

**Mejoramiento de un Proceso de Fermentación de Almidón de Yuca a Escala
de Laboratorio**

Esteban González Rodríguez

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
QUÍMICA FARMACÉUTICA
Santiago de Cali
2018

**Mejoramiento de un Proceso de Fermentación de Almidón de Yuca a Escala
de Laboratorio**

Esteban González Rodríguez

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TITULO DE
PREGRADO EN QUÍMICA FARMACÉUTICA

DIRECTOR

Andres Felipe Dávalos Velez

CO-DIRECTOR

Nelson Humberto Caicedo Ortega

Santiago de Cali

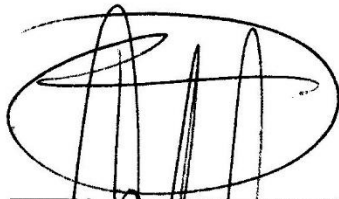
2018

Aprobado por:

Noen E. Valderruten

Nora Elena Valderruten Posso

EVALUADOR



Andrés F. Dávalos Velez
Director del Proyecto



Nelson H. Caicedo Ortega
Co-director del Proyecto

Santiago de Cali
06 de Junio de 2018

AGRADECIMIENTOS

“Fermentación y Civilización son inseparables”
Jhon Ciardi

El desarrollo de este proyecto no podría haberse dado sin la colaboración del señor Guillermo León Buitrago, dueño de la rallandería con la cual se está trabajando, el cual siempre se mostró dispuesto a facilitar el material para poder desarrollar el proyecto. Así como el profesor Martín Moreno y el señor Gustavo Velez de Deriyuca, que también colaboraron con información técnica y con materia prima necesaria para desarrollar los experimentos.

Agradecer a los señores: Jhon Belalcazar, quien amablemente compartió información y sugerencias para el desarrollo del proyecto y se mostró abierto a colaborar con las inquietudes del proyecto. Thierry Tran y Dominique Dufour por su tiempo y disposición para ayudar a resolver muchas dudas respecto al proyecto. Jhon Larry Moreno, por su disposición de compartir información. Y finalmente al señor Roosevelt Escobar por ayudar a crear un puente con el personal que trabaja con esta área en el CIAT. Todas las personas mencionadas anteriormente hacen parte del CIAT.

También extender un agradecimiento al profesor Nelson Caicedo por facilitar el espacio y los recursos del laboratorio de investigación que él lidera para poder realizar todos los experimentos que se propusieron para cumplir los objetivos del proyecto. Además, es la persona quien recibió la inquietud del productor y ve en esta, una potencial fuente de investigación. Así, mismo a Eliana Hidalgo quien es la coordinadora del laboratorio de investigación donde se realizó el proyecto.

Agradecimiento a mi tutor, Andrés Felipe Davalos por la confianza que mostro en mí, como estudiante de proyecto de grado, investigador, monitor y amigo, la cual espero haber retribuido de la mejor manera.

También quiero mostrar un gran agradecimiento a Sara Mejía, quien con su gran talento para el diseño ayudó a darle ese toque elegante y efectivo a las presentaciones de este proyecto. Y, con lo cual buscamos cambiar el paradigma que viene marcando la comunicación científica en este tipo de trabajos, esperando que sean agradables y fáciles de digerir para todo el público. Además, ha sido una persona que ha estado conmigo en tiempos buenos y malos y que sé que podré contar con su juicio, talento y disposición a ayudar por mucho más.

Por último, agradecer a mis padres, que, no sólo madrugaron muchas veces a acompañarme al Cauca a traer almidón y visitar al productor. Sino que han sido pacientes y depositaron un voto de confianza en mí esperando más tiempo que el que debían, para poder ver la consumación de este logro. Y, para poder vivir sin el yugo de una deuda, y con la libertad que espero que me acompañe el resto de la vida.

Finalmente, agradecer a quienes no se mencionan, pero aportaron a este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	12
2. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE GRADO.....	14
2.1 Planteamiento del Problema:.....	14
2.2 Marco Teórico.....	15
2.2.1 El Almidón Agrio de Yuca en la Región:	15
2.2.2 Proceso de Fermentación:	17
2.2.3 Aproximaciones para Acelerar el Proceso de Fermentación:	19
2.2.4 Capacidad de Expansión del Almidón Agrio de Yuca:	21
2.2.5 Retos de la Agroindustria Almidonera:.....	22
2.3 Objetivos.....	23
2.3.1 Objetivo general:.....	23
2.3.2 Objetivos específicos:	23
2.4 Metodología	23
2.4.1 Análisis de Acidez Titulable y pH:	24
2.4.2 Recuento de Bacterias Ácido Lácticas (BAL):	24
2.4.3 Secado al Sol:.....	25
2.4.4 Capacidad de Expansión:	25
2.4.5 Caracterización del Almidón Producido en la Rallandería:	26
2.4.6 Preparación de Inóculo:	26
2.4.7 Fermentaciones Experimentales de Almidón de Yuca a Escala de Laboratorio:.....	26
2.4.8 Seguimiento y Muestreo de las Fermentaciones Experimentales:	27
2.4.9 Experimentos Previos:	28
2.4.10 Herramientas Estadísticas:	28
2.4.11 Experimentos Adicionales:.....	28
2.5 Resultados y Discusión	29
2.5.1 Caracterización del Almidón Producido en la Rallandería:	29
2.5.2 Resultados Obtenidos de las Fermentaciones Experimentales:	34
2.5.3 Resultados de los Experimentos Previos y Adicionales:.....	44
2.7 Conclusiones	45
2.8 Recomendaciones	48
3. BIBLIOGRAFÍA	49

LISTA DE TABLAS

- **Tabla 1.** Valores obtenidos de Acidez Titulable y pH para diferentes tiempos de fermentación en el sitio de producción.
- **Tabla 2 a-d.** Análisis subjetivo de cada uno de los experimentos durante el tiempo de fermentación.
- **Tabla 3.** Capacidad de expansión del experimento, en general; una vez se cumplió el tiempo de fermentación.
- **Tabla 4.** Resultados obtenidos para los parámetros de índice de expansión y acidez titulable después de 30 días de fermentación.

LISTA DE GRÁFICAS

- **Gráfica 1.** Comportamiento de la acidez durante el tiempo de fermentación del almidón de yuca en el sitio de producción
- **Gráfica 2.** Comportamiento del pH durante el tiempo de fermentación del almidón de yuca en el sitio de producción
- **Gráfica 3.** Recuento de bacterias Ácido-Lácticas en agar MRS década uno de los días de fermentación muestreados.
- **Gráfica 4.** Comportamiento de la capacidad de expansión del Almidón de Yuca en cada tiempo de fermentación.
- **Gráfica 5.** Comportamiento del pH para cada una de las condiciones experimentales a escala de laboratorio.
- **Gráfica 6.** Comportamiento de la acidez titulable durante el tiempo de fermentación, en cada una de las condiciones experimentadas.
- **Gráfica 7.** Comportamiento de BAL durante el tiempo de fermentación de cada uno de los experimentos. El valor "Referencia" corresponde al promedio de BAL obtenido en la caracterización.
- **Gráfica 8.** Comportamiento de la capacidad de expansión en cada uno de los tratamientos experimentales evaluados. Se grafica el promedio del índice de expansión de tres biscochos.
- **Gráfica 9.** Comportamiento de la capacidad de expansión de cada uno de los experimentos respecto al tiempo de fermentación.

LISTA DE FIGURAS

- **Figura 1.** Mapa del proceso de producción de Almidón Agrio de Yuca y Almidón Dulce de Yuca.
- **Figura 2 .** Biscochos obtenidos de la prueba de capacidad de expansión hecha al almidón fermentado que se está estudiando. De izquierda a derecha se ubican en el siguiente orden: almidón sin fermentar, 3, 6, 12, 18, 24, 26 y 94 de fermentación.

LISTA DE ANEXOS

- **Anexo 1.** Imágenes tomadas a los biscochos resultantes de la prueba de capacidad de expansión después de 15 días de fermentación. Su orden es, de arriba hacia abajo: Almidón sin fermentar, TA, TB, TC y TD.
- **Anexo 2.** Imágenes tomadas a los biscochos resultantes de la prueba de capacidad de expansión después de 24 días de fermentación. Su orden es, de arriba hacia abajo: Almidón sin fermentar, TA, TB, TC y TD.
- **Anexo 3.** Imágenes tomadas a los biscochos resultantes de la prueba de capacidad de expansión después de 30 días de fermentación. Su orden es, de arriba hacia abajo: Almidón sin fermentar, TA, TB, TC y TD.
- **Anexo 4.** Gráfica de intervalos de confianza para los valores promedio de índice de expansión.
- **Anexo 5.** Tabla de resultados para el recuento de BAL para el almidón producido en la rallandería.
- **Anexo 6 y 7.** Tabla de resultados para acidez titulable para el almidón producido en la rallandería (izq). Tabla con los resultados de capacidad de expansión para el almidón producido en la rallandería (der).
- **Anexo 8.** Resultados de acidez titulable y pH para los almidones fermentados a escala de laboratorio.
- **Anexo 9.** Tabla de resultados para la capacidad de expansión de los almidones fermentados a escala de laboratorio.
- **Anexo 10.** Tabla de resultados para el recuento de BAL en los almidones fermentados a escala de laboratorio.
- **Anexo 11.** Reporte de análisis, de la calidad del agua utilizada por el productor para el proceso de fermentación del almidón de yuca.

RESUMEN

El pan de yuca, pandebono, besitos y rosquillas “caleñas”, son productos reconocidos por muchas personas en la región y en el país. Y, son productos que hacen parte de la tradición culinaria del país. Sin embargo, muy poco se conoce del ingrediente más importante en la fabricación de estos productos: el Almidón Agrio de Yuca.

El Almidón Agrio de Yuca, es el resultado de la transformación del almidón extraído de la raíz de yuca por agentes químicos, físicos y biológicos que le confieren características físicas y organolépticas que lo hacen único. El principal rasgo diferenciador de este almidón es su capacidad de dar volumen a estos amasijos tradicionales sin necesidad de leudantes químicos o biológicos.

Este producto se viene fabricando en la región del Norte del Departamento del Cauca hace más de 35 años, y se ha ubicado como uno de los renglones productivos de esta región; llegando a trabajar en conjunto con los agricultores productores de Yuca del departamento. Sin embargo, este proceso de fabricación ha caído en un estado de letargo que ha provocado que se quede con procesos característicos de industrias sumamente artesanales; cosa que no se observa con los demás sectores de la economía, los cuales han crecido junto con la población y con las exigencias.

Uno de los procesos clave para la producción de este producto, es la fermentación del almidón de yuca. Es en este proceso donde agente químicos y físicos producen cambios estructurales en el almidón de yuca que posteriormente son completados por el efecto de la luz ultravioleta durante el secado al sol. Pero, este proceso, por ser espontáneo puede llegar a ser muy variable; y debido al manejo artesanal que se le ha dado ha sido fuente de mitos y prácticas que no benefician su desarrollo.

Por tal motivo, este proyecto buscó utilizar parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y de capacidad de expansión para entender el proceso de fermentación de un productor de almidón de yuca de la región y poder proponer mecanismos para mejorar su proceso de fermentación, que fueron evaluados a escala de laboratorio.

De este proyecto se logró determinar: que el proceso de fermentación que realiza el productor se puede estar produciendo almidones de buena calidad mucho antes de lo que estipulan. Sin embargo, no habían logrado determinarlo por la falta de seguimiento que se le da al proceso. Además, que es posible que mediante la adición de un inóculo de almidón fermentado al proceso de fermentación y Glucosa (cuando el sistema alcanza valores alrededor de 3,8); se pueda producir Almidón Agrio de Yuca con una mejor capacidad de expansión (2,24) en comparación al Almidón Agrio del productor (1,84). Finalmente, que es posible que la fermentación se pueda realizar en un menor tiempo (15 días).

Palabras clave: fermentación, almidón agrio de yuca, parámetros, capacidad de expansión, tiempo.

ABSTRAC

The “pan de yuca”, pandebono, “besitos” and rosquillas "caleñas" are products recognized by many people in the region and the country. They are products that are part of the country's culinary tradition. However, very little is known about the main ingredient in the manufacture of these products: the Sour Cassava Starch.

The Sour Cassava Starch, is the result of the transformation of the starch extracted from the root of cassava by chemical, physical and biological agents that give it physical and organoleptic characteristics that make it unique. The main differentiating feature of this starch is its ability to give volume to these traditional doughs without the need for chemical or biological leavening.

This product has been manufactured in the northern region of the Department of Cauca for more than 35 years and has been located as one of the production lines of this region; coming to work in conjunction with the farmers producing cassava from the department. However, this manufacturing process has fallen into a state of lethargy that has caused it to be left with processes characteristic of extremely traditional industries; which is not observed with the other sectors of the economy, which have grown together with the population and with the demands.

One of the key processes to produce this starch is the fermentation. It is the process where chemical and enzymatic agents produce structural changes in cassava starch that are later completed by the effect of ultraviolet light during sun drying. But this process, because it is spontaneous, can become very variable; and due to the artisanal management, that has been given to it, has been a source of myths and practices that do not benefit its development.

For this reason, this project sought to use physicochemical, microbiological and expansion capacity parameters to understand the fermentation process of a cassava starch producer in the region and to propose mechanisms to improve its fermentation process, which were evaluated at the scale of laboratory.

This project could find that good quality starches can be produced sooner than they stipulate. However, were not possible to know it due to the lack of follow-up given to the process. In addition, it is possible that by adding an inoculum of fermented starch and glucose (once fermentation has reached pH values around 3.8); obtain Sour Cassava Starch with better expansion capacity (2.24) than Sour Cassava Starch obtained by the producer. Finally, it is possible that the fermentation can be carried out in a shorter time (15 days).

Keywords: fermentation, sour cassava starch, parameters, expansion capacity, time

1. INTRODUCCIÓN

En el departamento del Cauca tiene lugar una agroindustria poco conocida para los habitantes del casco urbano. Esta, consiste en transformar artesanalmente el almidón extraído de la raíz de yuca (*Manihot esculenta*) en un nuevo producto con cualidades reológicas, alimentarias y culinarias particulares. Este producto conocido como “almidón agrio” se diferencia del almidón de yuca natural o “dulce”, no solamente en su sabor y olor; este almidón agrio logra dar volumen a las preparaciones en las cuales es usado, sin necesidad de usar leudantes (levadura/polvo de hornear). Por tanto, este es ampliamente usado en la preparación de recetas que nos identifican como colombianos tales como: el pandebono, pan de queso, pan de yuca, rosquillas y besitos “Caleñas” (Alarcon&Dufour, 1998) e incluso han incursionado en la fabricación de productos novedosos como las Arepas de Yuca. El efecto del almidón agrio en estos productos (excepto las arepas) es: aportarle una estructura alveolar, hueca o con cavidades, olor característico (fuerte más no desagradable) y un sabor que oscila entre la fuerza del ácido, toques dulces y se acentúa el sabor lácteo del queso (característica destacada en las arepas).

La capacidad expansiva del “almidón agrio”, sus propiedades alimenticias, olor y sabor, vienen dados por el sometimiento del almidón de yuca recién extraído de la raíz a un proceso de fermentación espontáneo (generalmente) llevado a cabo por bacterias y hongos (Cereda & Brito). En este proceso, los diferentes ciclos de vida de estos microorganismos llevarán a la degradación enzimática de los gránulos de almidón. Además, se da la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico; lo cual lleva a una acidificación fuerte del medio y con esto a desencadenar procesos de hidrólisis ácida en las cadenas de almidón. Por otro lado, se tiene la producción de compuestos volátiles que le confieren un aroma característico al producto (Cereda & Brito). Esta mezcla compleja de subproductos generados en el medio y la energía de la radiación ultravioleta que recibe el almidón durante el secado, llevan al entrecruzamiento de las cadenas que han quedado intactas en el almidón con dextrinas que han quedado de la degradación enzimática e hidrólisis ácida. Una vez se han formado estas nuevas “capas” en el gránulo, el vapor que escapa durante el horneado las alinea llevando a esta forma alveolar e inflada (Marcon 2009).

Este proceso fermentativo se ha descrito que es realizado principalmente por bacterias ácido lácticas anaeróbicas/facultativas, hongos levaduriformes o filamentosos con capacidad amilolítica y algunas especies de bacilos gram-positivos esporulados (Carvalho 1996; Chiquiza; Correa; Dufour,1996; Cardenas Buckle 1980).

A pesar de haber identificado en esta agro-industria un potencial económico y social (Gottret-caracterización). Y haber propuesto proyectos de fortalecimiento de esta principalmente en cabeza del CIAT. Es notorio al visitar esta región del Cauca que no ha habido una intervención fuerte por parte de los diversos actores tanto gubernamentales como académicos que lleven a un crecimiento de todos los

ralladeros de la región. El avance tecnológico puede percibirse en algunos pocos casos donde hay más solvencia económica por parte de los dueños. Además, está más enfocado a la actualización o compra de maquinaria más moderna o a la ampliación de la capacidad de procesamiento de raíces de yuca. Sin embargo, la cooperativa que era la encargada de facilitar la venta sin intermediarios del almidón agrio se debilitó hasta el punto de desaparecer; los precios de la yuca en la región son elevados respecto a otras regiones como los llanos orientales lo que lleva a que algunos ralladores traigan la materia prima desde esta región. Y, la competencia ha comenzado a surgir en otras regiones del país donde se produce un mayor volumen de la raíz a precios más bajos y se han hecho grandes inversiones privadas para construir la infraestructura que procese esta materia prima.

Estos vacíos en la comprensión del proceso que han dejado tantos años de desatención a los productores de la región. Han llevado a que se presenten problemas en la producción de su mercancía. El principal problema es la dilatación del proceso de fermentación. Este proceso debería completarse al cabo de 20 a 70 días (Coutinho, 2010), dando un almidón de una buena capacidad expansiva. Sin embargo, puede extenderse hasta los 90 o más días lo cual conlleva a que se tarde más el producto en ser comercializado y por ende que no haya un ingreso económico por el producto.

Este problema demuestra la falta de conocimiento de los productores locales sobre este proceso fermentativo y sobre las herramientas, aunque pocas, que dispone para monitorear la calidad de su producto. También, demuestra que existe la necesidad de que las instituciones académicas de la región se interesen más por comprender e ir más al detalle en la comprensión de un proceso fermentativo tan complejo como este. Y, sea capaz de llevar este conocimiento a los productores de "almidón agrio". Si un productor pudiera tener la evidencia de cómo se está comportando su proceso y un conocimiento más detallado de los procesos biológicos que en él están ocurriendo, podría hacer análisis más profundos sobre los problemas que se le están presentando; llegar a sus propias conclusiones y generar propuestas de mejora basadas en la evidencia.

Entonces, con el fin de acercar, un poco, más la academia hacia el sector manufacturero; se propuso para este proyecto: entender cómo se dan estos procesos de fermentación en este tipo de sustrato, analizar el caso puntual del productor de Almidón Agrio de Yuca para detectar posibles variaciones en el desarrollo de su fermentación y basados en los trabajos que han realizado otros investigadores, hacer una propuesta que lograra mejorar su proceso de fermentación.

2. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE GRADO

2.1 Planteamiento del Problema:

Este proyecto surge de la necesidad particular de un productor de la región del Cauca, el cual recurre a la academia en busca de mejorar su proceso de producción de Almidón Agrio de Yuca, y con esto mejorar la rentabilidad de su negocio.

