695 mg de glucosa.

1. Cálculos para azúcares reductores

Supongamos que se tuvo una lectura de 0,04897, la Concentración en mg de glucosa (azúcares reductores), es 0,24957

Se tomó:

0,5 g de yuca ----- 50 ml

X g de yuca ----- 2 ml

X = 0,02 g de yuca

0,02 g de yuca ----- 0,24957 mg de A.R.

100 g de yuca ----- X

X = 1247 mg de A.R./ 100 g de yuca

X = 1,247 g de A.R./ 100 g de yuca

X = 1,247 % de azúcares reductores

2. Cálculos de azúcares totales

Supongamos una lectura de 0,5273, la Concentración en mg de glucosa (azúcares totales A.T.), es: 1,51863

Se tomó:

1 g de yuca ----- 50 ml

X g de yuca ----- 25 ml

$$X = 0,5 \text{ g de yuca}$$

0,5 g de yuca ----- 50 ml

X g de yuca ----- 1 ml

$$X = 0,01 \text{ g de yuca}$$

0,01 g de yuca ----- 1,51863 g de A.T.

100 g de yuca ----- X

X = 15,186 mg de A.T.

$$X = 15,18 \% \text{ de Azúcares Totales}$$

3. Cálculos para almidones

Supongamos una lectura de 0,2485; la concentración en mg de glucosa (almidón AL), es: 0,77895

Se tomó:

0,5 g de yuca ----- 250 ml

X g de yuca ----- 0,5 ml

$$X = 0,001 \text{ g de yuca}$$

0,001 g de yuca ----- 0,77895 mg de AL

100 g de yuca ----- X

X = 7 894,73 mg de AL

X = 77,89 g de AL

Antes se tiene que usar el factor 0,9

$$X = (77,89 - A.T.) \times 0,9$$

$$X = (77,89 - 15,18) \times 0,9$$

X = 56,44 g de almidón/ 100 g de yuca

$$X = 56,44 \% \text{ de almidón}$$

Cuando se toma una muestra en base seca hay que tener en cuenta su transformación a base húmeda.

ANEXO 2

BIOCON DEL PERU S.A.

A. INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

CANALPHA

INTRODUCCIÓN

CANALPHA es una preparación de alfa amilasa producida a partir del Bacillus subtilis.

TIPO DE PRODUCTO/
ACTIVIDAD:

Este producto se encuentra disponible en dos presentaciones: como polvo soluble y como líquido, con un rango de actividad máxima 600 000 u/ml ó 5×10^6 u/g

Canalphi 180L	Líquido	180,000 u/ml
Canalphi 240L	Líquido	240,000 u/ml
Canalphi 245	Polvo	345,000 u/g

La actividad es medida como Unidades Estándar de BIOCON cuyo procedimiento está disponible a su solicitud.

APLICACIONES

1. Procesamiento industrial de Almidón
2. Industria Cervecera
3. Destilerías

APROBACIÓN

CANALPHA está aprobado para su uso en productos alimenticios de acuerdo a las especificaciones de M.A.F.F.

SEGURIDAD Y MANIPULEO

Debe evitarse la inhalación del producto en polvo y el contacto prolongado con las preparaciones de la enzima. En caso de derrames o contacto accidental se debe lavar el área afectada con abundante agua. El manual de seguridad se encuentra disponible a su solicitud.

B. APLICACIÓN DEL PRODUCTO

CANALPHA EN LA INDUSTRIA CERVECERA

INTRODUCCIÓN

CANALPHA es una preparación de alfa amilasa producida por fermentación del *Bacillus subtilis*.

PERFIL DE ACTIVIDAD

La temperatura óptima para la CANALPHA es 80° C, con una actividad mayor al 80 % en el rango de 55 - 85° C.

El pH óptimo para la CANALPHA es de 6.0, con una actividad mayor del 80 % en el rango de 4,7 - 6,5.

DOSIS

La dosis recomendada para la CANALPHA es variable y depende de las condiciones del amasado, actividad de la enzima, etc.

La dosis para CANALPHA 240L puede estar en el rango de 0,04 - 0,06 % y para CANALPHA 600P en el rango de 0,016 - 0,024 %.

SERVICIO TÉCNICO

Los servicios técnicos de los Laboratorios de BIOCON estarán encantados de responder sobre algunos problemas particulares que pueden ocurrir durante el proceso.

