

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
ESCUELA DE POSGRADO
UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



“CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE UNA LEVADURA PROBIÓTICA
(*Saccharomyces boulardii*), EN BEBIDA A BASE DEL GERMINADO DE
MAÍZ MORADO (*Zea mays L.*)”

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN CIENCIA
Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Erasmus Enrique Barrientos Aguilar
Emily Briseida Levano Saravia

Callao, 2021
PERÚ

Handwritten signature in black ink.

Handwritten signature in black ink.

Handwritten signature in black ink.

HOJA DE REFERENCIA DEL JURADO Y APROBACIÓN

La presente tesis fue sustentada por el señor BARRIENTOS AGUILAR ERASMO ENRIQUE y la señora LEVANO SARAVIA EMILY BRISEIDA ante el jurado de sustentación de tesis conformado por los siguientes profesores ordinarios:

Dr. Carrasco Venegas Luis Américo	PRESIDENTE
Dr. Rodríguez Taranco Óscar Juan	SECRETARIO
Mg. Díaz Bravo Pablo Belizario	VOCAL
Mg. Angeles Queirolo Carlos Ernesto	VOCAL
Mg. López Herrera Jorge Amador	ASESOR

Tal como está asentado en el acta N.º 19 Libro 01, de fecha 19 de diciembre del año 2021, para obtener el grado académico de maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos de conformidad con lo establecido por el Reglamento de Grados y títulos aprobado con Resolución de Consejo universitario N° 245-2018-CU de fecha 30 de octubre de 2018.

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a nuestros padres que gracias a sus consejos y recomendaciones logramos llevar a cabo nuestros objetivos, porque son nuestra fortaleza en estos momentos difíciles de pandemia que nos tocó vivir.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios nuestro creador por darnos la fortaleza y dedicación para poder llevar a cabo todo lo propuesto.

A nuestra familia por su apoyo incondicional y por darnos siempre fuerzas para seguir luchando.

A nuestros amigos por ser los que nos impulsaron y siempre creyeron en nuestro proyecto.

A nuestro asesor de tesis Mg. Jorge López Herrera, por sus consejos para poder culminar satisfactoriamente nuestro trabajo de investigación.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
TABLAS DE CONTENIDO	3
TABLAS DE FIGURAS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
1.1. Descripción de la realidad problemática	8
1.2. Formulación del problema	9
1.2.1. Problema general	9
1.2.2. Problemas específicos	9
1.3. Objetivos	9
1.3.1. Objetivo general	9
1.3.2. Objetivos específicos	9
1.4. Limitantes de la investigación	10
1.4.1. Limitante teórica	10
1.4.2. Limitante temporal	10
1.4.3. Limitante espacial	10
II. MARCO TEÓRICO	11
2.1. Antecedentes del estudio	11
2.1.1. Antecedentes internacionales	11
2.1.2. Antecedentes nacionales	12
2.2. Bases teóricas	14
2.2.1. Características generales del maíz, Zea mays	14
2.2.2. Maíz morado	17
2.2.3. Saccharomyces boulardii	20
2.2.4. Fermentación	23
2.2.5. Alimentos funcionales	25
2.2.6. Modelos matemáticos	26
2.3. Conceptual	27
2.3.1. Cinética de crecimiento microbiano	27

2.4.	Definición de términos básicos	29
III.	HIPÓTESIS Y VARIABLES	31
3.1.	Hipótesis	31
3.1.1.	Hipótesis general	31
3.1.2.	Hipótesis específica	31
3.2.	Definición conceptual de variables	31
3.2.1.	Operacionalización de las variables	32
IV.	DISEÑO METODOLÓGICO	33
4.1.	Tipo y diseño de investigación	33
4.2.	Método de investigación	36
4.3.	Población y muestra	36
4.4.	Lugar de estudio y periodo desarrollado	36
4.5.	Técnicas e instrumentos para la recolección de la información	36
4.5.1.	Técnicas	36
4.5.2.	Instrumentos	38
4.6.	Análisis y procesamiento de datos	38
V.	RESULTADOS	39
5.1.	Resultados descriptivos	39
5.2.	Resultados inferenciales	42
5.3.	Otro tipo de resultados estadísticos	46
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	47
6.1.	Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados	47
6.2.	Contrastación de los resultados con otros estudios similares	48
6.3.	Responsabilidad ética de acuerdo con los reglamentos vigentes	49
	CONCLUSIONES	50
	RECOMENDACIONES	51
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
	ANEXO	62

TABLAS DE CONTENIDOS

Tabla 1	Sistemática del maíz (<i>Zea mays</i> L.)	14
Tabla 2	Composición química proximal de los granos de maíz (%)	15
Tabla 3	Razas de maíz de Perú	16
Tabla 4	Clasificación taxonómica del maíz morado	17
Tabla 5	Composición proximal de maíz con distintas coloraciones	19
Tabla 6	Contenido de diferentes elementos reportados en maíz morado	20
Tabla 7	Taxonomía de <i>Saccharomyces boulardii</i>	21
Tabla 8	Tipo de condiciones y propiedades de sustrato para el desarrollo de algunos microorganismos fermentadores	24
Tabla 10	Operacionalización de variables	32
Tabla 11	Diseño factorial	33
Tabla 12	Propiedades fisicoquímicas	36
Tabla 13	Crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i>	39
Tabla 14	Resultados de pH, oBrix	42
Tabla 15	Parámetros cinéticos de <i>Saccharomyces boulardii</i> en las diferentes muestras del sustrato del germinado de maíz morado	45
Tabla 16	Análisis de varianza respecto al crecimiento de la levadura	46

TABLA DE FIGURAS

Figura 1	Diagrama de flujo general de procesamiento para obtener el sustrato de germinado de maíz morado	33
Figura 2	Diseño de los tratamientos a experimentar	35
Figura 4	Crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> a través del tiempo con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 3%	40
Figura 5	Crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> a través del tiempo con la concentración de sustrato al 10% y concentración de inóculo al 3%	40
Figura 6	Crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> a través del tiempo con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 5%	41
Figura 7	Crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> a través del tiempo con la concentración de sustrato al 10% y concentración de inóculo al 5%	41
Figura 8	Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 3%	43
Figura 9	Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 10% y concentración de inóculo al 3 %	43
Figura 10	Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 5 %	44
Figura 11	Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 10 %	44

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal el determinar la cinética de crecimiento de la levadura *Saccharomyces boulardii* en una bebida hecha a base del germinado de maíz morado (*Zea mays L*), la bebida se obtuvo a partir del germinado de maíz morado y agua en una proporción de 1: 20 (maíz morado – agua), se prepararon los sustratos que fueron usados para evaluar el crecimiento cinético de *Saccharomyces boulardii* de acuerdo con el diseño factorial 2², donde las variables fueron el % de sustrato (sacarosa) y el % de inóculo (levaduras). Se realizaron cuatro tratamientos por triplicado, el tratamiento 1 (T1) 5% sacarosa más 3% inóculo, tratamiento 2 (T2) 10% sacarosa más 3% inóculo, tratamiento 3 (T3) 5% sacarosa más 5% inóculo, tratamiento 4 (T4) 10% sacarosa más 5% inóculo); posteriormente cada tratamiento en 200 ml de mosto de maíz morado se incubó a 37°C por un tiempo de 16 horas, obteniendo cada 2 horas una alícuota de cada tratamiento para su siembra y conteo de los microorganismos mediante la técnica de recuento en placa, paralelamente a ello se tomó los °Brix y el pH.

A partir de los datos experimentales recolectados se elaboraron las curvas sigmoideas del modelo de Gompertz para cada tratamiento realizado a lo largo de 16 horas. Se simularon los procesos fermentativos con los parámetros obtenidos y se compararon con los resultados experimentales, en donde se observa que T1, posee la menor tasa de crecimiento ello debido a que presenta la menor concentración de sustrato e inóculo (5% sustrato - 3% inóculo); así como la máxima carga de población de levadura lo tiene el T4 (10% sacarosa, 5% inóculo).

Entonces podemos afirmar que los parámetros cinéticos hallados si describen el crecimiento de la levadura *Saccharomyces boulardii* en la fase exponencial lo que nos permite predecir el rendimiento, y comportamiento de los procesos fermentativos, a estos resultados podemos decir que las bebidas alcanzaron valores de 10⁶ UFC/ mL, dato que asegura que la bebida es probiótica.

PALABRAS CLAVES: *Saccharomyces boulardii*, maíz morado, cinética crecimiento.

RESUMO

O objetivo principal deste trabalho de pesquisa é determinar a cinética de crescimento da levedura *Saccharomyces boulardii* em uma bebida elaborada a partir de brotos de milho roxo (*Zea mays L*), a bebida foi obtida a partir de brotos de milho roxo e água na proporção de 1:20 (milho roxo - água), os substratos utilizados para avaliar o crescimento cinético de *Saccharomyces boulardii* foram preparados de acordo com o planejamento fatorial 2², onde as variáveis foram a % de substrato (sacarose) e a % de inóculo (leveduras). Quatro tratamentos foram realizados em triplicata, tratamento 1 (T1) 5% de sacarose mais 3% de inóculo, tratamento 2 (T2) 10% de sacarose mais 3% de inóculo, tratamento 3 (T3) 5% de sacarose mais 5% de inóculo, tratamento 4 (T4) 10% de sacarose mais 5% de inóculo); Posteriormente, cada tratamento em 200 ml de mosto de milho roxo foi incubado a 37°C por 16 horas, obtendo-se uma alíquota de cada tratamento a cada 2 horas para semeadura e contagem de microrganismos pela técnica de contagem de placas, paralelamente a isso, o °Brix e o pH foram medidos.

A partir dos dados experimentais coletados, foram elaboradas as curvas sigmóides do modelo de Gompertz para cada tratamento realizado ao longo de 16 horas. Os processos fermentativos foram simulados com os parâmetros obtidos e comparados com os resultados experimentais, onde se observa que T1 possui a menor taxa de crescimento, devido ao fato de apresentar a menor concentração de substrato e inóculo (5% substrato - 3% inóculo); assim como a carga máxima da população de levedura é encontrada em T4 (10% de sacarose, 5% de inóculo).

Então podemos afirmar que os parâmetros cinéticos encontrados descrevem o crescimento da levedura *Saccharomyces boulardii* na fase exponencial, o que nos permite prever o desempenho e comportamento dos processos fermentativos. A partir desses resultados podemos dizer que as bebidas atingiram valores de 10⁶ UFC/mL, dado que garante que a bebida é probiótica.

PALAVRAS-CHAVE: *Saccharomyces boulardii*, milho roxo, cinética de crescimento.

INTRODUCCIÓN

En estos últimos años, los alimentos saludables y probióticos han ganado mucho terreno en la aceptabilidad y preferencia de los consumidores que padecen alguna enfermedad, entonces, la tendencia del ser humano en este momento está fijada en el consumo de alimentos naturales y más aún el consumo de alimentos funcionales, debido a que científicamente se ha comprobado su actividad favorable para la salud.

Según la investigación hecha por Ronceros, 2012 y citado por Bonilla, 2015 en pacientes, nos indica que uno de los alimentos muy beneficioso es el maíz morado, cereal de reconocida actividad antioxidante, hipolipemiente, antiinflamatoria e hipotensora. Frente a estos beneficios es posible la formulación de una nueva bebida probiótica a base de germinado de maíz morado, incorporando como levadura probiótica a ***Saccharomyces boulardii***.

En el trabajo realizado por Rafael y Lleylsmar (2016) mencionan que, ***Saccharomyces boulardii***, es un microorganismo que nos proporciona múltiples efectos favorables en el sistema digestivo, logrando reducir los riesgos de padecer cáncer de colon y favoreciendo la salud de los huesos, ya que aumenta la absorción de calcio y minerales, disminuye el nivel de lípidos y glucosa en la sangre, fortalece el sistema inmune entre otras bondades que nos proporciona la levadura.

Debido a todo lo anteriormente expuesto, surge la necesidad de evaluar la cinética del crecimiento de ***Saccharomyces boulardii***, durante la fermentación.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La sociedad actual está sufriendo una evolución muy rápida, con profundos cambios en los hábitos alimentarios que han dado lugar a la denominada transición nutricional, según Royo (2017) quien identifica un mayor consumo de alimentos ultra procesados con alto contenido en grasas saturadas, azúcares, sal y proteínas de origen animal, en disminución de la ingesta de alimentos frescos de origen vegetal. Los alimentos funcionales se han convertido en unas de las áreas más atractivas y prósperas en el mercado global de la salud y bienestar, según Betalleluz (2017) quien sostiene que las investigaciones y desarrollo de nuevos productos son un gran potencial de crecimiento en el sector alimentario, tal es el caso de las bebidas funcionales quien en la última década han sido consumidos como productos saludables (Corbo et al., 2013 citado en Bernal et al., 2017 p.384); sin embargo el sector cereales solo representa el 22% de productos puestos en el mercado (Inti, 2006 citado en Cabanillas 2017 p.17), debido a la poca disponibilidad de productos probióticos a base de cereales.

Las bebidas probióticas a base de cereales como el germinado del maíz morado son pocos difundidas en las regiones del Perú, debido a la poca industrialización del producto; porque, en nuestro país el maíz morado es un cultivo de pequeños agricultores y su producción está dedicada principalmente al consumo en estado fresco debido al desconocimiento en la elaboración de productos a base de este cereal pues no se busca alternativas para darle un valor agregado (Apaza y Atencio, 2017), adicionalmente existen pocas investigaciones por parte de la academia en el campo de la cinética y modelamiento del crecimiento de los microorganismos, aspectos que nos permitirán predecir el comportamiento de los microorganismos y sus parámetros cinéticos, de tal forma que los investigadores puedan controlar y proyectar su crecimiento para la elaboración de alimentos que contengan microorganismos probióticos.

A través del presente estudio se evaluará la cinética de una levadura probiótica bajo condiciones controladas, brindando así una nueva alternativa de consumo a base de germinado de maíz morado en bebidas probióticas con la finalidad de

mejorar la absorción de nutrientes en personas con malos hábitos alimentarios, con factor inmunológico debilitado y con problemas gastrointestinales.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuáles son los parámetros que permiten establecer la cinética del crecimiento de una levadura probiótica (***Saccharomyces boulardii***), en el sustrato del germinado de maíz morado ***Zea mays (L.)***?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cómo evaluar experimentalmente el crecimiento de ***Saccharomyces boulardii*** a partir del sustrato del germinado de maíz morado ***Zea mays (L.)***?

¿Cómo ajustar al modelo matemático (Modelo Gompertz), los datos obtenidos en la etapa de fermentación del sustrato del germinado de maíz morado ***Zea mays (L.)***?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar los parámetros que permiten establecer la cinética del crecimiento de una levadura probiótica (***Saccharomyces boulardii***), en el sustrato del germinado de maíz morado ***Zea mays (L.)***.

1.3.2. Objetivos específicos

Determinar experimentalmente el crecimiento de ***Saccharomyces boulardii*** a partir del sustrato del germinado de maíz morado ***Zea mays (L.)***

Ajustar al modelo matemático (Modelo Gompertz), los datos obtenidos en la etapa de fermentación del sustrato del germinado de maíz morado ***Zea mays (L.)***

1.4. Limitantes de la investigación

1.4.1. Limitante teórica:

El germinado de maíz morado se usó para la obtención de una bebida probiótica usando la levadura ***Saccharomyces boulardii***, observándose limitaciones en la obtención de referencias.

1.4.2. Limitante temporal

La ejecución del trabajo experimental y longitudinal llevó a cabo en el mes de septiembre y octubre del 2021.

1.4.3. Limitante espacial

Por medidas de seguridad sanitaria el trabajo de laboratorio se realizó en un ambiente acondicionado en nuestro domicilio.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Antecedentes internacionales

En la investigación realizada en Ecuador por Romero (2017), se hizo un estudio sobre la elaboración de una bebida fermentada a partir de jora de maíz negro (*Zea mays* L.), mencionando que el objetivo de su trabajo fue utilizar la jora de maíz negro (*Zea mays* L.) de la variedad “Racimo de uva”, proporcionado por el Programa de maíz “INIAP”, y extractos de frutas como la guayaba y banano obtenidos del mercado local, para la elaboración de una nueva bebida fermentada. Se llegó a realizar siete tratamientos para la elaboración de esta bebida fermentada determinando que la mejor formulación fue la de 50% de extracto de guayaba y 50% de mosto de maíz fermentado dato que se obtuvo mediante una prueba hedónica de 5 puntos llevada a cabo por 10 panelistas entrenados.

En el trabajo de investigación realizado por Calderón (2017), en Bogotá, acerca del ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en la fermentación de un sustrato complejo menciona que la fermentación se realizó en condiciones de microaerofilia durante 96 horas utilizando bacterias de la especie *Lactobacillus* y del género *acidophilus*, se tuvo una agitación constante a 150 rpm y un rango de temperatura entre los 34°C - 37 °C, para la recolección de datos se realizó un muestreo cada 12 horas, para su posterior siembra y conteo de microorganismos mediante la técnica de recuento en placa, obteniendo como resultado la curva de crecimiento microbiano y se logró comparar 8 modelos cinéticos no estructurados cuyos parámetros se estimaron a partir del ajuste de los datos experimentales mediante regresiones no lineales, los modelos de Haldane y Amrane y Prigent fueron los que mejor se ajustaron a los datos experimentales, con un R^2 de 0.977 y 0.982, respectivamente.

La investigación realizada por Tranquilino (2015), en la ciudad de Morelia – Michoacán, país de México; tuvo como objetivo principal la evaluación del efecto

probiótico de *Saccharomyces boulardii* adaptado a un yogurt elaborado con inulina y aceite vegetal, nos menciona que realizaron dos formulaciones de yogurt, en el primer caso se añadió *S. boulardii* en forma de células libres y en el segundo caso las levaduras fueron micro encapsuladas, estos productos fueron sometidos a un proceso de liofilización por 24 h manteniéndose a una temperatura de $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ y 3 mm Hg de presión, en donde la viabilidad de *S. boulardii* no fue afectada y la evaluación de la vida en anaquel acelerada a 35°C por 21 días mostró que la viabilidad de *S. boulardii* micro encapsulada se incrementó en 1.77-Log UFC/g a diferencia de cuando se encuentra en forma de células libres, incrementando la vida de anaquel del producto.

2.1.2. Antecedentes nacionales

En la investigación llevada a cabo por Cerro (2013), sobre aprovechamiento de pigmentos antociánicos del maíz morado (*Zea mays L*) en la elaboración de una bebida alcohólica tipo vino, realizado en Tacna, menciona que en su formulación agrega 50% de granos malteados, 10% de granos no malteados y 40% de corontas, mencionando que se trabajaron cuatro muestras molidas previamente (M-1, M-2, M-3 y M-4) y puestos a calentar durante 1 hora, a una temperatura que fluctúa de 75°C a 85°C y con cuatro niveles de agua (M-1= 6 L, M-2= 8 L, M-3= 10 L y M - 4= 12 L), pero para favorecer el proceso fermentativo de los cuatro mostos, se adicionó jarabe acidulado de sacarosa, hasta elevar sus sólidos solubles de 5 a 22.5°Brix , así como también se aumentó en 3% el volumen de un fermento de maíz blanco como pie de cuba, logrando la obtención de cuatro vinos de maíz morado que se conservaron y decantaron cuatro veces, durante 90 días y contenían una graduación alcohólica entre 9 y 10°GL . pH entre 3.1 y 3.3, así como contenidos de antocianinas registrados entre 104 y 205 mg/L que son iguales y hasta superiores a lo mostrado por las corontas iniciales, siendo la muestra M- 3, la de mayor preferencia organoléptica (7,0 puntos = Bueno) y catalogado como un vino semidulce de maíz morado.

El trabajo de investigación desarrollado por Colque (2016), tiene como objetivo principal determinar los parámetros para la elaboración de bebida probiótica de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*) empleando *Saccharomyces boulardii*.

Teniendo como parámetros para la elaboración de la bebida probiótica de tarwi, una relación de 1:2 (tarwi-agua) con un 6% de sacarosa y 4% de inóculo a 37°C, a esta muestra se le analizó sus propiedades físico química cuyos datos obtenidos fueron: pH 5.40, materia seca 8.11%, humedad 91.99%, proteína 44.05%, grasas 15.32%, cenizas 3.50%, acidez 0.26%, alcohólico 0.98%, sólidos totales 8.11%, densidad 1.025g/ml., además, la evaluación del crecimiento cinético de ***Saccharomyces boulardii*** alcanzaron valores de 10^6 - 10^7 ufc/ml.

En la investigación trabajada por Rodríguez y Chambi (2019), se tuvo como objetivo principal el de realizar un estudio para determinar la curva de crecimiento microbiano de ***Saccharomyces boulardii*** en TUNTA de las variedades CHASCA y NEGRA, mediante modelamiento matemático donde aplica las ecuaciones de Gompertz y Logístico, lograron realizar cuatro tratamientos que constaron de mezclas en matraces de 250 ml entre agua destilada – Chaska (T1); agua destilada – Negra (T2); Solución Salina Peptonada – Chaska (T3); Solución Salina Peptonada – Negra (T4); además, realizaron una comparación del pH, °Brix y acidez entre las variedades de tunta en tiempos de fermentación de 24 y 48 horas; los resultados del modelamiento matemático les dio que gráficamente los tratamientos T1 y T4 presentan similitud; asimismo este fenómeno se repite en los tratamientos T2 y T3.

En la investigación ejecutada por Chambi (2021), se tuvo como objetivo primordial el realizar un estudio para modelar cinéticamente ***Saccharomyces cerevisiae var. boulardii*** en Leche Fresca de Vaca (LFV) y Extracto Vegetal de Quinoa (EVQ). Para tal efecto las pruebas se realizaron por triplicado colocando cada una de las muestras por separado en matraces de 250 ml, para luego esterilizarlas a 121 ° C x 15 min, luego se inóculó la cepa a 37 °C manteniendo la temperatura en agitación constante (20 RPM) hasta completar seis horas de incubación, para la construcción de los modelos cinéticos (Gompertz y Logístico), se realizó el conteo de unidades formadoras de colonia por mililitro (ufc/ml) en intervalos de una hora. Asimismo, se tomaron mediciones de pH y el porcentaje de acidez láctica. Para determinar si existe diferencia estadística entre muestras se aplicó una prueba t de muestras independientes a una significancia del 95%, además, para cada una de las cinéticas se realizó el

cálculo de modelos de bondad de ajuste y el análisis de normalidad de cada uno de los modelos en cada sustrato. Los resultados muestran que existe diferencia en cada cinética con un valor $p = 0.019$, asimismo, el modelo que mejor presentó para ambos sustratos fue el modelo de Gompertz, sin embargo, LFV mostró un mejor comportamiento frente a EVQ, y la prueba de normalidad mostró que todos los datos estuvieron normalmente distribuidos. Finalmente, se modeló cinéticamente *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii* siendo LFV el mejor sustrato.

2.2. Bases teóricas:

2.2.1. Características generales del maíz, *Zea mays*

El maíz, *Zea mays L.*, es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu Maydeas, y es la única especie cultivada de este género. (La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), 2001).

El maíz está clasificado dentro de una sola especie botánica, *Zea mays L.*, ver tabla 1

Tabla 1 Sistemática del maíz (*Zea mays L.*)

Reino	Vegetal (Plantae)
División	Angiospermae (Magnoliophita)
Subdivisión	Pterapsidae
Clase	Liliopsida
Subclase	Monocotiledóneas
Orden	Poales
Familia	Poacea
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Maydeae (Andropogoneae)
Genero	Zea
Especie	<i>Zea mays L.</i>

Fuente: Adaptado de Fernández, 2009 en Dávalos 2017

El maíz se define como «un sistema metabólico cuyo producto final es, en lo fundamental, almidón depositado en unos órganos especializados: los granos» (FAO, 1993). Los granos de maíz están constituidos principalmente de tres partes: la cascarilla, el endospermo y el germen (Cueva 2014).

Según la FAO (1993) menciona que, la cubierta seminal o pericarpio se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87%, la que a su vez está formada fundamentalmente por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0,1%) (Burga y Duensing, 1989). El endospermo, en cambio, contiene un nivel elevado de almidón (87%), aproximadamente 8% de proteínas y un contenido de grasas crudas relativamente bajo. Por último, el germen se caracteriza por un elevado contenido de grasas crudas, el 33% por término medio, y contiene también un nivel relativamente elevado de proteínas (próximo al 20%) y minerales. En la tabla 2 se muestra la composición química del grano de maíz.

Tabla 2

Composición química proximal de los granos de maíz (%)

Componente químico	Pericarpio	Endospermo	Germen
Proteínas	3,7	8,0	18,4
Extracto etéreo	1,0	0,8	33,2
Fibra cruda	86,7	2,7	8,8
Cenizas	0,8	0,3	10,5
Almidón	7,3	87,6	8,3
Azúcar	0,34	0,62	10,8

Fuente: Watson, 1987, citado en FAO 1993

De acuerdo Salhuana (2004) el proceso evolutivo del maíz en el Perú se ha podido establecer cinco grupos de razas: 1. Razas primitivas 2. Razas derivadas de las primitivas 3. Razas de reciente derivación 4. Razas introducidas 5. Razas incipientes, y 6. Razas imperfectamente definidas.

A continuación, se muestra la tabla 3 que muestra las razas de maíz en el Perú.

Tabla 3

Razas de maíz de Perú

RAZAS PRIMITIVAS	Confite Morocho Confite Puntigudo Kculli Confite Puneño Enano
RAZAS DERIVADAS DE LAS PRIMITIVAS	Huayleño Chullpi Granada Paro Morocho Huancavelicano Mochero Pagaladroga Chaparreo Rabo de zorro Piricinco Ancashino Shajatu Alazan Sabanero Uchuquilla Cuzco Cristalino Amarillo Cuzco Piscorunto
RAZAS DE RECIENTE DERIVACIÓN	Arequipeño Huachano Chancayano San Gerónimo Huancavelicano Perla Rienda Maraño Chimlos Cuzco Gigante
RAZAS INTRODUCIDAS	Jora Coruca Morocho Cajabambino Morado Canteno Sarco
RAZAS IMPERFECTAMENTE DEFINIDAS	Perlilla Tumbesino Colorado Ajaleado San Gerónimo Amarillo Huancabamba Huarmaca Chancayano Amarillo Blanco Ayabaca

Fuente: Salhuana (2004)

2.2.2. Maíz morado

El maíz morado, cuyo nombre científico es *Zea mays L.*, pertenece a la familia de las Poaceae, género *Zea* y especie *Zea Mays* (ver tabla 4).

Tabla 4

Clasificación taxonómica del maíz morado

Característica	Detalle
Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
Infrareino	Streptophyta
Superdivisión	Embryophyta
División	Tracheophyta
Subdivisión	Spermatophytina
Clase	Magnoliopsida
Superorden	Lilianaes
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	<i>Zea</i> L.
Especie	<i>Zea mays</i>

Fuente: Mayorga y Pérez 2018

El maíz morado posee un pigmento denominado antocianina, que tiene propiedades farmacológicas y nutraceuticas, haciéndolo un producto potencial y de gran interés para el mercado nacional e internacional (Inapaqué 2016)

Según Inapaqué 2016, existen diversas variedades de maíz morado tales como:

- a. Morado Canteño.
- b. Morado Mejorado (derivados de Caraz): PVM-581, para siembra en sierra media; PVM-582, para costa central.
- c. Morado Caraz.
- d. Arequipeño (variedad tradicional).
- e. Cuzco Morado.
- f. Negro de Junín

Características nutricionales

Según lo manifiesta Guillen et al., (2014), el maíz morado es una planta oriunda de América, que tiene el epispermo de las semillas (granos) y la tusa (coronta) de color morado, lo que le otorga características especiales a los pigmentos que poseen (entre 1,5% y 6,0%), llamados antocianinas, que pertenecen al grupo de los flavonoides. Debido a su alto contenido de antocianinas (cianin-3-glucosa C3G que es su principal colorante) y compuestos fenólicos actúa como un poderoso antioxidante natural y anticancerígeno, teniendo además propiedades funcionales debido a estos compuestos bioactivos.

En general, se destaca que el maíz morado posee un mayor contenido de proteínas y minerales que otros tipos de maíz (Mayorga y Pérez 2018), tal como lo muestra la tabla 5. El maíz morado además aporta cantidades importantes de almidón, cerca del 80%; un 10% de azúcares los cuales le confieren un sabor dulce, un 11% de proteínas, 2% de minerales y vitaminas (complejo B y ácido ascórbico) concentrados en el endospermo (Guillen et al., 2014). En la tabla 6 se muestra diferentes minerales reportados en maíz morado.

Tabla 5*Composición proximal de maíz con distintas coloraciones*

Componente	*Azul (Agama- Acevedo et al., 2011) (1)	*Azul (Ortiz- Prudencio, 2006)	*Azul/morado (Salinas Moreno et al., 2013) (1)	*Morado (Nascimento et al., 2014)	*Morado (Mansilla, 2018)	*Morado (3) (Reyes- García et al., 2009)	*Rojo (Ortiz- Prudencio, 2006)	*Multicolor (Ortiz- Prudencio, 2006)	*Multicolor (Ortiz- Prudencio, 2006)
Humedad (g/100 g)	7,22-10,67	9,02 ± 0,58		10,00 ± 0,03		11,4	9,69 ± 0,16	9,60 ± 0,23	9,60 ± 0,23
Carbohidratos totales (g/100 g)						76,2			
Almidón (g/100 g)	78,5-89,9				63,48- 64,77				
Amilosa (g/100 g)	20,7-33,32			27,10 ± 0,5					
Fibra (g/100 g)		13,95 ± 2,73		11,20 ± 0,4		1,8			
Proteínas (g/100 g)	6,73-9,37	9,73 ± 0,72	9,5-10,9	9,10 ± 0,1	9,67-11,37	7,30	11,27 ± 0,44	10,20 ± 0,22	10,20 ± 0,22
Lípidos (g/100 g)	4,46-5,98	5,35 ± 0,943	4,2-5,3	1,80 ± 0,02	7,32-7,53	3,4	6,18 ± 0,443	5,38 ± 0,154	5,38 ± 0,154
Cenizas (g/100 g)	1,40-1,68	1,52 ± 0,11		1,71 ± 0,02	1,86-2,06	1,7	1,53 ± 0,06	1,47 ± 0,09	1,47 ± 0,09

1) valores en base seca, 2) g/100 g de almidón, 3) maíz sin mazorca o coronta, 4) determinado como extracto etéreo.

Fuente: Mayorga y Pérez 2018

Tabla 6

Contenido de diferentes elementos reportados en maíz morado

Elemento	Concentración
Molibdeno ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	
Estroncio ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	$119 \pm 7,4$
Cobalto ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	
Litio ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	$9,48 \pm 0,21$
Vanadio ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	$9,01 \pm 0,42$
Níquel ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	$8,50 \pm 0,39$
Selenio ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	$2,91 \pm 0,16$
Cobre ($\text{mg}/100\text{ g}$)	$0,16 \pm 0,004$
Manganeso ($\text{mg}/100\text{ g}$)	$0,57 \pm 0,01$
Hierro ($\text{mg}/100\text{ g}$)	$2,78 \pm 0,31$
Cinc ($\text{mg}/100\text{ g}$)	$2,54 \pm 0,03$
Magnesio ($\text{mg}/100\text{ g}$)	$118 \pm 0,83$
Calcio ($\text{mg}/100\text{ g}$)	
Fósforo ($\text{mg}/100\text{ g}$)	$291 \pm 3,6$
Sodio ($\text{mg}/100\text{ g}$)	
Potasio ($\text{mg}/100\text{ g}$)	$458 \pm 3,5$

Fuente: Mayorga y Pérez 2018

2.2.3. *Saccharomyces boulardii*:

Es considerado como una levadura cuyo crecimiento óptimo es a una temperatura inusualmente alta de aproximadamente 37°C y, por ello, se le considera como un microorganismo resistente al calor, así lo manifiesta Buts (2005), y que además requiere de ciertas condiciones ambientales y sustentos, para su desarrollo y proliferación. Algunos elementos básicos necesarios para poder tener un crecimiento óptimo es la de incorporar elementos necesarios como, carbono, hidrogeno, nitrógeno, oxígeno y fosforo, así lo menciona Ospina y Palacios 1994 y citado en Vicente (2015). En la tabla 7 se presenta la clasificación taxonómica de la levadura *Saccharomyces boulardii*

Tabla 7

Taxonomía de *Saccharomyces boulardii*

Dominio	Eucariota
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Subdivisión	Saccharomycotina
Clase	Saccharomycetes
Orden	Saccharomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Género	<i>Saccharomyces</i>
Especie	<i>S. boulardii</i>

Fuente: Lozada 2021

Según Castañeda (2017) menciona que *Saccharomyces boulardii* presenta las siguientes características:

- Es resistente al ácido clorhídrico, la bilis y las enzimas digestivas;
- Atraviesa el tracto digestivo hasta el colon;
- Es viable en todo el trayecto del intestino;
- Es resistente a la mayoría de los antibióticos;
- No produce colonización a largo plazo;
- No es detectable después de dos a cinco días de interrumpir la ingestión.

En muchos artículos científicos y patentes muestran que *Saccharomyces boulardii* es efectivo contra muchas enfermedades (colitis pseudomembranosa, amebiasis) y también ponen de manifiesto García (2017), que puede ser recomendada para la prevención de la diarrea asociada a la toma de antibióticos, a la conocida como diarrea del viajero y a la diarrea entérica asociada a la nutrición. Además, reduce los síntomas relacionados con el tratamiento de *Helicobacter pylori*, previene recurrencias de la enfermedad de *Clostridium difficile* y se ha observado su eficacia en el tratamiento del síndrome del intestino irritable.

Según la investigación de Castañeda (2017) sostiene que han sido definidos dos tipos de mecanismos de acción en estudios *in vitro* e *in vivo* que argumentan sus efectos beneficiosos:

- Inhibición de ciertas toxinas bacterianas y/o sus efectos patógenos;
- Efectos directos sobre la mucosa intestinal por su actividad trófica, acción anti secretora, estimuladora de la inmunidad intestinal y antiinflamatoria sobre la mucosa intestinal.

Así también nos describe Castañeda (2017) las principales acciones de ***Saccharomyces boulardii***:

- **Antimicrobiana**, inhibe la invasión celular de ***Salmonella typhimurium***, ***Yersinia enterocolitica*** y ***E. coli* O157 H7**, debido a que las bacterias se van a adherir a la levadura y posteriormente arrastradas al exterior.
- **Inmunoestimulante**, el tratamiento con la levadura modifica las poliaminas de la mucosa intestinal que renovarían y estimularían la maduración de las células intestinales y en los fluidos del yeyuno e íleon, induce la producción de Inmunoglobulina A.
- **Enzimática**, se evidencia que en hombres tratados con la levadura aumentó la producción de lactasa, alfa glucosidasas y fosfatasa alcalina aumentando la digestión de nutrientes.
- **Antitoxina**, la levadura produce dos proteínas de pesos de 120 kDa que compite de manera específica con la hipersecreción causada por la toxina de ***Vibrio cholerae*** y 54 kDa inhibe las enterotoxinas y citotoxinas que produce ***Clostridium difficile***.
- **Metabólica**, presenta actividad prebiótica, produciendo ácidos grasos de cadena corta especialmente el ácido butírico, no alterando la microbiota intestinal.
- **Antiinflamatoria**, la levadura tiene la propiedad de secretar sustancias antiinflamatorias que actúan principalmente cuando se observa apoptosis de los

enterocitos, además que se ha demostrado que la levadura secreta un factor hidrosoluble que se presenta cuando hay inflamación intestinal por acción bacteriana.

2.2.4. Fermentación:

El término fermentación es entendido de forma distinta en el contexto de la Biología celular que en el contexto industrial, según lo manifiesta Páez (2010), puesto que en el sentido biológico la fermentación es un proceso de obtención de energía en condiciones anaeróbicas (ausencia de oxígeno) que puede generar como producto final ácido láctico (fermentación láctica, por las bacterias ácido – lácticas) o etanol (fermentación alcohólica por levaduras), pero en el contexto industrial, se denomina fermentación a un proceso microbiano a gran escala, tanto si se realiza en condiciones aeróbicas como anaeróbicas.

La reacción general de la fermentación de azúcares por levaduras se expresa por la ecuación de Gay-Lussac:



Las fermentaciones con células libres constituyen todavía el método más utilizado, según Páez (2010) debido a que su manipulación es relativamente fácil, y, en algunos casos no requiere de un medio de cultivo estéril, por otro lado, las células se producen con la misma rapidez con la que son eliminadas del reactor y existe una síntesis constante de nuevo catalizador. De esta forma, y suministrando al reactor condiciones apropiadas para el crecimiento, la fermentación puede transcurrir en un estado estacionario en la que la eficiencia catalítica no cambia. Además, a partir de la degradación catabólica de los nutrientes, la célula que crece activamente es capaz de suministrar la energía necesaria para la síntesis. Sin embargo, el mayor número de reacciones requeridas para el metabolismo significa también aumento de probabilidades para la formación de productos secundarios no deseados.

La fermentación se observa cuando el piruvato procedente de la glucólisis pierde un carbono en forma de CO_2 , y forma acetaldehído por acción de la enzima

piruvato descarboxilasa, lo manifiesta Sanagustín 2015 (citado en Valdiviezo y Morales 2016) y menciona que la enzima necesita Mg^{+2} y tiene una coenzima unida, la TPP (tiamina pirofosfato), aquí el acetaldehído es reducido a etanol por la enzima alcohol deshidrogenasa y el NADH (Deshidrogenasa), el NADH se transforma en NAD^{+} (oxidado) que se reutiliza en la glucólisis para seguir produciendo los dos ATP (Adenosín Trifosfato).

Las levaduras que se conocen para la producción de bebidas alcohólicas son: ***Saccharomyces cerevisiae***, ***S. uvarum***, ***S. carlsbergensis***, ***S. bayanus***, ***S. ellipsoideus***, ***S. chevalieri***, ***S. oviformes***, ***S. italicus***, ***S. sake***, etc., según lo manifiesta Páez (2010). La gran diversidad de formas, funciones y características bioquímicas hacen difícil la clasificación, pero se ha comprobado que todas estas especies ya mencionadas son diferentes cepas de una misma especie, en la tabla 8 se presenta los sustratos requeridos por levaduras fermentadoras.

Tabla 8

Tipo de condiciones y propiedades de sustrato para el desarrollo de algunos microorganismos fermentadores

Factores del sustrato	Levaduras
Hábitat frecuente	Sustancias ricas en carbohidratos como frutos granos y cereales
Temperatura	Son mesófilas, la mayoría crece entre 5 y 39° C con óptimos de 28 a 35° C. Varias entre 3 y 10° C.
Presencia o ausencia de oxígeno (aerobiosis o anaerobiosis)	son anaerobias facultativas, crecen mejor en presencia de oxígeno; en ausencia de oxígeno fermentan la glucosa.
Gases en el Ambiente como N_2 O CO_2	inhiben su crecimiento aunque son más resistentes que los hongos
Actividad del agua (aw)	Aw entre 0.84 y 0.97 Aw 0.62 para las levaduras osmotolerantes la mayoría entre 3.5 y 4.5
pH	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> tolera pH entre 2.3 y 8.6

Fuente: Puerta (2010)

2.2.5. Alimentos funcionales

La definición de Vasconcelos (2000), de los alimentos funcionales está centrada en que existen alimentos en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona.

En la investigación realizada por Serna (2012), menciona que, los alimentos funcionales han sido clasificados en: alimentos fortificados, alimentos enriquecidos, alimentos alterados y alimentos mejorados, haciendo hincapié que en estos momentos las tendencias se centran en el desarrollo de alimentos que ofrezcan múltiples beneficios para la salud en un solo producto, como son los probióticos.

Bebida probiótica a base del germinado de maíz morado:

El maíz morado es un cereal que contiene una considerable cantidad de antioxidante natural que retarda el envejecimiento celular, principalmente por los mecanismos de acción de la cianidina-3- β -glucósido, pelargonidina-3- β -glucósido, peonidina-3- β -glucósido, ácidos fenólicos, quercetina y hesperidina, esto lo menciona en su investigación Salinas et. al., (2013).

Los beneficios de las antocianinas en el maíz morado los han hecho muy popular en toda la industria alimentaria, siendo utilizados como colorantes y también como ingredientes funcionales para diversos productos alimenticios, Barco (2017), nos indica en su trabajo que existen nuevas tendencias alimenticias que se ven influenciadas por una nueva forma de vida saludable, se buscan productos con beneficios para la salud y que sean fáciles de comer o fáciles de elaborar.

La levadura ***Saccharomyces boulardii***, es un microorganismo con muchas acciones destacadas en la actividad probiótica, según lo manifiesta Pérez (2007), y que una de las tendencias es la elaboración de bebidas probióticas

fermentadas; por ejemplo, la de elaborar bebidas en base a este cereal que es el maíz morado y que se debe considerar como punto crucial la adecuada inoculación respecto a cantidad y tipo de levadura o bacteria con capacidad probiótica a utilizar.

Probióticos:

La organización mundial de la salud define un probiótico como un microorganismo vivo con efectos beneficiosos para la salud humana. Las características que deben cumplir son: ser de origen animal debido a su facilidad de adaptación en el intestino y su baja patogenicidad, además, de ser resistentes a condiciones ambientales. (Lozada 2021)

Los probióticos según lo considera Cervantes (2014), ayudan en la salud de las personas que lo consumen al incrementar el valor nutricional (mejor digestibilidad, aumentan la absorción de minerales y vitaminas), promover la digestión de lactosa, prevenir infecciones gastrointestinales, regular la motilidad del intestino (estreñimiento, síndrome del intestino irritable), mejorar el sistema inmune, entre otras.

En su investigación Tormo (2006) señala que, las bacterias más comunes relacionadas con la actividad probiótica son: ***Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. casei GG*; *Bifidobacterium brevis*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis*; *Streptococcus salivarius*** subespecie ***thermophilus***, y que también se debe considerar especialmente a las levaduras como ***Saccharomyces boulardii***, por presentar una actividad probiótica comprobada.

2.2.6. Modelos matemáticos

Los modelos predictivos pueden ser clasificados según Martínez (2016), según su fundamento matemático como empírico o mecanicistas (Roels y Kossen, 1978) y como modelos probabilísticos y cinéticos (Roberts, 1989) y, también se

expresan modelos primarios, secundarios y terciarios (Whiting y Buchanan 1993).

Modelos cinéticos

“Estudian las velocidades o cinética de eventos o respuestas específicas de microorganismos frente a los factores activadores del medioambiente” (Ratkowsky 1982 citado en Yarce 2017, p.55).

En su investigación Gutiérrez (2011), manifiesta que, los modelos cinéticos pretenden explicar el tiempo que toma un crecimiento específico, en términos de variables ambientales y que se pueden incluir algunas otras variables como gases en la atmósfera, potencial redox, estructura biológica, humedad relativa, contenido nutricional y propiedades antibacterianas.

Modelos probabilísticos

En el trabajo realizado por Aguirre (2013), nos indica que, los modelos probabilísticos se refieren a procesos estocásticos y dan un resultado que contempla la variabilidad de un sistema y de sus componentes además considera que la misma entrada puede proporcionar diferentes resultados.

En la investigación de Gutiérrez (2011) menciona que, las bases de los modelos de probabilidad combinan la relación que existe entre el crecimiento de células bacterianas y las propiedades fisicoquímicas del ambiente, además, que las probabilidades de crecimiento pueden ayudar al fabricante a reforzar las decisiones en la formulación de su producto, procesamiento, empaque y almacenaje.

2.3. Conceptual

2.3.1. Cinética de crecimiento microbiano

La investigación realizada por Gutiérrez (2011) menciona que, un modelo predictivo microbiológico de alimentos es una expresión matemática que describe el crecimiento, sobrevivencia, inactivación y procesos bioquímicos de

microorganismos transmitidos por los alimentos. En el área de la microbiología predictiva en alimentos hay variedad de esquemas de clasificación. De cualquier manera, todavía se debe decidir un esquema absoluto.

Según Calderón (2017) entre los modelos cinéticos de crecimiento microbiano, se encuentran los siguientes (ver tabla 9):

Tabla 9

Modelos matemáticos para el crecimiento microbiano

Modelo matemático	Ecuación para crecimiento microbiano
Ecuación Logística:	$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_m} \right)$
Modelo de Monod:	$\frac{dX}{dt} = X \mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{K_s + S}$
Modelo de Moser:	$\frac{dX}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \frac{\left(S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}} \right)^n}{K_m + \left(S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}} \right)^n} X$
Modelo de Teissier:	$\frac{dX}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \left(1 - e^{\left(\frac{-S_0 - \frac{X_0 - X}{Y_{XS}}}{K_m} \right)} \right) X$
Modelo de Haldane:	$\frac{dX}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}}}{K_s + S_0 + K_I \left(S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}} \right)^2} X$
Modelo de Contois:	$\frac{dX}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}}}{K_S X + S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}}} X$
Modelo de Amrane y Prigent:	$\frac{dX}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \frac{1}{1 + \frac{c e^{at}}{\mu_{m\acute{a}x} - c}} X$
Modelo de Gompertz:	$X = X_0 + C e^{-e^{-B(t-M)}}$
Modelo de Powell	$\frac{dX}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}}}{(K_S + L) + S_0 + \frac{X_0 - X}{Y_{XS}}} X$

Fuente: Datos obtenidos de Calderón (2017)

2.4. Definición de términos básicos

Maíz morado

El maíz morado es un producto que se cultiva en el Perú desde épocas prehispánicas y era conocido como Sara o kulli, pertenece a la familia gramínea y es conocido por su nombre científico como también por su nombre común, es decir ***Zea mays***, maíz morado, killusara respectivamente, (Exportadora Productores Incas, 2010 citado en Morales 2018).

Malteo.

Según lo manifiesta Figueroa (1984) y citado por Romero (2017), se considera como un proceso fisicoquímico donde los granos desarrollan y activan sus sistemas enzimáticos modificando sus reservas alimenticias.

Fermentación.

En la información proporcionada por Fula (2010), dice que la fermentación es el proceso de transformación química de las sustancias orgánicas, llevado a cabo por las enzimas producidas por los microorganismos y que, generalmente, va acompañado de un desprendimiento de gases y de un efecto calorífico.

Fermentación aerobia.

Ríos (2013), menciona que es un proceso que necesita la presencia de oxígeno para el desarrollo de los microorganismos y como parte del resultado se observara mayor cantidad de energía que en la fermentación anaerobia.

Fermentación anaerobia.

Ríos (2013), manifiesta que es un proceso donde los microorganismos desarrollan en ausencia de oxígeno, pero, es necesaria una pequeña cantidad inicial de oxígeno para favorecer el desarrollo de microorganismos.

Levadura

Nombre genérico de ciertos hongos unicelulares, eucariotas, de forma ovoidea, que se reproducen por gemación o división. Suelen estar unidos entre sí en forma de cadena, y producen enzimas capaces de descomponer diversos

cuerpos orgánicos, principalmente los azúcares, en otros más sencillos (Fraizier y Westhoff, 2003 citado en Morales 2018).

Probiótico.

El término probiótico (del griego “para la vida”) incluye una amplia gama de microorganismos, principalmente bacterias y levaduras, sin embargo, el efecto en la salud humana es específico de la cepa (Rai y Bai, 2015 citado en Bernal et al.,2013).

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

3.1.1. Hipótesis general

La concentración del inóculo y el tiempo de fermentación permiten establecer la cinética del crecimiento de una levadura probiótica (*Saccharomyces boulardii*), en el sustrato del germinado de maíz morado *Zea mays* (L.)

3.1.2. Hipótesis específica

Se determina experimentalmente el crecimiento de *Saccharomyces boulardii* a partir del sustrato del germinado de maíz morado *Zea mays* (L.)

El modelo matemático (Modelo Gompertz), si ajusta con los datos obtenidos en la etapa de fermentación del sustrato del germinado de maíz morado *Zea mays* (L.)

3.2. Definición conceptual de variables

Variables Dependientes:

Y: Incremento del número de levaduras *Saccharomyces boulardii*

Es el periodo de crecimiento donde las células empiezan a dividirse y alcanzan su máxima actividad metabólica durante un periodo de tiempo, este puede ser corto o largo dependiendo de las condiciones de disponibilidad de nutrientes en el medio donde se desarrollan, en esta fase llamada exponencial las células están en un estado fisiológico adecuado para estudiarlas estructural y enzimáticamente.

Variable Independiente:

X1: Concentración del inóculo

La concentración de inóculo al inicio de la fermentación, este debe ser el adecuado para así optimizar la producción de biomasa, ya que, si la concentración de inóculo es grande, se pierde sustrato debido a una competición exagerada, entre microorganismos que genera muerte celular y exceso de calor.

Por otro lado, si la concentración de inóculo es baja, se corre el riesgo de contaminación por microorganismos indeseables, además del incremento en el tiempo de fermentación que disminuye la productividad (Ortiz y Arias, 2008).

X2: Tiempo de fermentación.

El tiempo de fermentación tiene que ser el mínimo posible, pues si este se reduce, se aumenta la productividad.

3.2.1. Operacionalización de las variables:

Tabla 10

Operacionalización de variables

Variables	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida	Métodos	Técnica
I.DEPENDIENTE					
Y: Incremento del número de levaduras <i>Saccharomyces boulardii</i>	Recuento de microorganismos probióticos.	Tiempo Recuento de colonias	Horas UFC/ ml	Recuento en placa Petri.	ICMSF – 2000
II.INDEPENDIENTE					
X1: Condiciones de fermentación	Tiempo de fermentación	Tiempo pH Solido solubles	Horas pH °Brix	Horas Potenciometría Brixometría	AOAC 981,12/90 AOAC 925.105 / 90
X2: Cinética de crecimiento	Modelado de crecimiento	Tiempo Recuento de colonias	Horas UFC / ml	Recuento en placa Petri	ICMSF 2000

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo y diseño de investigación:

Es de tipo experimental y longitudinal: Se realizaron 4 tratamientos y se triplicaron, obteniendo finalmente 12 ensayos que fueron ejecutados para el tiempo de fermentación (ver tabla 11). Se analizaron las muestras en el laboratorio acondicionado utilizando métodos analíticos, conteo en placa.

Tabla 11

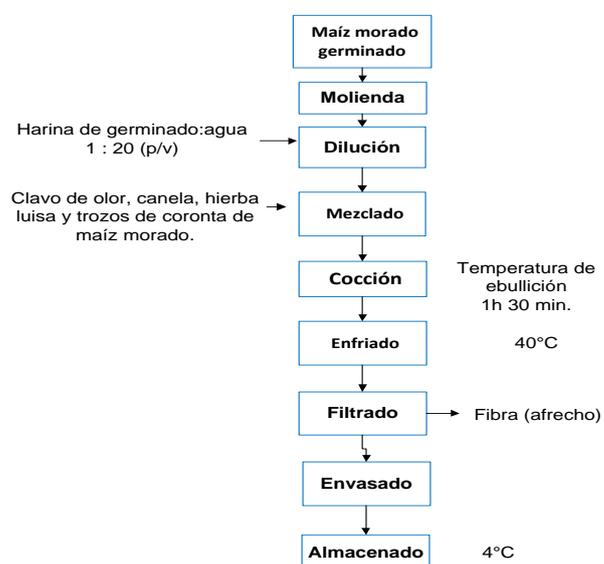
Diseño factorial

Factores	Min	Max
	-1	1
% Concentración de Inóculo (C.I)	3	5
% Concentración de Sacarosa (C.S)	5	10

En las figuras 1 y 2 se puede observar el diseño experimental que se realizó en la presente investigación.

Figura 1

Diagrama de flujo general de procesamiento para obtener el sustrato de germinado de maíz morado



Elaboración del sustrato de germinado de maíz morado por experimentos

a) Recepción:

Se utilizó 180 g de maíz morado germinado.

b) Molienda del maíz morado germinado:

Se realizó mediante un molino de mano para así disminuir el tamaño del grano y obtener la harina de germinado.

c) Mezclado:

Se realizó la mezcla del maíz morado germinado y agua en una proporción de 1:20. Se mezcló con agua fría para evitar la formación de grumos en la cocción.

d) Cocción:

Se llevó la mezcla a ebullición durante unos 90 minutos, se agregó trozos de mazorca de maíz morado y especias (clavo de olor, canela y hierba luisa).

e) Filtración:

Se separó el afrecho (fibra) del mosto

f) Envasado:

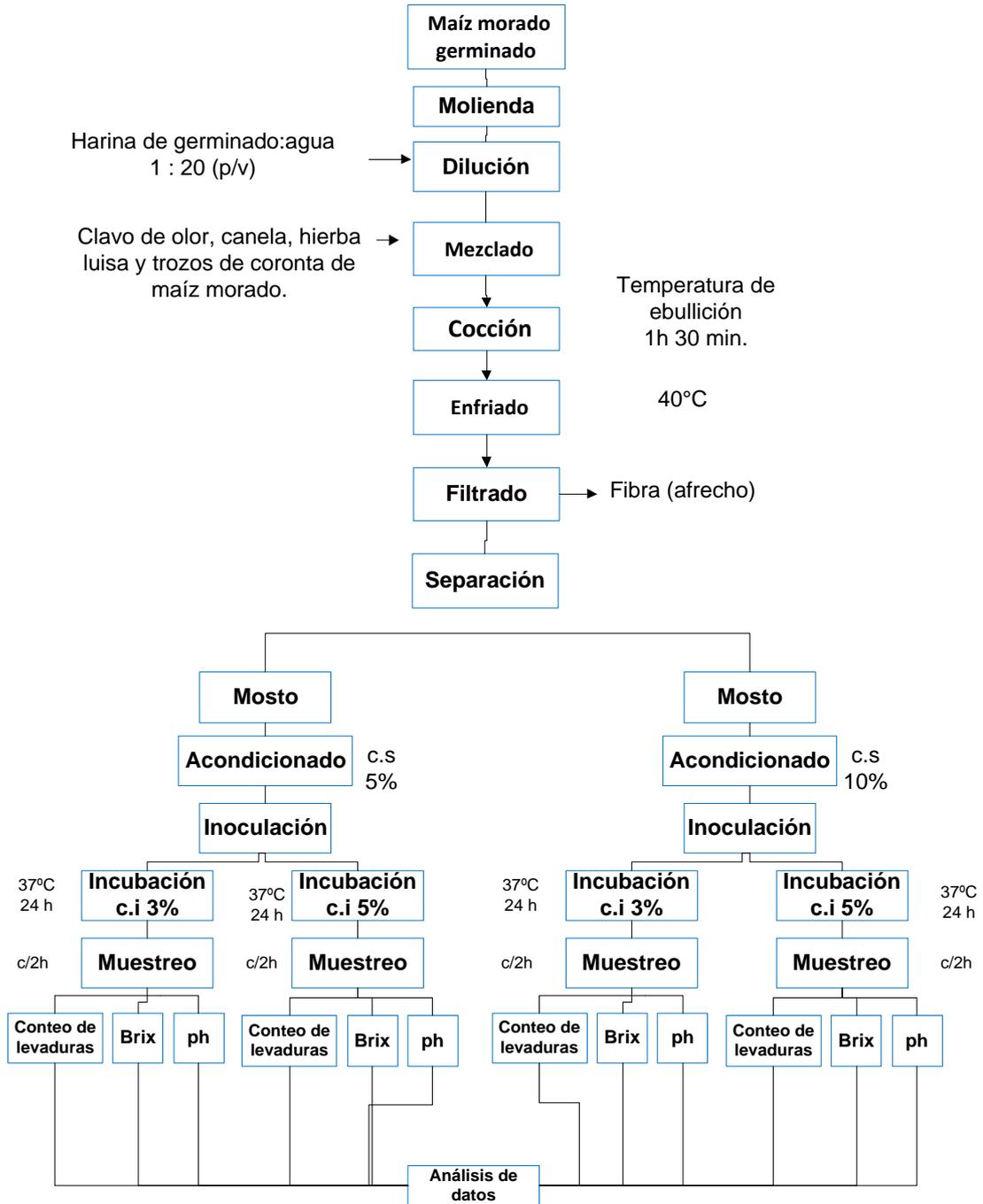
El sustrato se envasó en envase de vidrio de 250 ml previamente esterilizados.

g) Almacenado:

Se almacenó el sustrato a una temperatura de refrigeración (4° C).

Figura 2

Diseño de los tratamientos a experimentar



4.2. Método de investigación

Nuestra investigación empleó métodos cuantitativos, diseñando un flujo experimental, por lo que el tratamiento de datos es de forma numérica,

4.3. Población y muestra

La población para nuestro presente trabajo es el sustrato del germinado de maíz morado *Zea mays (L.)* obtenido de acuerdo con nuestro diagrama de flujo de procesamiento (figura 1).

La muestra estuvo conformada por 150 gramos de germinado de maíz morado para cada tratamiento realizado, se realizaron 4 tratamientos por triplicados; es decir, un total de 12 ensayos llegando a utilizar 1800 g de germinado de maíz morado para el total de experimentos.

4.4. Lugar de estudio y periodo desarrollado

El presente trabajo de investigación se realizó en un laboratorio acondicionado en nuestro domicilio en la Provincia de Cañete, distrito de San Vicente de Cañete. La presente investigación se desarrolló durante el mes de setiembre y octubre del 2021.

4.5. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información.

4.5.1. Técnicas

Análisis microbiológicos, se realizó el método de conteo en placa utilizando la técnica ICMSF, 2000.

Análisis fisicoquímicos, se realizó la obtención del pH y sólidos solubles mediante la técnica descrita en AOAC de acuerdo con la tabla 12 presentada a continuación.

Tabla 12

Propiedades fisicoquímicas

Características	Técnica
pH	AOAC 981,12/90
Sólidos Solubles	AOAC 925.105 / 90

En este apartado se describe el procedimiento que se empleó para llevar a cabo los experimentos que tuvieron como inóculo cepas liofilizadas de ***Saccharomyces boulardii*** (Floratil CNCM I- 745, sobre con 250 mg.) con un medio líquido pasteurizado constituido por agua 200 ml más 55 g de panela. Esta solución líquida se le llamó cultivo madre temperado a 40°C y se inoculó con 250 mg de levadura liofilizada, incubándose por 24 horas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, agitándola cada 4 horas.

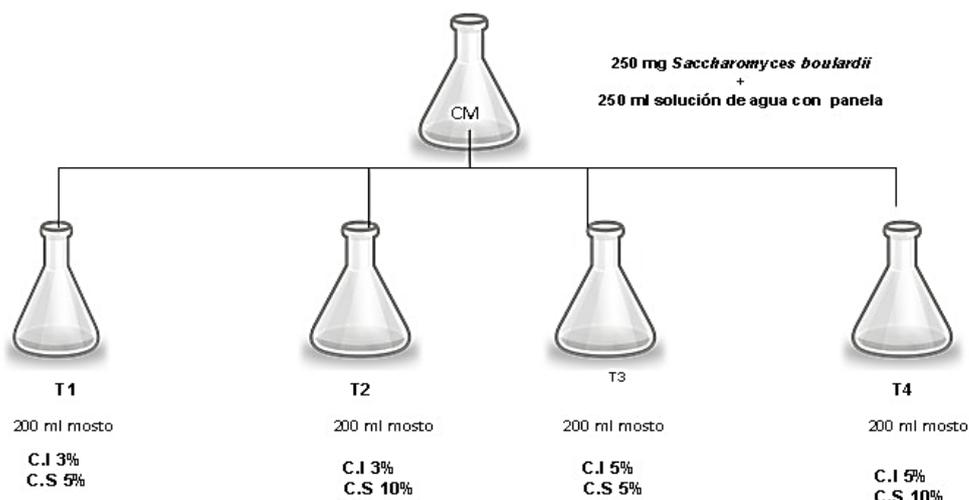
El mosto de maíz morado se obtuvo llevando a proceso térmico por 90 minutos, 150 g de germinado de maíz morado en 3000 ml de agua, posterior al tratamiento térmico se enfrió hasta 40°C y se prepararon 4 baterías, una para cada tratamiento para ser inoculadas con las cantidades de inóculo por tratamiento (ver figura 3).

Cada tratamiento fue incubado por 16 horas a temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$, se tomó una alícuota de 1 ml cada 2 horas para hacer una siembra en placa para el conteo respectivo de levaduras, paralelamente a ello se tomó los grados Brix y el pH respectivo.

Los conteos en placa de hicieron por triplicado y se usó la técnica de “conteo en placa o difusión” y se reportaron como Log (ufc/ml) para la obtención de los parámetros cinéticos de acuerdo con el modelo matemático de Gompertz.

Figura 3

*Diluciones para evaluar el crecimiento de ***Saccharomyces boulardii****



4.5.2. Instrumentos.

- Placas petri descartables 90x15mm
- Pipetas Pasteur de plástico 3 ml
- Probeta de plástico 100ml
- Probeta de plástico 250ml
- Cinta de pH
- Brixómetro 0-80°
- Densímetro para mosto
- Termómetro de canastilla (0-100 °C)
- Termómetro de alcohol (0-150°C)
- Mecheros de alcohol
- Contador de colonia
- Lupas de laboratorio 4X
- Asa de siembra
- Espátula de DRIGALSKY
- Yogurt maker modelo REC-INYGM159

4.6. Análisis y procesamiento de datos

El análisis estadístico de los resultados de las pruebas experimentales se efectuó mediante el software StatSoft versión 10 y Excel, mediante su aplicación se obtuvieron gráficas, diagramas y la obtención de la regresión lineal del crecimiento de las levaduras *Saccharomyces boulardii* respecto al porcentaje de concentración de esta.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados descriptivos

En la tabla 13 se presentan los resultados del crecimiento de *Saccharomyces boulardii* obtenidos mediante un promedio de un conteo por triplicado para cada tratamiento obteniendo las UFC a intervalo de 2 horas por un periodo de fermentación de 16 horas.

Tabla 13

Crecimiento de Saccharomyces boulardii

Tiempo	T1(3%C.I + 5%C.S)		T2(3%C.I+10%C.S)		T3(5%C.I+5%C.S)		T4(5%C.I+10%C.S)	
Tiempo	ufc/ml	ufc/ml	ufc/ml	ufc/ml	ufc/ml	Ufc/ml	ufc/ml	ufc/ml
0	3020566	3.02E+06	3193867	3.19E+06	2906250	2.98E+06	2720849	2.72E+06
2	4101896	4.10E+06	4202626	4.20E+06	3835573	3.67E+06	3598100	3.60E+06
4	4830442	4.83E+06	5755211	5.76E+06	5533884	5.18E+06	5075629	5.08E+06
6	6158214	6.16E+06	7056678	7.06E+06	7540452	6.84E+06	6440370	6.44E+06
8	6443814	6.44E+06	8319693	8.32E+06	8353501	8.09E+06	7480298	7.48E+06
10	7064687	7.06E+06	8993606	8.99E+06	8687879	8.69E+06	8353213	8.35E+06
12	7494558	7.49E+06	8899700	8.90E+06	8278841	8.51E+06	8640564	8.64E+06
14	7068635	7.07E+06	8655208	8.66E+06	7640791	7.97E+06	8433578	8.43E+06
16	6840600	6.84E+06	8488700	8.49E+06	7250658	7.65E+06	8230157	8.23E+06

Nota: **CS:** concentración de sacarosa; **CI:** Concentración de Inóculo.

El Crecimiento de *Saccharomyces boulardii* a través del tiempo en los tratamientos realizados, se ilustra en las figuras 4, 5, 6 y 7.

Figura 4

Crecimiento de Saccharomyces boulardii a través del tiempo con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 3%

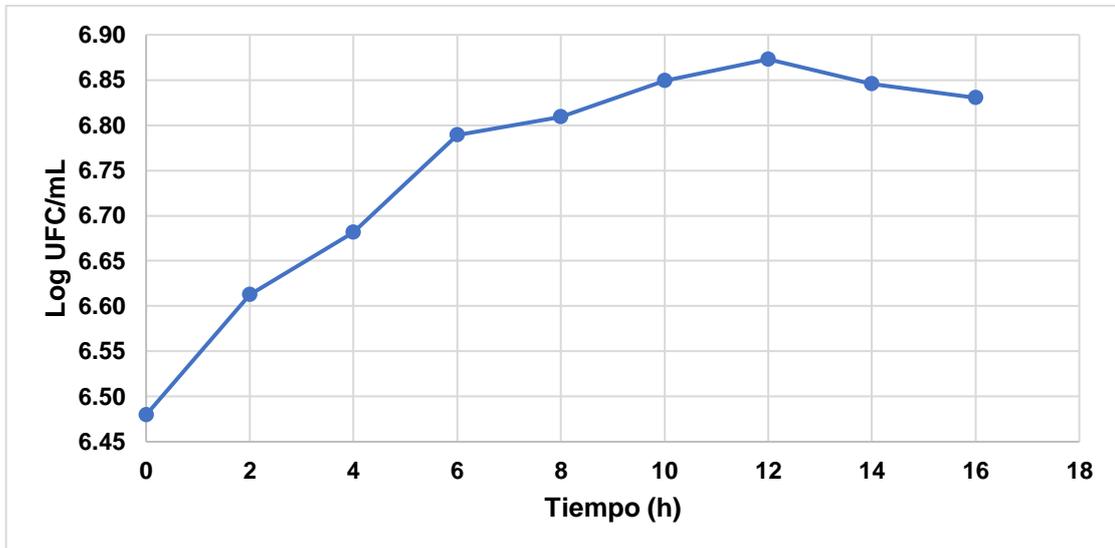


Figura 5

Crecimiento de Saccharomyces boulardii a través del tiempo con la concentración de sustrato al 10% y concentración de inóculo al 3%

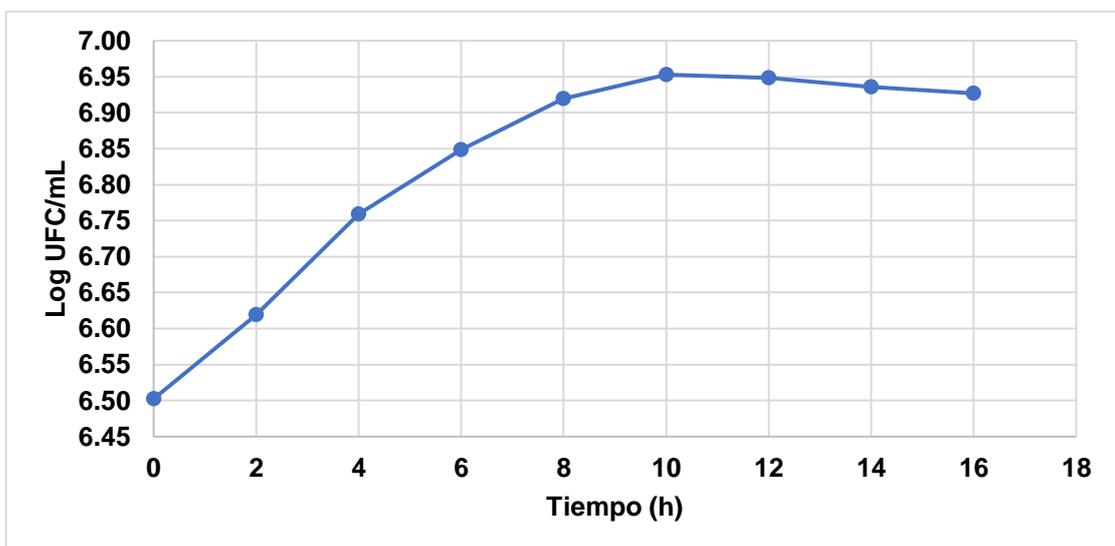


Figura 6

*Crecimiento de **Saccharomyces boulardii** a través del tiempo con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 5%*

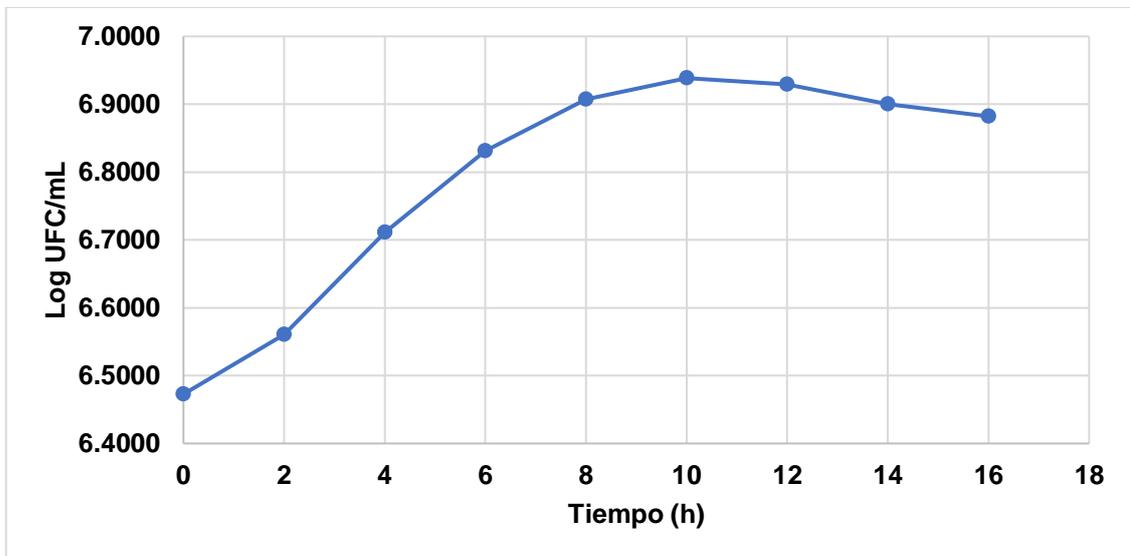
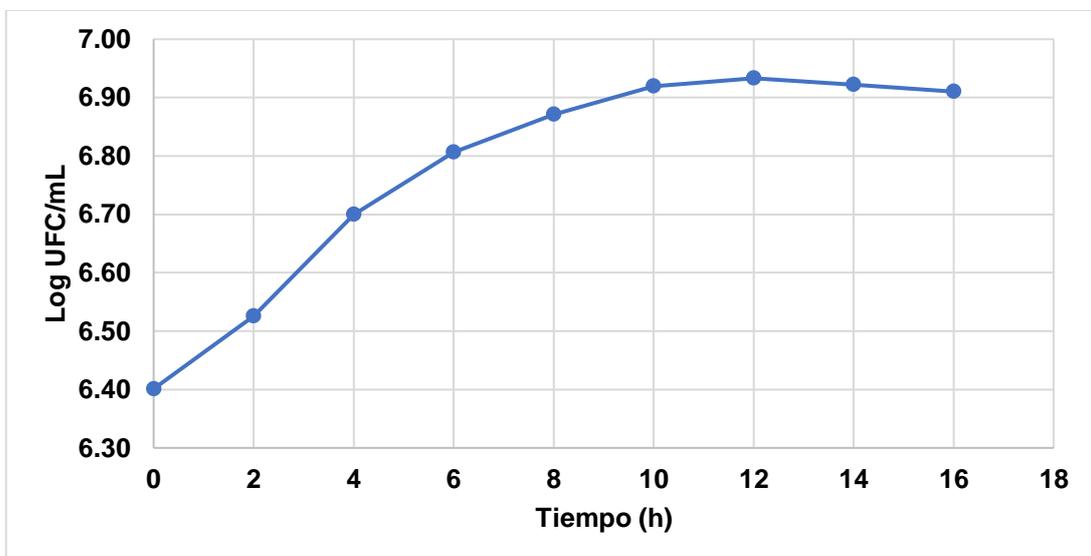


Figura 7

*Crecimiento de **Saccharomyces boulardii** a través del tiempo con la concentración de sustrato al 10% y concentración de inóculo al 5%*



En la tabla 14 se muestra los resultados del análisis °Brix y pH efectuados en cada uno de los tratamientos.

Tabla 14

Resultados de pH, °Brix

Tiempo (h)	T1(5%CS+3%CI)		T2(10%CS+3%CI)		T3(5%CS+5%CI)		T4(10%CS+5%CI)	
	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix	pH
0	7.00	6.50	12	6.5	7.00	6.50	12	6.5
2	7.00	6.00	11.5	6	7.00	6.00	12	6.5
4	7.00	6.00	11	6	6.50	6.00	11.5	6
6	6.50	5.50	11	5.5	6.50	6.00	11.5	6
8	6.50	5.00	11	5.5	6.00	5.50	11	5.5
10	6.00	5.00	10.5	5	6.00	5.50	10.5	5.5
12	5.50	5.00	10.5	5	5.50	5.00	10.5	5
14	5.00	4.50	10	5	5.00	5.00	10	5
16	4.50	4.00	10	4.5	4.50	5.00	10	5

5.2. Resultados inferenciales

En la figura 8, 9, 10 y 11 se pueden apreciar las curvas sigmoideas del modelo de Gompertz aplicados a cada uno de los tratamientos realizados.

Figura 8

Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 3%

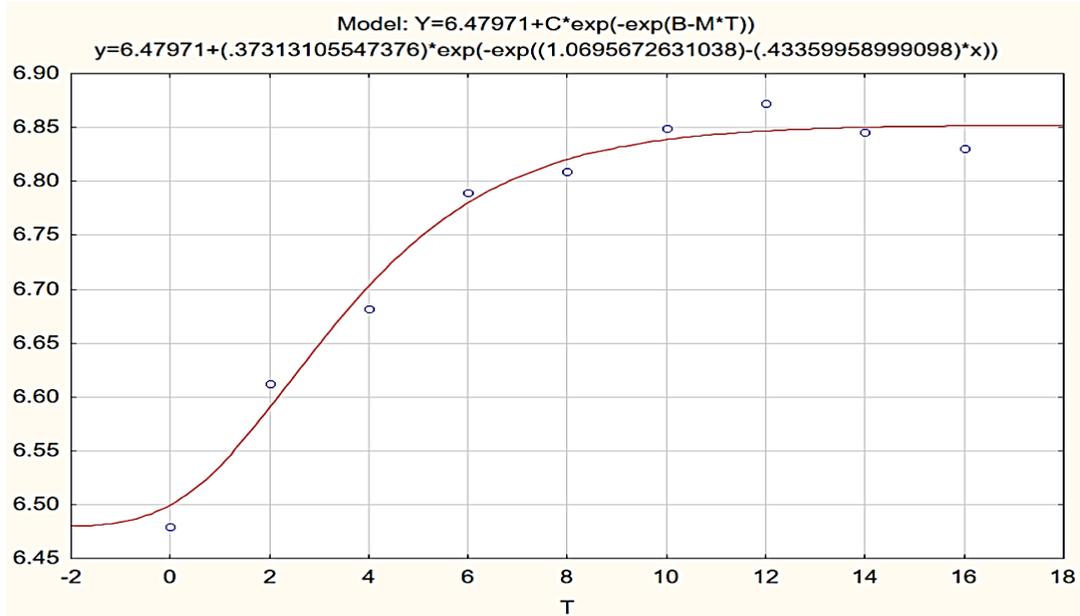


Figura 9

Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 10% y concentración de inóculo al 3 %

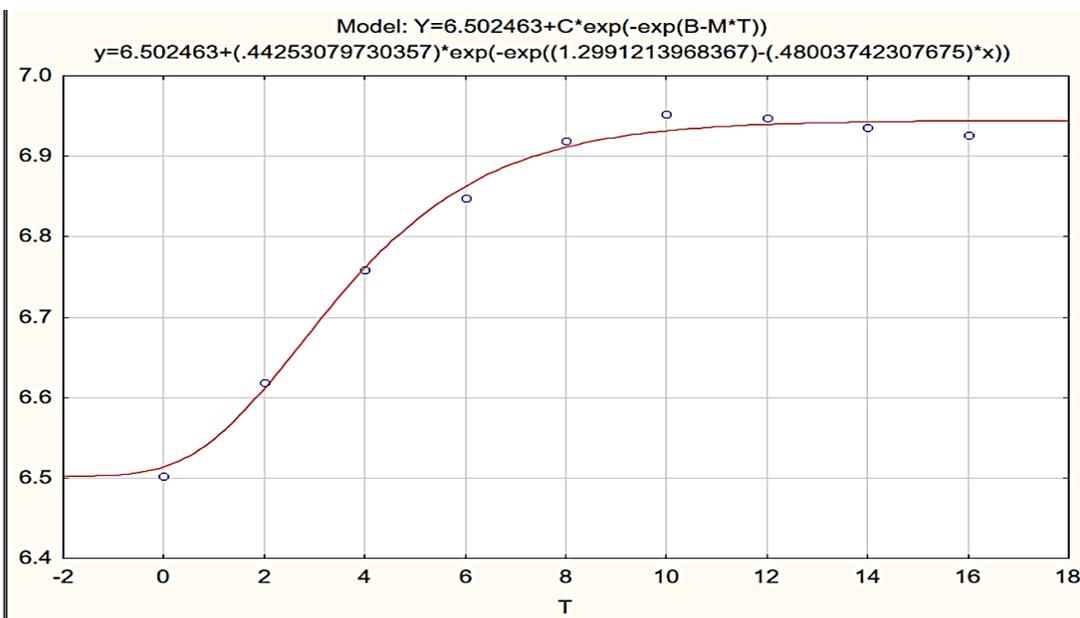


Figura 10

Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 5 %

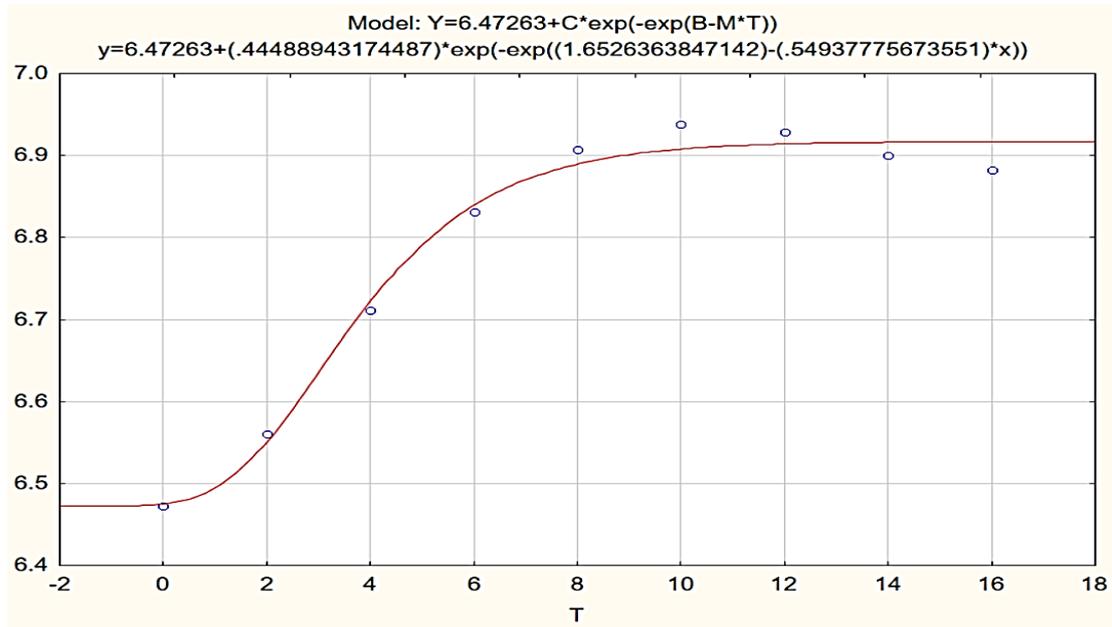
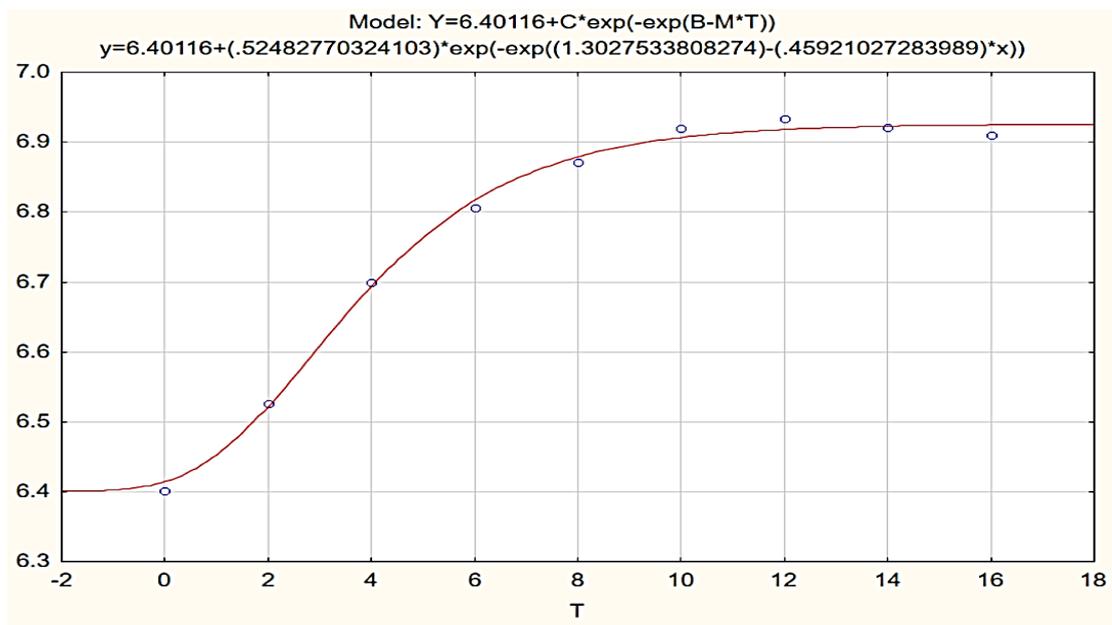


Figura 11

Curvas sigmoideas del modelo de Gompertz correspondientes al tratamiento con la concentración de sustrato al 5% y concentración de inóculo al 10 %



En la tabla 15 se muestra los parámetros de la cinética de crecimiento

Tabla 15

*Parámetros cinéticos de **Saccharomyces boulardii** en las diferentes muestras del sustrato del germinado de maíz morado*

Tratamientos	Modelo de Gompertz			$X = X_0 + Ce^{-e^{-B(t-M)}}$		
	C	B	M	μ_m	λ	G
T1 (3%CI+5%CS)	0.37313	1.06957	0.43360	0.16179	0.16044	4.28425
T2 (3%CI+10%CS)	0.44253	1.29912	0.48004	0.21243	0.62312	3.26292
T3 (5%CI+5%CS)	0.44489	1.65264	0.54938	0.24441	1.18796	2.83597
T4 (5%CI+10%CS)	0.52483	1.30275	0.45921	0.24101	0.65929	2.87605

Nota: C, B, M: constantes; μ_{max} Velocidad Específica; λ : duración de la fase de latencia; G: tiempo de generación); CS: concentración de sacarosa; CI: Concentración de Inóculo.

5.3. Otro tipo de resultados estadísticos

En la tabla 16 se muestra el análisis de varianza del crecimiento de la levadura *Saccharomyces boulardii*.

