

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA



CENTRO DE POSTGRADOS

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES

PROYECTO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN AGROINDUSTRIA MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES.

PROYECTO DE INNOVACIÓN:

-“FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE *Manihot esculenta* CON EL USO DE
Rhizopus sp., PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA”.-

AUTOR (A):

Ing. JOSSELYN PAULINA PICO POMA

DIRECTOR DEL PROYECTO:

Dr. DAVID SANCHO AGUILERA, *PhD*

PUYO – ECUADOR

2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Josselyn Paulina Pico Poma** con cédula de identidad **1724332117**, declaro ante las autoridades educativas de la Universidad Estatal Amazónica, que el contenido del Proyecto de Innovación titulado: **“FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE *Manihot esculenta* CON EL USO DE *Rhizopus* sp., PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA”**, es absolutamente original, auténtico y personal.

En tal virtud y según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de Innovación son de exclusiva responsabilidad de mi autoría; y que los resultados expuestos pertenecen a la Universidad Estatal Amazónica.



Ing. Josselyn Paulina Pico Poma



AVAL DEL DIRECTOR

Quien suscribe **Dr. DAVID SANCHO AGUILERA**, Director del Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Innovación titulado: **FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE *Manihot esculenta* CON EL USO DE *Rhizopus* sp., PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA** a cargo de la **Ing. JOSSELYN PAULINA PICO POMA** egresado(a) de la primera cohorte de la Maestría en Agroindustria Mención Sistemas Agroindustriales de la Universidad Estatal Amazónica.

Certifico haber acompañado el proceso de elaboración del Proyecto de Innovación y considero cumple los lineamientos y orientaciones establecidas en la normativa vigente de la institución por lo que se encuentra listo para ser sustentado.

Por lo antes expuesto se avala el presente Proyecto de innovación para que sea presentado ante la Dirección de Posgrado como forma de titulación como Magister en Agroindustria Mención Sistemas Agroindustriales y que dicha instancia considere el mismo a fin de que tramite lo que corresponda.

Para que a si conste, firmo la presente a los **21** días del mes de **octubre** de **2018**.

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "David Sancho Aguilera", written over a horizontal line.

Dr. David Sancho Aguilera, PhD.
DIRECTOR DEL PROYECTO



Oficio No. 048-IL-UEA-2018

Puyo, 31 de octubre de 2018

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El trabajo de titulación correspondiente a la ING. JOSSELYN PAULINA PICO POMA, con C.I. 1724332117 con el Tema: "**FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE Manihot esculenta CON EL USO DE Rhizopus sp, PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA**", de la maestría en Agroindustrias, mención Sistemas Agroindustriales, Director de proyecto Dr. David Sancho Aguilera, PhD, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 1 %, Informe generado con fecha 30 de octubre de 2018 por parte del director, conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco MSc.

ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El presente trabajo: “**FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE *Manihot esculenta* CON EL USO DE *Rhizopus sp.*, PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA**”, bajo la responsabilidad de la egresada **Ing. Josselyn Paulina Pico Poma**, ha sido meticulosamente revisada, autorizando su presentación:

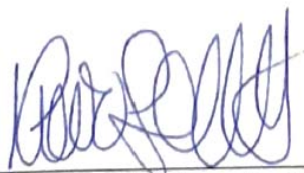
Para constancia firman:



Dr. Manuel Pérez Quintana, *PhD*
PRESIDENTE TRIBUNAL



Dr. Luis Bravo Sánchez, *PhD*
MIEMBRO TRIBUNAL



Dra. Laura Scalvenzi, *PhD*
MIEMBRO TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento:

A la Universidad Estatal Amazónica, por ser el ente que me ha forjado como profesional.

A mi Director de Trabajo de Titulación, Dr. David Sancho Aguilera, PhD., por su confianza y apoyo en el desarrollo de esta investigación.

A mis seres queridos, por su cariño, su apoyo moral y sus buenos deseos de superación.

A todos quienes de alguna forma fueron parte de este proceso y permitieron que el camino sea más fácil, para ver alcanzada una meta más en mi vida.

Para todos y cada uno de ustedes mi eterno agradecimiento...

Josselyn

DEDICATORIA

“El presente trabajo de titulación, está dedicado a la persona más importante en mi vida, a ti Diego:

Que con tu amor y apoyo incondicional, me has ofrecido la seguridad y motivación que necesitaba para superarme en todo momento.

Sin ti, ¡esto no fuera posible!

Gracias por tanto, Mi Amor”.

Josselyn

RESUMEN EJECUTIVO

En el presente trabajo de investigación se evaluó el proceso fermentativo en estado sólido de *Manihot esculenta* Crantz con el uso de *Rhizopus* sp., para la obtención de una bebida. Para la elaboración de la misma se utilizó un diseño experimental, obtenido con el Software StatGraphics Centurion XVI.II (StatPoint Technologies Inc, 2013), empleando un modelo experimental de bloques aleatorizados constituidos por dos factores de estudio: tiempo de fermentación y tamaño de partícula, cada uno con tres niveles (a: 4, 6, 8 días y b: 2, 4, 6 cm). El manejo del experimento se organizó en tres bloques, cada uno con nueve ensayos. La ejecución de cada bloque experimental se realizó con una semana de diferencia. Para la fermentación en estado sólido se preparó el sustrato de *M. esculenta*, según el requerimiento del diseño, es decir cortado en cubos de 2, 4 y 6 cm y cocida a vapor por 60 minutos con el objetivo de gelatinizar el almidón y hacerlo asequible a las enzimas producidas por el microorganismo. Posteriormente se inoculó uniformemente el hongo *Rhizopus* sp., con un spray a través de atomización, disolviendo 8 g de la cepa de *Rhizopus* sp., por litro de agua a 22 °C. Se midieron las siguientes variables de respuesta: °Brix, pH, rendimiento, materia seca (bagazo), proteína (mosto y bagazo), ceniza (bagazo). Para la optimización se establecieron los siguientes criterios: Rendimiento maximizar y Proteína maximizar, obteniendo: el tiempo (días) y el tamaño (cm) óptimos para el diseño de la bebida.

Palabras clave: *Manihot esculenta*, fermentación en estado sólido, *Rhizopus* sp, bebida fermentada.

ABSTRACT

In the present work of investigation the fermentative process in solid state of *Manihot esculenta* Crantz was evaluated with the use of *Rhizopus* sp., for the obtaining of a drink. For the elaboration of the same one an experimental design was used, obtained with the Software StatGraphics Centurion XVI.II (StatPoint Technologies Inc., 2013), using an randomized of blocks experimental model constituted by two factors of study: time of fermentation and size of particle , each with three levels (a: 4, 6, 8 days and b: 2, 4, 6 cm). The management of the experiment was organized in three blocks, each with nine trials. The execution of each experimental block was performed a week apart. For the solid state fermentation, the *M. esculenta*, substrate was prepared, according to the design requirement, that is, in cubes of 2, 4 and 6 cm and steamed for 60 minutes in order to gelatinize the starch and make it available to the enzymes produced by the microorganism. Subsequently, the fungus *Rhizopus* sp., was inoculated uniformly with a spray by atomization, dissolving 8 g of *Rhizopus* sp., per liter of water at 22 ° C. The following response variables were measured: ° Brix, pH, and yield, dry matter (bagasse), protein (must, bagasse), and ash (bagasse). For optimization, the following criteria were established: Maximizing yield and Protein maximizing, obtaining: the optimal time (days) and size (cm) for the design of the beverage.

Key words: *Manihot esculenta*, fermentation in solid state, *Rhizopus* sp, fermented drink.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I	12
INTRODUCCIÓN.....	12
1.1 PROBLEMA	14
1.2 HIPÓTESIS	14
1.3 OBJETIVOS:.....	14
1.3.1 <i>Objetivo General</i>	14
1.3.2 <i>Objetivos Específicos</i>	14
CAPÍTULO II	15
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	15
CAPÍTULO III	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
CAPÍTULO IV	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
A. INFLUENCIA DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA Y EL TIEMPO, EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS SUBPRODUCTOS OBTENIDOS DE LA FES DE <i>MANIHOT ESCULENTA</i>	38
B. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA BEBIDA FINAL.....	46
C. CARACTERIZACIÓN DE LA BEBIDA FINAL.....	47
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIÓN	49
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXOS	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Factores y niveles del experimento	30
Tabla 2 Variables respuesta	34
Tabla 3 Análisis Físico-Químicos realizados a la Bebida Final.....	37
Tabla 4 Análisis químicos de la bebida fermentada de <i>M. esculenta</i>	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Trozos de <i>M. esculenta</i> previo al proceso de cocción.....	32
Figura 2 Recipientes plásticos y materiales utilizados en el proceso de fermentación de <i>M. esculenta</i>	33
Figura 3 Recipientes utilizados en el proceso de filtrado (separación de bagazo - mosto)	33
Figura 4 Porcentaje de materia seca del bagazo, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., con diferentes tamaños de partícula de <i>M. esculenta</i>	38
Figura 5 Porcentaje de materia seca del bagazo, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., en diferentes tiempos de fermentación de <i>M. esculenta</i>	39
Figura 6 Porcentaje de ceniza del bagazo, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., con diferentes tamaños de partícula de <i>M. esculenta</i>	40
Figura 7 Porcentaje de ceniza del bagazo, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., en diferentes tiempos de fermentación de <i>M. esculenta</i>	40
Figura 8 Porcentaje de proteína del bagazo y mosto, obtenidos en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., con diferentes tamaños de partícula de <i>M. esculenta</i>	41
Figura 9 Porcentaje de proteína del bagazo y mosto, obtenidos en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., en diferentes tiempos de fermentación de <i>M. esculenta</i>	42
Figura 10 pH del mosto, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., con diferentes tamaños de partícula de <i>M. esculenta</i>	43
Figura 11 pH del mosto, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., en diferentes tiempos de fermentación de <i>M. esculenta</i>	43
Figura 12 Volumen (L) del mosto, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., con diferentes tamaños de partícula de <i>M. esculenta</i>	45
Figura 13 Volumen (L) del mosto, obtenido en la fermentación por <i>Rhizopus</i> sp., en diferentes tiempos de fermentación de <i>M. esculenta</i>	45
Figura 14 Diagrama flujo - Elaboración bebida de <i>Manihot esculenta</i>	46

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Debido a la necesidad imperante de incrementar y mejorar la producción de los recursos alimenticios en el mundo, hoy en día el hombre tiene como objetivo fundamental incluir, entre sus intereses, el desarrollo de tecnologías que le permitan aprovechar los recursos que tiene en su medio (FAO, 2002; UNCTAD, 2017).

Los productos artesanales y tradicionales han incrementado recientemente su popularidad y su producción, se han propuesto como una importante alternativa de innovación a los actuales sistemas agroalimentarios locales, de países con economías emergentes donde predominan las microempresas, ya que posibilitaría rescatar las tradiciones y agregar valor a los productos típicos más apetecidos por los consumidores, lo que facilitaría el desarrollo de la agroindustria local y mejoraría los ingresos de los pequeños productores rurales (Pastrana *et al.*, 2015).

Meléndez Torres y Cañez De la Fuente, (2010) manifiestan que en general, los alimentos tradicionales están asociados a un territorio y cultura específica. Estos productos se elaboran por medio de procesos empíricos propios del desarrollo espontáneo transmitido mediante tradición oral de generación en generación.

En este contexto, es importante destacar que la agroindustria juega un papel importante en el desarrollo y perfeccionamiento de nuevas técnicas en la producción agroalimentaria. Los avances en la ciencia, han hecho que varios procesos y técnicas de producción tradicional, en la actualidad sean considerados como alternativas de optimización y rendimiento en la producción de alimentos. Una de las técnicas para la conservación de los alimentos que ha prevalecido en el tiempo es el uso de las fermentaciones, la más antigua forma de biotecnología alimentaria, conocida por el hombre (Ray y Joshi, 2014).

Según Bustamante *et al.* (1993); Acosta y Zoria (2012), indican que en la región amazónica ecuatoriana, la agricultura tiene una importancia significativa como un recurso para garantizar la seguridad alimentaria, principalmente de los pueblos indígenas de esta región. Entre ellos el cultivo de *Manihot esculenta*, considerado como un referente de la riqueza ancestral de los pueblos amazónicos, quienes la cultivan en sus chacras (Arias *et al.*, 2016), con el fin de utilizarla en la elaboración de una bebida ancestral conocida como “chicha”, la misma que es parte de su dieta alimenticia por su alto valor energético.

Sin embargo, pese al valor energético de *M. esculenta*, existe una limitante en su aprovechamiento, sobre todo en las zonas rurales de esta región, donde las familias que la habitan, actualmente no disponen de tecnologías y optan por procesos empíricos y tradicionales para su consumo (Bustamante *et al.*, 1993; Tofiño *et al.*, 2008).

Una alternativa para la utilización de la producción de este cultivo tradicional, es la implementación de procesos tecnológicos y biotecnológicos, que no solo ayuden a procesar esta materia prima y obtener un producto de alto valor nutricional (Silva *et al.*, 2013), sino que sea de fácil acceso y consumo; asimismo que su producción contribuya con las estrategias nacionales de desarrollo, hacia el aumento y diversificación de la producción y su posible industrialización (SENPLADES, 2017).

Con este antecedente el presente trabajo investigativo es pertinente para la región amazónica, pues busca aportar con parámetros óptimos para elaborar una bebida con características nutricionales a base de *M. esculenta*, mediante un proceso de fermentación en estado sólido, con el uso de *Rhizopus* sp., y de esta forma obtener una alternativa de aprovechamiento de la producción agrícola de las comunidades amazónicas, que revaloricen sus costumbres ancestrales.

1.1 PROBLEMA

¿Cómo establecer parámetros óptimos para la elaboración de una bebida a base de *Manihot esculenta*, fermentada en estado sólido con *Rhizopus* sp?

1.2 HIPÓTESIS

La fermentación de *Manihot esculenta*, en estado sólido con el uso de *Rhizopus* sp., debe permitir obtener una bebida que puede ser consumida dentro de la dieta diaria.

