

FORMATO 10

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



INFORME FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“PARÁMETROS DEL CRECIMIENTO DE
INICIADORES LÁCTICOS EN HIDROLIZADO DEL
GRANO GERMINADO DEL MAÍZ JORA
UTILIZANDO MODELOS DE GOMPERTZ Y
BARANYI-ROBERTS”**

AUTOR: EDGAR ZÁRATE SARAPURA

(PERIODO DE EJECUCIÓN: Del 01 de junio de 2022 al 31 de mayo de 2023)

(Resolución de aprobación N° 464-2022-R)

Callao, 2023

DEDICATORIA

A mi familia.

AGRADECIMIENTO

A los alumnos practicantes en el área la microbiología predictiva y tesis de pre y posgrado por su colaboración y participación en los experimentos.

A la Ing. Alejandrina Honorata Sotelo Méndez por su apoyo científico y de forma perenne durante el desarrollo del presente estudio.

A la Tesista, Bch. Jessica Velásquez Huanca por su participación en la obtención de los hidrolizados y curvas de crecimiento.

Al Sr. José Pastor García Cotrina, personal administrativo, por su eficiente trabajo en el mantenimiento de los equipos y ambientes del laboratorio durante el desarrollo del presente proyecto.

Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional del Callao por la gestión para la asignación económica parcial, para el desarrollo del proyecto a través del FEDU.

ÍNDICE	N°
	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
1.1. Descripción de la realidad problemática	5
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
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	11
2.1. Antecedentes	11
2.1.1. Internacionales	11
2.1.2. Nacionales	16
2.2. Marco	20
2.2.1 Teórico	20
2.2.2 Conceptual	30
2.3. Definición de términos básicos	31
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	34
3.1. Hipótesis	34
3.2 Definición conceptual de variables	35
3.3 Operacionalización de variables	35
CAPÍTULO IV. DISEÑO METODOLÓGICO	36
4.1. Tipo y diseño de la investigación	36
4.2. Método de investigación	36
4.3. Población y muestra	36
4.4. Lugar de estudio y periodo desarrollado	38
4.5. Técnicas e Instrumentos para la recolección de la información	37

4.6.	Análisis y procesamiento de datos	42
CAPÍTULO V. RESULTADOS		43
5.1.	Resultados descriptivos	43
5.2.	Resultados inferenciales	44
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS		57
6.1	Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados	57
6.2	Contrastación de los resultados con otros estudios similares.	64
6.3.	Responsabilidad ética	74
CONCLUSIONES		74
RECOMENDACIONES		75
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		76
ANEXOS		84
	Matriz de consistencia	85

INDICE DE TABLAS DE CONTENIDO

		N° Página
Tabla 1	Valoración de las propiedades del hidrolizado de maíz jora germinado y su nivel de significación estadística.	43
Tabla 2	Calidad microbiológica del hidrolizado de la harina del maíz jora germinado.	43
Tabla 3	Parámetros de crecimiento y cinéticos experimentales de Iniciadores lácticos en hidrolizado de maíz de jora germinado en condiciones de termotolerancia.	46
Tabla 4	Parámetros de crecimiento y cinéticos según modelo de Gompertz de Iniciadores lácticos en hidrolizado de maíz de jora germinado en condiciones de termotolerancia.	48
Tabla 5	Parámetros de Crecimiento y cinéticos de bacterias iniciadoras en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora en condiciones termotolerante según modelo de Baranyi-Roberts.	50
Tabla 6	Índices matemáticos usados para la validación de los modelos que describen el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de <i>Streptococcus thermophilus</i> en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora a temperaturas de 40, 41 y 42 °C.	54
Tabla 7	Índices matemáticos usados para la validación de los modelos que describen el crecimiento de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora..	56

RESUMEN

Se investigó la cinética de crecimiento de bacterias iniciadoras: *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, cepas potencialmente fermentativas, que fueron cultivadas en el medio de hidrolizado de maíz jora germinado dentro de un entorno de termotolerancia a 40, 41 y 42 °C. El objetivo fue determinar la cinética de crecimiento potencialmente fermentadoras en el Hidrolizado del grano germinado del maíz jora. Volúmenes del hidrolizado fueron inoculadas, por separado, con las bacterias iniciadoras lácticas e incubadas a distintas temperaturas termotolerantes de 40, 41 y 42 °C. Se obtuvieron datos del crecimiento expresados en Log₁₀ Unidades Formadoras de colonias/mililitro (Log UFC/ml) durante 12 horas con iteraciones de 1 hora cada una. Los datos experimentales del crecimiento obtenidas para cada temperatura se plasmaron en graficas del crecimiento que permitieron obtener los parámetros del crecimiento experimental (parámetros observados); por otro lado, los datos observados fueron ajustados por los modelos primarios Gompertz y Baranyi-Roberts, cuyo desarrollo brindó los parámetros de crecimiento estadísticos (parámetros modelados) de cada uno de las cepas iniciadoras lácticas en los entornos de temperaturas experimentadas, utilizando el programa curvexpert 1,4 y DMfit del Combace, las comparaciones de los valores de los parámetros de crecimiento para cada temperaturas se realizaron mediante el estadístico ANOVA. Los resultados obtenidos destacan que el incremento de las temperatura disminuye el tiempo de la fase de latencia y el tiempo generacional y por otro lado incrementa la velocidad de crecimiento y en poca cuantía, los niveles logarítmicos de la población inicial. Los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts fueron validados a través de los índice matemáticos R², RMSE, Bf y Af. Conclusiones: Se determinaron los parámetros del crecimiento y cinéticos de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* por el método gráfico y por modelamiento determinando que ambos modelos pueden se útiles para ajustar los datos de bacterias iniciadoras lácticas cuando se utilice como sustrato el hidrolizado del grano germinado de maíz.

Palabras Claves: Microbiología predictiva, crecimiento bacterias ácido lácticas.

SUMMARY

The growth kinetics of starter bacteria were investigated: *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, potentially fermentative strains, which were cultivated in germinated maize hydrolyzate medium within a thermotolerance environment at 40, 41 and 42 °C. The objective was to determine the kinetics of potentially fermentative growth in the hydrolyzate of the germinated grain of jora corn. Volumes of the hydrolyzate were inoculated separately with the lactic starter bacteria and incubated at different thermotolerant temperatures of 40, 41 and 42 °C. Growth data expressed in Log₁₀ Colony Forming Units/milliliter (Log CFU/ml) were obtained for 12 hours with iterations of 1 hour each. The experimental growth data obtained for each temperature were recorded in growth graphs that allowed obtaining the experimental growth parameters (observed parameters); On the other hand, the observed data were adjusted by the primary Gompertz and Baranyi-Roberts models, whose development provided the statistical growth parameters (modeled parameters) of each of the lactic starter strains in the temperature environments experienced, using the curveexpert program. 1.4 and DMfit of the Combase, the comparisons of the values of the growth parameters for each temperature were made using the ANOVA statistic. The results obtained highlight that the increase in temperature decreases the time of the latency phase and the time generational and on the other hand increases the speed of growth and to a small extent, the logarithmic levels of the initial population. The Gompertz and Baranyi-Roberts models were validated through the mathematical indices R², RMSE, Bf and Af .

Conclusions: The growth and kinetic parameters of *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* were determined by the graphical method and by modeling, determining that both models can be useful to adjust the data of lactic starter bacteria when the hydrolyzate of the grain is used as a substrate. sprouted corn.

Keywords: Predictive microbiology, lactic acid bacteria growth.

INTRODUCCION

La innovación en tecnologías para la producción de alimentos vienen evolucionando modificando en forma física y química las matrices moleculares de los alimentos contribuyendo a que las materias primas alimentarias ofrezcan mejoras en las líneas de producción para asegurar la calidad de los mismos durante periodos prolongados recurriendo a técnicas de conservación utilizando microorganismos útiles conocidos como Iniciadores, que de acuerdo con sus características metabólicas otorgan mejoras en las características organolépticas, así como favorecer su vida comercial en condiciones de inocuidad.

Durante la germinación del grano seco del maíz la calidad de las proteínas se mejora gracias a la descomposición de las cadenas complejas de proteínas en aminoácidos libres y al aumento del contenido en aminoácidos esenciales (entre otros la lisina); en cuanto al contenido energético en los germinados de maíz es muy alto debido al contenido de almidón presente en el endospermo, el cual se transforma en maltosa que es más digestible, estas condiciones lo predispone para fermentarlos por actividad de bacterias lácticas.

Una alternativa de conservación es la fermentación láctica en donde ocurre la degradación de los azúcares, por los microorganismos empleados, cuya efectividad se relaciona con la formación de metabolitos, ácidos orgánicos, etanol, dióxido de carbono y bacteriocinas, logrando, muchas veces, modificar el estado inicial de las matrices del alimento, otorgando un valor agregado consistente en la inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos y del mismo modo con ciertos microorganismos contaminantes.

Controlar el proceso fermentativo láctico es controlar, de alguna forma, el proceso metabólico de las bacterias iniciadoras lácticas y lograr alimentos que no encierren peligros de tipo biológico, para ello se requiere de estudios experimentales de alto costo y tiempo, manejo de diferentes variables que ofrecen las matrices de los alimentos como el pH, actividad de agua,

temperatura, proporción de gases, composición química, etc.; para lo cual se recurre a utilizar modelos matemáticos que ofrecen resultados lógicos e interpretación biológica, que permiten asegurar la inocuidad de los productos.

Si bien, la microbiología predictiva es útil para el estudio de la inocuidad de los alimentos, tiempo de vida útil y también la optimización o desarrollo de los procesos de producción y comercialización; actualmente, la situación problemática de las fermentaciones de Hidrolizados de harinas geminadas, como la del maíz, es la carencia de un modelo matemático que describa sin sesgos y con mucha precisión el comportamiento de la dinámica y cinética del crecimiento de bacterias ácido lácticas iniciadoras, como *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* (SST) y *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* (LDB) durante la fermentación de hidrolizados.

El objetivo principal del presente proyecto fue establecer los parámetros del crecimiento y los cinéticos a través de periodos continuos de tiempo hasta cumplir trece iteraciones, momento en que se alcanzó su máxima expresión en un sustrato fermentable como el hidrolizado del grano germinado de maíz. Con los datos experimentales obtenidos se graficaron curvas de crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en ambientes de termotolerancia de 40. 41 y 42 °C y así obtener los parámetros de crecimiento N_0 , N_f , Tiempo de la fase Lag (λ), Velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}), Tiempo generacional (Tg), tiempo para alcanzar la velocidad máxima (M) y estado fisiológico inicial (h_0). Los resultados indican que el sustrato otorga condiciones nutricionales para sostener el crecimiento de bacterias lácticas con valores significativos; sin embargo, se evidencia que *Lactobacillus delbrueckii subsp* es más sensible a una temperatura de 42 °C.

Los datos experimentales de ambas cepas fueron ajustados por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts obteniendo los parámetros de crecimiento cinéticos estadísticos, antes mencionados. Ambos modelos tuvieron una bondad de ajuste con niveles de confianza (R^2) por encima de 0.98 que indica que los valores de

los parámetros de crecimiento mostrados por el modelo están muy próximos a los datos experimentales; en consecuencia describe el proceso fermentativo en el hidrolizado de grano germinado de Maíz jora con valores de sesgos (Bf) >1.00 y factor exactitud (Af) <1.00 ; concluyendo que el hidrolizado del grano germinado del maíz jora favorece el crecimiento de las bacteria iniciadoras *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; así mismo, sus parámetros de crecimiento se encuentran debidamente cuantificados y temporizados y que los modelos de Gompertz y Baranyi.Roberts después de su validación matemática confieren un alto grado de ajuste que permiten tener parámetros para mejorar el control del proceso fermentativo del hidrolizado de maíz jora.

Este trabajo forma parte de un proyecto que estudia el desarrollo de un novedoso proceso de fermentación de alimentos, basado en el uso de pseudo cereales como sustratos para bacterias ácido lácticas potencialmente probióticas.

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática.

Actualmente los procesos fermentativos cobran importancia y son prioritarios dentro de los procesos biotecnológicos, debido a que sus productos de valor y los desechos generados tienen interés industrial y tienen variada aplicación por las sociedades humanas. La técnica de fermentación de los hidrolizados de diversos tipos de cereales requiere mantener algunas condiciones intrínsecas y extrínsecas apropiadas para los organismos que se cultivan en ellas, como calidad del sustrato, biodisponibilidad de nutrientes, pH, temperatura, concentración de oxígeno y otros. Por otro lado, los equipos o sistemas empleados como los biorreactores o fermentadores deben presentar un entorno favorable para un elemento natural biológicamente activo, condiciones que muchas veces no se presentan cuando el proceso fermentativo se realiza en condiciones artesanales en donde no cuentan con la automatización por lo que se utilizan ciertos parámetros fisiológicos de los organismos fermentadores en

función del tiempo y así poder controlar el proceso fermentativo tratando de lograr altos índices de calidad y seguridad conforme al desarrollo industrial actual.

El uso de microorganismos vivos para lograr procesos fermentativos, sus comportamientos cinéticos muchas veces son poco conocidos y sus crecimientos no son lineales, pobremente conocidas y en general se encuentran en una situación cuyas características experimentales y estadísticas están evolucionando a lo largo del tiempo. “La reproducibilidad de los experimentos es incierta y los parámetros del modelo no permanecen constantes sobre largos períodos debido a las variaciones metabólicas y modificaciones fisiológicas” (Pérez Correa y Agosin, 2012).

El propósito de modelar el proceso fermentativo del hidrolizado de grano germinado de maíz jora se enfoca en poder lograr la descripción de los fenómenos involucrados y de esta forma predecir el efecto de las variaciones de los diferentes parámetros que explican el comportamiento del proceso. Sin embargo, la cinética enzimática de las células bacterianas es el resultado de muchas interacciones de reacciones bioquímicas y fenómenos de membrana y transporte intracelular, que se desarrollan en sistemas de múltiples fases y componentes. Adicionalmente, debe considerarse la dinámica del proceso, ya que el agente fermentador es una mezcla heterogénea de células en diferentes estadios de su ciclo celular, que cambia continuamente por efecto de las condiciones físicas-químicas y en función del tiempo. Por esta complejidad, es muy difícil lograr un modelamiento matemático preciso de la cinética de crecimiento. Para simplificarlo, se consideran diferentes enfoques del proceso fermentativo, como es el caso del crecimiento celular y algunas suposiciones para poder realizar simplificaciones que lo faciliten.

Existen herramientas multimedia para la operatividad de la microbiología predictiva integradas en programas computacionales que ofrecen diferentes modelos matemáticos terciarios que son utilizados para describir el crecimiento

bacteriano relacionando las variables o condiciones naturales de las matrices de los alimentos, como es el caso del PMP, Combase, SSP y otros, en los cuales se encuentran modelos matemáticos como el de Gompertz y Baranyi-Roberts.

La finalidad de modelar el proceso fermentativo en el hidrolizado de grano germinado de maíz jora es poder lograr la descripción de los fenómenos involucrados en dicho proceso y así poder predecir el efecto de las variaciones de los diferentes parámetros que explican el comportamiento del mismo, sin embargo, se debe considerar la cinética enzimática de las células bacterianas que generan una variedad de interacciones de reacciones bioquímicas, fenómenos de membrana y transporte intracelular, que se desarrollan en sistemas de múltiples etapas y componentes. También es necesario incorporar a la dinámica del proceso el agente fermentador que es una mezcla heterogénea de células en diferentes estadios de su ciclo celular, que esta cambiando constantemente por efecto de las condiciones físicas-químicas y en función del tiempo. Lo expuesto hace que el modelamiento matemático sea muy preciso de la cinética del crecimiento celular y que las predicciones que se puedan hacer requieren incorporar en los modelos variables que representen las circunstancias fisiológicas de las células bacterianas, como es el caso de estado fisiológico (h_0).

Existen herramientas multimedia para la operatividad de la microbiología predictiva integradas en programas computacionales que ofrecen diferentes modelos matemáticos terciarios que son utilizados para describir el crecimiento bacteriano relacionando las variables o condiciones naturales de las matrices de los alimentos, como es el caso del PMP, Combase, SSP y otros, en los cuales se encuentran modelos matemáticos como el de Gompertz y Baranyi-Roberts.

Los microorganismos más utilizados para la elaborar productos fermentados son las levaduras debido a que son microorganismos de fácil manipulación, estabilidad genética, recuperables, facilidad para su cultivo, tolerantes a sus productos finales. Sin embargo, actualmente se están aplicando tratamientos diversos para modificar las matrices alimentarias y de esta forma aportar

nutrientes biodisponibles para uso de las bacterias ácido lácticas con el propósito de fermentar hidrolizados de granos germinados de cereales. Estas nuevas condiciones de cultivo pueden limitar a otros microorganismos alterantes o patógenos como las bacterias ácido lácticas, que tiene capacidad de utilizar elevadas concentraciones de azúcares simples y tiene una alta viabilidad celular.

En relación con los factores extrínsecos tenemos a la temperatura el cual es un parámetro importante de la fermentación, comportándose como un activador metabólico, en el cultivo de muchos microorganismos; el cambio o variación de la temperatura por uno dos grados centígrados puede modificar sensiblemente el crecimiento y la productividad de la biosíntesis celular. La temperatura de cultivo se recomienda controlarla con una precisión no menor a $\pm 0,5$ °C.

Del análisis anterior resalta la necesidad de contar con un modelo matemático que describa el comportamiento de la dinámica y cinética del proceso de fermentación con interpretación lógica matemática y biológica para los hidrolizados de cereales andinos.

El estudio de la fermentación del grano de maíz jora cobra importancia actual debido a la existencia, en su contenido, de diversos tipos de microorganismos que interactúan con la complejidad molecular del sustrato. Los estudios realizados mayormente están dirigidos a las características físico químicas y recientemente se están dirigido al estudio del comportamiento de los microorganismos desde el punto de vista metabólico y calidad de sus productos. Además, las fermentaciones involucran a células de levaduras. Actualmente se viene estudiando el proceso de fermentación del maíz jora considerando la participación de las bacterias ácido lácticas que participan en forma sinérgica con las levaduras otorgando condiciones positivas de la calidad al producto final y en otro casos alterándolas.

1.2. Formulación del problema

Problema general:

¿De qué forma se puede determinar el comportamiento del crecimiento de las Bacterias Iniciadoras Lácticas en el hidrolizado del grano germinado del maíz jora?

Problemas específicos

- ¿Cuáles son las condiciones físico-químicas y microbiológicas del hidrolizado del grano germinado que favorezca el crecimiento de las bacterias iniciadoras en el hidrolizado del grano germinado del maíz jora?
- ¿De qué manera se pueden establecer los parámetros de crecimiento y cinéticos de las bacterias lácticas iniciadoras durante la fermentación del hidrolizado del maíz jora a temperaturas estáticas?
- ¿Cuál es el valor utilitario de los modelos matemáticos predictivos en procesos fermentativos en el hidrolizado del maíz jora con inóculos de bacterias iniciadoras lácticas?

1.3. Objetivos

Objetivo General

- Determinar los Parámetros del crecimiento y cinéticos de bacterias iniciadoras lácticas en el hidrolizado del grano del maíz jora utilizando modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts

Objetivos específicos

- Caracterizar los parámetros físico-químicos y microbiológicos del hidrolizado del grano germinado en función a la norma NTS N°071-MINSA/DIGESA-V,01 para asegurar el proceso de fermentación a temperaturas estáticas.

- Determinar los parámetros del crecimiento y cinéticos de la bacterias iniciadoras lácticas en el hidrolizado de grano de maíz jora mediante el modelo matemático predictivo Gompertz y Baranyi-Roberts a temperaturas estáticas de 40°C, 41°C y 42°C.
- Determinar la validez de los modelos matemáticos predictivos Gompertz y Baranyi-Roberts para su utilidad en el proceso fermentativos del hidrolizado del maíz jora utilizando bacterias lácticas iniciadores a temperaturas estáticas.

1.4. Limitantes de la investigación

1.4.1. Teórica

El presente estudio considera que existen una gran variedad de teorías y métodos para la medición del crecimiento microbiano, pero no existe un solo procedimiento simple aplicable a todas las situaciones. La elección del método depende del objetivo de las mediciones y de la utilidad de las técnicas disponibles.

Las teorías que abordan la fermentación comercial destacan el uso de los mecanismos para fomentar el crecimiento y productos de formación que son tan complejos que requiere el uso de métodos directos para la estimación de la masa celular o el número de células y no siempre son muy utilizados, por lo tanto se hace necesario un medio de estimación indirecta de la masa celular. Sin embargo, no importa que método sea usado, pero se requiere un considerable esmero en la interpretación de resultados. En el caso de los procesos biológicos queda justificado el uso de un estimador, puesto medir la cantidad de biomasa en un cultivo es, técnicamente, muy difícil y costoso. Acevedo y García (2016)

Las teorías de la microbiología predictiva utilizan modelos matemáticos que tienen claramente una estructura de utilidad para el estudio y que sus variables permitan describir el proceso fermentativo con acierto y precisión para ser útiles. A partir del modelo matemático que representa la dinámica del proceso, se propone una regla de control para dicho modelo del tipo retroalimentación

inversa, dado que esta regla depende de un estado no medido del proceso, se introducirán variables que corrijan las observaciones y por último, se presentarán algunas simulaciones. (Castillo, 1994).