Tabla 16

Análisis de varianza respecto al crecimiento de la levadura

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
CS	1	0.006812	0.006812	0.24	0.625
CI	1	0.000103	0.000103	0.00	0.952
CS*CI	1	0.017201	0.017201	0.61	0.439
Error	32	0.897446	0.028045		
Total	35	0.921563			

Nota: CS: concentración de sacarosa; CI: Concentración de Inóculo.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados

Hipótesis general

Después de realizar el método de conteo de las unidades formadoras de colonia para las muestras obtenidas de la fermentación, se obtuvieron los resultados mostrados en el capítulo anterior. El modelo de Gompertz se ajustó para los cuatros tratamientos realizados en base al sustrato del germinado de maíz morado *Zea mays (L.)*; ya que, nos mostraron una curva cinética ajustada a los datos experimentales no obstante cada curva tuvo su propio comportamiento. Es posible notar que, durante la primera hora de fermentación, el microorganismo se estuvo adaptando a las condiciones del medio que lo rodeaba y empezar a consumir el sustrato del germinado de maíz morado. Estos valores, obedecen al objeto para el cual el modelo cinético en mención representa una mejor aproximación a los datos experimentales.

Hipótesis específicas

Los datos experimentales mostraron el crecimiento de *Saccharomyces boulardii* a partir del sustrato del germinado de maíz morado en los cuatros tratamientos siguiendo una curva típica de crecimiento microbiano y así lo demuestra el análisis de varianza que no hay diferencia significativa entre los cuatros y con una confiabilidad ($p < 0.05$). Los valores alcanzados en el crecimiento microbiano varia de 6-7 log en las diferentes concentraciones de las muestras, también cabe resaltar que el punto más alto de crecimiento que alcanza las muestras son: 6.9528 Log(ufc/ml) a las 10 horas en el tratamiento dos (T2) 10%CS+3%CI; 6.9385Log(ufc/ml) a las 10 horas en el tratamiento tres (T3) 5%CS+5%CI; 6.8730 Log(ufc/ml) a las 12 horas en el tratamiento uno (T1) 5%CS+3%CI; 6.9332 Log (ufc/ml) a las 12 horas en el tratamiento cuatro (T4) 10%CS+5%CI.

El modelo de Gompertz si logró ajustarse a los datos experimentales, un parámetro importante para el análisis es la tasa de crecimiento específica ($\mu_{\text{máx}}$), el cual es un indicador de que tanto está creciendo el microorganismo y

su afinidad por el sustrato empleado en la fermentación, en donde se observa que el tratamiento uno (T1) posee la menor tasa de crecimiento ello debido a que posee la menor concentración de sustrato e inóculo (C.S. 5%, C.I. 3%); así como la máxima carga de población de levadura lo posee el tratamiento cuatro (T4), C.S. 10%, C.I. 5% y que era de esperarse por que posee la mayor tasa en concentración de sustrato e inóculo.

6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares

Los resultados de esta investigación son contrastados con el resultado de Colque (2016); porque su curva de crecimiento de la levadura siguió una curva típica del crecimiento microbiano al igual que la presente investigación; además, su mayor desarrollo se produjo con su concentración más alta de sustrato e inóculo constatando también nuestro resultado.

En la investigación de Rodríguez y Chambi (2019), obtienen como resultados que el modelo Gompertz se ajustó a sus cuatros tratamientos obteniendo en T2 y T3 valores mas altos de crecimiento microbiano por *Saccharomyces boulardii* con el sustrato de Tunta Negra y Tunta Chaska

Igualmente, los resultados obtenidos por Chambi (2021), precisa que el modelo cinético que más se ajusta a sus datos experimentales es el modelo de Gompertz, puesto que en sus parámetros microbiológicos permitieron observar una curva de crecimiento que permite predecir, determinar condiciones óptimas para el crecimiento microbiano.

Según la investigación de Calderón (2017), en su modelado cinético para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en sustrato complejo, deduce que el modelo de Amrare y Prigent proyecta una mayor tasa de crecimiento específica ($\mu_{m\acute{a}x}$) 0.72598 frente al modelo de Gompertz de 0.12964, puesto que ambos modelos no dependen de la concentración de sustrato presente para representar el proceso de crecimiento microbiano.

6.3. Responsabilidad ética de acuerdo con los reglamentos vigentes

Los autores de la presente investigación acreditamos que los resultados expuestos son producto de procedimientos reales, siguiendo la normativa vigente para su desarrollo según el Protocolo de Investigación de Posgrado.

CONCLUSIONES

En la presente investigación fue posible realizar el modelado matemático y así poder obtener las curvas de crecimiento microbiano, siendo estas bastante aproximadas para definir la actividad de *Saccharomyces boulardii* en el sustrato del germinado de maíz morado, donde el modelo de Gompertz se ajustó a los cuatros tratamientos realizados en la presente investigación. El tratamiento 4 que corresponde a C.S. 10%, C.I. 5% fue el que mejor resultado presentó por que posee la mayor carga de población de levaduras.

La evaluación del crecimiento cinético de *Saccharomyces boulardii* en la fase exponencial en las bebidas alcanzaron valores de 10^6 ufc/ml. Según Puente y Cortes, (2009) que para que un producto se denomine probiótico debe contener valores mínimos de viabilidad de 10^6 ufc/ml

Se obtuvo parámetros microbiológicos que nos permiten detallar el comportamiento del microorganismo en la curva de crecimiento aspecto que nos dio la facilidad de predecir y determinar las condiciones adecuadas para el crecimiento microbiano.

RECOMENDACIONES

Proponer el realizar más estudios sobre evaluación de crecimiento cinético en microorganismo probióticos, que nos permitan el emplear más sustratos elevados en nutrientes y los modelos matemáticos que más se ajusten a lo requerido para poder desarrollar más alimentos probióticos que serán de mucha importancia y utilidad para la población de nuestro país.

Realizar trabajos de investigación con ***Saccharomyces boulardii*** debido a que es el único probiótico de levadura cuyas ventajas han sido postuladas y considerar que existen diferencias evidentes frente a probióticos bacterianos. Además, hay que aclarar que su eficacia ha sido considerada en el ámbito alimentario y clínico por sus buenos resultados sobre la microbiota intestinal y el ecosistema intestinal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre García, J. S. (2013). *Variabilidad de la inactivación microbiana y de la fase de latencia de los microorganismos supervivientes a diferentes tratamientos conservantes de alimentos* [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid]. Archivo digital. <https://eprints.ucm.es/21020/1/T34421.pdf>.
- Apaza, R. y Atencio Y. (2017). *Tecnología para la elaboración de una cerveza artesanal tipo ale, con sustitución parcial de malta (*Hordeum vulgare*) por guiñapo de maíz morado (*Zea mays*)* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Archivo digital. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/4506>.
- Arévalo Ortiz, H. F. y Arias Arroyo, G.C. (2008). Determinación de la concentración de inóculo y tiempo de fermentación, utilizando microbiota de los granos de kéfir como agente biológico y suero de leche como sustrato. *Ciencia e Investigación*. 11 (2), 16-22. <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/5000>
- Ayma, C. y Cacsire, G. (2012). *Tratamiento térmico para estabilizar la chicha de jora* [Tesis para titulación, Universidad Nacional de Ingeniería]. Archivo digital. <http://cybertesis.uni.edu.pe/handle/uni/1341>.
- Bailón Neira, R. C. (2012). *Fermentaciones Industriales* [Informe final de investigación, Universidad Nacional del Callao en línea]. Archivo digital. https://unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/Informes_Finales_Investigacion/IF_MAYO_2012/IF_BAILON%20NEYRA_FIPA.pdf
- Barco Coro, L. (2017). *Elaboración de bebida fermentada a base del extracto de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y soya (*Glycine max*) con la aplicación de probióticos* [Tesis titulación, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano en línea]. Archivo digital. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6029/1/AGI-2017-006.pdf>.

- Bartolo, L. et al. (2013). Efecto del vacío en la absorbancia y el grado alcohólico en dos tipos de “Chicha de Jora”. *Agroindustrial Science*. 3(2), 117-124. <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/505/480>.
- Basanta Díaz, A. (2007). *Evaluación de la enterocina L50 (L50A Y L50B) de “Enterococcus faecium” L50 como bioconservante de la cerveza: producción y secreción heteróloga de las enterocinas L50 Y L50B en “Saccharomyces cerevisiae” y “Pichia pastoris”* [Tesis para doctorado, Universidad Complutense de Madrid]. Archivo digital. <https://eprints.ucm.es/8431/1/T30736.pdf>.
- Basilio Atencio, J. (2015). *Predicción de la vida útil de chifles de plátanos (Musa paradisiaca) mediante modelos matemáticos* [Tesis magister, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Archivo digital. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/1863>.
- Bernal Castro, C.A., Díaz Moreno, C y Carolina Gutiérrez Cortés C.(2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición*, 44 (4), 383-392. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182017000400383>
- Betalleluz Pallardel, I. M. (2017). *Estudio del enriquecimiento de manzana con prebióticos, probióticos y componentes antioxidantes provenientes de zumo de mandarina por impregnación a vacío para el desarrollo de aperitivos altamente funcionales y con bajo contenido calórico* [Tesis de doctorado, Universidad Politécnica de Valencia]. Archivo digital. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=115167>
- Bonilla, P., et al. (2015). Compuestos bioactivos y análisis sensorial de una bebida funcional de maíz morado (*Zea mays L.*) y estevia (*Stevia SP.*) *Ciencia e Investigación*. 18(1), 37-42. <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13604>.

- Buts, J. (2005). Ejemplo de un medicamento probiótico: **Saccharomyces boulardii** liofilizada. *Rev. gastroenterol.* 25 (2), 176-188.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292005000200007
- Cabanillas Lomeli M. L., (2017). *Incorporación de Bacillus coagulans a productos derivados de cereales* [tesis para doctorado, Universidad Autónoma de Barcelona]. Archivo digital.
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/457965/mlcl1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cabezas Alarcón, M. A. (2009). *Evaluación de la capacidad de colonización intestinal de un Lactobacillus sp proveniente de un fermento comercial* [Tesis titulación, Universidad San Francisco de Quito]. Archivo Digital.
<http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/929/1/95044.pdf>
- Calderón Vargas, J. (2017). *Ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de Lactobacillus acidophilus en la fermentación de un sustrato complejo* [Tesis titulación, Fundación Universidad de América en línea]. Archivo Digital.
<http://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6598/1/6121940-2017-2-IQ.pdf>.
- Cartes Tironi, Paula A. (2005). *Viabilidad de las Cepas de Lactobacillus casei shirota y Bifidobacterium lactis en un Postre de Leche con Salsa de Cranberry.* [Tesis titulación, Universidad Austral de Chile]. Archivo Digital.
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fac244v/doc/fac244v.pdf>.
- Castañeda Guillot, C. (2017). Probióticos Saccharomyces boulardii CNCM I-745: de la investigación a la práctica clínica. *Revista de medicina de Belice* 6(2),15-21, <https://biblat.unam.mx/es/revista/belize-journal-of-medicine/articulo/probiotico-saccharomyces-boulardii-cncm-i-745-de-la-investigacion-a-la-practica-clinica>
- Centeno Ordoño, K. (2016). *Efecto de la hidrólisis enzimática y la pasteurización sobre la calidad de una bebida fermentada a base de maíz morado (Zea*

- mays*) variedad *Kulli* [Tesis titulación, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Archivo Digital. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/3294>.
- Cerro Ruiz, S. R. (2013). Aprovechamiento de pigmentos antociánicos del maíz morado (*Zea mays* l.) en la elaboración de una bebida alcohólica tipo vino. *Ciencia y Desarrollo*. Perú. (15), 4-46. <http://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/CYD/article/view/293>
- Colque Cruz, E. (2016). *Determinación de parámetros para la elaboración de bebida probiótica de tarwi (**Lupinus mutabilis Sweet**) empleando **Saccharomyces boulardii*** [Tesis titulación, Universidad Peruana Unión]. Archivo Digital. http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/653/Edith_Tesis_bachiller_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Contreras, C. y Astudillo, M. (2007). *Conservación y comercialización de la Chicha de jora en envases de vidrio a partir de maíz morocho* [tesis titulación, Universidad de Cuenca en línea]. Archivo Digital. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/834>.
- Cuevas Mejía, J. J. (2014). Maíz: Alimento fundamental en las tradiciones y costumbres mexicanas PASOS. *Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*. España. 12 (2), 425-432. <https://www.redalyc.org/pdf/881/88130205002.pdf>.
- De Florio Ramírez, E. (1997). Elaboración tradicional de chicha de jora a nivel de planta piloto, utilizando tecnología cervecera. *Ciencia & Desarrollo*. (5), 92-96. <http://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/CYD/article/view/108>.
- Del Aguila Cortijo, J. y Delgado Galvez, J. (2015). *Evaluación de los hidrolizados de **Chenopodium quinoa wildnow** (quinua) **Hordeum vulgare** (cebada) y **Glycine max** (soya) como sustrato beneficioso para la preparación de un producto nutraceútico a base de **Lactobacillus acidophilus*** [tesis titulación, Universidad Nacional de Trujillo]. Archivo Digital.

[http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3625/DelAguilaCor
tijo_J%20-%20DelgadoGalvez_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3625/DelAguilaCor
tijo_J%20-%20DelgadoGalvez_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

Fula Arguello, A. G. (2010). *Desarrollo de una bebida fermentada con adición de cocción de maíz* [tesis titulación, Universidad Nacional De Colombia]. Archivo Digital. <https://docplayer.es/4888505-Desarrollo-de-una-bebida-fermentada-con-adicion-de-coccion-de-maiz.html>.

Galecio, G. y Haro, C. (2012). *Bebidas fermentadas en base a “Maíz negro” **Zea mays L. poaceae**; con el eco tipo “Racimo de uva” y la variedad “Mishca” de la serranía ecuatoriana* [Tesis titulación, Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito]. Archivo Digital. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/3865>.