1.3 OBJETIVOS:

1.3.1 Objetivo General

- Obtener una bebida a base de *Manihot esculenta*, fermentada en estado sólido con el uso de *Rhizopus* sp.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Comparar la influencia del tamaño de partícula y el tiempo en la fermentación de *Manihot esculenta*, con el uso de *Rhizopus* sp.
- Diseñar el proceso de elaboración de una bebida a partir de la fermentación en estado sólido de *Manihot esculenta*.
- Realizar análisis fisicoquímicos a la bebida obtenida de la fermentación de *Manihot esculenta*.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Manihot esculenta Crantz, es una planta perenne y leñosa de la familia de las *Euphorbiaceae*. Esta especie se caracteriza por su notable desarrollo de los vasos laticíferos, compuesto por células secretoras llamadas galactocitos. Esto es lo que produce la secreción lechosa que caracteriza a las plantas de esta familia (Suárez y Mederos, 2011). Esta raíz constituye una importante fuente de calorías en la dieta de los pobladores de Latinoamérica, África y Asia (Medina *et al.* 2017).

Este cultivo se ha adaptado a una amplia gama de condiciones tropicales, si bien *M. esculenta*, se desarrolla en suelos fértiles, su ventaja comparativa con otros cultivos más rentables es su capacidad para crecer en suelos ácidos, de escasa fertilidad, con precipitaciones esporádicas o largos períodos de sequía (FAO, 2002; Tofiño *et al.*, 2008). También es considerado uno de los más extensos en el mundo, aunque su comercialización es muy reducida, por lo que se le considera un producto vegetal empleado solo para el autoconsumo en los países productores (Cartay, 2004; Aguilera, 2012).

Los pueblos amazónicos de Ecuador, cultivan esta raíz con dos propósitos fundamentales: el primero para consumo, es decir cubrir las necesidades alimenticias familiares y el segundo con una perspectiva simbólica (Ministerio de Cultura del Ecuador, 2013).

Cabe destacar que a nivel de consumo, las familias poseen algunas chacras (huertos o plantaciones), como estrategia local para mantener un stock y proveerse de este alimento durante todo el año. El cultivo de *M. esculenta*, bajo este sistema corresponde a variedades de doble propósito normalmente criollas y en siembras asociadas con otros cultivos, de preferencia con maíz (Fretes *et al.*, 2010; Ministerio de Cultura del Ecuador, 2013). En cambio a nivel simbólico, el cultivo es realizado como un ritual para una mejor producción (Arias *et al.*, 2016).

VALOR NUTRICIONAL

Autores como Vargas Aguilar y Hernández Villalobos (2013), detallan que las raíces y tubérculos son una de las principales fuentes de carbohidratos en la alimentación mundial, sin descartar que en su composición hay otros nutrientes presentes. La riqueza energética de estos productos se valora por el aporte calórico de los carbohidratos, principalmente el almidón.

En los informes de Ceballos y Hershey (2012); FAO (2013); Zanini *et al.* (2014); Obueh y Kolawole (2016) y Morgan y Choct (2016), destacan que el principal producto y su valor económico depende de sus raíces que son proveedoras de energía y nutrientes, las cuales constituyen la segunda fuente de almidón, luego del maíz. La raíz de *M. esculenta* contiene más almidón, por peso en seco, que casi cualquier otro cultivo alimentario y su almidón es fácil de obtener con tecnologías sencillas. Dentro de la composición de este tubérculo la materia seca (30% a 60%) del parénquima, está compuesta en su mayor parte (90% a 95%) por la fracción no nitrogenada, es decir por carbohidratos tales como almidón y azúcares (Ceballos y De la Cruz, 2002; Knowles *et al.*, 2012).

Bajo este fundamento existen reportes como los de Knowles *et al.* (2012); Montagnac *et al.* (2009) y Gil y Buitrago (2002), dónde se hace una reseña de la comparación entre el contenido de nutrientes (base seca) de diferentes raíces y tubérculos (ñame, achira, papa y yuca), entre los datos citados reportan que la yuca (*Manihot esculenta*) contiene un 87,6% de almidón, porcentaje relativamente superior al del ñame (*Dioscorea* sp.) 79,5%; achira (*Canna edulis*) 76,0 %; y la papa (*Solanum tuberosum*) 66,2 %.

Entre otros datos importantes del contenido nutricional de *M. esculenta.*, se hace referencia al contenido de fibra que va desde 1% a 2%, este nivel puede presentar pequeñas variaciones, según la variedad y edad de la raíz, normalmente su valor no pasa de 1,5% en la raíz fresca (Salvador *et al.*, 2014 ; Gil y Buitrago, 2002). El contenido de grasa entre el 0,5% a 1,0%, cenizas o minerales desde 1,5% a 2,5% y proteína alrededor del 2%, este último es por el cual se considera a la raíz fresca y sus derivados, alimentos de bajo valor proteico.

Precisamente en los estudios de Manano *et al.* (2017), se indica que el nivel de proteína, minerales y lípidos que contiene son relativamente bajos, a esto se suma la relación del contenido de proteína y el contenido de aminoácidos esenciales, donde *M. esculenta*, tiene un bajo contenido de aminoácidos esenciales que contienen azufre (metionina y cisteína) (Wobeto *et al.*, 2006).

Por otro lado Gomes *et al.* (2017), manifiestan que además de conocer el aporte nutricional de los macronutrientes, es importante saber los niveles totales de los componentes inorgánicos, como: Ca, Fe, K y P en los alimentos, ya que son cruciales para evaluar el posible impacto de los alimentos en la salud humana. En este contexto los minerales, tiene: calcio, hierro, potasio, magnesio, cobre, contenido de zinc y manganeso son comparables a los de muchas leguminosas (Montagnac *et al.*, 2009). Fretes *et al.* (2010), refuerzan esta información, indican que *M. esculenta* puede considerarse una buena fuente de compuestos minerales (calcio, fósforo y ácido ascórbico) y vitaminas. En relación con la información sobre el valor nutricional en la base de datos de la USDA, (2018) se pueden observar datos similares a los citados anteriormente, referentes al perfil nutricional de *M. esculenta*, (**Anexo 1**).

Wobeto *et al.* (2006b) y Montagnac *et al.* (2009), señalan que si bien al analizar el perfil nutricional de *M. esculenta* todo indicaría que es un alimento relativamente óptimo para consumo humano, también se debe tomar en cuenta que esta raíz posee antinutrientes y sustancias tóxicas, que pueden tener efectos positivos o adversos en la salud dependiendo de la cantidad ingerida.

La capacidad tóxica en *M. esculenta* se debe a la presencia de dos glucósidos cianogénicos: linamarina y lotaustralina, los cuales pueden ser potencialmente tóxicos cuando se consumen en grandes cantidades (Rivadeneira-Domínguez *et al.*, 2016), a estos glucósidos se les ha asociado con enfermedades neurológicas como la neuropatía atáxica tropical y el kongo (Rivadeneira-Domínguez *et al.*, 2012).

Existen datos de Gómez (2006) y Sulistyó *et al.* (2016), en los que citan varios métodos para liberar el HCN (cianuro de hidrógeno o ácido cianhídrico), que está contenido dentro de las células de la planta de *M. esculenta*, estos son: secado, lavado, fermentación o cocción; en todo caso primero hay que picar o triturar la raíz para que se active la enzima linamarasa que libera el HCN, gran parte de éste se volatiliza, una parte se combina con el agua y con la yuca macerada. Por ejemplo al rallar la raíz fresca se disminuye el 95% del contenido cianoglucósido y se pierde casi el 98% después de un proceso de fermentación (fabricación de *M. esculenta*, fermentada), estos métodos se conciben para la utilización de la raíz de *M. esculenta*, sin problemas (Burns *et al.*, 2010).

UTILIZACIÓN DE MANIHOT ESCULENTA

Aristizábal y Calle (2015), resumen que en el uso de *M. esculenta*, existen dos tipos de variedades: la amarga, que se utiliza para extracción de almidón y la dulce, que se utiliza para consumo o alimentación después de ser hervida y también, para la industria.

Frete *et al.* (2010), aclaran que la presencia de glucósidos cianogénicos (toxinas), en las raíces, es un factor determinante en el uso final. Por otro lado se ha afirmado que no existe una relación definida entre el sabor amargo o dulce y el contenido de glucósidos cianogénicos.

La diferenciación entre variedades amargas y dulces no siempre es precisa, ya que el contenido de glucósidos cianogénicos no es constante dentro de una variedad y depende también de las condiciones edafoclimáticas del cultivo (Aristizábal y Sánchez, 2007; Aristizábal y Calle, 2015).

Dependiendo del uso final, esta puede ser clasificada: de calidad culinaria, cuando se destina al consumo humano directo; de calidad industrial, cuando se usa para la producción de subproductos tales como harina, almidón, trozos secos, etc.; y de doble propósito, es decir, que podrían ser usados tanto para el consumo humano como industrial (Aristizábal y Sánchez, 2007; Arguedas-Gamboa *et al.*, 2015). La raíz de *M. esculenta* por lo general, en el sistema alimentario es usada en la obtención de productos transformados, tales como casabes, chichas, caguanas y fariñas (Acosta Muñoz y Zoria Java, 2012).

Sin embargo una desventaja de las raíces, es que sufren un rápido deterioro luego de ser cosechadas, este proceso es llamado "*deterioro fisiológico de postcosecha*", por lo que deben ser procesadas pocos días después de la cosecha (Ospina y Ceballos, 2003; Sotelo y Acevedo, 2009). Las raíces de *M. esculenta*, se procesan para eliminar o reducir los glucósidos cianogénicos tóxicos, mejorar la palatabilidad y servir como un medio de preservación (Lukuyu *et al.*, 2014).

La fermentación en *M. esculenta*, es uno de los medios más importantes y ampliamente utilizados en varias partes del mundo para procesarla y conservarla. Las fermentaciones tradicionales son bastante adecuadas para la desintoxicación, preservación y desarrollo de productos con una textura viscoelástica deseable (Corrêa *et al.*, 2018).

En Ecuador, los alimentos fermentados tienen importancia dentro del ámbito alimentario y cultural, uno ejemplo de ello es la producción de bebidas fermentadas conocidas como "*chichas*". Según Llorens (2008) el término "*chicha*" proviene del Caribe y en su recorrido histórico va dando cuenta de una bebida producida por diversos pueblos en el vasto territorio centro y sudamericano, que tiene en común el proceso de fermentación de frutos y cereales.

Colehour *et al.* (2014) coinciden con que "*chicha*" es un término genérico para las bebidas fermentadas tradicionales producidas por grupos indígenas en toda la cuenca del Amazonas y los Andes. Se puede hacer a partir de una variedad de cultivos de plantas amiláceas, incluido el maíz, la yuca y el mijo. Estas bebidas cumplen, principalmente, con funciones energizantes y rehidratantes; dos cualidades estratégicas si se considera los rigores de las actividades diarias que realizan los pueblos ancestrales (Ministerio de Cultura del Ecuador, 2013).

Existen diferentes tipos de chichas en base a los productos utilizados para su preparación (Ministerio de Cultura y Patrimonio, 2015), el maíz, otros cereales y granos, frutos o raíces ricas en almidón. La preparación varía un poco según el almidón de base que se use. Todas las chichas se preparan dejando fermentar la harina, cereal o almidón que se utilice en una mezcla con el agua (Colehour *et al.*, 2014).

Pazos Barrera (2008), cita en su libro “*El Sabor de la Memoria*”, que las chichas de jora, morocho, maíz, capulí, quinua, molle han estado presentes en la gastronomía ecuatoriana desde siglos atrás; además se pueden preparar con avena, arroz, yuca y frutas. Las más famosas en Ecuador son: jora, huevona, yamor, pawcar raymi, arroz y yuca (Ministerio de Cultura y Patrimonio, 2015).

La chicha de yuca, por lo general, es consumida a diario por los indígenas de la Amazonía ecuatoriana (Colehour *et al.*, 2014), dentro de su tradición, los pueblos amazónicos ecuatorianos no salen al bosque a cumplir sus faenas diarias sin antes haber tomado dos grandes “pilches” de casi un litro de chicha de yuca, elaborada caseramente por masticación. Con este alimento fortificante caminan, cazan o laboran hasta el mediodía, cuando la toman otra vez. Por la tarde repiten la dosis.

La chicha es además, la bebida que le ofrecen a los visitantes al darles la bienvenida (Ministerio de Cultura y Patrimonio, 2015), se cree que esta bebida tradicional hecha de raíces de yuca mejora la calidad nutricional y el sabor a la vez que alarga la vida útil de las mismas (Chaves-López *et al.*, 2014).

Es necesario señalar que estas bebidas fermentadas, así como tienen una larga tradición, contribuyen a la nutrición de muchas sociedades y pueblos ancestrales de todo el mundo (Baschali *et al.*, 2017), también han favorecido significativamente a la innovación y el desarrollo cultural, incluidas las habilidades agrícolas y hortícolas para aprovechar los recursos naturales (McGovern *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2016).

En Ecuador, países de África, Asia y Latinoamérica, la fermentación es una de las biotecnologías más antiguas para la obtención de productos alimenticios con propiedades deseables, con una vida útil prolongada y buenas propiedades organolépticas (Ray y Joshi, 2014; Jakubowski, 2017), siendo un medio económico y eficiente de energía para preservar las materias primas perecederas (Sotelo y Acevedo, 2009; Chilton *et al.*, 2015).

LAS FERMENTACIONES EN LA ALIMENTACIÓN

El término fermentación proviene de una palabra latina *fermentum* (fermentar). La definición histórica la describe como el proceso en el que los cambios químicos de un sustrato orgánico ocurren como resultado de la acción de enzimas microbianas (Chojnacka, 2010a).

La fermentación proporciona aroma, sabor, textura y perfil nutricional característico a los alimentos (Chojnacka, 2010b). Por lo tanto, aunque las civilizaciones antiguas desarrollaron fermentaciones principalmente como una forma de preservar los productos agrícolas perecederos, actualmente el uso de la tecnología en la conservación de alimentos permite crear perfiles organolépticos deseables y mejorar su palatabilidad (Jakubowski, 2017).

En el mundo existen numerosos alimentos fermentados, cada país tiene sus propios tipos de alimentos fermentados que representan la dieta básica y las fuentes de materia prima disponibles en su territorio (Wachner, 2014). A lo largo de las generaciones, esta práctica pionera de la fermentación de alimentos se ha ido ampliando y mejorando para preservar y fortalecer los recursos alimentarios disponibles, especialmente para satisfacer el hambre (Ray *et al.*, 2016). Los ingredientes para obtener alimentos fermentados, pueden incluir prácticamente todos los tipos de productos agrícolas primarios, que van desde los de origen vegetal (cereales, legumbres, raíces y tubérculos amiláceos, frutas, verduras, hierbas y especias) hasta los de origen animal (carne, aves, huevos, pescado y mariscos) (Marco *et al.*, 2017).