Los conceptos de las matrices de los alimentos están enfocados a su presentación molecular y de qué manera sirven para permitir el crecimiento de microorganismos. Este aspecto es considerado en este estudio el cual se realizó en el hidrolizado de grano de maíz jora considerando una carga microbiana considerados como principales agentes fermentadores.

1.4.2. Temporal

Los experimentos del crecimiento de las bacterias iniciadoras lácticas se realizarán desde un tiempo inicial hasta un tiempo que en el cual con la población máxima generada y se ejecutarán en la medida del tiempo en el cual se logren obtener los parámetros del crecimiento.

1.4.3. Espacial

El estudio se realizó en el laboratorio de Ciencias naturales de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional del Callao, que cuenta con los equipos para realizar pruebas microbiológicas y equipos de computación para desarrollar los modelos matemático para estimar los parámetros del crecimiento de las bacterias Iniciadoras lácticas.

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes Internacionales

El almidón es el principal constituyente del maíz (*Zea mays* L.) y las propiedades fisicoquímicas y funcionales de este polisacárido están estrechamente relacionadas con su estructura. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. Estas moléculas se organizan en anillos concéntricos para originar la estructura granular. La distribución de la amilosa

dentro de los anillos concéntricos difiere entre el centro y la periferia del gránulo, ya que sólo ocupa los lugares disponibles que deja la amilopectina después de sintetizarse (Tetlow *et al.*, 2004).

La hidrólisis del almidón es el paso inicial para obtener los azúcares que se utilizan en la fermentación. Este proceso puede realizarse por vía ácida o enzimática, ésta última consiste en dos etapas: licuefacción y sacarificación (Monsalve y col., 2006).

La hidrólisis ácida de los polisacáridos de los cereales es un proceso que se lleva a cabo por la acción de un ácido fuerte. Este método es el más utilizado como etapa de pretratamiento para obtener azúcares fermentables, siendo su eficiencia muy alta; sin embargo, se puede generar inhibidores de tipo fenólico cuando la condición es de pH bajo y esta situación puede inhibir o anular las condiciones de supervivencia de microorganismos como bacterias, mohos o levaduras. (Huapaya, 2014)

La fermentación es el más simple de los procesos biológicos que ocurre en la naturaleza y puede definirse como un proceso metabólico generador de energía en el cual tanto los donadores como los aceptores de electrones son compuestos orgánicos. La fermentación exige ambientes anaeróbicos, en la cual la sustancia orgánica se degrada en compuestos intermedios que actúan de donadores y aceptores de electrones (proceso de óxido-reducción) con liberación de energía, en estas condiciones los carbohidratos son muy buenos sustratos para los procesos fermentativos, sin descartar las fermentaciones de los ácidos orgánicos, aminoácidos, piridinas y pirimidinas. (Olivares y Gaviria, 2011).

Un cultivo iniciador se puede definir como una preparación que contiene un elevado número de células de uno o más microorganismos que se añaden a una materia prima alimentaria cruda o pasteurizada (en nuestro caso, la leche) para iniciar, acelerar y dirigir su rápida fermentación (Leroy y De Vuyst, 2004).

El uso de la tecnología de cultivos iniciadores es muy importante en la contribución a la seguridad e higiene de los alimentos. Es conocido que las

bacterias ácido lácticas producen una serie de sustancias antagonistas de otros grupos microbianos, que incluye productos finales del metabolismo como son ácidos orgánicos (láctico, acético y propiónico), peróxido de hidrógeno y diacetilo; así como otras sustancias de naturaleza antibiótica denominadas bacteriocinas (Tavera y Martínez, 2016, Gonzales-Martínez, 2003). Por lo que algunos investigadores como Speck (1972), apuntaron la posibilidad de conservar los alimentos mediante la adición de cultivos iniciadores o por la incorporación de los metabolitos antimicrobianos producidos por las bacterias lácticas.

Otra experimentación con iniciadores se observó cuando, se inocularon cuatro cultivos iniciadores en una mezcla de agua y pan a una concentración 6-7ufc/g que se fermentó a 38°C durante 24 horas. Se determinaron, los recuentos microbianos, el pH, la acidez cada dos horas durante las primeras 10 horas, a las 24 horas del proceso de fermentación y tras un periodo de almacenamiento a 4°C durante 15 días. A partir de los valores obtenidos se calcularon diversos parámetros de crecimiento microbiano como $V_{m\acute{a}x}$, $\mu_{m\acute{a}x}$ y los tiempos necesarios para alcanzar el pH 5,0 y 4,5. Entre los cultivos que sólo presentaban un tipo de bacterias, aquel que contenía *Lactobacillus rhamnosus* fue el que mostró una velocidad de acidificación más alta ($0,36\pm 0,04$) y una mejor viabilidad. El cultivo, que contenía bifidobacterias, mostró una reducción de 3 Log/g durante el almacenamiento a 4°C. (Suarez, 2021)

Durante la fermentación una rápida producción de ácido permite controlar los posibles microorganismos contaminantes presentes en una materia prima y las propiedades organolépticas (textura, sabor y aroma) de los productos fermentados dependen en gran medida de la velocidad de acidificación. Además, a nivel industrial las características organolépticas del producto final sean constantes. Esto ha determinado que a nivel industrial la fermentación esté dirigida por uno o más microorganismos perfectamente caracterizados que forman parte de un cultivo iniciador (starter culture).

Los cultivos iniciadores para la elaboración de productos lácteos fermentados generalmente están constituidos por Bacterias ácido lácticas (BAL) seleccionadas por su capacidad para proliferar rápidamente en las primeras horas del proceso tecnológico; deben, además, producir una cantidad abundante de ácido láctico para disminuir el pH, que es su función primordial, y un correcto sabor y aroma en el producto (Hassan y Frank, 2001).

Son varios los criterios para clasificar los cultivos iniciadores, los cuales consideran los tecnológicos como la composición de bacterias, actividad proteolítica, velocidad de producción de ácidos, reducción de compuestos aromáticos, temperatura de crecimiento, siendo esta última la más utilizada.

El rango de temperatura óptima de crecimiento para los cultivos termófilos utilizados en la industria láctea requiere temperaturas en el rango 40-45°C, aunque pueden sobrevivir a temperaturas superiores a los 55°C, y contienen especies de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus*; el más corriente es el cultivo mixto de *Str. thermophilus* y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* empleado para la elaboración de yogur (Hill y Kethireddipalli, 2013).

Rojas, Montañó y Bastidas, (2015) determinaron las condiciones adecuadas de crecimiento del *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* para la producción de ácido láctico. Utilizaron como sustrato lactosuero. Evaluaron cada ensayo donde el primer y tercer tratamiento estaban compuestos por 2×10^6 de UFC/mL a 42 °C y 40 °C respectivamente y los tratamientos 2 y 4 contaban con 4 millones de UFC/mL, pero a 42 y 40 °C respectivamente. Obtuvieron ácido láctico con 78,0% de pureza (36,7 g/L), siendo los mejores resultados a temperaturas 40 °C donde se aprovechó la actividad de las bacterias *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* y el enriquecimiento de subproducto lácteo previo a la fermentación con fosfato de amonio y extracto de levadura. Por lo que concluyen que es necesario suplementar el lactosuero con el fin de aportar a las bacterias los nutrientes del que carece el lactosuero y que son fundamentales para su crecimiento y desarrollo.

Calvopiña y Manotoa (2020), estudiaron la fermentación láctica de lactosuero y solución de almidón de papa (sustratos) en presencia de bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus*. Evaluaron la producción de ácido láctico expresado en % acidez titulable. Se concluyó que el lactosuero suplementado con lactosa, volumen de bacteria activada de 100µL de *Lactobacillus bulgaricus* y tiempo de fermentación de 24 horas se obtuvo un valor promedio de $6,91 \pm 0,3769\%$ de acidez titulable y es sustrato con óptimas condiciones para la obtención de ácido láctico.

Las bacterias ácido lácticas tienen posibilidades de elaborar moléculas en condiciones especiales que les permite sobrevivir en sustratos complejos, es el caso de los exopolisacáridos (EPS) que tiene importancia para la industria alimentarias. Armoa.(2020), determinó que la cepa *L. plantarum* ATCC 8014 produjo EPS utilizando hidrolizado de tusa de maíz (1,31 g/L), la temperatura de producción óptima en el hidrolizado fue de 30°C pH 6.5 y 48 horas de incubación y a 37°C, pH 6.5 y 48 horas de incubación fue de 1,63 g/L, mientras que la producción de EPS por *L. rhamnosus* a la temperatura óptima de producción en el hidrolizado fue de 1,63 g/L a 37°C, pH 6,5 y 48 horas de incubación El carbohidrato total de los EPS obtenidos en las condiciones mencionadas fueron de 83,18% y 80,73% para *L. rhamnosus* y *L. plantarum* ATCC 8014 respectivamente.

La buena adaptación de las bacterias del ácido láctico en los cereales sugiere que el uso de una cepa potencialmente probiótica como cultivo iniciador en un sustrato de cereal produciría un alimento fermentado con características definidas y consistentes y con propiedades promotoras de la salud. Se deben considerar varios aspectos tecnológicos en el diseño de un proceso de fermentación de alimentos como la composición y el procesamiento de la materia prima, la capacidad de crecimiento y la productividad del cultivo iniciador y la estabilidad del producto final durante el almacenamiento (De Vuyst 2000).

Se han estudiado varios sustratos para el desarrollo de acidez en extractos vegetales, en especial azúcares, siendo los más sobresalientes: la sacarosa, la glucosa, la fructosa y la lactosa. A más de ello, estudios previos realizados en extracto hidrosoluble de maní muestran que el desarrollo de bacterias ácido lácticas también depende del tipo de cepa (Bucker y otros, 1979). Por lo que además de la adición de azúcares (sacarosa y fructosa), se requiere el uso de bacterias ácido lácticas diferentes a las empleadas en el yogur tradicional (Martensson y otros, 2002). Es conocido que los productos obtenidos a partir de los extractos vegetales presentan una gran inestabilidad y una subsecuente separación de fases y precipitación (Bucker y otros, 1979).

En microbiología alimentaria, el modelamiento matemático se ha aplicado principalmente para predecir el crecimiento o la inactivación del deterioro de bacterias y patógenos transmitidos por los alimentos (Charalampopoulos et al., 2009; Sharma y Mishra, 2014), aunque existen estudios en los que se evalúa la cinética de producción de un metabolito utilizando modelos no estructurados (Pan et al., 2016).

2.1.2. Antecedentes Nacionales

A nivel industrial la hidrólisis se conoce como el proceso unitario por el cual una molécula es descompuesta a una condición de monómero por la presencia de agua, y que esta se encuentre a una temperatura determinada o la adición de alguna enzima o ácido, debido a que los lazos entre los átomos necesitan algún catalizador para lograr su cambio total. Es el caso de la glucosa obtenida por hidrólisis del almidón, la cual reacciona enzimáticamente para convertirse en fructosa (Carey, F. 2013).

Desde el punto de vista molecular la hidrólisis es un proceso esencial para descomponer el almidón en glucosa y sacarosa, los cuales son azúcares que se pueden fermentar directamente y, para obtener un mejor rendimiento, los granos amiláceos deben encontrarse gelatinizados, es decir, se deben hervir (hidrolizar)

luego de haberlos dejado reposando en agua un cierto tiempo. (Bernal Bustos et al., 2017)

Es importante reconocer que las posibilidades que tienen las levaduras y/o bacterias ácido lácticas para su crecimiento son los nutrientes que le ofrecen los sustratos y la temperatura. En cuanto se refiere a las condiciones como sustrato que ofrece el maíz jora, Ponte y Urbina (2010) elaboró una bebida fermentada en base harina de trigo, garbanzo y maíz de jora (*Zea mays* L.). El análisis proximal realizado al maíz joras reporta los valores en proteínas de 10.52 %, humedad 13.5 %, grasa 3.7 %, carbohidratos 73.4 % y cenizas 1.7 %. La bebida disminuyó su pH, fluctuando en el inicio de la fermentación con 4.27- 4.80 y finalizando con 3.11- 3.44. La acidez (expresado en g/l ácido láctico) registra un aumento de este parámetro de 0.08-0.93%. Estos parámetros permiten cubrir el propósito de obtener la bebida fermentada.

Cacsire y Ayme (2015), estudiaron la responsabilidad de las bacterias ácido lácticas en los procesos fermentativos, por tal motivo la falta de control hace que los productos que se obtienen principalmente son lactatos, acetatos, etanol y dióxido de carbono. Para detener la fermentación es necesario destruir estas bacterias, mediante tratamientos térmicos, para tal fin se sometió a la chicha de jora a diferentes perfiles térmicos (46, 48, 50, 52, 53, 55, 60, 65 y 70 °C) y a cada una de ellas a diferentes tiempos de exposición (0, 5, 10, 15 y 20 minutos). Se encontró que el tiempo de muerte térmica de las bacterias ácido lácticas en la chicha de jora es de 15 minutos expuesto a 53°C.

Las bacterias ácido lácticas tienen capacidad para utilizar sustratos amiláceos diversos, sin embargo, su propia naturaleza puede condicionar su crecimiento. Fernández y Romero (2020) demostraron que en la elaboración del Kotosh, alimento a base de papa, el número de colonias de bacterias ácido lácticas durante su fermentación el tratamiento de papa + agua en los 5 primeros días fue de 9×10^5 ufc/g, para los 30 días aumento a 74×10^5 ufc/g; mientras que, para papa + agua + fuente de carbono (FC): 2,5 % + fuente de nitrógeno (FN):

1,5 g/L el número de colonias en los 5 días fue de 29×10^4 ufc/g aumentando de manera significativa a los 30 días a 19×10^6 ufc/g; y para el tratamiento papa sin cáscara + agua + FC: 2,5 % + FN: 1,5 g/L) en los 5 días fue de 11×10^3 ufc/g y para los 30 días fue de 73×10^5 ufc/g. en este último tratamiento se observa que el crecimiento es bajo en comparación de los otros tratamientos, debido a que se le quitó la cáscara y con él la carga microbiana.

Taipe (2012), evaluó hidrolizados de soya, quinua y cebada por separado como sustrato más favorable para la viabilidad del crecimiento del probiótico *Lb. Acidophilus*. Los resultados mostraron que su crecimiento en hidrolizado de soya tuvo tiempo de latencia de 5.03 horas, velocidad máxima de crecimiento 0.40 Log UFC/ml/h y tiempo generacional 1.71 horas; mientras que, los obtenidos en hidrolizados de quinua el tiempo de latencia fue de 6.08 horas, velocidad de crecimiento 0.37UFC/ml/h, tiempo generacional 1.84 horas y el hidrolizado de cebada el tiempo de latencia fue de 7.02 horas, velocidad de crecimiento 0.33 Log UFC/ml/h y tiempo de generación 2.08 horas. Comparativamente, el hidrolizado de soya es el mejor sustrato para el crecimiento de *Lb. Acidophyllus*.

Puertas (2018), evaluó las concentraciones de almidón de maíz y el tiempo de hidrólisis acida en el rendimiento de etanol. Determinó que en el proceso de hidrólisis el mayor rendimiento en la producción de etanol fue de 78.1% con una concentración de almidón de 35% y un tiempo de hidrólisis de 35 min. Además, se obtuvo un menor rendimiento de 54.6 % de producción de etanol a partir de 40% de almidón y un tiempo de hidrólisis de 15 min. En el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo un $R^2=96.94$ y el R ajustado de 94.39, lo que significa no hay mucha variación, concluyendo que estadísticamente hay una significativa y predictiva concordancia en los valores experimentales y los previstos en el modelo.

Guamán (2022), “realizó un proceso de hidrólisis ácida del almidón del maíz chulpi (*Zea mays sacchara*), para convertirlo en azúcares fermentables, seguido por el proceso de fermentación con *Lactobacillus rudii* y Fermento R-703 a 30 y

40 °C, pH constante de $6,5 \pm 0,03$ y 120 horas. El producto de fermentación fue destilado al vacío a 61 °C para obtener finalmente un máximo de 2,27 % de ácido láctico utilizando *Lactobacillus rudii* a 40 °C, el pH final fue de 5,95. El menor rendimiento se obtuvo con el Fermento R-703 a 30 °C con una concentración de ácido láctico fue de 0,38% y pH de 4,7. A partir de los resultados obtenidos se concluye que el ácido láctico obtenido por *Lactobacillus rudii* y Fermento R-703 a 40 °C y del *Lactobacillus rudii* a 30 °C, se pueden utilizar en productos cosméticos hidratantes.

Rebaza (2019) Aisló e identificó bacterias ácido lácticas provenientes de “Chicha de Siete Semillas” y sus resultados preliminares muestran una gran variación en el recuento de bacterias viables entre 6 productores, oscilando entre 7.7×10^4 a 1.1×10^8 ufc/ml, así como la presencia de un alto número de aislados (aproximadamente 70) de bacterias ácido lácticas. La identificación de los aislados muestra la presencia de especies de *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Enterococcus*.

Actualmente se están estudiando los efectos de diferentes condiciones de procesamiento de cereales y pseudocereales andinos tratando de obtener bebidas fermentadas incorporando bacterias ácido lácticas. Sin embargo, se observa que los sustitutos vegetales muchas veces tienen poca aceptación sensorial y bajo esta óptica existen propuestas de utilizar la tecnología de la fermentación que puede solucionar el problema.

Chila (2014), determinó la influencia de la temperatura, porcentaje de grasa y sólidos no grasos sobre el crecimiento cinético de las bacterias ácido lácticas del yogur (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*) y así mismo, los parámetros fisicoquímicos de pH y acidez durante el proceso de fermentación de la leche a temperaturas de 37°C, 40°C Y 43°C; determinándose las UFC/ml, pH y acidez titulable. Concluyendo que los valores finales de pH son 4.6 a 4.8; y la acidez de mayor valor fue 0.9 % de ácido láctico, a temperatura de 37° C.

Chilo (2020) elaboró una bebida fermentada utilizando bacterias ácido lácticas teniendo como sustrato fermentable la quinua. El producto final tuvo un valor de pH 4.2, acidez 0.308% y 10°Bx. El producto seleccionado fue evaluado por 70 consumidores, comparando una bebida fermentada de quinua sin endulzar, una bebida fermentada de quinua endulzada y una bebida fermentada comercial de arroz. El 83% de los consumidores expresó la aceptación de la bebida de quinua endulzada.

2.2. Marco

2. 2.1 Teórico:

El usos de granos germinados no siempre son fermentables por lo que requieren de muchos procedimientos preliminares para ofrecer suficientes sustratos a los microorganismos, es por ello por lo que es necesario que se dé una serie de condiciones ambientales favorables en el proceso de germinación como un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración aerobia y, una temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos. Sin embargo, la eficiencia del aprovechamiento no es de un 100% debido a muchos factores como la disponibilidad del sustrato, factores de crecimiento y compuestos antagónicos presentes en el sustrato. (Castillejo, 2014; Arias, 1991).

A si mismo las teorías del malteado o grano germinado según Reyna et al. (2004), indican que es un proceso bioquímico donde ocurren cambios en las características fisicoquímicas del grano en el cual se desarrollan y activan sus sistemas enzimáticos, y modifican sus reservas alimenticias de manera que puedan ser hidrolizadas durante su maceración. Es por ello que, en la fase de hidrolisis de los carbohidratos del sustrato según Durruty, (2013) forman compuestos más simples como la glucosa siendo clave para la obtención de ácido durante el proceso de fermentación.

Las teorías de fermentación pueden conducir a las siguientes características según (Orozco, 2011) donde utilizo métodos biológicos para el proceso de fermentación, conocido como procesos aerobio (se realiza en presencia de

oxígeno) y anaerobio (en ausencia de oxígeno), siendo el último, uno de los más usados para la producción de ácido láctico en laboratorio, en este se usan bacterias ácido lácticas, como Lactobacilos y estreptococos, entre otros, los cuales pertenecen a los Bacilos Gram positivos (Orozco, 2011).

Un método común consiste en someter los sustratos, en combinación con la cepa apropiada, a medios ácidos, con temperatura de 40°C y tiempo de fermentación entre 3 a 4 días, tras los cuales, los microorganismos consumen eficientemente la glucosa para obtener energía, arrojando como subproducto ácido láctico. Finalmente, el ácido se filtra y se destila para concentrar el ácido. De lo descrito anteriormente se debe destacar que las fases de crecimiento de mayor interés en alimentos corresponden a las tres primeras etapas (adaptación, exponencial y estacionaria), ya que es en ellas donde ocurren los mayores problemas microbiológicos (producción de metabolitos importantes cambios en las características de los alimentos, producción de toxinas, etc.). Tomando esas tres fases de la curva, el crecimiento presenta una forma sigmoideal, de allí que varios modelos sean desarrollados para ajustarse a dicha forma (Castro et al., 2008).