Actualmente el productor está teniendo problemas con los tiempos de fermentación del almidón de yuca. Los cuales se extienden hasta los 100 días. Esto genera un problema de flujo de caja importante, ya que puede tardar hasta 3 meses para poder recuperar la inversión hecha en materia prima; cuando en la región hay productores que están colocando su Almidón Agrio de Yuca en el mercado en 20 días. Se ha reportado que el tiempo promedio de fermentación para obtener Almidón Agrio de Yuca de buena calidad es de 30-60 días. Estas demoras, se pueden asociar al desconocimiento del proceso de fermentación y los cambios que el almidón de yuca sufre durante este proceso de transformación, que ha llevado a que se difundan prácticas empíricas, que no son de gran aporte al proceso. Este problema se ve intensificado por la falta de pruebas de calidad, que se le realizan al producto.

Si se logran definir cuáles son las variables más importantes para el desarrollo del proceso, y se logran establecer valores de referencia se daría un paso más hacia la estandarización del proceso de producción de Almidón Agrio de Yuca, lo que generaría que se tuviera un producto con una calidad más consistente, y con esto un aumento en la confianza de los compradores del producto. Además, se espera como un resultado colateral, que se comiencen a cambiar ciertas prácticas en la producción de este producto, las cuales, desde el punto de vista sanitario podrían llevar al cierre de muchas de estas productoras. Estas mejoras traerían claros beneficios económicos para el productor, los cuales deberían repercutir positivamente en sus trabajadores, familia y en consecuencia a la región.

No obstante, se espera que el beneficio no sea centralizado en el productor con el cual se está trabajando. Sino que este proceso de generación de conocimiento y de nuevas formas de trabajar estos procesos; conlleven a que tanto el productor como el autor pueda ser replicador de conocimiento en el sector y ayudar a mejorar los procesos de otros productores, lo cual ampliaría el impacto del trabajo.

Por último, se espera que este proyecto genere nuevas perspectivas respecto al desarrollo y la mejora de este proceso de fermentación que permitan continuar una línea de investigación que se centre en este proceso, su comprensión, mejora y manejo de desechos. Y, que estas nuevas perspectivas sean tenidas en cuenta por la comunidad académica nacional e internacional, ya sea para ser replicadas o para ser refutadas; así como muchos autores de diferentes partes del mundo lo han sido en este proyecto.

2.2 Marco Teórico

2.2.1 El Almidón Agrio de Yuca en la Región:

La región del Cauca es la encargada de producir el 83,1% del Almidón Agrio de Yuca del país según el DANE (2003). Gottret, Henry & Dufour (1997b) reportan que, esta agroindustria data de los años cuarenta cuando se daba como una actividad doméstica entre las amas de casa, para poder preparar productos de panadería en su hogar. En los años cincuenta, se comienza a hablar de una agroindustria del Almidón Agrio de Yuca, la cual nace para poder satisfacer las necesidades de este producto en la región. Esta agroindustria ofrece alrededor de 800 empleos directos y beneficia aproximadamente a 3400 personas (Gottret, Henry, & Dufour, 1997a). En esta región, se estima que el 90% de la Yuca producida es utilizada para la producción de Almidón Agrio dejando el 10% restante para consumo humano directo, para alimentación de ganado o extracción de almidón dulce

Sobre el cultivo de la yuca en el Cauca, es importante destacar que el 97% de los productores siembra utilizando un método tradicional. Además, el 51% de los procesadores de almidón de la región son dueños de sus propios cultivos de yuca. (Alarcón & Dufour, 1998). Hasta el momento el CIAT ha reportado que en la región predominan seis variedades de yuca, de las cuales 4 de estas tienen un doble propósito (industrial/consumo humano), hay 1 variedad de uso industrial y una para consumo humano (CIAT/Clayuca, 2006). Sin embargo, (Gottret et al., 1997a) reportaron que la variedad más usada para la producción de Almidón Agrio es la Algodona (MCol1522), la cual no se encuentra dentro de las variedades destacadas en el documento del CIAT; esta variedad recibe cierto culto por los productores de Almidón de Yuca, ya que dicen que con esta se pueden obtener almidones agrios de muy buena calidad, en poco tiempo. Actualmente la variedad Algodona está siendo reemplazada por otras variedades debido a un aumento importante en su precio de venta. El productor con el cual se está trabajando, informa que el utiliza principalmente la variedad "Amarga", que en el catálogo de variedades del CIAT es llamada MBra12. Esta variedad al no ser apta para el consumo humano por su alto contenido de cianógenos, no es proclive al hurto (Alarcón & Dufour, 1998); y al ser una variedad más resistente que la Algodona, su precio es más favorable para el productor. Y, esta variedad ha sido recomendada por el CIAT para su uso en la producción de almidón agrio ya que su almidón tiene buenas características de expansión (Alarcón & Dufour, 1998). En Septiembre de 2016, el instituto ICA, lanza dos nuevas variedades de Yuca con un perfil muy beneficioso para los productores de Almidón Agrio ya que muestra un alto rendimiento, un mayor contenido de materia seca y mayor resistencia a plagas y enfermedades (Corpoica, 2016); no obstante aún no se conoce sobre su desempeño en la agro-industria del Almidón Agrio.

La producción del Almidón Agrio se da en plantas que conservan características rudimentarias en su acomodación y su maquinaria. Si bien en la década de los 80's y parte de los 90's, hubo un apoyo institucional de diversas ONG's y Centros Internacionales (CIAT, CIRAD), la cual permitió que las condiciones técnicas

mejoraran ligeramente en algunas plantas de producción; no todos los productores tienen el capital para aplicar muchas de las recomendaciones aquí dadas, o simplemente no conocen esta información. De estos trabajos surge un libro llamado “Almidón Agrio de Yuca en Colombia Tomo I y II” el cual busca difundir los hallazgos técnicos y socioeconómicos que hubo en la década de los 90 y 80 con diversas investigaciones de estas organizaciones y que sirva como una guía para la mejora de las plantas de producción de Almidón Agrio de Yuca.

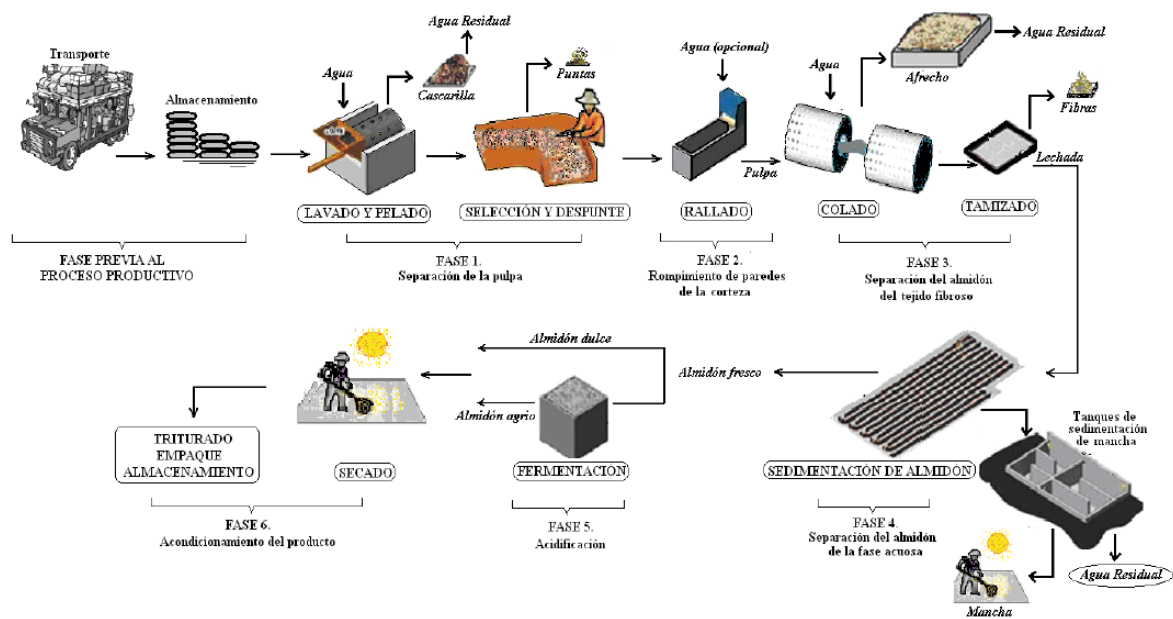


Figura 1. Mapa del proceso de producción de Almidón Agrio de Yuca y Almidón Dulce de Yuca. Fuente: Torres, Pérez, Marmolejo, Ordóñez, & García (2010)

El almidón agrio, es vendido principalmente a intermediarios, estos llevan el producto a centros urbanos cercanos, ya sea para comercializarlo con el cliente final o revenderlo y que llegue a las ciudades principales. Muy pocos venden el producto directamente a las panaderías. Y, más pocos los que venden su Almidón Agrio a las industrias productoras de pasabocas (Gottret et al., 1997a). Los autores anteriormente citados, mencionan que algunos productores vendían su almidón por medio de una Cooperativa de la región. Pero, en una visita realizada a la región, algunos productores cuentan que: la Cooperativa no ha estado cumpliendo muy bien su papel y que está un poco dividida. Algunas rallanderías manejan un modelo de negocio donde venden su almidón a un segundo rallandero, con el propósito que este mezcle su almidón con uno de menor calidad para aumentar el rendimiento y, por ende, sus ganancias. Sin embargo, este modelo atropella un poco el trabajo hecho por el vendedor y hace ver subvalorado el producto.

2.2.2 Proceso de Fermentación:

El productor de Almidón Agrio con el cual se ha venido trabajando, dice que: “él quiere saber cuál es el secreto de la fermentación”. Pero, pareciera que este “secreto” no es tan secreto. En 1980 se hace una primera aproximación para conocer la naturaleza de este proceso de fermentación y entender de donde provenía la acidez que este generaba. Los autores encontraron que la mayor proporción de la población de microorganismos presentes en almidones agrios del departamento del Cauca, correspondían a bacterias microaerófilas. Adicionalmente, describen que el microorganismo con mayor presencia es un bastón gram-positivo que corresponde al grupo de las Bacterias Ácido-Lácticas (BAL). Y, del grupo de las BAL, se identificó que la más común era *Lactobacillus plantarum*. También, hallaron bacilos gram-positivos esporulados, levaduras y *Geotrichum candida*. Los autores compararon sus resultados con estudios microbiológicos hechos en África en un alimento fermentado a base de yuca llamado *Gari*, encontrando que en ambos estaba presente el *Lactobacillus plantarum*; lo cual los llevó a pensar que las BAL son las encargadas de dar las características de sabor y aroma a los productos fermentados provenientes de la yuca. Esta afirmación es confirmada posteriormente en sus experimentos al hacer la cuantificación de ácidos orgánicos del proceso, donde encuentran que entre el 66 y 82% corresponde a Ácido Láctico, el porcentaje restante corresponde a ácidos como: acético y butírico. Finalmente, observando los gránulos de almidón bajo el microscopio electrónico, haciendo análisis fisicoquímicos, reológicos, y mediante experimentos que compararon un almidón fermentado respecto a uno que solamente fue sumergido en los ácidos orgánicos que ellos determinaron en la fermentación, concluyen que el almidón de yuca sufre daños en su estructura que le confieren sus características reológicas y de expansión. Y, que este grado deterioro del almidón no puede lograrse únicamente por una reacción de hidrólisis ácida, sino que requieren, también, de una acción enzimática (Cardenas & de Buckle, 1980).

(Holzapfel & Wood, 2014) describen las BAL como organismos “fastidiosos”, ya que tiene requerimientos muy complejos para crecer. Y, tenemos que el proceso fermentativo de almidón de yuca se da en un medio bastante pobre, donde debido a su proceso de extracción, se han lavado muchos de los nutrientes que puede traer la raíz de yuca. Lo que deja un medio solamente con almidón y agua (Carvalho, 1994; Cereda & Brito, 2017). Sin embargo, se puede observar como de manera espontánea este medio se va trasmutando y haciéndose altamente activo.

En el documento de (Starling, 2010) se cita a (Cereda, 1975); esta autora describió la fermentación del Almidón Agrio de Yuca en tres fases. En la primera fase se da un desarrollo de una flora poco exigente compuesta por aerobios mesófilos y coliformes. En la segunda fase, se desarrollarán microorganismos más exigentes, estos son los encargados de la producción de los ácidos orgánicos típicos del proceso. En su última fase, estos microorganismos dan paso a la colonización por levaduras y algunos microorganismos saprofitos.

El papel de los microorganismos de la primera fase es, reducir la concentración de oxígeno disuelto en el medio para que se logre un ambiente microaerófilo.

Adicionalmente se ha reportado presencia de levaduras, mohos y bacilos esporulados con actividad amilolítica. Por otro lado, era una incógnita, la fuente de Nitrógeno que usaban los microorganismos para crecer, dadas las pobres condiciones del medio. Para aclarar el origen de este importante substrato, propusieron que este se incorporara al medio mediante otros microorganismos que lo fijaran del ambiente, lo cual fue probado al medir las concentraciones de gases presentes en un proceso cerrado de fermentación de almidón de yuca; de estas mediciones se observó que hubo consumo de N₂ durante ciertas fases del proceso y, que había un aumento de las concentraciones de nitrógeno en el medio, las cuales alcanzaban un máximo en el séptimo día (Cereda & Brito, 2017).

Es importante destacar que Cereda & Brito (2017) mencionan un listado de posibles microorganismos responsables de la fijación de nitrógeno del ambiente, en este listado destacan bacilos del género *Bacillus* y *Clostridium butyricum*. Así que en esta primera fase no sólo se crea un ambiente anaeróbico sino que también se da un enriquecimiento del medio con carbohidratos de fácil metabolismo, nitrógeno, vitaminas, co-factores y aminoácidos, que provienen de los ciclos metabólicos de los diferentes microorganismos presentes en esta fase (Carvalho, 1994; Cereda & Brito, 2017; Corrêa, 2013). Una vez, que las condiciones están preparadas, empieza a desarrollarse la actividad de las BAL y con esto la acidificación del medio.

Los organismos de la tercera fase no tendrán un efecto muy fuerte sobre el deterioro que se genera sobre los gránulos de almidón. Su rol estará más ligado al aporte de sabores y olores (Corrêa, 2013) estos le darán un perfil gustativo más complejo al producto final.

Los microorganismos productores de ácidos que colonicen el medio estarán limitados por las condiciones ambientales. En Brasil han reportado que en las zonas más templadas (temperatura ambiental entre 15-25°C) predominan los microorganismos lácticos, mientras que en las zonas más calientes (alrededor de los 30°C), predominan los microorganismos butíricos (*Clostridium butyricum*) los cuales presentan fermentaciones más rápidas (Aquino, Gervin, & Amante, 2016). La región del Cauca por ser una zona templada, tendrá un predominio de microorganismos lácticos (Brabet, Chuzel, Dufour, Raimbault, & Giraud, 1996; Cardenas & de Buckle, 1980).

Se ha sugerido que el deterioro del granulo de almidón es llevado a cabo por BAL con capacidad amilolítica, principalmente lactobacilos amilolíticos (Alarcón & Dufour, 1998; Brabet et al., 1996; N.Zakhia, G.Chuzel, C.Brabet, D.Dufour, 1994). Sin embargo, diferentes autores han desarrollado ensayos para determinar la capacidad amilolítica de los microorganismos aislados de fermentaciones de almidón de yuca, encontrando que los microorganismos con mayor actividad amilolítica son del género *Bacillus*, *Leuconostoc*, *Pichia* y *Saccharomyces* (Carvalho, 1994; Chiquiza-Montaña, Montoya, Restrepo, & Orozco-Sánchez, 2016; Corrêa, 2013). Donde se puede ver solamente un representante de las BAL (*Leuconostoc*).

No obstante el número de organismos lácticos anaeróbicos puede estar entre 7 y 9 Log UFC/g (Brabet et al., 1996; Carvalho, 1994; Chiquiza-Montaña et al., 2016;

Corrêa, 2013). Durante el proceso de fermentación el número de organismos lácticos totales permanecerá sin cambios marcados, a partir del día 4 aproximadamente, sin embargo, habrá múltiples cambios entre las especies dominantes del proceso o sucesiones; estas vendrán determinadas por las condiciones del medio (pH, concentración de nutrientes). A pesar de estos cambios entre especies, finalmente los organismos dominantes serán del género *Lactobacillus*, principalmente *Lactobacillus plantarum* (Brabet et al., 1996; Carvalho, 1994; Chiquiza-Montaño et al., 2016; Corrêa, 2013).

Se ha encontrado que las poblaciones de enterobacterias, las cuales son un indicador de contaminación en productos alimenticios, muestran un descenso vertiginoso en su población, llegando a niveles aceptables de calidad. Esto se debe al marcado descenso del pH del medio y a el grado de competitividad de las BAL, las cuales excretan moléculas bactericidas que buscan eliminar la competencia por los sustratos presentes (Carvalho, 1994; Corrêa, 2013).

Como se menciona anteriormente, durante la tercera fase del proceso fermentativo habrá un predominio de organismos saprófitos y levaduras. Pero se ha reportado que las poblaciones de levaduras presentan una disminución en su población hasta desaparecer, a partir del día 19 de fermentación (Corrêa, 2013).

En suma, la fermentación del almidón de yuca es un proceso en el cual confluyen diferentes tipos de microorganismos, donde, la presencia de cada uno de estos no es aleatoria. Este es un proceso de fermentación espontánea con un predominio de bacterias productoras de ácidos orgánicos, principalmente *Lactobacillus*. Donde hay una actividad enzimática fuerte, que aporta una fuente energía para todo el sistema microbiano que allí habita. No se puede destacar un único responsable de este efecto; allí confluyen diferentes actores tales como: Mohos, Levaduras y Bacterias. Toda esa intrincada comunidad de microorganismos transformará este almidón nativo, en uno, con unas propiedades totalmente nuevas; sin intervención humana.

2.2.3 Aproximaciones para Acelerar el Proceso de Fermentación:

El Almidón Agrio de Yuca, al convertirse en un producto de interés económico para muchos sectores de la sociedad, tanto en Colombia, cómo en Brasil y otros países del mundo donde este se produce. Ha llevado a que se busquen maneras más eficientes de realizar el proceso para que el producto pueda aumentar su rentabilidad y ser más competitivo en el mercado de bienes.

Si bien, trabajos cómo los de Cereda (1975) y Cardenas & de Buckle (1980) pusieron a la comunidad académica en contexto sobre, la forma en la cual se daba este proceso. Cómo se puede observar en el anterior título; pareciera que aún no comprendemos totalmente todas las relaciones, tanto sinérgicas cómo competitivas, que se dan en este proceso. Y, que hay muchas hipótesis al respecto que se requieren confirmar. Sin embargo, no fue, ni es; un motivo para que los investigadores se cohíban de proponer formas de mejorar los procesos de fermentación.

Basados en la experiencia que se tiene en el continente africano, donde los alimentos fermentados a base de yuca juegan un papel muy importante en la sociedad. Se propone el uso de cultivos iniciadores (starter) con microorganismos amilolíticos puros. Esta propuesta se basa en la consigna de, que al aumentar los microorganismos que producen enzimas que degradan el almidón, el proceso de transformación se puede dar más rápido. A escala de laboratorio, estos experimentos mostraron una reducción de, alrededor, del 50% en el tiempo en que tarda en obtenerse Almidón Agrio de Yuca con buenas características de expansión (Brabet et al., 1996; Zakhia, Chuzel, Brabet, Dufour, 1994). Esta idea, de agregar más microorganismos al medio de fermentación, se ha desarrollado de manera rudimentaria en algunas rallanderías, tanto en Colombia, como en Brasil; agregando porciones de almidón o el agua proveniente de un proceso de fermentación exitoso. También, se evita lavar los tanques de fermentación para no retirar la biocarga que puede quedar en las paredes de los tanques; y se fomentaba el uso de tanques con recubrimiento de madera, para que se pudieran generar cúmulos de bacterias lácticas en sus grietas (Alarcón & Dufour, 1998; Cereda & Brito, 2017; N.Zakhia, G.Chuzel, C.Brabet, D.Dufour, 1994)

Otro enfoque que se ha buscado explotar, es el uso de compuestos químicos para lograr el mismo efecto que logra la fermentación espontánea o suplementar con estos el medio de la fermentación. Starling (2010), recopiló en su trabajo algunas de estas propuestas. Se buscó sumergir el almidón de yuca sin fermentar en ácidos fuertes y en mezclas de ácidos orgánicos; principalmente donde se emplea ácido láctico, el cual es uno de los principales ácidos orgánicos producidos en las fermentaciones tradicionales. Se trató de modificar el almidón mediante compuestos oxidantes fuertes. De estos trabajos, se logró encontrar que el tratamiento del almidón con Ácido Láctico y posterior secado al sol logra aumentar la capacidad de expansión del almidón.