Wafula *et al.* (2015), describen que los alimentos fermentados son populares en todo el mundo y la producción de estos es importante en muchos países para proporcionar ingresos y empleo:

En África, los productos fermentados de *M. esculenta* (como Gari y Fufu) son un componente principal de la dieta de más de 800 millones de personas y en algunas partes de África constituye más del 50% de la dieta (Olapade *et al.*, 2014). En Asia, la preparación de alimentos fermentados es una tradición generalizada, kimchi (un producto de col fermentada) es el principal producto alimenticio de Corea. La salsa de soja (un producto leguminoso fermentado) es económicamente importante desde Indonesia hasta Japón.

En América Latina, los productos de cereales fermentados, las bebidas alcohólicas y los productos lácteos fermentados son tres de los sectores más importantes de la economía (Erkmen y Bozoglu, 2016).

Los seres humanos en todo el mundo han demostrado un notable interés por fermentar las fuentes de azúcar disponibles en los alimentos, por lo que, tradicionalmente la búsqueda del perfeccionamiento de estos procesos, tiene varios tipos de fermentaciones y microorganismos que le permiten cumplir este objetivo.

Puerta Quintero (2010), describe algunos tipos de fermentaciones usadas en la industria alimentaria:

FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA: Permite degradar azúcares en alcohol y CO₂. Las principales responsables de esta transformación son las levaduras. *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie más utilizada con este fin. Existen investigaciones de la producción de alcohol con otros hongos y bacterias, como la *Zymomonas mobilis*, pero a nivel industrial su aplicación es imperceptible.

FERMENTACIÓN LÁCTICA: Este proceso consiste en la oxidación parcial de los hidratos de carbono, con producción de ácido láctico. Los agentes de ésta fermentación pertenecen a los géneros *Lactobacillus* y *Streptococcus*. En la fermentación láctica el piruvato producido en la glicólisis se transforma en ácido láctico mediante la enzima lactato-deshidrogenasa. El ácido láctico contribuye a la acidez y sabor de productos lácteos, vegetales, legumbres, cereales, carnes, y además, permite mejorar su estabilidad microbiológica e inocuidad.

FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA: A este tipo de fermentación, se le denomina como la conversión del ácido málico en ácido láctico y CO₂. Es un proceso de desacidificación biológica, para favorecer la estabilidad microbiana y la modificación del aroma del producto, ocurre espontáneamente después de la fermentación alcohólica, puede ocurrir en etapas posteriores, incluso en el producto embotellado (vinos tintos). Los microorganismos responsables de la fermentación maloláctica son bacterias lácticas pertenecientes a los géneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus* y *Pediococcus*.

En la industria alimentaria existe una amplia gama de procesos donde se usan fermentaciones, entre ellos la obtención de bebidas y alimentos con sabores, texturas y aromas específicos, como: el yogur, quesos, kumis, chocolate, cerveza, vinos, panes y encurtidos (Rendueles y Díaz, 2014). En varios procesos, al final de la fermentación aún se evalúan empíricamente, y el proceso ocurre sin estandarización, lo que da como resultado productos de calidad inconsistente (Corrêa *et al.*, 2018). Por tal razón muchos estudios en la actualidad se han centrado en la obtención e identificación de parámetros que permitan realizar los procesos fermentativos de forma rápida pero a la vez económica. una forma usual en la que se obtienen productos fermentados tradicionales con estas características, es la fermentación en estado sólido con hongos y levaduras (Hong y Ca, 2013).

FERMENTACIONES EN ESTADO SÓLIDO (SSF - FES)

La fermentación en estado sólido se ha aplicado ampliamente en la producción de distintas sustancias que son altamente beneficiosas para las industrias y las personas y sus técnicas adquieren una gran importancia debido a sus beneficios ambientales y económicos. Según estudios recientes, la fermentación en estado sólido se considera el enfoque más económico y respetuoso con el medio ambiente para la obtención de productos industriales de valor agregado, por ejemplo, biocombustibles enzimáticos e incluso alimentos para animales enriquecidos con nutrientes (Pandey, 2003; Kimuyu, 2016).

Por lo general la fermentación en estado sólido se define como el crecimiento de microorganismos en medios sólidos o semisólidos en ausencia de agua libre (límite inferior = 12 %) y ocurre en estado no aséptico y natural (Robinson *et al.*, 2002; Manan y Webb, 2017). Las fermentaciones de estas características son aquellas en las cuales el sustrato no está disuelto ni en suspensión en un gran volumen de agua (Chávez González *et al.*, 2009), brinda ventajas para el desarrollo de bioprocesos y productos, principalmente en el mejoramiento de los medios de cultivo, una etapa esencial para alcanzar resultados óptimos (Julián *et al.*, 2008; Kimuyu, 2016; Manan y Webb, 2017).

Pastrana (1996); Manan y Webb (2017), describen algunas ventajas al usar fermentaciones en estado sólido frente a la fermentación sumergida:

1. Simplicidad de los medios de cultivo, generalmente un único sustrato proporciona casi todos los nutrientes necesarios.
2. Fermentadores con menores requerimientos espaciales, los sustratos se utilizan más concentrados y no se utilizan grandes volúmenes de agua.
3. Mayor simplicidad en el diseño de los fermentadores y de los sistemas de control.
4. Mayor facilidad para la obtención y aplicación del inóculo, se puede utilizar las esporas directamente en la mayor parte de las situaciones.
5. Facilidad para el escalado de los procesos.
6. Necesidades reducidas de disolventes para la extracción de los productos.
7. Rendimientos comparables, e incluso superiores, a los correspondientes procesos en cultivo sumergido.
8. Reducido riesgo de contaminaciones bacterianas, menos aptas para soportar la baja actividad de agua que caracteriza a estos sistemas. Posibilidad en ocasiones de trabajar incluso en condiciones no asépticas.
9. Elevada aireación del sistema, lo que hace a esta modalidad de cultivo especialmente adecuada a aquellos procesos que impliquen un metabolismo oxidativo intenso.
10. Bajos requerimientos energéticos. A menudo no es preciso auto lavar, airear ni agitar.
11. Reducido volumen de efluentes.
12. Ambiente similar al de los hábitats naturales de los microorganismos utilizados.

Como se describe, este tipo de fermentación, produce una alta concentración de producto con un relativamente bajo requerimiento energético, la eficiencia de este proceso dependerá del control de las siguientes variables: Microorganismos, humedad, pH, temperatura, concentración y disponibilidad de sustrato, aireación e inóculo (Perez Quilantan, 1996; Pandey *et al.*, 2000; Demirci, 2014).

VARIABLES QUE INFLUYEN EN LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

MICROORGANISMOS

Significativamente, la técnica de fermentación en estado sólido funciona mejor en técnicas que involucran hongos y microorganismos que requieren menos contenido de humedad ya que la humedad requerida para el crecimiento de microbios existe en estados absorbidos o en compuestos con matriz sólida (Kimuyu, 2016).

La selección de cepas microbianas es importante para lograr el producto deseado a niveles óptimos de productividad en la fermentación proceso (Demirci *et al.* 2014). Los grupos más comunes de microorganismos involucrados en la fermentación de alimentos son: Bacteria, Levaduras y Mohos (Ray y Joshi, 2014).

Entre las especies de mohos usadas en procesos fermentativos, se describe al género *Rhizopus*. En la fermentación en estado sólido (FES), los microorganismos utilizados principalmente son cepas puras de hongos filamentosos (Ferrer *et al.*, 2014),

Rhizopus sp.

Los hongos filamentosos son microorganismos ampliamente conocidos por sus diversas características bioquímicas. Los hongos pueden invadir de manera eficiente una amplia variedad de sustratos en condiciones operativas produciendo numerosos bioproductos de interés, como enzimas, ácidos orgánicos, compuestos aromáticos y colorantes (Londoño-Hernández *et al.*, 2017).

Rhizopus sp., son hongos filamentosos perteneciente a los *Zygomycetes*. Es conocido por su capacidad de producir las sustancias químicas de plataforma sostenible (Meussen *et al.*, 2012). Se encuentra entre este grupo de hongos y se clasifica como un hongo filamentosos GRAS, comúnmente utilizado para la producción de algunos alimentos tradicionales orientales. Se reconoce principalmente como un buen productor de ácido láctico; sin embargo, su potencial para otros procesos biotecnológicos está bajo estudio (Meussen *et al.*, 2012). El género *Rhizopus sp.*, incluye varias especies utilizadas industrialmente para la producción de enzimas, ácidos orgánicos, así como producción de alimentos tradicionales como tempeh, peka, ragi y loog-pang (Cantabrana *et al.*, 2015).

INÓCULO

El inóculo se puede describir como una preparación que contiene un gran número de microorganismos viables, que se pueden agregar para producir cambios deseables en el sustrato sólido (Visintin *et al.*, 2017). Es importante señalar que la edad del inóculo, el medio utilizado para su cultivo y por lo tanto, su estado fisiológico son de mucha importancia en los procesos de fermentación (Manan y Webb, 2017). Si el inóculo utilizado para la producción de metabolitos secundarios no está en el estado fisiológico correcto se producirá una disminución considerable de la producción (Crafack *et al.*, 2014).

DISPONIBILIDAD DE SUSTRATO

Las fuentes de carbono suministradas en el medio son de gran importancia para los hongos ya que proporcionan la fuente de carbono necesaria para la biosíntesis de los constituyentes celulares (Zepf y Jin, 2013). Esto incluye carbohidratos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y su oxidación proporciona energía para la célula.

El sustrato sólido es un elemento principal en la fermentación en estado sólido. Además de proporcionar nutrientes como carbono y nitrógeno, el sustrato sólido también cumple la función de la estructura física que respalda el crecimiento de microorganismos (Costa *et al.*, 2010).

Otro factor importante en la selección del sustrato es la capacidad de retención de agua que mantiene el contenido de humedad del sustrato fermentado. Generalmente, la mayoría de los sustratos sólidos utilizados, se basan en cultivos y residuos de alimentos y agroindustria. Por lo general, no están procesados y vienen con diferentes tamaños de partículas. La calidad y la composición de nutrientes del sustrato sólido pueden ser diferentes de un lote a otro. Esto puede conducir a problemas con la heterogeneidad y la productividad general del proceso de fermentación (Manan y Webb, 2017).

Existen varios tipos de sustratos que se usan en los procesos fermentativos en estado sólido; aquellos con proteína, celulósicos o lignocelulósicos, azúcares solubles y almidón, entre otros.

Particularmente los sustratos con almidón, incluyen arroz, cebada, avena, yuca, salvado de trigo, harina de yuca, harina de maíz, okara, residuos de boniato y cáscara de plátano. Los sustratos de almidón, son ricos en carbohidratos (Montoya-López *et al.*, 2015) esta fuente de carbono es importante en muchos procesos de fermentación, se hidrolizan para producir azúcares simples que los microorganismos pueden consumir fácilmente.

TAMAÑO DE PARTÍCULA

Procesos como moler y cortar, crean una condición para que los microorganismos estén activos en las etapas iniciales de crecimiento y aumentan la velocidad de degradación e hidrólisis dado que el sustrato sólido es insoluble. El factor físico más importante es el tamaño de partícula que afecta la relación área superficial / volumen del sustrato sólido.

El tamaño de partícula más pequeño proporcionaría un área de superficie mayor por volumen y permitiría el contacto completo de los microorganismos con los nutrientes, pero la difusión de oxígeno se vería afectada (Mitchell *et al.*, 2006).

El tamaño de partícula más grande proporciona un área pequeña por relación de volumen y proporciona una excelente difusión de oxígeno, pero el contacto con los nutrientes se ve afectado. Un tamaño de partícula adecuado debería satisfacer tanto el crecimiento micelial como la demanda de oxígeno y nutrientes (Mitchell *et al.*, 2011).

HUMEDAD

Los requerimientos de agua de los microorganismos para la actividad microbiana se pueden expresar cuantitativamente en forma de actividad de agua (A_w) del ambiente o sustrato. La Humedad da una indicación de la cantidad de agua libre en el sustrato y determina el tipo de microorganismos que pueden crecer en un medio sólido (Kimuyu, 2016). El valor de humedad requerido para la fermentación en estado sólido, varía dependiendo del microorganismo, pero generalmente se recomienda que la actividad de agua sea suficiente para permitir el crecimiento de micelio a través de las partículas de sustrato sólido sin desintegrar las partícula (Manan y Webb, 2017).

pH

El pH es otro parámetro que requiere optimización para un alto crecimiento microbiano y tasas de producción (Demirci *et al.*, 2014). Los microorganismos reaccionan de diferentes maneras al valor de pH del ambiente de fermentación. Las bacterias generalmente prefieren valores de pH cercanos a la neutralidad, hongos y levaduras, valores de pH ligeramente ácidos y actinomicetos por encima de la neutralidad (Singhania *et al.*, 2009). Por lo general, es deseable usar microorganismos que crezcan en un amplio rango de pH (Manan y Webb, 2017).

TEMPERATURA

Kimuyu (2016), describe que el control de la temperatura al igual que la humedad sigue siendo un problema, ya que la mala conductividad térmica junto con la baja humedad del sustrato hace que este control sea complicado en este tipo de fermentación. Los hongos crecen a temperatura de 20 – 45 °C, elevadas temperaturas inhiben la germinación de esporas y la formación del producto, la temperatura óptima variará de acuerdo al microorganismo y al tiempo de fermentación (Manan y Webb, 2017).

AIREACIÓN

Los microorganismos normalmente varían en sus requerimientos de oxígeno. El oxígeno o el aire se filtran en el medio. La aireación juega dos papeles importantes en las fermentaciones en estado sólido: Satisfacer la demanda de oxígeno en la fermentación aeróbica y el calor y el transporte masivo en un sistema heterogéneo (Demirci *et al.*, 2014). En fermentaciones estáticas, la aireación realiza las funciones de agitación, el aumento del flujo del aire va a mejorar el desarrollo del producto, por ende el consumo del sustrato (Mitchell *et al.*, 2006; Manan y Webb, 2017).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

LOCALIZACIÓN

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo en los laboratorios de Agroindustrias, Química y Bromatología de la Universidad Estatal Amazónica, ubicados en la provincia y cantón Pastaza, en el km 2 ½ vía Napo, mientras que los análisis físico-químicos del producto final se realizaron en el laboratorio LABOLAB[®], ubicado en la ciudad de Quito.