ALMACENAJE/ VIDA EN ANAQUEL

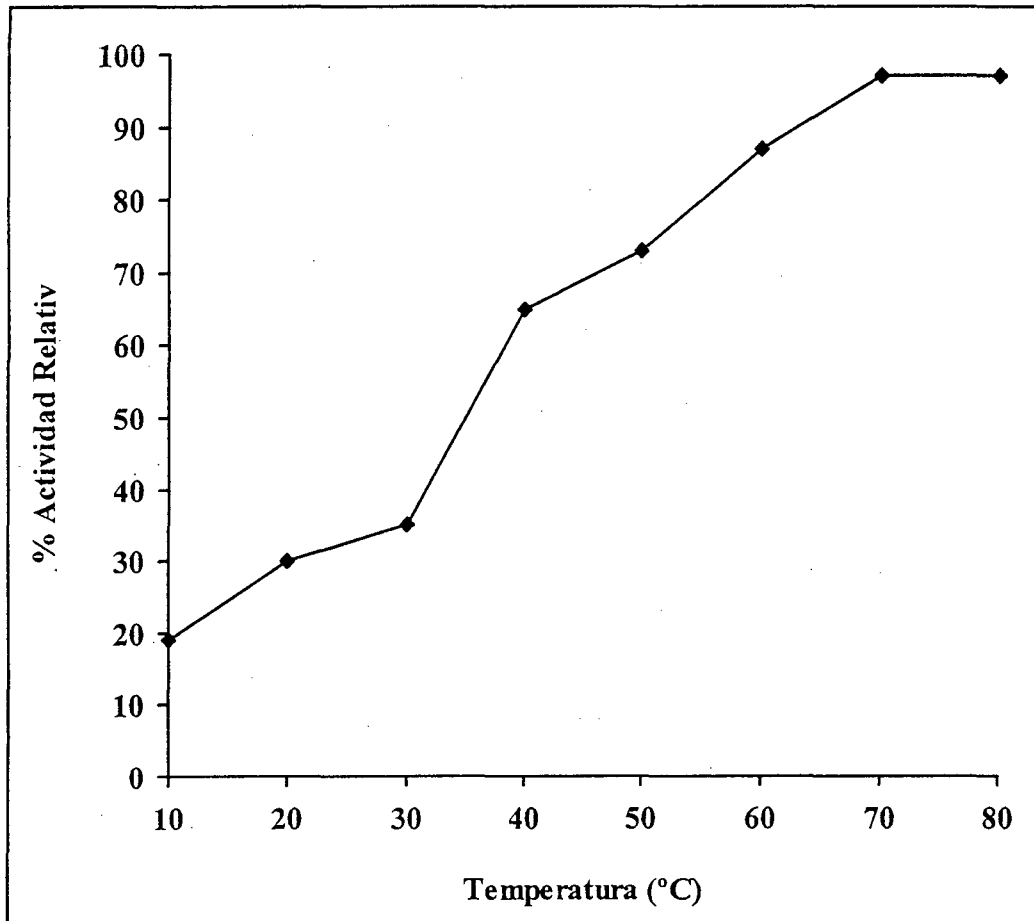
CANALPHA es una preparación de enzima extremadamente estable perdiéndose un 5% de su actividad en el almacenamiento 20° C. El almacenamiento entre 5 - 10° C aumenta la vida útil de este producto.

EMPAQUES

El empaqueo estándar para CANALPHA en polvo está entre 25Kg a 40Kg en embalajes de fibra, pero el producto puede ser despachado en paquetes individuales de acuerdo a los requerimientos de los clientes. CANALPHA líquido esta empacado en envases cilíndricos de plástico de 25 Kg

BIOCON DEL PERÚ S.A.

PERFIL DE TEMPERATURA PARA LA CANALPHA



CONDICIONES:

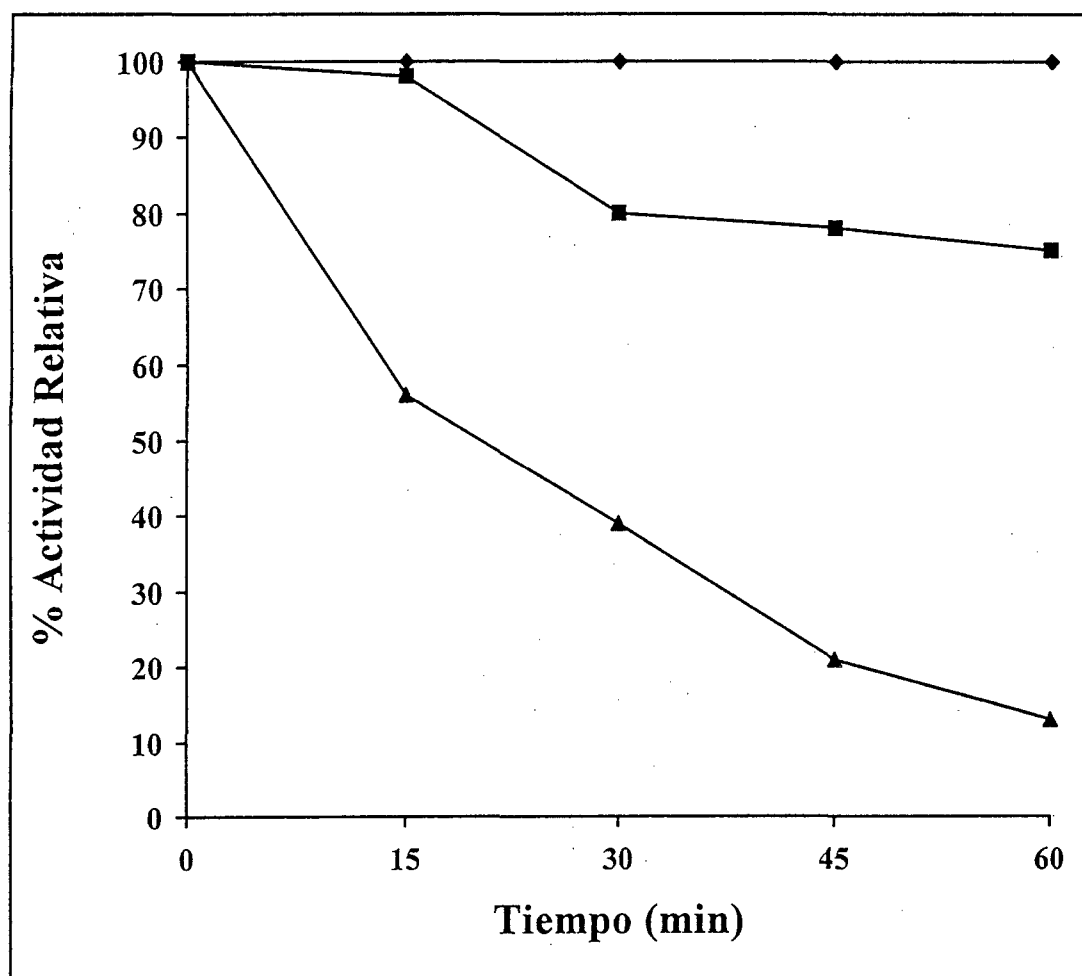
Sustrato : Almidón

pH : 6,0

ANEXO 4

BIOCON DEL PERÚ S.A.