García Palancar, M. (2017). *Bebidas fermentadas y probióticos: ¿cervezas probióticas?* [Tesis titulación, Universidad Complutense de Madrid]. Archivo Digital. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARTA%20GARCIA%20PALANCAR.pdf>.

Guamán, Á. (2013). *Validación técnica del proceso de producción de las chichas (jora y morada), elaboradas por la fundación Andinamarca, Calpi-Riobamba* [Tesis titulación, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Archivo Digital. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2619>.

Guillén-Sánchez, J., Mori-Arismendi, S. y Paucar-Menacho, L. M. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (**Zea mays L.**) var. Subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria*. 5(4), 211-217. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172014000400005

Gutiérrez, M. (2011). *Modelos sugeridos como herramientas para la microbiología predictiva en la industria de los alimentos* [Tesis titulación, Universidad De San Carlos De Guatemala]. Archivo Digital. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3090.pdf.

- Hernández, V. (2016). *Extracción de antocianina a partir de maíz morado (Zea mays L.) para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria* [Tesis titulación, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. Archivo Digital. <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/878>.
- Huapaya Castillo, C. (2014). *Elaboración de una bebida probiótica a partir de la fermentación láctica del almidón hidrolizado de harina de quinua **Chenopodium quinoa*** [tesis titulación, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Archivo Digital. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/1903>.
- Instituto Interamericano De Cooperación Para La Agricultura (IICA) (2013). *La cadena de valor de maíz en el Perú: diagnóstico del estado actual, tendencias y perspectivas*. <http://repositorio.iica.int/bitstream/11324/2654/1/BVE17038732e.pdf>
- Jiménez Pérez, C. (2014). *Utilización de maíz pigmentado para la elaboración de un alimento funcional* [Tesis titulación, Universidad Autónoma Metropolitana]. <http://tesiuami.izt.uam.mx/uam/aspuam/presentatesis.php?recno=16378&docs=UAMI16378.pdf>
- León de la, O., Yépez, B.C., Ballinas, A.M., Herrera, E.M., Lobato, A.C., Hernández, I.C., Villanueva, A.L., & Brito, R. (2013). Formulación y optimización de un medio de cultivo económico para Lactobacillus con potencial probiótico aislado del pulque. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria: Revista de Investigación de la Universidad Simón Bolívar* (2), 133-144. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4745491.pdf>.
- Lizano Prado A. L. (2012). *Efecto del proceso de fritura en el contenido de antocianinas en empanadas elaboradas con mezclas de harina de trigo - maíz morado (Zea mays L.)* [Tesis para titulación, Universidad San Francisco de Quito]. Archivo digital. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/2000/1/106060.pdf>

- Lizano Prado, A. L. (2012). *Efecto del proceso de fritura en el contenido de antocianinas en empanadas elaboradas con mezclas de harina de trigo-maíz morado (Zea mays L.)*. [tesis titulación, Universidad San Francisco de Quito]. Archivo Digital. <https://docplayer.es/30803801-Ana-lucia-lizano-prado.html>.
- Martínez García, K. (2016). *Aplicaciones de la Microbiología Predictiva en la Industria Alimentaria* [Tesis titulación, Universidad de La Laguna en línea]. España. Archivo Digital. <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/3186/Aplicaciones%20de%20la%20Microbiologia%20Predictiva%20en%20la%20Industria%20Alimentaria.pdf?sequence=1>.
- Ministerio De Agricultura Y Riego (MINAGRI). (2011). Maíz amiláceo. http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/manuales-boletines/maiz-amilaceo/maiz_amilaceo11.pdf
- Ministerio Del Ambiente (MINAM). (2015). Prospección, colección, elaboración de mapas de distribución y estudio socioeconómico y de conocimientos tradicionales asociados al cultivo de las razas de maíz. <http://genesperu.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2016/09/Maiz5-Prospeccion-coleccion-elaboracion-de-mapas-de-distribucion-y-estudio-socioeconomico-de-conocimientos-tradicionales-asociados-al-cultivo-y-razas-de-maiz.pdf>
- Morales Romero, J. F. (2018). Efecto de la temperatura y tiempo de pasteurización sobre la calidad de la chicha arequipeña clarificada a base de maíz morado germinado variedad Kculli (Zea mays). [Tesis maestría, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6696>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2001). El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. <http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s00.htm#toc>.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (1993). El maíz en la nutrición humana. <http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S00.htm#Contents>.
- Pérez Leonard, H. (2007). Beneficios de las levaduras vivas en la obtención de productos con actividad probiótica. *ICIDCA, Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. XLI (3), 35-41. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120666005.pdf>.
- Pomasqui Benavides, J. (2012). *Parámetros óptimos en la fermentación alcohólica para industrializar la Chicha de Jora en la Procesadora de Alimentos y Bebidas Kutacachi Sara Mama* [Tesis titulación, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en línea]. Archivo Digital. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2576>.
- Rafael Ramírez, J. P. y Lleylsmar CrespO, G. C. 2016. Evaluación del crecimiento de ***Saccharomyces boulardii*** utilizando como sustrato inulina extraída a partir de la cebolla (*Allium cepa*). *AGROLLANÍA*. (7), pp.1-7. <http://www.postgradovipi.50webs.com/archivos/agrollania/2016/agro7.pdf>
- Rios Cáceres, D. J. (2013). *Diseño de un sistema de fermentación para la elaboración de 100 litros de chicha de jora* [Tesis titulación, Pontificia Universidad Católica del Perú en línea]. Archivo Digital. <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/5329>.
- Rodríguez Molina, M. y Chambí Rodríguez, A.D. (2019). Determinación de la curva de crecimiento microbiano ***Saccharomyces Boulardii*** en Tunta variedades Chaska y Negra. *Fides et Ratio - Revista de Difusión cultural y científica de la Universidad La Salle en Bolivia*, 18(18), 201-214. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2071-081X2019000200011&lng=es&tlng=es
- Romero Solano, R. (2017). *Elaboración de una bebida fermentada a partir de jora de maíz negro (Zea mayz L.)* [Tesis titulación, Universidad Tecnológica Equinoccial]. Archivo Digital.

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3865/1/UPS-QT03423.pdf>.

Royo Bordonada, M. Á. (2017). *Nutrición en salud pública*. Madrid: Escuela Nacional de Sanidad, Instituto de Salud Carlos III. <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=11/01/2018-5fc6605fd4>

Sempértegui Puente, M. y Cazar Ramirez, M. (2013). *Perspectivas para la industrialización de la chicha de jora* [Tesis titulación, Universidad del Azuay]. Archivo Digital. <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/3315>.

Serna Jiménez, J.A. (2016). *Elaboración de jugos de frutas con adición de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico* [Tesis maestría, Universidad de La Sabana]. Archivo Digital. https://intellectum.unisabana.edu.co/bitstream/handle/10818/3633/Johana%20Serna%20Jim%C3%A9nez_157728.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Tonello, A. (2012). *Consumo de alimentos prebióticos y probióticos y resultados intrínsecos de su entorno en mujeres de 30 a 40 años que asisten a un gimnasio de la ciudad de Rosario*. [tesis titulación, Universidad Abierta Interamericana]. Archivo Digital. <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC111885.pdf>

Tormo Carnicé (2006). Probióticos. Concepto y mecanismos de acción. *Anales de Pediatría*. 04(1),30-4. <http://www.analesdepediatría.org/es-probioticos-concepto-mecanismos-accion-articulo-13092364>

Tranquilino Rodríguez, E. (2015). *Evaluación del efecto probiótico de Saccharomyces boulardii adaptado a un yogurt elaborado con inulina y aceite vegetal*. [Tesis maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo]. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/2012

- Valdiviezo Gurría, R.I. y Morales Tovilla, M. E. (2016). *Elaboración de un destilado alcohólico a base de granos de maíz* [Tesis titulación, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas]. Archivo Digital. <https://repositorio.unicach.mx/bitstream/20.500.12114/287/1/ALI%20641.25%20V35%202016.pdf>
- Vicente Armando, E. O. (2015). *Utilización del jugo de caña de azúcar (**Saccharum officinarum L.**) como medio de cultivo para la producción de **Saccharomyces boulardii L.**, Machala 2014* [Tesis titulación, Universidad Técnica De Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/3185/2/CD0000-28-TRABAJO%20COMPLETO-pdf>
- Vila Brugalla, M. (2007). *Aplicación de la microbiología predictiva en la industria alimentaria. VI workshop sobre métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria.* España. https://ddd.uab.cat/pub/poncom/mrama/mrama_a2007n6/MRAMA_a2007r5.pdf
- Yarce, C. (2013). Microbiología predictiva: Una ciencia en auge. *Inge@uan.* 3 (6), 31-43. https://www.researchgate.net/publication/312656779_Microbiologia_predictiva_Una_ciencia_en_auge

ANEXO

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida	Métodos	Técnica
Problema general ¿Cuáles son los parámetros que permiten establecer la cinética del crecimiento de una levadura probiótica (<i>Saccharomyces boulardii</i>), en el sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)	Objetivo general Determinar los parámetros que permiten establecer la cinética del crecimiento de una Levadura Probiótica (<i>Saccharomyces boulardii</i>), en el sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)	Hipótesis general La concentración del inóculo y el tiempo de fermentación permiten establecer la cinética del crecimiento de una Levadura probiótica (<i>Saccharomyces boulardii</i>), en el sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)	I. Dependiente Y: Incremento del número de levaduras <i>Saccharomyces boulardii</i>					
Problemas específicos ¿Cómo evaluar experimentalmente el crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> a partir del sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)?	Objetivos específicos Determinar experimentalmente el crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> a partir del sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)	Hipótesis específicas Se determina experimentalmente el crecimiento de <i>Saccharomyces boulardii</i> a partir del sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)	II. Independientes X1: Condiciones de fermentación					
¿Cómo ajustar al modelo matemático (Modelo Gompertz), los datos obtenidos en la etapa de fermentación del sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)?	Ajustar al modelo matemático (Modelo Gompertz), los datos obtenidos en la etapa de fermentación del sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)	El modelo matemático (Modelo Gompertz), se ajusta a los datos obtenidos en la etapa de fermentación del sustrato del germinado de maíz morado <i>Zea mays</i> (L.)	X2: Cinética de crecimiento					
				Recuento de microorganismos probióticos.	Tiempo Recuento de colonias	Horas UFC/ ml	Recuento en placa Petri.	ICMSF – 2000
				Tiempo de fermentación	Tiempo pH Solidos solubles	Horas pH °Brix	Horas Potenciometría Brixometría	AOAC 981.12/90 AOAC 925.105 / 90
				Modelado de crecimiento	Tiempo Recuento de colonias	Horas UFC / ml	Recuento en placa Petri	ICMSF 2000

OTROS ANEXOS

Evidencia de la ejecución de fases para la obtención de la bebida probiótica

Elaboración de mosto

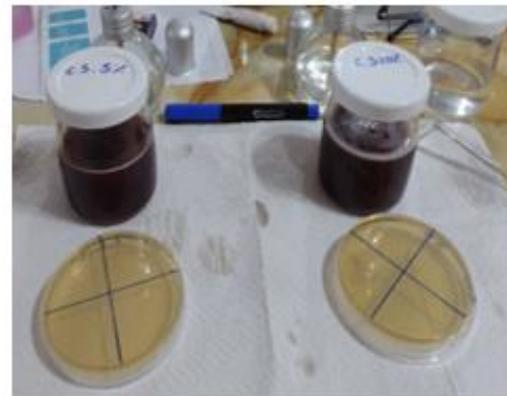


Incubación y fermentación de mosto



Evidencia de la ejecución de fases para la obtención de la bebida probiótica

Evaluación de muestras para sembrado en placa



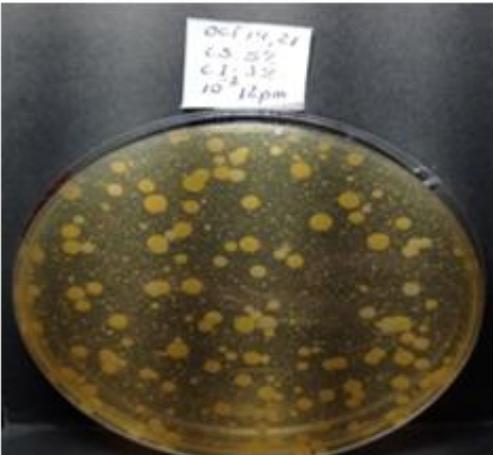
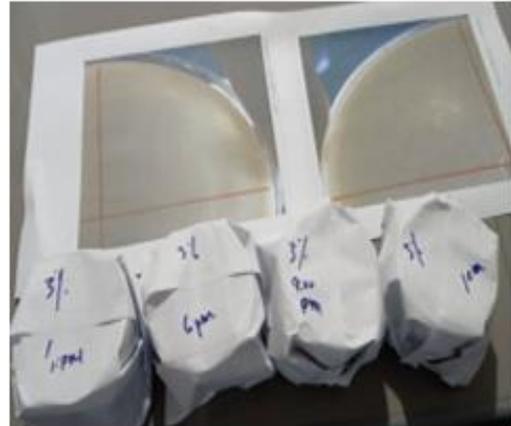
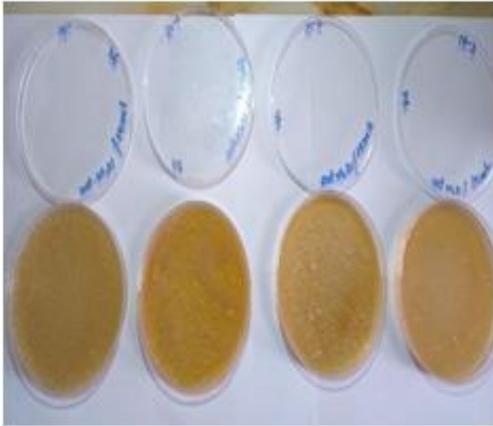
Evidencia de la ejecución de fases para la obtención de la bebida probiótica

Siembra e incubación de placas



Evidencia de la ejecución de fases para la obtención de la bebida probiótica

Lectura de colonias



Evidencia de la ejecución de fases para la obtención de la bebida probiótica