TIPO y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación fue de tipo experimental, su base científica se apoyó en estudios precedentes sobre el proceso de obtención de bebidas fermentadas ancestrales como la chicha de yuca, masato y bebidas industriales como la cerveza.

En este contexto, a continuación se detalla la metodología utilizada para la obtención de los datos:

1. Modelo Experimental

Con el Software StatGraphics Centurion XVI.II (StatPoint Technologies Inc, 2013), se realizó un modelo experimental de bloques aleatorizados constituidos por dos factores de estudio: tiempo de fermentación y tamaño de partícula, cada uno con tres niveles (**a**: 4, 6, 8 días y **b**: 2, 4, 6 cm), como se muestra en la (**Tabla 1**).

Tabla 1 Factores y niveles del experimento

FACTORES

	Tiempo de fermentación (días)	Tamaño de partícula (cm)
NIVELES	4	2
		4
		6
	6	2
		4
		6
	8	2
		4
		6

Fuente: Elaboración propia


RECURSOS MATERIALES UTILIZADOS

1. Materias Primas

a) *Manihot esculenta*

Se empleó raíces de *M. esculenta* (yuca), obtenidas en mercados de la localidad en la ciudad de Puyo.

b) Microorganismo

Se evaluó la respuesta fermentativa de *Rhizopus* sp., cepa comercial marca ANGEL® distribuida por la empresa .

2. Equipos y Material de Laboratorio

Equipos

- Mufla- Determinación de % de ceniza
- Equipo de Kjeldahl – Determinación de % de proteína
- Estufa – Determinación de % de Humedad (MS)
- Balanza analítica

Materiales

- a) Erlenmeyer
- b) Vasos de precipitación
- c) Probeta graduada
- d) Brocha
- e) Crisoles
- f) Pinza de crisoles
- g) Espátula
- h) Bureta
- i) Matraz aforado

MANEJO y EJECUCIÓN DEL EXPERIMENTO

El experimento se organizó en tres bloques, cada uno con nueve ensayos, la realización de cada bloque experimental se efectuó con una semana de diferencia. El proceso constó de dos fases:

En la primera fase se determinaron los parámetros fundamentales para desarrollar una adecuada fermentación y productividad. La segunda fase buscó optimizar las variables de estudio, seleccionando el tiempo y tamaño de partículas óptimas, para controlar adecuadamente las condiciones generales de fermentación y así llevar el proceso a una escala ligeramente mayor y obtener un producto final con características nutricionales.

1. Montaje experimental realizado en la fase 1

La fase inició con la obtención del mosto base y evaluación de la composición proximal de los productos obtenidos post-fermentación (bagazo y mosto) para determinar la influencia de los factores de estudios (tiempo de fermentación y tamaño de partícula) durante el proceso de fermentación de *M. esculenta*.

En la obtención del mosto base, se procedió de la siguiente manera:

a. Preparación del sustrato

Para la fermentación en estado sólido se acondicionó las raíces de *M. esculenta*, según el requerimiento del diseño: cortándola en cubos de 2, 4 y 6 cm y cocida a vapor por 60 minutos, con el objetivo de gelatinizar el almidón y hacerlo asequible a las enzimas producidas por el hongo *Rhizopus* sp., tal como se presenta en la **Figura 1**.



Figura 1 Trozos de *M. esculenta* previo al proceso de cocción.

b. Inoculación

La dosis y la rehidratación del hongo *Rhizopus* sp., se hicieron según las especificaciones de los fabricantes, por lo que fue necesario disolver 8 g por litro de agua a 22 °C de esporas de *Rhizopus* sp., (cepa comercial ANGEL®). Una vez hidratada, se adicionó el inóculo al sustrato, a través de atomización con un spray.

c. Fermentación

Se utilizaron recipientes plásticos de forma cóncava (diámetro: 40 cm, alto: 15,5 cm), previamente lavados y desinfectados con una solución clorada. En los recipientes asépticos, se adicionó 3 kg del sustrato inoculado, teniendo en cuenta que el volumen promedio de los recipientes era de 6 kg. Con el sustrato dispuesto en los recipientes, estos se recubrieron con una capa de film plástico de embalaje y se conservaron durante

el tiempo establecido en el diseño experimental (**1^{er} bloque:** 4 días, **2^{do} bloque:** 6 días y **3^{er} bloque:** 8 días), cabe mencionar que se realizaron orificios pequeños (2 mm) sobre el film plástico para favorecer el ingreso de oxígeno del ambiente y la salida de CO₂, como se presenta en la **Figura 2**.



Figura 2 Recipientes plásticos y materiales utilizados en el proceso de fermentación de *M. esculenta*.

Transcurrido el tiempo de fermentación, se obtuvo un producto ligeramente pastoso, el cual fue sometido a maceración con una relación 3:1 (3 litros de agua por cada kilogramo de material fermentado), posteriormente se llevó a infusión simple (90 minutos a 60°C), con el fin obtener la mayor cantidad de azúcares contenidos en el producto, finalizado este proceso se procedió a filtrar para separar el bagazo del mosto.



Figura 3 Recipientes utilizados en el proceso de filtrado (separación de bagazo - mosto)

El bagazo, se colocó en fundas Ziploc y fue conservado en congelación para su posterior análisis.

El mosto, se llevó ebullición por 90 minutos. Posteriormente se enfrió a 22°C y se procedió a estandarizar cada muestra a 14 °Brix, mediante adición de agua en las muestras que requirieron el ajuste del nivel de °Brix. Finalmente, las muestras se almacenaron a 4,4 °C en botellas plásticas de 500ml debidamente identificadas para su posterior análisis.

1.1. Mediciones Experimentales

Las variables respuestas para determinar la influencia de los factores de estudio (tiempo de fermentación y tamaño de partícula y), en la FES de *M. esculenta*, con el uso de *Rhizopus* sp., fueron: °Brix, pH, rendimiento, materia seca (bagazo), proteína (mosto, bagazo), ceniza (bagazo), bajo la metodología descrita en la **Tabla 2**.

Tabla 2 Variables respuesta

VARIABLE	UNIDAD	MÉTODO
Sólidos solubles (mosto)	°Brix	NTE INEN-ISO 2173:2013 (INEN, 2013e)
pH (mosto)	pH	NTE INEN-ISO 1842:2013 (INEN, 2013d)
Rendimiento (mosto)	L	Volumétrico
Materia Seca (bagazo)	%	NTE INEN 382:2013 (INEN, 2013c)
Proteína (mosto y bagazo)	%	Mosto (NTE INEN-ISO 8968-1 IDF 20-1) (INEN, 2015) Bagazo (NTE INEN-ISO 20483:2013) (INEN, 2013a)
Ceniza (bagazo)	%	NTE INEN 401:2013 (INEN, 2013b)

Fuente: Elaboración propia

Concluida la fase 1 del experimento y realizados los análisis de la composición proximal del bagazo y mosto obtenidos de la FES de *M. esculenta* con el uso de *Rhizopus* sp., se procesaron los resultados con el Software StatGraphics Centurion XVI.II (StatPoint Technologies Inc, 2013) para determinar las medias aritméticas, se realizó un análisis de varianza y una prueba de rangos múltiples de Duncan para medir la influencia e

interacción por factor y entre factores, esto es: A, B y AxB (A: días de fermentación, B: tamaño de partícula).

2. Optimización de variables - Fase 2

En función de los datos obtenidos con el Software StatGraphics Centurion XVI.II (StatPoint Technologies Inc, 2013), se procedió a optimizar las variables, usando los siguientes criterios: Rendimiento maximizar y Proteína maximizar, se obtuvo: el tiempo (días) y el tamaño de partícula (cm) óptimos para el diseño de la bebida.

Establecidas las condiciones óptimas para la producción de la bebida, se elaboró el producto final, conforme el proceso descrito:

- a. **Recepción de materia prima y Selección:** La materia prima (*M. esculenta*), fue adquirida en un mercado de la localidad de la ciudad de Puyo (aprox. 4 Kg), se procedió a seleccionarla descartando aquellas que presenten daños mecánicos o microbiológicos.
- b. **1^{er} Lavado:** Se realizó con el fin de eliminar todo tipo de residuos y partículas de tierra presentes en la *M. esculenta*.
- c. **Pelado:** Se retiró la corteza de la *M. esculenta*. manualmente.
- d. **2^{do} Lavado:** Las raíces sin corteza se lavaron con abundante agua para quitar cualquier tipo de desecho.
- e. **Cortado:** Se procedió a cortar la yuca en cubos de 2 cm; este tamaño se consideró debido a que en los resultados del experimento, se observó que aun cuando el tamaño de partícula no tuvo efecto significativo sobre las variables, el desarrollo del *Rhizopus* sp., fue más eficiente sobre el sustrato con un tamaño de partícula de 2 cm.
- f. **Pesado:** Se pesaron 3 Kg de *M. esculenta*.
- g. **Cocido:** La materia prima (3 Kg) se colocó en malla de tela para llevar a cocción a vapor por 60 minutos.
- h. **Enfriado:** Este proceso se realizó a °T ambiente 22 °C.
- i. **Inoculado:** Se realizó bajo las mismas condiciones del experimento, es decir: la

dosis y la rehidratación del hongo *Rhizopus* sp., se hicieron según las especificaciones del fabricante: Disolviendo 8 g por litro de agua a 22 °C de *Rhizopus* sp., (cepa comercial ANGEL®). Una vez hidratada, se adicionó el inóculo al sustrato, a través de atomización con un spray.

- j. Fermentado:** Este proceso al igual que el anterior, mantuvo las condiciones del experimento, es decir: el sistema de fermentación se llevó a cabo en recipientes plásticos donde se colocó los 3 Kg del material a fermentar, cubiertos con film plástico; el tiempo de fermentación en esta etapa fue seleccionado conforme al mejor resultado obtenido referente al rendimiento del mosto, **Tf.1:** (4 días).
- k. Macerado:** El material fermentado se sometió a maceración con una relación 3:1 (3 litros de agua por cada kilogramo de material fermentado).
- l. Infusión Simple:** Posterior a la maceración el producto fue llevado a infusión simple (90 minutos a 60°C).
- m. Filtrado:** Se procedió a filtrar el producto obtenido de la maceración para separar el bagazo del mosto.
- n. Concentrado:** El mosto obtenido se concentró para incrementar la cantidad de azúcares y se adicionó especias con la finalidad de saborizar el producto.
- o. Filtrado:** Se procedió a filtrar el producto obtenido de la concentración para separar residuos de especias y obtener una bebida sin sedimentos.
- p. Envasado:** La bebida se envasó en botellas de vidrio color ámbar.
- q. Pasteurizado:** Una vez envasada la bebida se procedió a pasteurizar todas botellas, con el propósito de eliminar microorganismos que pudieran contaminarla e inhibir cualquier actividad enzimática que cause la degradación del producto; proceso que se llevó a cabo sin modificar la composición y cualidades del producto final.
- r. Almacenamiento:** Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4,4 °C.

Obtenidas las muestras del producto final, se procedió a realizar análisis físico-químicos, para establecer el perfil nutricional del mismo, tales como: Acidez, Sólidos solubles, pH, Sólidos totales, Grasa, Colesterol, Carbohidratos totales, Fibra, Azúcares, Proteína, Minerales (sodio, potasio, calcio, fósforo), Vitaminas (Vitamina C, Vitamina A), Metales pesados (cobre, plomo, zinc), **Tabla 3**.

Tabla 3 *Análisis Físico-Químicos realizados a la Bebida Final*

PARÁMETRO*	MÉTODO
Acidez (Como Ácido Cítrico)	PEE/LA/06 INEN ISO 750
Sólidos Solubles (°Brix)	NTE INEN-ISO 2173:2013
pH	NTE INEN-ISO 1842:2013
Sólidos Totales (%)	PEE/LA/07 NTE INEN 382:2013
Grasa (%)	PEE/LA/05 INEN ISO 8262
Ceniza (%)	PEE/LA/03 INEN 401
Colesterol (mg/100g)	Libermann Bourchard
Sodio (mg/100g)	Electrodo selectivo
Carbohidratos totales (%)	Cálculo diferencial (análisis proximal)
Fibra (%)	NTE INEN 522
Azúcares (Fructosa, Glucosa, Sacarosa, Lactosa)	HPLC
Proteína (%)	PEE/LA/01 INEN ISO 8968
Potasio (mg/100g)	Electrodo selectivo
Calcio (mg/100g)	AOAC 976.09
Fósforo (mg/100g)	AOAC 986.24
Vitamina C (mg/100g)	HPLC
Vitamina A (µg/100g)	HPLC
Cobre (mg/100g)	APHA 3111B Modif.
Plomo (mg/100g)	APHA 3111B Modif.
Zinc (mg/100g)	APHA 3111B Modif.

Fuente: LABOLAB®, 2018.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. INFLUENCIA DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA Y EL TIEMPO, EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS SUBPRODUCTOS OBTENIDOS DE LA FES DE *Manihot esculenta*.

Para medir la influencia de los factores de estudio en el proceso de fermentación, se determinó la composición proximal de los subproductos (bagazo y mosto base) obtenidos de la FES de *M. esculenta*.

- Determinación de Materia Seca (Ms) - Bagazo

Los resultados de la interacción del tamaño de partícula del sustrato sobre el % de materia seca del bagazo, se reportan en la **Figura 4: Tp.1 (2 cm): 24,9 %; Tp.2 (4cm): 24,1 %; Tp.3 (6cm): 23,4 %**. Determinándose con un 95,0% de nivel de confianza que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el tamaño de partícula del sustrato y el contenido de materia seca del bagazo.

