

" Con Dios está la sabiduría y el poder; suyo es el consejo y la inteligencia". Job 12:13

DEDICATORIA

A la memoria de mi Padre: ALONSO AYALA APONTE, cuya orientación y consejos, pese a lo tierno de edad que me dejó, calaron hondamente y fue el estímulo para la culminación de mi carrera. A JAIME AYALA SULCA, querido hermano descanza en paz.

A mi amada Madre : JULIA SULCA PIMENTEL, ejemplo de sacrificio y lucha abnegada con denuedo en favor de sus hijos. A su estímulo, consejos y apoyo constante en mi formación como persona y profesional.

Dedico con especial gratitud, amor y cariño a mis hermanos: IVAN, EDUARDO, EDWIN, ALCINA, SANDRO, ZAIRA y ZENIA.

AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga que muy generosamente me acogiera en sus aulas. A todos los profesores que contribuyeron a mi formación Profesional y como Persona capaz de servir a mi pueblo.
- Mi especial reconocimiento al CONCYTEC (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia) en la Persona de su Presidente Ing. CARLOS CHIRINOS VILLANUEVA, por su valiosa subvención en los gastos que ha demandado la realización de la presente investigación.
- Mi profundo agradecimiento y respeto a mis Asesores Blgo. FIDEL R. MUJICA LENGUA, a quién me une una sincera amistad y de quién guardo preciadamente el conocimiento, dedicación, constante orientación y apoyo desinteresado; al Q.F. JOSE M. DIEZ MACAVILCA,

cuya experiencia y conocimientos se depositan en la presente investigación.

- De la misma forma mi agradecimiento a los profesores del Area de Botánica: Blgo. CESAR MAGALLANES y Blgo. LAURA AUCASIME, por sus valiosos conocimientos y experiencia, de cuyo aporte fue posible el estudio Botánico-Sistemático del basul.
- Al Ing. EDUARDO ROBLES GARCIA, profesor de la Facultad de Agronomía, por su valiosa contribución en el tratamiento estadístico de los resultados.
- Mi eterno reconocimiento y agradecimiento a los profesores de la facultad de Ciencias Biológicas, al personal de Laboratorio, y todas las personas, amigos y familiares que me han brindado su generoso apoyo y ayuda, altamente estimulante para la culminación de este trabajo.

S U M A R I O

Pág.

INTRODUCCION.

CAPITULO I.- REVISION DE LITERATURA

I.1.	Generalidades	04
	A. Proceso Tradicional de Elaboración del Siyao	07
	1. Preparación del Koji	07
	2. Fermentación en Salmuera	08
	3. Proceso de Refinamiento	09
	B. Métodos de Obtención del Siyao	10
	C. Composición Química y Características Organolépticas	11
I.2.	Materias Primas Tradicionales en la Produc- ción de Siyao y su Tratamiento	13
	A. Soya	13
	B. Trigo	14
I.3.	Sustitución de Materias Primas	15
	A. El Basul como Materia Prima	16
	a. Cultivo y Producción de Basul en el Perú.....	18
	b. Composición Química de Basul	19
	c. Perspectivas de Aprovechamiento del Basul	20
I.4.	Tipos de Cepas Microbianas Usadas en la Producción de Siyao	21
	A. Género Aspergillus	23
	B. Género Pediococcus	23
	C. Género Zygosaccharomyces	24
	D. Género Saccharomyces	25

CAPITULO II.- MATERIALES Y METODOS

II.1.	Materiales	26
	A. Materias Primas	26
	B. Cepas Microbianas	26
	C. Medios de Cultivo	27
	D. Equipos, Reactivos y Otros Materiales ...	27
II.2.	Métodos.....	28
	A. Caracterización Botánica	28
	B. Composición Químico-Bromatológico del Basul	28
	C. Diseño Experimental	29
	D. Ensayos Previos	30
	E. Preparación del Inóculo	30
	F. Materias Primas : Tratamiento y Acondi- cionamiento	31
	G. Cultivo del Koji	31
	H. Fermentación en Salmuera (Moromi)	34
	1. Cultivo de Microorganismos	34
	2. Fermentación en Salmuera	35

CAPITULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIONES

III.1.Caracterización Botánica del Basul	38
- Descripción de la Especie	39
III.2.Composición Químico-Bromatológico del Basul.	40
III.3.Preparación del Inóculo	43
III.4.Análisis de Nitrógeno total y Proteínas en las Materias Primas	44
III.5.Cultivo del Koji	45
III.6.Fermentación en Salmuera (Moromi)	46
1. Cultivo de Microorganismos	46
2. Fermentación en Salmuera	48
A. Evaluaciones Fisicoquímicas	49
1. Nitrógeno total, Amino Nitrógeno y Rendimiento de Nitrógeno	49
2. Azúcares Reductores, Acidez y pH ..	52
B. Evaluaciones Microbiológicas	55
III.7. Refinamiento	59

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

RESUMEN

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

APENDICE

INTRODUCCION

La recuperación, integración e industrialización de los recursos naturales biológicos a la alimentación, es la alternativa para mejorar los problemas de alimentación y de salud a nivel nacional y principalmente del Sur Andino, donde la mal nutrición se agudiza cada vez más, por ello, la búsqueda de tecnologías más convenientes y como transferirlas y adaptarlas a las diversas realidades ecológicas y socio-económicas, para el aprovechamiento racional de los recursos biológicos naturales, es uno de los retos inmediatos que tiene que afrontar la Biotecnología en nuestra región y particularmente en los países en vías de desarrollo. En este contexto, la utilización del basul, como materia prima potencial en la elaboración de siyao como sustituto de la soya, representa una alternativa prometedora y que tranquilamente puede ser aprovechada en la futura

industrialización del basul en nuestro medio, tan igual como representa la soya en el lejano Oriente.

El basul, fue una de las principales fuentes de proteína vegetal y carbohidratos, en el Ande Peruano, que constituyó después del tarwi, uno de los alimentos de primer orden empleado en el Tahuantinsuyo, etapa en la que por cierto, se tuvo una abundante, balanceada y equilibrada alimentación.

En la colonia se inicia una deficiente alimentación popular indígena, que fue uno de los factores del más grande despoblamiento que registra la historia Latinoamericana. Muchos cultivos de gran valor nutricional, fueron reemplazados por otros de menor importancia como el trigo, cebada, motivando una modificación de los patrones alimentario-nutricionales.

En la actualidad, la industria en general y particularmente la industria fermentativa se mantiene espectante a la búsqueda de otras fuentes alternativas de materiales orgánicos que suministren los nutrientes requeridos en el proceso de fermentación de la forma más económica posible, puesto que los mayores costos de un proceso nacen del medio de crecimiento.

En tal sentido el uso del basul dentro de la industria del siyao, agente sazoador ampliamente usado en la preparación de alimentos en la mesa popular, y para los productores, una industria altamente rentable, constituye una nueva alternativa que puede satisfacer la creciente demanda del mercado, como sustituto de la materia prima tradicional, la soya, por productos de

bajo costo pero de bondades nutricionales cada vez más reconocidas como lo es el tarwi y ahora el basul.

En base a lo enunciado, los objetivos planteados fueron los siguientes :

1. Introducir los granos de basul(Erythrina edulis) como una nueva y potencial materia prima para la elaboración de un producto similar al siyao, utilizando cepas industriales de microorganismos tales como : Aspergillus oryzae ATCC 20386, Pediococcus halophilus ATCC 21786 y Zygosaccharomyces rouxii ATCC 26394.
2. Realizar el estudio botánico-taxonómico de la leguminosa arbórea en referencia.
3. Determinar la composición químico-bromatológico de los granos de basul.
4. Encontrar el mayor Rendimiento de Nitrógeno al tiempo de fermentación de tres meses, así como realizar el seguimiento de las principales variables fisicoquímicas y microbiológicas normadas por el ex-ITINTEC

CAPITULO I

REVISION DE LITERATURA

I.1. GENERALIDADES

La salsa de soya o siyao es un líquido marrón oscuro con un sabor salado y un aroma agradable distinto, sugestivo de extracto de carnes (Wang and Hesseltine, 1982). Es un agente sazonador de gusto picante (Smith and Circle, 1978), usado como sustituto de la sal en la preparación de alimentos así como un condimento de la mesa en Oriente y muchos otros países (Kalisz, 1988; y Smith and Circle, 1978). Realza el sabor y añade el color a las carnes, alimentos marinos, vegetarianos y otros alimentos. El siyao es uno de los productos Orientales más ampliamente consumidos y el único de los que se ha distinguido y reconocido bien en la cocina de los países Occidentales (Wang and Hesseltine, 1982). Según Mujica (1987) el uso del siyao en nuestro

medio no únicamente se circunscribe a las comidas Orientales, sino también en platos criollos y típicos.

El siyao es un producto fermentado preparado por incubación de granos de soya y cereales, usualmente trigo y sal; sometida a una activa hidrólisis enzimática por parte de hongos, bacterias y levaduras, permitiendo que las proteínas, carbohidratos y otros constituyentes de los granos de soya y trigo se hidrolisen a compuestos más simples como péptidos, aminoácidos, azúcares, alcoholes, ácidos y otros compuestos de bajo peso molecular (Kalisz, 1988).

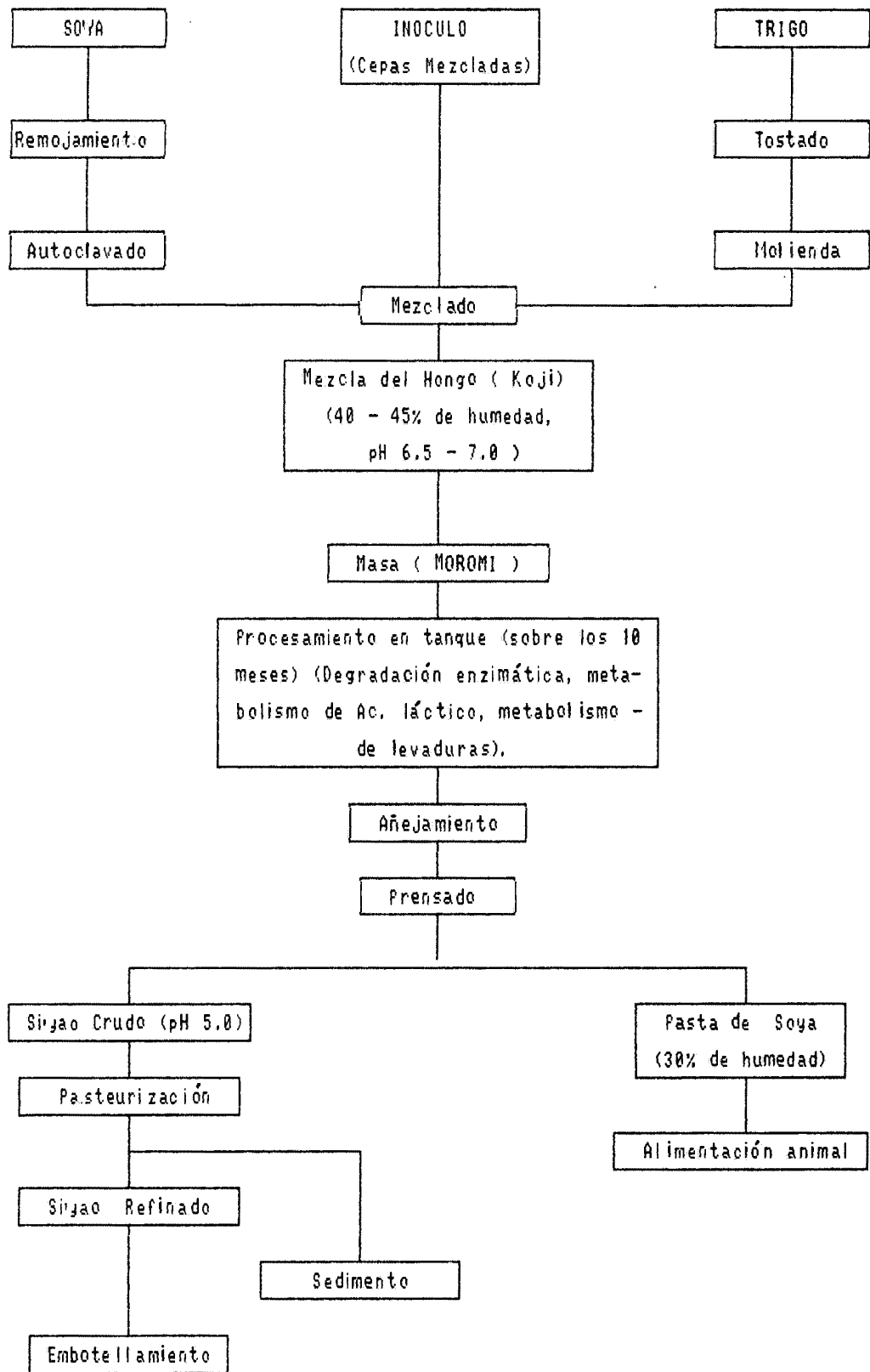
Algunos acontecimientos históricos observados indican que la fermentación del siyao pudo haberse diseñado para los productos de pescado fermentados usados a lo largo de las costas del Sudeste de Asia. La fermentación fue originada en China durante la dinastía Chou, hace más de 3,000 años, como una actividad doméstica (Wang and Hesseltine, 1982). Fue introducido al Japón en el siglo VI por los monjes budistas como resultado de la introducción del Budismo desde China en el cual el consumo de la carne y de pescado estaba prohibido, trayendo como consecuencia el cambio a una dieta vegetariana en el año 552 D.C. Aunque la elaboración del siyao se ha originado en China, Japón probablemente ha desarrollado mejor la tecnología e ingeniería de los alimentos fermentados, especialmente del siyao (Fukushima, 1979; y Yong and Wood, 1974).

La preparación del siyao fue en un tiempo un arte familiar celosamente guardado que pasó de una genera-

ción a otra. Mientras los principales pasos de la elaboración de siyao son bastante conocidos, los puntos finales importantes son aún de información confidencial. Muchos progresos se han hecho desde el remoto desarrollo de la fermentación del siyao, pero el método básico de manufactura es casi igual, tal como se ilustra en la FIGURA 1. Sin embargo hay mucho que aprender a cerca de los cambios microbiológicos y bioquímicos que ocurren durante la fermentación y que son los responsables tanto de las cualidades organolépticas deseables o no deseables en el producto acabado (Beuchat, 1984).

El consumo de siyao durante los últimos años se ha incrementado notoriamente, así se tiene reportado que para 1982 en solo los Estados Unidos se produjeron 48,074 toneladas (Beuchat, 1984), en tanto que la producción total de siyao en el Japón para 1974, excedía de 1 millón de Kilolitros por año, datos posteriores indican que su producción alcanza a más de 315 millones de galones, con un consumo anual per cápita de más de 10.2 litros; hecho que implica la existencia de más de 4000 productores de siyao en el Japón, siendo 4 ó 5 compañías las que producen cerca del 50% de la producción total. Información similar no se ha obtenido de otras naciones del Oriente, pero el consumo per cápita que figura puede bien aplicarse a otras naciones orientales, especialmente a la China (Wang and Hesseltine, 1982). Muy a nuestro pesar no se han encontrado estadísticas referente a su producción y consumo en nuestro

FIGURA No. 01 : METODO BASICO DE LA MANUFACTURA DEL SIYAO
(Kalisz, 1988).



país. a pesar de que su consumo es popular, principalmente en la elaboración de comidas Orientales y platos criollos.

A. PROCESO TRADICIONAL DE ELABORACION DE SIYAO

Son reconocidas en Oriente dos clases de siyaos producidos mediante el método tradicional, el siyao Chino y el siyao Japonés. El siyao Chino es elaborado sólo de soya o con una mezcla de soya trigo conteniendo alto porcentaje de soya, las proporciones van de 4 : 1 a 1 : 1 de la mezcla soya/trigo. En Japón iguales cantidades de soya y trigo son usadas de modo estricto, proporción 1 : 1 (Kalisz, 1988; y Smith and Circle, 1978). Al procedimiento de elaboración por vía de fermentación lo llamaremos proceso tradicional, en adelante nos limitaremos en lo posible a describir las características de su elaboración, sobre todo del siyao Japonés, por la existencia de mayor información técnica.

El proceso tradicional de elaboración de siyao, puede resumirse en tres etapas: La preparación del Koji, La Fermentación en Salmuera y el Proceso de Refinamiento.

1. Preparación del Koji

Es una primera etapa donde se mezcla la soya tratada y sancochada y el trigo tostado y molido con cultivos puros de Aspergillus oryzae o Aspergillus soyae, los cuales se encuentran separadamente creciendo en arroz cocido por 3 a 5 días a 30°C, hasta que el arroz esté cubierto por esporas, que son luego cosechadas, el cual sirve de inóculo para la mezcla soya/trigo (Wand

and Hesseltine, 1982).

La mezcla es extendida sobre bandejas de madera o bambú, en capas de 1 - 2 pulgadas de espesor y cultivadas por 48 - 72 horas, bajo condiciones de aireación alta, temperatura no mayor de 40°C y humedad de 45% en el sustrato, condiciones adecuadas para una alta producción y actividad enzimática en el Koji (Beuchat, 1984; Juscamaita, 1993; Pederson, 1979; y Yong and Wood, 1974).

Para evitar que la temperatura suba a más de 40°C en el Koji, debe revolverse la mezcla a las 20 y 40 horas después de la inoculación, para mantener uniforme la temperatura, humedad y aireación del sustrato. La mezcla debe estar libre de bultos para minimizar la propagación bacteriana. El Koji maduro es de color verde oscuro, después de las 72 horas de inoculación. La humedad de la mezcla ha disminuido gradualmente (Beuchat, 1984; y Wang and Hesseltine, 1982).

El Koji es fuente de enzimas para convertir los carbohidratos, proteínas, etc. contenidos en las materias primas en azúcares, péptidos y aminoácidos, etc.; útiles para las bacterias y levaduras, que crecen en el Moromi durante la fermentación en salmuera (Fukushima, 1979; y Yong and Wood, 1974).

2. Fermentación en Salmuera

El Koji maduro es transferido a recipientes de madera o bateas de concreto, que contienen solución de salmuera de 17 a 22% en volumen igual o mayor (hasta 120% por volumen), originando de esta manera una masa

o MOROMI. Esta masa se incuba cerca a un año o más a temperaturas ambientales, o por 3 a 4 meses, si es calefaccionado a 35 ó 40°C, el Moromi debe removerse periódicamente, para mezclar los contenidos, estimular el crecimiento microbiano, prevenir el crecimiento de microorganismos indeseables, uniformizar la temperatura y facilitar la eliminación de anhídrido carbónico; sin embargo excesivo removimiento impide la fermentación.

Durante esta etapa, las enzimas derivadas del Koji hidrolizan las proteínas y almidones de la soya y trigo a aminoácidos, péptidos, azúcares simples y otros compuestos de bajo peso molecular los cuales son aprovechados en la fermentación láctica y alcohólica que se produce en el Moromi. Estas fermentaciones son desarrolladas inicialmente por Pediococcus halophilus o Pediococcus sovae y posteriormente por Zygosaccharomyces rouxii, originando los productos antes indicados.

La alta concentración de sal (18% en promedio) limita el crecimiento de bacterias indeseables que podrían originar putrefacción en la fermentación y añejamiento (Beuchat, 1984, 1978; Fukushima, 1979; Pederson, 1979; Wand and Hesseltine, 1982; Yong and Wood, 1974; y Yokotsuka, 1972).

3. Proceso de Refinamiento

Este último proceso incluye la filtración y pasteurización. El Moromi envejecido es filtrado por estrujamiento, donde el líquido resultante (siyao crudo) es pasteurizado a 70 - 80°C. La pasteurización es necesaria para desarrollar el color, aroma, inactivar las

enzimas y coagular las proteínas no degradadas. El producto se clarifica con kaolín o alumbre dejándose toda la noche para dejar asentar el precipitado, el sobrenadante es embotellado añadiendosele preservante (benzoato de sodio, o butyl-p-hidroxibenzoato) para conservar el producto (Fukushima, 1979; Pederson, 1979; y Yokotsuka, 1972).

B. METODOS DE OBTENCION DE SIYAO

La fermentación y manufactura del siyao ofrece numerosas variantes que pueden originar distintos productos. Beuchat (1984), reconoce la existencia de dos procesos distintos de elaboración de siyao: el Método Tradicional por Fermentación y el Método Químico. El EXITINTEC (1984) agrega que existe un método adicional a los propuestos, y que consiste en la mezcla de ambos tratamientos.

El Método Tradicional por Fermentación, consiste en someter el sustrato a la acción hidrolítica de las enzimas provenientes de Aspergillus oryzae y luego a una fermentación por bacterias y levaduras.

El Método Químico, consiste en someter el sustrato a la acción hidrolítica de un ácido fuerte, frecuentemente el ácido clorhídrico, y neutralizarlo posteriormente con un álcali (hidróxido de sodio) ajustándosele el pH a 4.0 para permitir posteriormente una fermentación láctica y alcohólica (ITINTEC, 1984; y Beuchat, 1978). Este siyao puede fabricarse en 8 a 10 horas, pero el producto resulta ser inferior en sus cualidades sensoriales por la presencia de huminas, ácido levulínico y

fórmico, y derivados azufrados que le confieren baja calidad al producto (Beuchat,1984; y Fukushima, 1979)

Finalmente el tercer método, consiste en la mezcla en proporciones convenientes del producto obtenido por la vía natural y aquel procedente de una hidrólisis ácida (Fukushima, 1979; e ITINTEC, 1984).

En el presente trabajo se trata de hacer uso del proceso tradicional, por lo que no ahondamos en detalles sobre la producción por otros métodos.

C. COMPOSICION QUIMICA Y CARACTERISTICA ORGANOLEPTICAS

El sabor y aroma característico del siyao es resultado de una complicada interacción de los compuestos producidos en la fermentación. Es una mezcla compleja de aminoácidos, péptidos, azúcares, ésteres, aldehidos, alcoholes, ácidos orgánicos y otros compuestos. Yokotsuka (1960) reporta que del Nitrógeno Total, cerca a 40-50% es aminoácidos, 40-50% péptidos y peptonas, 10-15% amonio y menos de 1% proteína. Los azúcares presentes son glucosa, arabinosa, xilosa, maltosa, y galactosa, además dos azúcares alcoholes: glicerol y manitol. Los ácidos orgánicos reportados son láctico, succinico y piroglutámico. Beuchat (1984) dá un listado de 53 componentes del sabor, responsabilizando al 4-etilfenol, 2-feniletanol, 4-etilguaicol, pirazinas, furanonas, y alcohol furfuril como los compuestos mayores que contribuyen al sabor.

En Oriente se hablan básicamente de dos tipos de siyaos, el Japonés y el Chino, diferenciados por el aroma, sabor y color del producto, que se atribuye a las

proporciones diferentes de soya y trigo usadas. (Fukushima 1979; y Kim and Cho, 1969).

En el continente Asiático se reconocen varios siyaos diferenciados por las características fisicoquímicas y organolépticas. Estas diferencias se muestran en la siguiente TABLA:

TABLA I
TIPOS DE SIYAOS EN EL LEJANO ESTE
(Yokotsuka, 1972)

TIPO	Be	NaCl *	Nitrog. total *	Azúc. Reduct.	Alcoh. **	Inten Color
Koikuchi (Japón)	23.6	17.7	1.7	5.7	1.7	++
Usukuchi (Japón)	22.2	19.6	1.2	4.1	0.8	+
Siyao (China)	30.2	25.2	2.1	3.7	0.1	+++
Siyao (Malaya)	31.9	20.9	2.6	8.2	0.2	+++
Siyao (Indonesia)	-	12.6	2.3	3.4	0.1	+++
Pescado con Soya (Malaya)	26.8	27.6	2.3	0.0	0.1	+

* g/100 ml. **ml/100ml.

En nuestro país, el ex-ITINTEC (1984), estableció una Norma Técnica Nacional de Elaboración de Siyao, considerando tres requisitos: organoléptico, fisicoquímico y microbiológico.

TABLA II
CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DEL SIYAO
Norma ITINTEC 209.227 (1984).

CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS	
Sabor	: Salado
Color	: Marrón oscuro
Olor	: Agradable, característico del producto.
Consistencia	: Fluída.

TABLA III
REQUISITOS FISICOQUIMICOS DEL SIYAO
Norma ITINTEC 209.227 (1984)

CARACTERISTICAS	RANGOS%
Sólidos totales	30.00 - 38.00
Material mineral (Excento cloruros)	1.00 - 3.00
Cloruro de sodio	8.00 - 24.00
Nitrógeno total	0.30 - 1.00
Nitrógeno amínico	0.15 - 0.80
Azúcar (glucosa)	6.00 - 14.00
Acidez (ácido láctico)	2.00 - 4.00
Viscosidad	3.00 - 4.84
pH	4.00 - 4.90
Gravedad específica	1.10 - 1.25
Rendimiento de nitrógeno	50.00 - 80.00

El producto no presentará síntomas de rancidez, sabores, colores u olores, que indiquen la descomposición del mismo.

TABLA IV
REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS
Norma ITINTEC 209.227 (1984).

CARACTERISTICAS	n	m	M	c
Bacterias formadoras de ácido (Lactobacillus, Leuconostoc)	5	10	10	2
Enterococos	5	10	10	1
Hongos y Levaduras	5	10	10	2

n = Número de muestras unitarias que debe examinarse.
M = Número de microorganismos presentes en un gramo o ml. de alimento; valor por encima del cual hay que rechazar el lote.

m = Número de microorganismos en un gramo o ml. de alimento; valor por debajo del cual no se considera peligroso para la salud, y puede administrarse el lote.

c = Número máximo de muestras unitarias que puede contener un número de microorganismos entre n y M para que el lote sea aceptable.

I.2. MATERIAS PRIMAS TRADICIONALES EN LA PRODUCCION DE SIYAO Y SU TRATAMIENTO.

A. SOYA

La soya (*Glycine max*) es una leguminosa rica en proteínas, fosfolípidos, minerales y vitaminas, origi-

naria de China, usada en la elaboración de siyao y otros productos fermentados. Tradicionalmente granos enteros de soya son usados en la fabricación del siyao, aunque la tendencia es al uso de harina desgrasada de soya u hojuelas por lo disminuido de los costos de producción, la utilización del nitrógeno más alta y el tiempo de fermentación más corto (Beuchat, 1983; Bullon, 1985; Kaslisz, 1988; y Yong and Wood, 1974).

Los granos enteros o la harina son remojados en agua fluyente por 12 a 15 horas a temperatura ambiente, luego de ser escurridas son cocinadas a presión o a vapor hasta conseguir granos blandos que sean fácilmente aplastados por presión entre el pulgar y los dedos. Las condiciones de cocción son importantes por que influyen en la digestibilidad enzimática, en la fermentación, y afecta la turbidez del producto (Beuchat, 1983).

B. TRIGO

Sin lugar a dudas, el trigo (*Triticum vulgare*) es la fuente principal de carbohidratos en la elaboración del siyao, como grano entero o harina. Recientemente el salvado de trigo ha sido incorporado en la manufactura del siyao por su disponibilidad y bajo costo.

Muchas son las bondades que ofrece el trigo que le hace la mejor materia prima elegible en la elaboración del siyao. Optimiza la humedad del sustrato a aproximadamente 45%, justo y adecuado para un buen crecimiento fúngico y una alta actividad enzimática en el Koji, disminuyendo consecuentemente la humedad de los granos de soya de 60 a 45%, minimizando el daño que podría

causar el crecimiento de bacterias indeseables. Es la mejor fuente de carbohidratos a partir de donde se originan azúcares, alcohol y ácidos orgánicos durante la fermentación. Es la fuente de lignina y glicósidos, precursores del sabor vanilínico del siyao, finalmente es fuente de ácido glutámico responsable del sabor característico del siyao.

El trigo es partido en 4 - 5 partes luego de tostado (color pardo oscuro, crocante con ligero sabor a quemado) con la finalidad de que en el Koji permita la separación adecuada de los granos enteros de soya y una buena aireación, facilitando el crecimiento del moho (Fukushima, 1979; Pederson, 1979; y Yong and Wood, 1974).

I.3. SUSTITUCION DE LAS MATERIAS PRIMAS

Han habido muchos intentos para elaborar siyao, usando otras materias primas diferentes a la soya y el trigo. La más remota constituye el reemplazo de la soya por el pescado en la manufactura del siyao, la que hasta el momento es producida y consumida en países como Tailandia y Vietnam (Beuchat, 1978). Posteriormente se empleo el maní prensado en lugar de soya (en el año de 1923) cuyo producto no tuvo éxito comercial por su baja calidad y de fácil contaminación (Yong and Wood, 1974).

La carencia de trigo en Japón, China y otros países Orientales, ha conducido a realizar trabajos científicos a fin de suplantar este insumo por otros como la avena, centeno, sorgo y más recientemente por el salva-

do de trigo, en la manufactura del siyao.

Nuestra región no cultiva la soya (materia prima por excelencia usado en la producción de siyao) por razones ecológicas. Pero sí cuenta con recursos protéicos de grandes bondades nutricionales como el tarwi y el basul.

Mujica (1987), haciendo uso de la conocida tecnología de la soya en la producción de siyao, realizó investigaciones a escala de laboratorio para demostrar la posibilidad de emplear el tarwi como un sustituto de la soya por su mayor contenido protéico, obteniendo resultados alentadores.

En el presente trabajo se plantea la posibilidad de uso del basul, leguminosa arbórea quizá menos conocida que las anteriores, pero de gran potencial alimenticio y versátil crecimiento en nuestra zona, para la elaboración de siyao.

A. EL BASUL COMO MATERIA PRIMA

La recuperación e integración de los recursos naturales biológicos a la alimentación, es la alternativa para mejorar los problemas de alimentación y de salud a nivel nacional y principalmente del Sur Andino donde la mala nutrición se viene agudizando desde 1956, año en que ocurrió una de las más grandes catástrofes naturales mundiales, la sequía de 1956 (Hurtado, 1982).

Todos nuestros geosistemas tienen recursos naturales biológicos (vegetales y animales) abundantes. Conociéndolos es posible aprovecharlos de inmediato y para ello se hace necesario de una adecuada educación alimentaria

eminentemente práctica que reoriente nuestros hábitos de consumo.

En los Andes Peruanos se cuenta con variados cultivos andinos protéicos destacando entre ellos el basul, que constituyó después del tarwi, uno de los alimentos de primer orden empleado en el Tahuantinsuyo, etapa en la que por cierto, se tuvo una abundante, balanceada y equilibrada alimentación, donde además, se domesticó más de 300 especies de plantas proveedoras de alimentos y medicamentos, 50 especies de animales que proporcionaban abundante carne y huevos de alto valor nutricional, creó una tecnología alimentaria realmente extraordinaria para dar mayor duración a los alimentos y facilitar su transporte y hacerlos más nutritivos (Hurtado, 1982).

Con el proceso de transculturación que viene operándose en nuestro país desde tiempos de la colonia, estas tecnologías han sido dejadas de lado, para dar paso al consumismo que trajo consigo una alimentación deficiente, mal nutrición, hábitos alimentarios distorcionados, consumo de alimentos naturales y elaborados de poco valor nutricional pero de elevados precios impuestos por las empresas nacionales y transnacionales (Hurtado, 1982).

Es por ello impostergable y de urgente necesidad fomentar el cultivo y la búsqueda de tecnologías adecuadas aplicables de acuerdo a las realidades ecológicas y socio-económicas de nuestra nación, para el aprovechamiento adecuado de productos como la quinua, cañihua,

achita, mashua, maca, papa, shiri, tarwi y ahora del basul, leguminosa de alto valor nutricional, de importancia para la alimentación popular.

a. Cultivo y Producción de Basul en el Perú.-

El basul es una leguminosa arbórea de la familia de las Fabáceas, muy valiosa, principalmente por la producción de frutos comestibles, aprovechados por el hombre y el ganado. Es una de las especies más promisorias para agroforestería en la zona alto Andina. Su cultivo en nuestro país se remonta aún a los periodos pre-colombinos. Es susceptible a ser manejado de modo superpuesto a cultivos o en mixtura con cacao o café, y también combinados con cultivos agrícolas como papa, maiz, etc.; comúnmente se encuentra asociado con el kikyuyo formando un sistema apto para el pastoreo. En algunas zonas son usadas como cercos vivos o para la delimitación de campos y a lo largo de los linderos como una hermosa "defenza de la vida" (Martel, 1979; Popenoe et. al., 1989; y Reynel y León, 1990).

Esta especie se ha localizado en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia.

En el Perú, en los departamentos de Cajamarca, Amazonas, Loreto, Ancash, Huánuco, Pasco, Junin, Ayacucho (San Miguel-La Mar), Cuzco, Apurimac (Andahuaylas, Chincheros); generalmente en los valles interandinos entre las altitudes de 900 a 3200 m.s.n.m., con una producción de frutos óptimo hasta 3000 m.s.n.m. En alturas mayores 3200 m.s.n.m. su propagación es mínima y afectada por la helada. El basul presenta dos fructifi-

caciones al año, debido a que su período de floración se dá entre los 3 a 6 meses (Brack, 1981; Martel, 1989; Popenoe et. al., 1989).

Una planta de basul en condiciones naturales puede producir de 180 a 200 kilos de fruto al año (Reynel y León, 1990).

b. Composición Química del Basul.-

En la siguiente TABLA, se reporta un comparativo entre la composición química del basul y la soya. Cabe resaltar que el basul tiene alto contenido de proteínas y carbohidratos.

TABLA V
ANALISIS QUIMICO COMPARATIVO DE SEMILLAS DE
BASUL Y SOYA EN 100 g. DE MATERIA SECA.

COMPONENTES	BASUL	SOYA
Kilocalorías	290.30	398.00
Agua	23.17 g.	9.00 g.
Proteínas	24.09 g.	33.40 g.
Lípidos	1.39 g.	16.40 g.
Carbohidratos	47.14 g.	35.50 g.
Fibra	4.37 g.	5.70 g.
Calcio	8.92 mg.	220.00 mg.
Fósforo	256.00 mg.	730.00 mg.
Hierro	8.20 mg.	11.50 mg.
Tiamina	0.22 mg.	0.88 mg.
Riboflavina	0.18 mg.	0.27 mg.
Niacina	1.61 mg.	2.20 mg.

En la actualidad los trabajos realizados sobre el basul, son escasos, habiéndose orientado únicamente al estudio de su aspecto agroforestal, morfología-fisiología, y limitada investigación sobre sus componentes químicos; en lo referente a su investigación nutricional (importancia dietaria) y a su aprovechamiento de modo tecnificado, no existen informes hasta donde se ha

consultado con la bibliografía. Se sabe, por ejemplo, que análisis efectuados en semillas de basul, muestran que se trata de un alimento importante, por su alto contenido protéico, cuyo promedio es de 24%, grasa 1%, fibra 4.5% carbohidratos de 42 a 55% (Reynel y León, 1990). Finalmente en lo concerniente a los aminoácidos, la treonina, fenilalanina, y la alanina son los más abundantes (Martel, 1989; y Reynel y León, 1990).

Respecto a vitaminas, Martel (1989) manifiesta que las semillas de esta leguminosa, tiene alto contenido de vitaminas tales como tiamina, riboflavina, ácido nicotínico y ácido ascórbico.

c. Perspectivas de Aprovechamiento del basul.-

La principal utilidad de esta especie es en el aprovechamiento de las semillas, por su elevada proporción de proteínas (15 a 40% de su peso total) y de carbohidratos, principalmente almidón en un 33.94 a 35.14%, en base a lo cual se afirma que las semillas constituyen un alimento de alto valor nutritivo (Brack, 1981; Hurtado, 1982; y Martel, 1989).

Como cultivo alimenticio, el basul ofrece más ventajas que desventajas. Las ventajas se refieren a que es un cultivo que se comporta en la agricultura como un mejorador de las condiciones de los suelos, pues tienen la cualidad de nitrificar los suelos, por lo que se considera como una planta apropiada para la recuperación de zonas degradadas (Martel, 1989; y Reynel y León, 1990). Aunque la mayor parte de estas plantas se cultivan por sus frutos y semillas, en ocasiones se em-

plea con fines forrajeros y eventualmente con fines energéticos (Popenoe, et. al., 1989; y Reynel y León, 1990). Los suelos preferidos por el basul son los sueltos, requiriendo buena humedad durante el periodo de afianzamiento. Tiene alto poder de regeneración en chacras y pastisales abandonados. El basul puede extenderse en sequia (ingertadas en raíces de Erythrina falcata incrementan grandemente su tolerancia). Condiciones en la que otras plantas como la soya tienen limitado crecimiento.

No obstante su extremada versatilidad, el basul es muy poco conocido en los Andes. Pero con la desesperante necesidad de los países en vías de desarrollo de alimentos, forraje, productos de la madera, reforestación y control de la erosión, es cada vez más reconocida su importancia hoy en día (Popenoe et. al., 1989). A esto podemos agregar el hecho de que como se trata de un árbol, hay que esperar dos a tres años para las primeras cosechas (Martel, 1989).

El basul presenta como fruto a una legumbre, donde se hallan las semillas con forma elipsoidal, pudiendo presentar alcaloides como la erytroidina que puede ser peligroso para la salud en semillas recientemente sometidas a insolación (Martel, 1989).

Tradicionalmente las semillas de basul, son usadas por el poblador alto Andino, en sustitución a la papa. Estas semillas son cocinadas en agua con sal y servidas a un costado del plato con mote, yuca, papa o pan. Ellas muchas veces son mezcladas con queso y son también fri-

tas. Estas no son ingeridas en forma cruda.

El basul es considerado como una planta de gran potencialidad y de mucha perspectiva en la industria pese al escaso conocimiento que se tiene; puede ser aprovechado como producto transformado: tortas para alimentación animal, concentrados protéicos, miso, tempeh, chichas, leche, fideos, panadería, salsas (siyao), estos como productos derivados de la harina. En otras áreas, trabajos con perspectivas de industrialización podrían ser ejecutados en la medicina, donde el sumo de la corteza de la planta actúa como desinflamante y desinfectante en las afecciones bucales (Reynel y León, 1990).

En resumen, el aprovechamiento industrial que planteamos para el basul, es en base a la tecnología de procesamiento de la soya, motivo de la presente investigación.

I.4. TIPOS DE CEPAS MICROBIANAS USADAS EN LA PRODUCCION DE SIYAO.

Los cambios bioquímicos que ocurren en el proceso de fermentación de siyao son muy complejos y hasta ahora no aclarados en su totalidad; numerosos estudios sugieren que estos cambios ocurren de modo secuencial y dirigidos principalmente por los microorganismos.

Los diversos microorganismos que tienen importancia en la fabricación del siyao pueden añadirse en cultivos puros o pueden proceder de lotes previos de Kojis y de los ingredientes (Frazier, 1981). Aunque la tendencia en estos últimos años es al uso de cultivos puros de ino-

culación en todos los pasos de producción de siyao, lo que ha reducido el riesgo de llevar contaminantes indeseables (Beuchat, 1984); la práctica tradicional y estudios realizados en ella han atribuido que el logro del buen sabor del siyao tradicional, es gracias a la interacción de un conjunto de especies y numerosos microorganismos (Wang and Hesseltine, 1982; y Yong and Wood, 1974).

Las cepas microbianas más frecuentemente reportadas por la bibliografía en la manufactura del siyao, y que son las usadas en la presente investigación, pertenecen a los géneros que a continuación se detallan:

A. GENERO ASPERGILLUS

Son abundantes. Muchos son responsables de alteraciones alimenticias y otros útiles en la preparación de algunos alimentos. Son conocidos conjuntamente con los Penicilios, como hongos de los granos almacenados.

El grupo de Aspergillus flavus-oryzae comprende mohos importantes en la elaboración de algunos alimentos orientales y en la producción de enzimas; pero a menudo toman parte en el deterioro de los alimentos. Los conidios dan a las cabezuelas de esporas una coloración de tonos que van de verde a amarillento, pudiendo formar esclerocios oscuros.

B. GENERO PEDIOCOCCUS

Son cocos aislados, en parejas, en cadenas cortas o en tétradas: son gran positivos, catalasa negativos y microaerófilos. Homofermentativos, produ-

ciendo a partir de los azúcares de 0.5 a 0.9% de ácido, principalmente láctico, no reducen el nitrato ni licúan la gelatina. Crecen bien en salmuera de cloruro de sodio de hasta una concentración de 5.5% y pobremente cuando la concentración es al rededor de 10%. Crecen a temperaturas de 7 a 45°C, pero su crecimiento óptimo tiene lugar entre 25 a 32°C.

Pediococcus halophilus o Pediococcus sovae son de importancia en la manufactura de siyao, aumenta la acidez del moromi mediante la producción de ácido láctico y otros ácidos orgánicos. Aporta sabores y aromas esenciales, disminuye la intensidad del color y reduce la actividad de las proteínas de los hongos (Frazier y Westhoff, 1985; y Hansen, 1959).

C. GENERO ZYGOSACCHAROMYCES

Muchos de los miembros de este grupo participan en procesos industriales tales como la fermentación de algunos vinos y en el siyao. Son células esferoidales o cilíndricas. La reproducción vegetativa es por fisión. La ausencia de gemación es lo que le distingue a este género con respecto a otras levaduras (principalmente a los del género Saccharomyces, con el que guarda algunas relaciones).

Dos especies de este género son comúnmente reportados en la bibliografía como responsables de producir alcohol y contribuir al aroma del siyao, estas son Zygosaccharomyces rouxii y Zygosaccharomyces sovae (Banwart, 1981; y Frazier y Westhoff, 1985).

D. GENERO SACCHAROMYCES

Los integrantes de este género son considerados como un grupo de organismos heterogéneos. Las células son esferoidales, elipsoidales, cilíndricas o alongadas. La reproducción vegetativa es por gemación multilateral. Pueden formar micelio aunque con frecuencia éste se encuentra ausente.

El nombre de *Saccharomyces* deviene del hongo de azúcar, todas las especies tienen una fermentación vigorosa.

Las especies de mayor uso en la industria de la fermentación son *Saccharomyces cerevisiae* usado en la fermentación del pan, en la fabricación de cerveza, vinos o en la producción de alcohol, glicerol e invertasa.

El género cuenta con dos especies tolerantes al azúcar (osmofílicos): *Saccharomyces cerevisiae* y *S. bisporus* que son los que causan deterioro con frecuencia en alimentos, miel de abeja, jarabe, esto por su capacidad de crecer en alimentos que contienen 40 a 60% de azúcar. *Saccharomyces rouxii* interactuando con otras levaduras está involucrada en la producción de alcohol y contribuir en el sabor característico del siyao (Banwart, 1981; y Frazier y Westhoff, 1985).

CAPITULO II
MATERIALES Y METODOS

II.1. MATERIALES

A. MATERIAS PRIMAS

Los insumos usados en la presente investigación preferentemente fueron de nuestra zona. Se usaron 10 Kg. de basul (Erythrina edulis) procedentes de la provincia de La Mar (San Miguel), 8 Kg. de Tarwi (Lupinus mutabilis) procedentes del distrito de Acocro, 8 Kg. de soya (Glycine max) adquirido comercialmente y 15 Kg. de trigo (Triticum vulgare) procedentes de la provincia de Huanta. Además se hizo uso de 6 Kg. de sal no yodada, adquirida comercialmente.

Para la caracterización botánica del basul se recolectó las partes más representativas de la planta tales como: ramitas, hojas, flores y frutos.

B. CEPAS MICROBIANAS

Se usaron cultivos puros de Cepas Industriales

de:

- Aspergillus oryzae ATCC 20386
- Pediococcus halophilus ATCC 21786
- Zygosaccharomyces rouxii ATCC 26394
- Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126

C. MEDIOS DE CULTIVO

- Agar Papa Dextrosa
- Agar Bacto YM
- Agar Glucosa Oxitetraciclina (OGA)
- Caldo Bacto YM
- Medio Harold's M40Y
- Medio Acetato de Sodio

D. EQUIPOS, REACTIVOS Y OTROS MATERIALES

- 03 Recipientes de Fermentación, de 13 lts. de capacidad.
- 03 Bandejas de madera dim. 45x28.5x8 cm.
- Fotocolorímetro marca Fek 60.
- Espectrofotómetro marca SPECTRONIC - 20.
- Baño María marca THELCO.
- Centrifuga marca ELZETT cap. 6000 rpm.
- pH-metro marca RADELQUIS tipo OP-205.
- Balanza analítica marca GANZ cap. 100 g.
- Agitador magnético marca ASISTENT.
- Estufa marca THELCO.
- Incubadora marca GANZ.
- Tostador artesanal.
- Autoclave marca WIKA ese. 0-30 psi.
- Materiales de vidrio de las marcas PYREX y KIMAX.

- Reactivos según los métodos.
- Otros equipos según métodos.

II.2. MÉTODOS

A. CARACTERIZACION BOTANICA DEL BASUL

Para este efecto se recolectaron las partes más representativas de la planta tales como: ramitas, hojas, flores y frutos, los cuales fueron transportados desde su lugar de origen (San Miguel - La Mar) hasta el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, debidamente prensados, para lo cual se contó con el apoyo profesional de los profesores del Area de Botánica, reconociéndose las estructuras morfológicas más resaltantes de la planta, caracterizándola sistemáticamente, tomando en cuenta la información reportada por Barrón (1980); Brack (1981); Ferreyra (1986); Martel (1989); y Reynel et. al., (1990).

B. COMPOSICION QUIMICO-BROMATOLOGICO DEL BASUL

Todos los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. Los reactivos empleados en los análisis fueron de las marcas SIGMA y MERCK.

Los granos de basul previamente desecados, fueron triturados hasta conseguir una harina bastante fina en un mortero con pilón de porcelana; luego fueron tamizados a través de una malla metálica de 80 Mesh.

A este nivel fueron analizados, usando los métodos:

- Determinación de Proteínas.

Método Micro-Kjeldahl. (Pearson, 1986).

- Determinación de Grasa Total.

Método Gravimétrico por Estracción Continua
(Pearson, 1986).

- Determinación de Fibra.

Método Hidrólisis Ácida-Alcalina (Pearson, 1986)

- Determinación de Humedad.

Método Gravimétrico (Pearson, 1986).

- Determinación de Cenizas.

Método Gravimétrico Incineración Directa (Pearson,
1986).

- Determinación de Calcio.

Método de Oxalato (Chapman y Pratt, 1979).

- Determinación de Hierro.

Método de O-fenantrolina (Chapman y Pratt, 1979).

- Determinación de Fósforo.

Método de Azul de Molibdeno de Fiske y Subbarow
(Chapman y Pratt, 1979).

C. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se planteó teniendo las siguientes premisas: -El procedimiento deberá reproducir en lo posible el método tradicional de elaboración de siyao, para garantizar la buena calidad del producto. Se empleará el basul como un sustituto de la soya en la elaboración de siyao, además de producir un siyao a base tarwi con el que se comparará los diversos parámetros a evaluar, tomando como patrón un siyao de soya que se producirá en las mismas condiciones experimentales que los anteriores. -Las proporciones de las harinas de basul, tarwi y soya, para ser mezclados con el trigo tostado y partido, se pesarán previo a su hi-

dratación (en materia seca). Para cada kilogramo de harina de cualquiera de los granos se tomará 1 kg. de trigo tostado y partido, proporción 1 : 1. - Finalmente se buscará obtener el mayor y mejor Rendimiento de Nitrógeno a un tiempo de fermentación de tres meses, esperando desde ya, producir un siyao de calidad aceptable (Ver FIGURA 2).

D. ENSAYOS PREVIOS

-Se sometió a un proceso de adaptación la cepa Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126, en medio Harold's M40Y con crecientes concentraciones de cloruro de sodio de 1 a 12%, y polipeptona 5 g/lt., para realizar la fermentación alcohólica en el Moromi.

-Se determinó el tiempo y la temperatura óptima de autoclavado para cocinar harina de basul, tarwi y soya, buscando en todo momento someter los insumos a menores tiempos y temperaturas elevadas, tal como recomiendan muchos investigadores. Para ello se probaron presiones de 15 y 18 psi por tiempos de 15, 30 y 45 minutos. Ver TABLA XI del Apéndice.

E. PREPARACION DEL INOCULO

El inóculo que posteriormente fue utilizado en el cultivo del Koji, fue preparado en tubos de ensayo de 36 x 210 mm. cuyas paredes se acondicionaron con arroz pulido y sancochado, en delgadas capas, que posteriormente fueron esterilizados a 15 psi x 15 min. El arroz tratado así fue sembrado con una suspensión de esporas de Aspergillus oryzae ATCC 20386 en Tween 80 al 1%, buscando en todo momento que la humedad del sustrato no

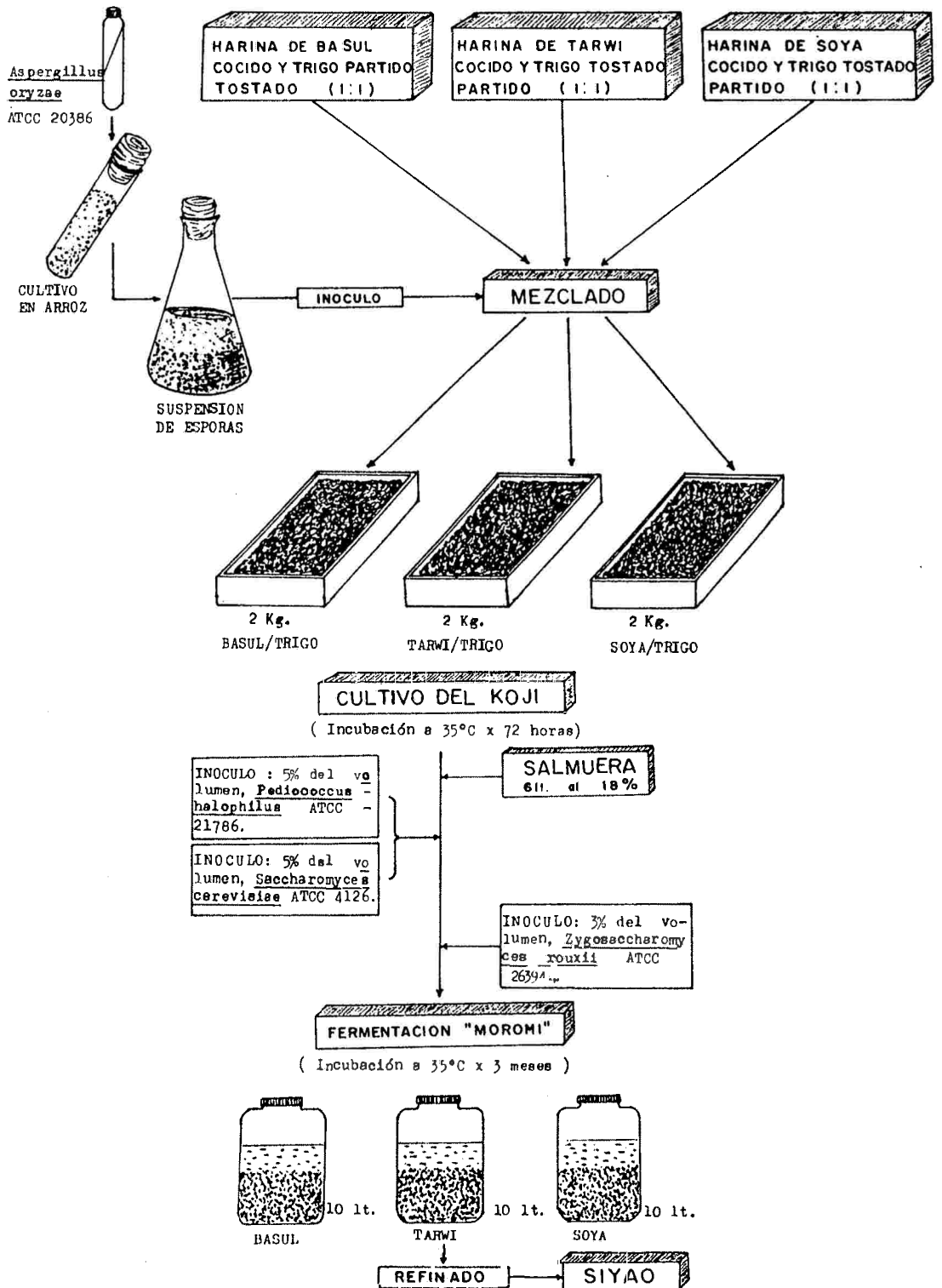
sobrepase el 45%, nivel en el que se logra buena esporulación (Juscamaita, 1993). Posteriormente se incubaron a 30°C por 10 días. Una vez logrado buena esporulación del moho en el arroz, se cosechó con Tween 80 al 1% añadiéndosele 10 ml. a cada tubo y agitando hasta lograr la separación de las esporas, cuidando en todo momento que los granos de arroz no se desprendan con ellas, donde se alcanzó la mayor y mejor concentración, nivel adecuado para lograr una buena actividad amilásica y proteásica (Gervais, et. al., 1988; Nacadai and Nasuno, 1988; y Juscamaita, 1993). Las esporas cosechadas así se encuentran listas para ser usadas como inóculo en el Koji.

F. MATERIAS PRIMAS : TRATAMIENTO Y ACONDICIONAMIENTO.

- Los granos de tarwi fueron hidratados con 0.7 lt. de agua por Kg. de peso, durante 12 horas; luego de escurridos fueron cocinados por 40 minutos en solución de NaCl al 2% en proporción de 3 lt. por Kg. de granos amargos iniciales. Posteriormente fueron desamargados en un recipiente con flujo de agua constante durante 72 horas, al final los granos fueron secados a exposición directa al sol (Zevallos, 1980).

- El basul, tarwi (desamargado y seco) y soya fueron molidos hasta harina. A este nivel se determinó el contenido de Nitrógeno total (Método Microkjeldahl). ver TABLA VIII. Posteriormente estas harinas fueron hidratadas con 825 ml de agua por Kg. nivel que permite

FIGURA N° 02 : FLUJOGRAMA EXPERIMENTAL DE ELABORACION DE SIYAO



llegar a una humedad no menor del 40% en el sustrato. Luego fueron cocinadas en olla autoclave siendo las presiones y el tiempo de exposición como sigue: harina de basul 15 psi x 15 min.; harina de soya 18 psi x 30 min. y harina de tarwi 18 psi x 45 min. (Ver TABLA IX Apéndice), tratamiento en el que se logra que las harinas adquieran consistencia pastosa y fácilmente aplastadas por la yema de los dedos.

- El trigo fue tostado artesanalmente hasta tomar un color pardo dorado y textura crocante. Se trituró en 4 - 5 partes en molino común de granos. Se determinó el porcentaje de Nitrógeno total por el Método Microkjeldahl (Ver TABLA VIII).

G. CULTIVO DEL KOJI

El Koji tradicionalmente se prepara mezclando cantidades iguales (proporción 1 : 1 en peso) de soya y trigo. En tal sentido se hizo lo propio con las harinas de basul y tarwi.

Las harinas de basul, tarwi y soya (1 Kg, de cada uno) hidratadas y cocinadas, fueron mezcladas con su equivalente de trigo tostado y partido en cada caso. Las mezclas fueron autoclavadas a presión y temperatura de esterilización (15 psi X 15 min) para garantizar aséptica completa de los sustratos. Luego de enfriadas (35°C Aprox.) fueron extendidas en bandejas de madera con base de malla plastificada, esterilizadas con fenol al 5%, empleándose una bandeja por tratamiento. Estos kojis fueron inoculados con 110 ml. de una suspensión de esporas de *Aspergillus oryzae* ATCC 20386 en Tween 80

al 1% que fueron cosechadas de los tubos con arroz pulido y sancochado. La concentración de esporas fue de 1.6×10^7 esporas/ml. Todo fue mezclado completamente.

Los Kojis se incubaron dentro de una estufa atemperada a 30°C x 72 horas, con alta aireación, humedad del Koji 45% y temperatura no mayor de 40°C en el sustrato. Al interior de la estufa se acondicionó un recipiente conteniendo agua saturada con NaCl, con la finalidad de proporcionar humedad.

Se realizaron dos remociones del Koji a las 20 y 40 horas después de la inoculación con el fin de mantener uniforme la temperatura del sustrato y no supere los 40°C que resultaría perjudicial para el crecimiento del moho, y mantener adecuada aireación.

H. FERMENTACION EN SALMUERA (MOROMI)

1. Cultivo de Microorganismos

La cepa Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126 para ser usada durante la fermentación alcohólica del Moromi, fue adaptada a condiciones salinas de hasta 12%, para ello se procedió primeramente a sembrar en Caldo Harold's M40Y exento de sal, para luego de crecidas, inocularlas a concentraciones de 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 y 12% de NaCl, siempre usando el mismo caldo que fue enriquecido con polipeptona 5 g./lt. En cada paso el volumen de inóculo fue de 5% e incubado a 30°C por 24 a 48 horas. Pruebas adicionales fueron hechas en el medio con 12% de NaCl, donde se determinó la mejor y mayor concentración de levaduras, así como

el tiempo necesario que emplea para un buen crecimiento (Ver GRAFICA 1).

El cultivo de Pediococcus halophilus ATCC 21786 se realizó en Medio Acetáto de Sodio modificado por Taniguchi et. al. (1988), incubándolas durante 10 días a temperatura de 30°C; se realizaron recuentos periódicos con la finalidad de hallar una buena población bacteriana que garantise la fermentación láctica en el Moromi.

2. Fermentación en Salmuera

Los Kojis maduros fueron transferidos a tres recipientes de fermentación de 13 lt. de capacidad, conteniendo 6 lt. de salmuera al 18%, que equivale al 150% del volumen ocupado por 2 kg. de Koji en los recipientes (este volumen es de 4 lt.). Los cálculos se realizaron considerando que los Moromis ocupen 3/4 partes del volumen total del recipiente.

Cada fermentador estuvo provisto de una paleta de madera, para facilitar la homogeneización y toma de muestra para los análisis realizados periódicamente. Cada fermentador, signados con las letras "B" (basul), "T" (Tarwi) y "S" (Soya) para evitar equivocaciones, fueron colocados en una estufa atemperada a 35°C por espacio de tres meses. Los contenidos fueron agitados diariamente en el primer mes y luego tres veces por semana.

A los tres días de haberse iniciado la fermentación en salmuera, se inocularon 500 ml. de cultivos puros de Pediococcus halophilus ATCC 21786 y Saccharomyces cere-

visiae ATCC 4126, que corresponde al 5% del volumen total de Moromi, conteniendo una población 1.1×10^7 cel./ml. en la bacteria y 2.3×10^5 cel./ml. en la levadura, niveles considerados como óptimos para la inoculación, conforme a estudios previos realizados. Ver GRAFICA 1.

A los dos meses y medio de haberse iniciado la fermentación en salmuera y con la finalidad de reforzar la fermentación alcohólica, se añadió 300 ml. de cultivo puro de Zygosaccharomyces rouxii ATCC 26394 cultivado en Caldo YM con 10% de NaCl, teniendo una población de 1.8×10^5 cel./ml.

Se realizaron controles quincenales de las variables Nitrógeno total, Nitrógeno amínico, Acidez, pH y Azúcares reductores durante los tres meses de fermentación.

El muestreo quincenal consistió en la toma de 70 ml. del líquido contenido en el Moromi luego de vigorosa agitación en el fermentador. Esta muestra fue prensado manualmente en tela nanzú estéril y el líquido obtenido fue sometido a análisis fisicoquímicos y microbiológicos recomendados por el ex-ITINTEC (1984).

- Nitrógeno total.

Método de Microkjeldahl.

- Amino nitrógeno.

Método de Worl para Amino nitrógeno libre.

- Azúcares reductores.

Método del Reactivo de Muller.

- pH.

Método del pH-metro.

- Acidez.

Método de titulación Acido-Base.

- El Rendimiento de Nitrógeno fue medido analizando el nitrógeno soluble en la fase líquida del siyao, mediante la siguiente relación matemática (Elejalde, 1985).

$$R_{Nt} = \frac{\text{Nitrógeno en el siyao}}{\text{Nitrógeno en las Materias Primas}} \times 100\%$$

O sea :

$$R_{Nt} = \frac{\% N_{St} \times V_s}{\left(P_s \times \frac{\% N_s}{100} \right) + \left(P_t \times \frac{\% N_t}{100} \right)}$$

donde :

- R_{Nt} = Rendimiento de Nitrógeno al tiempo t.
- V_s = Volumen de salmuera (litros).
- P_s = Peso de la soya (kilos).
- P_t = Peso del trigo (kilos).
- %N_s = Porcentaje de Nitrógeno en la soya.
- %N_t = Porcentaje de Nitrógeno en el trigo.
- %N_{St} = Porcentaje de Nitrógeno Soluble en el siyao (grs. N / 100 ml.).

Finalmente se evaluó la variación de las poblaciones de bacterias y levaduras inoculadas al Moromi, así como la viabilidad de las esporas de moho.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

III.1. CARACTERIZACION BOTANICA DEL BASUL

El estudio de ramitas, hojas, flores y frutos nos permitió caracterizar sistemáticamente al basul, tomando en cuenta la información proporcionada por diversos investigadores sobre esta leguminosa arbórea, y gracias al asesoramiento de los profesores del Area de Botánica, Taxonómicamente el basul fue clasificado del siguiente modo:

DIVISION	:	Antophyta
CLASE	:	Dicotiledoneae
ORDEN	:	Rosales
FAMILIA	:	Leguminosae (Fabaceae)
SUB-FAMILIA	:	Papilionadas
GENERO	:	Erythrina
ESPECIE	:	edulis
N. C.	:	<u>Erythrina edulis</u>
N. V.	:	"basul", "pajuro", "pisonay" "poroto", "pashuro", "pasu- sullo", "sachaporoto".
ETIMOLOGIA	:	El nombre genérico <u>Erythrina</u> proviene del griego Erythros

que significa rojo, por el color predominante de la flor (Martel, 1989).

La familia Fabaceae, tiene al rededor de 400 géneros y 9000 especies de gran importancia económica, porque se les atribuye productos de altos rendimientos y con principios nutritivos aprovechados por el hombre y los animales, por lo que investigadores como Martel (1989); Brack (1981); y Reynel et. al. (1990) consideran a estas plantas como las preferidas para promover una agricultura biológica intensa, teniendo particular interés por el basul que a parte de sus bondades nutricionales (Ver TABLA VI) tiene la cualidad de nitrificar el suelo, siendo una planta muy apropiada para la recuperación de zonas degradadas.

Descripción de la Especie

a. Porte.- Arbóreo de 10 a 15 metros de altura, armado con aguijones pequeños y ramas muy pronunciadas.

b. Hojas.- Las hojas son trifoliadas y estipuladas, foliolos enteros, ovales acuminados en el ápice. Folíolos laterales más pequeños que el terminal. Los laterales o primeros alcanzan 12 cm. de largo por 7.5 cm. de ancho, y el foliolo terminal 14.5 cm. de largo por 12 cm. de ancho aproximadamente (Ver FIGURA 3).

c. Inflorescencia.- En racimo simple, con eje floral bastante largo. Las flores son típicamente papilionadas, son sigomorfas, heteroclamidias y pentámeras. El cáliz pequeño formado por cinco sépalos unidos en la base, es ligeramente bilabiada en el ápice de 1 cm. de tamaño aproximadamente y 0.6 cm. de ancho. Corola vistosa de

color rojo escarlata, dispuesta de la siguiente manera, una exterior más grande asimétrica denominada vexilo (estandarte) de medida aproximada, 2 cm. de largo, dos simétricas dispuestas lateralmente denominadas alas, de 1.2 cm. de longitud aproximadamente; y dos internas simétricas unidas por la parte anterior que constituye la carina o quilla de unos 2.8 cm. de longitud (Ver FIGURA 3).

Los estambres son en número de 10 unidos por la base y libres en la parte superior. El gineceo, de ovario súpero unicarpetal y unilocular conteniendo muchos óvulos.

d. Fruto.- Es una legumbre o vaina, moderadamente dehiciente de tamaño: 35 a 40 cm. de largo, de 3 a 3.5 cm. de ancho aproximadamente, con un número de semillas que va de 7 a 9 por vaina. Son oblongo lineales (Ver FIGURA 4).

e. Semillas.- Semillas de color marrón oscuro cuando maduras, miden de 1.8 a 2.8 cm. de ancho y 3 a 5 cm. de largo. Presentan dos cotiledones grandes amiláceos por lo que son comestibles. Consumidos al estado fresco y siendo mucho más agradable al estado oreado (Ver FIGURA 5).

III.2. COMPOSICION QUIMICO-BROMATOLOGICO DEL BASUL

Estudios realizados en las semillas de basul (descascarado y seco) respecto a la composición química y elementos minerales, muestran resultados realmente sorprendentes, los mismos que se muestran en las TABLAS: VI y VII.

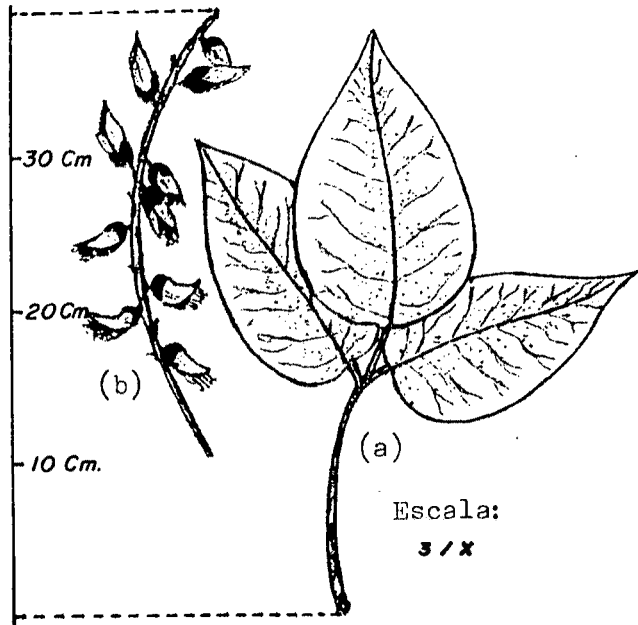


FIGURA No. 03 : LA HOJA (a) E INFLORESCENCIA (b) DE Erythrina edulis.

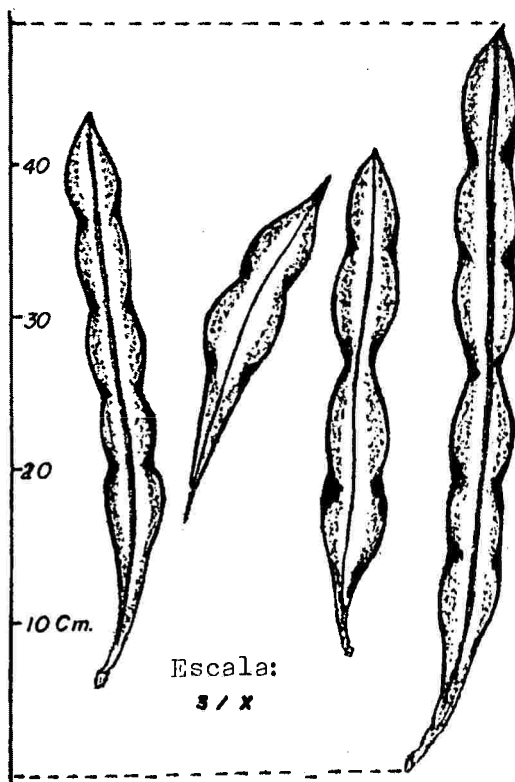


FIGURA No. 04 : FRUTOS DE Erythrina edulis.

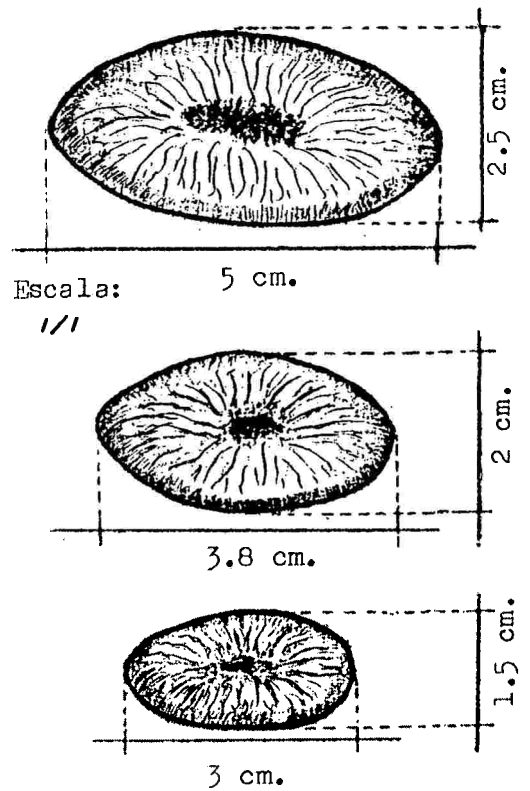


FIGURA No.05 : SEMILLAS DE Erythrina edulis.

TABLA VI
ANALISIS QUIMICO DE SEMILLAS DE *Erythrina edulis*
EN 100 g. DE MATERIA SECA.

COMPONENTES	g. %
Carbohidratos	46.53
Proteínas	24.37
Lípidos	1.72
Fibra	4.45
Cenizas	6.63
Agua	16.30

TABLA VII
ANALISIS DE MINERALES DE SEMILLAS DE *Erythrina edulis*
EN 100 g. DE MATERIA SECA.

COMPONENTES	mg. %
Fósforo	325.12
Calcio	8.89
Hierro	9.56

Según Reynel y León (1990); y Martel (1989), las semillas de basul se muestran como un alimento importante por su alto contenido protéico, cuyo promedio es de 24% superando incluso al contenido protéico de los pallares que es de 20%, lentejas chinas 23%, garbanzo 19%, frejol bayo 19% y frejol canario 21%, pero relativamente inferior en relación al tarwi y la soya cuyos promedios son de 40.9% y 33.4%, respectivamente. Respecto al contenido de grasas en cambio, es bajo, favoreciendo esto su conservación; el extracto etéreo que contiene la grasa en ningún caso supera al 1.7%.

En cuanto a contenido de carbohidratos fluctúa entre 42 - 55%, teniendo al almidón como principal componente (33.94 a 33.14% en 100 g. de materia seca), mientras que en fibra, alcanza un promedio de 4.5%. Estos valores muestran diferencias con los contenidos de fibra de

otras leguminosas como tarwi 9.30%, carbohidratos 27.3%; soya 35.5% para carbohidratos, fibra 5.7% (Guzmán et. al. 1980; Martel, 1989; y Reynel y León, 1990).

Bondades nutricionales que se consideraron para plantear el aprovechamiento industrial del basul, en base a la tecnología de procesamiento de la soya, motivo de la presente investigación.

III.3. PREPARACION DEL INOCULO

Tradicionalmente la cepa elegible por su capacidad proteolítica elevada y actividad amilolítica, en la elaboración de siyao, es sin duda Aspergillus oryzae, que acondicionado a una buena materia prima, permitirá la obtención de un buen Koji y por ende de un buen producto.

Aspergillus oryzae tradicionalmente en el Japón y China, es cultivado en arroz pulido, cocido y esterilizado, esto por el significativo ahorro en costos y disponibilidad en el mercado. Se hizo lo propio en el presente trabajo. La cepa, fue cultivada en 30 tubos de 26 x 210 mm. conteniendo arroz pulido y sancochado, luego de su incubación a 30°C por 10 días y cuando se observó la mejor esporulación se cosechó haciendo uso de 380 ml de Tween 80 al 1%, y luego de reconcentraciones sucesivas por centrifugación, se llegó a obtener 330 ml. de suspensión de esporas a una concentración de 1.6×10^7 esporas/ml., nivel que como indica Juscamaita (1993) permite obtener las máximas actividades amilásicas y proteolíticas en el Koji, hecho que conlleva a la obtención de un buen siyao.

III.4. ANALISIS DE NITROGENO TOTAL Y PROTEINAS EN LAS MATERIAS PRIMAS

La TABLA VIII resume los resultados del análisis de nitrógeno total y proteínas realizado a las semillas secas (semillas con cáscara) de basul, tarwi, soya y trigo, luego de haber sido tratadas y convertidas a harina.

TABLA VIII
ANALISIS DE NITROGENO TOTAL Y PROTEICO DE LAS MATERIAS PRIMAS, EN 100 g. DE MATERIA SECA TRATADA

MATERIAS PRIMAS	% Nitrógeno total	% Proteínas
BASUL	2.86 g.	17.87 g.
TARWI	6.61 g.	41.31 g.
SOYA	4.32 g.	27.05 g.
TRIGO	0.99 g.	6.18 g.

Factor de conversión : 6.25

De los resultados, podemos observar claramente que la cantidad de proteínas en todos los casos (excepto trigo), han disminuido notablemente en relación a su valor inicial reportado en la bibliografía o hallado en los análisis. Así, por ejemplo, la cantidad de proteína que inicialmente se determinara en las semillas descascaradas de basul de 24.37%, ahora las encontramos disminuidas en un orden de 6.5%. En caso del tarwi y de la soya muestran una disminución de sus proteínas en un orden de 3.2% y 6.35% respectivamente en relación al valor teórico reportado (Guzmán, et. al. 1980; y Mujica, 1987). La disminución de la proporción de proteínas en las semillas indicadas, probablemente se deba a la escasa cantidad protéica de sus cáscaras y que ello

influncie a una disminuci3n de sus valores promedio.

III.5. CULTIVO DEL KOJI

La primera evidencia de un buen crecimiento micelial del moho se observ3 a las 24 horas de incubado el Koji, una intensa expansi3n micelial y una disminuci3n de la humedad fue lo caracteristico. A las 48 horas de incubaci3n, adquiri3 una coloraci3n amarillo verdosa, esto debido al ligero florecimiento del moho, la humedad disminuy3 notablemente, se formaron terrones ligeramente secos y duros. A la culminaci3n de la fermentaci3n, que fue a las 72 horas se observ3 en la superficie e interior de los Kojis presencia de muchas esporas que le daba una apariencia verdosa. El Koji a este nivel estuvo maduro y listo para ingresar a la fermentaci3n sumergida o Moromi, tal como indican muchos investigadores (Beuchat,1984; Yong and Wood, 1974; y Yokotsuka, 1972).

Mujica (1987), hizo un estudio detallado sobre la disminuci3n de la humedad en el Koji, partiendo de 38% de humedad en el sustrato, al final del cultivo encontr3 una humedad de 21%.

En cuanto al control de los par3metros de temperatura y alta aireaci3n, no hubo mayores dificultades, pues la misma estufa usada para el experimento, proporcion3 la temperatura adecuada y buena aireaci3n. Finalmente debemos indicar que se realizaron dos remociones del Koji a las 20 y 40 horas de iniciado el cultivo, esto con la finalidad de garantizar la uniformidad de la temperatura que bajo ninguna circunstancia debe sobre-

pasar los 40°C que resultaría perjudicial a la buena producción de enzimas necesaria para la obtención de un buen siyao, y además homogenizar la aireación del sustrato. Al respecto Elejalde (1985), manifiesta haber realizado dos remociones del Koji a las 22 y 58 horas de iniciada la incubación buscando los fines antedichos. Otros investigadores como Beuchat (1984); y Yong and Wood (1974), recomiendan que se debe realizar estas remociones para disminuir la presencia de contaminantes indeseables. Juscamaíta (1993), indica que parámetros de humedad, temperatura y aireación, son críticos para una buena producción de enzimas.

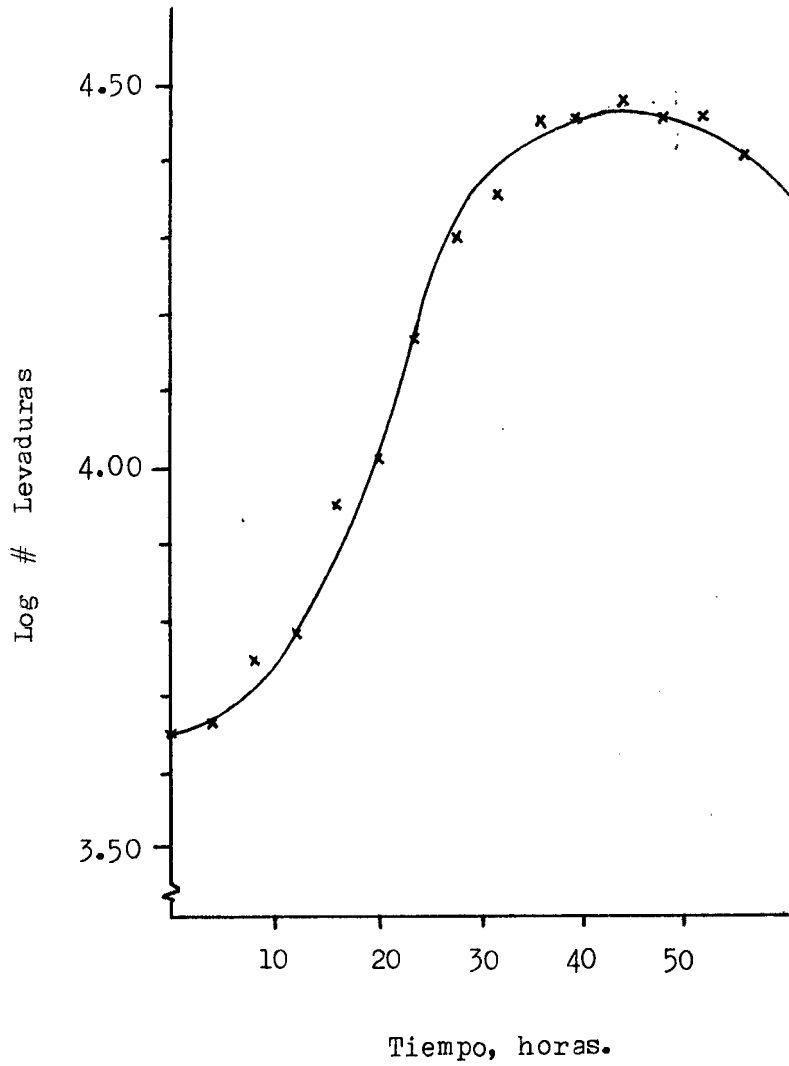
III.6. FERMENTACION EN SALMUERA

1. CULTIVO DE MICROORGANISMOS

La cepa Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126 fue utilizada por su reconocida capacidad fermentativa en la producción de alcohol como una alternativa para reemplazar a la levadura Zygosaccharomyces rouxii ATCC 26394, cepa que se tuvo a disposición recién a los dos meses y medio de iniciada la fermentación. Para sorpresa nuestra la levadura Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126 respondió a nuestros requerimientos, teniendo vigoroso crecimiento tal como se demostró en ensayos previos (Ver GRAFICA 1).

El cultivo de Pediococcus halophilus ATCC 21786 se realizó en medio Acetato de Sodio modificado por Taniguchi, et. al. (1988) incubándolas durante 10 días a temperatura de 30°C; se realizaron recuentos periódicos con la finalidad de hallar una buena población bacte-

GRAFICA No. 01 : CURVA DE CRECIMIENTO DE Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126 en Medio Harold's M40Y con 12% de Cloruro de Sodio.



riana que garantice la fermentación láctica en el Moromi

2. FERMENTACION EN SALMUERA

Sin lugar a dudas los resultados que se obtengan durante la etapa de fermentación Moromi, redundará de modo directo en las buenas cualidades sensoriales y resultados fisicoquímicos del producto final. En tal sentido durante esta etapa de la producción de si-yao, se tuvo los mayores cuidados para controlar la temperatura de 35°C, parámetro determinante para acortar el periodo de fermentación tal como sostienen muchos investigadores (Beuchat, 1984; Wang and Hesseltine, 1974; y Yokotsuka, 1972), que demostraron que el producto así obtenido, no difiere significativamente en sus cualidades organolépticas, ni fisicoquímicas de aquel que es obtenido después de una año de incubación a temperatura ambiental. Así mismo se tuvo el mayor de los cuidados para controlar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, a lo largo del tiempo de fermentación, los cuales se realizaron por duplicado para cada uno de los tratamientos.

Algunos cambios cualitativos se observaron en la masa Moromi durante la fermentación. Las primeras semanas se observó una ligera resuspensión de los materiales en la superficie de la salmuera aun luego de agitarlos, pero conforme avanzó los días de fermentación las masas Moromi de los tres tratamientos adquirieron una apariencia homogénea, siendo más relevante esta tendencia en el Moromi de basul, esto probablemen-

te debido al tamaño más fino y homogéneo de la harina de basul, puesto que las otras harinas (tarwi y soya) presentaban partículas un tanto grandes debido a lo dificultoso de su molienda; otro factor que probablemente haya contribuido a esta característica, es la acción enzimática que haya desintegrado más rápidamente la harina de basul y trigo partido, en comparación a las otras, facilitando su homogeneización completa en la salmuera. Finalmente el aroma fue más sugestivo en el Moromi de basul en comparación a los Moromis de las otras materias primas, debido probablemente a su alto contenido en carbohidratos, responsable de proporcionar el aroma y sabor característico al siyao.

A. EVALUACIONES FISICOQUIMICAS

1. NITROGENO TOTAL, AMINO NITROGENO Y RENDIMIENTO DE NITROGENO

De la integración de los resultados obtenidos en estas tres variables, va a determinar la calidad del producto así como la actividad enzimática en el Moromi, y la actividad de las enzimas fúngicas provenientes del Koji.

Los resultados alcanzados en cada una de estas variables, en los tres tratamientos efectuados se muestra en la GRAFICA 2, cuya tendencia es creciente para cada caso.

Estadísticamente se han encontrado diferencias altamente significativas para los tres tratamientos, al tiempo de fermentación de 78 días, a un nivel de confianza de 0.05% en las tres variables analizadas. Se

pone particular relevancia en los resultados alcanzados por el basul en estas variables, lo que demuestra que constituiría una buena materia prima para la elaboración del siyao, al igual que el tarwi tal como demostraron Mujica (1987) y Juscamaita (1993) en trabajos similares realizados en esta materia prima. La soya tradicionalmente es la materia prima elegible para la elaboración del siyao en Oriente.

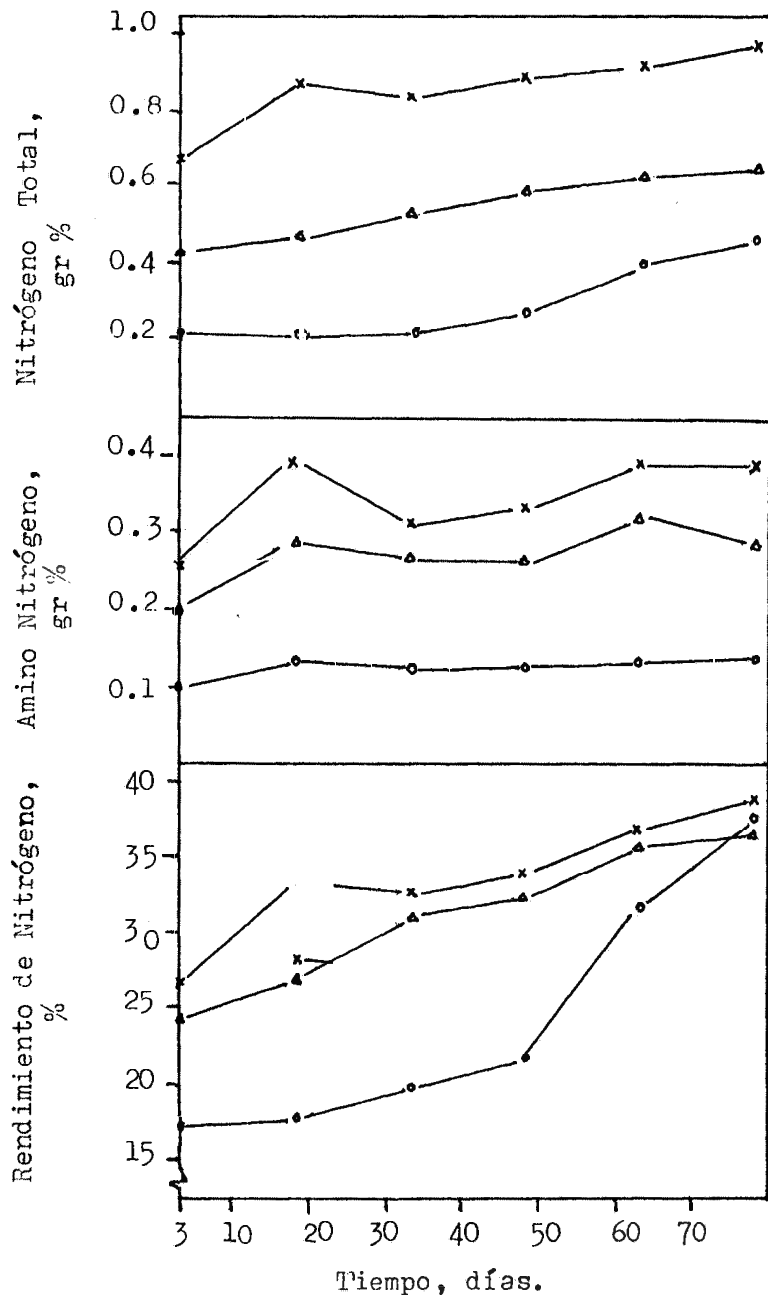
El Rendimiento de Nitrógeno, constituye la variable más importante, para determinar el índice de calidad de un producto, que está en proporción directa al contenido inicial de proteínas en la materia prima.

Los resultados hallados para esta variable al tiempo de fermentación de 78 días, aplicando la fórmula propuesta en la metodología (Elejalde, 1985), fue para el basul 37.37%, tarwi 38.83% y soya 36.65%. La fórmula integra las dos variables que se analizan (Nitrógeno total y Amino Nitrógeno Libre) así como otras variables, que muestran resultados más reales sobre la efectividad de los tratamientos.

De los resultados se observa que mayor es el Rendimiento de Nitrógeno en el siyao producido a partir de tarwi en comparación a los productos de basul y soya. Este comportamiento es entendible toda vez que tarwi presenta mayor cantidad de proteínas (40.9%) en comparación a basul (24.37%) y soya (33.4%).

Los resultados alcanzados son muy alentadores, y es estimulante observar que la tendencia en los tres tratamientos es al incremento en los tres parámetros ana-

GRAFICA No. 02 : NITROGENO TOTAL, AMINO NITROGENO, Y RENDIMIENTO DE NITROGENO DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACION DEL MOROMI.



LEYENDA :

- (o) Basul
- (x) Tarwi
- (Δ) Soya

lizados, indicativo que las enzimas fúngicas provenientes del Koji están activas, al igual que la de los otros microorganismos responsables de la fermentación del Moromi (Ver TABLAS XIII, XIV, y XV del Apéndice).

2. AZUCARES REDUCTORES, ACIDEZ Y pH

Estas variables están involucradas directamente al tipo de metabolismo que desarrollan bacterias y levaduras y a la acción de las enzimas fúngicas producidas en el Koji, los cuales interactúan en el Moromi.

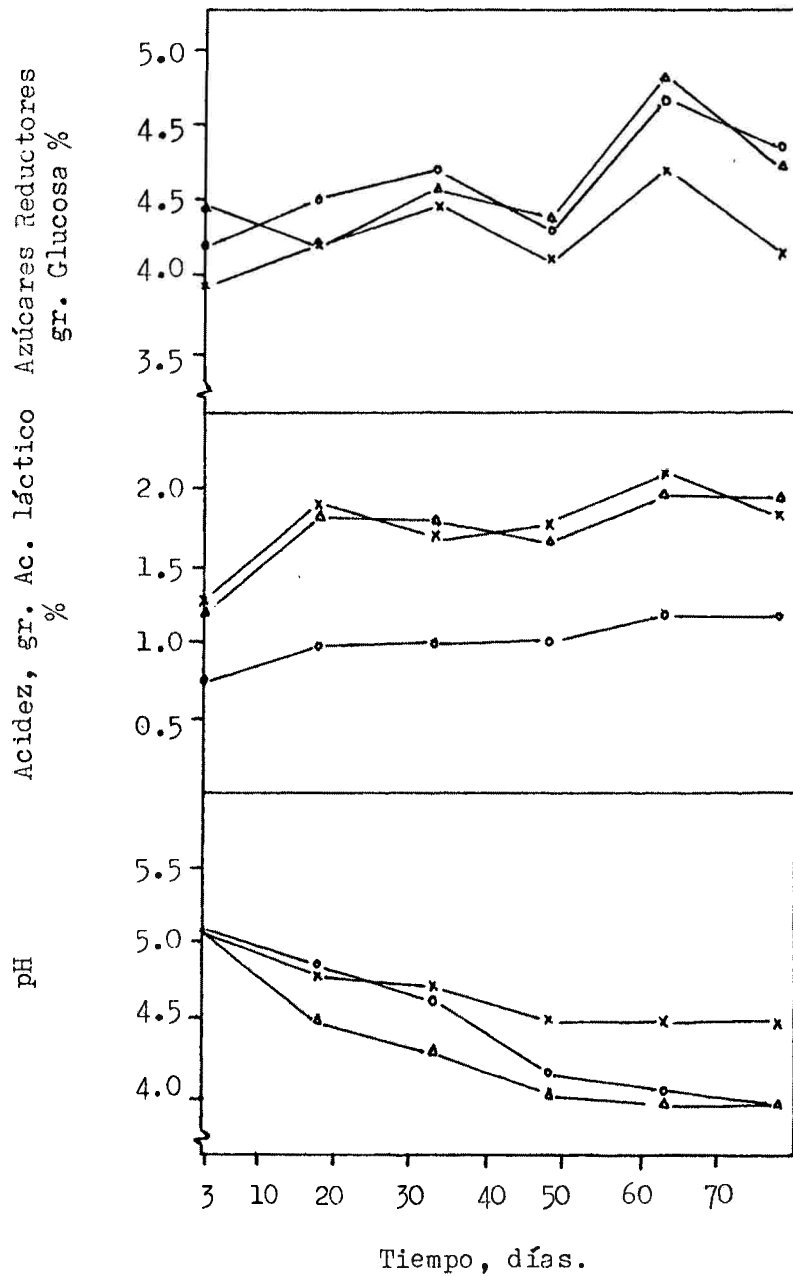
La GRAFICA 3 nos muestra el comportamiento de estas variables en los tres tratamientos desarrollados. Estadísticamente se encuentran diferencias significativas para el tiempo de fermentación con un nivel de confianza de 0.05%, para los tres tratamientos. En tanto que para las materias primas, al mismo nivel de confianza y a los 78 días de fermentación, diferencias significativas no se encuentran para el basul y soya en Azúcares Reductores, pero si en comparación al tarwi. Para la acidez (expresada en g. de Ac. Láctico), la situación se revierte, pues tarwi y soya no muestran diferencias significativas, pero si basul en relación a los otros insumos. Finalmente en la variable pH, al contrastar los resultados al nivel de confianza de 0.05%, se encuentran diferencias significativas de tarwi en relación a basul y soya, en tanto que en estos dos últimos no hay diferencias. Lo antedicho se muestran en las TABLAS XVI, XVII y XVIII del Apéndice.

De los resultados hallados se desprende lo siguien-

te: La acción de las enzimas provenientes del Koji así como de las de los microorganismos involucrados en la fermentación Moromi, permiten la degradación de los carbohidratos hasta azúcares simples y otros compuestos, siendo esta acción relevante en el basul y soya, y un tanto disminuida en tarwi. Esto es explicable porque el basul presenta más carbohidratos en comparación a soya y tarwi, por tanto mayor será la presencia de Azúcares Reductores en el siyao de basul, seguido por el de soya y finalmente tarwi (Ver TABLA XVI del Apéndice).

Los azúcares producidos son usados por las bacterias en la formación de ácido láctico como producto final, de ahí que el pH del medio disminuye. Encontramos una mayor acidez en el siyao de soya, seguida de tarwi y un tanto menor en comparación a los anteriores en el siyao de basul (Ver TABLA XVII del Apéndice). Este comportamiento probablemente esté relacionado al crecimiento de las bacterias lácticas. La cepa empleada Pediococcus halophilus ATCC 21786 se reporta frecuentemente como la más apropiada para producir siyao de soya, por ello, es lógico que encontremos una mayor población de estas bacterias en el Moromi de soya (Ver GRAFICA 4), y por ende una mayor producción de ácido láctico en comparación a los Moromis de tarwi y basul. Es importante recordar que toda la tecnología empleada, así como las cepas (excepto Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126) han sido ya estandarizadas y optimizadas para elaborar siyao a partir de soya, quedando aún por saber si las ce-

GRAFICA No. 03 : AZUCARES REDUCTORES, ACIDEZ, Y pH DURANTE EL TIEMPO DE FERMEN TACION DEL MOROMI.



LEYENDA :
 (o) Basul
 (x) Tarwi
 (Δ) Soya

pas tradicionales son las más apropiadas para tarwi y basul.

El pH está directamente ligado a la producción de ácidos en el Moromi, a una mayor producción de ácidos menor será el pH. En tal sentido, el pH más bajo (pH 4.0) encontramos en los Moromis de basul y soya, en tanto que en tarwi el pH es de 4.5.

El comportamiento es lógico en tarwi y soya para esta variable, pues los Moromis presentan relativamente mayor cantidad de ácido a razón de la fermentación láctica desarrollado por las bacterias.

Esta tendencia no se observó en el Moromi de basul, que aparentemente contradice los resultados hallados en acidez, al respecto debemos indicar que muchos de los cambios bioquímicos que se producen en un proceso de fermentación son observables mas no así explicables, por lo complejo de sus interacciones, por ello es posible que actitud similar se esté produciendo en la fermentación del basul que de alguna manera conduzca a una disminución de su pH, pero no así al incremento del ácido láctico. Al respecto Beuchat (1984), al hacer un seguimiento sobre el comportamiento bioquímico en la fermentación de siyao, encuentra en muchas variables similares resultados, llegando a la conclusión de que estas interacciones son necesarias para desarrollar las buenas cualidades sensoriales del siyao.

B. EVALUACIONES MICROBIOLÓGICAS

La intención en la presente evaluación es controlar la población de bacterias, levaduras y espo-

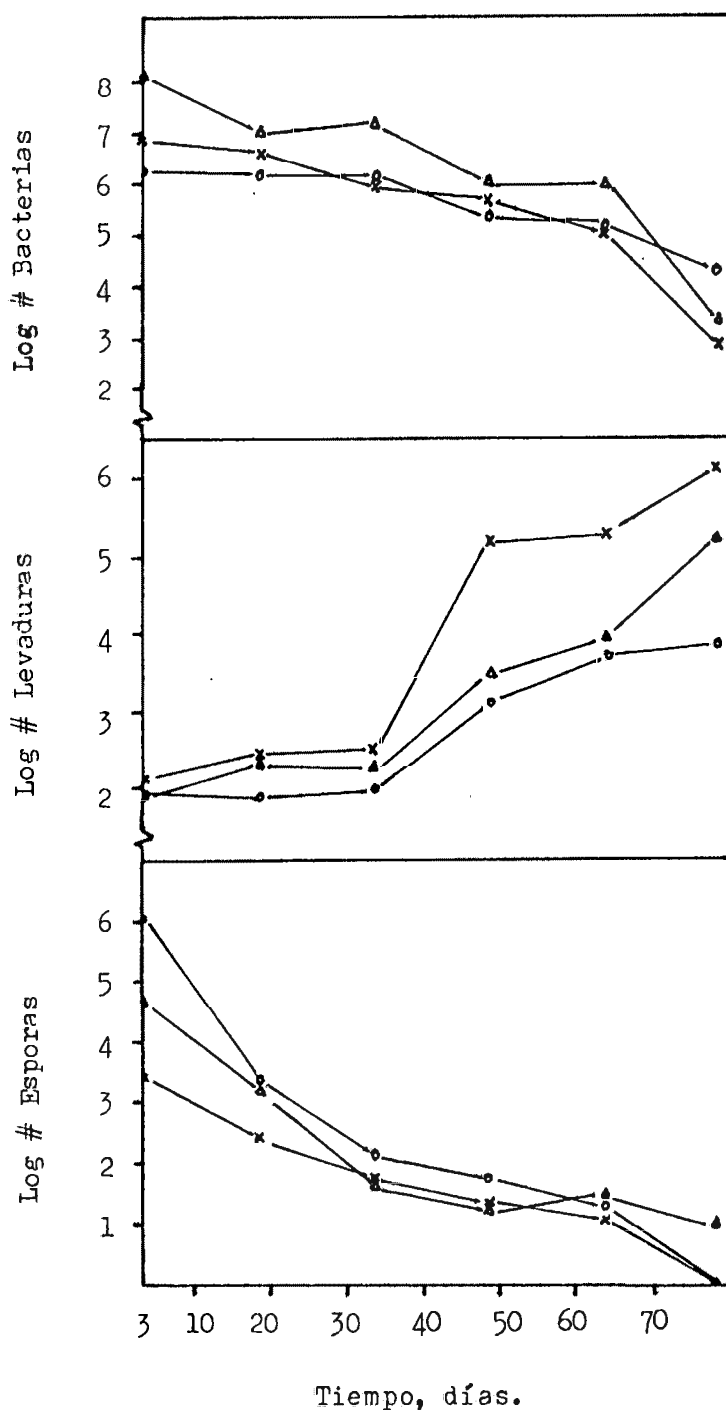
ras fúngicas en el Moromi, así como las tendencias que desarrollan cada una de ellas.

La GRAFICA 4, muestra los recuentos realizados a los microorganismos inoculados como cultivos puros, sin descartar la posibilidad de que una porción de microorganismos ambientales formen parte de este recuento.

El recuento de bacterias (Pediococcus halophilus) muestra una tendencia creciente en los tres tratamientos a los 18 días de iniciada la fermentación, comportamiento entendible toda vez que los nutrientes se encuentran disponibles en el Moromi y aún la presencia de ácidos es escasa, por tanto las condiciones son las más favorables para su desarrollo; con el transcurso de las semanas la tendencia de las bacterias es a la disminución de su población, con el consiguiente incremento de ácido láctico y disminución del pH, al llegar a los 78 días de fermentación la población bacteriana que inicialmente en el inóculo fuera de 1.1×10^7 cel./ml. ha disminuido notablemente, hasta una población de 10^2 en promedio para los tres tratamientos, esto por las condiciones desfavorables de su medio (alta concentración de ácido y pH 4 limitantes para su crecimiento). Es probable que a mayor tiempo de fermentación estas bacterias disminuyan más su población e incluso inhibirse completamente.

El pH cuando se encuentra en promedio de 4.10 en basul y soya, y 4.50 en tarwi, que ocurre aproximadamente a los 48 días de iniciada la fermentación, se expresa muy sutilmente el crecimiento de la levadura

GRAFICA No. 04 : RECUENTO DE BACTERIAS, LEVADURAS Y HONGOS DURANTE EL TIEMPO DE FERMEN TACION.



LEYENDA :

(o)	Basul
(x)	Tarwi
(Δ)	Soya

Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126 adaptada.

La tendencia a incrementar la población de levaduras es la característica en los tres tratamientos, siendo al parecer más apropiado y favorable el pH 4.5 del tarwi que le permite un acelerado crecimiento, en tanto que el basul y soya donde el pH es de 4.0 en promedio, el crecimiento de Saccharomyces cerevisiae es lento; el inóculo para los tres tratamientos tenía una población de 2.3×10^5 cel. /ml.; al transcurrir los días de fermentación la población de las levaduras tiende a incrementar, a los 73 días de esta fermentación esta tendencia se expresa más notoriamente en los tres tratamientos. Otra condición que probablemente haya favorecido a una mejor adaptación de Saccharomyces cerevisiae en el Moromi de tarwi, podría ser a las buenas bondades nutricionales que presentan las semillas de esta leguminosa, que en muchos casos supera a las de soya y basul.

De otro lado en los resultados no reportamos el crecimiento de Zygosaccharomyces rouxii ATCC 26394, levadura que recién se tuvo a los 65 días de iniciada la fermentación, y que fue inoculado a los Moromis a los 75 días de fermentación, a una concentración de 1.8×10^5 cel./ml. con la única finalidad de reforzar la fermentación alcohólica en los Moromis.

Finalmente las esporas fúngicas, al transcurrir los días de fermentación, pierden viabilidad con tendencias a desaparecer por completo a los 78 días de fermentación en los tres tratamientos (Ver GRAFICA 4), esto probablemente por las condiciones desfavorables que

encuentra (excesiva humedad, salinidad alta, etc.).

III.7. REFINAMIENTO

Una vez realizada la última evaluación físico-química y microbiológica a los Moromis (78 días); se dejó transcurrir exactamente 30 días de fermentación adicional, con la única finalidad de mejorar el producto y permitir una mejor fermentación alcohólica (debemos recordar que se añadió un volumen de inóculo de Zygosaccharomyces rouxii ATCC 26394 a los 75 días de fermentación con la finalidad de reforzar el proceso).

Transcurrido los 108 días de fermentación procedimos a obtener el producto de cada fermentador, para lo cual los siyaos fueron prensados en tela doble de nanzú, la capa aceitosa fue separada del producto por decantación durante 12 horas, posteriormente fue pasteurizado a 75°C por 15 min.; al final del proceso el licor que inicialmente fue rojo oscuro pasó a un color marrón oscuro, con aroma y gusto característico, así como la existencia de abundante precipitado. Muchos investigadores relacionan el oscurecimiento del producto a la pasteurización, en tanto que la formación de precipitado al conjunto de componentes protéicos degradados incompletamente y sedimentados por coagulación (Beuchat, 1984; y Yong and Wood, 1974).

Una vez enfriado el producto pasteurizado, se adicionó clarificador alumbre (0.05 g./lt.), el precipitado se dejó asentar durante toda la noche, al día siguiente se filtró agregándose conservador químico al producto (benzoato de sodio 0.25 g./lt.). Al término

del refinamiento, el producto resultante fue totalmente cristalino.

Análisis microbiológicos y fisicoquímicos de las variables más importantes conforme a la Norma Técnica Nacional de Elaboración de Siyao (ITINTEC, 1984), fueron realizados en el producto acabado, cuyos resultados observamos en las TABLAS IX y X.

TABLA IX
ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LOS SIYAOS PRODUCIDOS
EN LA PRESENTE INVESTIGACION.

CARACTERÍSTICAS	SIYAOS			NORMA ex- ITINTEC
	BASUL	TARWI	SOYA	
Nitrógeno total	0.54	1.15	0.78	0.30-1.00 g%
Nitrógeno Amínico	0.23	0.54	0.40	0.15-0.80 g%
Rendimiento de Nitrógeno.	42.04	45.33	43.98	50.0-80.0 %
Azúcar (glucosa)	5.00	4.45	4.93	6.00-14.0 g%
Acidez(Ac.láctico)	1.65	2.15	2.19	2.00-4.00 g%
pH	4.00	4.00	4.00	4.00-4.90

Del análisis fisicoquímico desprendemos que efectivamente, un mayor tiempo de fermentación ayuda a mejorar la calidad de un producto. Así se tiene que luego de transcurrido los 30 días adicionales de fermentación, el Rendimiento de Nitrógeno se ha incrementado significativamente en relación a los resultados hallados hasta los 78 días de fermentación. La variable Rendimiento de Nitrógeno representa el parámetro más importante para determinar el índice de calidad de un siyao (ITINTEC, 1984), en tal sentido, representa la variable más importante por analizar, y que integra a parte del Nitrógeno total y Amínico, otras variables que proporcionan datos más reales sobre el siyao producido. La

TABLA IX nos muestra los valores hallados en esta variable para el basul 42.04%, tarwi 45.33% y soya 43.98%, que comparados a los valores normados por el ex-ITINTEC, se halla muy próximo a los rangos establecidos. En relación a las otras variables los resultados son muy alentadores, particularmente para el basul, pues en la mayoría de parámetros se halla dentro de los rangos aceptables que norma el ex-ITINTEC para el siyao, que sin duda hacen del basul una buena materia prima para la elaboración de este producto tal como lo son el tarwi y la soya. En cuanto al aroma, el producto obtenido del basul, resulta ser más sugestivo y agradable que los producidos por el tarwi y soya debido probablemente a su alto contenido en carbohidratos, que como se sabe son los responsables de proporcionar el aroma y sabor característico al siyao.

Para las tres materias primas y en las variables analizadas encontramos diferencias significativas en relación a los valores reportados a los 78 días de fermentación (Ver TABLAS XIII, XIV, XV, XVI, XVII y XVIII del Apéndice), estas diferencias probablemente se deba a que durante los 30 días adicionales se permitió una efectiva y mejor actividad metabólica por parte de los microorganismos responsables de la fermentación del Moromi, a esto debemos agregar que se añadió 300 ml. de inóculo de Zygosaccharomyces rouxii ATCC 26394, con la finalidad de reforzar la fermentación alcohólica, que indudablemente condujo a una mejora en el producto y en las variables analizadas.

TABLA X
ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE LOS SIYAOS PRODUCIDOS
EN LA PRESENTE INVESTIGACION.

ANALISIS MICROBIOLÓGICOS	BASUL	SIYAOS TARWI	SOYA	NORMA ex-INTINTEC
Lactobacillus y Leuconostoc	<10/ml	<10/ml	<10/ml	10 ³
Enterococos	<10/ml	<10/ml	<10/ml	10 ²
Hongos y Levaduras	<10/ml	<10/ml	<10/ml	10 ⁴

La TABLA X reporta los análisis microbiológicos realizados a los siyaos producidos. En todos los casos las pruebas de numeración de bacterias, hongos y levaduras dan resultados negativos, que demostraria el adecuado tratamiento térmico al que fueron sometidos los productos acabados y las condiciones de asépsia que se tuvieron en su elaboración.

CONCLUSIONES

1. Se ha logrado demostrar que la leguminosa arbórea nativa Erythrina edulis o "basul", constituye una materia prima de interés y potencialidad para la elaboración de un producto similar al siyao.
2. Del estudio botánico-taxonómico se desprende que el basul pertenece al Orden Rosales, Familia Leguminosae (Fabacea), Sub-Familia Papilionadas; planta que crece entre 900 a 3200 m.s.n.m., abundando en las zonas de San Miguel, Chincheros, y Andahuaylas a nivel Regional.
3. Al efectuarse el análisis Químico-Bromatológico se encontró que los granos de basul son fuentes tanto de proteínas como de carbohidratos, conteniendo 24.37% y 46.53%, respectivamente. Además las cenizas que son del orden del 6.63% contienen principalmente fósforo 325.12 mg.%, hierro 9.56

mg.% y calcio 8.89 mg.%. Tales granos contienen escasos lípidos del orden de 1.72%, poca fibra de 4.45% y agua 16.30%.

4. Al cabo de 108 días de fermentación, se consiguieron Rendimientos de Nitrógeno aceptables en los tres tratamientos, llegándose a un 42.04% en basul, 45.33% en tarwi y 43.98% en soya; valores que estuvieron en proporción directa al contenido inicial de proteínas en la materia prima.
5. Se consiguió introducir con éxito la levadura Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126 en la fermentación de salmuera, habiéndose adaptado previamente dicha cepa, en forma gradual, a las condiciones halofílicas requeridas para el proceso.

RECOMENDACIONES

1. Debido a que la proporción de carbohidratos es mayor en el basul, en comparación al tarwi y a la soya, sería importante ensayar mezclas leguminosa/trigo, no sólo en proporción de 1 : 1 sino principalmente en proporciones mayores, por ejemplo 2 : 1 a 5 : 1, con la finalidad de alcanzar mejores Rendimientos de Nitrógeno en la fermentación.
2. Realizar un estudio siguiendo la metodología empleada en la presente investigación, pero utilizando cepas nativas aisladas y seleccionadas ya sea en base a su capacidad amilásica, capacidad proteolítica, fermentación láctica o fermentación alcohólica.
3. Es limitado aún el conocimiento de las bondades que ofrece el basul, por ello sería recomendable realizar pruebas nutricionales para demostrar su

importancia dietaria. Particularmente sugerimos realizar ensayos de digestibilidad "in vitro" o "in vivo" de las proteínas en comparación al tarwi, soya y otras leguminosas Andinas. Podrían ser efectuados también análisis toxicológicos en los granos como una precaución.

R E S U M E N

El basul leguminosa arbórea que constituyó parte importante del régimen alimentario del Tahuantinsuyo, cuyo nombre científico corresponde a Erythrina edulis; hoy en día es un recurso natural vegetal protéico y energético casi olvidado; por ello es que ha merecido en el presente trabajo su revaloración e incorporación como materia prima para elaborar un producto similar al siyao, de amplio consumo popular.

La planta pertenece al Orden Rosales, Familia Leguminosae (Fabaceae), Sub-Familia Papilionacea. El Análisis Químico-Bromatológico revela altos contenidos de proteínas como de carbohidratos principalmente almidón, del orden de 24.37% y 46.53%, respectivamente. Además contiene minerales de importancia entre ellos calcio, hierro y fósforo.

Para el proceso de fermentación que permitió obtener

productos similares al siyao, se establecieron tres tratamientos a base de basul, tarwi y soya. La hidrólisis enzimática inicial de los granos pretratados se realizó con Aspergillus oryzae ATCC 20386 inoculado en forma de suspensión de esporas en solución de Tween 80 al 1%, a una concentración de 10^7 esporas/ml.. La fermentación en salmuera subsecuente, se realizó a una concentración de NaCl 18% p/v, por espacio de 108 días a 35°C, en recipientes de 10 lt. de volumen útil, habiéndose inoculado al tercer día de iniciada la fermentación con Pediococcus halophilus ATCC 21786 y Saccharomyces cerevisiae ATCC 4126, a razón del 5%; esta última cepa reportada por primera vez luego de un proceso de adaptación gradual a las condiciones halofílicas requeridas.

Las variables fisicoquímicas tales como: Nitrógeno total, Amino Nitrógeno, Azúcares Reductores, Acidez y pH, así como las variables microbiológicas fueron determinadas quincenalmente a lo largo de la fermentación; obteniéndose Rendimiento de Nitrógeno de 42.04% para basul, 45.33% para tarwi y 43.98% para soya.

Se ha demostrado que los granos de basul pueden ser utilizados en la elaboración de un producto similar al siyao, con características organolépticas aceptables.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. A.O.A.C. (1980). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 10mo. 3ra. Edic. U.S.A.
2. BANWART, G. (1981). Basic Food Microbiology, AVI. Pub. Com., U.S.A. Pp. 34 - 72.
3. BARRON, D. (1980). Botánica Sistemática de Fanerógamas, Universidad Nacional del Centro del Perú, 93 Pp.
4. BEUCHAT, L. (1984). Fermented Soy bean Foods, Food Technology. 38(6): 64 - 70.
5. BEUCAHT, L. (1983). Indigenous Fermented Foods in Biotechnology. Vol. 5, Biotransformativa Reed, G. (Volume Editor). Edit. Verlag Chemie, Weinheim, F.R.G., Pp. 479 - 490.
6. BEUCHAT, L. (1978). Tradicional Fermented Food products. Econ. Bot. 9, Pp. 224 - 253.
7. BRACK, A. (1981). Sistemas Agro Silvo Pastoriles e importancia de la Agroforestería en el Desarrollo de la Selva central, Ministerio de Agricultura, Proyecto Peruano-Alemán, en: "Desarrollo Sostenido de la Selva", documento técnico Nº 25, INADE Lima, 319 Pp.
8. BROCK, T.; SMITH, D. y MADIGAN, M. (1984). Microbiología, 4ta. edic. Prentice-Hall Hispanoamericana

S.A. México. 906 Pp.

9. BULLAN, O. (1985). Producción y Protección de Cultivos. Edit. Grafotécnica. Lima. Pp. 81 - 83.
10. CONCHA, T. y VELASCO, A. (1984). Avances del Estudio Bromatológico de la *Erythrina* sp., en "IV Jornada Peruana de Bromatología y Nutrición", Libro de Resúmenes, Huacho-Perú. 119 Pp.
11. CHAPMAN, H. y PRATT, P. (1979). Métodos de Análisis para Suelos, Plantas y Aguas. Edit. Trillas, México, 195 Pp.
12. DIFCO (1978). Manual de Bacteriología, Recopilación de Técnicas, Edit. Mirasa., S.L. Valdemoro - Madrid. 393 Pp.
13. ELEJALDE, C. (1985). Ensayo de Obtención de Salsa tipo Sillau en Lima. Tesis. U.N.A.L.M. Fac. Ind. Alim. Lima 59 Pp.
14. ENGELMANN, E. (1983). Actividades y Avances de los Proyectos Lupino y Cebada. Segunda Reunión de Coordinación Nacional de los Proyectos Lupino y Cebada, Pp. 27 - 29.
15. FERREYRA, R. (1986). Flora del Perú: Dicotiledoneae Ed. Sudamericana, Lima, 188 Pp.
16. FRAZIER, W. y WESTHOFF, D. (1985). Microbiología de los Alimentos, 3ra. edic. Edit. Acribia, Zaragoza - España, 552 Pp.
17. FRAZIER, W. (1981). Microbiología de los Alimentos, 2da. edic., Edit. Acribia, Zaragoza - España. Pp. 398 - 400.
18. FUKUSHIMA, D. (1979). Fermented Vegetable (Soybean) Protein and Related Foods of Japan and China, J. am. Chemist's Soc. 56(3): 357 - 362.
19. GERVAIS, P.; FASQUEL, J. and MOLIN, P. (1988) Water Relations of Fungal Spore Germination, Appl. Microbiol Biotechnol, 29: 586 - 592.
20. GUZMAN, B.; BLANCO, T. y AYALA, G. (1980). Nutrición, Tomo I, Datagraph, Lima, 280 Pp.
21. HANSEN, A. (1969). Microbiología de las Fermentaciones Industriales, 7ma. Edic., Edit. Acribia, Zaragoza - España, Pp. 222 - 441.
22. HURTADO, C. (1982). La Alimentación Popular Tradicional, en: "Anales del III Congreso Ibero-Americano de Medicina Rural". en (Alva, V. y Castillo O. Eds.). Pp. 255 - 261.

23. HASSELTINE, C. and WANG, H. (1978). Soy Beans: Chemistry and Technology, Vol. 1(11): Fermented Soy bean Food Products. The AVI. Pub. Com., INC, Westport, Conecticut, U.S.A. Pp. 389 - 419.
24. ITINTEC, (1984). Sillau, Sillao, Siyao o Siyao Requisitos. Norma Técnica Nacional. 209.227.
25. JUSCAMAITA, R. (1993). Producción de Amilasas y Proteasas de Aspergillus oryzae ATCC 20386 por Fermentación en Sustrato Sólido, para la optimización de la Elaboración de Siyao de "tarwi" (Lupinus mutabilis), Tesis, U.N.S.C.H., Ayacucho, Perú 43 Pp.
26. KIM, Z. and CHO, M. (1969). Studies on the Preparation of Improved Soy Sauce Kojis. Pp. 35 - 41.
27. KUNZ, B. (1983). Cultivo de Microorganismos para la Producción de alimentos. Obtención, Aplicaciones e Investigación. Edit. Acribia S.A.; Zaragoza - España; 125 Pp.
28. LEON, J. (1968). Fundamentos Botánicos de los Cultivos Tropicales, Ed. IICA, O.E.A.; San José, 487 Pp.
29. LESS, R. (1982). Análisis de los Alimentos. 2da. Edic. Edit. Acribia, Zaragoza - España.
30. MARTEL, A. (1989). Erythrina edulis Triana, especie de Gran Potencialidad para Asociaciones Agroforestales: Avances de su Propagación, Proyecto FAO/HOLANDA/DGFF, Industrial Papiros, Lima. 30 Pp.
31. MOSSEL, D. y QUEVEDO, F. (1967). Control Microbiológico de los Alimentos. U.N.M.S.M. Lima.
32. MUJICA, F. (1987). Obtención de Salsa tipo Siyao por Fermentación a partir de tarwi (Lupinus mutabilis) en Ayacucho, Tesis, U.N.S.C.H. Ayacucho-Perú, 87 Pp.
33. NAKADAI, T. and NASUNO, S. (1988). Culture Conditions os Aspergillus oryzae for Production of Enzyme Preparation. J. ferment. Technol. 66(5): 525 - 533.
34. NODA, F.; HAYASHI, K. and MIZUNUMA, T. (1982). Influence of pH on Inhibitory Activity of Acetic Acid in Osmophilic Yeast Used in Brine Fermentation of Soy Sauce. Appliend and Environmental Microbiology. 43(1): 245 - 246.
35. PEARSON, D. (1986). Técnicas de Laboratorio para análisis de Alimentos, Ed. Acribia, Zaragoza -

España, 331 Pp.

36. PEDERSON, C. (1979). Nutritious Fermented Foods of the Orient. 2da. Edic. AVI. Pub. Com. U.S.A.; Pp. 310 - 333.
37. POPENOE, H.; KING; LEON, J. and KALINOWSKI, L. (1989). Lost Crops of the Incas. (Bostin, Ed.), National Research Council Staff, Washington, D.C.; 415 Pp.
38. REYNEL, C. y LEON, J. (1990). Arboles y Arbustos Andinos para Agroforestería y Conservación de Suelos; Proyecto FAO/HOLANDA/DGFF, Industrial Papiros, Lima, 363 Pp.
39. SMITH, A. and CIRCLE, S. (1978). Soy beans: Chemistry and Technology, Vol. I, 2da. Edic. AVI. Pub. Com. U.S.A, Pp. 389 - 419.
40. TANIGUCHI, M. et. al. (1988). Rapid Production of Pediococcus halophilus Salt-Tolerant Cell by a Cultivation Method Employing Gradual Increase in NaCl Concentration Using a Fermentor With Micro-filtration Module. J. Ferment. Technol. 66(6) : 633 - 641.
41. VASQUEZ, J. (1983). El cultivo de Tarwi o Chocho en el Perú. Proyecto Lupinu. Lima. Pp. 17 - 89.
42. WANG, H. and HESSELTINE, W. (1982). Oriental Fermented Food in Prescott and Dunn's Industrial Microbiology. Reed (ed.) AVI. Pub. Com. 4ta. Edic. U.S.A Pp. 492 - 504.
43. WATANABE, Y. and TAKAKUWA, M. (1987). Change of Lipid Composition of Zygosaccharomyces rouxii after Transfer to High Sodium Chloride Culture Medium. J. Ferment. Technol. 65(4): 365 - 369.
44. YONG, F. and WOOD, B. (1974). Microbiology and Biochemistry of Soy Sauce Fermentation. Advances in Applied Microbiology. 17 : 157 - 193.
45. YOKOTSUKA, T. (1972). Some Recent Technological Problems related to the Quality of Japanese Shoyu. Proc. IV IFS: Ferment. Technol. today. 650 - 662.

A P E N D I C E

TABLA XI : ENSAYOS DE COCCION DEL BASUL, TARWI
Y SOYA.

TIEMPO Y PRESION MUESTRA	15 PSI X 15'	10 PSI X 30'	10 PSI X 45'
B A S U L	Opt Opt	Sob Sob	Exc Exc
T A R W I	Pob Pob	Ins Ins	Opt Opt
S O Y A	Pob Pob	Opt Opt	Sob Sob

LEYENDA :

Pob = Cocción Pobre
 Ins = Cocción Insuficiente
 Opt = Cocción Optima
 Sob = Sobrecocción
 Exc = Cocción Excesiva

TABLA XII : RECUENTO DE *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126
en Medio Harod's M40Y con 12% de NaCl.

TIEMPO Hrs.	LEVADURAS Cel/ml	LEVADURAS Log.
00	4.50×10^3	3.65
04	4.60×10^3	3.66
08	5.50×10^3	3.74
12	5.90×10^3	3.77
16	8.90×10^3	3.94
20	1.03×10^4	4.01
24	1.48×10^4	4.17
28	2.00×10^4	4.30
32	2.29×10^4	4.35
36	2.97×10^4	4.47
40	2.96×10^4	4.47
44	3.07×10^4	4.48
48	2.85×10^4	4.45
52	2.93×10^4	4.46
56	2.62×10^4	4.41

TABLA XIII : VARIABLE DEL NITROGENO TOTAL (s.x)
DURANTE LA FERMENTACION DEL MOROMI.

TIEMPO DIAS	BASUL		SOYA		TARWI	
	1	2	1	2	1	2
03	0.23	0.21	0.22	0.44	0.43	0.67
16	0.23	0.22	0.22	0.47	0.47	0.66
23	0.25	0.25	0.25	0.55	0.54	0.63
40	0.29	0.27	0.28	0.61	0.57	0.66
63	0.39	0.42	0.40	0.69	0.63	0.94
78	0.46	0.50	0.48	0.65	0.65	0.99

A N V A

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Prob.
Tiempo de Ferment.	5	0.14	0.027	20.24	**
Sustratos	2	0.87	0.436	325.67	**
Error	10	0.01	0.001		
TOTAL	17	1.02			

C. V. = 6.43%

TABLA XIV : VARIACION DEL NITROGENO AMINICO LIBRE
 (% ANL) DURANTE LA FERMENTACION DEL MOROMI.

TIEMPO DIAS	BASUL		SOYA		TARMI	
	1	2	1	2	1	2
03	0.11	0.10	0.21	0.20	0.25	0.25
10	0.13	0.13	0.29	0.29	0.40	0.38
23	0.12	0.12	0.27	0.27	0.50	0.30
40	0.13	0.12	0.27	0.29	0.36	0.31
63	0.11	0.15	0.34	0.31	0.42	0.38
70	0.13	0.13	0.28	0.25	0.37	0.40

A N V A

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Prob.
Tiempo de Ferment.	5	0.02	0.004	5.93	** *
Sustratos	2	0.13	0.075	119.64	** *
Error	10	0.01	0.001		
TOTAL	17	1.17			

C. V. = 10.23%

TABLA XV : VARIABLE DEL RENDIMIENTO DE NITROGENO
 X DURANTE LA FERMENTACION DEL MOROMI.

TIEMPO DIAS	BASUL		X	SOYA		X	TARWI	
	1	2		1	2		1	2
03	17.90	16.35	17.12	24.01	24.24	24.52	26.41	27.00
10	17.90	17.13	17.51	26.50	26.50	26.50	32.90	32.52
33	19.45	19.46	19.46	31.01	30.45	30.73	32.72	31.53
40	22.58	21.02	21.80	34.40	32.14	32.27	33.90	33.11
63	30.36	32.70	31.53	35.52	35.52	35.52	37.05	35.87
70	35.01	36.93	37.37	36.65	36.65	36.65	38.63	39.03

A N V A

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Prob.
Tiempo de Ferment.	5	463.07	92.614	10.59	** *
Sustratos	2	261.52	140.760	16.07	** *
Error	10	67.58	6.758		
TOTAL	17	832.16			

C. V. = 10.02%

TABLA XVII : VARIACION DE LA ACIDEZ (g.Ac. Lactico/100 ml.)
DURANTE LA FERMENTACION DEL MOROMI.

TIEMPO DIAS	BASUL		SOYA		TARMI	
	1	2	1	2	1	2
03	0.74	0.74	1.15	1.21	1.19	1.24
18	0.97	0.93	1.76	1.69	1.85	1.89
33	0.97	0.96	1.74	1.80	1.79	1.74
49	0.96	0.97	1.61	1.63	1.70	1.85
63	1.16	1.19	1.93	2.04	2.09	2.11
78	1.19	1.20	1.92	1.89	1.84	1.89

A N V A

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Prob.
Tiempo de Ferment.	5	0.85	0.169	19.56	** *
Sustratos	2	2.25	1.125	129.87	** *
Error	10	0.09	0.009		
TOTAL	17	3.18			

C. V. = 6.23%

TABLA XVIII: VARIACION DE PH DURANTE LA FERMENTACION DEL MOROMI

TIEMPO DIAS	BASUL		SOYA		TARWI	
	1	2	1	2	1	2
03	5.03	5.03	5.07	5.07	5.08	5.08
18	4.85	4.85	4.52	4.50	4.86	4.87
33	4.61	4.63	4.32	4.31	4.73	4.71
48	4.18	4.20	4.00	4.18	4.50	4.50
63	4.10	4.00	4.00	4.00	4.50	4.50
78	4.00	4.00	4.00	4.00	4.50	4.50

A N V A

Fuente	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Prob.
Tiempo de Ferment.	5	0.02	0.004	5.98	**
Sustratos	2	0.15	0.075	119.64	**
Error	10	0.01	0.001		
TOTAL	17	0.17			

C. V. = 10.23%

TABLA XIX : RECUENTO DE BACTERIAS, LEVADURAS Y ESPORAS
DURANTE EL TIEMPO DE FERMENTACION.

TIEMPO Dias	MOROMI Tratamiento	BACTERIAS Cel/ml	LEVADURAS Cel/ml	ESPORAS Cel/ml
03	B	2.65×10^6	8.50×10^1	1.04×10^6
	T	9.45×10^6	1.45×10^2	3.00×10^3
	S	1.19×10^8	8.00×10^1	5.20×10^4
18	B	1.95×10^6	7.50×10^1	2.90×10^3
	T	8.80×10^6	2.25×10^2	2.65×10^2
	S	1.18×10^7	2.00×10^2	1.75×10^3
33	B	1.96×10^6	8.50×10^1	1.65×10^2
	T	1.27×10^6	2.80×10^3	5.00×10^1
	S	1.61×10^7	1.25×10^2	4.00×10^1
48	R	1.86×10^5	1.20×10^3	5.50×10^1
	T	1.18×10^6	1.73×10^5	2.50×10^1
	S	1.54×10^6	2.25×10^3	1.50×10^1
63	B	1.50×10^5	4.35×10^3	2.50×10^1
	T	1.25×10^5	2.14×10^5	1.00×10^1
	S	1.35×10^6	7.50×10^3	3.00×10^1
78	B	1.27×10^4	7.00×10^3	- . -
	T	8.50×10^1	1.11×10^6	- . -
	S	1.17×10^3	1.85×10^5	1.00×10^1

LEYENDA : B = Basul
T = Tarwi
S = Soya