La hidrólisis ácida es un proceso en el que un ácido prótico se utiliza para catalizar la escisión de un enlace químico a través de una reacción de sustitución nucleófila, con la adición de agua. Un ejemplo de este tipo de reacción es la conversión de celulosa o de almidón en glucosa. Para el caso de los ésteres y amidas, se puede definir reacción de sustitución nucleofílica de acilo. La hidrólisis ácida de los lignocelulósicos ha sido la tecnología más usada para la obtención de azúcares reductores (fermentables), que posteriormente son convertidos a bioetanol. A medida que actúa el ácido, el peso molecular y la viscosidad de los productos decrecen y el poder reductor aumenta (Domínguez et al, 2011)

Procesos de Hidrólisis ácida de Almidón de Maíz consta de las siguientes etapas: Gelatinización: Es el proceso donde los gránulos de almidón que son insolubles en agua fría debido a que su estructura es altamente organizada, se calientan (60-70°C) y empieza un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas que son menos organizadas y las más accesibles. A

medida que se incrementa la temperatura, se retiene más agua y el gránulo empieza a hincharse y aumentar de volumen. Al llegar a cierta temperatura, los gránulos alcanzan un volumen máximo y pierde tanto su patrón de difracción de rayos X como la birrefringencia. Al producirse el hinchamiento de los gránulos, hay también una extracción de la amilosa. Esta amilosa liberada queda en dispersión coloidal donde los gránulos intactos están en suspensión. Si se continúa administrando calor a los gránulos hinchados, estos se romperán parcialmente y la amilosa y amilopectina se dispersarán en el seno de la disolución. Al final de este proceso se genera una pasta o gel en la que existen cadenas de amilosa altamente hidratadas que rodean a los agregados, también hidratados, de los restos de los gránulos. (Reyna et al, 2004).

Sacarificación: En esta etapa se produce la liberación de azúcares simples que provienen del material lignocelulósicos degradado por enzimas específicas para este propósito. Las enzimas involucradas en este proceso son principalmente las endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasas, que trabajan sinérgicamente en la liberación de glucosa. Las endoglucanasas atacan sitios internos de las regiones de baja cristalinidad de la fibra de celulosa para transformarla en cadenas de extremos libres. Las exoglucanasas atacan los extremos libres, removiendo unidades de moléculas de celobiosa, las cuales son transformadas en glucosa por la acción de las β -glucosidasas. (Reyna et al, 2004).

Licuefacción: En este proceso, la solución de alta concentración de almidón, hasta un 30 %, es calentada para gelatinizarlo, es decir para romper puentes de hidrógeno de las regiones cristalinas y conseguir un hinchamiento de los gránulos de almidón por absorción de agua, estado en el que se tornan susceptibles el ataque mecánico químico y biológico. (Quintero, et al, 1998).

El ámbito teórico para este estudio también incluye la fermentación, el cual es un proceso catabólico, es decir, se rompe una molécula en componentes más simples. Por ejemplo, los productos finales de la degradación de la glucosa (glucólisis) pueden ser ácido láctico ($\text{CH}_3\text{CHCOOH-OH}$) o alcohol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-OH}$), bióxido de carbono (CO_2) y energía química.

Como técnica, la fermentación se desarrolló para conservar los alimentos con un bajo requerimiento energético anterior al desarrollo de otras técnicas de conservación como la refrigeración, congelación y enlatado. Los ejemplos más extendidos de esta han sido el uso de bacterias del ácido láctico para reducir el pH y el empleo de levaduras para efectuar fermentaciones alcohólicas con el fin de obtener alimentos más nutritivos o digeribles, más seguros o modificar sus perfiles sensoriales (Bamforth, 2008). En un alimento fermentado, el microorganismo involucrado es fundamental. De este depende la naturaleza del producto obtenido y sus características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales finales. (Okafor, 2007).

La teorías del metabolismo bacteriano se encuentran en franca observación debido a que cada grupo bacteriano está asociado con otros conformando una comunidad metabólica y dentro de ello encontramos la fermentación láctica, considerada como una ruta para el metabolismo del piruvato (continuación de la glucólisis) es su reducción al lactato a través de la fermentación láctica. La glucólisis necesita de glucosa y de la coenzima NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleótido) para llevarse a cabo, y cuando no hay oxígeno, el NADH no puede ser reoxidado a NAD⁺ (y se detiene la glucólisis), siendo este último el aceptor de electrones imprescindible para la oxidación del piruvato. En estas condiciones el piruvato se reduce a lactato, aceptando los electrones del NADH y regenerando así el NAD⁺ necesario para continuar la glucólisis y obtener energía (ATP's). Este tipo de fermentación es responsable de la elaboración de productos lácteos acidificados ya que el ácido láctico tiene excelentes propiedades conservantes de los alimentos. (Contreras, 2014)

El bioproceso de la fermentación láctica es llevado por Bacterias Ácido Lácticas (BAL) donde la energía celular se deriva de la fermentación de carbohidratos para producir ácido láctico principalmente. Para ello, llevan a cabo dos rutas metabólicas diferentes: fermentación homoláctica y heteroláctica. En la ruta homofermentativa se produce lactato como producto mayoritario a partir de la degradación de la glucosa siguiendo la vía glucolítica Emden-Meyerhof Parnas (EMP), mientras que la fermentación heteroláctica se caracteriza por producir

cantidades aproximadamente equimolares de lactato, etanol/acetato, y dióxido de carbono a partir de glucosa por la vía 6-fosfogluconato/Fosfocetolasa (Adams & Moss, 2000; Beristain-Bauza et al., 2012)

Las bacterias ácido-lácticas se caracterizan por generar un efecto inhibitorio a otros microorganismos y esta es la base para mantener la calidad y seguridad de gran variedad de productos alimenticios. Los principales factores que contribuyen a esta inhibición son: bajo pH y producción de bacteriocinas, etanol y diacetilo (Adams & Moss, 2000; Beristain-Bauza et al., 2012)

Todos los cultivos con los que inician un proceso fermentativo de características benéficas o deseables, se denominan cultivos iniciadores o starter. Un cultivo iniciador consiste en una especie o combinaciones de especies microbianas que una vez adicionados a una matriz alimentaria, originan un proceso fermentativo determinado con baja producción de metabolitos indeseados, con un resultado final que se manifiesta en el cambio de textura, color y flavor del producto final, incrementando su poder de conservación y en ocasiones efectos benéficos para la salud del consumidor (Cabeza, s. f.)

Los cultivos estárter han sido objeto de estudio y desarrollo durante los últimos 40 años con el fin de reducir el tiempo de fermentación, asegurando un contenido residual bajo en nitratos y nitritos en los productos, y contribuyen con el establecimiento de las características organolépticas finales (González-Fernández y col., 2006).

Un cultivo estárter consiste en una especie o combinación de especies microbianas que una vez adicionados a un producto originan un conjunto de transformaciones en los componentes básicos (glúcidos–proteínas–lípidos) con un resultado final que se manifiesta en el cambio de la textura, color y flavor del producto final, incrementando su poder de conservación y en ocasiones aportan efectos benéficos para la salud del consumidor –probióticos- (figura 1). Los microorganismos empleados como cultivos estárter pueden ser bacterias,

levaduras y mohos individualmente o unamezcla de ellos (bacteria-bacteria; bacteria-levadura; bacteria-moho; moho-moho; moho-levadura;levadura-levadura). (Leroy y col., 2006)

Parámetros cinéticos de crecimiento microbiano. Los modelos cinéticos estiman la respuesta de crecimiento específica con respecto a diferentes variables, como la concentración gaseosa, el potencial de óxido-reducción, la humedad relativa, el contenido de nutrientes y propiedades antimicrobianas, o variables ambientales como la temperatura, el pH o la aw. (Garre Pérez et al., 2016). El crecimiento celular y la evaluación de parámetros cinéticos para monitorear el crecimiento celular se puede realizar diariamente mediante la medición de la concentración celular por triplicado, determinada por la densidad óptica del cultivo, utilizando una longitud de onda de 670 nm en un espectrofotómetro, por conteo celular (células/ml) o por peso seco de biomasa (gr) (De Mendonça et al., 2018). Son las herramientas básicas para escalar los procesos biotecnológicos evaluados en de laboratorio, puesto que permiten predecir el desarrollo de la fermentación y evaluar los rendimientos y las productividades en los procesos (Duarte, 1998). Los más importantes son: La velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}), la constante de afinidad por el sustrato (K_s) y los coeficientes de rendimiento (Y_{xs} , Y_{xp} , etc).

Modelo microbiológico predictivo. Es una expresión matemática que describe el crecimiento, la supervivencia, la inactivación o proceso bioquímico de un microorganismo de origen alimentario (Mcdonald y Sun, 1999). El desarrollo de los modelos matemáticos no solo se basa en encontrar la ecuación que describa el comportamiento de un conjunto de datos sino en determinar modelos precisos y versátiles al mismo tiempo (Sun, 2012).

Modelos cinéticos. Son aquellos modelos que se desarrollan para explicar el crecimiento de los microorganismos en términos de las variables ambientales tales como la temperatura, el pH o la actividad de agua. Igualmente, pueden ser

incluidas otras variables como la atmosfera gaseosa o el potencial redox, la humedad relativa, el contenido de nutrientes y las propiedades antimicrobianas. Estos modelos son útiles al momento de explicar el comportamiento de los microorganismos durante el tiempo de proceso o almacenamiento, sin embargo, son de difícil construcción, debido a que requieren de gran cantidad de datos de recuentos microbianos. (Mcdonald y Sun, 1999).

Modelos de crecimiento microbiano. El modelado del crecimiento microbiano se realiza usualmente en dos pasos. En primer lugar, la relación entre el tamaño de la población microbiana (N) y el tiempo (t) se describe a través de un modelo matemático (modelo primario). El crecimiento suele ilustrarse a través de la curva de crecimiento, que es la representación del logaritmo del número de microorganismos con respecto al tiempo. El crecimiento adopta la forma sigmoideal que usualmente se observa para esta curva bajo condiciones constantes favorables para el crecimiento. En un segundo paso, la relación entre los parámetros del modelo primario y las condiciones ambientales se describe a través de un segundo modelo matemático (modelo secundario).

Modelo primario de Baranyi: Los datos de crecimiento para cada temperatura se ajustan mediante análisis de regresión no lineal al modelo primario de Baranyi (Baranyi y Roberts, 1994) usando el software DMFit 2.1 para obtener los parámetros cinéticos: fase de latencia (λ), velocidad máxima de crecimiento (μ_{\max}) y máxima densidad poblacional (Nmax). El modelo de Baranyi se define mediante la ecuación 1:

$$\ln(N(t)) = \ln(N_0) + \mu_{\max}A(t) - \ln[1 + (e^{\mu_{\max}A(t)} - 1) / e^{(N_{\max} - N_0)}] \quad (1)$$

Donde $\ln(N(t))$ es el log de la concentración celular al tiempo t [d(día)] (UFC/g); $\ln(N_0)$ es el log de la concentración celular inicial (UFC/g); μ_{\max} es la velocidad de crecimiento exponencial (log UFC/g día); $\ln(N_{\max})$ es el log de la concentración celular final (UFC/g); y A es un parámetro que representa el aumento logarítmico de la población relacionado al estado fisiológico celular, y se determina mediante la ecuación 2:

$$A(t) = t + 1/\mu_{max} \ln(e^{\mu_{max}t} + e^{-\mu_{max}\lambda} - e^{-\mu_{max}(t+\lambda)}) \quad (2)$$

El modelo propuesto por Baranyi y Roberts (1994), descrito en la ecuación (2), es uno de los más extendidos para el modelado del crecimiento microbiano en la actualidad. Este modelo describe el crecimiento como una cinética de primer orden de ratio $\mu(t)$, que varía en función de las condiciones ambientales y según la fase en que se encuentre la población. Durante la fase exponencial este coeficiente es igual a μ_{max} , mientras que durante las fases de adaptación y estacionaria se reduce por medio de los coeficientes $\alpha(t)$ y $\gamma(t)$, ambos comprendidos entre cero y uno.

$$\frac{dN}{dt} = \alpha(t) \cdot \mu_{max} \cdot \gamma(t) \cdot N(t) \quad (3)$$

En este modelo se describe la fase de adaptación asumiendo que existe una sustancia ficticia $P(t)$ que hace de cuello de botella. El crecimiento de esta sustancia sigue una cinética de Michaelis-Menten, lo que se ve reflejado en el parámetro $\alpha(t)$ tal y como define la ecuación (3).

El Modelo primario de Gompertz está definido como un modelo cinético porque se basan en la respuesta del agente de estudio, crecimiento o supervivencia bajo determinadas condiciones (McMeekin et al, 1993, Roberts, 1989; Fakruddin, 2011) y primario debido a que describe, fundamentalmente, el número de microorganismos en función del tiempo (Coll Cárdenas y cols, 2001); así mismo, se cuantifican en unidades formadoras de colonias (UFC) / ml o g, formación de toxinas, de metabolitos o en función de la absorbancia, por ejemplo (Whiting and Buchanan, 1993; Fakruddin, 2011).

Derivación del Modelo de Gompertz: La derivación para microbiología de alimentos de la ecuación modificada de Gompertz (2) se puede sintetizar en la siguiente expresión:

$$\text{Log } N = A + C \exp\{-\exp[-B(t - M)]\} \quad (4)$$

Log N = logaritmo decimal de los recuentos microbianos [log [UCF/ml]] al tiempo t.

A = logaritmo de los recuentos cuando el tiempo decrece indefinidamente; equivale, aproximadamente, al logaritmo decimal del nivel inicial de bacterias.

C = logaritmo de los recuentos cuando el tiempo se incrementa indefinidamente.

M = tiempo requerido para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento [hs].

B = velocidad de crecimiento relativa al tiempo M [hs]⁻¹.

De estos parámetros se deriva:

- Velocidad específica de crecimiento (μ).

$$\mu = B \times C/e \quad (5)$$

- Duración de la fase de latencia

$$(LPD).LPD = (M - 1)/B \quad (6)$$

- Máxima densidad de población (MPD).

$$MPD = A + C \quad (7)$$

Validación de modelos predictivos en microbiología de los alimentos

En la actualidad, no hay un criterio publicado y aceptado internacionalmente que pueda establecer cuándo un modelo es válido (es decir, cuya aplicación es precisa y cuyos resultados pueden inferirse al mundo real) y cuando, no Tradicionalmente, se han venido utilizando estadísticos como el coeficiente de determinación o la MSE (mean square error) para hacerse una idea de la validez del modelo evaluado (Ross, 1996; McClure et al. 1994).

- Error cuadrático medio (MSE)

Se trata de una medida de la variabilidad que no se debe a cambios en los factores (Giffel et al. 1999), fundamentalmente aquellos que son extrínsecos, sino que se debe a la variabilidad inherente a la biología o a errores sistemáticos. Así, cuanto menor sea el valor de la MSE, mayor es la adecuación del modelo y sus resultados (Adair et al. 1989 y Sutherland et al. 1994; Giffel et al. 1999). Se calcula sumando los cuadrados de los errores y dividiendo entre el número de grados de libertad; es decir, nos informa sobre la diferencia entre lo que se ha estimado y lo observado (Buchanan et al. 1997).

- Coeficiente de determinación (R^2)

Esta medida nos indica el ajuste de los datos obtenidos a un modelo lineal; es decir, nos informa sobre qué cantidad de la variabilidad observada se debe al ajuste lineal de los datos en el modelo (Giffel et al. 1999). De este modo, cuanto mayor sea el valor de este estadístico (que se mueve entre 0 y 1), mejor será la predicción del modelo (Grau and Vanderlinde 1993, Duffy et al. 1994; Sutherland et al. 1994; Giffel et al. 1999).

- Accuracy factor o factor de precisión y Bias factor:

Estos dos factores, descritos y desarrollados inicialmente por Ross (1996), son, en cierta medida, valores promedio definidos a partir de distintas concepciones del 'promedio' (Baranyi et al. 1999).

El factor de precisión es la media de las distancias mínimas que hay entre cada punto y la línea obtenida a través de la regresión lineal aplicada en el modelo; es, por tanto, una medida de desviación que, hablando en plata, nos dice lo cerca que la predicción está de lo observado (Ross, 1996).

El bias factor nos muestra si, en promedio, los valores observados están por debajo o por encima, gráficamente, de la línea obtenida. Dicho de otra manera, nos da una idea de la desviación estructural del modelo (Giffel et al. 1999). Este factor tiene una relevancia especialmente importante por los resultados que se obtienen de su utilización, pues nos indica si el resultado de un determinado parámetro está sobreestimado o subestimado respecto a lo que se observa (Giffel et al. 1999). Así, un bias factor menor de 1 significa que estamos ante lo que se suele llamar "fail-safe model" (Ross, 1996); es decir, un modelo que, a pesar de no ser muy preciso en la predicción, no comporta ningún riesgo (Ross, 1996; Giffel et al. 1999). Por ejemplo, si los tiempos observados en los cuales crecen unos determinados microorganismos fueran mayores que los de las predicciones (bias factor < 1), pese a que no sean del todo precisas, aportan un margen de seguridad (Baranyi et al. 1999; Giffel et al. 1999).

2.2.2. Conceptual.

Maíz céreo (*waxy*) (*Zea mays cerea*): Recibe este nombre debido a que el almidón está compuesto de 98% amilopectina. Los tipos de almidón céreo (nativo y modificado) son comercializados a nivel mundial debido a su estabilidad y a otras propiedades de sus soluciones por lo que son utilizados por la industria alimenticia, industria papelera, farmacológica, cosmética, etc.; debido a la estructura ramificada de la amilopectina produciendo soluciones con baja viscosidad y un grado menor de interferencia por la presencia de amilosa que modifica el almidón extraído de este tipo de maíz (Hood, 1982).

Almidón

De todos los componentes del grano de maíz, el almidón es la sustancia de reserva alimenticia predominante en la planta. Una semilla de maíz común consiste de 70 a 75% de almidón, 8 a 10% de proteína y 4 a 5% de aceite, contenidas en tres estructuras: el germen (10%), el endospermo (80%), y el pericarpio. La fracción proteica del endospermo contiene 25% de proteína de tipo gluteína y 60% de proteína de baja calidad tipo zeína, deficiente en lisina y triptófano (Méndez-Montalvo et al., 2005)

Los almidones de los cereales contienen pequeñas cantidades de grasas. Los lípidos asociados al almidón son, generalmente, lípidos polares, que necesitan disolventes polares tales como metanol-agua, para su extracción. Generalmente el nivel de lípidos en los almidones de los cereales está entre 0.5 y 1%. Los almidones obtenidos de otras fuentes diferentes a los cereales no contienen esencialmente lípidos (Biliaderis, 1991).

Crecimiento microbiano

La relación entre la tasa de crecimiento específico (μ) de una población de microorganismos y la concentración de sustrato (S) es una herramienta valiosa para la cinética de microorganismos. Esta relación representa las leyes de velocidad derivadas empíricamente que se refieren como modelos teóricos. Estos modelos no son más que expresiones matemáticas generadas para

describir el comportamiento del sistema generado. Los modelos clásicos, que se han aplicado al crecimiento de la población microbiana, incluyen el modelo de Verhulst y la función de Gompertz (ecuación 4).

Iniciador láctico

Un cultivo iniciador de ácido láctico, también conocido como bacteria del ácido láctico, es un microorganismo vivo que produce ácido láctico al consumir azúcar en los alimentos. Las bacterias del ácido láctico se utilizan en la producción de muchos alimentos y bebidas: yogur, queso, kéfir, kimchi, miso, algunos embutidos, etc.

Modelo matemático

Se refiere a un conjunto básico de hipótesis en los procesos estudiados, algunos de ellos representados por medio de funciones y ecuaciones (diferenciales). Por lo tanto, desde un punto de vista mecanística, función y modelo no son términos equivalentes. Función es una abstracción matemática que hace más fácil la descripción de un modelo particular (Baranyi y Roberts, 1994). Los modelos están generalmente basados en diversas hipótesis biológicas, en la interpretación de las diferentes fases de crecimiento microbiano, donde el principal objetivo está direccionado para estudiar la fase de latencia cuya significancia biológica aun es pobre (Baty et al., 2004).

2.3. Definición de términos básicos

Sustrato alimenticio

Medio o sustancia que contiene los nutrientes necesarios para el desarrollo de un microorganismo con el fin de favorecer la formación de metabolitos de interés industrial.

Hidrolisis

Según Gómez López, (2017) lo define como una etapa que provoca la ruptura de los polímeros de celulosa y hemicelulosa, donde se obtendrá azúcares reductores. A su vez es una reacción química en la cual se rompe

necesariamente un enlace entre dos átomos o moléculas para formar monómeros más simples que el original. (Taherzadeh & Karimi, 2008)

Fermentación

La fermentación es un proceso metabólico que convierte carbohidratos mediante microorganismo facultativos bajo condiciones de anaerobiosis. Los productos frecuentes de la fermentación son ácidos orgánicos, alcoholes y otras sustancias de bajo peso molecular, incluidos gases como el hidrógeno y dióxido de carbono. El patrón de fermentación de un microorganismo está influenciado por el tipo de sustrato disponible en el medio de cultivo, el pH y la temperatura de incubación. (Rodríguez, Gamboa, Hernandez, & García, 2005)

Fermentación láctica

Proceso anaeróbico que degrada glucosa a piruvato cual se convierte a ácido láctico en una reacción catalizada por la enzima lactato usando NADH como donante de electrones, siendo producido por acción bacteriana con el fin de obtener productos lácteos acidificados como leches fermentadas, yogurt, cremas entre otros.

Bacterias ácido lácticas

Se definen como grupo bacteriano caracterizados por ser Gram-positivas, comúnmente produce ácido láctico a partir de los carbohidratos lo que las hace útiles como cultivos iniciadores para la fermentación de alimentos. Dentro de las BAL, los géneros más utilizados son *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* y dentro del género *Streptococcus* la especie *S. thermophilus* (Ferreira, 2012). La utilización de los carbohidratos disponibles en el alimento y la reducción del pH a causa de los ácidos orgánicos producidos, son el principal mecanismo de antagonismo microbiano de las bacterias lácticas. Debido a que las BAL prevalecen en los alimentos fermentados, a su bajo nivel de infección y que son parte de la microbiota normal de las mucosas, se les atribuye su bajo potencial patogénico, por lo que se consideran como organismos GRAS (General Regarded As Safe) (Obed, 2011).

Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus

Es un microorganismo homofermentativa, cuyas colonias poseen formas lenticulares y frecuentemente aguzadas de diámetro desde 1 mm a 3 mm y se desarrolla de forma óptima a temperaturas entre 40 y 43°C, la mínima es de 15 °C y máxima de 52 °C (algunas cepas crecen hasta los 60 o 75 °C durante 20-30 minutos), produce disminución del pH y puede producir hasta un 1,7% de ácido láctico D (-) en leche y pequeñas cantidades de ácidos grasos volátiles: acético, propiónico, butírico, isovalérico, caprónico y cáprico , además produce acetoina, acetaldehído, acetona y 2-butanona. (Turgay y Erbilir, 2006).

Streptococcus thermophilus

Streptococcus thermophilus pertenece al dominio Bacteria, filo Firmicutes, clase Bacilli, orden Lactobacillales, familia Streptococaceae, género *Streptococcus*, especie *thermophilus*. Según la clasificación basada en la secuencia del gen 16SrRNA, forma parte del grupo *salivarius* junto a dos especies más íntimamente relacionadas, que son *S. vestibularis* y *S. salivarius* (Turgay y Erbilir, 2006).

Es una bacteria Gram-positiva y anaerobio homofermentativa que produce entre 0,7 -0,8% de ácido láctico, termo resistente, se desarrolla en forma óptima a temperaturas entre 42 – 45 °C, la mínima es de 10 °C y la máxima es de 50 °C e incluso 65 °C por media hora, tiene menor poder de acidificación que el *Lactobacillus* (Guamán, 2012). Así mismo, su actividad proteolítica en la leche es pequeña ya que los aminoácidos liberados son consumidos durante su fase de crecimiento logarítmico. A su vez se utilizan generalmente en la producción de yogur, junto con *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (Serna & Rodríguez 2005)

Ácido láctico

El ácido láctico es de amplio uso en la industria; debido a sus características benéficas, se utiliza en la industria alimentaria (en bebidas y como conservante), en farmacia, medicina, textilera, en la industria del cuero y para la producción de

plásticos biodegradables (Lederberg, 1992). El Food Chemical Codex en el año 1996 especifica el uso del ácido láctico en alimentos con una pureza del 88%. Los factores limitantes en la producción de ácido láctico por la vía fermentativa son principalmente, la baja concentración de bacterias lácticas en el sistema y la inhibición del crecimiento por el producto (Monteagudo y Aldavero, 1999; Kulozik, 1998).

CAPITULO III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

Hipótesis general

Los parámetros del crecimiento de bacterias iniciadores lácticos obtenidos durante la fermentación del hidrolizado del grano germinado del maíz jora pueden ser caracterizados por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts

Hipótesis específicas

- Las propiedades físico-químicos y microbiológicos del hidrolizado de grano germinado del maíz jora son semejantes y constantes que garantizan el desarrollo del proceso de fermentación.
- El ajuste del crecimiento, de las bacterias iniciadoras lácticas en el hidrolizado de grano germinado del maíz jora, por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts establecerán los parámetros del crecimiento y cinéticos, en condiciones de termotolerancia.
- La validación de los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts permiten estimar el desarrollo de las bacterias iniciadoras lácticas, bajo condiciones de termotolerancia específica, en el hidrolizado del grano germinado de maíz jora.

3.2. Definición conceptual de variables

- Variable independiente

Las bacterias iniciadoras lácticas de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*: es la variable experimental que se manipulará y provocará cambios de su crecimiento en el hidrolizado del grano germinado generando sus parámetros valorados mediante el modelamiento matemático.

- Variable dependiente

El hidrolizado aportará sus componentes físicos y químicos en una concentración que permitirá el desarrollo de la fisiología de la variable independiente a fin de obtener los Parámetros de crecimiento de las bacteria iniciadoras

3.3. Operacionalización de variables

Variable	Dimensión	Indicador	Índice	Método	Técnica
Dependiente: Hidrolizado del grano germinado	Factor intrínseco del sustrato fermentable	Variación de concentración de azúcares reductores y ácido láctico	Incremento Población	Proceso de Fermentación	Valoración ácido-ácido básico y reflectometría
Independiente Células iniciadoras lácticas	Cinética de crecimiento bacteriano	N ₀ (población inicial) N _f (población final)	(-μ _{max}) Log UFC/g/h Fase lag/Tg H ₀	Ajuste de curvas de crecimiento	Modelo matemático de Gompertz y Baranyi y Roberts

CAPITULO IV. METODOLOGÍA DEL PROYECTO

4.1. Tipo y diseño de la investigación

El estudio es de tipo experimental y se diseñó para ser conducido completamente al azar con un arreglo factorial 2^3 con tres repeticiones. Siendo el hidrolizado del maíz jora germinado inoculado, por separado, con las bacterias lácticas iniciadoras *Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus* (Ldb) y *Streptococcus thermophilus* (St) para luego someterlas a condiciones de termotolerancia de 40, 41 y 42 °C. por un periodo de tiempo que tome para alcanzar la fase de estacionaria. Los parámetros experimentales obtenidos fueron ajustados por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts y se obtuvieron los parámetros estadísticos que fueron comparados y valorados en relación con los parámetros experimentales.

4.2. Método de investigación.

Las numeraciones de Log UFC/ml de Ldb y St por cada iteración horaria y temperatura sirvió para elaborar una gráfica y hallar los parámetros de crecimiento y cinéticos. Así mismo, los mismos datos fueron ajustados mediante los modelos predictivos de Gompertz y Baranyi-Roberts los cuales reportan los parámetros del crecimiento y cinéticos, adjuntado su respectivo valor estadístico.

El ajuste de los valores del crecimiento de Ldb y St y sus respectivos parámetros, en función del tiempo, que aportan los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts, fueron validados para demostrar que no son muy diferentes a los medidos experimentalmente, cuando el crecimiento bacteriano utilizó el hidrolizado de maíz jora germinado en condiciones de termotolerancia, para ello se consideró a los indicadores matemáticos Coeficiente de determinación (R^2), Error de raíz cuadrada media (RMSE), factor de sesgo (Bf) y Factor de precisión (Af)

4.3. Población y muestra.

Población

La población está representada por 6 litros de hidrolizado de grano germinado que servirán de sustrato para los fines experimentales del presente estudio.

Muestra

Para efectos de la investigación la muestra a obtenerse será del mismo tamaño de la población en donde el hidrolizado de grano germinado tendrá la posibilidad de ser ensayada manteniendo poblaciones microbianas convenientemente distribuidas que permitieron hacer generalizaciones a partir de los resultados de la muestra con respecto a la población microbiana.

4.4. Lugar de estudio y periodo desarrollado.

La realización del proyecto se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional del Callao, durante el periodo 2022-2023.

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

El presente estudio utilizó la técnica de la observación experimental, porque elabora datos en condiciones relativamente controladas por el investigador, particularmente porque éste pudo manipular la variable sustrato y temperaturas razones por las cuales permitió conocer el crecimiento de las bacterias iniciadoras de forma directa y sencilla sin depender de un intermediario. Con esta técnica se obtuvieron los parámetros de crecimiento y cinéticos de ocurrencia natural evitando, en lo posible, sesgos o prejuicios externos lo cual permitió realizar la evaluación de los resultados, con datos claros que a su vez permitieron tomar mejores decisiones.

Las herramientas utilizadas fueron las fichas de registros, confeccionadas apropiadamente de acuerdo con los objetivos trazados para el estudio

Calidad microbiológica del fermentado hidrolizado

Se determinó la calidad microbiológica del fermentado hidrolizado amiláceo de granos germinados elaborados artesanalmente según la norma propuesta por la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V,01. Los agentes microbianos analizados fueron Mesófilos aerobios, mohos y levaduras. Se utilizaron 10 ml de muestra de

fermentado hidrolizado los cuales fueron diluidos en 90ml de una solución de agua peptona al 0.1%. posteriormente será homogenizada la muestra y a partir de ello se procederá para hacer las diluciones seriadas correspondientes.

Determinación del pH

La determinación se realizó utilizando un Medidor De PH/MV de Mesa Con Resolución De 0.01 HANNA HI2211-01, donde se midió el pH inicial de las muestras preparadas. Las mediciones se realizaron al mismo tiempo que se toman las muestras para medir la concentración de ácido láctico y numeración de UFC/ml.

Determinación de la producción de ácido láctico

Se determinó mediante la titulación con una solución estandarizada de hidróxido de sodio, usando fenolftaleína como indicador. Se preparará las muestras regulando las temperaturas a 20°C. Luego se medirá 10ml de la muestra del fermentado en un vaso precipitado donde se adicionará y mezclará con 5 gotas de fenolftaleína. Una vez realizado el procedimiento se procederá con la titulación con NaOH (0.1 N), hasta que el color de la muestra cambie a rosa pálido, ver que se mantenga el color aproximadamente por 30 segundos. Posteriormente se realizará la lectura del consumo de e NaOH empleado en la bureta y se calculará la acidez mediante la siguiente fórmula (Salinas y Tumbaco, 2016).

$$A = 0.090 V * N / m1 - m * 100$$

Donde:

A = acidez Titulable del mosto, en porcentaje en masa de ácido láctico.

V = volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en cm³.

N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

m = masa del matraz Erlenmeyer vacío, en g.

m1 = masa del matraz Erlenmeyer con el fermentado, en g.

Preparación de la cepa iniciadora

Se emplearon cultivos iniciadores de Lyofast compuesto por *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*, comercializados y distribuidos a todas las industrias y combinados lácteos del país. Se reactivaron y propagaron los cultivos con leche entera en polvo libre de sustancias inhibitoras (tóxicas, antibióticas) que impiden la coagulación. Se continuó con activación trasladándolos a 100 ml de caldo MRS e incubando a 37°C durante 24 h, periodo después del cual se tomó 1 mL y se agregó a 49 mL de caldo MRS e incubó a la misma temperatura durante 6 h. De inmediato se tomó del caldo 1 ml y se realizaron 10 diluciones seriadas por duplicado desde 1 hasta 1×10^{-9} . De cada dilución se realizó la siembra por estría en el medio de cultivo MRS agar e incubó en una estufa bacteriológica a una temperatura de 40°C por 24 horas y de esta forma obtener colonias típicas de Ldb y St, confirmándose con la tinción de Gram y respuestas fenotípicas utilizando sistemas API50 Y API 20.

Sustrato fermentable: hidrolizado del grano germinado de maíz jora "Zea mays". Se utilizó 6.0 litros del hidrolizado neutralizado, obtenido por técnicas físico-químicas del grano germinado de maíz jora (HGM) proveniente de una empresa comercializadora de harinas de granos diversos. El producto se diluyó al 75 % con agua destilada estéril que luego se dispensaron, en forma individual en cantidades de 99.9 ml en 6 frascos estériles con capacidad de 500 ml.

Los frascos se dividieron en 3 grupos (40, 41 y 42°C) y cada uno de ellos estuvo compuesto por 2 frascos con 999 ml de hidrolizado. Un frasco de cada grupo se inoculó 1.0 ml del cultivo de *Ldb activado* (10^8 ufc/ml) con n=3, y el otro frasco con 1.0 ml de *St*, activado (10^8 ufc/ml) con n=3; para luego ser incubados a temperaturas 40, 41 y 42 °C en un baño de agua con agitador incorporado para mezclar los inóculos de manera constante mientras se mantiene una temperatura estática.

Obtención de los datos experimentales

Paso 1: Del frascos de Ldb incubados a 40 °C se obtuvo, en condiciones de

esterilidad, 1.0 ml del hidrolizado para aplicarle una dilución seriada al décimo hasta 10^{-3} , luego de cada dilución se toma 1.0 ml para inocularla en una placa Petri estéril. De inmediato agregar sobre el inóculo agar MRS 12 ml, agitar por movimientos rotatorios para distribuir el inóculo por toda el área de la placa petri. Dejar solidificar el medio de cultivo, para luego incubarlo a 40°C por 24 a 48 horas.

Recuento de colonias en placa

Una vez transcurrido las 24 ó 48 h se realizó la lectura de las placas en busca de efectos de crecimiento, que se inició con el recuento de las colonias presentes en la muestra, utilizando un contador de colonias; luego se escogieron las placas que mostraron entre 30 y 300 colonias. Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias por mililitro ($\text{Ufc/ml} = \text{N}^{\circ}$ de colonias en placa (entre 30 y 300) \times inverso de la dilución \times 10); y luego transformados a Log Ufc/ml.

El resultado obtenido como Log Ufc/ml corresponde al tiempo inicial o Tempo cero (T_0), de la muestra (n_1) que proviene del primer frasco de Ldb cultivado a 40°C . El mencionado frasco continuó incubándose y después de 1 hora se obtuvo otra muestra (T_1) y así sucesivamente hasta completar 12 horas o alcanzar la fase estacionaria del crecimiento.

Paso 2: Todas las muestras que provinieron de los frascos destinados a fermentar a 40°C , 41°C y 42°C se les aplicó el mismo procedimiento seguido en el paso 1.

Curvas de crecimiento método gráfico

Una vez obtenido la numeración de UFC/ml de Ldb y St, en función del tiempo de 12 horas por cada temperatura experimentada fueron transformados a función logarítmica (\log_{10} ufc/ml), los cuales sirvieron para construir las curva de crecimiento experimental utilizando el método gráfico que permitió obtener los

parámetros de crecimiento: población inicial ($N_0 = \text{Log ufc/ml}$), población final ($N_f = \text{Log ufc/ml}$), variación poblacional (Log ufc/ml), velocidad máxima de crecimiento ($\mu_{\max} = \text{Log ufc/ml/h}$), Tiempo para alcanzar la μ_{\max} (horas), Fase de latencia ($\lambda = \text{horas}$). La determinación del Tiempo generacional ($T_g = \text{horas}$) y estado fisiológico se realizó mediante las fórmulas correspondientes.

Obtención de parámetros de crecimiento y cinético mediante los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts.

Las variables que mantiene el modelo de Gompertz son A, B y M. Siendo, $\text{Log } N$ el logaritmo decimal de la cantidad microbiana en un tiempo t , N_0 es el valor de la asíntota inferior (equivalente al Log de la cantidad microbiana inicial), A es el aumento logarítmico de la cantidad microbiana (equivalente al log del recuento microbiano máximo durante la fase estacionaria menos el Log del recuento inicial), B es la velocidad de crecimiento relativa en el tiempo (h^{-1}) y M es el tiempo requerido para alcanzar la velocidad de crecimiento máxima (h), N_{\max} es el recuento microbiano máximo, siendo descriptores microbiológicos que se obtendrán mediante los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts respectivamente.

Validación de los modelos.

Se realizará la validación de los modelos comparando las respuestas de crecimiento observadas y modeladas. Los índices matemáticos fueron R^2 , RMSE, el factor BIAS (Bf) y el factor de exactitud (Af).

Procesamiento de datos

Para efectos de comparación de los parámetros de crecimiento obtenidos en condiciones de termotolerancia experimental y de forma predictiva se aplicó el análisis de varianza a fin de establecer existencias de diferencias estadísticamente significativas.

4.6. Análisis y procesamiento de datos.

Las curvas de crecimiento de *Lactobacillus delbruckii* ssp *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* fueron ajustadas por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts y las bondades de ajuste, de cada uno de ellos, fue interpretada por el indicador estadístico Coeficiente de Determinación (R^2). La medición de la desviación promedio entre el valor ajustado y el observado se realizó de acuerdo con la raíz del cuadrado medio del error (RMSE) que representa el "error estándar del modelo"

Las diferencias significativas entre los parámetros de crecimiento entre el proceso fermentativo y modelado fueron estimadas mediante el estadístico ANOVA

La validación de los modelos se realizó mediante el cálculo de los indicadores matemáticos Af y Bf, cuyas existencias diferenciales se valoró mediante el estadístico ANOVA.

CAPITULO V. RESULTADOS

5.1. Resultados descriptivos.

Caracterización del Hidrolizado del maíz germinado (HMG)

Se estimaron las características del hidrolizado del maíz germinado (HMG), que fueron de interés para esta investigación, los cuales se visualizan en la tabla 1: concentración de azúcares expresados como grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$), porcentaje de ácido láctico y unidades de pH, siendo sus valores promedios de 22.40 ± 0.70 , 0.92 ± 0.02 y 6.74 ± 0.02 , respetivamente. Para conocer los supuestos de normalidad y homogeneidad se sometieron las repeticiones muestrales de cada característica a la prueba no paramétricas de Kruskal Wallis, resultando que las características consideradas cumplen con estos supuestos y que los datos se distribuyen de manera normal; así mismo, los valores de significación son mayores que 0.05, el cual determina la aceptación de la hipótesis nula (h_0) que

significa que todas las muestras, de cada una de las propiedades, del HMG son iguales.

Tabla 1

Valoración de las propiedades del hidrolizado de maíz jora germinado y su nivel de significación estadística.

Propiedades	Media (n=3)	Desviación estándar	Desviación significativa normalidad W(n=3)	Nivel de significación ($\alpha < 0.05$)
°Brix	22.40	0.70	0.987	0.173
Acido láctico (%)	0.92	0.02	0.964	0.989
pH	6.74	0.02	0.964	0.989

Fuente: Elaboración propia

La calidad microbiológica del HGM fue evaluada con el objetivo de conocer la presencia de microorganismos alterantes, según la NTS 071-2008 Perú, pertenecientes a las categorías 1, 2 y 3. La tabla 2, muestra los siguientes agentes microbianos cuantificados Aerobios mesófilos (<10 UFC/ml), levaduras (<10 UFC/ml) y mohos (<10 UFC/ml). Los resultados demuestran que el HGM es ideal para modelar el crecimiento de las bacterias iniciadoras, sin que exista competencia metabólica, que se explica por el tratamiento térmico aplicado durante la hidrólisis (110 °C, 10 minutos); así como, la relación con la acidez del hidrolizado.

Tabla 2

Calidad microbiológica del hidrolizado de la harina del maíz jora germinado.

Agente microbiano	Cantidad UFC/ml	Límites permisibles	
		m	M
Aerobios mesófilos	<10	10 ²	2x10 ³
Mohos	<10	<10	10
Levaduras	<10	<50	50

Fuente: Elaboración propia

5.2. Resultados inferenciales.

Este estudio tuvo como objetivo determinar los parámetros de crecimiento de bacterias iniciadoras lácticas representadas por *Streptococcus thermophilus* (St) y *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* (Ldb) las cuales se cultivaron en la matriz compleja del hidrolizado de la harina de maíz jora germinado (HGM) para modelar su crecimiento utilizando los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts y de esta forma validar comparativamente su utilidad en procesos de fermentación de hidrolizados de cereales andinos.

Determinación de parámetros del crecimiento y cinéticos de bacterias lácticas iniciadoras utilizando en método gráfico.

Los parámetros de crecimiento de Ldb y St fueron obtenidos utilizando los datos experimentales procedentes de sus cultivos en el hidrolizado del maíz jora germinado en condiciones de termotolerancia de 40, 41 y 42 °C, para luego graficarlas y de esta forma transformarlas en curvas de crecimiento; mientras que, los parámetros cinéticos tiempo generacional (Tg) y estado fisiológico (h_0) se valoraron utilizando ecuaciones matemáticas que describen el crecimiento bacteriano.

Determinación de parámetros de crecimiento y cinéticos de Iniciadores Lácticos: *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* cultivados en el sustrato hidrolizado del grano germinado de maíz de jora en temperaturas de 40, 41 y 42 °C.

La tabla 3. Muestra los parámetros de crecimiento de Ldb en el sustrato HMG proveniente del crecimiento que se produjo durante 12 horas a temperaturas de 40, 41 y 42 °C. La numeración de las UFC/ml por cada iteración horaria y temperaturas fueron traducidas en una curva de crecimiento, para cada una de las cepas estudiadas, relacionándolas con las temperaturas propuestas. Para el caso de St se inició con una población experimental (N_0) de 5.15, 5.06 y 5.04Log

UFC/ml, para las temperaturas de 40, 41 y 42 °C respectivamente, ($p>0.05$), poblaciones que después de 12 horas de incubación alcanzan un incremento poblacional final de 2.14, 2.46 y 3.13 niveles Log UFC/ml, respecto a las mismas temperaturas ($p<0.05$).

La tabla 3, muestra los valores de los parámetros cinéticos del crecimiento de Ldb, caracterizándose por tener los valores de mayor aceptación a 42 °C en el cual el tiempo de adaptación o fase Lag (λ) al sustrato HGM es de 2.12 horas, para luego continuar un crecimiento logarítmico a una velocidad máxima (μ_{\max}) de 0.49 LogUFC/ml/h registrada a las 5.58 horas. Comparativamente con las temperaturas de 40 y 41 °C se evidencia que los parámetros antes mencionados ofrecen valores menores, estableciéndose diferencias significativas entre ellas ($p<0.05$). por otro lado, la velocidad máxima (μ_{\max}) es un indicador del crecimiento logarítmico que influyó en el tiempo de duplicación de 0.87 horas, en el cual el estado fisiológico (h_0) cuantificado fue de 0.003 Log UFC/ml que cuantifica el estado fisiológico inicial de las células y que indica que la adecuación física de las células a su entorno es bajo por efecto de la temperatura de 42 °C; del mismo modo, el tiempo generacional (Tg) o tiempo de duplicación fue 0.80 horas (48 minutos), tiempo más corto comparativamente a las temperaturas de 40 y 41 °C, existiendo diferencias significativas ($p=<0.05$).

La tabla 3, presenta el comportamiento del crecimiento de la cepa iniciadora láctica *Streptococcus thermophilus* según modelo de Gompertz utilizando como sustrato el hidrolizado del grano germinado de maíz jora (HMG) a temperaturas de 40, 41 y 42 °C por un periodo de 12 horas. El log UFC/ml numeradas en cada hora de cultivo generaron una curva de tipo sigmoidea sobre la cual se determinó los parámetros de crecimiento y cinético, El inóculo inicial (N_0) para cada cultivo fue de 5.15, 5.06, 5.04 Log UFC/ml, para las temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente; no existiendo diferencias significativas entre estos inóculos ($P_{(p<0.05)} = 0.074$).; a estas temperaturas las poblaciones iniciales y después de 12 horas de incubación alcanzan un incremento poblacional final (N_f) de 2.14, 2.46 y 3.13 niveles Log UFC/ml.

Antes de presentarse la fase de crecimiento logarítmico *St* requiere de un tiempo de adaptación o fase lag de acuerdo con las temperatura de 40, 41 y 42 °C, fue de 4.18, 3.05 y 2.40 horas, respectivamente ($P_{(p<0.05)} = 0.038$), notándose que el menor tiempo de adaptación se produce a 42 °C en el cual el estado fisiológico (h_0) bacteriano es de 0.173 log UFC/ml comparado con las que se presentan a 40 y 41 °C cuyos valores son de 0.047 y 0.107 Log UFC/ml.

Finalizado la fase de adaptación sobreviene la fase logarítmica en donde la población inicial muestra un incremento exponencial constante a una velocidad (μ_{max}) de 0.35, 0.37. 0.47 log UFC/ml/h, en función del tiempo y temperaturas experimentadas, estableciendo el tiempo generacional (T_g) de 1.08, 0.91 y 0.55 horas, para las temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente, destacando la temperatura de incubación de 42 °C en la cual se obtienen los valores más altos de Velocidad máxima de crecimiento y menor tiempo para lograr una duplicación logarítmica.

Tabla 3

Parámetros de crecimiento y cinéticos experimentales de Iniciadores lácticos en hidrolizado de maíz de jora germinado en condiciones de termotolerancia.

	Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus			Streptococcus thermophilus		
	Temperaturas			Temperaturas		
	40 °C	41 °C	42 °C	40°C	41°C	42°C
Parámetros del crecimiento						
N_0	5.21	5.33	5.37	5.15	5.06	5.04
C	1.98	2.36	3.11	2.14	2.46	3.13
Estadísticos del crecimiento						
R^2	0.98	0.99	0.99	0.97	0.98	0.96
DS	0.06	0.01	0.09	0.09	0.05	0.04
Parámetros cinéticos del crecimiento						
μ_{max}	0.39	0.42	0.49	0.30	0.45	0.50
λ	3.62	2.82	2.12	4.18	3.05	2.40
M	6.09	5.98	5.58	7.45	6.00	5.70

Tg	1.26	0.87	0.80	1.08	0.91	0.55
h_0	0.05	0.02	0.01	0.05	0.11	0.17

No Población inicial (Log UFC/ml), C variación poblacional (Log UFC/ml), μ_{max} Velocidad del crecimiento (Log UFC/mL/h), λ fase de adaptación (horas), M Tiempo para alcanzar μ_{max} (horas), Tg Tiempo generacional (h), h_0 Estado fisiológico, R^2 Coeficiente determinación, DS Error estándar.

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 4, se muestran los parámetros de crecimiento y cinéticos de Ldb obtenidos por el ajuste de la datos experimentales al modelo de Gompertz, siendo sus variables A (Población inicial, N_0), C (Variación de niveles logarítmicos del crecimiento), B (Velocidad crecimiento (μ_{max}) y M (tiempo para alcanzar μ). Las respuestas cinéticas del modelo se calcularon mediante las ecuaciones 4, 5 y 6 y de esta forma se obtuvieron los valores de λ , μ_{max} , h_0 y Tg, que son las variables en las que se observan los efectos de los factores intrínsecos del HMG y extrínsecos (temperatura y acidez) sobre los iniciadores lácticos (Gibson et al., 1987).

El ajuste de la curva de crecimiento con el modelo de Gompertz indica que la población inicial (A) para las temperaturas de 40, 41 y 42 °C son 5.28, 5.46 y 5.36 Log UFC/ml, respectivamente, no existiendo diferencia significativas entre ellas ($p > 0.05$), generando incrementos de niveles logarítmico de 2.0, 2.37, 2.99 Log UFC/ml, con velocidades de crecimiento μ_{max} de 0.53, 0.49 y 0.45 Log UFC/ml/h, correspondientes para las mismas temperaturas de estudio.

El análisis de los parámetros de crecimiento indica que en la medida que se incrementa la temperatura de 41 a 42 °C los parámetros tienden a variar sus valores, así tenemos, que la población inicial (N_0) son semejantes, no observándose diferencias significativas ($p > 0.05$). En la medida que se desarrolla el crecimiento la fase de latencia disminuye en función de la temperatura, siendo la de 42 °C la que presenta el tiempo más corto de 1.78 horas para adaptarse al sustrato del HGM y, dentro del mismo contexto del parámetro, el estado fisiológico (h_0) inicial de las células fue de 0.16 Log UFC/ml, siendo éste un valor considerado bajo obligando a las células desarrollar muchas actividades

metabólicas de forma inmediata durante el periodo de su fase de latencia para poder iniciar la siguiente etapa del crecimiento.

El crecimiento logarítmico se caracteriza por ser constante y por un periodo de tiempo de 5.64, 5.18 y 4.00 horas, en las cuales se alcanzan las Velocidades máximas asociado a los tiempos generacionales (Tg) 0.80, 0.70 y 0.61 horas en forma respectiva para las temperaturas de 40, 41 y 42°C. Estos resultados demuestran que a la temperatura de 42 °C se duplica rápidamente y en un tiempo muy corto en comparación con lo que ocurre a las temperaturas de 40 y 41 °C, existiendo diferencias significativa entre los parámetros analizados y sus respectivas temperaturas. ($P_{(p<0.05)}=0.007$).

Tabla 4

Parámetros de crecimiento y cinéticos según modelo de Gompertz de Iniciadores lácticos en hidrolizado de maíz de jora germinado en condiciones de termotolerancia.

	Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus			Streptococcus thermophilus		
	Temperaturas			Temperaturas		
	40 °C	41 °C	42 °C	40 °C	41 °C	42 °C
Parámetros de crecimiento						
N ₀	5.28	5.46	5.36	5.18	5.12	5.09
C	2.01	2.37	2.99	2.19	3.58	4.29
Estadísticos del crecimiento						
R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
DS	0.05	0.01	0.08	0.04	0.06	0.07
Parámetros cinéticos						
μ _{max}	0.53	0.49	0.45	0.38	0.35	0.32
λ	3.76	3.16	1.78	4.55	3.51	2.95
M	5.64	5.18	4.97	7.18	6.37	6.07
Tg	0.80	0.70	0.61	0.99	0.75	0.69
h ₀	0.01	0.03	0.16	0.02	0.06	0.11

No Población inicial (Log UFC/ml), C variación poblacional (Log UFC/ml), μ_{max} Velocidad del crecimiento (Log UFC/mL/h), λ fase de adaptación (horas), M Tiempo para alcanzar μ_{max} (horas), Tg Tiempo generacional (h), h_0 Estado fisiológico, R^2 Coeficiente determinación, DS Error estándar.

Fuente: Elaboración propia

Otro de los modelos propuestos para validar su respuesta mostrando los parámetros de crecimiento y cinéticos de LDB es el de Baranyi y Roberts (1994) El modelo incorpora la variable estado fisiológico de las células h_0 , considerado como un parámetro adimensional difícil de observar, validar y cuantificar experimentalmente (Huang, 2008). La duración de la fase de adaptación está determinada por el valor de esta variable en el momento de la inoculación y por el nuevo ambiente en el que se encuentra (Baranyi y Roberts, 1994).

En la Tabla 5, se observan los datos de la curva de crecimiento experimental de Lbd, que es ajustada por el modelo de Baranyi-Roberts mostrando poblaciones iniciales (N_0) de 5.25, 5.39, 5.37 Log UFC/ml, considerándose similares entre ellas ($P_{(p<0.05)} = 0.062$) y favorables a los propósitos de esta investigación, quienes fueron incubadas a temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente. Los resultados obtenidos fueron incrementos poblacionales de 1.93, 2.46 y 3.02 Log UFC/ml. La fase de Latencia o adaptación (λ) para las mismas temperaturas utilizadas fueron de 3.27, 2.44 y 1.19 horas; existiendo entre ellas diferencias significativas ($P_{(p<0.05)} = 0.021$), de tal forma que la temperatura de 42 °C es la que brinda una adaptación al entorno en un tiempo más corto que las otras temperaturas. En esta circunstancias el estado fisiológico inicial de las células de Lbd mostraron valores de 0.05, 0.06, 0.031 LogUFC/ml, que predispusieron el crecimiento logarítmico a una Velocidad máxima de (μ_{max}) de 0.33, 0.36, 0.48 Log UFC/ml/h, respecto a las temperaturas experimentadas; notándose que a la temperatura de 42 °C se desarrolla el crecimiento con mayor velocidad.

En base al incremento de la velocidad máxima el Tiempo generacional (Tg) fue 1.31, 0.93 y 0.57 horas, en forma correspondiente a las temperaturas de 40, 41 y 42 °C, siendo ésta última la que favorece un valor de Tg más corto. Se hace evidente que la temperatura de 42 °C es la que presenta los mejores valores

para los parámetros de crecimiento y cinéticos que permite un buen crecimiento de Ldb.

En la Tabla 5, se presentan los datos de la curva de crecimiento experimental de *Streptococcus thermophilus* ajustada por el modelo de Baranyi-Roberts. El ajuste del modelo reporta que las poblaciones iniciales (N_0) fueron 5.17, 5.12 y 5.10 Log UFC/ml, considerándolas como similares ($P_{(p<0.05)} = 0.071$), que luego de ser inoculadas fueron incubadas a 40, 41 y 42 °C, respectivamente; en estas condiciones, se obtuvo incrementos poblacionales de 2.22, 3.08 y 3.44 Log UFC/ml, con una fase de latencia o adaptación (λ) fue de 4.32, 3.49 y 2.88 horas, existiendo entre ellas diferencias significativas ($P_{(p<0.05)} = 0.031$), siendo la temperatura de 42 °C la que brinda una adaptación al entorno en un tiempo más corto que las otras temperaturas. En estas circunstancias los valores del estado fisiológico inicial (h_0) de las células de St fueron 0.05, 0.06, 0.031 Log UFC/ml, que predisponen el crecimiento logarítmico, en donde el incremento del número de células por unidad de tiempo fue a una velocidad máxima (μ_{max}) de 0.32, 0.45 y 0.49 Log UFC/ml/h, respecto a las temperaturas experimentadas, las mayores velocidades se lograron a 41 y 42 °C.

Respecto al tiempo generacional (T_g), el modelo reporta valores de 1.16, 0.59 y 0.49, para las de temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente; sin embargo, para este parámetro es la temperatura de 41 °C la que favorece un valor de T_g más corto. Se hace evidente que los parámetros óptimos para el crecimiento de *Streptococcus thermophilus* es la temperatura de 41 °C.

Tabla 5.

Parámetros de Crecimiento y cinéticos de bacterias iniciadoras en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora en condiciones termotolerante según modelo de Baranyi-Roberts.

Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus	Streptococcus thermophilus
Temperaturas	Temperaturas

	40 °C	41 °C	42 °C	40°C	41°C	42°C
Parámetros de crecimiento						
N_0	5.25	5.39	5.37	5.17	5.12	5.10
C	1.93	2.46	3.02	2.22	3.08	3.44
Estadísticos						
R^2	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
DS	0.043	0.05	0.05	0.038	0.035	0.054
Parámetros cinéticos						
μ_{max}	0.33	0.36	0.48	0.32	0.45	0.49
λ	3.27	2.44	1.19	4.32	3.49	2.88
M	6.96	6.24	5.28	7.44	7.29	6.72
Tg	1.31	0.93	0.57	1.16	0.59	0.486
h_0	0.05	0.06	0.031	0.032	0.027	0.039

N₀ Población inicial (Log UFC/ml), C variación poblacional (Log UFC/ml), μ_{max} Velocidad del crecimiento (Log UFC/mL/h), λ fase de adaptación (horas), M Tiempo para alcanzar μ_{max} (horas), Tg Tiempo generacional (h), h_0 Estado fisiológico, R^2 Coeficiente determinación, DS Error estándar.

Fuente: Elaboración propia

Validación de Modelos

Después del desarrollo de los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts usando datos experimentales, estos modelos deben ser validados en situaciones reales. Esto es crítico para poder tener confianza en ellos. La validación debe demostrar que los microorganismos se comportan de manera semejante tanto en el laboratorio como en los sistemas reales.

La validación de los modelos predictivos se realizó, utilizando un hidrolizado de maíz jora germinado cuya matriz química compleja tiene capacidad nutritiva para sostener densidades poblacionales altas de bacterias lácticas iniciadoras, las cuales son muy exigentes en nutrientes biodisponibles para periodos cortos de tiempo y a temperaturas no mesofílicas como 40, 41 y 42 °C, y en estas situaciones el modelo simula las condiciones experimentales.

Los datos que ingresan al modelo provienen de las iteraciones de unidades formadoras de colonias (Log UFC/ml) obtenidos realizando conteos periódicos

para luego graficar el crecimiento de las cepas lácticas iniciadoras de productos fermentados.

Finalmente se compararon los valores observados en las corridas experimentales y en los ensayos de validación, contra los valores predichos por el modelo de Gompertz y Baranyi-Roberts. Igualmente se determinaron los índices de sesgo y precisión, para verificar numéricamente el ajuste del modelo desarrollado.

En la tabla 6, se muestran los índices matemáticos usados para la validación de los modelos que describen el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora a temperaturas de 40, 41 y 42 °C.

Se obtuvieron los coeficientes de determinación del crecimiento de SST provenientes del ajuste de los datos experimentales por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts. Los coeficientes obtenidos son representativos a un 0.98 para el modelo de Gompertz y 0.99 para el de Baranyi-Roberts cuando el crecimiento se efectuó a las temperaturas entre 40 y 42 °C; entendiéndose que el 98% y 99% de las varianzas de la variable dependiente que se estudia se explica por la varianza de la variable independiente, de cada modelo respectivamente. De acuerdo con los valores obtenidos, se demuestra una elevada bondad de ajuste, por tanto, son modelos muy fiable para las previsiones futuras. TABLA 6.

Otro indicador de Bondad del ajuste es el error cuadrático medio (RMSE), el cual determinó la diferencia promedio entre los valores predichos por los mismos modelos utilizados y los valores reales; es una medida de cuán dispersos están estos residuos. Dicho de otra forma, indica qué tan concentrados están los datos alrededor de la línea de mejor ajuste. Cuanto menor sea el valor de este índice mejor es el ajuste del modelo a los datos experimentales (García et al., 2011). En este estudio el modelo de Gompertz muestra valores RMSE de 0.04, 0.04 y

0.25 mucho menores que el modelo de Baranyi-Roberts cuyos valores son 0.15, 0.09, 0.11 ($P_{(p<0.05)}=0.032$), para las temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente.

Estos resultados muestran que el modelo de Gompertz puede predecir el valor de la variable de respuesta en términos absolutos mejor que el modelo de Baranyi-Roberts. Sin embargo, tanto RMSE como R^2 cuantifican qué tan bien se ajusta un modelo de regresión a un conjunto de datos con la diferencia que el RMSE nos dice qué tan bien un modelo de regresión puede predecir el valor de la variable de respuesta en términos absoluto, el R^2 nos dice qué tan bien un modelo puede predecir el valor de la variable de respuesta en términos porcentuales.

La tabla 6 también muestra los índices que hacen referencia a la relación que se encuentra entre las predicciones que puede producir un modelo y las comprobaciones o validaciones del mismo; se determinaron dos índices, ampliamente utilizados; como son el factor BIAS (Bf) y el factor de exactitud (Af).

El factor BIAS o factor de exactitud (Bf) para el modelo de Gompertz para el crecimiento de SST tuvo promedios de 1.01, 0.79 y 0.82 ($P_{(p<0.05)}=0.0008$), cuando los cultivos se realizan a temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente; indicando que el modelo predice con seguridad la velocidad de crecimiento sólo a 40 °C; mientras que a las temperaturas de 41 y 42 °C no es seguro para estimar dicho parámetro.

Cuando se trata del modelo de Baranyi-Roberts el Factor BIAS para la predicción con seguridad la velocidad de crecimiento de SST, alcanza los valores 0.86, 0.78 y 0.86 a temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente. Estos valores demuestran que la expresión del parámetro de crecimiento promedio que brinda el modelo predictivo en el mismo sustrato es <1 inferiéndose que la predicción del modelo no es seguro, predice por debajo de los valores obtenidos experimentalmente.

El factor de exactitud de los modelos, Af, muestra cuánto difieren los valores estimados de la velocidad de crecimiento de SST, de los observados. La tabla 7, muestra los valores de exactitud para el modelo de Gompertz: 1.17, 1.19 y 1.19; para el modelo de Baranyi-Roberts: 0.97, 0.99 y 0.9. Ambos modelos muestran diferencias estadísticamente significativas, por lo que permitir inferir que, si bien ambos modelos permiten una alta coincidencia entre los valores observados y los valores estimados, el modelo de Baranyi otorga mejor calidad de sus productos.

Tabla 6.

Índices matemáticos usados para la validación de los modelos que describen el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *Streptococcus thermophilus* en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora a temperaturas de 40, 41 y 42 °C.

Índices	Modelo de Gompertz			Modelo Baranyi-Roberts		
	Temperaturas			Temperaturas		
	40 °C	41 °C	42 °C	40 °C	41 °C	42 °C
R ²	0.999	0.999	0.999	0.980	0.980	0.980
RMSE	0.035	0.041	0.250	0.149	0.093	0.109
Bf	1.010	0.785	0.820	0.856	0.777	0.856
Af	1.172	1.192	1.188	0.972	0.998	0.972

R² Coeficiente de determinación, RMSE Raíz del error cuadrado medio, Bf Factor de sesgo; Af Factor de exactitud.

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 7, se muestran los índices matemáticos usados para la validación de los modelos que describen el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora a temperaturas de 40, 41 y 42 °C.

Utilizando la técnica de regresión lineal simple se contrastó la velocidad máxima de crecimiento ($\mu_{\max}=\text{Log UFC/ml/h}$) como una función de la temperatura de 40, 41 y 42 °C mediante los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts, los cuales reportaron el Índice de determinación (R^2). Se obtuvieron los coeficientes de determinación del crecimiento de LSB en atención a la μ_{\max} provenientes del ajuste de los datos experimentales por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts. Los coeficientes para el modelo de Gompertz son 0.999, 0.997 y 0.999 y para el modelo Baranyi-Roberts 0.996, 0.997 y 0.998 en relación a las temperaturas de 40, 41 y 42 °C. Este índice es un indicativo de la calidad del ajuste de los modelos a los datos experimentales y por los valores obtenidos se puede observar que la bondad de ajuste de los dos modelos es elevada, de tal forma que permite estimar la proporción o porcentaje de variabilidad presente en los datos experimentales y que es explicada por el modelo; así mismo permite hacer estimaciones de la variación de la variable de respuesta en diferentes valores del factor temperatura, con una precisión aceptable.

Otro indicador de Bondad del ajuste es el error cuadrático medio (RMSE), se usa para medir la distancia entre los valores predichos y reales. En otras palabras, dice qué tan concentrados están los datos alrededor de la línea de mejor ajuste el cual determinó la diferencia promedio entre los valores predichos por los mismos modelos utilizados y los valores reales. Cuanto menor sea el valor de este índice mejor es el ajuste del modelo a los datos experimentales (García et al., 2011).

En este estudio, el modelo de Gompertz muestra valores RMSE de 0.05, 0.11 y 0.21 y el modelo de Baranyi-Roberts 0.04, 0.04 y 0.08 ($P_{(p<0.05)}=0.012$), para las temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente. Estos resultados demuestran que el modelo de Gompertz puede predecir el valor de la variable de respuesta en términos absolutos mejor que el modelo de Baranyi-Roberts.

La tabla 8 también muestra los índices que hacen referencia a la relación que se encuentra entre las predicciones que puede producir un modelo y las

comprobaciones o validaciones de este; se determinaron los índices el factor BIAS (Bf) y el factor de exactitud (Af).

El factor BIAS o factor de exactitud (Bf) para el modelo de Gompertz para el crecimiento de LSB tuvo promedios de 0.92, 0.51 y 0.69 ($P_{(p<0.05)}=0.014$), cuando los cultivos se realizan a temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente; indicando que el modelo no predice con seguridad el valor de la velocidad de crecimiento a dichas temperaturas y los valores observados son superiores a los estimados por el modelo predictivo.

En relación con el modelo de Baranyi-Roberts el Factor BIAS para la predicción con seguridad la velocidad de crecimiento de LSB, alcanza los valores 0.91, 0.79 y 0.77 cuando el cultivo se realiza a temperaturas de 40, 41 y 42 °C, respectivamente. Estos valores demuestran que la expresión del parámetro de crecimiento promedio que brinda el modelo predictivo no es seguro, y los valores predictivos se encuentran por debajo de los valores obtenidos experimentalmente.

El factor de exactitud de los modelos, Af, muestra cuánto difieren los valores estimados de los observados en relación a la velocidad de crecimiento de St,. La tabla 7, muestra los valores de exactitud para el modelo de Gompertz: 1.18, 1.20 y 1.21; así como para el modelo de Baranyi-Roberts: 1.17, 1.19, 1.20. Ambos modelos no muestran diferencias significativas, que permite inferir que uno u otro modelo ajustan los datos experimentales con alta coincidencia de los valores observados y los valores estimados.

Tabla 7.

Índices matemáticos usados para la validación de los modelos que describen el crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* en hidrolizado del grano germinado de maíz de jora.

Modelo de Gompertz	Modelo Baranyi-Roberts
Temperaturas	Temperaturas

Índices	40 °C	41 °C	42 °C	40 °C	41 °C	42 °C
R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
RMSE	0.05	0.11	0.21	0.04	0.04	0.08
Bf	0.92	0.51	0.69	0.91	0.79	0.77
Af	1.12	1.24	1.21	1.17	1.19	1.20

R² Coeficiente de determinación, RMSE Raíz del error cuadrado medio, Bf Factor de sesgo; Af Factor de exactitud;

Fuente: Elaboración propia

CAPITULO VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados.

Propiedades físico-químicos y microbiológicas del hidrolizado de grano germinado del maíz

Se planteó la hipótesis de que las propiedades físico-químicos y microbiólogos del hidrolizado de grano germinado del maíz favorecen el desarrollo del proceso de fermentación del hidrolizado del grano germinado de maíz jora.

Como respuesta a dicho planteamiento, el estudio considera que el hidrolizado de la harina Maíz jora proviene de una grano cuyo contenido de hidratos de carbono y proteínas depende del endospermo; el de grasas crudas y, en menor medida, proteínas y minerales, del germen. En todos los casos, la calidad de las proteínas del germen es muy elevada en comparación con la de las del endospermo y patentemente superior a la calidad proteínica del grano entero (Patterson et al., 1980), estas condiciones permitieron que el producto pueda ser considerado como un sustrato intrínseco muy nutritivo para sostener un crecimiento de bacterias iniciadoras lácticas como Ldb y St., por un periodo de tiempo prolongado. El alto porcentaje de carbohidratos convirtió al HGM en sustrato fermentable el cual existen componentes nitrogenados que permitieron un desarrollo fermentativo traduciéndose en una curva de crecimiento experimental en la cual la velocidad de crecimiento (μ_{max}) se manifestó en forma lineal y, del mismo modo, en los ajustes del crecimiento por los modelos de

Gompertz y Baranyi-Roberts sus indicadores matemáticos indican, a través del análisis de sus varianzas, que no existen diferencias significativas entre ellos ($p_{\alpha} < 0.05$), en consecuencia estos resultados permiten inferir que, los parámetros del crecimiento de las bacterias iniciadores lácticos *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, cultivados en el hidrolizado del grano germinado del maíz jora en condiciones de termotolerancia de 40, 41 y 42 °C crecen favorablemente y que la expresión de los parámetros de crecimiento en función del tiempo entregados por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts son muy cercanos a los observados; sin embargo, comparando ambos modelos existen diferencias estadísticamente significativas; los cuales al ser validados el modelo de Baranyi-Roberts mostró relativamente mayor confiabilidad, seguridad y eficiencia, además de ser biológicamente más interpretativa por incorporar en su estructura la variable h_0 (estado fisiológico); que permite ser utilizado para describir el proceso de la fermentación del hidrolizado del maíz jora.

El hidrolizado del HGM se recepcionó reportando las siguientes propiedades químicas (n=3) °brix, 22.40, pH 6.74 y acidez 0.923, las cuales son suficientes para las demandas de los objetivos de la investigación. Estos valores permiten observar que existen cambios en su composición en relación con su condición en forma de grano. Con estas propiedades se consideró apropiado su utilidad para el proceso de fermentación inoculando las cepas de Ldb y St quienes dispusieron de un entorno en donde los nutrientes del hidrolizado permitieron su crecimiento y desarrollo teniendo como indicadores de la actividad metabólica la disminución de los °Brix y el pH por el incremento del % ácido láctico, dentro de un entorno de termotolerancia de 40, 41 y 41 °C.

En consecuencia, se acepta la hipótesis planteada de que las propiedades físico-químicas y microbiológicas del hidrolizado de grano germinado del maíz favorecen el desarrollo del proceso de fermentación del hidrolizado del grano germinado de maíz jora

El ajuste de curvas de crecimiento

“En el área de la microbiología predictiva la variable dependiente inicialmente es la respuesta primaria correspondiente a los cambios de concentración en una población microbiana en función del tiempo (McMeekin et al., 1997)”. “El resultado de este seguimiento son las llamadas curvas de crecimiento o de inactivación de las cuales se pueden derivar los respectivos parámetros cinéticos de crecimiento o inactivación (Zwietering, 1990)”.

La curva de crecimiento microbiano en un sistema cerrado (como es un alimento) presenta tres fases definidas (Zwietering, 1990). Una fase inicial, la fase lag, de latencia o de adaptación en la que la tasa de crecimiento parte de cero y comienza a acelerarse durante cierto periodo de tiempo. Durante esta fase, las células microbianas se adaptan fisiológicamente a su nuevo ambiente llevando a cabo procesos de síntesis o de reparación si es el caso. La extensión de esta fase depende del ambiente y del estado fisiológico de la población microbiana.

Los parámetros del crecimiento y cinéticos determinados experimentalmente (observados) en HMG se cuantificaron a partir de la representación gráfica que adoptó una curva de tipo sigmoidea en la cual se pudo visualizar rápidamente aquellas segmentos del crecimiento que pudieron resultar inseguras y poco fiables en la práctica que motivó el examen y análisis del coeficiente de determinación (R^2) que fue de mucha utilidad. Así mismo las UFC/ml fueron expresados como Log UFC/ml. Expresar la tasa de crecimiento en escala logarítmica hace que la dispersión de los puntos está distribuido equitativamente sobre un rango más amplio. Sin embargo, las tendencias de los datos pueden pasar desapercibidas en este tipo de representación logarítmica. “La representación de la transformación logarítmica de los parámetros cinéticos es más recomendable pues el error de distribución es homogéneo (te Giffel y Zwietering, 1999)”.

El proceso de fermentación con Ldb se inició con una población entre 5.21 y 5.37, en tanto que St 5.04 y 5.15 Log UFC/ml; valores que son aproximadamente muy cercanos, para ambas cepas; situación que contribuyó a que las respuestas de otros parámetros reflejaran el uso de los sustratos y que las diferencias significativas que se encontraron se produjeron por la actividad metabólica celular, siendo la principal causa la temperatura aplicada, sobre todo entre 40 y 41°C. El mayor incremento poblacional fue a 42 °C para ambas bacterias, que expresados en niveles logarítmicos representan un bajo crecimiento (3.11 para Ldb y 3.13 para St.). Si comparamos el crecimiento en la leche para producir yogur notaremos que la diferencia es semejante. Linares (2016), “en fermentaciones de yogur a 42 °C los recuentos de células viables de *Lb bulgaricus* incremento de 6 hasta 7.88 unidades logarítmicas después de 6 h de fermentación manteniéndose constantes hasta el final de la primera semana de almacenamiento, disminuyendo hasta 5 unidades logarítmicas al final de la tercera semana; mientras que los recuentos de colonias de *S. thermophilus* aumentaron exponencialmente durante las primeras horas de fermentación desde 6 hasta un máximo de 9 unidades logarítmicas, para luego disminuir notablemente después de 24 h°. Así mismo, Escobar (2010) “observó la correlación de las UFC del crecimiento de *L. casei* hasta las 72h, en suero de leche, recuentos entre 10^9 y 10^{10} UFC/mL que son los recomendados para liofilización”.

“En todos los casos, se ha puesto de manifiesto la presencia de valores de bacterias lácticas suficientemente elevados (10^7 - 10^8 UFC/ g) para garantizar su funcionalidad” (Vinderola Y Reinheimer, 2000). “Concretamente, en productos que contienen bifidobacterias y los iniciadores típicos de yogures (*L. delbrueckii ssp bulgaricus* y *S. thermophilus*) se observa que la flora está integrada entre el 6 y el 10% por bifidobacterias (10^6 - 10^7 UFC/g), entre el 70 y el 90% por *Streptococcus* (10^7 - 10^8 UFC/g) y entre el 5 y el 10% por *Lactobacillus* (10^6 - 10^7 UFC/g). En yogures con fermentos convencionales, los estreptococos constituyen entre el 80 y el 90% (10^8 UFC/g), y los lactobacilos entre el 10 y el 20% (10^7 UFC/g) (Sanz, 2003).

Después de la inoculación se presenta la fase Lag el cual es medido en horas y se obtiene extrapolando la tangente en la parte exponencial de la curva de crecimiento, de regreso al nivel del inóculo (Swinnen et al., 2004; Rodriguez, 2005).

En la tabla 3 se presentan los resultados del del crecimiento cinético de Ldb y St en el sustrato de HMG. Se observa que el comportamiento para el crecimiento de las bacterias es diferente en función de la temperatura utilizando el mismo sustrato. La menor fase de adaptación al sustrato (fase lag) para Ldb y St es a 42 °C siendo de 2.12.h y 2.40 h respectivamente. Por experiencia previa, el estudio consideró por conveniente iniciar con una población aproximadamente de 5.0 log UFC/ml, nivel muy conveniente para lograr numeraciones de UFC/ml y visualizar con claridad el incremento poblacional. Teleken (2011) indicaron que “la duración de la fase lag también depende de la concentración inicial de microorganismos (nivel de inoculación); si la concentración es alta (Log UFC/ml), la duración de esta fase es menor”. Bajo estos conceptos, se evidenció que los niveles logarítmicos del crecimiento más altos se alcanzaron a 42 °C (Ldb 2.14 y St 3.13 Unidades logarítmicas), resultados que indican que St se adapta tan igual que Ldb, pero crece generando mayor nivel logarítmico y cuya relación poblacional St/Ldb es 1.46. Coronel (2019), “comparó los niveles de poblaciones entre el Bb y St, durante la fermentación del yogur enriquecido con quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)., pudiendo notar que prácticamente en todo el periodo de tiempo de estudio, St presenta poblaciones mayores que el Ldb. La relación St/Ldb persiste con valores que oscilan entre 1.06 y 1.14. Según Oliveira et al (2014), “en la microbiología del proceso de yogur existe una relación simbiótica St/Ldb de 1:1, 2:1 ó 3:2, especialmente al inicio de la fermentación que puede ser definida como una relación de crecimiento benéfica”.

Una razón es la que menciona Oliveira, et al (2009) “St inicia la fermentación de lactosa hacia el lado ácido Láctico y crece rápido, hasta pH 5.5 formando además sustancias aminadas originadas de las proteínas del lactosuero que, a su vez,

estimulan el crecimiento del Lbd que seguirá reduciendo el pH y formando más aminoácidos que nuevamente estimularán a St. Con el tiempo, sus siguientes caídas de pH Iniciarán una paulatina inhibición de St.”

Las bacterias ácido lácticas después de haber logrado su adaptación al sustrato HGM continuaron con sus crecimientos durante la fase logarítmica (tabla 3), en donde la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}), el tiempo que requieren para alcanzarlo (M) son similares para Ldb y St, ($p>0.05$), dentro del entorno de incubación a 42 °C; mientras que a la misma temperatura el tiempo generacional y el estado fisiológico de Ldb son significativamente diferentes ($p<0.05$) a St., siendo este el que presenta un tiempo generacional menor y estado fisiológico mayor a 42 °C. Al respecto tenemos el estudio de Tipantuña (2020), quien reporta que “siendo el sustrato una bebida fermentada utilizando la Chonta, a 28 °C, las bacterias ácido lácticas inician su crecimiento con 5.42 log UFC/mL hasta las 30 horas con 7.45 log UFC/mL en este tiempo se estableció la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) de 0.1369 (h^{-1}), con tiempo de generación de 5,06 horas; a las 36 horas se observó un reposo de las células con un valor de 7.46 log UFC/mL y a las 42 horas se da un descenso de los microorganismos de 7.42 log UFC/mL.

La evidencia experimental de estos resultados nos muestra que aun cuando las bacterias lácticas puedan ser las mismas, pero las matrices fermentables diferentes, no es suficiente conocer el estado inicial y final del crecimiento; sino que también se deben conocer los parámetros cinéticos que están relacionados con la concentración de aporte de nutrientes en condiciones de biodisponibilidad para el proceso metabólico bacteriano.

Los resultados de este estudio son importantes para describir el proceso de fermentación del hidrolizado del maíz jora germinado obteniendo detalles de los parámetros de crecimiento y cinéticos de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* demostrándose la posibilidad de obtener ácido láctico y otros ácidos para formular bebidas y salsas probióticas.

Los resultados experimentales para el crecimiento de Ldb y St se ajustaron con los modelos primarios de Gompertz y Baranyi- Roberts con la finalidad de conocer si la relación de los valores del crecimiento en función del tiempo obtenidos experimentalmente y sus respectivos parámetros generados puedan ser de la misma magnitud, para el cual los modelos cinéticos utilizados representan una mejor aproximación a los datos experimentales.

En consecuencia, se acepta la hipótesis de que el ajuste del crecimiento, de las bacterias iniciadoras lácticas en el hidrolizado de grano germinado del maíz jora, por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts establecieron los parámetros del crecimiento y cinéticos, en condiciones de termotolerancia, no existiendo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambos modelos.

Validación de los modelos de crecimiento predictivos desarrollados en el hidrolizado de maíz jora germinado (HGM).

La validación de los modelos consiste en una comparación entre los parámetros cinéticos obtenidos por los modelos y los observados en los experimentos para Ldb y St, utilizando índices matemáticos de ajuste a las condiciones de fermentación de hidrolizado de maíz jora germinado a temperaturas de 40, 41 y 42 °C.

Por la importancia que tienen los hidrolizados de granos germinados se requiere de una seguridad que deben tener los modelos predictivos para obtener los parámetros del crecimiento y cinético de las bacterias iniciadores; motivo por el cual, deben tener validez a través de algunos parámetros de juicio, que indican su rendimiento y ajuste.

De todos los parámetros obtenidos experimentalmente es la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max} . Log UFC/ml/h) la que simula la pendiente de la curva de crecimiento cuando el microorganismo crece exponencialmente. Este parámetro

representa a la parte de la curva que es aproximadamente lineal y se determina el valor de su pendiente por regresión lineal y es una relación de primer orden, por lo que será el parámetro que servirá para estimar la valoración del modelo.

De acuerdo con los resultados de R^2 mostrados en la tabla 6, Los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts alcanzan valores altos, muy cercanos a 1.00, para Ldb y St que indica una baja proporción de variabilidad en los datos experimentales que es explicada por los modelos. Concordamos en la interpretación de este indicador con Gutiérrez y De la Vara, (2012) quienes confirman que el R^2 “mide el porcentaje de la variabilidad de la respuesta que es explicada por el modelo sobre la variabilidad total de los resultados”. Estos resultados, al representar una relación de la linealidad entre la variables cuantitativas (μ_{max}) a temperaturas experimentadas, de cada modelo, describen que a un mayor valor de R^2 , los resultados obtenidos se ajustan mejor a los datos experimentales.

Los resultados hallados permiten aceptar la hipótesis de que la validación de los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts permiten estimar el desarrollo de las bacterias iniciadoras lácticas, bajo condiciones de termotolerancia específica, en el hidrolizado del grano germinado de maíz jora otorgando condiciones de elevada bondad de ajuste o precisión del modelo, unido a sus factores de exactitud elevada y bajo valores de sesgo.

6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares.

Estudios similares realizados sobre los Propiedades físico-químicos y microbiológicas del hidrolizado de grano germinado del maíz para ser utilizados en procesos fermentativos lo encontramos en, Guamán y col. (2022) quienes refieren que “las condiciones más adecuadas para la fermentación fueron temperatura de 40°C, pH inicial de $6,5 \pm 0,03$ ”, Briseño y Castro (2014) indican que “las bebidas fermentadas tienen una reacción acida, que es debido a los ácidos orgánicos que ellos contienen; como en el caso de los ácidos tartárico, málico, etc.” Del mismo modo, Carr et al., (2002); Gálvez et al., (2007) consideran

que “ la mayoría de las especies pertenecientes a estos géneros tienen tolerancia a pH por debajo de 5 y la temperatura de crecimiento óptimo es 40°C”. Así mismo, Sierra y col.(2006), establecieron que las condiciones más adecuadas para la fermentación con *Lactobacillus rudii* y el Fermento R-703 fueron a una temperatura de 40°C, pH 6,5 ± 0,03 y 120 horas.

Las condiciones químicas iniciales que ofreció el HGM variaron después del proceso de fermentación con inóculos de Ldb y St para los indicadores químicos °Brix, pH y concentración de ácido láctico en función de la temperatura, de tal forma que a 40 y 41 °C la tendencia fue en aumento, en tanto que a 42 °C fue en disminuir, considerando a que a esta temperatura el efecto es sobre la función metabólica que de alguna forma afecta las reacciones enzimáticas de los microorganismo, aun cuando el crecimiento general se incrementa. Resalta el comportamiento de Ldb que por encima de 41 °C disminuye la producción de ácido láctico alcanzado menor producción a 42 °C, mientras que para St se incrementó sostenidamente hasta el final del proceso fermentativo.

La evidencia científica demuestra que existe efecto de la termotolerancia sobre el crecimiento de bacterias iniciadoras; así tenemos lo hallado por Jurado y col. (2009) quienes “aislaron dos cepas de *Lactobacillus plantarum*, Pro 1b y Pro 2b, que al ser cultivadas a 45°C por 24 horas, presentaron un crecimiento de 1.0×10^7 UFC/ml y 3.0×10^{11} UFC/ml respectivamente. Finalmente, a 38°C por 24 horas, Pro 1b y Pro 2b mostraron un crecimiento de 4.0×10^8 , 5.0×10^9 UFC/ml, y de 1.0×10^8 , 6.0×10^8 y 1.0×10^9 UFC/ml respectivamente. Así mismo, Rojas y col. (2015) reportan que “Ldb y St cultivados en lactosuero a 42 °C tiene mayor consumo de lactosa y, por ende, mayor producción de ácido láctico. Sin embargo, pudieron apreciar que hay un mayor rendimiento para niveles menores de UFC/mL.”

Es necesario considerar que la matriz de fermentación es un hidrolizado de harina de grano de maíz germinado que aporta nutrientes, como aminoácidos biodisponibles y grandes porciones de nutrientes amiláceos, para las bacterias

lácticas, pero en cantidades limitadas que afecta al crecimiento y obliga a la formación de productos del metabolismo secundario; por lo tanto, las bacterias lácticas iniciadoras deben acondicionar su accionar metabólico a un entorno nuevo.

El HGM ofrece una variedad de sólidos solubles (°Brix), que representa a la cantidad de azúcares liberados (22%) a partir de la hidrólisis ácida del almidón y considerado como fuente energética para permitir el crecimiento de las bacterias lácticas, siendo el caso de Ldb que incrementa el porcentaje del consumo de sólidos solubles cuando la fermentación se realiza a 40 °C (38%) y 41 °C (43%) para luego disminuir a 42°C (29%) ($p < 0.05$); mientras que, para St el consumo se incrementa a través de las temperaturas obteniendo el mayor valor a 42 °C (46%).

Valores semejantes presenta el estudio de Olivares y Ricaldi (2013) quienes indican que “el contenido de carbohidratos está relacionado al tiempo de germinación y que los carbohidratos finales que aporta, después de 96 horas, fue de 69%, que usado en procesos de fermentación (20%) sostiene crecimiento elevado de bacterias lácticas”; sin embargo, el hecho que Ldb disminuya el uso de los sólidos solubles a 42 °C puede estar atribuido a que la tasa de supervivientes a esta temperatura existe mayor efecto por el agotamiento de nutriente o por sustancias antimicrobianas presentes en el maíz. Al respecto, Zaręba y Ziarno, (2017) investigaron la viabilidad de las bacterias iniciadores comerciales del yogur a temperatura de 45 °C, Ldb y St, en bebidas a base de arroz y notaron que “ la tasa de supervivencia de los lactobacilos era peor que la de los estreptococos, lo que puede deberse a la influencia negativa de las sustancias antimicrobianas derivadas de la matriz vegetal, el bajo pH y las condiciones de almacenamiento en refrigeración inadecuadas, así mismo, Bustamante (2019), observó que “durante la fermentación del malteado del maíz variedad INIA 603 el grado Brix disminuye hasta 5 Grados Brix evaluados durante (6) días de fermentación,

Se observó que el entorno intrínseco e extrínseco fueron favorables para sostener crecimiento de las bacterias iniciadoras que se traducen en crecimientos de las mismas las cuales merecieron ajustarla con los modelos de Gompertz y Baranti-Roberts los cuales reportaron los parámetros de crecimiento y cinéticos. Así tenemos, los estudios realizados sobre el ajuste de las curvas de crecimiento, como el de Suarez, (2021). demostraron que “durante la fermentación de una bebida a base de harina de pan, con y sin adicción de una preparación enzimática (α -amilasa y glucoamilasa). La velocidad de crecimiento de *Lb. plantarum* fue 0.10 ± 0.01 – 0.12 ± 0.01 y fue inferior a la mostrada por Charalampopoulos et al., (2002) en la fermentación de un sustrato a base de harina de malta ($0,41\pm 0.03$). Este hecho podría deberse a un menor contenido de monosacáridos (glucosa y fructosa) y disacáridos (maltosa y sacarosa) de las bebidas elaboradas en el presente trabajo, que parecen ser necesarios para un crecimiento óptimo de esta bacteria (Charalampopoulos et al., 2002).

Es de especial interés los parámetros de crecimiento y cinéticos que se generaron por la fermentación del HGM a 42 °C, por *Ldb* y *St* los cuales fueron ajustados por el modelo de Gompertz. El análisis comparativo de sus parámetros indica que el crecimiento de *Ldb* es más efectivo que *St*. Una de las razones de esta apreciación se explica en el comportamiento metabólico de las bacterias fermentadoras de *Ldb* y *St*, empezando con el pH del HGM que inicialmente fue de 6.5 por considerarlo apropiado tanto para el sustrato como para la célula bacteriana. Abdel-Rahman et al, (2013) consideran que “con frecuencia el metabolismo propio está influenciado por el pH. “Las bacterias ácido lácticas crecen mejor en condiciones cercanas a la neutralidad; por ejemplo *Streptococcus thermophilus* (pH 6,5), *L. delbrueckii ssp bulgaricus* (pH 5,8 a 6).

Varias características de crecimiento tales como la concentración máxima de biomasa, tasa de crecimiento específico, tiempo de duplicación, consumo de sustrato y los rendimientos del producto son influenciados por el valor del pH (Kask et al., 2003). Investigaciones realizadas por Ani & Wahidin, (2005), “consideraron al pH como un factor importante en la producción de biomasa y

ácido láctico de *Lactobacillus delbrueckii* ssp, en este estudio observaron que a pH 6, la fase lag duró sólo cuatro horas, tiempo significativamente más pequeño que los evaluados en condiciones de pH más bajos, derivado de este estudio, afirman que las células comenzaron a utilizar el sustrato de manera acelerada al inicio de la fermentación, contribuyendo esto a altas tasas de crecimiento celular”.

Investigaciones realizadas por Ani & Wahidin, (2005), “quienes consideraron al pH como un factor importante en la producción de biomasa y ácido láctico de *Lactobacillus delbrueckii* ssp, observaron que a pH 6, la fase lag duró sólo cuatro horas”; en el presente estudio utilizando el sustrato HGM fermentado por Ldb y St el pH fue disminuyendo desde 6.5 hasta 5.0 y la fase de latencia alcanzó tiempos de 1.78 h y 2.95 respectivamente, a 42 °C. Así mismo, dentro de las características fisiológica de St se reporta que “produce entre 0,7 -0,8% de ácido láctico, termo resistente, se desarrolla en forma óptima a temperaturas entre 42–45 °C, la mínima es de 10 °C y la máxima es de 50 °C e incluso 65 °C por media hora, tiene menor poder de acidificación que el *Lactobacillus* (Guamán, 2012). Por otro lado, “la actividad proteolítica en la leche es pequeña ya que los aminoácidos liberados son consumidos durante su fase de crecimiento logarítmico”. (Serna & Rodríguez 2005).

Del mismo modo que Ldb goza de propiedades metabólicas para desarrollar crecimientos en HGM también lo tiene St y que la caracterización de sus parámetros pueden realizarse con el modelo de Gompertz apreciándose que los valores del coeficiente de determinación R^2 son elevados (0.99) y que justifica la bondad del modelo de Gompertz para el ajuste de los datos analizados; sin embargo, el coeficiente de determinación por sí solo, no es suficiente para el análisis de este tipo de modelo, lo cual representa una importante diferencia con el análisis de modelos de regresión lineal, razón por la cual se incluye también el análisis de residuales.

Aguilar (2007) Modeló el crecimiento individual de dos especies de BAL, una como productora de bacteriocinas (*Lactobacillus plantarum*) y otra como no

productora de bacteriocinas (*Lactobacillus paracasei*), en caldo MRS. El ajuste de estos modelos y los parámetros cinéticos estimados para cada una de las réplicas de cuatro microorganismos (*L. plantarum* y *E. coli*, *L. plantarum* y *L. monocytogenes*, *L. paracasei* y *E. coli*; y *L. paracasei* y *L. monocytogenes*): la fase lag, la tasa de crecimiento, la concentración celular inicial (mínima) y la máxima, con base en el análisis de regresión no lineal se pudo concluir que los dos modelos, Gompertz modificado y Baranyi, presentaban un buen ajuste. El SE y el R^2 para cada uno de los modelos mostró que ambos modelos ajustaban adecuadamente a los datos experimentales, siendo 0,420 el SE más alto y 0,971 el R^2 más bajo para la totalidad de las 16 curvas de crecimiento individuales modeladas.

El modelo de Gompertz se basa en los cambios de la velocidad específica de crecimiento. Este es el modelo primario empírico más utilizado y genera una curva asimétrica que simula las fases de latencia, exponencial y estacionaria. El inconveniente es que subestima la velocidad de crecimiento, requiere de datos a lo largo de las fases de latencia, exponencial y estacionaria para una buena predicción (Ramírez, 2011).

El modelo dinámico de Baranyi y Roberts (1994) es un modelo matemático con parte mecanicista que se basa en el principio de que existen sustancias que limitan el crecimiento bacteriano. Asume que el estado de una población homogénea de bacterias se puede caracterizar por los factores fisicoquímicos, el medio extracelular y las condiciones intracelulares. Este modelo describe una curva bacteriana sigmoidea. Presenta 4 parámetros principales: valor inicial, fase de latencia o retraso/interfase, tasa máxima, valor final y 2 parámetros de curvatura: mCurv y nCurv, los cuales describen la curvatura de la curva sigmoidea respectivamente al principio y al final de la fase de crecimiento. Permite cuantificar la cinética de crecimiento microbiano y obtener, por ejemplo, la tasa máxima específica de crecimiento.

El modelo de Baranyi se ajustó a las curvas de crecimiento generadas a partir de los datos experimentales del crecimiento de Ldb y St en HGM los cuales se

presentan en las en la Tabla 3. Al analizar los resultados del proceso de regresión no lineal el modelo de Baranyi describe apropiadamente el crecimiento de las dos cepas en cultivos por separado. Se obtuvieron las desviaciones estándares y el coeficiente de determinación R^2 , siendo el mayor valor de 0.087 y el R^2 de 0.987 para Lbt y para St. 0.04 y R^2 0.96 a 42 °C de incubación por 12 horas. No existiendo diferencias significativas ($p>0.05$) entre el ajuste efectuado por el modelo y los datos experimentales. Del mismo modo, la comparación de la fase de adaptación, el estafo fisiológico y la velocidad de crecimiento, no se encontraron diferencias significativas entre Ldb y St. ($p>0.05$). Estos resultados demostraron que el comportamiento de estas bacterias ácido lácticas en el HGM, es semejante.

La validación de los modelos de crecimiento predictivos desarrollados para el hidrolizado de maíz jora geminado (HGM) actualmente se tiene escas fermentación porque se está utilizando modelos formulados para otras matrices fermentativas, motivo por el cual se requiere saber si los modelos que se utilizan para obtener parámetros de crecimiento cinético pueden dar confianza, precisión y baja probabilidad de sesgos.

Estudios similares sobre modelamientos de fermentaciones en sustratos similares y bacterias ácido lácticas podemos encontrar en Calderon (2017), quien “propuso el ajuste de un modelo para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en la fermentación de sustrato complejo, comparando los parámetros como la tasa de crecimiento específica, al modelo de Gompertz que sugiere una tasa de crecimiento específica ($\mu_{m\acute{a}x}$) 0.12964. La confiabilidad del ajuste determinó un coeficiente de correlación (R^2) igual a 0.982,. Esto describe un ajuste confiable y alto de los parámetros utilizando el modelo de Gompertz.

Chicata (2015) reporta que, “después de realizar el cálculo de residuales respectivos entre los valores experimentales, del crecimiento de *S. aureus* en carne de trucha, según el modelo de Gompertz, los valores predichos, se encontró que el coeficiente de determinación es de 0.9814, el cual se encuentra cerca de la unidad, pudiéndose establecer con un 95% de confianza que se llegó

a una buena predicción utilizando el modelo de Gompertz modificado para la presente investigación”.

Correia (2020) determinó “los parámetros cinéticos μ_{\max} y N_{\max} para bacterias del ácido láctico y *Listeria monocytogenes*, se estimaron ajustando el modelo de Baranyi y Roberts a los datos. La tasa de crecimiento se expresó como tasa de crecimiento máxima (μ_{\max} , log CFU/h). El modelo mostró un excelente ajuste, con un $R^2 \geq 0,98$ y valores bajos de RMSE ($< 0,20$ log UFC/mL). Como era de esperar, un aumento de temperatura de 4 a 20 °C provocó un incremento en μ_{\max} de *Lb. sakei* y *L. monocytogenes* de $0,021 \pm 0,001$ y $0,037 \pm 0,001$ log UFC/h a $0,0275 \pm 0,018$ y $0,328 \pm 0,028$ log UFC/h, respectivamente”.

Balvuelta y col. (2005) El modelo cinético de Gompertz aplicado al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* en leche determinó el coeficiente de determinación R^2 obtenido para este modelo fue de 0,991, lo cual deja bastante claro que existió un buen ajuste. Por otra parte, es importante destacar que, tanto el tiempo mínimo de generación, como la tasa máxima de crecimiento exponencial, representan parámetros microbiológicos descriptivos de la velocidad de crecimiento del microorganismo en el medio o alimento, en este caso leche, estando ambos relacionados matemáticamente, por lo cual, basta con modelar uno de ellos para lograr una función predictiva”.

Leon y col.(2014) “evaluaron el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de cultivos iniciadores durante la maduración del queso tipo Edam. Los datos experimentales ajustados por los modelos matemáticos de Baranyi-Roberts y Gompertz sobre la velocidad máxima de crecimiento exponencial (μ_{\max}) determinaron el coeficiente de determinación (R^2) a temperaturas 30, 38 y 45 °C. En este caso el factor determinante en el crecimiento de cultivos iniciadores es mayor a la temperatura 30 °C disminuyendo la μ_{\max} , a medida que aumenta la temperatura la bondad de ajuste es de $R^2= 0,970$, seguido para temperatura 38°C $R^2 =0,948$, finalmente a 45°C $R^2= 0,889$ para el modelo de Baranyi y Roberts; mientras que; para el modelo de Gompertz es a 30°C $R^2 0.970$, 38°C $R^2 0.948$ y 45°C $R^2 0.889$. De la validación a 30, 38 y 95 °C se determinó que el

modelo Gompertz predice mejor (los índices de factor sesgo (β_f) = factor exactitud (A_f)= 1,00), seguido de Baranyi-Roberts ($B_f = A_f = 0,01$); Por lo tanto, los modelos validados corresponden a Baranyi & Roberts y Gompertz.

Las Tablas 6 y 7, contienen los resultados obtenidos para el estadístico error cuadrado medio (RMSE) los cuales muestran desviaciones reducidas de los datos experimentales frente al ajuste de los modelos. Así tenemos que para St el modelo de Gompertz el valor de RMSE es mayor a los 42 °C y el modelo de Baranyi-Roberts otorga valores similares para las tres temperatura a que fue sometido; mientras que para el caso de Ldb el modelo de Gompertz presenta valores que se incrementó en forma proporcional al incremento de la temperatura; en tanto que, el modelo de Baranyi-Roberts el valor más alto se encuentra a 42 °C. Estos resultados demuestran que la temperatura afecta la velocidad de crecimiento en condiciones de termotolerancia, situación en el cual el estado fisiológico (h_0) es muy influyente sobre el estado metabólico que condiciona a reacciones enzimáticas que estarían funcionando en un estado subóptima iniciándose así, el ingreso a la fase estacionaria.

Se utilizó los índices sesgo y exactitud los cuales expresan la realidad tal cual es del buen funcionamiento de un modelo (Ross, 1996). Estos índices no están basados en la desviación existente entre la respuesta observada y la media, como lo hacen los métodos estadísticos tradicionales. Esta afirmación causa una dificultad cuando se trata de evaluar la fiabilidad de los modelos con nuevos datos, puesto que la principal respuesta es desconocida. Es reconocido que estos factores son herramientas útiles para medir la fiabilidad de los modelos predictivos (Neumeyer y col., 1997b; Dalgaard y Jørgensen, 1998).

El Bias o factor sesgo (B_f) nos indica si los valores observados se encontraron por encima o por debajo de la línea de equivalencia y de esta forma conocer una medida de la desviación estructural de los modelos utilizados en donde $\mu_{\text{predictivo}}$ es el valor de la tasa máxima específica de crecimiento predictiva (h^{-1}) y $\mu_{\text{observado}}$

es el valor de la tasa máxima específica de crecimiento observada (h^{-1}); n es el número de datos o valores.

Con relación a los valores de B_f se observa que el modelo de Gompertz y Baranyi-Roberts estimaron mejor la velocidad máxima de crecimiento exponencial (μ_{max}) de Ldb y St en HGM, ya que presentan valores menores a 1.00, para las temperaturas de 40, 41 y 42 °C (tabla 6 y 7). Este índice señala que las predicciones obtenidas se encuentran por debajo de lo que debieran estar y que se encuentra en la línea de equivalencia. No existe una gran diferencia entre los valores, es decir se encuentran muy próximas a la unidad.

La proximidad de los valores predichos con los valores observados fue estimada por el índice Factor de exactitud (A_f) de los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts. Los resultados muestran que los modelos desarrollados para la velocidad de crecimiento del St en HGM, bajo las condiciones experimentales evaluadas, el modelo de Gompertz presentan valores de A_f entre 1.17 y 1.19; por otro lado, el modelo de Baranyi-Roberts los valores que presenta son muy cercanos a 1.00 y para todas las temperaturas experimentadas (tabla 6), Así mismo, para Ldb los modelos presentaron valores no mayores 1.24 en relación con las temperaturas experimentadas (tabla 7). Estos hechos indican que los ajustes de los puntos experimentales a los valores predichos por los modelos son adecuados, alcanzando estimaciones apropiadas al crecimiento de la población de Ldb y St en función del tiempo y a las condiciones intrínsecas del sustrato HGM y las temperaturas de 40, 41 y 42 °C.

Los resultados obtenidos sobre las validaciones de los modelos utilizados se encuentran dentro de los criterios de Ross (1996) quien afirma que, “los valores de B_f entre 0,9 a 1,0 o 1,0 a 1,05 se consideraran adecuados, mientras que para B_f entre 0,7 a 0,9 o 1,06 a 1,15 son considerados aceptables al momento de realizar predicciones de la estimación de los parámetros cinéticos de crecimiento de los microorganismos”.

Resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Matagaras et al. (2015), quienes en su estudio sobre *Listeria monocytogenes* en embutidos fermentados respaldado por el modelado estocástico y el metaanálisis reportaron valores de A_f de 0,98 y 1,19 así como B_f de 1,05 y 1,22; considerándolos como apropiado para describir el crecimiento del patógeno en entornos fermentativos.

Buelvas (2013) estudió a las bacterias ácido lácticas (BAL), *L. mesenteroides*, como las responsables de deterioros en jamones cocidos lonchados empacados al vacío, determinando sus parámetros de crecimiento ajustando a los modelos de Gompertz. Respecto a la velocidad de crecimiento, explicada por el modelo, se observa una menor B_f (0,0004), es decir, la desviación del modelo a los datos experimentales es muy cercana a cero lo que indica un mayor ajuste entre las observaciones y las estimaciones. La exactitud del modelo se representa con un valor de A_f (1,06) muy cercano a la unidad, que permitirá realizar predicciones más acertadas del comportamiento del *L. mesenteroides* en función de la temperatura de almacenamiento, siendo este el único parámetro que afecta significativamente ($p \leq 0,05$) el crecimiento de este microorganismo durante su almacenamiento.

6.3. Responsabilidad ética

El autor de la presente investigación se responsabiliza por la información emitida en el informe final y manifiesta que el desarrollo de la investigación se llevó de acuerdo con los reglamentos vigentes, respetando los principios y normas que impiden que se utilice la ciencia en detrimento del ser humano o el entorno

CONCLUSIONES

- Las características físico-químicos y microbiológicas del hidrolizado de grano germinado del maíz lo convierte en un sustrato nutricional apto para el crecimiento de las bacterias iniciadoras lácticas que favorecen el desarrollo del proceso de fermentación a temperatura de termotolerancia.

- Los parámetros del crecimiento experimental de las bacterias iniciadoras lácticas obtenidos cuando se utiliza el hidrolizado de grano germinado del maíz jora a temperaturas termotolerantes pueden ser ajustados por los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts obteniendo parámetros del crecimiento y cinéticos estadísticos que comparativamente son semejantes a los experimentales.
- La validación de los modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts indican que ambos modelos tienen una bondad de ajuste elevada para describir el crecimiento de *Lactobacillus delbrueckii* y *Streptococcus thermophilus* en el hidrolizado del grano germinado de maíz jora y por sus valores de exactitud y sesgo se puede inferir que ambos pueden predecir de manera correcta el crecimiento en condiciones de termotolerancia, configurándose como una buena herramienta para la industria alimenticia y los consumidores,

RECOMENDACIONES

- Validar modelos predictivos en microbiología alimentarios en el propio alimento más que en el medio de cultivo
- Estimar el efecto acumulativo de cualquier fluctuación de temperatura durante el procesamiento y distribución.
- Considerar la carga microbiana inicial, la cual es usualmente desconocida y puede estar por debajo del límite de detección.
- Realizar estudios de modelamiento en bebidas de cereales que se consumen en un estado activo de fermentación. El número de cultivos vivos en estos alimentos puede tener enorme potencial como candidatos para la producción de alimentos probióticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AACC. American Association of cereal chemistry (1998). Approved method of the American Association of Cereal Chemists. Vol I Y II. Edited By AACC. Pp. 80-86.
- Adams, M., & Moss, M. (2000). Food Microbiology. Cambridge, GBR: Royal Society of Chemistry.
- Armoa Rojas, Jissel M. Producción de exopolisacáridos a partir de bacterias ácido lácticas utilizando tusa de maíz como fuente de carbono. 2020. Tesis Grado de Maestro en Biotecnología Industrial. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo – Paraguay.
- Aguilar Rivera, C. (2007). Modelación del crecimiento en cultivo mixto de bacterias ácido lácticas y patógenas asociadas a alimentos. Tesis. Maestría. Colombia.
- Bamforth, C. (2008). Food, fermentation and micro-organisms. Chichester, GBR: Wiley.
- Baranyi, J. y Roberts, T.A. (1994). Un enfoque dinámico para predecir el crecimiento de bacterias en los alimentos. Int J. Food Microbiol, v.23, p. 277-294.
- Baty, F. y Delignette-Muller, M.L. (2004). Estimating the bacterial lag time: which model, which precision? International Journal of Food Microbiology, v. 91, p. 261-277.
- Beristain-Bauza, S., Palou, E., & López-Malo, A. (2012). Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 6(2), 64-78.
- Bernal Bustos, C. R., Morales, D., Cuellar, L., Jaramillo, S. (2017). Hidrólisis enzimática de almidón. Revista de investigación. 10(1), 129–140. Recuperado de <https://doi.org/10.29097/2011-639x.70>.
- Buelvas Salgado, G. (2013). Desarrollo y validación de modelos matemáticos predictivos del crecimiento microbiano para estimación de la vida útil en jamón lonchado empacado al vacío. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Cabeza, E. (s. f.). Cultivos estériles: Seguridad, funcionalidad y propiedades tecnológicas. Recuperado 6 de noviembre de 2015, a partir de https://www.academia.edu/992790/Cultivos_Estériles_Seguridad_funcionalidad_y_propiedades_tecnológicas.
- Cacsire Janampa, G.; Ayma De La Cruz, C. Tratamiento Térmico para estabilizar la Chicha de Jora. 2015. Título profesional - Tesis Universidad Nacional de Ingeniería. Perú
- Calderón Vargas, J. F. (2017) Ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de (Trabajo de grado). Fundación Universidad de América. Retrieved from <http://hdl.handle.net/20.500.11839/6598>

- Calvopiña Toapanta y Manotoa Betancourt .2020. Obtención de ácido láctico a partir de lactosuero y almidón de papa mediante fermentación láctica. Universidad central del Ecuador. Facultad de ingeniería química. Ecuador, Quito.
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281–370.
- Chicata Pino M.del R. "Formulación de un modelo matemático para determinar la vida útil de trucha (*oncorhynchus mykiss*) refrigerada utilizando microbiología predictiva. 2015. Tesis. Título Profesional de: Ingeniero Pesquero. Universidad nacional de San Agustín. Arequipa, Perú.
- Correia Peres-Costa J.C. Desarrollo de modelos predictivos de interacción microbiana para y su aplicación para la optimización de cultivos bio-protectores en productos pesqueros. 2020. Universidad de Córdoba (ESP) (España)
- Castro, G.; Valbuena, E.; Sánchez, E.; Briñez, W.; Vera, H.; Leal, M. (2008). Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *Revista Científica FCV-LUZ*. XVIII: pp. 582-588.
- Coronel Feijó, M. A. (2019). Estudio de las características físico-químicas y sensoriales de yogurt enriquecido con quinua (" *Chenopodium quinoa*" Willd).
- Charalampopoulos D, Pandiella SS, Webb C. Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates. *J Appl Microbiol*. 2002;92(5):851-9.
- Charalampopoulos, D; Antonio, J.; Pandiella, S.S. 2009. Modelling and validation of *Lactobacillus plantarum* fermentations in cereal-based media with different sugar concentrations and buffering capacities. *Biochemical Engineering Journal* 44: 96–105.
- Chila Choque, 2014. Influencia de la temperatura, porcentaje de grasa y sólidos no grasos en el crecimiento cinético de bacterias acidolácticas del yogurt. universidad nacional del altiplano. facultad de ciencias agrarias. escuela profesional de ingeniería agroindustrial. Puno, Perú.
- Chilo Ramos, D. (2020). Evaluación de las condiciones de proceso para la elaboración de una bebida fermentada de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild) con inclusión de bacterias ácido lácticas.
- Contreras, A. (2014). Productos de la fermentación alcohólica; un beneficio para la salud. Programa de Ingeniería Química. Universidad de San Buenaventura seccional Cartagena. D. T y C., 2014. Colombia.
- De Vuyst, L. (2000) Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology* 38, 105–112
- Dilli, Zainab Hassan.; De, Nandita.; Sudi, Ismaila Yada, and Ali-Dunkrah, Umaru. A Study on Inhibitory Effects of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* as Probiotics on Some Clinical Pathogens. *Researcher*, 2010;2(11)

- Domínguez, M; alvares, A; (2011). Estudio de la cinética de hidrólisis acida del bagazo de caña de azúcar sin pretratamiento para la obtención de azúcares reductores. Volumen 12. Revista Iberoamericana de polímeros. México.
- Duarte, A. (1998) Introducción a la Ingeniería Bioquímica. Ed. Universidad Nacional de Colombia: Bogotá. 198 p
- Durruty, I. (2013) Biodegradación anaeróbica de efluentes del procesado de papa. UNLP. 107.
- Escobar, L. F., Rojas, C. A., Giraldo, G. A., & Padilla-Sanabria, L. (2010). Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus casei* Y producción de ácido láctico usando como sustrato el suero de leche de vacuno. *Revista De Investigaciones Universidad Del Quindío*, 20(1), 42–49.
- Fernández Limache, Abel; Romero Páucar, Jessica. Evolución de las bacterias ácido lácticas durante la elaboración del tocosh fresco, aislamiento y concentración por liofilización. 2020. Tesis. Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Ferreira CL. 2012 Grupos de bacterias lácticas e aplicação tecnológica de bacterias probióticas. En Ferreira CL (ed). Prebióticos e probióticos Atualização e Prospecção. Rubio LTA, RJ. Brasil. p. 1-27.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Omar, N. Ben. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), 51–70.
- Ganzle, M.G., Ehmann, M. and Hammes, W.P. (1998) Modelling of growth of *Lactobacillus sanfranciscensis* and *Candida milleri* in response to process parameters of sourdough fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 2616–2623.
- García, C., Arrazola, G., & Villalba, M. (2013). Producción de ácido láctico de lactosuero suplementado utilizando *Lactobacillus Casei*. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. Vol 11 No. 1, pp. 136 - 143.
- Giraud, E., Champailler, A., Moulard, S. and Raimbault, M. (1998) Development of a miniaturized selective counting strategy of lactic acid bacteria for evaluation of mixed starter in a model cassava fermentation. *Journal of Applied Microbiology* 84, 444–450
- Gómez López, A. (2017). Nanomedicina y su impacto en la práctica médica. <https://doi.org/10.1016/j.reper.2017.06.003>.
- González-Fernández, C., Santos, E.M., Rovira, J., Jaime, I. (2006). The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo Spanish dry-cured sausage. *Meat Science*, 74: 467-475.
- González-Martínez, Blanca Edelia; Gómez-Treviño, Maribel; Jiménez-Salas, Zacarias. Bacteriocinas de probióticos. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 2003, vol. 4, no 2.
- Guamán Pinto, A. M. (2022). Obtención de ácido láctico a partir del almidón del maíz chulpi (*Zea mays sacchara*) utilizando la fermentación de bacterias ácido lácticas, para su uso en la industria cosmética.

- Guamán, M. P. (12 de Enero de 2012). Incidencia de dos tipos de fermentos comerciales en la elaboración de yogurt tipo ii, empleando leche de cabra. Ibarra, Imbabura, Ecuador.
- Gutiérrez Coronado M.L., Coronado Amaya E., Vázquez Ortiz F.A., López Franco Y.L and Ortega Corona A.. Caracterización física y química de maíz de calidad proteica mejorada. *CyTA . Journal of Food*. Vol. 7, No. 2, August 2009.
- Jurado G, Henry, Aguirre F, Diana, & Ramírez T, Cristina. (2009). Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos. *Revista MVZ Córdoba*, 14(2), 1723-1735.
- Hassan, A.N., Frank, J.F., 2001. Starter cultures and their use. In *Applied Dairy Microbiology*, 2nd edition. , E.H. Marth and J.L. Steele (eds). Marcel Dekker, Inc, New York.151- 206
- Hill, A.R., Kethireddipalli, P. 2013. Dairy Products: Cheese and Yogurt. Part II. Chapter 8. In *Biochemistry of Foods*. Eskin N.M, Shahidi, F. (eds.). Academic Press. 319-362
- Høier, E., Janzen, T., Rattray, F., Sørensen, K., Børsting, M.W., Brockmann, E., Johansen, E. 2010. The production, application and action of lactic cheese starter cultures. In *Technology of Cheesemaking*. Law, B.A. and Tamime, A.Y. (eds). Wiley, Blackwell Publishing Ltd. 166-192
- Hood, L. F. 1982. Current concepts of starch structure. Cap. 13. En "Food Carbohydrates". Lineback, D. R. y Inglett, G.E. (Eds). AVI Publishing Inc. Westport. CT, EUA.
- Huapaya Castillo, C. S. (2014). Elaboración de una bebida probiótica a partir de la fermentación láctica del almidón hidrolizado de harina de quinua *Chenopodium quinoa*. Tesis de grado. Universidad Agraria la Molina Lima Perú.
- ICMSF (1983). *Ecología Microbiana de los Alimentos*. Características de los patógenos microbianos. Editorial Acribia, S.A.
- Johnson, M.E., Steele, J.L. 2013. Fermented dairy products. In *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*, 4th ed. Doyle, M.P., Buchanan, R.L. ASM Press, Washington, DC. 825-839
- Kulozik, U. 1998. Physiological aspects of continuous lactic acid fermentations at high dilution rates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49(5): 506 _ 510.
- Lederberg, J. (Editor). 1992. *Encyklopedia of Microbiology* (2nd edition), The Rockefeller University New York, NY, Vol.3: 1 _ 17.
- León Hanco E.T., Ancco Vizcarra T.; Aro Aro J.M., Calsin Cutimbo M. Evaluation of the effect of temperature on the growth of mould starters during the maturation of edam cheese rtype. *Cienc. desorro.(Taca)* ISSN 2304-8891; 2014.17
- Leroy, F., de Vuyst, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*. 15:

67-78.

- Linares DM, O'Callaghan TF, O'Connor PM, Ross RP and Stanton C. (2016) *Streptococcus thermophilus* APC151 Strain Is Suitable for the Manufacture of Naturally GABA-Enriched Bioactive Yogurt. *Front. Microbiol.* 7:1876
- Loñner, C. and A° kesson, P.K. (1988) Acidification properties of lactic acid bacteria in rye sour doughs. *Food Microbiology* 5, 43–58.
- Martensson, O., Oste, R., & Holst, O. (2000). Acid Bacteria in Oat-based Non-dairy milk substitute: Fermentation characteristics and Exopolysaccharide Formation. *Center of Chemistry and Chemical Engineering*, 50-62.
- Martensson, O., Staaf, J., Duenas, M., Irastorza, A., Oste, R., & Holst, O. (2002). A fermented, ropy, non-dairy oat product based on the exopolysaccharide producing strain *Pediococcus damnosus*. *Advances in Food Sciences*, 57, 4-11.
- Mataragas M, Alessandria V, Rantsiou K, Cocolin. Management of *Listeria monocytogenes* in fermented sausages using the Food Safety Objective concept underpinned by stochastic modeling and meta-analysis. *Food Microbiology*, Volume 49, 2015, Pages 33-40.
- Mayr, E. (2004). *What Makes Biology Unique? Considerations on the autonomy of a scientific discipline*. New York, NY: Cambridge University Press.
- McDonald, K., & Sun, D. W. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International journal of food microbiology*, Vol. 52(1-2), Pág. 1–27.
- Meraz, M., Shirai, K., Larralde, P. and Revah, S. (1992) Studies on the bacterial acidification process of cassava (*Manihot esculenta*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 60, 457–463.
- Meraz, M., Shirai, K., Larralde, P. and Revah, S. (1992) Studies on the bacterial acidification process of cassava (*Manihot esculenta*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 60, 457–463.
- Miguel Ángel Solano-Cornejo^{1*}; Julio Mauricio Vidaurre-Ruiz^{1, 2}. Aplicación de modelos cinéticos no estructurados en el modelamiento de la fermentación láctica de subproductos de pesca. *Scientia Agropecuaria* 8(4): 367 – 375 (2017)
- Monteagudo, J. M & M. Aldavero. 1999. Production of L _ lactic acid by *Lactobacillus delbrueckii* in chemostat culture using an ion exchange resins system. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74: 627 _ 634.
- Obed D. 2011. Eds Min-Tze Liong, *Biology of prokaryotic in Probiotic Biology Genetics and health aspects*. Microbiology Monograph. Springer Heidelberg Dordrecht, New York. p. 1-10.
- Olivares Quincho, Y., Ricaldi Yapiash, K. G. (2013). Efecto del proceso de malteado en las características fisicoquímicas y químicas en la obtención de harina de maíz (*Zea mays*). Tesis. universidad nacional del centro. Perú.
- Olivarez, F. G. O., Gaviria, L. M. A. (2011). Producción de ácido láctico por medio

de fermentación anaerobia y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo. *CICY., Merida-Yutacan.*

- Oliveira, R.P.S., Forence, A.C.R., Silva, R.C., Perego, P., Converti, A.; Gioielli, L., et al. (2009). Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. *International Journal of Food Microbiology*, 128(3), 467 -472.
- Okafor, N. (2007). *Modern Industrial Microbiology and Biotechnology*. Enfield, NH, USA: Science Publishers
- Orozco, F. (2011). Producción de ácido láctico por medio de fermentación anaerobia y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo. Maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán.
- Oyewole, O.B. (1997) Lactic fermented foods in Africa and their benefits. *Food Control* 8, 289–297.
- Ponte López Evelin A., Urbina Mejía Santitos Ch. Elaboración y caracterización de una bebida fermentada a base de una mezcla de maíz de jora (zea mays l.), garbanzo (cicer arietinum l.) y harina de trigo. Tesis. Facultad de Ingeniería E.A.P. Ingeniería Agroindustrial. 2010. Universidad Nacional del Santa. Perú
- Puertas Zeta M. G. Efecto de la cinética de hidrólisis ácida de almidón de maíz (zea mays l.) en el rendimiento para la obtención de etanol. 2018. Tesis. Facultad ingeniería industrial. Universidad nacional de Piura.
- Quintero, R; Garibay, G. (1998). *Biocología Alimentaria*. Primer Edición. Editorial LIMUSA, México.
- Ramírez, (2011), Desarrollo y validación de modelos predictivos dinámicos del crecimiento de staphylococcus aureus en productos cárnicos previo al proceso de cocción, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Tesis de maestría, páginas 1-65
- Rebaza, Teresa D.; Montes, Nilda D.; Ruas-Madiedo, Patricia. Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas provenientes de “Chicha de Siete Semillas”, una bebida fermentada tradicional en Perú. 13ª Reunión de la Red Española de Bacterias Lácticas (RedBAL), Madrid (España) del 17 junio. 2019.
- Reyna, P; Galán, E; (2004). Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. *Rev. Perú Med Exp Salud Pública*. 2009; 26(3): 314-23
- Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernandez, F., & García, J. (2005). *Bacteriología General. Principios y Prácticas de Laboratorio*. Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica.
- Rodríguez, M. R. (2016). *Variabilidad de la inactivación microbiana y de la fase de latencia de los microorganismos supervivientes a un proceso de acidificación*.
- Rojas, Adriana M, Montaña, Liceth P, & Bastidas, Marlon J. (2015). Producción de ácido láctico a partir del lactosuero utilizando *Lactobacillus delbrueckii*

- subsp. bulgaricus y *Streptococcus thermophilus*. *Revista Colombiana de Química*, 44(3), 5-10.
- Ross, T. (1996). Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *J. Appl. Bacteriol.* 81:501-508.
- Salinas y Tumbaco. (2016). Evaluación del efecto de la Inulina sobre la velocidad del crecimiento del microorganismo *Bifidobacterium* en cocultivos con cepas del yogur *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus Thermophilus* en la leche entera de cabra. Tesis. Grado profesional. Facultad de Ingeniería Química. Guayaquil, Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Sanz Y. (2003). Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. *Nutrición Infantil*.
- Sierra, R.T., Trabazo, R.L. y Velázquez, J.B. Productos lácteos fermentados., vol. 4, no. 1, 2006, pp. 54-66.
- Suárez Martín, S. (2021). Desarrollo de una bebida vegetal fermentada a base de cereales. Tesis. Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia) Universidad de Valladolid
- Sun, D. wen. (2012). *Handbook of Food Safety Engineering* (Pág. 1 – 855). Wiley Blackwell Online Library.
- Talavera, T. D. R. A., & Martínez, E. G. Fenoles y polifenoles. *Editores: H. Espinosa Andrews. E. García Marquez.* 2016
- Teleken, J. T., Robazza, W. da S., & Gomes, G. de A.. (2011). Mathematical modeling of microbial growth in milk. *Food Science and Technology*, 31(4), 891–896. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000400010>
- Tipantuña Chiluisa, N. V. (2020). Cinética del crecimiento de microorganismos durante el proceso de fermentación de una bebida ancestral elaborada a partir de chonta (*Bactris gasipaes*) (Bachelor's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).
- Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *En International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 9). <https://doi.org/10.3390/ijms9091621>.
- Taipe Castro, Fredy A. Evaluación de los hidrolizados de *Hordeum vulgare* (Cebada), *Chenopodium quinoa wildnow* (Quinoa) y *Glycine max* (Soya) como sustrato favorable para la elaboración de un producto nutracéutico a base de *Lactobacillus acidophilus*. 2012. Tesis. Facultad de ingeniería química. Universidad Nacional del Callao. Perú.
- Tetlow, I. J., M. K. Morell, and M. J. Emes. 2004. Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants. *J. Exp. Bot.* 55: 2131-2145.
- Turgay, Ö., & Erbilir, F. (2006). Isolation and characterization of *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus casei* from various foods. *Turkish Journal of Biology*, 30(1), 39-44.

- Valbuena Emiro, Barreiro José, Sánchez Egar, Castro Gustavo, Bríñez Wilfido y Tovar Armando. Growth Kinetics Models Applied to *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* in Milk. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XV, Nº 5, 464 - 475, 2005*
- Vinderola, C., & Reinheimer, J. (2000). Enumeration of *L. casei* in presence of *L. acidophilus*, *Bifidobacteria* and *lactis* bacteria in fermented dairy products international. *Dairy Journal* , 271-275.
- Verluyten F., De Vuyst J., L. (2006). Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 270-285.
- Wheater, D. M. (1955). The characteristics of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Microbiology*, 12(1), 123-132.
- Zaręba D., Ziarno M. La viabilidad de las bacterias del yogur en bebidas vegetales seleccionadas. *Zes. Problema Correo. NaukRolln.* 2017; 591:87–96.

ANEXOS

MATRÍZ DE CONSISTENCIA

Título: “PARÁMETROS DEL CRECIMIENTO DE INICIADORES LÁCTICOS EN HIDROLIZADO DEL GRANO GERMINADO DEL MAÍZ JORA UTILIZANDO MODELOS DE GOMPERTZ Y BARANYI-ROBERTS”

Autor: Edgar Zárate Sarapura Lugar de ejecución: Laboratorio Ciencias Naturales

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR	METODOLOGIA
<p>Problema general: ¿De qué forma se puede determinar el comportamiento de las Bacterias Iniciadoras Lácticas en hidrolizado del grano germinado del maíz jora?</p> <p>Problemas específicos ¿De qué manera se puede determinar las característica físico-químicos y microbiológicos del hidrolizado del grano germinado que asegure el crecimiento de las bacterias iniciadoras en el hidrolizado del grano germinado del maíz jora?</p> <p>¿De qué manera se puede establecer la temperatura óptima para determinar el comportamiento de las bacterias iniciadoras lácticas en el hidrolizado del grano germinado del maíz jora?}</p> <p>¿De qué forma se puede caracterizar el crecimiento cinético de las bacterias iniciadoras lácticas para determinar la utilidad del hidrolizado del grano germinado del maíz de jora?</p>	<p>.Objetivo General Determinar los Parámetros del crecimiento de iniciadores lácticos en el hidrolizado del grano germinado del maíz jora utilizando modelos de Gompertz y Baranyi-Roberts</p> <p>Objetivos especificox Caracterizar los parámetros físico-químicos y microbiológicos del hidrolizado del grano germinado en función a la norma para asegurar el proceso de fermentación.</p> <p>Determinar el efecto térmico de 40°C , 41°C y 42°C sobre el crecimiento de iniciadores lácticos del hidrolizado de grano germinado para la obtención de ácido láctico mediante el modelo matemático de Gompertz y Barangy y Roberts.</p> <p>Determinar los parámetros cinéticos del crecimiento de la bacterias iniciadoras lácticas en concentraciones de 3 Log UFC/ml, 5 Log UFC/ml y 8 log UFC/ml sobre el hidrolizado de grano germinado mediante el modelo matemático de Gompertz.y Baranyi-Roberts.</p>	<p>General La determinación de las condiciones de temperatura de 0°C, 2.5°C y 5°C en la carne molida precocinada permitirá la resistencia no térmica de <i>L. monocytogenes</i> mediante el modelo predictivo del programa COMBASE.</p> <p>Específicos Los parámetros cinéticos de <i>Listeria monocytogenes</i> se determinará en función a las temperaturas de 0°C, 2.5°C y 5°C en la carne molida precocinada mediante el modelo predictivo del programa COMBASE.</p> <p>La condición de adaptación a temperaturas de refrigeración modificará la presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en la carne molida precocinada.</p> <p>Los cambios de humedad y pH a concentraciones de 10³, 10⁵, 10⁷ UFC/g de carne molida modificara la presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> mediante el modelo predictivo del programa COMBASE.</p>	<p>Dependientes Hidrolizado del grano germinado del maíz jora</p> <p>Independientes Determinación de los parámetros cinéticos del crecimiento de bacterias iniciadoras lácticas mediante Modelos de gompertz y Baranyi-Roberts.</p>	<p>Consumo de sustrato e incremento de biomasa</p> <p>Independientes Caracterización de parámetros cinéticos</p>	<p>Dependientes Disminución de sustrato amiláceo</p> <p>Independientes UFC/ml Variacion: $\mu_{max} = \text{Log UFC/g/h}$ Fase lag λ (Horas) Tg= Horas</p>	<p>Cultivo bacteriológico</p> <p>Modelo predictivo del programa DMFit del Combase/PMP/SSP</p> <div style="text-align: right;">  Mg. Edgar Zárate Sarapura Responsable del Proyecto </div>