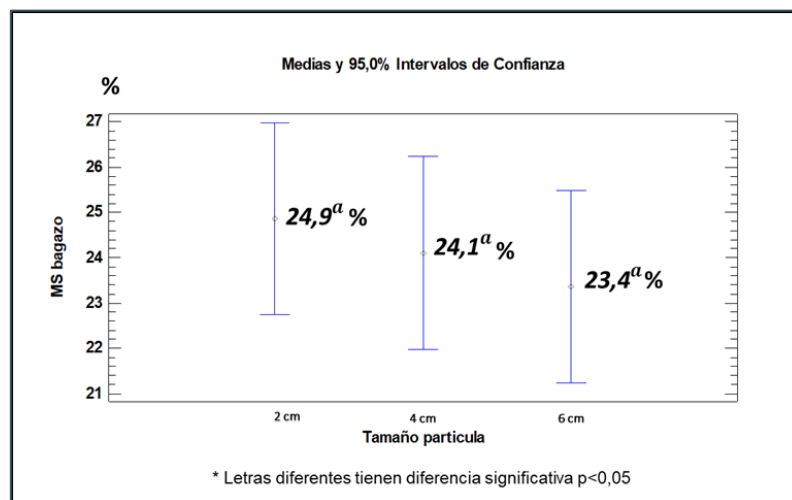


Figura 4 Porcentaje de materia seca del bagazo, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., con diferentes tamaños de partícula de *M. esculenta*.

En la **Figura 5**, se presentan los resultados obtenidos de la interacción del tiempo de fermentación sobre el % de materia seca del bagazo: **Tf.1** (4 días): 18,7 %; **Tf.2** (6 días): 33,4 %; **Tf.3** (8 días): 20,2 %. Los resultados indicaron que existen diferencias estadísticamente significativas, entre el tiempo de fermentación y el contenido de materia seca del bagazo.

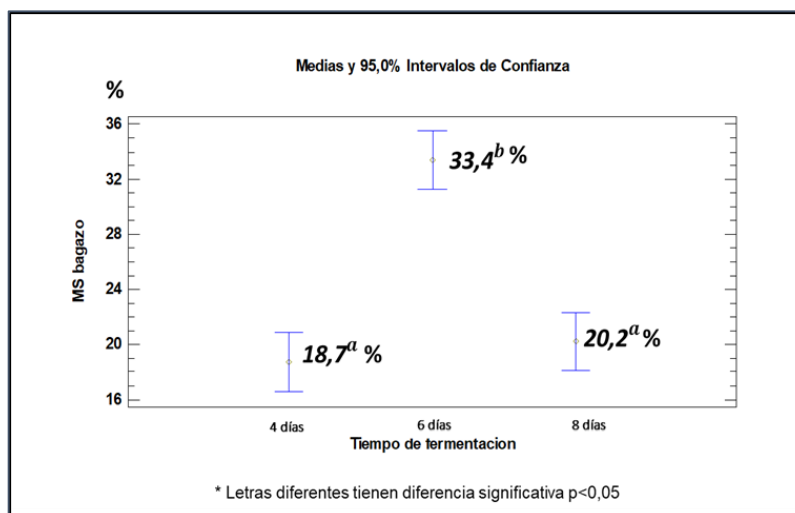


Figura 5 Porcentaje de materia seca del bagazo, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., en diferentes tiempos de fermentación de *M. esculenta*.

De acuerdo a los hallazgos de Montagnac *et al.* (2009), el % de materia seca en *M. esculenta* es de 29,8 % y 39,3 %. Moyano (2014), explica que comúnmente el % de materia seca del sustrato en un sistema de fermentación, está directamente relacionado con la cantidad de agua adicionada en el sistema. Es decir, en el experimento a medida que la acción microbiana de *Rhizopus* sp., tuvo efecto sobre el sustrato, se liberó una mayor cantidad de agua y CO₂ (producto de la utilización de azúcares y almidón), durante los procesos metabólicos del microorganismo. Lo que correspondería con la disminución de materia seca del bagazo de *M. esculenta* al inicio de la fermentación, con respecto al % de materia seca calculada.

- Determinación de Ceniza (CZ) - Bagazo

Los resultados de la interacción del tamaño de partícula del sustrato sobre el contenido de ceniza del bagazo, se reportan en la **Figura 6**: **Tp.1** (2 cm): 1,64 %; **Tp.2** (4cm): 1,63 %; **Tp.3** (6cm): 1,63 %. Determinándose que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el tamaño de partícula del sustrato y el % de ceniza del bagazo.

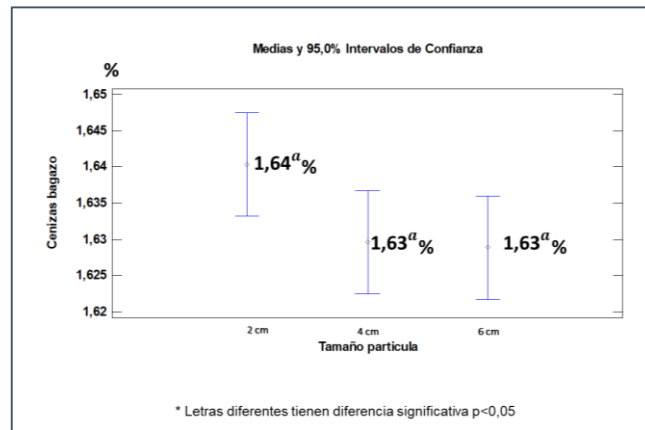


Figura 6 Porcentaje de ceniza del bagazo, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., con diferentes tamaños de partícula de *M. esculenta*.

En la **Figura 7**, se presentan los resultados obtenidos de la interacción del tiempo de fermentación sobre el contenido de ceniza del bagazo, los valores oscilan: **Tf.1** (4 días): 1,96 %; **Tf.2** (6 días): 1,95 %; **Tf.3** (8 días): 0,99 %. Mediante el análisis de varianza se determinó con un 95,0% de nivel de confianza que existen diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de fermentación y el contenido de ceniza del bagazo.

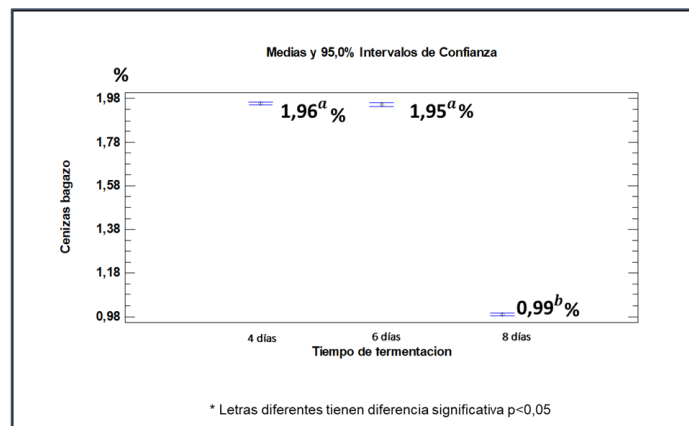


Figura 7 Porcentaje de ceniza del bagazo, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., en diferentes tiempos de fermentación de *M. esculenta*.

Salvador *et al.* (2014) ; Gil y Buitrago, (2002), indicaron que el % de ceniza está entre 1,5 % a 2,5 %, rango relativamente similar al promedio global obtenido en el presente experimento 1,63 % y significativo frente al % de ceniza reportado en los estudios de (Gunawan *et al.*, 2015), donde el valor fue 0,69 %. En función de los resultados, se observa que a medida que se incrementó el tiempo de fermentación, el contenido de ceniza presente en el bagazo disminuyó, en razón de: **4 días**: 1,96 %, **6 días**: 1,95 % y **8 días**: 0,99 %, se puede inferir que las variaciones en el contenido de ceniza (minerales) del bagazo, corresponde a que fueron consumidos por parte de los microorganismos en sus procesos metabólicos.

- **Determinación de Proteína Bruta (PB): Bagazo y Mosto**

Los resultados de la interacción del tamaño de partícula del sustrato sobre el % de proteína bruta del bagazo y mosto, obtenidos en esta investigación se reportan en la **Figura 8**, fueron: **Bagazo: Tp.1** (2 cm): 2,03 %; **Tp.2** (4cm): 2,03 %; **Tp.3** (6cm): 2,24 %; y, en el **Mosto: Tp.1** (2 cm): 0,158 %; **Tp.2** (4cm): 0,257 %; **Tp.3** (6cm): 0,283 %. Los resultados indicaron que no existen diferencias estadísticamente significativas, entre el tamaño de partícula del sustrato y el contenido de proteína bruta presente en el bagazo y mosto.

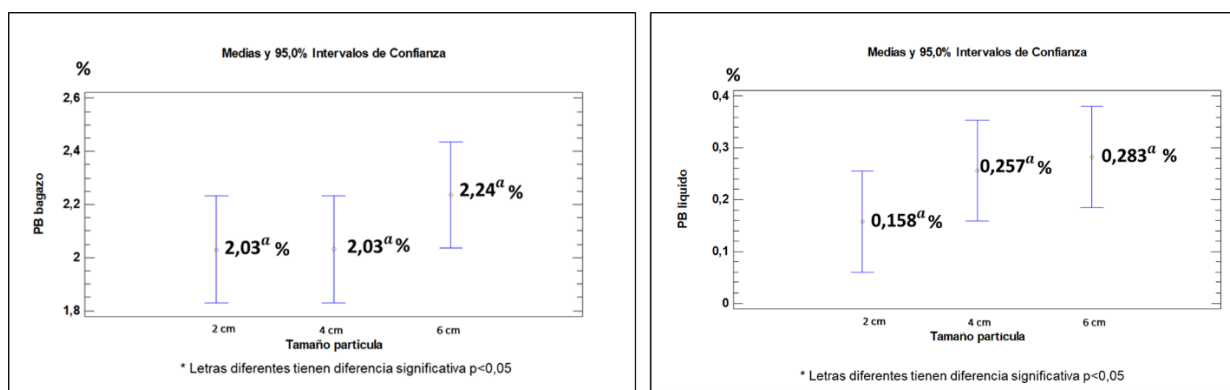


Figura 8 Porcentaje de proteína del bagazo y mosto, obtenidos en la fermentación por *Rhizopus* sp., con diferentes tamaños de partícula de *M. esculenta*.

En la **Figura 9**, se presentan los resultados obtenidos de la interacción del tiempo de fermentación sobre el % de proteína bruta del bagazo y el mosto, los valores obtenidos en el **Bagazo**, fueron: **Tf.1** (4 días): 2,82 %; **Tf.2** (6 días): 1,59 %; **Tf.3** (8 días): 1,89 %; y, **Mosto**: **Tf.1** (4 días): 0,184 %; **Tf.2** (6 días): 0,0874 %; **Tf.3** (8 días): 0,426 %. Los resultados obtenidos, indicaron mediante el análisis de varianza con un 95,0% de nivel de confianza que existen diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de fermentación y el contenido de proteína bruta en el bagazo y mosto.

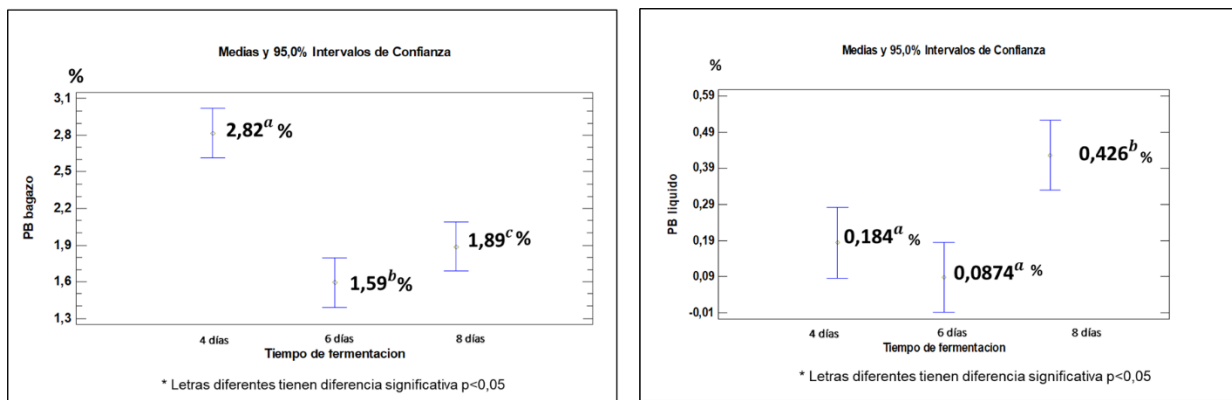


Figura 9 Porcentaje de proteína del bagazo y mosto, obtenidos en la fermentación por *Rhizopus* sp., en diferentes tiempos de fermentación de *M. esculenta*.

Los reportes de Gil y Buitrago (2002); Salvador *et al.* (2014), indicaron que el contenido de proteína en *M. esculenta* oscila en un promedio del 2 %, valor similar al encontrado en el experimento para el bagazo 2,1 %. Gunawan *et al.* (2015), señala que el incremento de proteína corresponde a la capacidad que tiene *Rhizopus* sp., para segregar algunas enzimas extracelulares como: celulasa, hemicelulasa, pectinasa, tanasa, fitasa, amilasa, lipasa y proteasas. Cabe destacar que la proteína del bagazo y el mosto obtenidos de la FES de *M. esculenta* aumentó significativamente con la fermentación; esto confirmaría la literatura citada por autores como Chaves-López *et al.* (2014), que explican que el uso de fermentaciones en *M. esculenta* mejora su composición nutricional, pues las raíces de *M. esculenta* y sus derivados son considerados como alimentos de bajo valor proteico, como lo señalan Manano *et al.* (2017).

- Determinación de pH: Mosto

Los resultados de la interacción del tamaño de partícula del sustrato sobre el nivel de pH del mosto, obtenido en esta investigación y reportado en la **Figura 10**, fueron: **Tp.1** (2 cm): pH 4,12; **Tp.2** (4 cm): pH 4,17 y **Tp.3** (6cm): pH 4,24. El análisis de varianza realizado a los datos, determinó con un 95,0% de nivel de confianza que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el tamaño de partícula del sustrato y el perfil de pH del mosto.

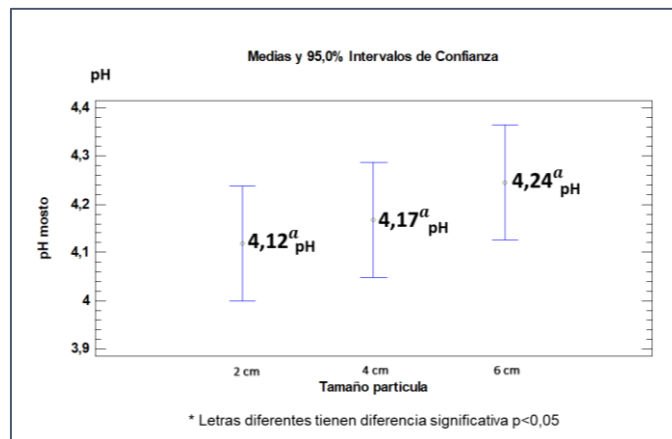


Figura 10 pH del mosto, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., con diferentes tamaños de partícula de *M. esculenta*.