Marcon (2004, 2006) buscó acelerar el proceso de fermentación de almidón de yuca utilizando diferentes concentraciones de jarabe de Glucosa. La autora encontró que una concentración de 0,5% (p/v) de Jarabe de Glucosa en el medio podía acortar hasta en un 50% el tiempo de fermentación sin afectar, incluso, mejorando las propiedades de expansión del almidón de yuca. Además, resaltan que este método está siendo acogido por productores de la región de Santa Catarina.

Reginatto et al (2009) buscaron mejorar el proceso de fermentación proponiendo una mezcla de jarabe de Glucosa, que ya previamente había evaluado Marcon, y Cloruro de Amonio; el cual buscaba que los microorganismos tuvieran más nitrógeno disponible para metabolizar. Si bien, no se obtuvo una gran respuesta sobre la capacidad de expansión. Los resultados muestran un aumento en la producción de ácidos orgánicos en el sistema cuando se agregan 0,5% (p/v) de Glucosa y 0,1% (p/v) Cloruro de Amonio.

La investigación de Starling (2010) muestra que la adición de Ácido Láctico al proceso de fermentación y el uso de una masa de almidón fermentado por diez días como inóculo; le permitió obtener almidón agrio con una buena calidad de expansión en 48 horas. Esta ha sido la reducción más drástica que se ha visto en experimentos

de este tipo. El tratamiento que obtuvo estos resultados constaba de adicionar 15mL de Ácido Láctico y 37,5g de inóculo a una suspensión de 500g de Almidón sin fermentar en 2L de Agua.

2.2.4 Capacidad de Expansión del Almidón Agrio de Yuca:

Se ha desarrollado todo el tema del proceso de producción del Almidón Agrio de Yuca alrededor de la fermentación y sus variantes microbiológicas. Sin embargo, para que el almidón pueda adquirir su capacidad de expansión característica, es imprescindible el secado al sol; no sólo porque se elimina el agua absorbida en el proceso de fermentación, la exposición a los rayos UV provenientes del sol es muy importante complementar el trabajo hecho por los microorganismos en la fermentación, y dar el toque final en la transformación del almidón de yuca.

Para explicar la capacidad de expansión del Almidón Agrio de Yuca, hasta ahora hay dos teorías que gozan de mucha fuerza. La primera, propuesta por Marcon et al. (2009) en la cual, basados en parámetros químicos como pH, factor ácido (relacionado con la acidez titulable), solubilidad, volumen específico y el grado de polimerización/viscosidad intrínseca; se propone que durante el proceso de fermentación hay un ataque a las cadenas, tanto de amilosa como de amilopectina, en el gránulo lo cual conlleva a la producción de carbohidratos simples para el metabolismo de los microorganismos, como polímeros de cadena corta llamados dextrinas. Estas dextrinas quedan atrapadas entre las láminas que conforman el gránulo de almidón y debido a una reacción mediada por la luz UV de los rayos solares y favorecida por el ácido láctico que se ha formado durante la fermentación, estas se “pegaran” entre estas láminas de amilosa y amilopectina. Esto llevará a un aumento en la cristalinidad del gránulo de almidón, pero también le dará más estructura, esto permite que, al llevarse a cabo el horneado, el agua presente en el almidón se evapore y al buscar escapar al medio, fuerza la estructura del almidón organizando estas cadenas de una forma que la masa toma esta forma alveolar característica al momento que toda el agua sale y la masa se expande.

Por otro lado, hay una postura que inicia con Mestres & Rouau (1997) el cual al medir la cantidad de ácido láctico y la viscosidad intrínseca de el Almidón Agrio fermentado y secado al sol, evidencia que hay una disminución en la cantidad de ácido láctico en el almidón agrio, que no ocurre en el almidón sin fermentar o en el agrio que no es secado al sol, y dado que el ácido láctico no es volátil no se explica su disminución. Al ver que la viscosidad intrínseca del Almidón Agrio disminuye, el autor concluye que hay una pérdida de la estructura del almidón que puede ser provocada por una reacción de despolimerización oxidativa del almidón cuando es expuesto a la luz UV del secado solar y es mediada por las moléculas de ácido láctico. Esto llevará a la pérdida de estructura del almidón y a que esto le permita a la masa expandirse con la escapada de vapor durante el horneado. Esta postura también ha sido tomada por Cereda & Brito (2017) quienes comentan que esta se ha justificado por experimentos que han mostrado una apertura del anillo de glucosa en presencia de ácido láctico y radiación gamma, que lleva a la formación de un enlace vecinal llevando a una formación de enlaces éter dentro del gránulo de

almidón. Los autores afirman tener pruebas de la validez de esta hipótesis y han propuesto modificaciones al proceso de producción que los ha llevado a aplicar a un proceso de patente.

Sin importar, cuál de las dos posturas sea la correcta, lo verdaderamente importante es resaltar el papel que juega el secado solar; y, el efecto que las radiaciones que inciden sobre el almidón tienen sobre su rasgo característico, la capacidad de expansión.

2.2.5 Retos de la Agroindustria Almidonera:

El proceso de fermentación del almidón agrio de yuca conserva un carácter sumamente artesanal. Lo cual ha favorecido que se difundan muchos mitos entre los productores, y que se maneje cierto grado de misticismo frente a el proceso de fermentación. Algunos de estos mitos son el uso de inóculos “ultrasecretos” y uso de substratos adyuvantes como Maíz Pira, Cebada y Avena; como es el caso de la rallandería con la cual se está trabajando. Esta falta de objetividad en la toma de decisiones respecto a los procesos de fermentación pone en evidencia la falta de conceptos técnicos que tienen los productores de Almidón Agrio de Yuca. Y, aquellos que están más informados sobre el tema, manejan sus procesos y conocimiento con recelo para evitar la competencia.

Los controles de calidad que aplican los rallanderos son escasos o nulos. En el caso de interés para esta investigación, no se realizan controles de calidad, se sabe que el almidón ha terminado su proceso de fermentación por intermedio del comprador quien es el que da el visto bueno. Marcon (2004) refiere que, en Brasil, el proceso de fermentación también se realiza empíricamente y que este se considera terminado cuando se percibe espuma en la superficie, formación de “bolas” en el interior de la masa y desprendimiento fuerte del olor característico de esta fermentación. Algunos productores lo hacen, probando un poco del agua del tanque y percibiendo la sensación de acidez en la lengua. Lo que demuestra que la falta de controles para el proceso de fermentación no es un problema solo de Colombia.

Esta falta de estándares genera una falta de uniformidad en la calidad del producto. Por ende, la estandarización y la tecnificación del proceso de producción, no solamente en el aspecto mecánico y organizacional. También, en el aspecto de la fermentación y el secado del almidón. Pueden llevar a que se tenga un producto que genere confianza a sus compradores y le permita expandirse a mercados más exigente (Júnior, 2013)

De parte del CIAT/CIRAD, así como otras instituciones académicas; se han realizado muchos estudios e investigaciones. Además, Brasil cuenta con mucha experiencia de investigación en el tema. Sin embargo, este conocimiento no se ve reflejado en los rallanderos, ni en los procesos de producción de la región ya que, con particulares excepciones, se sigue manejando la producción de Almidón Agrio de Yuca como en la década de los 90's. Además, se ha llegado a tomar posturas como: porque los rallanderos llevan mucho tiempo realizando este proceso, ya lo

manejan a la perfección. Y, esto podría significar la desaparición de una agroindustria que es un pilar económico de la región.

Uno de los retos más importantes que tiene esta agroindustria, es cumplir con condiciones sanitarias de producción. Cada vez se avanza hacia técnicas más limpias de producción, y, se buscan mejores estándares de inocuidad. Hasta ahora, esta exigencia se la han cargado al usuario final (panaderías y productores de passabocas), pero esto no será siempre así; y en el momento que se decida mirar hacia el productor, van a haber consecuencias muy fuertes para este mercado. Cadena, Villarraga, Luján, & Salcedo (2006) realizaron una evaluación de la del aspecto sanitario de algunas rallanderías en los departamentos de Sucre y Córdoba; encontrando que la calificación de todas es baja, donde se destacan el mal estado de los equipos, las instalaciones y la falta de programas de limpieza.

Esta agroindustria, de lograr superar el reto de la salubridad, y empezar a trabajar de la mano con la academia para validar nuevas formas de hacer más uniforme su producto; tiene grandes oportunidades cómo: el “saber hacer” de un producto, casi, exclusivo de esta región; tiene una infraestructura vial robusta que le permite conectarse con los centros urbanos más grandes del país; y, cuenta con instituciones que tienen experiencia investigativa y material académico de soporte que sirve de base para iniciar los cambios necesarios (Mosquera, 2010). Además, tiene fácil acceso a las fuentes hídricas necesarias para la producción. También, tiene a su favor, que gran parte de la materia prima es producida por agricultores de la región. Sin embargo, este sector agrario también tiene retos muy grandes; pero que si logran trabajar de forma mancomunada con el sector de la producción del Almidón Agrio de Yuca podrían hacerse muy fuertes.

2.3 Objetivos

2.3.1 Objetivo general: Optimizar a escala de laboratorio el inóculo utilizado en la etapa de fermentación de la producción de almidón agrio de yuca.

2.3.2 Objetivos específicos:

- Determinar una combinación de componentes que conformen un posible mejor inóculo.
- Evaluar el efecto de los inóculos propuestos sobre la calidad (pH, acidez titulable, tasa de expansión, volumen específico y densidad específica) y duración del proceso de fermentación.
- Determinar el inóculo que aporta una mejora significativa en la calidad y tiempo de producción del almidón de yuca agrio.

2.4 Metodología

2.4.1 Análisis de Acidez Titulable y pH:

El análisis de Acidez Titulable fue llevado a cabo mediante el método citado en la Guía Técnica para Producción y Análisis de Almidón de Yuca de la FAO (Aristizabal & Sanchez, 2007). Esta dice que se deben pesar 10g de almidón previamente secado. Y llevarlo a un volumen de 100mL en un balón aforado. Agitar vigorosamente. Tomar una alícuota de 50mL de sobrenadante y a esta se le realiza la medición del pH y posteriormente se titula con NaOH 0,1N hasta que indique el viraje del indicador Fenolftaleina 1%. A esta metodología se le realizaron dos modificaciones. La primera: No se utilizó almidón secado al sol para medir la acidez, sino que se utilizó almidón tomado directamente del proceso de fermentación. Segunda: Después de tener el almidón diluido en los 100mL, este es llevado a centrifugación a 4000 RPM por 20 minutos.

Los resultados de la acidez titulable serán dados en unidades de mEq de Ácido Láctico por cada 100g de muestra (Ecuación 1)

$$meq \text{ de Ácido Láctico}/100g = L_{NaOH \text{ titulados}} \times \frac{0,1eq_{NaOH}}{1L_{NaOH}} \times \frac{1eq_{\text{Ácido Láctico}}}{1eq_{NaOH}} \times \frac{1000meq}{1eq} \times \frac{100mL}{50mL} \times \frac{1}{10g} \times 100g \quad (1)$$

En experimentos piloto realizados al comienzo del proyecto, se utilizó la metodología de la AOAC para medir acidez titulable, utilizada por de Sena Aquino (2013). Sin embargo, esta se descartó porque el volumen total de los recipientes de los experimentos no daba el volumen de sobrenadante suficiente para realizar todas las mediciones necesarias. Esto podría llevar a que fuera necesario reponer la columna de agua que al ser agregada podía diluir el ácido en el medio.

Estas mediciones se realizaron por triplicado.

2.4.2 Recuento de Bacterias Ácido Lácticas (BAL):

Ya que se ha descrito que el grupo más importante de microorganismos que están presentes en la fermentación del almidón de yuca (Carvalho, 1994; Corrêa, 2013; Brabet (1996); Gomez, 1993; Marcon, 2004) se decide utilizar la metodología de siembra en superficie para poder identificar la carga de estos microorganismos que están presentes durante los diferentes experimentos que se realizaron. Se tomaron 5g de almidón, directamente de los recipientes de fermentación, se agregaron a 45mL de Agua Peptonada 0,1% estéril. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas hasta un factor de 10^{-6} . Posteriormente se sembraron 0,1mL de las diluciones 10^{-4} hasta 10^{-6} en cajas de Petri con agar MRS. Las cajas sembradas fueron incubadas a 37°C por 72 horas utilizando el método de jarra y vela para recrear un ambiente microaerofílico (Carvalho, 1994; Chiquiza-Montaña et al., 2016).

Una vez culminado el tiempo de incubación, se contabilizaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) que crecieron en cada una de las diluciones sembradas. Para reportar los datos, se tomaron las cajas que permitieran contar las UFC y tuviera más de 10 UFC. Si se tenían dos diluciones consecutivas, se utilizó

la Ecuación 2 (Instituto Colombiano de Normas Técnicas (ICONTEC), 2009) para determinar el número de UFC/g de muestra.

$$N = \frac{\sum c}{V \times 1,1 \times d} \quad (2)$$

En donde:

$\sum C$: Suma de colonias contadas en las dos cajas conservadas provenientes de dos diluciones sucesivas.

V: volumen de inóculo puesto en caja (mL).

d: dilución correspondiente a la primera dilución retenida o seleccionada.

2.4.3 Secado al Sol:

Durante el desarrollo de los experimentos se aplicaron dos metodologías de secado directo al sol. Las muestras recolectadas para la caracterización del almidón agro producido en la rallandería fueron secadas en terraza sobre plástico negro por alrededor de seis horas.

Las muestras de almidón agro producido a escala de laboratorio; se secaron en moldes de aluminio (tipo lasagna) durante un tiempo estimado de cuatro horas, los días que el clima fue predominantemente nublado, requirió más tiempo.

Para ambas metodologías se aseguró que el índice UV fuera de Alto a Extremo usando la aplicación móvil del Clima que provee Google®.

Se determina que el almidón se ha secado, cuando este no se aglomera al darle un apretón con la mano.

2.4.4 Capacidad de Expansión:

Para analizar la capacidad de expansión, se utilizó la metodología reportada por Nunes y Cereda (1994). Esta consiste en pesar 50g de almidón, el cual se ha secado previamente al sol, se le agregan aproximadamente 40mL de agua hirviendo ($90 \pm 3^\circ\text{C}$). Posteriormente se forman 3 biscochos redondeados de 10g cada uno. Estos son llevados a un horno tostador eléctrico a 200°C por 20 minutos.

Para determinar la capacidad de expansión, se utiliza el método de índice de expansión propuesto por el CERAT (Centro de Raíces Tropicais) en Brasil (Maeda, Cereda, 2001). Para esto se toman cuatro mediciones del diámetro del biscocho, utilizando un calibrador pie de rey, antes de ser horneado. Después de horneado se toman cinco mediciones alrededor del biscocho. El promedio del diámetro del biscocho después de ser horneado sobre el promedio del diámetro promedio del biscocho antes de ser horneado arrojará el índice de expansión.

2.4.5 Caracterización del Almidón Producido en la Rallandería:

En aras de conocer de cerca, cómo estaba ocurriendo el proceso de fermentación de almidón de yuca en el sitio donde es producido, se realizaron mediciones de acidez titulable, pH, recuento de bacterias ácido lácticas y capacidad de expansión a las muestras de almidón que correspondían a diferentes tiempos de fermentación. Los tiempos de fermentación fueron seleccionados aleatoriamente y según la disponibilidad en el momento de la visita.

El almidón para el tiempo cero (t_0) fue almidón recién extraído que estaba en proceso de sedimentación en los canales de sedimentación. Las demás muestras correspondieron a los días 3, 6, 12, 18, 24, 26 y 94.

La extracción de la muestra se realizó utilizando un dispositivo artesanal, hecho para tomar una muestra de almidón que abarcara desde la superficie, hasta alrededor de 25cm de profundidad. Los puntos de muestreo fueron seleccionados aleatoriamente en toda el área del tanque.

Las muestras fueron depositadas en bolsas de plástico sellables y almacenadas en una nevera de Icopor con paquetes fríos. Fueron almacenadas en refrigeración el mismo día del muestreo.

2.4.6 Preparación de Inóculo:

El almidón que se usaría como inóculo fue fermentado en dos recipientes de vidrio de 640mL. Se agregaron 350g de almidón de yuca sin fermentar y fue cubierto con una capa de agua de 3-4 cm de altura. Este se dejó fermentar por 12 días. En este periodo se le realizaron mediciones de acidez, pH y recuentos microbiológicos.

2.4.7 Fermentaciones Experimentales de Almidón de Yuca a Escala de Laboratorio:

Para poder lograr acelerar el proceso de fermentación; se decide analizar, a escala de laboratorio, tres modificaciones al proceso de fermentación. Además, se compararon estas modificaciones con una fermentación realizada de forma tradicional la cual utiliza agua obtenida de forma natural en el Departamento del Cauca; esta fermentación no utilizó ningún aditivo, substrato o inóculo. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Se usaron recipientes de vidrio de 640mL como unidades de fermentación. En ellos se colocaron 350g de almidón dulce, el cual se extrajo el mismo día que fue recolectado. Este se tomó de la parte del canal de sedimentación más cercana a la entrada de la "lechada". Para asegurar que se dieran condiciones de anaerobiosis en el recipiente, el almidón de cada tratamiento fue cubierto con una columna de agua de alrededor de 4 cm de altura.

Otra de las propuestas evaluadas fue una fermentación agregando 7,5% de inóculo según el estudio de Starling (2010) y agregando 0,5% de Glucosa según el método

modificado de Marcon (2004). Con esto se buscó una sinergia entre dos modificaciones hechas por autores diferentes y que, desde el punto de vista teórico, podrían potenciarse juntas.

También se evaluó el uso del inóculo de almidón fermentado en una doble proporción (15%), con el propósito de duplicar la cantidad de microorganismos en el medio bajo la premisa que a mayor cantidad de microorganismos habrá un mayor ataque al almidón y se acelerará la fermentación.

Por último, se propuso evaluar la adición de una doble proporción de inóculo y Glucosa cuando el pH del medio hubiera descendido a un pH de 3,8 o menos.). El descenso del pH en el medio es indicativo de que las BAL han iniciado su actividad metabólica generando los ácidos orgánicos característicos, llegando a valores alrededor de 3,5 en el tercer/cuarto día de fermentación (Carvalho, 1994; Marcon, 2004; Starling, 2010). La adición de Glucosa buscó dar un estímulo a estas poblaciones de BAL que comenzaban a presentar actividad en la fermentación. Se esperaba que el fortalecimiento de la población más importante durante el proceso de la fermentación trajera consigo una mayor actividad y, en consecuencia; una aceleración del proceso de fermentación.

El Inóculo y la Glucosa fueron agregadas a las fermentaciones antes de agregar el almidón que se iba a fermentar. Excepto, en la fermentación donde la Glucosa se agregó a pH de 3,8. La Glucosa adicionada al medio provino de una solución de Dextrosa inyectable al 50%.

Cada una de estas fermentaciones experimentales fueron rotuladas como: TA: Fermentación con agua tomada de una fuente natural; TB: Fermentación con adición de inóculo 7,5% y Glucosa 0,5%; TC: Adición de inóculo al 15%; TD: Adición de 15% de inóculo y Glucosa 0,5% cuando se alcanzara un pH de 3,8 o menos.

La columna de agua para las fermentaciones TB a TD se generó con agua purificada. Debido a los múltiples muestreos fue necesario reponer este volumen de agua adicionado; esto se realizó agregando volúmenes iguales de agua purificada a los recipientes que fuera necesario.

Cada una de las condiciones a experimentar se realizó por triplicado.

2.4.8 Seguimiento y Muestreo de las Fermentaciones Experimentales:

Se realizaron mediciones de Acidez, pH, capacidad de expansión y recuentos microbiológicos a todos los experimentos. Las muestras fueron tomadas del centro del recipiente buscando tomar desde el fondo hasta la superficie del almidón. Los análisis fueron realizados con diferentes rangos de tiempo, sin ser necesariamente consecutivos, limitado por la cantidad de muestra que fuera requerida.

Para realizar todos los análisis, se juntaron muestras de cada uno de los experimentos en un "pool" y a partir de este se realizaron los análisis.

2.4.9 Experimentos Previos:

Basado en la información dada por el productor de Almidón Agrio de Yuca, se quiso iniciar la investigación probando con un diseño de mezclas que evaluaba el efecto los componentes del inóculo utilizado en campo por el productor (Cebada, Maíz Pira y Almidón Fermentado) junto con otros dos propuestos por el investigador: Glucosa y Almidón Soluble; sobre la producción de acidez en las fermentaciones. La única respuesta medida en este experimento fue la acidez titulable, mediante el método de AOAC al sobrenadante, cómo lo realizó (de Sena Aquino, Pereira, Watanabe, & Amante, 2013)

Posteriormente se decidió hacer un nuevo diseño experimental que evaluara: La proporción de inóculo adicionada (0% y 14%), este inóculo se preparó de la misma forma que se hace en la rallandería. Además, se quiso evaluar el efecto de la adición de dos fuentes de Nitrógeno: Extracto de Levadura y Pared Celular de Levaduras (0,2% y 0,5%). Y, se buscaba evaluar el efecto de la Temperatura (20°C y 35°C) en la fermentación. La respuesta por medir en este experimento era la misma que en el experimento anterior.

2.4.10 Herramientas Estadísticas:

Los diseños de experimentos utilizados en los experimentos previos fueron generados mediante el software Minitab 17/18.

Para determinar si había diferencias estadísticas entre los experimentos que se plantearon para mejorar el proceso de fermentación; se realizaron pruebas de Anova a las mediciones de acidez titulable y capacidad de expansión. Posteriormente se compararon mediante un test de Tukey con un 95% de confianza. Para esto se utilizó el Software Minitab 18.

2.4.11 Experimentos Adicionales:

Se quiso corroborar la presencia de hongos (mohos y levaduras) en los experimentos de fermentación que se realizaron el punto 2.4.7. Al pasar 30 días de fermentación, cuando estas concluyeron, se tomaron 0,5mL del agua sobrenadante y se sembraron en superficie en agar Rosa Bengala; el cual es utilizado para aislar hongos del ambiente y análisis de alimentos. Y se incubaron a 30°C por 96h.

Por otro lado, basado en experiencias previas del investigador con alimentos que contenían Avena; ya que notaba que estos alimentos tenían una tendencia a acidificarse con mucha facilidad. Se decide experimentar con una fermentación de Avena con agua purificada. Con el fin de evaluar el comportamiento de la acidez y su comportamiento microbiológico, ya que podría ser una buena fuente de BAL para reforzar los procesos de fermentación de Almidón de Yuca. A este experimento se le realizaron mediciones de pH, acidez titulable y recuentos de BAL en agar MRS. Además, se sembró una muestra del sobrenadante en agar Rosa Bengala.

2.5 Resultados y Discusión

2.5.1 Caracterización del Almidón Producido en la Rallandería:

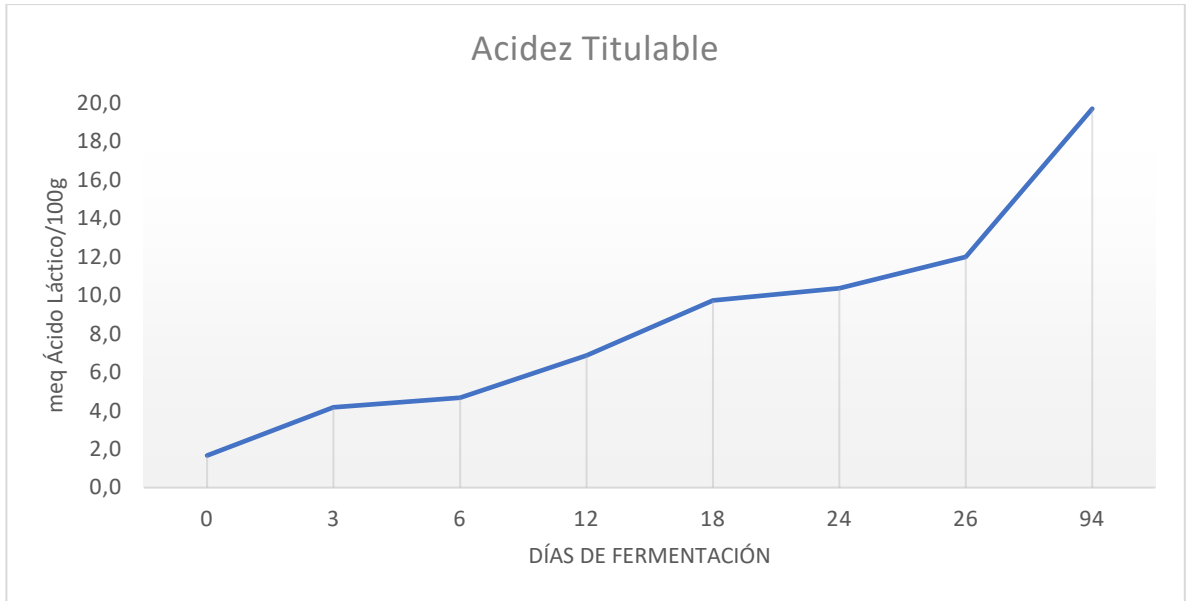
Para alcanzar los objetivos planteados, se hizo necesario acercarse más al proceso con el cual se estaba trabajando; para así conocer sus problemas. Y, con esta información poder hacer una intervención. Para esto, se le realizaron los análisis fisicoquímicos y de expansión más básicos, que permitieron este acercamiento. La Tabla 1 muestra los valores de pH y acidez, representada en meq de Ácido Láctico, los cuales dan información sobre la actividad metabólica que están teniendo las poblaciones de BAL.

Tabla 1. Valores obtenidos de Acidez Titulable y pH para diferentes tiempos de fermentación en el sitio de producción.

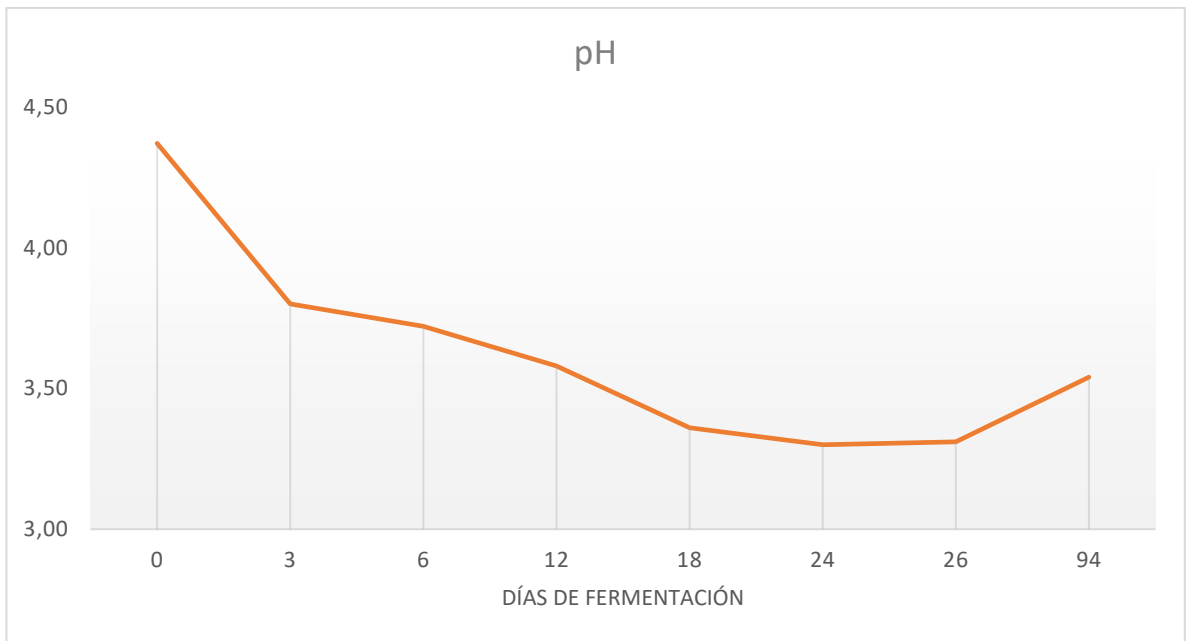
Tanque de Fermentación	Días de Fermentación	pH	meq. de Ácido Láctico/100g*
Canales	0	4,37	1,67
27	3	3,80	4,17
18	6	3,72	4,67
25	12	3,58	6,87
24	18	3,36	9,73
9	24	3,30	10,37
14	26	3,31	12,00
11	94	3,54	19,70

*Corresponden al promedio de las mediciones realizadas.

En las Gráficas 1 y 2 se puede observar el comportamiento de estos dos parámetros durante el tiempo de la fermentación.



Gráfica 1. Comportamiento de la acidez durante el tiempo de fermentación del almidón de yuca en el sitio de producción



Gráfica 2. Comportamiento del pH durante el tiempo de fermentación del almidón de yuca en el sitio de producción

Se puede observar que durante todo el proceso de fermentación la acidez del almidón que se encontraba en cada uno de los tanques fue creciente. Esto indica que los organismos productores de ácidos orgánicos estaban desarrollando su actividad metabólica. El comportamiento del pH es coherente con el comportamiento mostrado por la acidez. Sin embargo, al comparar el

comportamiento de esta fermentación con los experimentos realizados por Brabet et al. (1996); los cuales se llevaron a cabo con almidón extraído en la región se puede observar que el descenso del pH es menos pronunciado en la fermentación que se está estudiando. Los experimentos de Brabet et al. (1996) alcanzaron un máximo de 11 meq. de Ácido Láctico/100g en un tiempo de 14 días, mientras que el proceso de fermentación estudiado logra alcanzar un valor similar alrededor de los 24 días de fermentación. Este comportamiento, menos intenso, en esta fermentación de Almidón Agrio de Yuca, pareciera confirmar que este proceso efectivamente está sufriendo demoras en concluir.

A pesar de, que la Gráfica 1 muestra un crecimiento en la acidez del sistema entre los días 26 y 94. Hay que tener presente que hay una brecha de 68 días de fermentación entre estas mediciones. Cómo ya se había mencionado anteriormente, el tiempo estimado para finalizar una fermentación oscila alrededor de los 30-60 días. Entonces es lógico que se observe una pendiente creciente en la acidez, pero este crecimiento no será comparable con el que tuvo el sistema en los primeros 24 días. Es normal, durante cualquier proceso de fermentación, que se dé la acumulación de diversas sustancias que pueden inhibir la actividad de los microorganismos encargados de realizar el proceso. La Gráfica 2 muestra un ligero aumento del pH en este tiempo; efecto que puede confirmar este decaimiento en la actividad metabólica de las BAL durante este tiempo. La acumulación de sustancias tóxicas provenientes del metabolismo sería muy factible que ocurriera en este tipo de fermentaciones, porque la cantidad de agua que se agrega a la fermentación es muy baja en comparación a la cantidad de sustrato y a la compleja actividad microbiológica que se ve en el proceso. Por tanto, es importante para el desarrollo adecuado de la fermentación, que esta no pase más de 40 días en proceso de fermentación. Y, si fuera el caso de que la calidad del almidón aún no es óptima, se retire toda el agua y se reinicie la fermentación con agua nueva; así se puede asegurar que el proceso pueda reactivarse sin la interferencia de subproductos que puedan ralentizarlo.



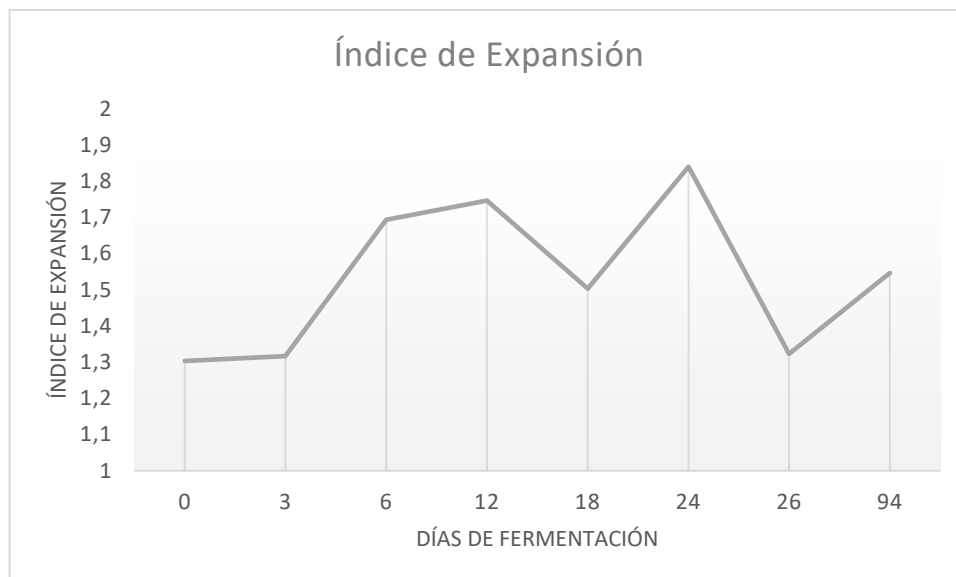
Gráfica 3. Recuento de bacterias Ácido-Lácticas en agar MRS década uno de los días de fermentación muestreados. Esta gráfica presenta una línea de comparación basada en los recuentos hechos por (Brabet et al., 1996).

El análisis de las poblaciones de microorganismos ácido-lácticos en el proceso de fermentación muestra que la población de BAL están alrededor de un logaritmo por debajo de los valores reportados (Brabet et al., 1996; Carvalho, 1994; Corrêa, 2013). Esto puede justificar el comportamiento observado en la acidez titulable y el pH, y por ende en el tiempo para obtener Almidón Agrio de Yuca de buena calidad.

Estos resultados sugieren que hay algún factor, ya sea ambiental o que este inmerso en el proceso, que está inhibiendo el desarrollo de las BAL en los tanques de fermentación. Este podría ser un exceso de agua durante la sedimentación del almidón en los canales, lo cual podría generar arrastre de los microorganismos y con esto un empobrecimiento de la carga inicial de microorganismos. O que no se esté proporcionando una cantidad suficiente de agua en el tanque de fermentación, lo cual podría hacer que el vehículo que utilizan los microorganismos para transportarse entre el almidón y que usan para vegetar no sea suficiente, evitando que las BAL puedan desarrollare adecuadamente. Por último, podría deberse a un contaminante en el agua utilizada en el proceso.

Cómo se menciona en otra sección del presente trabajo, el productor hace uso de un inóculo, donde agrega maíz pira (0,09% p/v), cebada (0,09% p/v) y almidón fermentado (0,5% p/v) tomado de uno de los tanques de fermentación que han culminado el proceso de fermentación; se agregan a un tanque de plástico de 1000L, se le agrega agua y se deja fermentar por una semana. Posteriormente esta mezcla es añadida al tanque de fermentación antes de agregar la lechada de almidón a fermentar. Al ver los componentes de este inóculo, los cuales aportan carbohidratos simples y una carga inicial de microorganismos, se puede pensar en que la carga de BAL en el proceso debería aumentar. Por el contrario, se puede ver en la Gráfica 3, que los recuentos de BAL son bajos. Este hecho, está mostrando

que el uso de este inóculo no está aportándole beneficios al proceso de fermentación; por el contrario, puede estar siendo la fuente de compuestos que estén ralentizando el crecimiento y la actividad de las BAL.



Gráfica 4. Comportamiento de la capacidad de expansión del Almidón de Yuca en cada tiempo de fermentación.

La capacidad de expansión muestra un comportamiento, un poco, errático. Con caídas muy pronunciadas y posteriormente con notorios picos de recuperación, con un máximo índice de expansión de 1,84. Lo cual está dentro de los parámetros aceptables para un Almidón Agrio de Yuca, si se compara con otras investigaciones (de Sena Aquino et al., 2013; Marcon, 2004; Marcon, KURTZ, MARASCHIN, REGINATTO, & AMANTE, 2011; Starling, 2010). Cereda & Maeda (2001), propusieron una clasificación para los diferentes niveles de calidad del Almidón Agrio de Yuca; sin embargo, esta está basada en la densidad específica del biscocho horneado. Por tanto, no se podrán clasificar los almidones obtenidos en este trabajo. Pero, basados en el trabajo de autores que han utilizado el índice de expansión como referencia para medir el desempeño de almidones de yuca experimentales y comerciales; se definirá 2,0 como el valor para que un almidón se considere de buena calidad.

Un resultado interesante de este análisis es, el valor de índice de expansión obtenido para el almidón de 94 días de fermentación. Ya que antes de realizar las mediciones, se suponía que este almidón había resultado de buena calidad y podía pasar al proceso de secado. Lo cual muestra, una vez más, la importancia de que el productor se haga cargo de realizar sus propios análisis y seguir su proceso por cuenta propia. De haber sido así, este almidón pudo estar en el mercado convirtiéndose en capital para el productor dos meses antes de la fecha que se retiró. A parte, de traer un beneficio económico, pudo haber liberado espacio para

producir más Almidón Agrio, aumentar su producción; lo cual hubiera generado más dividendos.

El comportamiento errático que muestran los análisis de expansión puede estar relacionado con la variedad de yuca que se utilizó para la fermentación. Alvarado et al.(2013) y Marcon (2004) han mostrado que la variedad y la región de donde proviene la Yuca afecta su capacidad de expansión. También, puede ser una posible fuente de variación de la calidad del Almidón Agrio el tiempo en el cual la raíz es cosechada. Estos dos parámetros son fuente de trabajo para que las instituciones académicas pueden establecer especificaciones desde, la materia prima, para poder hacer de este un producto más competitivo.

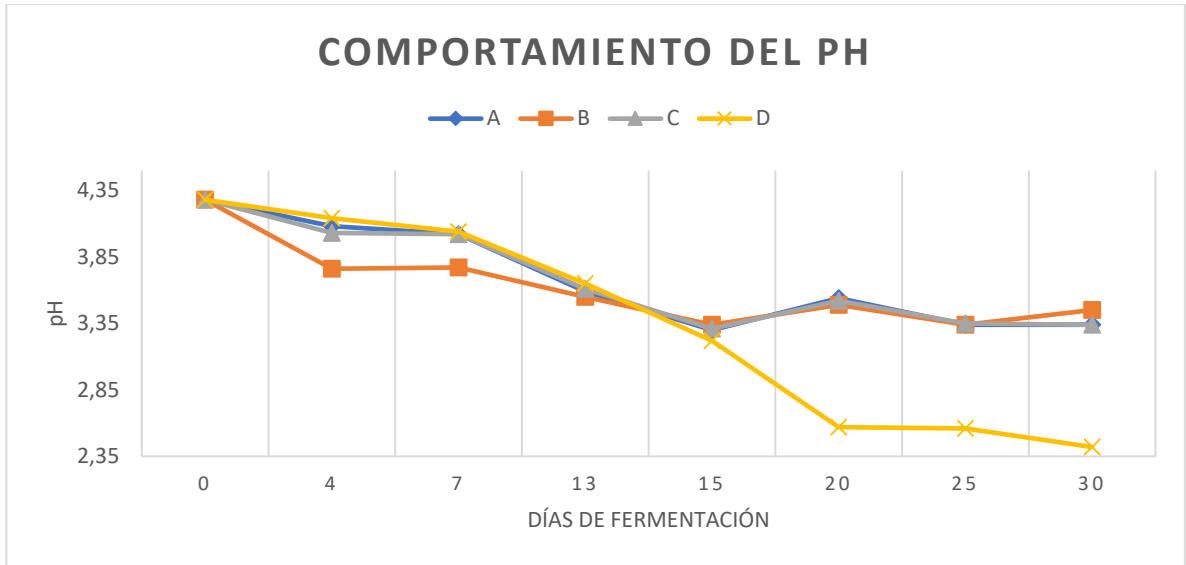


Figura 2 . Biscochos obtenidos de la prueba de capacidad de expansión hecha al almidón fermentado que se está estudiando. De izquierda a derecha se ubican en el siguiente orden: almidón sin fermentar, 3, 6, 12, 18, 24, 26 y 94 de fermentación. Fuente: Propiedad del autor.

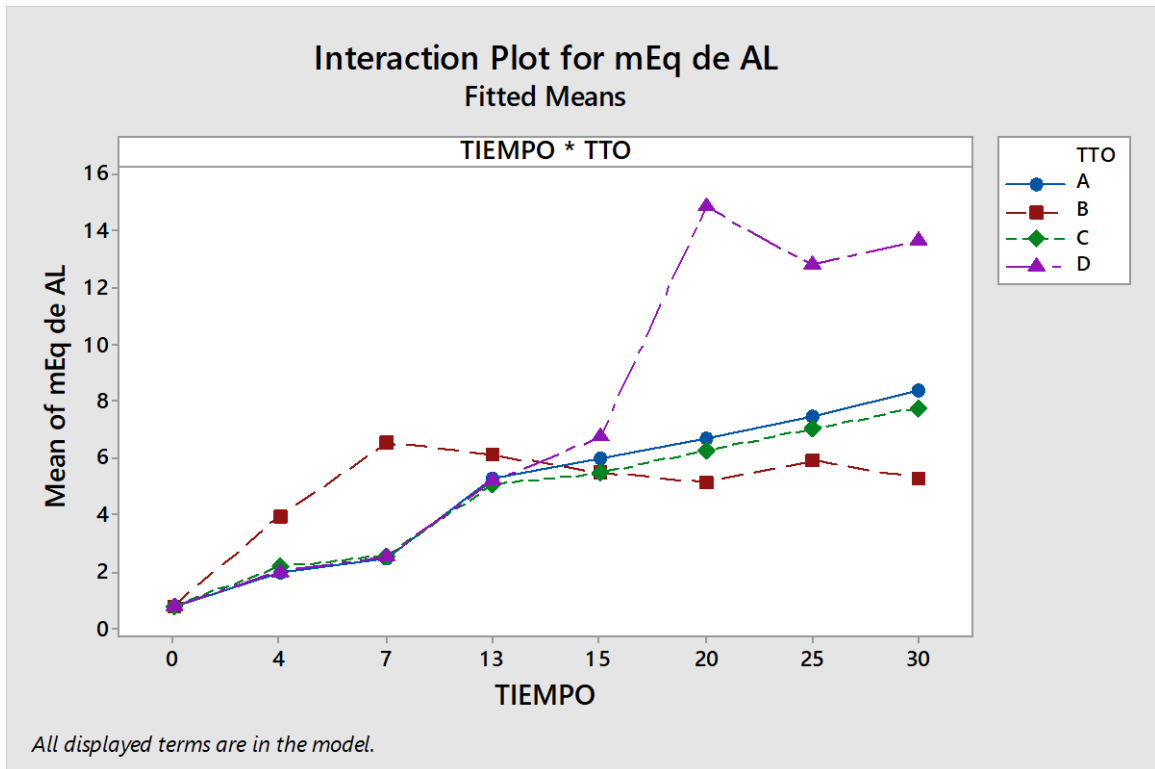
2.5.2 Resultados Obtenidos de las Fermentaciones Experimentales:

Para garantizar que se estuviera agregando un inóculo con una cantidad conocida de BAL, se le realizaron recuentos de BAL a este; y se monitoreo su acidez titulable con el fin de conocer la actividad metabólica de los microorganismos en este. El inóculo que se utilizó para las fermentaciones experimentales contaba con un valor de BAL de $1,3 \times 10^8$ UFC/g (8,1 Log UFC/g) y 4,93 meq de Ácido Láctico/100g de muestra.

El pH muestra un comportamiento esperado, en donde se da un descenso de alrededor de una unidad, durante todo el proceso. Tal como se describe en muchos documentos, la fermentación se caracteriza por un descenso en el pH lo cual evidencia la formación de ácidos orgánicos en el sistema (Cereda & Brito, 2017). En la Gráfica 5 se puede ver el efecto drástico que tuvo la adición de la Glucosa en el tratamiento “D” en el día 13 de fermentación, momento en el cual su pH estaba por debajo de 3,8.



Gráfica 5. Comportamiento del pH para cada una de las condiciones experimentales a escala de laboratorio.

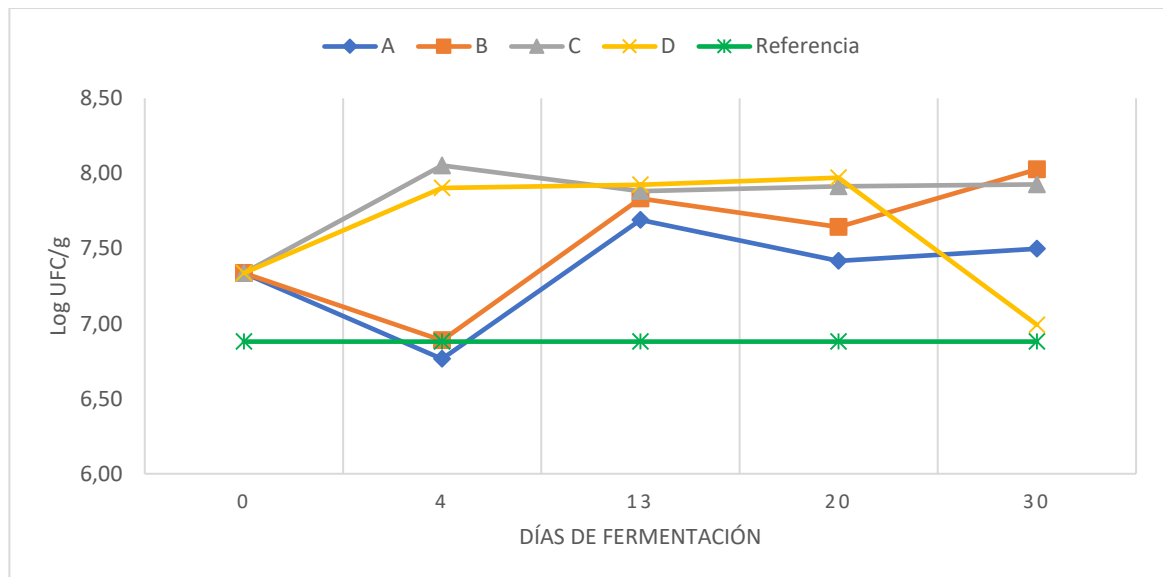


Gráfica 6. Comportamiento de la acidez titulable durante el tiempo de fermentación, en cada una de las condiciones experimentadas.

La tendencia mostrada por la acidez titulable es coherente con el comportamiento del pH, se puede evidenciar un aumento de este parámetro durante el proceso de fermentación, lo cual indica que se están llevando a cabo los procesos metabólicos

típicos de este tipo de fermentaciones ácido-lácticas. El TB se destaca durante los primeros días de la fermentación, esto debido a la adición inicial de Glucosa que se le hace junto a la adición de inóculo, lo cual favorece la producción de ácidos orgánicos de forma más rápida, ya que la fuente de carbohidratos está disponible para ser metabolizada, no requiere acción enzimática. Por esta razón, se decidió utilizar la Dextrosa en solución. En otros experimentos se reportó el uso de siropes y jaleas de este azúcar, pero, dado que estos se caracterizan por ser líquidos de alta viscosidad, se consideró que la disolución de estos en el medio sería heterogénea, por lo cual no podría haber carbohidratos disponibles en todo el medio, sino que sería un enriquecimiento más a nivel local. Sin embargo, se corre el riesgo de, que al substrato estar en solución, este sea consumido más rápido, cómo se observa en el experimento TB; lo cual no representa mayor preocupación, ya que el objetivo es que los microorganismos sufran una activación de su metabolismo, más no que este sea la fuente de carbohidratos para la producción de los ácidos orgánicos. Así como en el TB se hace notorio el efecto de la adición de Glucosa al medio con un pico de producción de acidez, en el TD también se puede ver cómo la adición del carbohidrato en el día 13 dispara su acidez titulable.

Si bien, las unidades en las cuales se está reportando la Acidez Titulable son meq de Ácido Láctico; es importante resaltar que no se está haciendo una medición cuantitativa de este ácido en particular. Como se mencionó anteriormente, en este proceso, la producción de ácido láctico representa alrededor del 60-80% de los ácidos orgánicos producidos, pero, también hay presencia de ácido acético, butírico y propiónico. Se usan estas unidades, ya que son las unidades sugeridas por la metodología en que se fundamentó este análisis.



Gráfica 7. Comportamiento de BAL durante el tiempo de fermentación de cada uno de los experimentos. El valor "Referencia" corresponde al promedio de BAL obtenido en la caracterización.

El análisis microbiológico permite evidenciar que, si hubo un efecto al duplicar la cantidad de inóculo en los experimentos, donde TC y TD muestran los recuentos más altos de BAL, donde se ve un crecimiento que posteriormente se estabiliza. El TA muestra un comportamiento que se ajusta a lo descrito por (Cereda & Brito, 2017) en donde se da un acondicionamiento del medio en la fase 1 para que se puedan empezar a desarrollar las BAL en una posterior fase 2, donde ya se establece una carga microbiológica de trabajo. Por el contrario, en TB debió haberse observado un comportamiento más cercano a lo que muestran TC y TD, ya que este experimento se utilizó una proporción de inóculo. Su comportamiento se podría explicar por el siguiente razonamiento: al aumentar la concentración de carbohidratos simples se estimuló la producción de ácidos orgánicos en las BAL presentes, y, cuando estos fueron consumidos permitieron que los microorganismos se pudieran desacelerar y comenzar a replicarse; lo que puede considerarse como otro tipo de acondicionamiento. Esta hipótesis se podría comprobar midiendo la concentración de BAL en diferentes concentraciones de glucosa y observando si se presenta esta tendencia a favorecer el metabolismo de ácidos orgánicos y se desfavorece el aumento de la población.

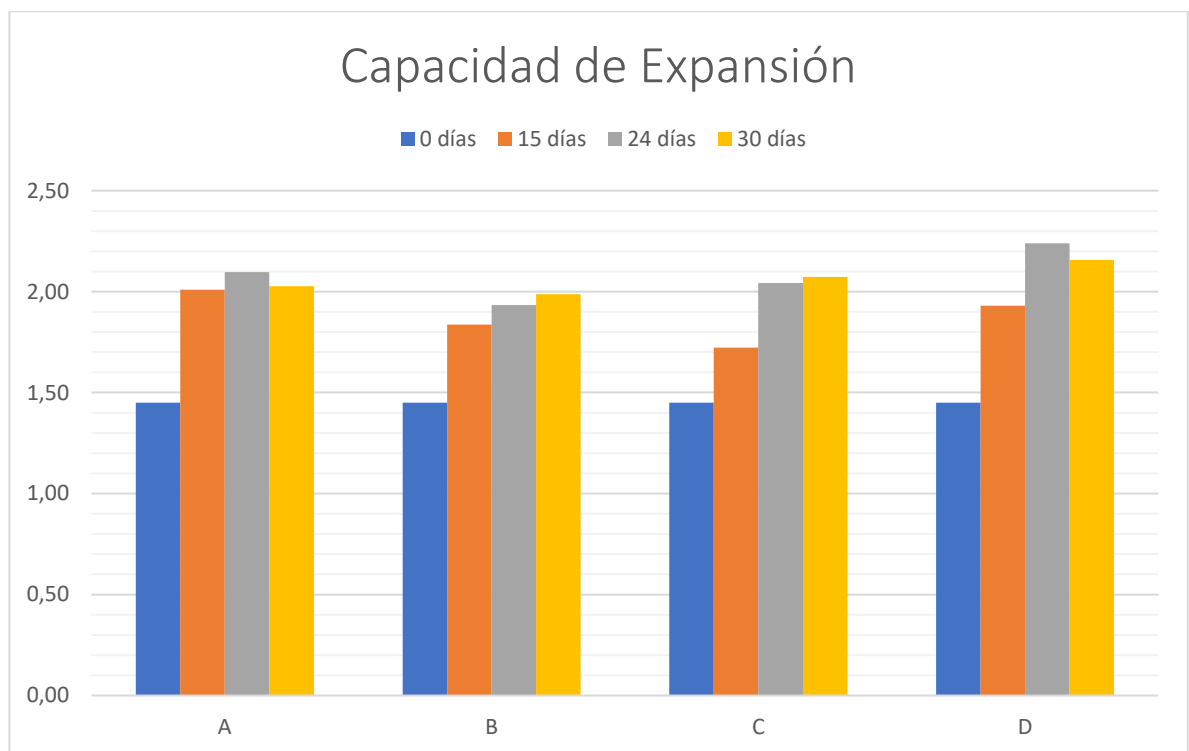
Para TA el acondicionamiento se ve justificado por el uso de agua obtenida de fuentes naturales la cual, trae consigo una carga microbiológica alta (enterobacterias y aerobios mesófilos) (ver Anexo 11). Por el contrario, se esperaría que el proceso de adaptación que hay en TB a TD fuera más demorado ya que la carga de microorganismos típicos de la fase 1 es mucho menor, ya que se ha usado agua purificada, y los microorganismos típicos de esta primera fase son aquellos que hayan podido adherirse al almidón después de su proceso de lavado, enjuague y decantación. Pero se puede observar en TC y TD que durante esta fase de acondicionamiento (día 0 a 4) la población aumenta y posteriormente se estabiliza. De esto se podría concluir, de forma prematura, que si bien como afirma Carvalho (1994) la calidad del agua es un parámetro que no afecta la calidad del producto ya que la carga de enterobacterias y aerobios mesófilos se disminuye con el descenso del pH; una mejora en la calidad del agua podría favorecer un aumento de la carga de BAL del proceso, que a su vez puede favorecer el desarrollo de la fermentación.

De lo anterior, y observando el comportamiento de la acidez titulable y la concentración de BAL; se puede afirmar que estas etapas de la fermentación no son limitadas una de la otra como se podría pensar a primera vista. Ya que, si fuera así, no habría un crecimiento en el contenido de acidez del medio, solo, hasta los días 4-7. Pero, se puede observar que el crecimiento es continuo desde el día 1, por lo que se podría pensar que estas transcurren simultáneamente; sacarificación, consumo de oxígeno disuelto, absorción de nitrógeno y producción de ácidos orgánicos. Pero al cabo de los primeros 4-7 días de la fermentación, se incrementa la producción de estos ácidos ya que se han logrado condiciones óptimas para las BAL. La temperatura promedio, del ambiente donde se llevaron a cabo los experimentos fue de 22,9°C, donde predominará una fermentación láctica, un poco más lenta (Cardenas & de Buckle, 1980; Cereda & Brito, 2017)

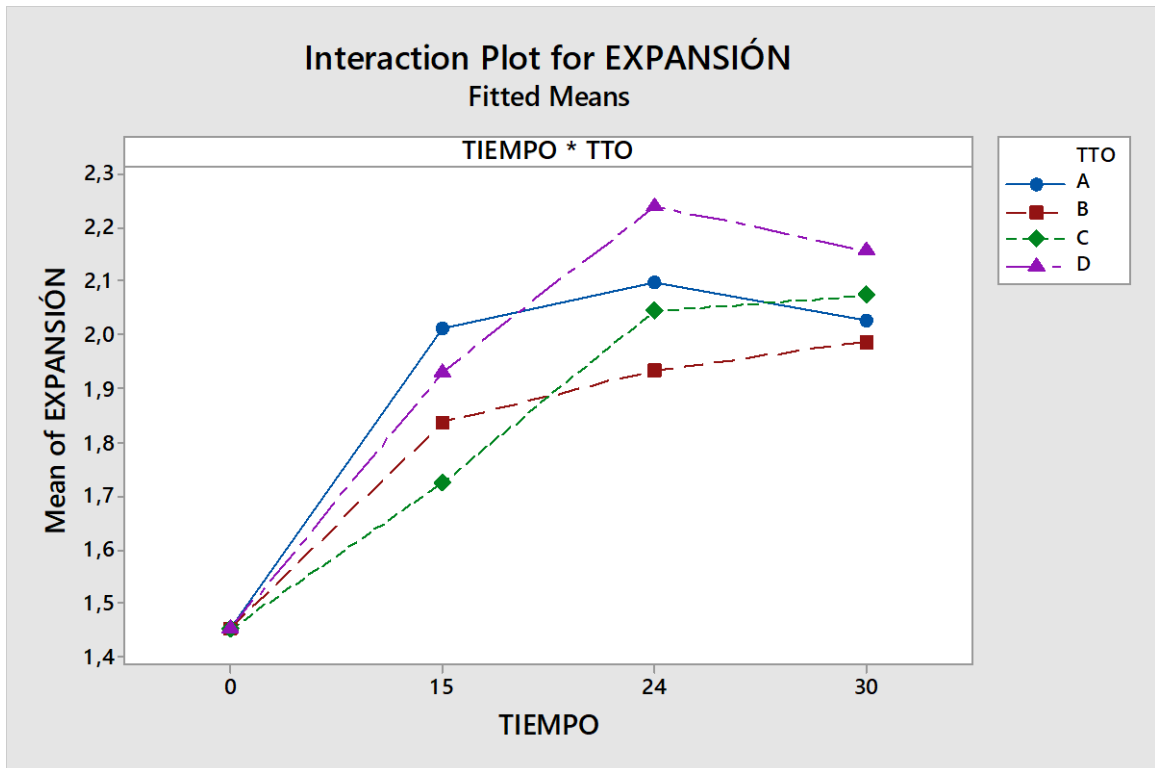
Estas consideraciones hechas en los párrafos anteriores dan muestra de todo el trabajo que aún se puede realizar en campos como la ecología microbiológica,

optimización de medios de cultivo y de microorganismos; en procesos de fermentación espontánea, lo que llevaría a que estos fueran más claros y, por ende, más eficientes y seguros.

Por último, se puede observar un descenso, pronunciado, en el número de microorganismos del TD después del día 20 de fermentación. Esta disminución en la población de microorganismos coincide con el pico más alto de producción de ácidos orgánicos, y con la caída del pH para este experimento. Así que este decrecimiento fue causado por la acidificación del medio, la cual no pudieron soportar muchos microorganismos a pesar de ser tolerantes a estos ácidos. Sería interesante ver el comportamiento de la población de microorganismos de estas fermentaciones en estas condiciones de acidez e identificar las BAL capaces de mantener su actividad en este pH; podría ser de interés para la industria productora de ácido láctico u otros ácidos orgánicos.



Gráfica 8. Comportamiento de la capacidad de expansión en cada uno de los tratamientos experimentales evaluados. Se grafica el promedio del índice de expansión de tres biscochos.



Gráfica 9. Comportamiento de la capacidad de expansión de cada uno de los experimentos respecto al tiempo de fermentación.

Tabla 2 a-d. Análisis cualitativo de cada uno de los experimentos durante el tiempo de fermentación

Tiempo (días)	TA			
	Burbujeo	Cámaras de Gas	Olor	Resistencia del Almidón
4	Leve	No	No	Alta
7	Leve	No	No	Alta
13	Leve	Leve	No	Alta
15	Leve	Leve	No	Alta
20	Leve	Leve	Leve	Mediana
25	Medio	Leve	Leve	Baja
30	Alto	Leve	Leve	Baja

Tiempo (días)	TB			
	Burbujeo	Cámaras de Gas	Olor	Resistencia del Almidón
4	Leve	Leves	No	Alta
7	Alto	Leves	No	Mediana
13	Alto	Grandes	No	Mediana
15	Alto	Grandes	No	Mediana
20	Leve	Grandes	No	Mediana
25	No	Grandes	No	Mediana
30	No	Grandes	No	Mediana

Tiempo (días)	TC			
	Burbujeo	Cámaras de Gas	Olor	Resistencia del Almidón
4	No	No	No	Alta
7	No	No	No	Alta
13	No	Leves	No	Alta
15	No	Leves	No	Alta
20	Leve	Leves	No	Alta
25	Alto	Leves	No	Mediana
30	Alto	Leves	Leve	Baja

Tiempo (días)	TD			
	Burbujeo	Cámaras de Gas	Olor	Resistencia del Almidón
4	No	No	No	Alta
7	No	No	No	Alta
13	No	Leves	No	Alta
15	No	Leves	No	Alta
20	Leve	Grandes	No	Mediana
25	Leve	Grandes	Dulce	Baja
30	No	Grandes	Dulce	Baja

El principal parámetro de calidad por el cual se clasifica un Almidón Agrio de Yuca es por su capacidad de expansión. De esta dependerá si el producto será deseable para los panaderos y usuarios finales. No obstante, el uso de los atributos subjetivos de la fermentación ha sido usado durante mucho tiempo para realizar un seguimiento al proceso de fermentación; parámetros con la producción de burbujas, olor y el sabor del almidón son (aún) características de referencia para saber si un almidón ha completado su fermentación (Alarcón & Dufour, 1998; Cereda & Brito, 2017; Marcon, 2004; N.Zakhia, G.Chuzel, C.Brabet, D.Dufour, 1994.). Por esto, la Tabla 2 muestra los resultados de observar cuatro características subjetivas de la actividad del proceso de fermentación.

El análisis de las características subjetivas del almidón permitió evidenciar que hay una posible relación entre la resistencia del almidón; representada como la fuerza que se debió hacer para penetrar esta masa de almidón con una espátula acanalada al momento de tomar las muestras, y su capacidad de expansión; si se comparan los experimentos en los cuales la Tabla 2 describe que la resistencia ha disminuido, corresponde con los tiempos en los cuales el almidón muestra un mejor comportamiento de expansión. Si esta relación fuera comprobada, se puede tener el fundamento para el diseño de un equipo que midiera la fuerza que se requiere para penetrar en una masa de almidón, y cuando se observe una disminución en la fuerza que se debe aplicar se podría decir que el almidón tiene una buena calidad. Esta herramienta sería muy útil en las rallanderías ya que le evitaría a los productores el trabajo de aprender y manejar técnicas más complejas o costosas, y podría usarse como un patrón para todos los productores.

Durante los experimentos se obtuvo un máximo de expansión de 2,24; el cual es un buen valor, que podría catalogarlo como un almidón de buena calidad. Todos los experimentos estuvieron alrededor del valor de referencia; esto muestra que el almidón que se está utilizando tiene una buena capacidad de expansión, y que el uso de un almidón con buenas capacidades de expansión asegura un producto de calidad. Con este almidón se puede obtener un producto de calidad, en 30 días. Sin embargo, es necesario hacer el escalamiento de estos experimentos a los tanques de producción y a las condiciones medioambientales del lugar de producción. Este almidón, informa el fabricante, proviene de las variedades de yuca "Amarga" y "H-1". La variedad amarga corresponde a la variedad denominada MBra 12; la cual se ha descrito como una variedad con buen poder de panificación (Alarcón & Dufour, 1998). Haciendo una revisión a las variedades reportadas por el CIAT en la región, no se encontró una con esta denominación, la variedad que más se acerca a este nombre es la HMC-1 (CIAT/Clayuca, 2006). Este tipo de mezclas de variedades, y el desconocimiento de la proporción entre variedades puede representar una fuente importante de variabilidad de la calidad final del almidón.

Tabla 3. Resultados de capacidad de expansión del almidón agrio de yuca, en cada uno de los tiempos de muestreo.

Tiempo (días)	Índice de Expansión*
24	2,08 ^A
30	2,06 ^A
15	1,88 ^B
0	1,45 ^C

* Valores promedio (de todos los experimentos) ajustados, donde los valores que tienen letra diferente presentan diferencia significativa entre ellos.

Este experimento concuerda, con los datos de expansión del almidón de la rallandería; en donde un máximo de expansión, en ambos casos, se obtiene en el día 24 (Ver Tabla 3). Este tiempo se podría establecer como una referencia de lo que podría tardar una fermentación para este productor. Para poder estandarizar un tiempo de fermentación habría que realizar muchas más mediciones directamente en el lugar de producción bajo las mismas condiciones. Esto demuestra que conocer las características de calidad de su producto, apropiarse de su proceso, y tener una relación más íntima con el proceso; no sólo le permite saber de primera mano cuando está listo el producto; sino que esto puede ayudarle a sectorizar mejor el mercado al que puede ofrecer su producto. Por ejemplo, si sabe que hay un lote de Almidón Agrio con una baja expansión, podría venderse para la producción de buñuelos y, no venderse para la producción de pan de yuca, que es el producto que exige un almidón de mayor poder de expansión (Cadena et al., 2006).

Al evaluar si las condiciones propuestas para mejorar el tiempo de fermentación del Almidón de Yuca mostraban diferencia estadística; y así poder determinar de manera formal si se había podido establecer una condición que favoreciera el proceso. Se tiene que, respecto a la capacidad de expansión, no hubo diferencia significativa entre las condiciones que se evaluaron una vez terminado el proceso de fermentación (ver Tabla 3). Respecto al parámetro de la Acidez Titulable, se tiene que el TD fue el que más acidez reportó. Los TB y TA se clasifican en un mismo grupo sin diferencia entre ellos, pero, al observar el comportamiento de TB en la Gráfica 9; se puede observar que este tiene un pico de actividad, que posteriormente se desacelera y frena su producción de acidez. Mientras que el crecimiento de TA es constante. Dado que el análisis se realiza con promedios, y TB tiene valores de acidez iniciales muy altos, esto hace crecer su promedio y lo ubica en este grupo.

Basados en los datos estadísticos se debe afirmar que el inóculo que optimiza el proceso de fermentación consiste en, no utilizar inóculo ya que los inóculos propuestos no mostraron aportes significativos a su tiempo de fermentación. Sin embargo, al observar las imágenes obtenidas de los biscochos hechos en la prueba de capacidad de expansión (ver Anexos 1-3), se puede ver que aquellos obtenidos en con el TD a los 15 días de fermentación son notoriamente mayores a aquellos obtenidos en los demás experimentos. Si bien, esto me permite afirmar que TD permitió obtener Almidón Agrio de Yuca de buena calidad en 15 días y por ende se logró acelerar el proceso de fermentación; se debe ser cuidadoso, y no se puede

generalizar esta conclusión, para ello requiere de experimentos que lo confirmen tanto a escala de laboratorio, como a escala del proceso real. La causa de que no se halla evidenciado esta diferencia en el análisis estadístico proviene de la alta variabilidad que hay entre las mediciones del diámetro medio del biscocho; estos tienen formas irregulares, las cuales sumadas a una falta de consistencia en los puntos donde se mide el objeto, hacen que su diámetro promedio sea variable, esto se puede evidenciar en la gráfica de intervalos de confianza obtenida en la prueba de Anova (ver Anexo 4).

Por otro lado, se logró mejorar la calidad del Almidón Agrio de Yuca que se produce, a escala de laboratorio respecto al caracterizado, donde se pasa de un índice de expansión de 1,84 a uno de 2,24 (TD). Además, se observa que el uso de agua de una fuente natural favorece positivamente el desarrollo del proceso (TA). Sin embargo, para poder que estos hallazgos sean útiles para la producción, se deben evaluar en las condiciones reales de proceso.

Tabla 4. Resultados obtenidos para los parámetros de índice de expansión y acidez titulable después de 30 días de fermentación.

Experimento	Índice de Expansión*	meq de Ácido Láctico*
Tradicional* (TA)	1,90 ^{A B}	4,88 ^B
7,5% de Inóculo + 0,5% Glucosa (TB)	1,80 ^C	4,90 ^B
15% de Inóculo (TC)	1,82 ^{B C}	4,64 ^C
15% de Inóculo + 0,5% de Glucosa [■] (TD)	1,89 ^A	7,31 ^A

*Tradicional = agua de una fuente natural + almidón.

■Adicionada en el día 13 de fermentación.

*Valores promedio ajustados, donde los valores que tienen letra diferente presentan diferencia significativa entre ellos.

Los valores de Acidez Titulable obtenidos en este trabajo son inferiores, si se comparan con los obtenidos por Brabet et al. (1996). Por el contrario, comparados con los valores obtenidos por de Sena Aquino et al. (2013) los valores de acidez obtenidos en este trabajo son superiores. Sin embargo, se debe tener cuidado al comparar resultados con estudios como el citado anteriormente, y en general en investigaciones de Almidón Agrio de Yuca hechas en Brasil, debido a que esta metodología es muy utilizada por ellos, ya que es una norma estándar nacional para reportar la acidez titulable en Almidones. Estas diferencias metodológicas pueden llevar a que, al momento de comparar resultados, se puedan dar conclusiones apresuradas. Puede que las diferencias de acidez entre este trabajo y el de Brabet et al. (1996) se deban a la diferencia de escala, ya que los autores usaron un tanque de fermentación de los que se usan usualmente en este tipo de agroindustrias, los cuales tienen una capacidad de 10 toneladas aproximadamente. Comparados con los 350g que se utilizaron en este experimento. Por esto, se reitera la importancia de llevar este tipo de investigaciones al terreno, y, evaluar su comportamiento allí.

Es importante aclarar que, para poder definir si hubo una reducción en el tiempo de la fermentación se va a tomar como tiempo de referencia 24 días ya que fue el tiempo que se muestra en la caracterización que se tarda en producirse un almidón de buena calidad. No se tomará como referencia los 94 días de proceso que informa el productor porque en la caracterización se puede evidenciar que el proceso tardó un menor tiempo y esto no representaría un reto para la investigación. Sin embargo, es importante que determine un tiempo estándar de fermentación del proceso con experimentos más exhaustivos estadísticamente.

Si se compara la Gráfica 6 del comportamiento de la acidez titulable con la Gráfica 9 que muestra el comportamiento de la capacidad de expansión, se puede ver que tienen tendencias similares. Esto permite inferir que el comportamiento de la acidez titulable puede describir el comportamiento que tendrá la capacidad de expansión del almidón fermentado. Observando el máximo de acidez titulable para el TD, este muestra su máximo en la gráfica de expansión, en el mismo tiempo (24 días).

Marcon (2004) propuso la acidez titulable como un parámetro para definir el término de una fermentación, la autora propuso un valor de 20 mL NaOH 1N o 2 mL de NaOH 0,1N. Sin embargo, estos valores no fueron reproducibles en los experimentos realizados en este trabajo; los valores máximos de expansión (2,03; 1,99; 2,07 y 2,24) para TA a TD se obtuvieron con valores de acidez de 7,43; 5,30; 7,70 y 12,77 mL NaOH 0,1N respectivamente. Además, la producción de acidez titulable, se ve afectada directamente por la adición de Glucosa al medio, ya que este carbohidrato es metabolizado inmediatamente en ácidos orgánicos; no depende de la conversión de Almidón en Glucosa u otro carbohidrato más simple (Holzapfel & Wood, 2014); por tanto, se vería un incremento en la acidez cómo se ve en el TB durante los primeros días y en TD después de la adición de Glucosa. Por tanto, se debería definir un valor de referencia para fermentaciones tradicionales y otro diferente para fermentaciones suplementadas con Glucosa; o demostrar que este valor se puede aplicar a ambos casos. En el trabajo de de Sena Aquino et al. (2013) se muestra que las muestras recolectadas cuando se alcanza el valor de acidez de 2 mL NaOH 0,1N, la muestra de la fermentación modificada con Glucosa tiene un índice de expansión de 1,73 respecto a 1,62 de la fermentación tradicional; el primer valor el mayor a la muestra de almidón comercial y la segunda es igual al almidón comercial (estadísticamente). Además, este valor de expansión de la fermentación modificada no es el mejor valor, hay un valor superior (1,86) cuando la acidez tiene un valor de 2,88 mL NaOH 0,1N. A pesar de esta observación, no se desestima el uso de esta medición para hacer un seguimiento al proceso, pero no se puede considerar adecuado como un parámetro estándar para definir cuando el almidón ha llegado a su mejor calidad de expansión.

Al observar el comportamiento de la acidez titulable con la población de BAL pareciera que no hay una influencia de las poblaciones de BAL sobre el comportamiento de la acidez. El TC tiene alrededor de 3 veces más UFC/g que el TA, pero, esta diferencia no se observa en la cantidad de acidez que producen ya que su producción de acidez es muy similar hasta el día 13, de allí en adelante la diferencia es muy pequeña entre estos dos experimentos. Y, estos experimentos tienen las mejores condiciones para hacer esta comparación ya que no se ha

añadido Glucosa al medio. También, es importante señalar que la capacidad de expansión del almidón producido en TA es ligeramente mayor al producido en TC. Esto pareciera indicar que, la calidad del Almidón Agrio de Yuca está más relacionado con la actividad de los microorganismos presentes en el sistema, que con su cantidad. Ha habido propuestas de adicionar especies puras a los procesos de fermentación de almidón de yuca como “starter”, afirmando que esto podría estandarizar el proceso de producción de Almidón Agrio de Yuca y facilitar su control (Corrêa, 2013; N.Zakhia, G.Chuzel, C.Brabet, D.Dufour, 1994). Sin embargo, hasta no conocer a fondo las interacciones y el rol de los microorganismos que están presentes en el sistema, usar cultivos puros representaría un riesgo de perder atributos gustativos característicos del producto que pueden hacerlo menos deseable. Y, en un proceso de fermentación que se hace en condiciones no estériles, el uso de cultivos aislados resulta impráctico porque las poblaciones que terminan siendo predominantes en la fermentación son diferentes a las que se agregaron puras, como se observa en Corrêa (2013) donde se adicionan especies purificadas de *Lactobacillus brevis* y al final de la fermentación la población dominante era *Lactobacillus plantarum*, el cual se desarrolló espontáneamente en la fermentación.

Como se mencionó anteriormente, las intervenciones que buscan acelerar el proceso de fermentación pueden llevar a que se pierdan características organolépticas del producto, que son representativas de él. Como se observa en la Tabla 2 hubo una pérdida del olor característico del producto en los experimentos que se realizaron; incluso, TD presenta un olor diferente al característico, con notas dulces y afrutadas. Estos productos, hacen parte de la memoria culinaria de muchas personas, y perder estas características, puede generar un impacto negativo en los usuarios que, también buscan mantener los sabores tradicionales de sus productos alimenticios.

Se deben tener en cuenta, como una fuente que puede agregar variación al sistema, los muestreos que se le realizaron a los experimentos en el curso de la fermentación porque al retirar el material sobrenadante que se formaba en cada experimento, cada que se muestreaba, y la penetración y apertura de la masa de almidón al momento de extraer las muestras de almidón pudo generar que: se retiraran hongos que se formaban en el sobrenadante y podrían estar contaminando el proceso y que el agua penetrara mejor en la masa de almidón la cual arrastraría microorganismos al interior de la masa de almidón que podrían desarrollarse mejor y acelerar el proceso.

2.5.3 Resultados de los Experimentos Previos y Adicionales:

Los experimentos realizados previamente, no generaron resultados concluyentes. Primero, el diseño de mezclas que se propuso analizar al comienzo del proyecto arrojó resultados que no permitían definir que mezcla era la más acertada ya que el valor de predicción que se daba en la herramienta estadística era cero. Además, la técnica que se utilizó para realizar las mediciones de acidez no era la más acertada ya que se debía tomar una muestra 50% menor a la que decía la técnica para evitar

consumir todo el sobrenadante y evitar adicionar agua. Por otro lado, solamente se realizaron mediciones de acidez titulable; las mediciones de capacidad de expansión no se estipularon para ese experimento, y con el desarrollo del proyecto se ha concluido que estas son muy importantes para poder medir la calidad del Almidón Agrio de Yuca. Esto era causado principalmente por la extensión del experimento, ya que comprendía 42 experimentos continuos con diferentes concentraciones de substratos a experimentar, lo cual hacía bastante compleja su medición.

El experimento que le siguió a este se debió cancelar pasadas dos semanas de fermentación. La adición de la glucosa y el extracto de levadura enriqueció mucho el sistema y llevó a que se diera el crecimiento de una gran cantidad de hongos y algunas bacterias que hicieron que de estos experimentos se emanaran olores muy desagradables. Por más prometedores que se vieran los resultados, una contaminación de este tipo no era factible, ya que se está experimentando con un producto alimenticio, que si bien en sus procesos normales de producción no presenta microorganismos que puedan comprometer seriamente la salud del usuario, este medio tan enriquecido si hubiera podido generar el crecimiento de microorganismos no deseados. Además, las características organolépticas eran sumamente desagradables, para un producto alimenticio.

En los experimentos adicionales se pudieron observar resultados interesantes. Primero, se observó un rápido crecimiento, en los medios selectivos para hongos, de diferentes especies de mohos y levaduras. Los mohos presentaban una morfología algodonosa y un color blanco. Se ha planteado la posibilidad de aislar estos organismos y secuenciarlos para identificarlos. Estos resultados confirman los hallazgos de otros investigadores que identificaron especies de hongos en las fermentaciones; sin embargo, aún no es muy claro su papel y su relevancia en el proceso.

Segundo, el proceso de fermentación con avena mostró un rápido crecimiento en su valor de acidez titulable alcanzando un valor de 20,2 meq de Ácido Láctico/100g después de 7 días, estos valores duplican los valores promedio de acidez obtenidos en las fermentaciones experimentales de almidón de yuca. Además, mostró un crecimiento de 8,51 Log UFC/g de BAL en agar MRS después de 7 días de fermentación, este valor es superior al presentado por las fermentaciones de almidón de yuca, en las cuales predominan estos organismos. Por último, la siembra en el medio selectivo para hongos, mostró crecimiento principalmente de levaduras. Por lo tanto, este sustrato representa una fuente importante de microorganismos para estudios posteriores de fuentes alternativas de inóculos para mejorar el proceso.

2.7 Conclusiones

De la caracterización del Almidón Agrio de Yuca producido en la rallandería del Cauca se puede concluir que, las poblaciones de BAL tienen una concentración inferior a la reportadas por otros autores. Esto indica que el uso del inóculo que usan

tradicionalmente el productor no está aportando al número de BAL en el proceso; que es el propósito de usar un inóculo.

De esta caracterización se evidencia que, el tiempo de fermentación que produjo un Almidón Agrio de buena calidad de expansión fue mucho menor al tiempo que manejaba el productor (24 días versus 94 días). Lo cual, realza la importancia de realizar las mediciones de la calidad del producto de primera mano.

Sobre los experimentos realizados para optimizar el tiempo de fermentación del almidón de yuca, se puede concluir que, el uso de Glucosa en solución muestra un efecto más marcado en la producción de ácidos orgánicos. Sin embargo, usando este azúcar simple al inicio de la fermentación, puede tener un efecto negativo en el proceso ya que este sufre una desaceleración y una posterior inactivación.

Se puede ver que hay un efecto en las poblaciones de BAL al agregar más inóculo; su concentración muestra un crecimiento y un comportamiento estable durante todo el proceso, mientras que el proceso sin inóculo se muestra más errático.

El aumento rápido en la concentración de ácidos orgánicos y un descenso muy pronunciado del pH muestran efectos negativos en las poblaciones de BAL, al darse condiciones extremas de pH estas descenderán.

El conocimiento de la fuente de materia prima y su estado de maduración al momento de ingresar al proceso es un parámetro importante para tener un punto de referencia de la calidad que puede llegar a tener el producto final. Este pudo ser el factor que causara el comportamiento altamente variable visto en la calidad de expansión del almidón del productor. Aún está abierto el debate respecto a la influencia de la variedad de yuca en la capacidad de expansión.

Las variedades “Amargas” (MBra-12) y “H1” (HMC-1), muestran una buena capacidad de expansión, llegando a producir un Almidón Agrio de Yuca con una capacidad de expansión $\geq 2,0$ en 30 días, a escala de laboratorio.

Los resultados de la caracterización del Almidón Agrio de la rallandería y de los experimentos realizados en el laboratorio coinciden en que la máxima capacidad de expansión se obtuvo a los 24 días de fermentación. Este tiempo de fermentación podría establecerse como un valor de referencia para el proceso tradicional y puede ser el punto de partida para definir un tiempo estándar de fermentación, el cual es necesario definir, para parametrizar el proceso.

Se observó que, las gráficas del comportamiento de la acidez titulable comparada con la de expansión muestran comportamientos similares; y que los picos de expansión concuerdan con puntos altos de producción de acidez. Lo cual confirma que este análisis se puede utilizar para definir cuando el almidón que se está fermentando tiene buena capacidad de expansión. Sin embargo, no se podría afirmar que el parámetro propuesto por Marcon sea el más apropiado, ya que este puede verse afectado por la adición de Glucosa al sistema. Además, este indica cuando el Almidón Agrio alcanza una calidad mínima, y no una capacidad máxima. Por tanto, el valor propuesto por Marcon puede usarse de referencia para empezar

a realizar análisis de expansión; más no como un valor estándar que indique si el almidón ha alcanzado sus mejores cualidades.

La comparación del comportamiento de las poblaciones de BAL con la acidez titulable, indican que no hay una relación directa en el número de BAL sobre la producción de ácidos orgánicos en el sistema. Esto indica que la mejora en procesos de fermentación de almidón de yuca dependerá más de la actividad de los microorganismos presentes, que de su número.

La manipulación de los procesos de fermentación espontánea está sujeta a que, si bien se acelera el proceso se tenga como consecuencia pérdida de características organolépticas características del producto. Como ocurrió en el caso de TD.

Basados en los datos estadísticos se debe afirmar que el inóculo optimizado consiste en, no utilizar inóculo; ya que los inóculos propuestos no mostraron aportes significativos al tiempo de fermentación. Sin embargo, al observar las imágenes obtenidas de los biscochos hechos en la prueba de panificación, se puede ver que aquellos obtenidos en el experimento TD, a los 15 días son visualmente mayores a aquellos obtenidos en los demás experimentos.

Se logro mejorar la calidad del Almidón Agrio de Yuca que se produce, a escala de laboratorio respecto a los valores de expansión obtenidos para el almidón fermentado por él productor. Se supera el índice de expansión del productor (1,84) por un valor de 2,24 (TD).

Se observa que el uso de agua de una fuente natural tiene un efecto positivo en el desarrollo del proceso (TA), representado por su producción de acidez y capacidad de expansión.

La técnica de índice de expansión es muy útil para tener un resultado rápido y práctico, comparado con otras técnicas, de la capacidad de expansión de un almidón en proceso de fermentación. Sin embargo, esta puede presentar desviaciones grandes entre sus mediciones que afectan el análisis estadístico de los resultados obtenidos con ella.

El TD da una propuesta nueva, desde el punto de vista metodológico, para mejorar el proceso de fermentación. Si bien este no logró disminuir el tiempo de fermentación que marcó el experimento Tradicional; si marcó la capacidad de expansión más alta. Así que una combinación del proceso tradicional con el TD podría maximizar la fermentación.

Las técnicas analíticas básicas que se aplicaron en esta investigación y el análisis subjetivo del proceso de fermentación muestran ser útiles para conocer el desarrollo del proceso e inferir algunas fallas en este, así como pueden ser útiles para el desarrollo de experimento que permitan estandarizar el proceso de fermentación a un bajo costo.

Tanto en esta, como en cualquier investigación que se realice, es muy importante conocer el estado del proceso que se está analizando, así como las técnicas de análisis que se utilicen. Además, estas deben ser robustas y mostrar ser

consistentes. No se debe iniciar con experimentos que propongan solucionar el problema antes de conocerlo, ya que se puede desperdiciar tiempo y recurso. Pero, con esto se gana mucha experiencia, lo cual puede ser positivo en un contexto más académico; más no tanto en contextos productivos.

2.8 Recomendaciones

A través de toda la discusión de los resultados se dejaron abiertos diferentes focos de discusión alrededor del proceso de fermentación de almidón de yuca, los cuales pueden ser puntos de referencia al momento de plantear hipótesis en otras investigaciones. No obstante, es esta sección se rescatarán alguno, que son considerados más relevantes.

Se ha mencionado a lo largo de todo el documento, pero, realizar como mínimo el análisis de expansión y reunir estos datos en un cuaderno, junto al tiempo de fermentación, alguna característica subjetiva del proceso y la variedad de yuca que se está utilizando; le proporcionará información suficiente al productor para poder tomar mejores decisiones respecto a su proceso. O al menos, tener evidencias al momento de consultar con alguien que tenga más experiencia en el tema.

La disminución de la calidad del Almidón Agrio de Yuca del día 24 de fermentación respecto al día 94, muestra que no es conveniente dejar el proceso de fermentación más de los 60 días en el tanque. Si no se observa un progreso en la calidad del almidón que se está fermentando, se debería reiniciar el proceso, en un tanque diferente con agua nueva.

Los resultados de los experimentos TA y TD se muestran prometedores, por lo cual, el llevarlos a una escala de proceso real, haciendo mediciones de índice de expansión con rangos más cerrados. Puede generar resultados importantes respecto a la velocidad que se desarrolla el proceso.

En el caso que se desee implementar la práctica de la adición de un inóculo de almidón fermentado por el productor, se sugieren dos metodologías. La primera, tomar un tanque de fermentación pequeño, limpio, y llevarlo a hasta la mitad con agua y completarlo con almidón dulce. La segunda, tomar un tanque de fermentación e inmediatamente después de haber sacado el almidón para el secado, enjuagar sus paredes con agua hasta que todos los restos del almidón del proceso anterior queden en el agua y agregar almidón dulce sobre esta agua. En ambos casos dejar fermentar por un tiempo no mayor a 20 días. Estas metodologías son propuestas hipotéticas que deben ser validadas experimentalmente.

Se sugiere, en investigaciones posteriores, que uno de los parámetros que sea medido en el sobrenadante de los experimentos sea el oxígeno disuelto y la cantidad de azúcares, para poder tener más información sobre la actividad de los microorganismos en la fermentación.

Dado que uno de los problemas para el análisis estadístico de los datos de la capacidad de expansión fue su variación entre medidas; se propone que este problema puede ser solucionado aumentando el número de mediciones. En vez, de

realizar un pool de las muestras realizadas por triplicado; hacer las tres mediciones de índice de expansión que dice la prueba a cada uno de los experimentos (3 x 3). También, es importante definir un listado o una guía de las mediciones que se le deben hacer al biscocho para evitar repetir mediciones y con esto aumentar la variabilidad.

La operación de muestreo, la cual constaba de retirar almidón del sistema y generar un paso del agua sobrenadante a través de toda la masa de almidón pudo traer beneficios, en tiempo y calidad, al proceso de fermentación. Aplicar una cultura de retiro de la “nata” del tanque de fermentación y manteniendo la columna de agua que cubre el almidón limpia, no sólo encarrila el proceso de producción hacia uno más sanitario también puede traer beneficios sobre la calidad del producto.

Se puede evidenciar una relación inversa entre la resistencia que ofrece el almidón en su proceso de fermentación con la capacidad de expansión de este. Hace falta más experimentos para confirmar que esta relación puede ser aplicada a todos los procesos de fermentación. A partir de esta hipótesis, se pueden diseñar instrumentos que midan la fuerza de penetración en el almidón para determinar cuando el almidón que se está fermentando presenta una buena capacidad de expansión.

Se debe realizar nuevos experimentos para confirmar los hallazgos, cuya evidencia estadística y subjetiva no permiten que estos sean concluyentes. Además, se requiere de experimentos a escala real de producción para poder afirmar que estos hallazgos son aplicables en un proceso real.

Teniendo en cuenta el trato que se tiene en Colombia hacia los ríos y fuentes naturales de agua; se sugiere el uso de un filtro de carbón activado en el tanque de filtración del agua del proceso. Esto puede disminuir la concentración de sustancias contaminantes que pueden ser causantes de una disminución de la actividad microbiológica del proceso.

Darían un aporte importante a la comprensión de los procesos de fermentación espontánea de almidón de yuca, realizar estudios metagenómicos que permitan observar las poblaciones de hongos y bacterias predominantes en diferentes fases de la fermentación, sin necesidad de tener organismos aislados en medios de cultivo. Y, con esta información, evaluar cómo el uso de agentes antimicóticos o bactericidas afectan en la producción de ácidos orgánicos, azúcares disueltos y en la capacidad de expansión del Almidón Agrio de Yuca.

Explorar el uso de software de análisis de imagen junto con algún software de digitalización de imagen para poder tener valores más consistentes del diámetro de los biscochos horneados en la prueba de capacidad de expansión. Esto permitiría aumentar la precisión de la técnica.

3. BIBLIOGRAFÍA

Alarcón, F., & Dufour, D. (1998). *Almidón agrio de yuca en colombia tomo 1 y tomo 2*. Colombia.

Alvarado, P. M., Grosmaire, L., Dufour, D., Toro, A. G., Sánchez, T., Calle, F., ... Tran, T. (2013). Combined effect of fermentation, sun-drying and genotype on breadmaking ability of sour cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 1137-1146. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.012>

Aquino, A. C. M. de S., Gervin, V. M., & Amante, E. R. (2016). Avaliação do processo produtivo de polvilho azedo em indústrias de Santa Catarina. *Brazilian Journal of Food Technology*, 19(0). <https://doi.org/10.1590/1981-6723.5515>

Aristizabal, J., & Sanchez, T. (2007). *Guía técnica para producción y análisis de almidon de yuca*.

Brabet, C., Chuzel, G., Dufour, D., Raimbault, M., & Giraud, J. (1996). Chapter 27: Improving Cassava Sour Starch Quality in Colombia. En *Cassava flour and starch: Progress in research and development*.

Cadena, M. P., Villarraga, E. C., Luján, D. E., & Salcedo, J. G. (2006). EVALUACION DE LA AGROINDUSTRIA DEL ALMIDON AGRIO DE YUCA (Manihot esculenta Crantz) EN CORDOBA Y SUCRE. *TEMAS AGRARIOS - Vol. 11:(1), Enero - Junio 2006 (43 - 53)*.

Cardenas, O. S., & de Buckle, T. S. (1980). SOUR CASSAVA STARCH PRODUCTION: A PRELIMINARY STUDY. *Journal of Food Science*.

Carvalho, E. P. de. (1994). *Determinacao Da Microbiota Do Polvinho Azedo*. Universidade Estadual de Campinas.

Cereda, M. P. (1975). Microorganismos e ácidos orgânicos ocorrentes na fermentação da fécula de mandioca. *Anais Academia Brasileira de Ciencia*, 47.

Cereda, M. P., & Brito, V. H. dos S. (2017). Alimentos y bebidas fermentados de Yuca (Manihot esculenta Crantz). En *Fermented Foods of Latin America*.

Cereda, M. P., & Maeda, K. C. (2001). AVALIAÇÃO DE DUAS METODOLOGIAS DE EXPANSÃO AO FORNO DO POLVILHO AZEDO. *Ciênc. Tecnol. Aliment*.

Chiquiza-Montaño, L. N., Montoya, O. I., Restrepo, C., & Orozco-Sánchez, F. (2016). Estudio de la Microbiota del Proceso de Producción de Almidón Agrio de Yuca. *Información tecnológica*, 27(5), 03-14. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000500002>

CIAT/Clayuca. (2006). Aspectos Tecnológicos Sobre Producción de Yuca. Recuperado a partir de https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/54279/aspectos_tecnologicos_produccion_yuca.pdf?sequence=1

Corpoica. (2016). El suroccidente colombiano contará con dos nuevas variedades de yuca industrial que le entregará Corpoica. Recuperado 27 de abril de 2018, a

partir de <http://www.corpoica.org.co/noticias/generales/dos-nuevas-variedades-de-yuca/?id=19526>

Corrêa, F. (2013). *ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DA MICROBIOTA PREDOMINANTE NA FERMENTAÇÃO NATURAL DE MANDIOCA: SELEÇÃO DE CULTURAS INICIADORAS PARA PRODUÇÃO DE POLVILHO AZEDO EM ESCALA PILOTO*. UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS.

DANE. (2003). CENSO DE PLANTAS PROCESADORES DE YUCA PARA USO INDUSTRIAL, 4.

de Sena Aquino, A. C. M., Pereira, J. M., Watanabe, L. B., & Amante, E. R. (2013). Standardisation of the sour cassava starch reduces the processing time by fermentation water monitoring. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(9), 1892-1898. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12167>

Gottret, M. V., Henry, G., & Dufour, D. (1997a). Caracterización de la agroindustria de procesamiento de almidón agro de yuca en el departamento del Cauca, Colombia. Recuperado a partir de http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/agroempresas/adopcion_impacto_rallanderias.pdf

Gottret, M. V., Henry, G., & Dufour, D. (1997b). Proyecto integrado de investigación y desarrollo de la producción y transformación de yuca para la obtención y comercialización de almidón agro de yuca - Adopción e Impacto -. Recuperado a partir de http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/agroempresas/caracterizacion_%20rallanderias.pdf

Holzapel, W. H., & Wood, B. J. B. (Eds.). (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. Chichester, West Sussex, UK: Wiley Blackwell.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas (ICONTEC). (2009). NTC 4092: MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS Y PRODUCTOS PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL. REQUISITOS GENERALES Y DIRECTRICES PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS. Recuperado a partir de <http://service.udes.edu.co/modulos/documentos/karenmartinez/50159704-NTC4092.pdf>

Júnior, A. C. P. (2013). ANÁLISE DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO POLVILHO AZEDO, 152.

Marcon, M. J. A. (2004). *EFEITO DO PROCESSO FERMENTATIVO PELO MÉTODO TRADICIONAL E COM ADIÇÃO DE GLICOSE, SOBRE A QUALIDADE DO POLVILHO AZEDO*. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA.

Marcon, M. J. A., KURTZ, D. J., MARASCHIN, M., REGINATTO, V., & AMANTE, E. R. (2011). Análises rápidas para prever a expansão do polvilho azedo, 7.

Marcon, M. J. A., Kurtz, D. J., Raguzzoni, J. C., Delgadillo, I., Maraschin, M., Soldi, V., ... Amante, E. R. (2009). Expansion Properties of Sour Cassava Starch (Polvilho

Azedo): Variables Related to its Practical Application in Bakery. *Starch - Stärke*, 61, 716-726.

Marcon, M. J. A., Vieira, M. A., Santos, K., De Simas, K. N., Dias De Mello Castanho Amboni, R., & Amante, E. R. (2006). THE EFFECT OF FERMENTATION ON CASSAVA STARCH MICROSTRUCTURE. *Journal of Food Process Engineering*, 29(4), 362-372. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2006.00073.x>

Mestres, C., & Rouau, X. (1997). Influence of Natural Fermentation and Drying Conditions on the Physicochemical Characteristics of Cassava Starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(2), 147-155. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199706\)74:2<147::AID-JSFA781>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199706)74:2<147::AID-JSFA781>3.0.CO;2-J)

Mosquera, M. (2010). *Mejoramiento del proceso tradicional para la obtención de almidón agrio de yuca en el sector de Mondomo-Cauca*. UNAD.

N.Zakhia, G.Chuzel, C.Brabet, D.Dufour. (s. f.). Cassava Fermentation: Cassava Sour Starch in Latin America.

Reginatto, V., Kurtz, D., Marcon, M. J. A., Xavier, J. J. M., Scussel, V. M., & Amante, E. R. (2009). Modificação do Processo de Produção de Polvilho Azedo Visando o Aumento na Concentração de Ácidos Orgânicos na Água Residuária. *São Paulo*, 10.

Starling, C. A. (2010). *OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE PRODUÇÃO DO AMIDO DE MANDIOCA FERMENTADO*. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS.

Torres, P., Pérez, A., Marmolejo, L. F., Ordóñez, J. A., & García, R. E. (2010). UNA MIRADA A LA AGROINDUSTRIA DE EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN DE YUCA, DESDE LA ESTANDARIZACIÓN DE PROCESOS. *Revista EIA*, (14), 23-38.

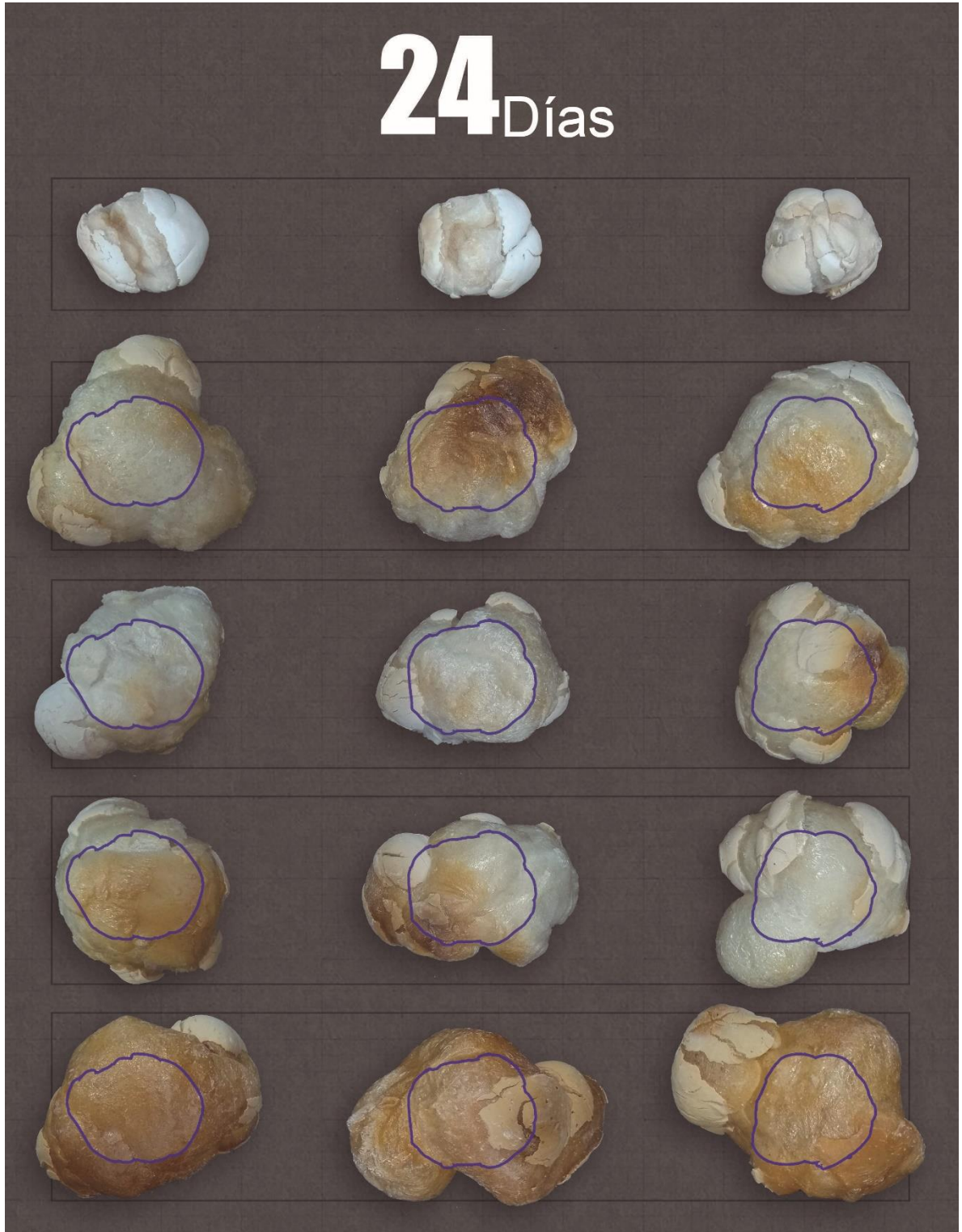
Zakhia, N., Chuzel, G., Brabet, C., & Dufour, D. (1994). Cassava fermentation: Cassava Sour Starch in Latin America. En *The Cassava Biotechnology Network* (Vol. II, p. 651).

ANEXOS

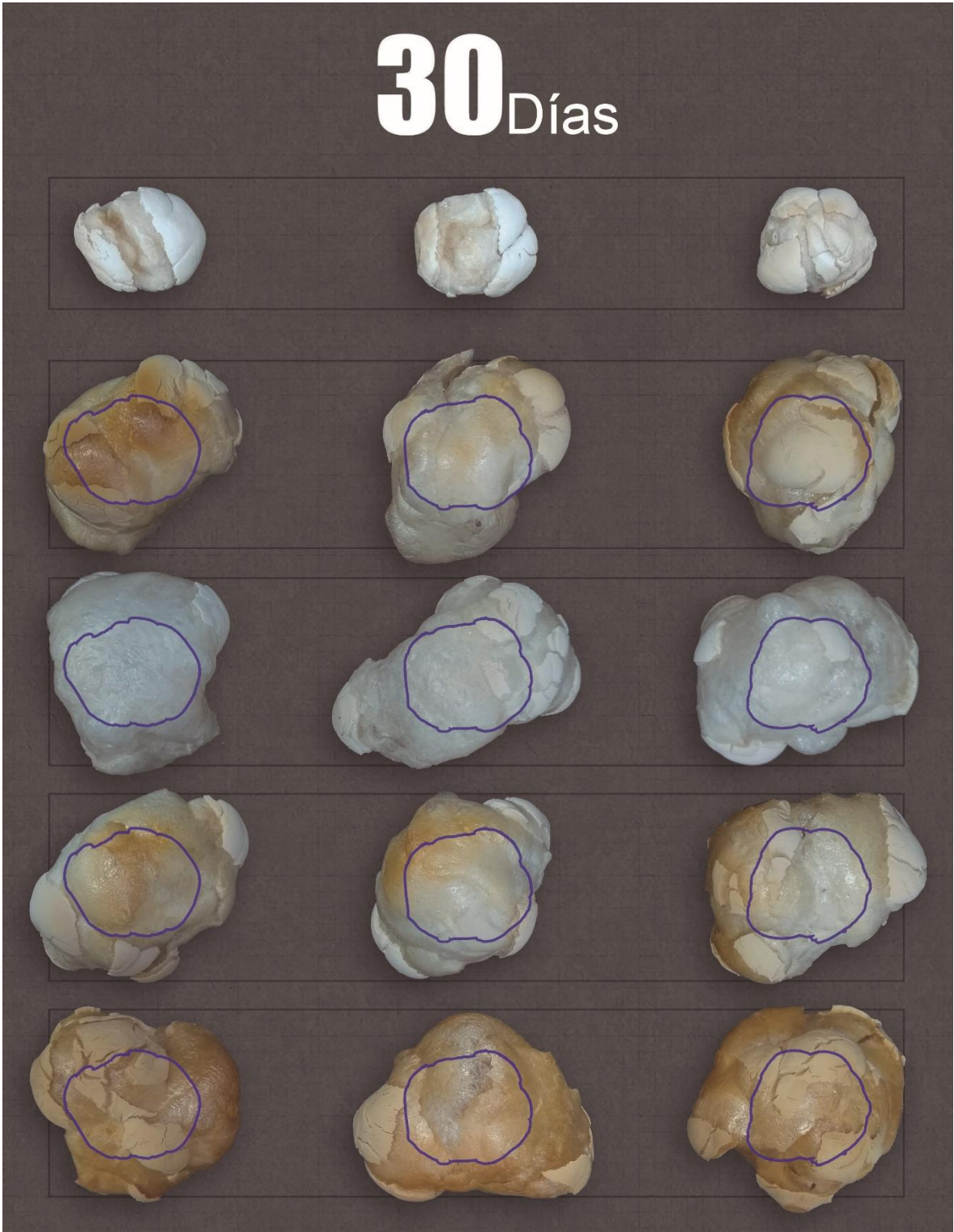
Anexo 1. Imágenes tomadas a los biscochos resultantes de la prueba de capacidad de expansión después de 15 días de fermentación. Su orden es, de arriba hacia abajo: Almidón sin fermentar, TA, TB, TC y TD. Fuente: propia. Edición: DI Sara Mejía



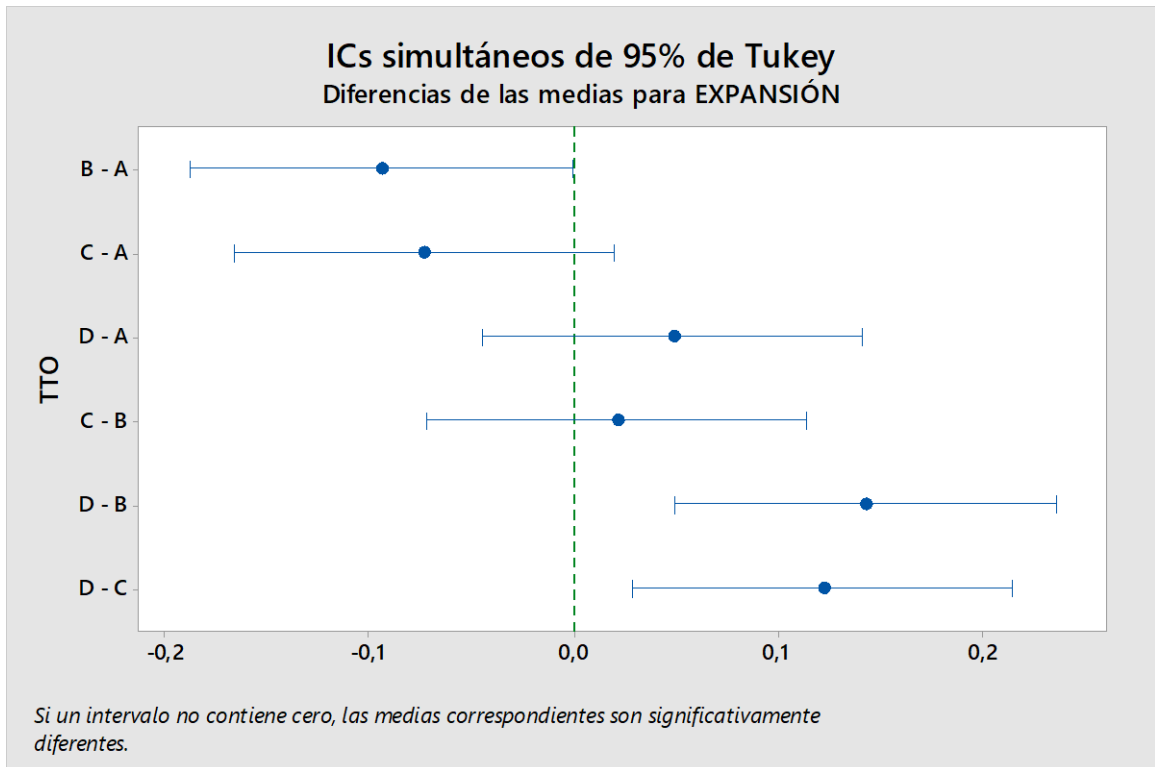
Anexo 2. Imágenes tomadas a los biscochos resultantes de la prueba de capacidad de expansión después de 24 días de fermentación. Su orden es, de arriba hacia abajo: Almidón sin fermentar, TA, TB, TC y TD. Fuente: propia. Edición: DI Sara Mejía



Anexo 3. Imágenes tomadas a los biscochos resultantes de la prueba de capacidad de expansión después de 30 días de fermentación. Su orden es, de arriba hacia abajo: Almidón sin fermentar, TA, TB, TC y TD. Fuente: propia. Edición: DI Sara Mejía



Anexo 4. Gráfica de intervalos de confianza para los valores promedio de índice de expansión.



Anexo 5. Tabla de resultados para el recuento de BAL para el almidón producido en la rallandería.

Tanque de Fermentación	Días de Fermentación	UFC/g	Log UFC/g
Canales	0	6,9,E+06	6,84
27	3	1,5,E+07	7,18
18	6	7,9,E+06	6,90
25	12	1,1,E+07	7,03
24	18	6,0,E+06	6,78
9	24	6,0,E+06	6,78
14	26	3,8,E+06	6,58
11	94	9,3,E+06	6,97

Anexo 6 y 7. Tabla de resultados para acidez titulable para el almidón producido en la rallandería (izq). Tabla con los resultados de capacidad de expansión para el almidón producido en la rallandería (der).

Tanque	Días de Fermentación	pH	mEqÁcido/100g
Canales	0	4,37	1,70
			1,60
			1,70
27	3	3,80	4,10
			4,20
			4,20
18	6	3,72	4,60
			4,70
			4,70
25	12	3,58	6,80
			6,80
			7,00
24	18	3,36	9,60
			9,80
			9,80
9	24	3,30	10,40
			10,30
			10,40
14	26	3,31	11,80
			12,10
			12,10
11	94	3,54	19,70
			19,30
			20,10

Tanque	Días de Fermentación	Índice de expansión
Canales	0	1,33
		1,36
		1,22
27	3	1,33
		1,23
		1,39
18	6	1,55
		1,63
		1,90
25	12	1,88
		1,62
		1,74
24	18	1,37
		1,61
		1,53
9	24	1,89
		2,05
		1,58
14	26	1,35
		1,23
		1,39
11	94	1,48
		1,56
		1,6

	A			B			C			D		
TIEMPO	mL NaOH	mEq de AL	pH	mL NaOH	mEq de AL	pH	mL NaOH	mEq de AL	pH	mL NaOH	mEq de AL	pH
0	0,40	0,80	4,28	0,40	0,80	4,28	0,40	0,80	4,28	0,40	0,80	4,28
0	0,40	0,80		0,40	0,80		0,40	0,80		0,40	0,80	
0	0,40	0,80		0,40	0,80		0,40	0,80		0,40	0,80	
4	1,00	2,00	4,08	2,05	4,10	3,76	1,10	2,20	4,03	1,00	2,00	4,14
4	1,00	2,00		1,95	3,90		1,10	2,20		1,00	2,00	
4	1,00	2,00		1,95	3,90		1,05	2,10		1,00	2,00	
7	1,20	2,40	4,02	3,25	6,50	3,77	1,25	2,50	4,02	1,30	2,60	4,04
7	1,25	2,50		3,30	6,60		1,30	2,60		1,25	2,50	
7	1,25	2,50		3,25	6,50		1,30	2,60		1,25	2,50	
13	2,60	5,20	3,59	3,00	6,00	3,55	2,50	5,00	3,61	2,60	5,20	3,65
13	2,65	5,30		3,10	6,20		2,55	5,10		2,60	5,20	
13	2,65	5,30		3,05	6,10		2,55	5,10		2,60	5,20	
15	3,00	6,00	3,30	2,85	5,70	3,34	2,70	5,40	3,31	3,35	6,70	3,22
15	2,95	5,90		2,70	5,40		2,75	5,50		3,40	6,80	
15	3,00	6,00		2,70	5,40		2,75	5,50		3,35	6,70	
20	3,30	6,60	3,54	2,55	5,10	3,49	3,15	6,30	3,52	7,40	14,80	2,57
20	3,35	6,70		2,60	5,20		3,15	6,30		7,45	14,90	
20	3,35	6,70		2,55	5,10		3,10	6,20		7,40	14,80	
25	3,70	7,40	3,34	2,90	5,80	3,34	3,50	7,00	3,35	6,40	12,80	2,56
25	3,80	7,60		3,00	6,00		3,55	7,10		6,40	12,80	
25	3,65	7,30		2,95	5,90		3,50	7,00		6,35	12,70	
30	4,20	8,40	3,34	2,65	5,30	3,45	3,85	7,70	3,34	6,80	13,60	2,42
30	4,15	8,30		2,65	5,30		3,90	7,80		6,85	13,70	
30	4,25	8,50		2,65	5,30		3,90	7,80		6,80	13,60	

Anexo 8. Resultados de acidez titulable y pH para los almidones fermentados a escala de laboratorio.


Anexo 9. Tabla de resultados para la capacidad de expansión de los almidones fermentados a escala de laboratorio.

Días de fermentación	A	B	C	D
0	1,56	1,56	1,56	1,56
	1,39	1,39	1,39	1,39
	1,40	1,40	1,40	1,40
promedio	1,45	1,45	1,45	1,45
15	2,12	1,79	1,67	2,01
	2,01	1,99	1,81	1,91
	1,90	1,73	1,69	1,87
promedio	2,01	1,84	1,72	1,93
24	2,08	1,99	1,96	2,2
	2,07	1,86	2,18	2,35
	2,14	1,95	1,99	2,17
promedio	2,10	1,93	2,04	2,24
30	2,05	1,99	2,06	2,18
	2,04	1,98	2,07	2,21
	1,99	1,99	2,09	2,08
Promedio	2,03	1,99	2,07	2,16

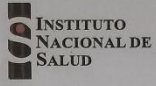
Anexo 10. Tabla de resultados para el recuento de BAL en los almidones fermentados a escala de laboratorio.

Días de Fermentación	A		B		C		D	
	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g	UFC/g	Log UFC/g
0	2,17E+07	7,34	2,17E+07	7,34	2,17E+07	7,34	2,17E+07	7,34
4	5,82E+06	6,76	7,73E+06	6,89	1,13E+08	8,05	8,00E+07	7,90
13	4,90E+07	7,69	6,80E+07	7,83	7,64E+07	7,88	8,40E+07	7,92
20	2,61E+07	7,42	4,40E+07	7,64	8,18E+07	7,91	9,36E+07	7,97
30	3,15E+07	7,50	1,06E+08	8,03	8,45E+07	7,93	9,82E+06	6,99

Anexo 11. Reporte de análisis, de la calidad del agua utilizada por el productor para el proceso de fermentación del almidón de yuca.



**BIOLAB
DEL VALLE**



**INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD**

BIOLAB DEL VALLE
COMPROMETIDOS CON LA CALIDAD
 EN ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO
 Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS

No. De Análisis:	AP51418FM	Responsable Toma y Transporte:	EL CLIENTE
Departamento:	VALLE	Lugar de Toma:	NACIMIENTO ALTOS DE SAN GERONIMO
Municipio:	CALI	Punto de Toma:	NACIMIENTO ALTOS DE SAN GERONIMO
Empresa:	[REDACTED]	Fecha de Toma:	14/02/2018
Tipo de muestra:	AGUA FILTRADA	Fecha de Reporte de Analisis	16/02/2018

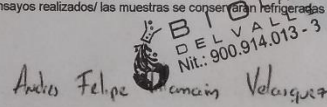
RESULTADOS DE CAMPO				
Hora: 7:30	pH: N.A	Tempe: 25,0°C	Cloro Residual: N.A	Apariencia: No Aceptable

ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO				
ANÁLISIS	MÉTODO	VALOR ADMISIBLE <small>Res. 2115/2007</small>	UNIDADES	RESULTADO
Color	COLORIMETRICO	Hasta 15	UPC	87
Materias Flotantes	VISUAL	Ausentes	N/A	Ausentes
Olor	OLFATIVO	Aceptable	N/A	Aceptable
Transparencia	VISUAL	Fondo visible	N/A	Fondo Visible
pH	POTENCIOMETRICO	6,5 - 9,0	Unidades de pH	7,6
Conductividad	POTENCIOMETRICO	Hasta 1000	uS/cm	90
Turbidez	NEFTELOMETRIA	Hasta 2	NTU	7
Alcalinidad Total	VOLUMETRICO	Hasta 200	mgCaCO ₃ /L	57
Dureza Total	VOLUMETRICO	Hasta 300	mgCaCO ₃ /L	81
Cloro Residual libre	COLORIMETRICO	0,3 - 2,0	mgCl ₂ /L	0,1
Nitritos	COLORIMETRICO	Hasta 0,1	mg NO ₂ /L	0,1
Fosfatos	COLORIMETRICO	Hasta 0,5	mg PO ₄ ⁻³ /L	0,5
Sulfatos	COLORIMETRICO	Hasta 250	mg SO ₄ ⁻² /L	0
Hierro Total	COLORIMETRICO	Hasta 0,3	mgFe/L	0,3
Magnesio	COLORIMETRICO	Hasta 36	mg Mg ⁺² /L	16
Calcio	COLORIMETRICO	Hasta 60	mg Ca ⁺² /L	21
Aluminio	COLORIMETRICO	Hasta 0,2	mg Al ⁺³ /L	0,1

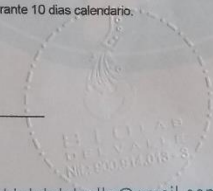
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO				
PARÁMETRO	MÉTODO	VALOR ADMISIBLE <small>Res. 2115/2007</small>	UNIDADES	RESULTADOS
Recuento Total de Mesofilos	FILTRACION POR MEMBRANA	Menor que 100	UFC/ 100cm ³	Mayor de 10000
Coliformes Totales	FILTRACION POR MEMBRANA	0	UFC/100 cm ³	Mayor de 10000
Escherichia Coli	FILTRACION POR MEMBRANA	0	UFC/100 cm ³	70

PARAMETROS ANALIZADOS SEGÚN RESOLUCION 2115 DE 2007 PARA AGUA DE CONSUMO.	
OBSERVACIONES	LOS SIGUIENTES PARAMETROS ANALIZADOS SE ENCUENTRAN FUERA DE LA NORMA PARA AGUA DE CONSUMO HUMANO.
FISICOQUIMICO	COLOR, TURBIEDAD Y CLORO RESIDUAL
MICROBIOLOGICO	RECUESTO TOTAL DE MESOFILOS, COLIFORMES TOTALES Y ESCHERICHIA COLI

Los resultados son válidos solo para la muestra en referencia y para los ensayos realizados/ las muestras se conservan en refrigeración durante 10 días calendario.



DIRECTOR TECNICO
ANDRES FELIPE VILLAMARIN VELASQUEZ



Calle 28A #24A-94 B/ Prados de Oriente / Cali - Valle 325 1036 / 320 795 5075 biolabdelvalle@gmail.com
dt.biolabdelvalle@gmail.com