ESTABILIDAD DE LA CANALPHA FRENTE A LA TEMPERATURA



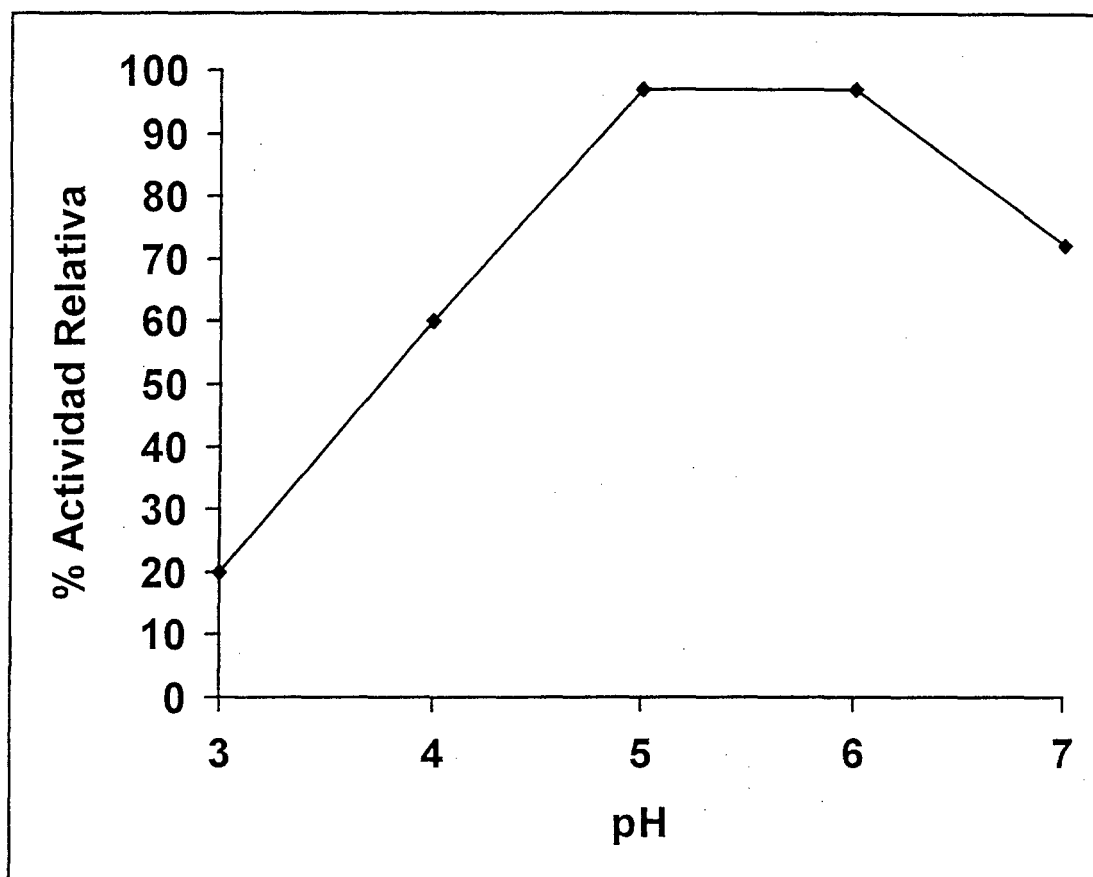
CONDICIONES:

Sustrato : Almidón (0,69 %)

pH : 6,0

BIOCON DEL PERÚ S.A.

PERFIL DE pH PARA LA CANALPHA



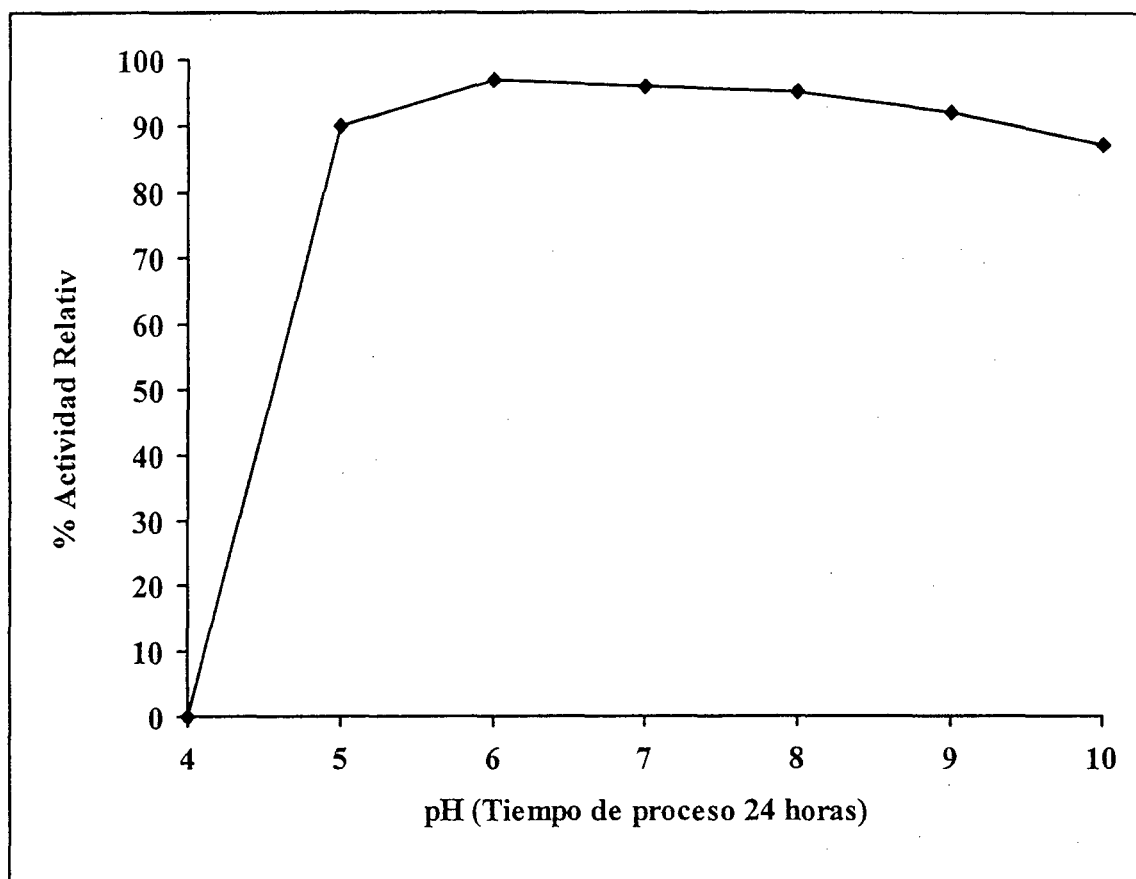
CONDICIONES:

Sustrato : Almidón (0,69 %)

Temperatura : 40 °C

BICON DEL PERÚ S.A.

ESTABILIDAD DE LA CANALPHA FRENTE AL pH



CONDICIONES

Sustrato : Almidón (0,69 %)

Temperatura : 40 °C

ANEXO 7

**TOTALES DE RANGOS REQUERIDOS PARA UN NIVEL DE SIGNIFICANCIA
AL NIVEL DEL 5%
($p \leq 0.05$)**

Los bloques de cuatro cifras representan:

(Primer renglón) :Suma mínima insignificante, cualquier tratamiento; máxima suma según rangos insignificantes, cualquier tratamiento.

(Segundo renglón): Mínima suma de rangos insignificante, tratamiento predeterminado; máxima suma de rangos insignificante, tratamiento predeterminado.

NR = Número de repeticiones.

Tabla de 2 a 8 tratamientos.

NÚMERO DE TRATAMIENTOS O MUESTRAS ORDENADAS							
NR	2	3	4	5	6	7	8
11	13 - 20	16 - 28	19 - 36	22 - 44	25 - 52	28 - 60	31 - 68
	14 - 19	18 - 26	21 - 34	25 - 41	29 - 48	33 - 55	37 - 62
12	15 - 21	18 - 30	21 - 39	25 - 47	28 - 56	31 - 65	34 - 74
	15 - 21	19 - 29	34 - 36	28 - 44	32 - 52	37 - 59	41 - 67
13	16 - 23	20 - 32	24 - 41	27 - 51	31 - 60	35 - 69	38 - 79
	17 - 22	21 - 31	26 - 39	31 - 47	35 - 56	40 - 64	45 - 72
14	17 - 25	22 - 34	26 - 44	30 - 54	34 - 64	38 - 74	42 - 84
	18 - 24	23 - 33	28 - 42	33 - 51	38 - 60	44 - 68	49 - 77
15	19 - 26	23 - 37	28 - 47	32 - 58	37 - 68	41 - 79	46 - 89
	19 - 26	25 - 35	30 - 45	36 - 54	42 - 63	47 - 73	53 - 82
16	20 - 28	25 - 39	30 - 50	35 - 61	40 - 72	45 - 83	49 - 95
	21 - 27	27 - 37	33 - 47	39 - 57	45 - 67	51 - 77	57 - 87
17	22 - 29	27 - 41	32 - 53	38 - 64	43 - 76	48 - 88	53 - 100
	22 - 29	28 - 40	35 - 50	41 - 61	48 - 71	54 - 82	61 - 92
18	23 - 31	29 - 43	34 - 56	40 - 68	46 - 80	51 - 93	57 - 105
	24 - 30	30 - 42	37 - 53	44 - 64	51 - 75	58 - 86	65 - 97
19	24 - 33	30 - 46	37 - 58	43 - 71	49 - 84	55 - 97	61 - 110
	25 - 32	32 - 44	39 - 56	47 - 67	54 - 79	62 - 90	69 - 102

Fuente : Anzaldúa (1994)

ANEXO 7(A)
FICHA DE EVALUACIÓN
PARA LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO

NOMBRE	FECHA	
PRODUCTO	HORA	
<u>INSTRUCCIONES</u>		
Sírvase valorar el SABOR de la bebida que se le presenta. Marque con número del 1 al 3, el orden en que deberían estar las muestras de acuerdo con su preferencia		
936	508	702
Comentarios _____		

NOMBRE	FECHA	
PRODUCTO	HORA	
<u>INSTRUCCIONES</u>		
Sírvase valorar el AROMA de la bebida que se le presenta. Marque con número del 1 al 3, el orden en que deberían estar las muestras de acuerdo con su preferencia		
162	736	516
Comentarios _____		

Anexo 7 (B)

TABLAS DE DISTRIBUCIÓN F (Al 5%)

n_1 = Grados de Libertad para el numerador

n_2 = Grados de Libertad para el denominador.

$n_1 \backslash n_2$	1	2	3	4	5	6	8	12	24	∞
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	238,9	243,9	249,0	255,0
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,37	19,41	19,50	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,84	8,74	8,64	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,04	5,91	5,77	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,82	4,68	4,53	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,15	4,00	3,84	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,73	3,57	3,41	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,44	3,28	3,12	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,23	3,07	2,90	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,07	2,91	2,74	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	2,95	2,79	2,61	2,40
12	4,75	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,85	2,69	2,50	2,30
13	4,67	3,80	3,41	3,18	3,02	2,92	2,77	2,60	2,42	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,70	2,53	2,35	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,64	2,48	2,29	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,59	2,42	2,24	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,55	2,38	2,19	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,51	2,34	2,15	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,48	2,31	2,11	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,45	2,28	2,08	1,84
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,42	2,25	2,05	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,40	2,23	2,03	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,38	2,20	2,00	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,36	2,18	1,98	1,73
25	4,24	3,38	2,99	2,76	2,60	2,49	2,34	2,16	1,96	1,71
26	4,22	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,32	2,15	1,95	1,69
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,30	2,13	1,93	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,44	2,29	2,12	1,91	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,54	2,43	2,28	2,10	1,90	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,27	2,09	1,89	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,18	2,00	1,79	1,51
60	4,00	3,15	2,76	2,52	2,37	2,25	2,10	1,92	1,70	1,39
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,02	1,83	1,61	1,25
∞	3,84	2,99	2,60	2,37	2,21	2,09	1,94	1,75	1,52	1,00

ANEXO 7 (C)

TABLA DE RANGOS "ESTUDENTIZADOS" SIGNIFICATIVOS

PARA UN NIVEL DEL 5%

NUMERO DE TRATAMIENTOS

Tabla de 2 a 8 tratamientos:

Grados de Libertad	2	3	4	5	6	7	8
1	18,00	26,70	32,80	37,20	40,50	43,10	45,40
2	6,09	8,28	9,80	10,89	11,73	12,43	13,03
3	4,50	5,88	6,83	7,51	8,04	8,47	8,85
4	3,93	5,00	5,76	6,31	6,73	7,06	7,35
5	3,61	4,54	5,18	5,64	5,99	6,28	6,52
6	3,46	4,34	4,90	5,31	5,63	5,89	6,12
7	3,34	4,16	4,68	5,06	5,35	5,59	5,80
8	3,26	4,04	4,53	4,89	5,17	5,40	5,60
9	3,20	3,95	4,42	4,76	5,02	5,24	5,43
10	3,15	3,88	4,33	4,66	4,91	5,12	5,30
11	3,11	3,82	4,26	4,58	4,82	5,03	5,20
12	3,08	3,77	4,20	4,51	4,75	4,95	5,12
13	3,06	3,73	4,15	4,46	4,69	4,88	5,05
14	3,03	3,70	4,11	4,41	4,64	4,83	4,99
15	3,01	3,67	4,08	4,37	4,59	4,78	4,94
16	3,00	3,65	4,05	4,34	4,56	4,74	4,90
17	2,98	3,62	4,02	4,31	4,52	4,70	4,86
18	2,97	3,61	4,00	4,28	4,49	4,67	4,83
19	2,96	3,59	3,98	4,26	4,47	4,64	4,79
20	2,95	3,58	3,96	4,24	4,45	4,62	4,77
24	2,92	3,53	3,90	4,17	4,37	4,54	4,68
30	2,89	3,48	3,84	4,11	4,30	4,46	4,60
40	2,86	3,44	3,79	4,04	4,23	4,39	4,52
60	2,83	3,40	3,74	3,98	4,16	4,31	4,44
120	2,80	3,36	3,69	3,92	4,10	4,24	4,36
∞	2,77	3,32	3,63	3,86	4,03	4,17	4,29

ANEXO 7 (E)

**TABLA PARA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS
DE LA PRUEBA TRIANGULAR**

Número de Jueces	Número de respuestas correctas necesario para establecer diferencias significativas		
	NIVEL DE SIGNIFICANCIA		
	5%	1%	0.1%
7	5	6	7
8	6	7	8
9	6	7	8
10	7	8	9
11	7	8	9
12	8	9	10
13	8	9	10
14	9	10	11
15	9	10	12
16	10	11	12
17	10	11	13
18	10	12	13
19	11	12	14
20	11	13	14
21	12	13	15
22	12	14	15
23	13	14	16
24	13	14	16
25	13	15	17
26	14	15	17
27	14	16	18
28	15	16	18
29	15	17	19
30	16	17	19

ANEXO 7(F)
FICHA DE EVALUACIÓN PARA
LA PRUEBA TRIANGULAR

NOMBRE MUESTRA

EDAD CODIGO

INSTRUCCIONES

Usted tiene tres muestras, de las cuales dos son iguales entre sí en cuanto al sabor.
Pruebe las muestras como lo hace siempre, tanto como desee. Después indique cual es la muestra diferente.

Marque con una "X" la muestra diferente

179

725

114

Comentarios _____

ANEXO 8
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DILUCIÓN,
DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL MASATO; SIN UTILIZAR LEVADURA

PANELISTAS	DILUCIÓN								
	1:1			1:2			1:3		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	3	3	3	1	2	2	2	1	1
2	2	3	3	1	2	2	3	1	1
3	2	2	2	1	1	1	3	3	3
4	1	1	1	2	2	2	3	3	3
5	1	2	2	2	1	1	3	3	3
6	1	1	2	1	2	2	3	3	3
7	3	3	3	1	1	2	2	2	1
8	2	3	3	1	2	1	3	1	2
9	3	2	1	1	1	2	2	3	3
10	2	1	1	1	2	2	3	3	3
11	3	3	3	1	2	2	2	1	1
12	3	2	3	1	3	2	2	1	1
13	3	1	3	2	2	2	1	3	1
14	1	1	1	2	2	2	3	3	3
15	2	2	1	1	1	3	3	3	2
16	3	3	2	1	1	1	2	2	3
17	2	2	3	1	1	2	3	3	1
18	1	1	3	2	2	1	3	3	2
TOTALES	38	36	40	23	30	32	46	42	37
PROMEDIOS	38,00			28,33			41,67		

ANEXO 9
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL pH
EN LA FERMENTACIÓN DEL MASATO; SIN UTILIZAR LEVADURA

PANELISTAS	pH								
	3,0			3,8			4,5		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	1	1	3	2	2	1	3	3	2
2	1	1	1	2	2	2	3	3	3
3	3	3	3	2	2	2	1	1	1
4	1	1	2	2	2	3	3	3	1
5	1	3	3	2	2	1	3	1	2
6	1	2	3	3	1	1	2	3	2
7	3	3	3	2	2	2	1	1	1
8	1	1	1	2	2	3	3	3	2
9	1	2	1	2	1	3	3	3	2
10	3	3	1	1	2	2	2	1	3
11	3	3	3	2	2	1	1	1	2
12	1	1	3	2	3	2	3	2	1
13	1	2	1	3	1	3	2	3	2
TOTALES	21	26	28	27	24	26	30	28	24
PROMEDIOS	25,00			25,67			27,33		

ANEXO 10
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE GRADOS BRUX
EN LA FERMENTACIÓN DEL MASATO; SIN UTILIZAR LEVADURA

PANELISTAS	GRADOS BRUX								
	12			13			14		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	1	2	3	2	3	1	3	1	2
2	3	2	3	2	3	2	1	1	1
3	2	1	1	1	2	3	3	3	2
4	2	3	3	3	2	2	1	1	1
5	3	3	3	2	2	2	1	1	1
6	3	2	3	2	1	1	1	3	3
7	3	2	3	2	1	2	1	3	1
8	1	3	3	2	2	2	3	1	1
9	3	2	3	2	3	2	1	1	1
10	3	3	3	1	1	1	2	2	2
11	2	1	3	3	3	2	1	2	1
12	2	1	2	3	3	3	1	2	1
13	3	3	3	2	2	2	1	1	1
14	3	2	3	2	3	2	1	1	1
15	3	3	3	2	2	1	1	1	2
16	2	1	3	1	2	1	3	3	2
TOTALES	39	34	45	32	35	29	25	27	23
PROMEDIOS	39,33			32,00			25,00		

ANEXO 11
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DILUCIÓN ÓPTIMA
DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL MASATO; UTILIZANDO LEVADURA

PANELISTAS	DILUCIÓN								
	1:1			1:2			1:3		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	3	2	3	1	1	1	2	3	2
2	2	3	3	1	2	1	3	1	2
3	3	3	3	1	1	1	2	2	2
4	3	3	2	2	1	1	1	2	3
5	2	3	3	1	1	2	3	2	1
6	3	2	3	1	3	1	2	1	2
7	3	2	3	2	1	1	1	3	2
8	3	3	2	1	1	1	2	2	3
9	1	3	3	2	1	2	3	2	1
10	2	2	3	1	1	1	3	3	2
11	3	3	2	1	2	1	2	1	3
12	3	3	3	1	2	1	2	1	2
13	3	2	3	2	1	1	1	3	2
14	2	3	3	1	1	2	3	2	1
15	3	3	2	1	1	1	2	2	3
16	3	3	3	1	1	1	2	2	2
17	3	2	2	2	3	1	1	1	3
18	2	3	3	1	1	2	3	2	1
TOTALES	47	48	49	23	25	22	38	35	37
PROMEDIOS	48,00			23,33			36,67		

ANEXO 12
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL pH
EN LA FERMENTACIÓN DEL MASATO: UTILIZANDO LEVADURA

PANELISTAS	pH								
	3,5			3,8			4,5		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	2	3	3	1	2	1	3	1	2
2	3	3	2	1	1	1	2	2	3
3	3	3	3	2	1	2	1	2	1
4	1	3	3	2	1	1	3	2	2
5	1	2	2	3	1	1	2	3	3
6	2	3	3	1	2	1	3	1	2
7	2	2	3	1	1	1	3	3	2
8	3	2	3	2	2	1	1	3	2
9	3	3	2	2	2	3	1	1	1
10	3	2	1	1	1	2	2	3	3
11	2	3	3	1	1	1	3	2	2
12	2	2	2	1	3	1	3	1	3
13	3	3	3	1	1	2	2	2	1
TOTALES	30	34	33	19	19	18	29	26	27
PROMEDIOS	32,33			18,67			27,33		

ANEXO 13

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS GRADOS BRUX ÓPTIMOS EN LA FERMENTACIÓN DEL MASATO; UTILIZANDO LEVADURA

PANELISTAS	GRADOS BRUX								
	12			13			14		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	2	3	2	1	2	1	3	1	3
2	2	3	2	1	1	1	3	2	3
3	3	2	3	2	1	1	1	3	2
4	3	3	3	2	2	1	1	1	2
5	3	3	2	1	2	1	2	1	3
6	3	2	3	1	1	1	2	3	2
7	3	3	2	2	1	1	1	2	3
8	1	2	1	3	1	3	2	3	2
9	2	3	1	1	1	2	3	2	3
10	1	3	3	2	2	2	3	1	1
11	2	1	3	1	2	2	3	3	1
12	3	2	1	1	1	2	2	3	3
13	2	3	3	1	2	2	3	1	1
14	3	3	2	2	2	1	1	1	3
15	2	2	3	3	1	1	1	3	2
16	2	1	2	3	2	1	1	3	3
TOTALES	37	39	36	27	24	23	32	33	37
PROMEDIOS	37,33			24,67			34,00		

ANEXO 14

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO
PARA LA EVALUACION DEL SABOR DE TRES MUESTRAS

PANELISTAS	S			A			B			O			R		
	Con Levadura			Sin Levadura			Comercial								
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
1	3	1	2	2	2	3	1	3	1						
2	1	3	3	3	1	2	2	2	1						
3	3	3	3	1	1	1	2	2	2						
4	3	3	1	1	2	2	2	1	3						
5	3	2	3	2	1	2	1	3	1						
6	2	3	3	1	2	2	3	1	1						
7	3	3	3	2	2	2	1	1	1						
8	3	2	1	2	1	2	1	3	3						
9	3	3	3	1	2	1	2	1	2						
10	2	3	3	1	2	2	3	1	1						
11	1	3	3	2	2	1	3	1	2						
12	3	1	1	1	2	2	2	3	3						
13	3	2	2	2	1	3	1	3	1						
14	3	1	3	2	3	1	1	2	2						
15	3	2	3	2	1	1	1	3	2						
16	1	2	3	3	3	1	2	2	1						
17	1	3	3	3	1	2	2	2	1						
18	2	3	3	1	2	1	3	1	2						
TOTALES	43	43	46	32	31	31	33	35	30						
PROMEDIOS	44,00			31,33			32,67								

ANEXO 15

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO
PARA LA EVALUACION DEL AROMA DE TRES MUESTRAS

PANELISTAS	A			R			O			M			A		
	Con Levadura			Sin Levadura			Comercial								
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
1	3	2	2	1	1	1	2	3	3						
2	3	3	2	1	2	3	2	1	1						
3	3	3	3	2	2	2	1	1	1						
4	2	3	3	1	2	2	3	1	1						
5	3	3	3	2	1	2	1	2	1						
6	3	2	3	2	1	1	1	3	2						
7	2	3	3	1	2	1	3	1	2						
8	3	1	1	2	2	2	1	3	3						
9	2	3	2	1	2	1	3	1	2						
10	1	3	1	2	2	2	3	1	3						
11	3	1	2	2	3	3	1	2	1						
12	3	3	3	2	2	2	1	1	1						
13	1	3	1	2	2	2	3	1	3						
14	3	3	3	2	2	2	1	1	1						
15	2	2	2	1	1	1	3	3	3						
16	1	3	3	2	1	2	3	2	1						
17	3	2	2	2	1	1	1	3	3						
18	3	3	3	2	2	2	1	1	1						
TOTALES	44	46	42	30	31	32	34	31	33						
PROMEDIOS	44,00			31,00			32,67								

ANEXO 16

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO
PARA LA EVALUACION DEL COLOR DE TRES MUESTRAS

PANELISTAS	C			O			R		
	Con Levadura			Sin Levadura			Comercial		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	2	1	2	1	2	1	3	3	3
2	3	1	1	2	2	2	1	3	3
3	2	2	2	1	3	3	3	1	1
4	1	2	2	2	3	3	3	1	1
5	3	3	3	2	2	2	1	1	1
6	2	3	2	1	2	1	3	1	3
7	1	2	2	3	1	1	2	3	3
8	3	2	2	1	3	3	2	1	1
9	2	1	1	1	2	2	3	3	3
10	1	1	1	3	2	2	2	3	3
11	1	2	2	3	1	1	2	3	3
12	2	1	2	3	3	3	1	2	1
13	2	1	1	3	2	2	1	3	3
14	2	2	2	3	1	3	1	3	1
15	3	2	2	2	1	3	1	3	1
16	3	3	3	1	2	2	2	1	1
17	2	3	3	1	2	2	3	1	1
18	2	1	2	1	3	1	3	2	3
TOTALES	37	33	35	34	37	37	37	38	36
PROMEDIOS	35,00			36,00			37,00		

ANEXO 17

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ORDENAMIENTO
PARA LA EVALUACION DE LA TEXTURA DE TRES MUESTRAS

PANELISTAS	T E X			T U R			A		
	Con Levadura			Sin Levadura			Comercial		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	1	1	1	2	2	2	3	3	3
2	1	1	1	2	2	2	3	3	3
3	2	2	2	3	3	3	1	1	1
4	1	1	1	2	2	2	3	3	3
5	2	2	2	1	1	1	3	3	3
6	1	3	3	3	2	2	2	1	1
7	1	2	2	2	1	3	3	3	1
8	1	1	1	2	2	2	3	3	3
9	2	2	2	1	1	1	3	3	3
10	2	2	2	1	1	1	3	3	3
11	2	2	2	1	1	1	3	3	3
12	2	2	1	1	1	2	3	3	3
13	3	1	1	2	2	2	1	3	3
14	2	1	3	1	2	2	3	3	1
15	3	1	3	2	2	2	1	3	1
16	3	3	3	2	2	1	1	1	2
17	2	2	2	1	3	1	3	1	3
18	2	2	2	1	3	1	3	1	3
TOTALES	33	31	34	30	33	31	45	44	43
PROMEDIOS	32,67			31,33			44,00		

ANEXO 18

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA
CANTIDAD ÓPTIMA DE LEVADURA DE PANIFICACIÓN

Cálculo de los grados de libertad de Tratamiento:

$$GL_t = t - 1;$$

donde t = número de tratamientos

$$GL_t = 3 - 1 = 2$$

$$GL_t = 2$$

Cálculo de los Grados de libertad de los Panelistas:

$$GL_p = p - 1$$

donde p = número de panelistas

$$GL_p = 18 - 1 = 17$$

$$GL_p = 17$$

Cálculo de los Grados de libertad totales:

$$GL_T = t \times p - 1 = 18 \times 3 - 1 = 53$$

$$GL_T = 53$$

Cálculo de los Grados de libertad residual:

$$GL_r = GL_T - GL_t - GL_p = 53 - 2 - 17 = 34$$

$$GL_r = 34$$

Cálculo del Factor de Corrección:

$$FC = \frac{(\text{Suma Total})^2}{(18)(3)} = \frac{65.244,48}{54} = 1.208,62$$

$$FC = 1208,62$$

Cálculo de la suma de cuadrados de Tratamiento:

$$SC_t = \frac{(Tc1^2 + Tc2^2 + Tc3^2)}{p} - FC$$

donde: Tc1, Tc2 y Tc3 son los totales de las columnas

$$SC_t = \frac{97,95^2 + 93,77^2 + 63,72^2}{18} - 1.208,62 = \frac{22.447,25}{18} - 1208,62$$

$$SC_t = 38,81$$

Cálculo de la suma de cuadrados de Panelistas (SC_p):

$$SC_p = \frac{Tf1^2 + Tf2^2 + \dots + Tfp^2}{t} - FC$$

donde: Tf1, Tf2, ... , Tfp son los totales de las filas

$$SC_p = \frac{(16,26 + 11,82 + \dots + 10,08)}{3} - FC$$

$$SC_p = 89,14$$

Cálculo de la suma de cuadrados Totales (SC_T):

SC_T = Suma de cada observación al cuadrado - FC

$$SC_T = 4,62^2 + 4,13^2 + \dots + 6,72^2 + 1,00^2 - 1208,52 = 297,06$$

$$SC_T = 297,06$$

Cálculo de la suma de cuadrados Residual (SC_r):

$$SC_r = SC_T - SC_t - SC_p$$

$$SC_r = 297,06 - 38,81 - 89,14 = 169,11$$

$$SC_r = 169,11$$

Calculo de la Varianza debida al Tratamiento (V_t):

$$V_t = \frac{SC_t}{Gl_t} = V_t = \frac{38,81}{2} = 19,40$$

$$V_t = 19,40$$

Calculo de la Varianza debida a los Panelistas (V_p):

$$V_p = \frac{SC_p}{GL_p} = V_p = \frac{89,14}{17} = 5,24$$

$$V_p = 5,24$$

Calculo de la Varianza Residual (V_r):

$$V_r = \frac{SC_r}{GL_r}$$

$$V_r = \frac{169,11}{34} = 4,97$$

$$V_r = 4,97$$

Cálculo del valor de F para el Tratamiento:

$$F_t = \frac{V_v}{V_r}$$

$$F_t = \frac{19,40}{4,97} = 3,90$$

$$F_t = 3,90$$

Cálculo del valor de F para los panelistas:

$$F_p = \frac{V_p}{V_r}$$

$$F_p = \frac{5,24}{4,97} = 1,05$$

$$F_p = 1,05$$

Diferencias entre Tratamientos:

Para determinar si existen diferencias significativas entre tratamientos, encontramos el valor de F en la tabla del Anexo 7(B), teniendo en cuenta los grados de libertad del tratamiento en el numerador (2 para nuestro caso) y los grados de libertad residual en el denominador (34 en nuestro caso). Luego por medio de interpolación encontramos el siguiente valor de F:

$$F_{(2,34;5\%)} = 3,28$$

Como el F de Tablas (3.28) es menor que el F calculado ($F_t = 3,90$) esto significa que existen diferencias significativas al 5% entre tratamientos (porcentaje de levadura en nuestro caso). Por lo que se tendrá que realizar la **prueba de Tukey**. Para lo cual realizamos los siguientes cálculos:

Primeramente calculamos las medias de los tratamientos:

	1%	2%	3%
Medias	5,44	5,21	3,54

Luego se ordenan de mayor a menor, en nuestro caso están ordenados.

Después se calcula el **error estándar** (ϵ), el cual es igual a:

$$\varepsilon = \sqrt{\frac{CM_e}{p}}$$

donde: CM_e = Varianza residual (V_r)

$$\varepsilon = \sqrt{\frac{4,97}{18}} = 0,53$$

$$\varepsilon = 0,53$$

Luego consultamos en la tabla del Anexo 7(C), con el número de tratamientos (2 en nuestro caso) y los grados de libertad del error ($Gl_r = 34$, en nuestro caso). El valor obtenido se denomina RES, luego:

$$RES_{(2,34;5\%)} = 2,88$$

Luego determinamos la **Diferencia Mínima Significativa (D.M.S.)**:

$$D.M.S. = \varepsilon (RES)$$

$$D.M.S. = 0,53(2,88) = 1,53$$

$$D.M.S. = 1,53$$

Después comparamos las diferencias entre las medias, y aquellas diferencias que sean mayores que D.M.S. se consideran significativas.

$$(1\%) - (3\%) = 5,44 - 3,54 = 1,90 > 1,53 \quad \text{Si hay diferencia}$$

$$(1\%) - (2\%) = 5,44 - 5,21 = 0,23 < 1,53 \quad \text{NO HAY DIFERENCIA}$$

$$(2\%) - (3\%) = 5,21 - 3,54 = 1,67 > 1,53 \quad \text{Si hay diferencia.}$$