En la **Figura 11**, los resultados obtenidos de la interacción del tiempo de fermentación sobre el perfil de pH del mosto, oscilaron: **Tf.1** (4 días): pH 4,13; **Tf.2** (6 días): pH 4,19 y **Tf.3** (8 días): pH 4,21, respectivamente.

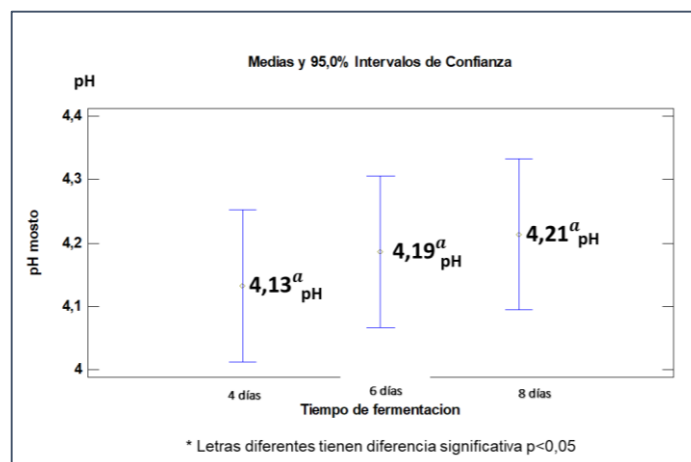


Figura 11 pH del mosto, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., en diferentes tiempos de fermentación de *M. esculenta*.

Gunawan *et al.* (2015) y Puerta Quintero (2012), indican que durante el proceso de fermentación el perfil de pH del sustrato tiende a disminuir hasta un valor que depende del sistema de fermentación y la temperatura de la misma, posteriormente el perfil de pH aumenta, como resultado de la producción y fermentación del ácido láctico y otros ácidos producidos por la actividad microbiana, a la eliminación de CO₂ y otras degradaciones propias del sistema. Esta afirmación bibliográfica coincidió con los resultados obtenidos; y, en dependencia de los mismos el análisis de varianza determinó con un 95,0% de nivel de confianza que no existen diferencias estadísticamente significativas, entre el tiempo de fermentación y el perfil de pH del mosto.

Demirci *et al.* (2014), por su parte señalan que el pH es un parámetro que requiere optimización para elevar el crecimiento microbiano y por ende las tasas de producción. Los hongos (mohos), generalmente prefieren valores de pH ligeramente ácidos (Singhania *et al.*, 2009). Esto explicaría que el descenso del pH (pH 5 a pH 4,18) favoreció considerablemente el ambiente para el desarrollo de *Rhizopus* sp., y por ende su actividad microbiana en la producción de ácidos orgánicos permitieron el desarrollo de sabores y aromas atractivos en el producto final, como lo explican los estudios de Henkel (2005).

- Rendimiento

Los resultados de la interacción del tamaño de partícula del sustrato sobre el volumen (L) obtenido de la FES de *M. esculenta* en esta investigación y reportados en la **Figura 12**, fueron: **Tp.1** (2 cm): 3,26 L; **Tp.2** (4 cm): 3,14 L y **Tp.3** (6cm): 2,87 L. El mejor rendimiento según el tamaño de partícula fue sobre el sustrato a Tp.1: (2 cm): 3,26 L. Sin embargo con el análisis de varianza realizado a los datos experimentales, se determinó con un 95,0% de nivel de confianza que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el tamaño de partícula del sustrato y el volumen (L) obtenido de la FES de *M. esculenta*.

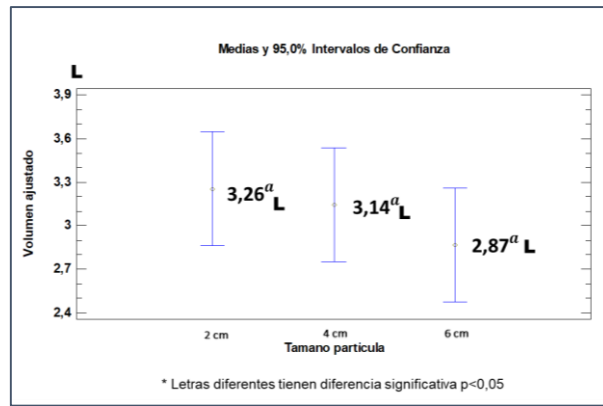


Figura 12 Volumen (L) del mosto, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., con diferentes tamaños de partícula de *M. esculenta*.

En la **Figura 13**, los resultados obtenidos de la interacción del tiempo de fermentación, sobre el volumen (L) obtenido de la FES de *M. esculenta*, oscilaron: Tf.1 (4 días): 3,58 L; Tf.2 (6 días): 2,62 L y Tf.3 (8 días): 3,06 L. El análisis de varianza realizado a los datos experimentales determinó con un 95,0% de nivel de confianza que no existen diferencias estadísticamente significativas, entre el tiempo de fermentación y el volumen (L) obtenido de la FES de *M. esculenta*, donde el **Tf.1** (4 días): 3,58 L, es el más representativo. Este resultado según la literatura citada por Puerta Quintero (2012), corresponde a que la degradación de azúcares tiene un comportamiento exponencial con relación al tiempo de fermentación es decir a medida que se acidifica y agota el sustrato la cantidad de azúcares disminuye.

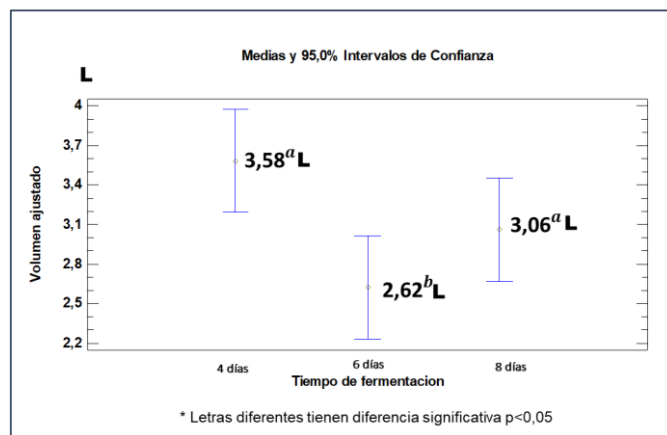


Figura 13 Volumen (L) del mosto, obtenido en la fermentación por *Rhizopus* sp., en diferentes tiempos de fermentación de *M. esculenta*

B. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA BEBIDA FINAL

De conformidad con los resultados obtenidos en la evaluación del proceso de FES de *M. esculenta* con *Rhizopus* sp., se propone el diagrama de flujo, para la elaboración una bebida fermentada a base de *M. esculenta*, que permita replicar el proceso en futuras investigaciones.

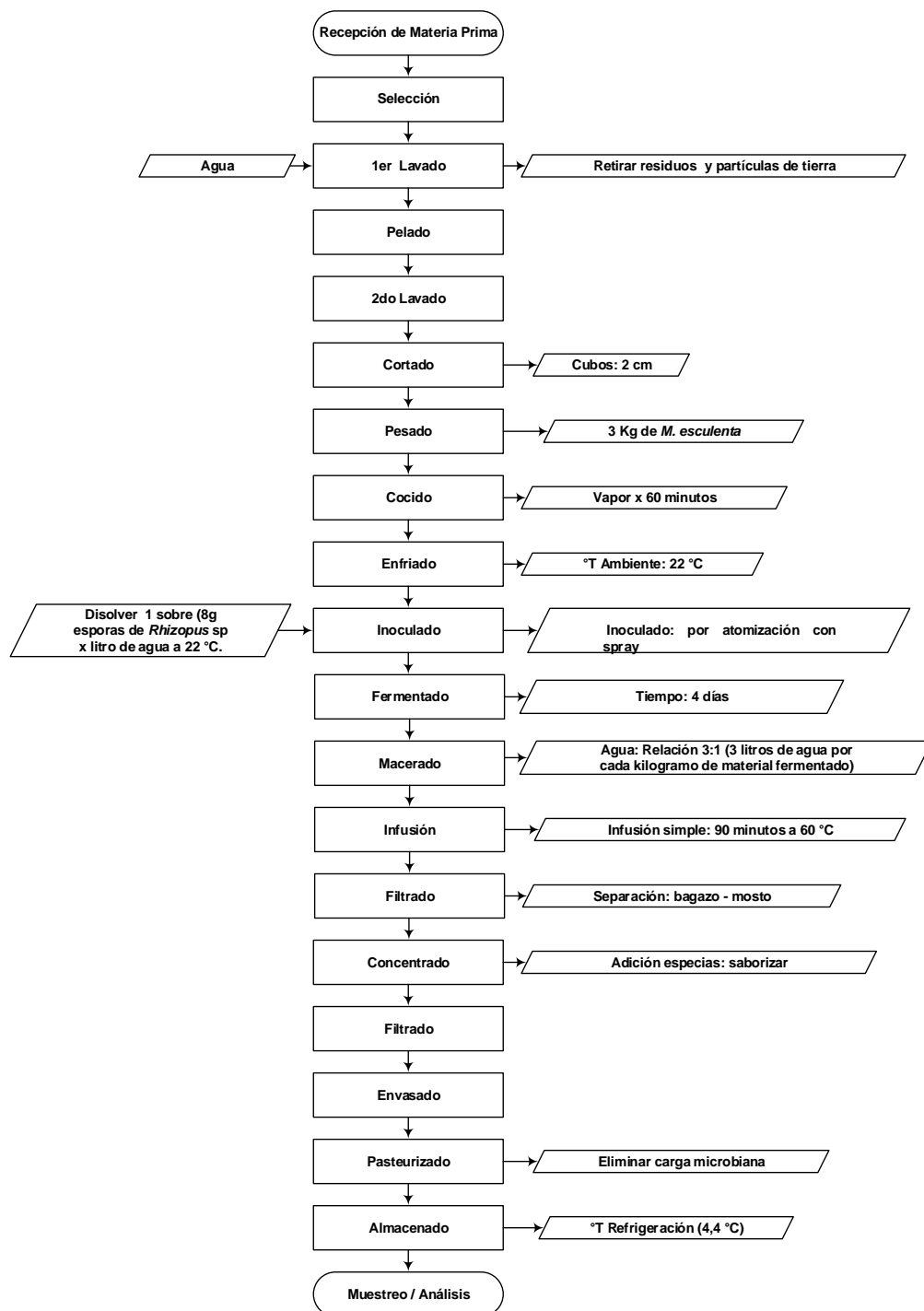


Figura 14 Diagrama flujo - Elaboración bebida de *Manihot esculenta*

C. CARACTERIZACIÓN DE LA BEBIDA FINAL

Los resultados obtenidos de la caracterización de la bebida fermentada de *M. esculenta* se presentan en la **Tabla 4**.

Tabla 4 Análisis químicos de la bebida fermentada de *M. esculenta*.

Parámetro	Resultado
Sólidos totales (%)	15,79
<i>Proteína (%)</i>	0,00
<i>Grasa (%)</i>	0,00
<i>Ceniza (%)</i>	0,51
<i>Fibra (%)</i>	0,00
<i>Carbohidratos totales (%)</i>	15,28
Azúcares (%)	
<i>Fructosa (%)</i>	0,00
<i>Glucosa (%)</i>	3,25
<i>Sacarosa (%)</i>	0,00
<i>Lactosa (%)</i>	0,00
<i>Colesterol (mg/100g)</i>	0,00
<i>Acidez (% exp. como ácido cítrico)</i>	0,18
Minerales	
<i>Sodio (mg/100g)</i>	39,60
<i>Potasio (mg/100g)</i>	174,23
<i>Calcio (mg/100g)</i>	14,73
<i>Fósforo (mg/100g)</i>	36,44
Metales pesados	
<i>Cobre (mg/100g)</i>	0,04
<i>Plomo (mg/100g)</i>	<0,003
<i>Zinc (mg/100g)</i>	0,26
Vitaminas	
<i>Vitamina C (mg/100g)</i>	0,00
<i>Vitamina A (μg/100g)</i>	0,00

Fuente: LABOLAB[®], 2018.

De la composición nutricional de la bebida se destacan los valores de carbohidratos y minerales. Estos resultados nos indican que la bebida fermentada de *M. esculenta* por su contenido de carbohidratos 15,28 % se determina que tiene un perfil energético y por su aporte de minerales como: Sodio (Na) los resultados correspondientes a la disminución de materia seca del bagazo de *M. esculenta* al inicio de la fermentación, con respecto al % de MS calculada) 39 mg, Potasio (K) 174,23 mg y Calcio (Ca) 14,73 mg; se la puede definir como una bebida isotónica natural.

Urdampilleta y Gómez-Zorita, (2014) en sus reportes destacan que una bebida isotónica debe hidratar y evitar la deshidratación durante procesos de esfuerzo físico; aportar sales minerales e hidratos de carbono; permitiendo así aumentar la absorción de agua mediante la combinación de sales minerales y azúcares.

Fairweather-Tait & Cashman, (2015) detallan que la deficiencia de minerales en la dieta, pueden desencadenar una serie de trastornos en la salud, por ejemplo: las deficiencias de sodio están asociadas a dolores de cabeza, debilidad muscular y espasmos, calambres, náuseas, vómito, confusión, letargo, pérdida del apetito y su consumo en exceso causa hipertensión. Deficiencias de potasio en el organismo causan arritmias cardíacas, debilidad muscular y su consumo en exceso se asocia a un alto riesgo de sufrir paros cardíacos. Las deficiencias de calcio, estas asociadas a problemas de osteoporosis, preeclampsia; y, un exceso la presencia de cálculos renales e insuficiencia renal. De la misma forma, las deficiencias de fósforo están relacionadas con la anorexia, debilidad muscular, dolor en los huesos, raquitismo, osteomalacia. Por lo anterior, se puede inferir que los minerales que contiene la bebida de *M. esculenta* si se consume en dieta, ayudarían en la erradicación de estos problemas.

Por otro lado, es preciso señalar que la presencia natural de ácido cítrico 0,18 % en la bebida también es importante, este parámetro tiene influencia directa en la reducción del crecimiento de microorganismos indeseables y por ende la conservación del producto (Muñoz *et al.*, 2014).

Otro de los factores importantes a destacar en este producto, es que el porcentaje de contaminantes propios de la materia prima, como: Cobre (Cu), Plomo (Pb), Zinc (Zn); se encuentran por debajo de los requisitos establecidos en la Norma INEN 2337 (INEN, 2008).

CONCLUSIONES

- El factor tamaño de partícula no influyó significativamente en la composición proximal del producto; por el contrario el tiempo de fermentación si presentó diferencias significativas en la composición proximal del mismo.
- Se estableció que el tamaño de partícula y el tiempo de fermentación, para obtener un alto rendimiento y una bebida fermentada de *Manihot esculenta* con características organolépticas y propiedades nutricionales deseables es: 2cm y 4 días.
- La caracterización de la bebida fermentada de *Manihot esculenta*, indicó que el perfil nutricional está dado por su contenido de hidratos de carbono 15,28 % y minerales: Sodio (Na) 39 mg, Potasio (K) 174,23 mg y Calcio (Ca) 14,73 mg, lo que la define como una bebida isotónica natural y respecto a la cantidad de metales pesados el contenido está por debajo de lo que determina la Norma INEN, esto demuestra que es un producto seguro para el consumo.

RECOMENDACIÓN

- Realizar estudios sobre el tiempo de vida útil en anaquel y un estudio de deterioro de la bebida fermentada de *Manihot esculenta*.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta Muñoz, L. E., & Zoria Java, J. (2012). Conocimientos tradicionales Ticuna en la agricultura de chagra y los mecanismos innovadores para su protección Ticuna traditional knowledge on chagra agriculture and innovative mechanisms for its protection. *Boletim Do Museu Paraense Emílio*, 7(2), 417–433. <https://doi.org/10.1590/S1981-81222012000200007>
- Arguedas-Gamboa, P., Mora-Molina, J., & Sanabria-Mora, J. (2015). Comparación del contenido de carotenoides en productos nutracéuticos elaborados a partir de dos variedades de camote y yuca. *Revista Tecnología En Marcha*, 28(4), 42. <https://doi.org/10.18845/tm.v28i4.2442>
- Arias Gutiérrez, R. I., Carpio Arias, T. V, Herrera Sorzano, A., & González Sousa, R. (2016). Sistema Indígena Diversificado de Cultivos y Desarrollo Local en la Amazonia Ecuatoriana. *Cultivos Tropicales (En Línea)*, 37(2), 7–14. [https://doi.org/Disponibile en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193246554001](https://doi.org/Disponibile%20en:%20http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193246554001)
- Arias, R., Carpio, T., Herrera, A., & González, R. (2016). Sistema indígena diversificado de cultivos y desarrollo local en la amazonía ecuatoriana. Diversified crop indigenous system and local development in Ecuadorian Amazonia. *Cultivos Tropicales*, 37(August), 7–14. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1878.1688>
- Aristizábal, J., & Calle, F. (2015). Proyecto Mejora De Las Economías Regionales Y Desarrollo Local. Retrieved from <https://www.inti.gob.ar/ue/pdf/publicaciones/cuadernillo22.pdf>
- Aristizábal, J., & Sánchez, T. (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de Yuca. *Boletín de Servicios Agrícolas de La FAO*, (163), 134.
- Baschali, A., Tsakalidou, E., Kyriacou, A., Karavasiloglou, N., & Matalas, A. L. (2017). Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: A neglected food group. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 1–24. <https://doi.org/10.1017/S0954422416000202>
- Burns, A., Gleadow, R., Cliff, J., Zacarias, A., & Cavagnaro, T. (2010). Cassava: The drought, war and famine crop in a changing world. *Sustainability*, 2(11), 3572–3607. <https://doi.org/10.3390/su2113572>
- Bustamante, T., Espinosa, M. F., Ruiz, L., & Trujillo, J. (1993). *Retos de la amazonia* (Adoum edic). Retrieved from www.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/51287.pdf
- Cantabrana, I., Perise, R., & Hernández, I. (2015). Uses of *Rhizopus oryzae* in the kitchen. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2(2), 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2015.01.001>
- Cartay, R. (2004). Difusión y comercio de la yuca (*Manihot esculenta*) en Venezuela y en el mundo. *Agroalimentaria*, 18(58), 14–23. Retrieved from <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/agroalimentaria/article/view/1309/1255>
- Ceballos, H., & Hershey, C. (2012). La mandioca: Un cultivo que conquistó el mundo. In *xxxv Congreso Argentino de Horticultura* (pp. 156–161). Corrientes, Argentina: Asociación Argentina de Horticultura.
- Chaves-López, C., Serio, A., Grande-Tovar, C. D., Cuervo-Mulet, R., Delgado-Ospina, J.,

- & Paparella, A. (2014). Traditional Fermented Foods and Beverages from a Microbiological and Nutritional Perspective: The Colombian Heritage. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 1031–1048. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12098>
- Chávez González, M. L., Rodríguez Durán, L. V., Rodríguez Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2009). Aspectos básicos de la fermentación en medio sólido. *CIENCIACIERTA*, (20). Retrieved from <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierta/CC20/CC20fermentacion.html>
- Chilton, S. N., Burton, J. P., Reid, G., & Reid, G. (2015). Inclusion of fermented foods in food guides around the world. *Nutrients*, 7(1), 390–404. <https://doi.org/10.3390/nu7010390>
- Chojnacka, K. (2010a). Fermentation Products. *Encyclopedia of Life Support Systems*, 5. Retrieved from <http://www.eolss.net/sample-chapters/c06/e6-34-09-09.pdf>
- Chojnacka, K. (2010b). Fermentation Products. *Encyclopedia of Life Support Systems*, 5.
- Colehour, A. M., Meadow, J. F., Liebert, M. A., Cepon-Robins, T. J., Gildner, T. E., Urlacher, S. S., ... Sugiyama, L. S. (2014). Local domestication of lactic acid bacteria via cassava beer fermentation. *PeerJ*, 2, e479. <https://doi.org/10.7717/peerj.479>
- Corrêa Leal Penido, F., Barbosa Piló, F., De Cicco Sandes, S. H., Cantini Nunes, Á., Colen, G., De Souza Oliveira, E., ... Alves Lacerda, I. C. (2018). Selection of starter cultures for the production of sour cassava starch in a pilot-scale fermentation process. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.02.001>
- Costa, M., Torres, M., Magariños, H., & Reyes, A. (2010). Production and partial purification of *Aspergillus ficuum* hydrolytic enzymes in solid state fermentation of agroindustrial residues. *Revista Colombiana de Biotecnología*. <https://doi.org/0123-3475>
- Crafack, M., Keul, H., Eskildsen, C. E., Petersen, M. A., Særens, S., Blennow, A., ... Nielsen, D. S. (2014). Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, 63(C), 306–316. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.032>
- Demirci, A., Izmirlioglu, G., & Ercan, D. (2014). Fermentation and Enzyme Technologies in Food Processing. In *Food Processing: Principles and Applications*. (pp. 107–136). John Wiley & Sons, Ltd.
- Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (2016). *Food Microbiology: Principles into Practice*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/DOI: 10.1002 / 9781119237860>
- Fairweather-Tait, S., & Cashman, K. (2015). Minerals and Trace Elements. *World Rev Nutr Diet. Basel. Encyclopedia of Food and Health*, 111(January 2015), 331–338. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00699-1>
- FAO. (2002). La reducción de la pobreza y el hambre: La función fundamental de la financiación de la alimentación, la agricultura y el desarrollo rural. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/003/y6265s/y6265s00.htm>
- FAO. (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de Yuca. *FAO - CIAT*,

18. Retrieved from <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/010/a1028s/a1028s01.pdf>
- FAO. (2013). *Save and Grow Cassava: A guide to sustainable production intensification*. Roma.
- Ferrer, J. R., Machado, J. L., & Brieva, J. (2014). Fermentación en estado sólido : Una alternativa biotecnológica para el aprovechamiento de desechos agroindustriales. *Revista Tecnocientífica URU*, 7(Julio-Diciembre), 11–22.
- Freire, A. L., Zapata, S., Mosquera, J., Mejia, M. L., & Trueba, G. (2016). Bacteria associated to human saliva are major microbial components of Ecuadorian indigenous beers (chicha). *PeerJ*, 4. <https://doi.org/https://doi.org/10.7717/peerj.1962>
- Fretes, F., Mendoza, C., Reinaldo, P., Martínez, M., Sciscioli, A., & Máximo, Z. (2010). *Mandioca: Una opción industrial*.
- Gil, J., & Buitrago, J. (2002). La yuca en la alimentación animal. In B. Ospina & H. Ceballos (Eds.), *La yuca en el Tercer Milenio: Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización*. (pp. 527–569). Cali, Colombia.
- Gomes, B. S., Pereira Junior, J. B., De Oliveira Nunes, P., De Souza Lemos, M., Dantas Filho, H. A., & Fernandes Dantas, K. das G. (2017). Assessment of the Concentration of Trace Elements in Cassava Flour (*Manihot esculenta* Crantz) by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Revista Virtual de Química*, 9(4), 1699–1711. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170098>
- Gómez, M. (2006). Utilización de la yuca en la alimentación de rumiantes en la costa norte colombiana. ENGORMIX.
- Gunawan, S., Widjaja, T., Zullaikah, S., Ernawati, L., Istianah, N., Apamarta, H. W., & Prasetyoko, D. (2015). Effect of fermenting cassava with *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Rhizopus oryzae* on the chemical composition of their flour. *International Food Research Journal*, 22(3), 1280–1287.
- Henkel, T. W. (2005). Parakari, an indigenous fermented beverage using amylolytic *Rhizopus* in Guyana. *Mycologia*, 97(1), 1–11. <https://doi.org/10.3852/mycologia.97.1.1>
- Hong, T. T. T., & Ca, L. T. (2013). El contenido de proteína de los residuos de yuca , soja y salvado de arroz aumenta a través de la fermentación con *Aspergillus oryzae*. *Investigación Ganadera Para El Desarrollo Rural*, 25(7), 8–10.
- INEN. (2008). Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales. Requisitos. *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2337:2008*, 1–13. <https://doi.org/10.17226/18948>
- INEN. (2013a). Cereales y leguminosas. Determinación del contenido en nitrógeno y cálculo del contenido de proteína bruta. Método de kjeldahl (IDT). *NTE INEN-ISO 20483:2013*.
- INEN. (2013b). Conservas vegetales. Determinación de cenizas. *NTE INEN 401:2013*, 1–6.
- INEN. (2013c). Conservas Vegetales. Determinación de Materia Seca. *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 382 : 2013*, 1–6.
- INEN. (2013d). Productos Vegetales y frutas - Determinación de pH (IDT). *NORMA*

TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN-ISO 1842:2013.
[https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00007-9](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00007-9)

- INEN. (2013e). Productos vegetales y frutas - determinación de sólidos solubles - método refractométrico (IDT). *NTE INEN-ISO 2173: 2013.*
- INEN. (2015). Leche y Productos Lácteos - Determinación del Contenido de Nitrógeno. Parte 1: Método kjeldahl y cálculo de la proteína bruta. *NTE INEN-ISO 8968-1 IDF 20-1.*
- Jakubowski, M. (2017). Potential and differences of selected fermented non-alcoholic beverages. *World Scientific News*, 72, 204–210.
- Julián Ricardo, M. C., Ramos Sánchez, L. B., & Suárez Rodríguez, Y. (2008). Fermentación en estado sólido (II) Optimización de medios de cultivos. *Tecnología Química [En Linea]*, 28(1), 5–10. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445543755001>
- Kimuyu, P. (2016). *Food Bioprocessing. Solid State Fermentation.*
- Knowles, M. M., Pabón, M., & Carulla, J. E. (2012a). Use of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and other starchy non-conventional sources in ruminant feeding. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25, 488–499. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v25n3/v25n3a16.pdf>
- Knowles, M. M., Pabón, M., & Carulla, J. E. (2012b). Use of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and other starchy non-conventional sources in ruminant feeding. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25, 488–499.
- Llorens, J. A. (2008). Chicha: de la bebida a la cultura. En Chicha peruana: una bebida, una cultura (pp. 196-210). lima: Universidad San Martín de Porres.).
- Londoño-Hernández, L., Ramírez-Toro, C., Ruiz, H. A., Ascacio-Valdés, J. A., Aguilar-Gonzalez, M. A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2017). *Rhizopus oryzae* – Ancient microbial resource with importance in modern food industry. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 110–127. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.012>
- Lukuyu, B., Okike, I., Duncan, A., Beveridge, M., & Blümmel, M. (2014). Use of Cassava in Livestock and Aquaculture Feeding Programs, 1–83.
- Manan, M. A., & Webb, C. (2017). Design Aspects of Solid State Fermentation as Applied to Microbial Bioprocessing. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 4(1). <https://doi.org/DOI: 10.15406/jabb.2017.04.00094>
- Manano, J., Ogowok, P., & Byarugaba-bazirake, G. W. (2017). Chemical Composition of Major Cassava Varieties in Uganda , Targeted for Industrialisation. *Journal of Food Research*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n1p1>
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., ... Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- McGovern, P. E., Underhill, A. P., Fang, H., Fengshi, L., Hall, G. R., Yu, H., ... Feinman, G. M. (2005). Chemical identification and cultural implications of a mixed fermented beverage from late prehistoric China. *Perspectivas Asiáticas*, 44(2), 249–275.

Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/42928650>

- Medina, R. D., Burgos, A. M., Michellod, M., & Cenóz, P. J. (2017). Cultivo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) en invernadero - Efectos sobre el rendimiento y la calidad de raíces tuberosas. *Interciencia*, 42(8), 515–521. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33952871006>
- Meléndez Torres, J. M., & Cañez De la Fuente, G. M. (2010, November). La cocina tradicional regional como un elemento de identidad y desarrollo local: el caso de San Pedro El Saucito, Sonora, México. *Estudios Sociales (Hermosillo, Son.)*, 17, 181–204. <https://doi.org/0188-4557>
- Meussen, B. J., De Graaff, L. H., Sanders, J. P. M., & Weusthuis, R. A. (2012). Metabolic engineering of *Rhizopus oryzae* for the production of platform chemicals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(4), 875–886. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4033-0>
- Ministerio de Cultura del Ecuador. (2013). Patrimonio Alimentario. *Come Sano, Come Con Identidad*.
- Ministerio de Cultura y Patrimonio. (2015). Chicha, bebida ceremonial y milenaria. *Patrimonio Alimentario*. Ecuador.
- Mitchell, D. A., De Lima, L., & Krieger, N. (2011). Bioreactors for solid-state fermentation. In M. Moo-Yong (Ed.), *Comprehensive Biotechnology*. (2nd ed., pp. 347–360). Elsevier.
- Mitchell, D. A., Krieger, N., & Berovic, M. (2006). *Solid State Fermentation Bioreactors. Solid-State Fermentation Bioreactors. Fundamentals of Design and Operation*. <https://doi.org/10.1007/3540312854>
- Montagnac, J. A., Davis, C. R., & Tanumihardjo, S. A. (2009). Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(3), 181–194. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00077.x>
- Montoya-López, J., Quintero-Castaño, V. D., & Lucas-Aguirre, J. C. (2015). Caracterización de harina y almidón de frutos de banano Gros Michel (*Musa acuminata* AAA). *Acta Agronómica*, 64(1), 11–21. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n1.38814>
- Morgan, N. K., & Choct, M. (2016). Cassava : Nutrient composition and nutritive value in poultry diets Cassava : Nutrient composition and nutritive value in poultry diets. *Animal Nutrition*, (November). <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.08.010>
- Moyano, M. (2014). *Fermentación en Estado Sólido (FES) de la papa (Solanum tuberosum), como alternativa tecnológica para la alimentación animal*. UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA (UNAD).
- Muñoz, A., Sáenz, A., López, L., Cantú, L., & Barajas, L. (2014). Ácido Cítrico: Compuesto Interesante, Citric Acid: Interesting Compound. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(12), 6.
- Obueh, H., & Kolawole, S. (2016). Comparative Study on the Nutritional and Anti-Nutritional Compositions of Sweet and Bitter Cassava Varieties for Garri Production. *Journal of Nutrition and Health Sciences*, 3(3). <https://doi.org/10.15744/2393->

- Olapade, A. A., Babalola, Y. O., & Aworh, O. C. (2014). Quality attributes of fufu (fermented cassava) flour supplemented with bambara flour. *International Food Research Journal*, 21(5), 2025–2032.
- Ospina, B., & Ceballos, H. (2003). *La yuca en el Tercer Milenio : Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización*. CIAT: CLAYUCA: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, FENAVI. Cali, Colombia. Retrieved from <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/54117>
- Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. *Revista de Ingeniería Bioquímica - Biochemical Engineering Journal*, 13(2–3), 81–84. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00121-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00121-3)
- Pastrana, L. (1996). Fundamentos De La Fermentación En Estado Sólido Y Aplicación a La Industria Alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 1(3), 4–12. <https://doi.org/10.1080/11358129609487556>
- Pastrana, Y., Durango, A., De Paula, C., & Acevedo, D. (2015). Caracterización Físicoquímica, Bromatológica y Microbiológica de Bebidas Autóctonas de Córdoba, Colombia. Physicochemical, Bromatological and Microbiological Characterization of local drinks from Cordoba, Colombia. *Información Tecnológica*, 26(4), 53–62. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000400008>
- Pazos Barrera, J. (2008). *El sabor de la memoria. Historia de la cocina quiteña*. Apicius (Vol. 09).
- Puerta Quintero, G. I. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 402, 8–10. Retrieved from <http://www.cenicafe.org/es/publications/avt0402.pdf>
- Puerta Quintero, G. I. (2012). Factores, procesos y controles en la fermentación del café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 422, 1–12.
- Ray, R., & Joshi, V. (2014). Fermented Foods: Past, Present and Future. *Microorganisms and Fermentation of Traditional Foods*, 1–35. <https://doi.org/10.13140/2.1.1849.8241>
- Rendueles, M., & Díaz, M. (2014). Biotecnología Industrial. *Arbor*, 190(768), 1–9. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3989/arbor.2014.768n4009>.
- Rivadeneira-Domínguez, E., Rodríguez-Landa, J. F., & Salas-Montero, D. R. (2012). ¿Neuropatía atáxica tropical y konzo asociadas al consumo excesivo de yuca? *Archivos de Neurociencias*, 17(1), 35–42.
- Rivadeneira-Domínguez, E., Rosas-Jarquín, C. J., Vázquez-Luna, A., Díaz-Sobac, R., & Rodríguez-Landa, J. F. (2016). Effects of acetone cyanohydrin, a derivative of cassava, on motor activity and kidney and liver function in Wistar rats. *Neurología*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2017.01.004>
- Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2002). Fermentación En Estado Sólido: Una Tecnología Microbiana Promisoria Para La Producción De Metabolitos Secundarios. *Vitae, Revista de La Facultad de Química Farmacéutica*, 9(0121-4004), 27–36. Retrieved from <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/view/414/342>

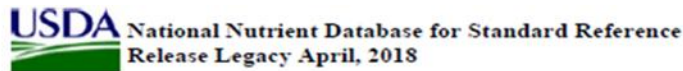
- Salvador, E. M., Steenkamp, V., & McCrindle, C. M. E. (2014). Production, consumption and nutritional value of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) in Mozambique: An overview. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 6(3), 29–38. <https://doi.org/10.5897/JABSD2014.0224>
- SENPLADES. (2017). Plan nacional de desarrollo 2017-2021 “Toda una Vida.” *Senplades*, 1–148. Retrieved from http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL_0K.compressed1.pdf
- Silva, C. A., Baker, D., & Shepherd, A. W. (2013). *Agroindustrias para el desarrollo*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i3125s.pdf>
- Singhania, R. R., Kumar Patel, A., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 13–18. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.019>
- Sotelo, R., & Acevedo, G. (2009). Conservación de las raíces frescas de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) aplicándole el proceso de parafinado. *Nexo Revista Científica*, 21(2), 48–53.
- StatPoint Technologies Inc. (2013). STATGRAPHICS Centurion XVI.
- Sulistyo, J., Shya, L. J., Mamat, H., & Wahab, N. A. (2016). Nutritional value of fortified cassava flour prepared from modified cassava flour and fermented protein hydrolysates. *AIP Conference Proceedings*, 1744(2016). <https://doi.org/10.1063/1.4953504>
- UNCTAD. (2017). *Función de la ciencia, la tecnología y la innovación en la garantía de la seguridad alimentaria para el año 2030*. Ginebra. Retrieved from https://unctad.org/meetings/es/SessionalDocuments/ecn162017d3_es.pdf
- Urdampilleta, A., & Gómez-Zorita, S. (2014). De la deshidratación a la hiperhidratación; bebidas isotónicas y diuréticas y ayudas hiperhidratantes en el deporte. *Nutricion Hospitalaria*, 29(1), 21–25. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.1.6775>
- USDA. (2018). Informe completo (Todos los nutrientes): 11134, Yuca, crudo. Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Retrieved from <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
- Vargas Aguilar, P., & Hernández Villalobos, D. (2013). Harinas y almidones de yuca, ñame, camote y ñampí: propiedades funcionales y posibles aplicaciones en la industria alimentaria. *Tecnología En Marcha*, 26(1), 37–45. <https://doi.org/10.18845/tm.v26i1.1120>
- Visintin, S., Ramos, L., Batista, N., Dolci, P., Schwan, F., & Cocolin, L. (2017). Impact of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii* starter cultures on cocoa beans fermentation. *Int J Food Microbiol*, 257, 31–40. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.004>
- Wachner, C. (2014). La biotecnología alimentaria antigua: los alimentos fermentados. *Revista Digital Universitaria*, 15(8), 1–14.
- Wafula, E. N., Franz, C. M. A. P., Rohn, S., Huch, M., Mathara, J. M., Trierweiler, B., & Becker, B. (2015). Fermentation of African Leafy Vegetables to Lower Post-Harvest Losses, Maintain Quality and Increase Product Safety. *Tropentag: Management of Land Use Systems for Enhanced Food Security: Conflicts, Controversies and*

Resolutions, 9(June), 633. Retrieved from <http://www.tropentag.de/>

- Wobeto, C., Corrêa Duarte, A., Patto de Abreu, C., Donizete dos Santos, C., & Pereira, H. (2006a). Nutrients in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf meal at three ages of the plant. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 26(4), 865–869. <https://doi.org/x.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100019>
- Wobeto, C., Corrêa Duarte, A., Patto de Abreu, C., Donizete dos Santos, C., & Pereira, H. (2006b). Nutrients in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf meal at three ages of the plant. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 26(4), 865–869. <https://doi.org/x.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100019>
- Zanini, A., Rodríguez Pardina, P., Luque, A., & Di Feo, L. (2014). Identificación y caracterización de Cassava common mosaic virus en cultivos de mandioca en Argentina. *Ciencia y Tecnología de Los Cultivos Industriales*, 4(6).
- Zepf, F., & Jin, B. (2013). Bioconversion of Grape Marc into Protein Rich Animal Feed by Microbial Fungi. *Chemical Engineering & Process Techniques Chem Eng Process Tech*, 1(2).

ANEXOS

1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE MANIHOT ESCULENTA



Basic Report 11134, Cassava, raw

Report Date: August 07, 2018 13:26 EDT

Nutrient values and weights are for edible portion.

Nutrient	Unit	1 Value Per100 g	1 cup 206g	1 root 408g
Proximates				
Water	g	59.68	122.94	243.49
Energy	kcal	160	330	653
Protein	g	1.36	2.80	5.55
Total lipid (fat)	g	0.28	0.58	1.14
Carbohydrate, by difference	g	38.06	78.40	155.28
Fiber, total dietary	g	1.8	3.7	7.3
Sugars, total	g	1.70	3.50	6.94
Minerals				
Calcium, Ca	mg	16	33	65
Iron, Fe	mg	0.27	0.56	1.10
Magnesium, Mg	mg	21	43	86
Phosphorus, P	mg	27	56	110
Potassium, K	mg	271	558	1106
Sodium, Na	mg	14	29	57
Zinc, Zn	mg	0.34	0.70	1.39
Vitamins				
Vitamin C, total ascorbic acid	mg	20.6	42.4	84.0
Thiamin	mg	0.087	0.179	0.355
Riboflavin	mg	0.048	0.099	0.196
Niacin	mg	0.854	1.759	3.484
Vitamin B-6	mg	0.088	0.181	0.359
Folate, DFE	µg	27	56	110
Vitamin B-12	µg	0.00	0.00	0.00
Vitamin A, RAE	µg	1	2	4
Vitamin A, IU	IU	13	27	53
Vitamin E (alpha-tocopherol)	mg	0.19	0.39	0.78
Vitamin D (D2 + D3)	µg	0.0	0.0	0.0
Vitamin D	IU	0	0	0
Vitamin K (phylloquinone)	µg	1.9	3.9	7.8
Lipids				
Fatty acids, total saturated	g	0.074	0.152	0.302
Fatty acids, total monounsaturated	g	0.075	0.154	0.306
Fatty acids, total polyunsaturated	g	0.048	0.099	0.196
Fatty acids, total trans	g	0.000	0.000	0.000
Cholesterol	mg	0	0	0
Amino Acids				
Other				
Caffeine	mg	0	0	0

2 PROCESO DE ELABORACIÓN BEBIDA FERMENTADA DE MANIHOT ESCULENTA



1 Recepción Materia Prima



2 Acondicionamiento Materia Prima
(a. Pelado – b. Lavado – c. Picado – d. Cocido)



3 Inoculación y Fermentación



4 Maceración



5 Concentrado



6 Envasado
a: (bebida inicial) b: (bebida final)



7 Muestreo - Análisis

3 ANÁLISIS QUÍMICOS DE LA BEBIDA



INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 187079
Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Josselyn Pico
DIRECCIÓN: Puyo
MUESTRA: **Bebida fermentada de yuca**
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Liquido color habano
FECHA DE RECEPCION: 01 de octubre del 2018
FECHA ELABORACION: 29 de septiembre del 2018
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
ENVASE: Botella de vidrio
MUESTREADO: Por cliente
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 01 – 15 de octubre del 2018
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME: 15 de octubre del 2018
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 27%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADO
Sólidos totales (%):	PEE/LA/07 INEN 382	15.79
Proteína (%):	PEE/LA/01 INEN ISO 8968	0.00
Grasa (%):	PEE/LA/05 INEN ISO 8262	0.00
Ceniza (%):	PEE/LA/03 INEN 401	0.51
Fibra (%):	INEN 522	0.00
Carbohidratos totales (%):	Cálculo	15.28
Sodio (mg/100g):	Electrodo selectivo	39.60
Azúcares (%):	HPLC	3.25
Fructosa (%):	HPLC	0.00
Glucosa (%):	HPLC	3.25
Sacarosa (%):	HPLC	0.00
Lactosa (%):	HPLC	0.00
Colesterol (mg/100g):	Libermann Bourchard	0.00
Acidez (% exp. como ácido cítrico)	PEE/LA/06 INEN ISO 750	0.18

Cecilia Luzuriaga S

Dra. Cecilia Luzuriaga
GERENTE GENERAL



ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.

Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 2561-350 / 3238-503/ 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591

E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 187079
Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Josselyn Pico
DIRECCIÓN: Puyo
MUESTRA: **Bebida fermentada de yuca**
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Liquido color habano
FECHA DE RECEPCION: 01 de octubre del 2018
FECHA ELABORACION: 29 de septiembre del 2018
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
ENVASE: Botella de vidrio
MUESTREADO: Por cliente
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 01 – 15 de octubre del 2018
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME: 15 de octubre del 2018
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 27%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	METODO	RESULTADO
Potasio (mg/100g)	Electrodo selectivo	174.23
Calcio (mg/100g)	AOAC 976.09	14.73
Fósforo (mg/100g)	AOAC 986.24	36.44
Cobre (mg/100g)	APHA 3111B Modificado	0.04
Plomo (mg/100g)	APHA 3111B Modificado	< 0.003
Zinc (mg/100g)	APHA 3111B Modificado	0.26
Vitamina C (mg/100g)	HPLC	0.00
Vitamina A (µg/100g)	HPLC	0.00

Cecilia Luzuriaga
Dra. Cecilia Luzuriaga
GERENTE GENERAL

LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 2561-350 / 3238-503/ 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591
 E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / ceciliacruzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador