



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA
DE BEBIDAS FERMENTADAS DE LA PROVINCIA DEL
CARCHI**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

ADRIANA BELÉN PÁRAMO SUÁREZ

DIRECTORA: ING. NUBIA GRIJALVA

Quito, JULIO 2015

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2015

Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo **ADRIANA BELÉN PÁRAMO SUÁREZ**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Adriana Belén Páramo Suarez

C.I. 171962175-5

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título “**Caracterización Físico-Química y Microbiológica de las Principales Bebidas Fermentadas de la Provincia del Carchi**”, que, para aspirar al título de **Ingeniera de Alimentos** fue desarrollado por **Adriana Belén Páramo Suárez**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 18 y 25.

Ing. Nubia Grijalva

DIRECTORA DEL TRABAJO

C.I. 171766568-9

DEDICATORIA

A Dios, a quien le debo todo lo que me ha dado, por ser mi guía, darme la sabiduría para seguir en este camino y permitirme culminar una etapa más.

A mis padres, quienes siempre me han dado todo sin esperar nada a cambio, a quienes siempre me han apoyado, a quienes les debo todo lo que soy con su ejemplo de lucha cada día me han demostrado que los sueños se alcanzan sin importar cuan grandes sean y que la perseverancia, constancia y trabajo duro nos llevan a grandes cosas.

A mi hermano Christopher por apoyarme, ser mi cómplice, siempre estar a mi lado que la culminación de esta etapa sea el mejor ejemplo para que hagas cosas más grandes.

A mis abuelitos, por ser mis segundos padres, por siempre apoyarme, darme consejos, a quienes les debo la mejor y más bonita etapa de mi vida mi niñez que me enseñaron tanto y me dejan las enseñanzas más hermosas.

A mis Amigos, que son la segunda familia que todos tenemos gracias por tanto cariño, apoyo, locuras, y sobre todo siempre estar ahí.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Tecnológica Equinoccial, a la Facultad de Ciencias de la Ingeniería, a la Escuela de Ingeniería de Alimentos y a los profesores que me enseñaron con responsabilidad tanto la ciencia como sus valiosas experiencias.

Al Dr. Jorge Viteri, Ing. Rubén Amagua, Ing. Rosita Morales, Bioq. Teresa Guerrero, Ing. Víctor Carrión por su paciencia, consejos, sugerencias y por sobretodo su amistad.

A mi padre, por el esfuerzo de toda una vida, por todos los consejos, por apostarle a mi futuro y por demostrarme que todo en la vida es posible con mucho esfuerzo sin rendirse jamás; a mi madre, por las madrugadas, por las desveladas, por los enojos, por las preocupaciones, por saber entenderme, ser una súper mamá que logro muchas cosas siendo el mejor ejemplo de superación y acompañarme todos los días de mi vida.

A mi hermano Christopher, por ser el mejor hermano del mundo, por estar ahí siempre a mi lado, creer en mí, por ser mi ejemplo que todo el sacrificio que se hace en la vida lo vale.

A mis abuelitos que siempre me han apoyado, creyeron en mí, han sido el mejor ejemplo para seguir en esta lucha gracias por todos los consejos, el amor y principalmente estar a mi lado y consentirme con pequeñas cosas.

A mi tía Roció que a pesar de la distancia siempre ha estado pendiente de mí a mi lado dándome los mejores consejos, amor, virtudes y siempre el mejor ejemplo de lucha gracias tía por todo siendo como una segunda madre para mí.

A mi directora de tesis Ing. Nubia Grijalva por su amistad, sus buenos consejos, su paciencia, su profesionalismo demostrando que no solo se es un buen profesional sino que las mejores personas son las que transmiten los mejores y más lindos mensajes de vida.

A la Prefectura del Carchi por estar prestos por ayudarme en todo momento para realización de mi trabajo de tesis.

Finalmente a mis amigos con los que he compartido tantos buenos momentos y malos momentos. Andre Carrera gracias por todos estos años de amistad desde el cole por todo tu apoyo de tu parte y tus papis, Juanpi eres mi hermano con el que siempre cuento contigo infinitas gracias por todo, Alex Gordo por todas tus locuras ocurrencias y demás tu sabes que eres único, Andre Vaca por toda tu amistad incondicional y siempre estar ahí, Pauli Espín por compartir la mejor etapa gracias por tu amistad las locuras, los chistes, Manu Pozo qué más puedo decir un amigo siempre presto ayudar y ser incondicional eres único con tu genio y tu falta de paciencia, Mabe Garzón gracias osi de mi vida por estar pendiente en todo y tu amistad que vale oro, Salo Funes gracias ñaña por todo aunque cambiamos de rumbos siempre has sido mi amiga mi apoyo eres la mejor, Vicky Andrade infinitas gracias amiga por todo me acogiste en tu casa cuando lo necesitaba gracias a tu familia por todo, Pao Páez e Hipa Tapia chicas son las mejores en poco tiempo hemos formado la mejor amistad gracias por tantas risas, locuras y ayudarme siempre les llevo en mi corazón, Xavi Ríos gordo eres un buen amigo tu apoyo en este proceso fue lo mejor me ayudaste mucho, Consu y Cris solo decirles estuvieron en los momentos más difíciles gracias por su apoyo, Luis Marcelo mi primo quien siempre estar presto ayudarme.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1. PROVINCIA DEL CARCHI	4
2.1.1. DATOS INFORMATIVOS	4
2.1.2. GASTRONOMÍA Y CELEBRACIONES TÍPICAS	5
2.2. FERMENTACIÓN	7
2.2.1. CONCEPTO	7
2.2.2 TIPOS DE FERMENTACIONES	8
2.2.3 MICROORGANISMOS FERMENTADORES	14
2.3. BEBIDAS FERMENTADAS	15
2.3.1. BEBIDAS FERMENTADAS EN EL MUNDO	15
2.3.2. BEBIDAS FERMENTADAS EN EL ECUADOR	16
2.4. ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS DE LAS BEBIDAS FERMENTADAS	22
2.4.1 PESO ESPECÍFICO	22
2.4.2 GRADO ALCOHÓLICO	22
2.4.3 EXTRACTO SECO	23
2.4.4 ACIDEZ TOTAL	23
2.4.5 ACIDEZ FIJA	23

	PÁGINA
2.4.6 ACIDEZ VOLÁTIL	24
2.4.7 ÉSTERES	24
2.4.8 ALDEHÍDOS	25
2.4.9 METANOL	25
2.5 MICROBIOLOGÍA DE LAS BEBIDAS FERMENTADAS	26
2.5.1 MICROORGANISMOS INDICADORES	26
2.5.2 MICROORGANISMOS FERMENTADORES	28
2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
3. METODOLOGÍA	33
3.1. LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN	33
3.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	33
3.2.1 TOMA DE MUESTRA	33
3.2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	34
3.2.4 IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS	38
3.3. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	39
3.3.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	40
3.3.2 GRADO ALCOHÓLICO	40
3.3.3 ACIDEZ FIJA, VOLÁTIL Y TOTAL	41
3.3.4 EXTRACTO SECO	43
3.3.5 PESO ESPECÍFICO	43
3.3.6 ALDEHÍDOS	44
3.3.7 ÉSTERES	45
3.3.8 METANOL	46

	PÁGINA
3.3.9 pH	47
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	48
4.1. SELECCIÓN DE LAS PRINCIPALES BEBIDAS FERMENTADAS TRADICIONALES DE LA PROVINCIA DEL CARCHI	48
4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	52
4.2.1. CHICHA DE CHOCLO	52
4.2.2. GUARAPO	54
4.2.3. TARDÓN DE MIRA	55
4.3. LEVADURAS IDENTIFICADAS EN EL PROCESO FERMENTATIVO	58
4.4. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS	60
4.4.1 ACIDEZ TOTAL	60
4.4.2 ACIDEZ FIJA	61
4.4.3 ACIDEZ VOLÁTIL	61
4.4.4 EXTRACTO SECO	62
4.4.5 PESO ESPECÍFICO	63
4.4.6 ALDEHÍDOS	64
4.4.7 ÉSTERES	65
4.4.8 METANOL	66
4.4.9 GRADO ALCOHÓLICO	67
4.4.10 pH	68

	PÁGINA
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	71
5.1. CONCLUSIONES	71
5.2. RECOMENDACIONES	73
BIBLIOGRAFÍA	74
ANEXOS	85

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Principales Fiestas de la provincial del Carchi	6
Tabla 2. Especificaciones de la siembra en placa en profundidad	35
Tabla 3. Especificaciones Placas Petrifilm	36
Tabla 4. Interpretación Placas Petrifilm	37
Tabla 5. Análisis Físico-Químicos y Protocolos utilizados	39
Tabla 6. Bebidas Fermentadas de la Provincia del Carchi	51
Tabla 7. Resultados de los recuentos microbiológicos de la chicha de choclo	53
Tabla 8. Recuentos microbiológicos del guarapo	55
Tabla 9. Recuentos microbiológicos del tardón de mira	57
Tabla 10. Levaduras identificadas en las bebidas evaluadas que presentaron morfologías distintas	59
Tabla 11. Peso específico de las bebidas evaluadas	65

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Ubicación Geográfica de la provincia del Carchi	5
Figura 2. Proceso Fermentativo de la Cerveza	9
Figura 3. Ruta Metabólica para obtención de ácido láctico	10
Figura 4. Ruta Metabólica del genero <i>Clostridium spp.</i>	11
Figura 5. Oxidación de etanol en ácido acético	12
Figura 6. Proceso de Elaboración del Tardón de Mira	19
Figura 7. Proceso de Elaboración del Guarapo	20
Figura 8. Proceso de Elaboración de la Chicha de Choclo	22
Figura 9. Proceso de Elaboración de la Chicha de Choclo y Guarapo	50
Figura 10. Proceso de comercialización de las tres bebidas	52
Figura 11. Acidez total de las bebidas evaluadas	62
Figura 12. Acidez fija de las bebidas evaluadas	63
Figura 13. Acidez volátil de las bebidas evaluadas	64
Figura 14. Extracto seco de las bebidas evaluadas	65
Figura 15. Aldehídos de las bebidas evaluadas	67
Figura 16. Ésteres de las bebidas evaluadas	68
Figura 17. Grado alcohólico de las bebidas evaluadas	69
Figura 18. pH de las bebidas evaluadas	70

ÍNDICE DE ANEXOS

			PÁGINA
Anexo I.	Diferencias entre Bebidas	Recuentos	
	Microbianos Enterobacterias		86
Anexo II.	Diferencias entre Bebidas	Recuentos	
	Microbianos Coliformes		87
Anexo III.	Diferencias entre Bebidas	Recuentos	
	Microbianos Aerobios Mesófilos		88
Anexo IV.	Diferencias entre Bebidas	Recuentos	
	Microbianos Bacterias Ácido Lácticas		89
Anexo V.	Diferencias entre Bebidas	Recuentos	
	Microbianos Mohos y Levaduras		90
Anexo VI.	Tinción Simple de Levaduras		91
Anexo VII.	KIT API 20 C AUX para Levaduras		92
Anexo VIII.	KIT API 20 C AUX para Levaduras		93
Anexo IX.	Interpretación Resultados KIT API 20 C AUX para Levaduras		94
Anexo X.	Resultados de los Análisis Físico-Químicos Chicha de Choclo productor 1		95
Anexo XI.	Resultados de los Análisis Físico-Químicos Chicha de Choclo Productor 2		96

	PÁGINA
Anexo XII. Resultados de los Análisis Físico-Químicos del Guarapo Productor 1	97
Anexo XIII. Resultados de los Análisis Físico-Químicos del Guarapo Productor 2	98
Anexo XIV. Resultados de los Análisis Físico-Químicos del Tardón de Mira Productor 1	99
Anexo XV. Resultados de los Análisis Físico-Químicos del Tardón de Mira Productor 2	100

RESUMEN

La provincia del Carchi posee una gran diversidad tanto en flora y fauna, se considera una fuente importante de productos agrícolas para todo el Ecuador. Con el pasar del tiempo, el legado de sus raíces indígenas se ha ido perdiendo, solo la comunidad de los Awá, ubicada en un área protegida al noroccidente de Tulcán, aún conserva sus costumbres y tradiciones; la producción de bebidas fermentadas en la provincia es escasa. En esta investigación se realizó un levantamiento de información en cada uno de los cantones, por medio de entrevistas directas a los productores y búsqueda bibliográfica; se seleccionaron como las tres bebidas más representativas las siguientes: Chicha de Choclo, Guarapo y Tardón Mireño. Se tomaron muestras de las bebidas fermentadas de dos productores diferentes en tres lotes de producción; para los análisis microbiológicos se realizaron recuentos de Enterobacterias, Coliformes, Aerobios Mesófilos, Bacterias Ácido Lácticas, Mohos y Levaduras. En las tres bebidas no se encontraron resultados similares para los recuentos microbiológicos, pero si se presentaron para todas ellas, en varios indicadores, diferencias significativas entre lotes y productores lo que refleja la falta de estandarización de procesos y errores en la elaboración del producto. Se encontraron valores altos en la Chicha de Choclo y Guarapo para los recuentos Enterobacterias y Coliformes que se atribuye a la elaboración de estas bebidas artesanal de las mismas, en el Tardón Mireño se reportó una baja cantidad de Bacterias Ácido Lácticas y levaduras. Se evaluaron además los siguientes parámetros físico-químicos: acidez total, acidez fija y volátil, extracto seco, peso específico, ésteres, aldehídos, metanol y pH. Los valores más altos de ésteres y aldehídos se reportaron en la Chicha de Choclo y el Guarapo que sobrepasaron los valores establecidos en las normas y en otros estudios similares, no se detectó presencia de metanol en ninguna de ellas. En relación a la acidez fija, volátil y total existió variabilidad entre bebidas en función del tipo de sustrato y tiempo de fermentación; el Tardón Mireño presento un mayor grado alcohólico 25°

GL ya que es una bebida a la que se le adiciona aguardiente. Las tres bebidas analizadas son distintas tanto en la materia prima que se usa así como el proceso de elaboración, esto se vio reflejado en los resultados reportados; se requiere mejorar y estandarizar el proceso de elaboración de las mismas.

ABSTRACT

Carchi Province has a great diversity in both flora and fauna; it is considered a major source of agricultural products for all Ecuador. With the passage of time, the legacy of its indigenous roots has been mostly lost; only the Awa community, located in a protected area in the northwest of Tulcán, still retains its customs and traditions. The production of fermented beverages in this province is scarce. In this investigation, information was gathered on each of the cantons by means of direct interviews with the producers and bibliographic search. The following were selected as the three most representative beverages: Chicha de Choclo (Corn Chicha), Guarapo, and Tardón Mireño. Samples of the fermented drinks were taken from two different producers in three production batches; for the microbiological analyses, counts of Enterobacteriaceae, coliforms, mesophilic aerobic bacteria, lactic acid bacteria, molds, and yeasts were made. Different results of the microbiological counts were found in the three drinks, but all of them did show, in various indicators, significant differences between batches and producers, which reflects the lack of standardization in the process and errors in product development. In the Chicha de Choclo and Guarapo, high values of Enterobacteriaceae and coliforms were found, attributed to the selfsame manufacture of these artisanal beverages. The Tardón Mireño showed a low quantity of lactic acid bacteria and yeast. The following physicochemical parameters were also evaluated: total acidity, fixed and volatile acidity, dry extract, specific weight, esters, aldehydes, methanol, and pH. The highest values of esters and aldehydes were reported in the Chicha de Choclo and Guarapo, which exceeded the values established in the regulations and in other similar studies. The presence of methanol was not detected in any of the beverages. Regarding the fixed, volatile, and total acidity, there was variability between the drinks depending on substrate time and fermentation time; the Tardón Mireño presented a higher alcohol content, 25° GL, since it is a drink to which alcohol is added. The three beverages analyzed are different both in

the raw material used as well as in the manufacturing process, a difference which was reflected in the reported results; the production process requires improvement and standardization.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Ecuador es considerado un país multiétnico debido a la presencia de varios grupos de nacionalidades y pueblos que mantienen sus rasgos culturales. Estos se caracterizan por poseer una cultura inicial y conservar su lengua, vestimenta, actividades de producción y, lo más importante, su territorio ancestral. Las fiestas indígenas conservan sus propias tradiciones y cosmovisión, que datan desde tiempos antiguos antes de la llegada de los españoles. Actualmente, es muy común encontrar en las fiestas indígenas una mezcla de personajes y de manifestaciones que responden a la aculturación de que fueron sujetos nuestros antepasados (CODENPE, 2008).

La migración de los pueblos y la adopción de nuevas costumbres influenciadas por el desarrollo urbano, son la causa del decrecimiento de las prácticas culturales y culinarias, tradiciones y fiestas, dando lugar a un creciente desinterés e indiferencia por parte de las nuevas generaciones (Prefectura del Carchi, 2014).

La fermentación es un proceso catabólico (que es el rompimiento de compuestos complejos a compuesto simples), y oxidativo (es el intercambio de electrones) en el cual se obtiene un compuesto orgánico. El producto final va depender según el sustrato (Serrano, 2008). La fermentación alcohólica o etílica es un proceso biológico de fermentación en ausencia de oxígeno, originado por la actividad de ciertos microorganismos que procesan azúcares: como por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc. para obtener como productos finales un alcohol en forma de etanol, y dióxido de carbono (Grupo García Carrión, 2014).

Las bebidas fermentadas derivan de algunos cereales, como: maíz, arroz y algunas raíces; y otras de manera artesanal son una parte fundamental de la gastronomía de los países de Latinoamérica. Por esta razón debemos identificar a los microorganismos que alteran estas bebidas. Los

microorganismos que encontramos en estas bebidas son alterantes y fermentativos, los microorganismos alterantes (aerobios mesófilos, coliformes, enterobacterias) a los cuales con mayor frecuencia se les atribuye una contaminación: de utensilios, materia prima y la falta de aseo que tienen las personas que elaboran estas bebidas; los microorganismos fermentativos (bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras) son los encargados de realizar los procesos fermentativos e influir en los mismos (Keith, 2003).

La evaluación y composición físico-química es muy importante en este tipo de bebidas ya que en los procesos fermentativos obtenemos como resultado diferentes compuestos que influyen directamente en estas, los cuales les confieren un sabor y aroma característico; por lo tanto estos factores están relacionados directamente con la calidad e inocuidad (Potter, 2005).

En el Ecuador existen pocos estudios de bebidas fermentadas tradicionales y tampoco existen normas en las cuales se establezcan valores de referencia para parámetros microbiológicos y físico-químicos de análisis; por esta razón se elaboró este estudio.

Se planteó el siguiente objetivo general que es caracterizar físico-química y microbiológicamente las principales bebidas fermentadas de la provincia del Carchi.

Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Realizar el levantamiento de información para determinar las bebidas fermentadas más representativas de la provincia del Carchi.
- Determinar las características físico-químicas de las tres bebidas fermentadas más representativas de la provincia del Carchi.

- Determinar las características microbiológicas de las tres bebidas fermentadas más representativas de la provincia del Carchi.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1. PROVINCIA DEL CARCHI

2.1.1. DATOS INFORMATIVOS

2.1.1.1. Ubicación geográfica

La Provincia del Carchi se encuentra ubicada en el extremo norte del callejón interandino; el relieve del terreno es irregular y montañoso, esta provincia se difunde entre los nudos de Pasto hacia el norte, al sur y en parte del Valle del Chota, al Norte limita con Colombia; al Oeste con la Provincia de Ibarra; al Este con la Provincia de Sucumbíos y al Oeste con la Provincia de Esmeraldas como se puede observar en la Figura 1 (Prefectura del Carchi, 2014).



Figura 1. Ubicación Geográfica de la Provincia del Carchi

Tiene una extensión de 3 604,33 km² está formada por seis cantones que se caracterizan por su fauna y flora en los cuales se puede encontrar volcanes, nevados, bosques y valles; la Reserva Étnico Forestal Awá fue declarada en

1998 como Área Natural Protegida que se encuentra en la parte noroccidente de Tulcán (Ministerio de Turismo, 2013).

A lo largo de la Provincia se pueden encontrar tres sectores importantes:

Sectores blanco – mestizos: Asentados principalmente en las áreas urbanas de Tulcán y cabeceras parroquiales. Mantienen algunas tradiciones desde la Colonia y República, especialmente en leyendas, coplas populares, gastronomía, música y bailes. **Sectores indo – mestizos:** Ubicados mayoritariamente en los espacios rurales, mantienen aún rasgos expresivos de la matriz cultural indígena, especialmente en las parroquias de Maldonado, Chical y Tobar Donoso. **La Cultura Negra:** existe una colonia afroecuatoriana que convive con grupos de colonos en la zona de Tobar Donoso y el Valle del Chota (Ministerio de Turismo, 2013).

2.1.2. GASTRONOMÍA Y CELEBRACIONES TÍPICAS

En todas las fiestas se realizaran las denominadas vísperas, se nombran priostes y se realizan bailes de máscaras, que constituyen una nueva oportunidad de lucir personajes como los Mayores y Menores de Mira y los enmascarados como los Corazas del Cantón Espejo y los negritos del Cantón Tulcán (Almeida, 2006).

En estas festividades sobresale el folclore propio de cada sector generalmente se ingiere aguardiente o el Tardón. En la Tabla 1 se detalla las fiestas más importantes que se realizan (E. Norte, 2012).

Tabla 1. Principales Fiestas de la Provincia del Carchi

Festividad	Cantón	Fecha
Virgen de la Caridad o Chamizuda	Mira	2 de Febrero
Fiestas Religiosas de la Purita	Huaca	2 y 3 de Febrero
Fiestas del Señor de la Buena Esperanza	Bolívar	Primer Domingo de Mayo
San Isidro Labrador	San Isidro	15 de Mayo
Corpus Cristi	Toda la Provincia	28 de Mayo
Fiestas de San Pedro	Montufar	29 de Junio
Fiestas de San Pablo	San Gabriel	30 de Junio
Fiestas de Nuestra Señora de la Paz	Bolívar	16 de Julio
Fiestas de la Virgen del Carmen	Tulcán	16 de Julio
Virgen del Transito	Espejo	15 de Agosto
San Bartolomé		22 de Agosto
Fiestas de la Virgen de Urbina	Tulcán	Mes de Septiembre
Virgen del Rosario	Huaca	8 de Octubre
San Rafael	Toda la Provincia	20 de Octubre
Jesús del Gran Poder	Espejo	15 de Diciembre

(Guía Turística Región Sierra Norte, 2005)

La gastronomía de la Provincia del Carchi se distingue de las otras provincias del Ecuador ya que tiene una mezcla con la comida de Colombia, pues al encontrarse en una zona fronteriza con este país sus estilos de vida cambian y se mezclan las costumbres (Prefectura del Carchi, 2014).

Entre los platos típicos que podemos encontrar tenemos: champús, arroz de cebada, cuy asado, queso amasado, hornado pastuso, las paspas, papas con cuero de chanco, tapadas de papa, tortillas de papa con fritada entre otras (Naranjo, 2005).

2.2. FERMENTACIÓN

2.2.1. CONCEPTO

La fermentación es la transformación de una sustancia orgánica (generalmente un carbohidrato) en otra disponible, que se realiza mediante un proceso metabólico de microorganismo o mediante enzimas que producen reacciones de óxido-reducción, de las cuales el organismo productor origina energía suficiente para su asimilación. Las fermentaciones pueden ser anaeróbicas, si se producen fuera del contacto con el aire, o aeróbicas, que dan lugar a la presencia de oxígeno (Lucas, 2009).

Según Gerard, Tortora, Funke (2007), se conoce como fermentación a cualquier proceso microbiano a gran escala en condiciones aerobias y anaerobias utilizado para obtener y controlar los productos que se desean en procesos industriales. La fermentación se define como el proceso de oxidación que conlleva la combustión de un sustrato orgánico, en ausencia de oxígeno, con la liberación de electrones e hidrógeno, capaces de reducir una molécula orgánica (Hernandez, 2008).

Los procesos fermentativos son influenciados por factores ambientales, fisicoquímicos y biológicos, tales como la concentración de sustrato y biomasa, pH, temperatura, oxígeno disueltos e inhibidores del crecimiento (Garcia, 2004).

En un proceso fermentativo es deseable maximizar la producción de algunos metabolitos de interés; sin embargo, sin el adecuado conocimiento del proceso, es prácticamente imposible alcanzar el objetivo deseado (Potter, 2007). En la Figura 2 se puede observar el proceso general de elaboración de cerveza, una bebida fermentada difundida a nivel mundial.

La fermentación es la transformación de una sustancia orgánica (generalmente un carbohidrato) en otra utilizable, producida mediante un proceso metabólico de microorganismos o por enzimas que provocan

reacciones de óxido-reducción, de las cuales el organismo productor deriva la energía suficiente para su metabolismo. Las fermentaciones pueden ser anaeróbicas, si se producen fuera del contacto con el aire, o aeróbicas, que solo tienen lugar en presencia de oxígeno (Lucas, 2009).

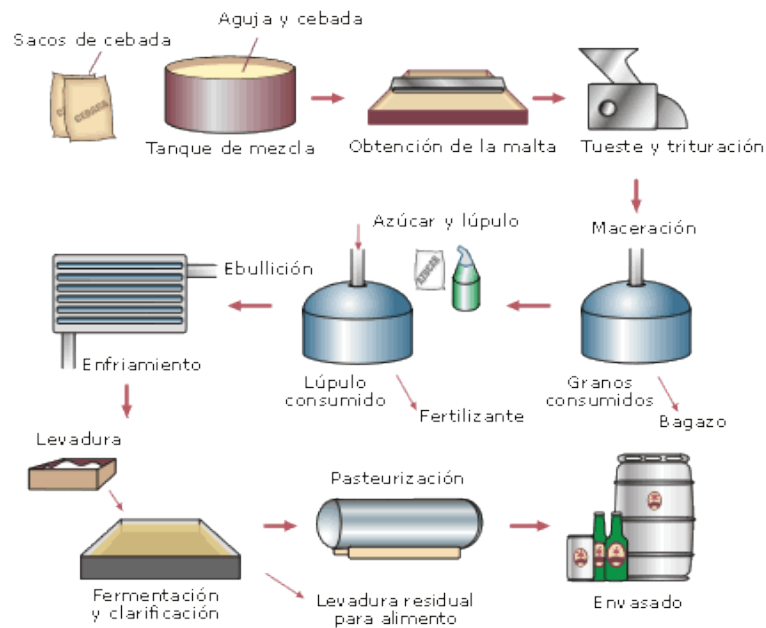


Figura 2. Proceso Fermentativo de la Cerveza

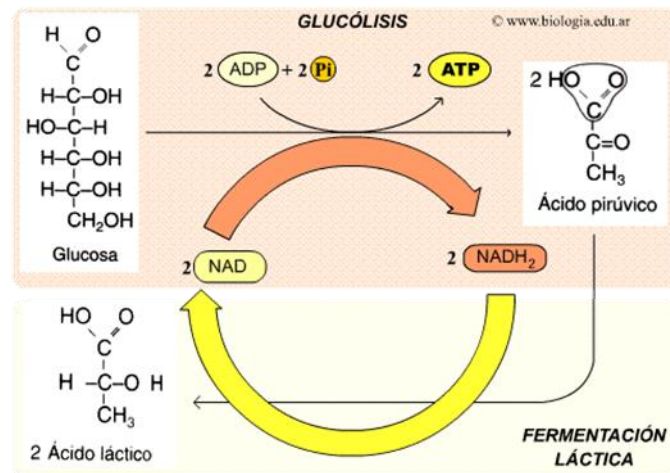
(García, 2004)

2.2.2 TIPOS DE FERMENTACIONES

2.2.2.1 FERMENTACIÓN LÁCTICA

Es la vía metabólica en la cual se obtiene ácido láctico como se muestra en la Figura 3 la obtención de ácido láctico. El proceso consiste en la oxidación de una parte de la glucosa contenida en el citosol de la célula para lograr la producción de energía. A diferencia de la fermentación butírica, se la puede

realizar con más de un tipo de bacterias, siempre y cuando cumplan con las condiciones fundamentales de pertenecer al grupo de las bacterias lácticas. Pero además, puede producirse por otros tipos de microorganismos como: hongos y protozoos; pero también en los tejidos humanos y animales, como por ejemplo en los músculos (Noriega, 2004).



ADP: Adenosin Difosfato, **ATP:** Adenosin Trifosfato, **NAD:** Dinucleótido de Nicotinamida Adenina, **NADH:** Dinucleótido de Nicotinamida Adenina Deshidrogenasa

Figura 3. Ruta Metabólica para obtención de ácido láctico

(Noriega, 2004)

2.2.2.2 FERMENTACIÓN BUTÍRICA

Se produce únicamente en ausencia de oxígeno. Se trata de un proceso por el cual se transforman los glúcidos, específicamente la lactosa, en ácido butírico se observa en la Figura 4 la ruta metabólica del genero *Clostridium spp.* A su vez, puede encontrarse también como resultado de este proceso la formación de dióxido de carbono. Los microorganismos encargados de esta transformación son bacterias pertenecientes al género *Clostridium spp.*, y

dentro de este la variedad *Clostridium butyricum*. Este proceso es fácilmente reconocible dada la aparición inmediata de olores característicos fuertes y repulsivos (Gerard, 2007).

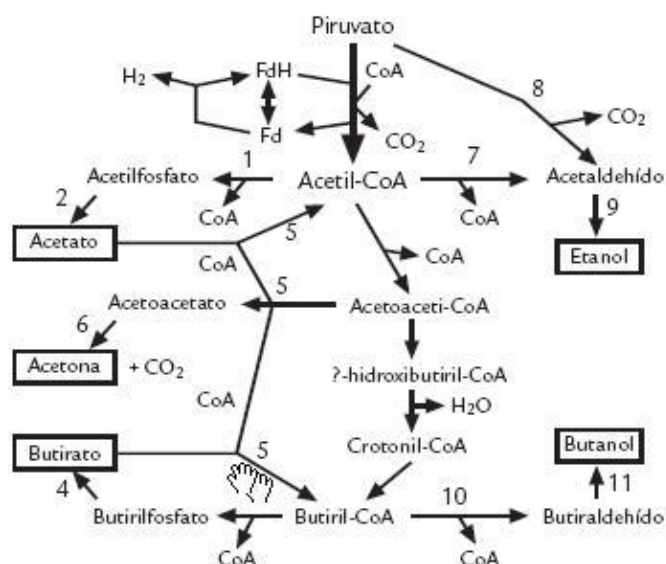


Figura 1. Enzimas involucradas en la producción de solventes de *Clostridium* incluidas en la base de datos. 1. Fosfotransacetilasa 2. Acetato kinasa 3. Fosfotransbutirilasa. 4. Butirato kinasa. 5. Acetoacetil:acil CoA transferasa. 6. Acetoacetato descarboxilasa 7. Acetaldehído deshidrogenasa. 8. Piruvato descarboxilasa. 9. Alcohol deshidrogenasa. 10. Butiraldehído deshidrogenasa. 11. Butanol deshidrogenasa.

Figura 4. Ruta metabólica del genero *Clostridium* spp

(Gerard, 2007)

2.2.2.3 FERMENTACIÓN ACÉTICA

Se realiza mediante bacterias del género *Acetobacter* un género de bacterias aeróbicas, por la existencia de oxígeno. Estas bacterias transforman el etanol (frecuentemente el vino). Por lo que producen agua y ácido acético, un exceso de oxígeno se produce vinagre (Johnson, 2006). En la Figura 5 se observa la oxidación de etanol en ácido acético.

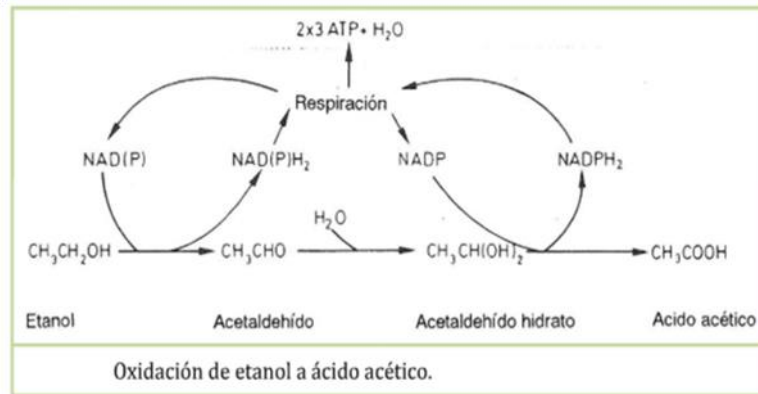


Figura 5. Oxidación de etanol en ácido acético

(Johnson, 2006)

2.2.2.4 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

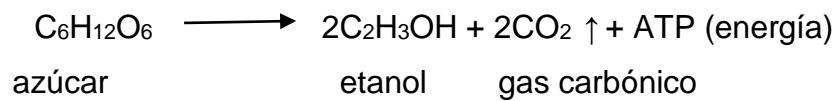
Es un proceso conocido desde la antigüedad, y en la actualidad se considera un proceso industrial único que provee alcohol etílico en todos los países; siendo un conjunto de transformaciones bioquímicas que se realizan en un medio anaerobio, por lo tanto los azúcares presentes en el mosto se transforman en alcohol etílico (J. García, 2008).

De acuerdo M. Vicent, Álvarez, y Zaragoza (2006), el proceso de fermentación dura aproximadamente, una semana a una temperatura de 20 °C, y se traduce por una disminución del mosto. En la fermentación alcohólica el oxígeno en pequeñas dosis juega un papel importante ya que gracias a este es posible la transformación del mosto azucarado en dióxido de carbono y etanol. Gracias a las levaduras que se encuentran en el mosto, se transforman los azúcares.

En la fermentación alcohólica, la descomposición de la glucosa en alcohol etílico y dióxido de carbono se desprenden tan solo un 7.33 % y se observa que este rendimiento es muy bajo desde el punto de vista energético (Adams, 2005; M. Vicent *et al.*, 2006).

Esta fermentación la realizan las levaduras, hongos y bacterias en ausencia de oxígeno. Mediante la degradación de un azúcar, se obtiene ATP (Adenosin Trifosfato) y generan dos moléculas de etanol y dos de CO₂ como se muestra en la Ecuación [1]. Una de las levaduras fermentadoras más conocidas es la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la principal fermentadora de vino, cerveza y pan (Bamforth, 2005).

[1]



2.2.2.4.1 CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS NECESARIAS PARA LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Las condiciones para obtener fermentación alcohólica son la aireación, temperatura, presión, pH y radiación:

Aireación: las levaduras necesitan oxígeno para multiplicarse. La rapidez con la que inicie la fermentación depende de las condiciones de aireación. Generalmente con trabajos previos realizados a la fermentación (estrujado, despallado, bombeo, y otros), se asegura una primera aireación útil. Se garantiza un mejor proceso por contacto continuo con el aire, por la operación de remontado. Para evitar la disminución de la fermentación por asfixia en levaduras se necesita airear cuando se manipula un depósito cerrado y cuanto más sea el contenido de azúcar en ciertas cosechas como en las uvas (Barreiro, 2006; Bravo, 2004).

Temperatura: la temperatura es un factor importante para la vida de las levaduras, no tienen un buen desarrollo a escalas de temperaturas relativamente cortas, hasta 30 °C como máximo y mínimo de 13 o 14 °C. La temperatura crítica de la fermentación es el grado al cual las levaduras no se reproducen y mueren, siendo un proceso lento y deteniendo la fermentación.

No se puede decir cuál será el límite exacto, sin embargo, es posible indicar una zona peligrosa que depende de la aireación, la riqueza del mosto, los factores nutritivos de las levaduras y la naturaleza de las mismas. En regiones templadas, la temperatura crítica, generalmente, es de 32 °C; en regiones más cálidas puede ser un poco más alta. Esto no significa que cuando un depósito alcance estas temperaturas su fermentación se vea comprometida y forzosamente, no se realice, pero que existe peligro de detención y que se debe intervenir para evitar este riesgo (Farrás, 2002; Frazier, 1995).

Presión: la presión hidrostática y la generada por el CO₂ se producen interiormente en la fermentación y causan estrés, en especial en fermentadores de gran altura. La toxicidad del alcohol se incrementa en estos casos y se producen desvíos organolépticos (Lachance, 1995; O`kennedy, 2008).

pH: la mayoría de las cepas existentes de levaduras son medianamente acidófilas, desarrollándose en valores de pH que están entre 4,0 y 6,5. En algunos casos suelen producirse fermentaciones alcohólicas por debajo de estos valores indicados para controlar una contaminación de bacterias patógenas. Sin embargo, se produce una caída en el rendimiento fermentativo originando pérdidas económicas. El grado de impacto depende de la cepa y otros metabolitos, que incrementan su efecto tóxico a un pH muy bajo (Cedeño, 2003; Tequila, 2004).

Radiación: se observa que radiaciones luminosas estimulan la actividad de las levaduras y que ayudan en el aumento de la energía fermentativa cuyos valores son de 1.0 en la oscuridad hasta 1.1 a 2.8 con luz roja; las radiaciones ultravioletas (UV) aplicadas en corto tiempo son letales para las levaduras (Ibarza, Barboza, Garza, & Gimeno, 2000).

2.2.3 MICROORGANISMOS FERMENTADORES

Los microorganismos son los causantes de la fermentación para cualquier producto, pueden ser bacterias, mohos, levaduras y una combinación de los mismos (Aidoo, 2006).

De acuerdo a la demanda de oxígeno para el crecimiento del microorganismo, se los clasifica de la siguiente manera:

Aerobios: únicamente metabolizan y crecen en presencia de oxígeno atmosférico.

Anaerobios: no sólo metabolizan y crecen en ausencia de oxígeno, sino que necesitan que se elimine ya que es perjudicial.

Facultativos: son capaces de cambiar su metabolismo, de aerobio a anaerobio, dependiendo del ambiente donde se encuentren.

Industrialmente los microorganismos se aprecian como cultivos y poseen las siguientes funciones:

- Producción de ácido láctico por fermentación de la lactosa: Este ácido transmite un sabor ácido y agradable (Guzmán, 2010).
- Producción de compuestos volátiles los cuales contribuyen al sabor de los productos: En el caso específico del maíz se produce diacetilo, ácido butírico y ácido láctico por lacto bacterias a partir del almidón (Escamilla, 2000).
- La acidificación de los productos evitan el crecimiento de patógenos y de microorganismos que descomponen el producto, así como la producción de bacteriocinas que inhiben el crecimiento de las bacterias Gram (+) y Gram (-) (Mollendorff, 2006).
- La formación de otros productos como alcohol, en algunas bebidas se encuentran mínimas cantidades y en otras encontramos máximas cantidades (Klinberg, 2005).

2.3. BEBIDAS FERMENTADAS

2.3.1. BEBIDAS FERMENTADAS EN EL MUNDO

Desde la antigüedad el hombre se dedicó a elaborar alimentos mediante procesos fermentativos, obteniendo una infinidad de productos como: el pan, queso, yogurt, entre otros. Mediante la fermentación de ciertos cereales se han obtenido una variedad de bebidas fermentadas como el saque en Asia, cervezas en Europa y en América chichas y aguardientes (Long, 2003).

Las bebidas fermentadas tienen origen en las culturas clásicas mediterráneas. Algunos expertos afirman que nacieron al mismo tiempo que la agricultura, probablemente se descubrieron por fermentación espontánea y casual de algunos granos húmedos como: cebada, trigo, uvas, dátiles (Rodríguez, 2008).

En la Edad Media las bebidas fermentadas ya eran consideradas alimentos, y se ofrecían como reconstituyentes de enfermos en hospitales y conventos. En esa época, en la que la seguridad microbiológica del agua no era fiable, el consumo de bebidas fermentadas permitía una hidratación y alimentación más seguras. La razón se debe al propio proceso fermentativo, durante el cual los microorganismos, producían sustancias con poder antimicrobiano (Sánchez, 2010).

Las bebidas fermentadas, se han investigado desde la época colonial hasta nuestros días. Al inicio, se centraron en aspectos, historiográficos, antropológicos, étnicos, sociales y médicos; posteriormente incluyeron la química y microbiología de estos productos (Herrera, 1993; Lozano, 1997).

Trabajos más recientes, abordan el estudio de las bebidas y alimentos fermentados bajo una perspectiva interdisciplinaria, integrando el conocimiento étnico, microbiológico y químico (J. García, 2008).

Algunas bebidas tradicionales han trascendido en el tiempo y espacio y continúan siendo objeto de estudio por su importancia socioeconómica e industrial (Bamforth, 2005).

2.3.2. BEBIDAS FERMENTADAS EN EL ECUADOR

En la actualidad en el Ecuador se tiene mayor conocimiento en relación a platos típicos pero en muy pocas ocasiones se mencionan las bebidas tradicionales (E. Norte, 2012).

En cada región y provincia ecuatoriana podemos encontrar un significativo corpus de prácticas culturales en torno a la actividad alimentaria, según sus matrices históricas particulares, el piso ecológico al que pertenece, su producción agrícola y tradición popular (Prefectura del Carchi, 2014).

Las bebidas fermentadas más representativas que podemos encontrar son las realizadas con maíz que es conocida como la chicha, el chaguarmishqui, el guarapo y los aguardientes. Las más conocidas que podemos mencionar son: la chica de jora, chica de yuca, chica de avena, puntas que se elaboran en la mayoría de provincias (Naranjo, 2005).

Sin embargo, la industria de alimentos no ha podido explotar estas cualidades, perdiendo la capacidad nutricional de las bebidas, sobre todo las que contienen compuestos fenólicos como los que otorga el maíz, que cuenta con propiedades farmacológicas con efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios; además de ser poderosos antioxidantes (Escamilla, 2000).

2.3.2.1 TARDÓN DE MIRA

El “Tardón Mireño” es una bebida tradicional de Mira, el mismo que es brindado en ocasiones especiales y fiestas. Su principal ingrediente es la naranja, cuando Mira era una parroquia eran regalados los ingredientes por los hacendados de ese entonces, el azúcar y el aguardiente puro de caña se traían de Ibarra (Naranjo, 2005).

Esta bebida de color amarillo, contiene jugo de naranja, aguardiente y azúcar, al jugo se le añade azúcar hasta que este almíbar, una vez mezclado se agrega las puntas en partes iguales y los ingredientes secretos que no se revelan, como una forma de mantener intacta la tradición. De acuerdo a los historiadores, el nombre de “Tardón Mireño” nació con la llegada de un sacerdote jesuita por las fiestas de la Virgen, se embriagó y desapareció por tres días. Al regresar a Quito, el religioso explicó que “el tardón” se debió a que le brindaron una bebida y desde entonces se la conoce así (Norte, 2013).

Tiene 8 °GL de alcohol y la presentación es en botellas de cristal de 750 cm³. El sabor es agradable dulce y fuerte al mismo tiempo (A. Sanchez, 2008). En la Figura 6 se muestra el diagrama de flujo de esta bebida.

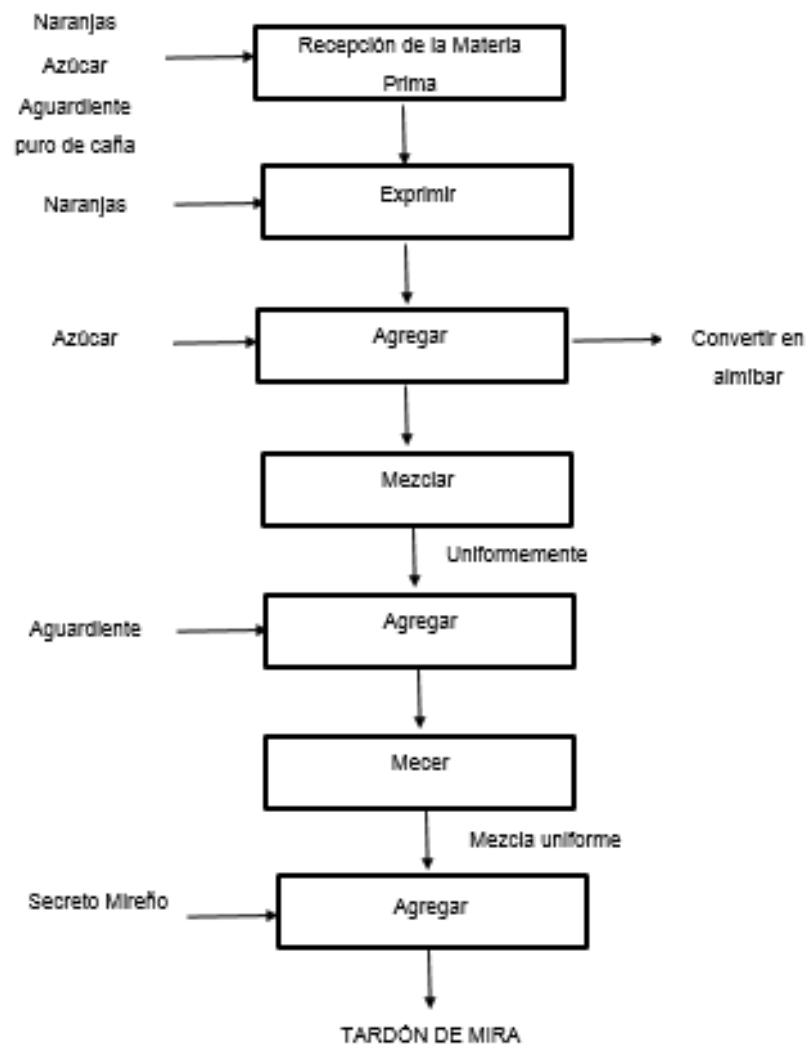


Figura 6. Proceso de Elaboración del Tardón de Mira

(Norte, 2013)

2.3.2.2 GUARAPO

El guarapo es una bebida de agradable sabor y características nutricionales extraordinarias, que se extrae de la caña luego de exhibirlo a un trapiche, por un tiempo determinado para su fermentación (Arenillas, 2009).

Posee un elevado contenido en azúcares, proteínas y calorías, siendo una bebida energizante; el índice de sacarosa depende de la variedad de caña utilizada y de su maduración (Subero, 2007) .Debido a una enorme producción a nivel nacional de caña de azúcar y la mayoría se encuentra a nivel de la parte costera, se puede elaborar esta bebida. El proceso se describe en la Figura 7 (Telégrafo, 2013).

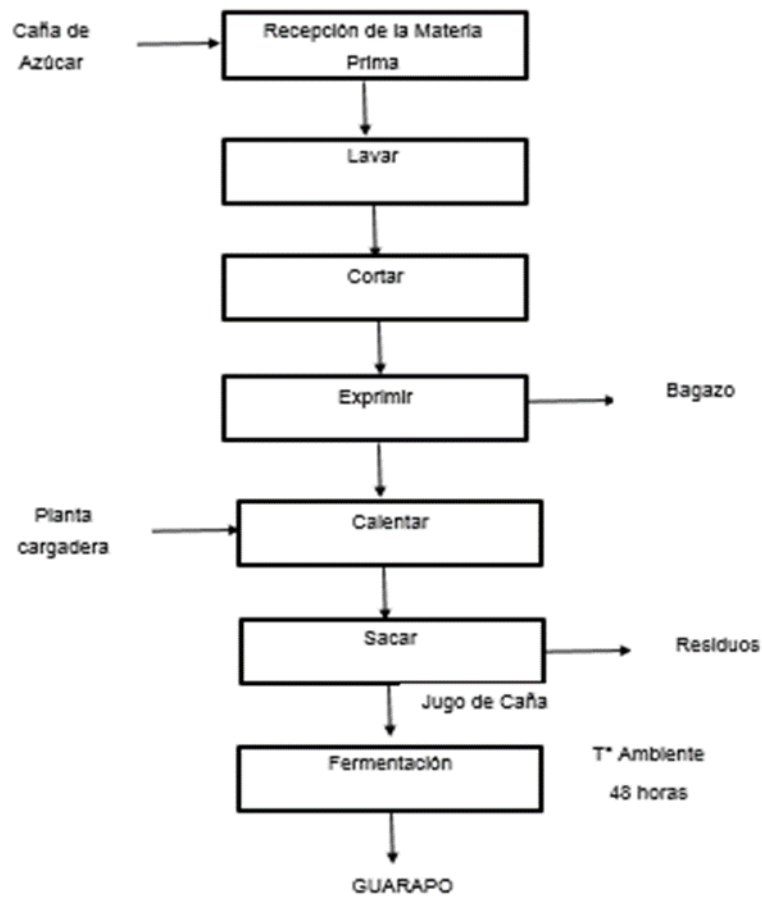


Figura 7. Proceso de Elaboración del Guarapo

(Telégrafo, 2013)

2.3.2.3 CHICHA DE CHOCLO

Es considerada una reliquia precolombina, se elaboraba desde la época del imperio de los Incas. Es una bebida ancestral cuyo principal ingrediente es el maíz tierno; se encuentra en algunos países de Latinoamérica como: Perú, Ecuador, Venezuela, Colombia y México (Coloma, 2004).

La chicha de Jora, se la considera una bebida sagrada ya que es utilizada en fiestas y actos ceremoniales por todas las culturas prehispánicas especialmente en la zona andina del país. Es muy popular especialmente en fiestas indígenas, fiestas de pueblos; por las costumbres que pasan de generación en generación (Mercurio, 2014).

La chicha de choclo es una bebida que no es conocida ya que solo se realiza con el maíz de jora y no con el choclo tierno por esta razón no existe mucha información sobre la producción de la misma, se la realiza como coladas solo la comunidad Awá que se encuentran en Tulcán en la parte Noroccidente del cantón en la frontera con Colombia realizan esta bebida fermentada; el tiempo de fermentación varía de 2 a 4 días (Prefectura del Carchi, 2014). En la figura 8 se observa el proceso de elaboración de la chicha de choclo.

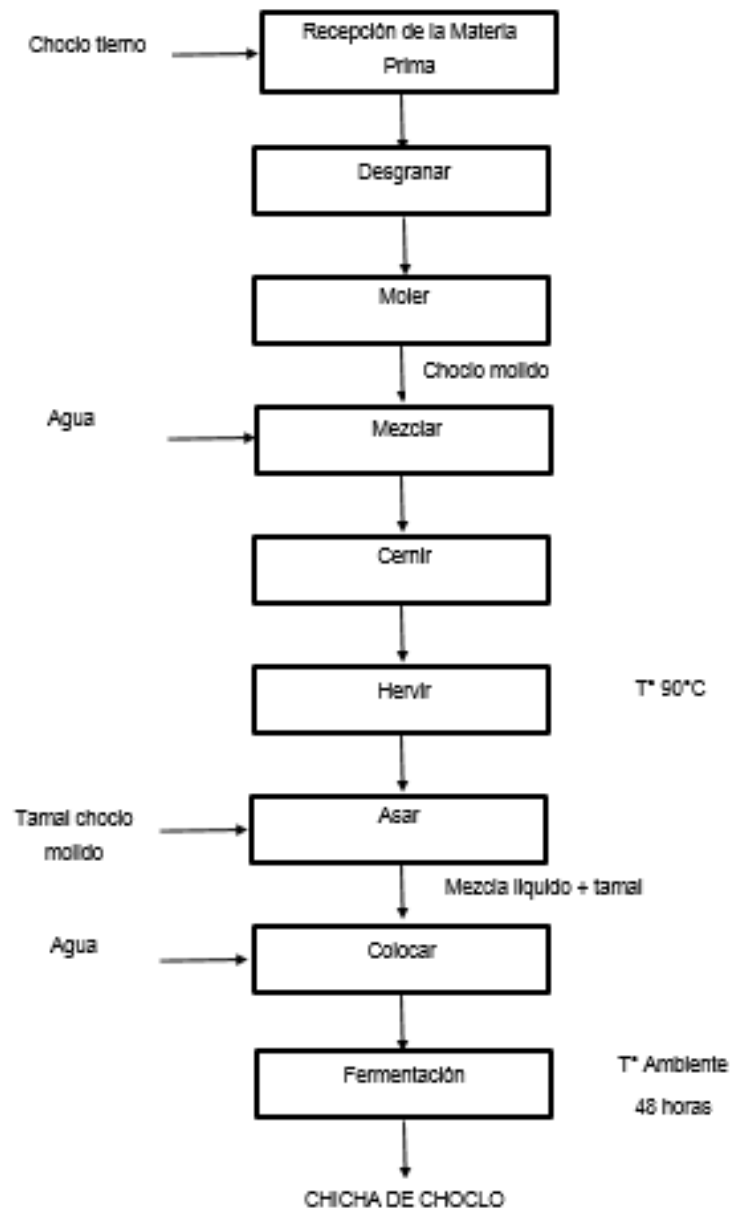


Figura 8. Proceso de Elaboración de la Chicha de Choclo
(Prefectura del Carchi, 2014)

2.4. ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS DE LAS BEBIDAS FERMENTADAS

La caracterización físico-química en bebidas fermentadas permite definir las características físicas, funcionales y nutricionales que se encuentran en estas bebidas, cuyo consumo y uso se está perdiendo; por cambios en costumbres y hábitos de las nuevas generaciones (Alvarez, Machado, Arelis, García, & Douglas, 2004).

2.4.1 PESO ESPECÍFICO

La caracterización físico-química en bebidas fermentadas permite definir las características físicas, funcionales y nutricionales que se encuentran en estas bebidas, cuyo consumo y uso se está perdiendo; por cambios en costumbres y hábitos de las nuevas generaciones (Alvarez *et al.*, 2004).

2.4.2 GRADO ALCOHÓLICO

Es el volumen de alcohol etílico, que se expresa en centímetros cúbicos, y se contienen en 100 cm³ de bebida alcohólica, a una temperatura definida (Martínez de Toda, 2011).

El grado alcohólico se expresa con grados Gay-Lussac para una bebida, nos indica el porcentaje de alcohol por volumen, su símbolo es % vol; siendo el número de alcohol más puro a una temperatura de 20 °C, si se trabaja con otras temperaturas se utiliza una tabla de autocorrección (Rodríguez, 2008).

2.4.3 EXTRACTO SECO

El extracto seco se define como la masa que corresponde a las sustancias que no se volatilizan en las condiciones que se presenta en el ensayo que se realiza (M. Sanchez, 2003).

El extracto seco total es la composición de todas las materias o sustancias que no se volatilizan en ciertas condiciones, siendo estas condiciones físicas las que establecen que las sustancias del extracto seco no sufran modificaciones; se lo expresa gramos por litro se lo determina con una aproximación del 0,5 g (P. García, García, & Muela, 2004).

2.4.4 ACIDEZ TOTAL

Es la suma de los ácidos evaluados obtenidos cuando la bebida alcohólica es llevada a neutralidad (pH: 7), por adición de una solución salina (Gallego, 2011). Es el resultado de la sumatoria de la acidez fija y la acidez volátil; está estrechamente relacionada con el proceso de producción del alcohol a mayor acidez contenida en el fruto, más apto será para la maduración y la producción de alcohol (Togores, 2006).

2.4.5 ACIDEZ FIJA

Es la suma de los ácidos fijos valorables por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina (Hidalgo, 2010). Es el conjunto de ácidos formados en la fermentación maloláctica, también se lo puede definir como la suma de la cantidad de ácidos fijos existentes orgánicos y minerales que están en su estructura (Ospina, García, & Martínez, 2010).

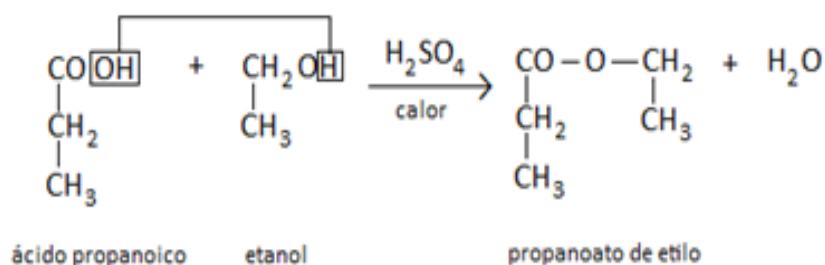
2.4.6 ACIDEZ VOLÁTIL

Es la suma de los ácidos volátiles por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina (Pereda, 2011). Es el conjunto de ácidos volátiles formados en la fermentación o por alteraciones de microorganismos, está dada por la concentración de ácidos libres que están presentes en la bebida (Ospina *et al.*, 2010).

2.4.7 ÉSTERES

Los ésteres son compuestos orgánicos, tienen con frecuencia olores agradables bien definidos, se consideran derivados de la reacción de un ácido carboxílico con un alcohol o un fenol (Wriffin, 2004).

Los ácidos carboxílicos de acuerdo a su formación y al número de carbonos que tengan poseen olores desagradables, generalmente los derivados tienen olores aromáticos principalmente si están diluidos en agua como se muestra en la Ecuación [2]; los ésteres atribuyen aromas y sabores a las bebidas fermentadas (Aldabe, Bonazzola, Aramendía, & Lacreu, 2004).



[2]

2.4.8 ALDEHÍDOS

Los aldehídos son compuestos orgánicos resultantes de la oxidación suave y la deshidratación de los alcoholes primarios, el grupo funcional de los aldehídos es el carbonilo al igual que en la cetona con la diferencia que en los aldehídos van en un carbono primario (R-COO-R), es decir se encuentran en los extremos. Representan un olor agradable y se emplean como base en algunas fragancias, estos compuestos se encuentran en bebidas alcohólicas como acetaldehído es un producto que se obtiene mediante la oxidación del alcohol, que se produce la transformación a ácido acético. En algunas bebidas producen y proporcionan aromas agradables y añaden sabores favorables (Aldabe *et al.*, 2004; Barros, 2009; Kotz, Reichel, & Weaver, 2005; Mauri, Llobat, & Herráez, 2010).

2.4.9 METANOL

El metanol (CH₃OH) es un líquido incoloro, ligero, inflamable a temperatura ambiente que contiene menos carbono y más hidrógeno que cualquier otro combustible líquido. Es una sustancia química, estable y que tiene numerosas aplicaciones industriales y comerciales. El metanol se produce naturalmente en la naturaleza, y se descompone rápidamente, tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas (Bataller, 2004; Gil, 2010).

Es un compuesto muy tóxico, incluso por inhalación en pequeñas cantidades produce ceguera y la ingestión de algunos miligramos produce hasta la muerte. Algunas bebidas alcohólicas adulteradas con este compuesto añadido han causado intoxicaciones masivas (Sierra, Pérez, Gómez, & Morante, 2010).

2.5 MICROBIOLOGÍA DE LAS BEBIDAS FERMENTADAS

El consumo de las bebidas fermentadas es una de las prácticas más antiguas que ha realizado el hombre. Por esta razón es necesario realizar una caracterización microbiológica de las bebidas fermentadas para tener un adecuado manejo en la elaboración de las mismas para obtener un producto con buena calidad.

Las culturas más antiguas han utilizado los microorganismos como aliados en la elaboración de diferentes tipos de alimentos. La base de estos procesos casi siempre es la misma: un soporte rico en nutrientes sobre el que un determinado microorganismo se desarrolla y transforma el alimento en otro muy diferente, a través de un proceso conocido como fermentación. Algunos de los más utilizados son las levaduras, sobre todo responsables de la elaboración del vino, la cerveza, el pan y otros productos. Con el paso del tiempo, estas fermentaciones milenarias se estudiaron y controlaron para dirigir las hacia la producción de determinadas sustancias apreciadas en el alimento o, por el contrario, para eliminar las indeseables (Keith, 2003; Mollendorff, 2006).

2.5.1 MICROORGANISMOS INDICADORES

2.5.1.1 COLIFORMES TOTALES Y FECALES

Los coliformes fecales son bacilos Gram-negativos aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados fermentadores de lactosa con la consiguiente producción de ácido y gas; se los encuentra normalmente en la flora y fauna intestinal, crecen a $44,5 \pm 0,2$ °C dentro de las 24 ± 2 horas. La mayor especie en el grupo de coliformes fecales es *Escherichia coli* (Adams, 2005).

Escherichia coli es un microorganismo común que se encuentra en los intestinos de los animales y las personas. Existen muchas cepas de *E. coli*, y la mayoría resultan inofensivas, también favorece en la absorción de algunas vitaminas especialmente la vitamina K; sin embargo esta bacteria cumple un papel muy importante en los procesos digestivos. Ciertas cepas de *E. coli* causan enfermedades gastrointestinales, urinarias, respiratorias. Siendo una bacteria que fermenta lactosa obteniendo como resultado ácido láctico y gas (Montville, 2008; Okafor, 2007).

Los coliformes totales son bacilos Gram-negativos aerobios o anaerobios facultativos que no forman esporas. Se encuentran comúnmente en plantas, suelos, animales y humanos; con las siguientes propiedades bioquímicas oxidasa negativa y la capacidad de fermentar la lactosa, dan lugar a la producción de gas en 48 horas a una temperatura de 37 °C (Ray, 2007).

Este grupo está formado por los siguientes géneros: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*. En la higiene de los alimentos los coliformes totales no se consideran de contaminación fecal, sino solamente indicadores de calidad. Se usan para evaluar la calidad de los alimentos, para comprender las infecciones debemos conocer primero como actúan recíprocamente los microorganismos y el huésped humano. Se desarrollan a 35 ± 2 °C (Allaert, 2002).

2.5.1.2 ENTEROBACTERIAS

Las enterobacterias son un vasto grupo heterogéneo de bacilos Gram-negativos cuyo hábitat natural es el intestino de humanos y animales. Esta familia incluye muchos géneros como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* y otros. Son microorganismos aerobios, fermentan una amplia variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja y producen varias toxinas y otros factores de virulencia; están dotados de una movilidad por flagelos peritricos carentes de motilidad;

crecen sobre peptona o medios con extractos de carne sin adición de cloruro de sodio (NaCl) ni otros suplementos, crecen bien en agar MacConkey en condiciones aerobias y anaerobias (son aerobios facultativos), fermentan glucosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas; son catalasa positivos y reducen nitrito a nitrito (Doyle, 2004; Frazier, 1995).

2.5.1.3 AEROBIOS MESÓFILOS

Los aerobios mesófilos son microorganismos aerobios, requieren oxígeno para su crecimiento, forman esporas. Crecen a temperaturas de 15 a 35 °C y tienen una temperatura óptima de 37 °C. Se encuentran bacterias del grupo lipolíticas, proteolíticas, sacarolíticas y patógenas. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no asegura la ausencia de patógenos y sus toxinas, un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Solo en alimentos obtenidos por fermentación, no se recomienda recuentos elevados. Son utilizados como indicadores de la calidad del procesamiento (Almenar, 1997; Bravo, 2004).

2.5.2 MICROORGANISMOS FERMENTADORES

2.5.2.1 BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Las bacterias del ácido láctico fermentan diversos azúcares, son bacilos o cocos Gram-positivos, inmóviles, son anaerobios facultativos, no forman esporas, oxidasa, catalasa y bendizina negativas. Son microorganismos que tienen diversas aplicaciones, siendo unas de las principales la fermentación de alimentos como leche, carne y vegetales son de gran utilidad en la producción de vinos y cervezas. Entre los géneros más importante tenemos *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*. Además de

contribuir en la biopreservación de los alimentos, mejoran las características sensoriales como el olor, sabor, textura y aumentan su calidad nutritiva (Ingraham, 1998; Ramírez, 2011).

2.5.2.2 MOHOS

Los mohos son hongos mesófilos multicelulares filamentosos, dotados de micelio verdadero, microscópicos y cuyo crecimiento en los alimentos y en los medios de cultivo se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. Se los considera microorganismos que alteran los alimentos se observa la alteración con un crecimiento característico, algunos elaboran micotoxinas: que son sustancias tóxicas perjudiciales para la salud sobre todo aquellos alimentos que tiene pH bajo, frutas, jugos, yogurt o los que tiene presión atmosférica elevada, harinas, copos de avena, miel, leche concentrada y productos salados (Barreiro, 2006; M. Pascual, 2005).

2.5.2.3 LEVADURAS

Las levaduras son hongos unicelulares que crecen generalmente en forma de agregados sueltos de células independientes, que puede ser globosas, ovoides, piriformes, alargadas o casi cilíndricas. En algunos casos forman cadenas de células alargadas, adheridas de modo suelto (pseudomicelio). Cuando crecen en los alimentos y medios de cultivo, forman colonias de aspecto característico semejantes a las de las bacterias, pero son más grandes que las bacterias (German, 2007; Voet, 2004).

Son microorganismos aerobios mesófilos, se desarrollan a una temperatura de 25 °C y una humedad relativa alta que de tres a cinco días aproximadamente toma su crecimiento. Se los ha utilizado desde tiempos

antiguos para la elaboración de algunos productos principalmente la producción de vinos y cervezas, son los microorganismos más importantes desde el punto de vista industrial ya que convierten los azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono (Bamforth, 2005; M. Pascual, Calderon, V., 2000).

2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados del análisis de un producto alimentario tan sólo son tan buenos como el método de muestreo que en él se lleva a cabo. La muestra perfecta sería, el 100% del material que se va a analizar. Sin embargo, es raramente posible o adecuado de manera que se necesitan métodos para muestrear el sistema para obtener una alícuota representativa del sistema como un todo (NIST/SEMATECH, 2009).

La selección del método de muestreo dependerá de (Zar, 2008):

- 1- El propósito de la inspección. La pregunta será: ¿El propósito del análisis es aceptar o rechazar el producto, evaluar su calidad promedio, o determinar su uniformidad?
- 2- La naturaleza del lote a analizar su tamaño: división en sub-lotes, carga, o apilamiento.
- 3- La naturaleza del material bajo análisis la homogeneidad, tamaño de la unidad, antecedentes, costo.
- 4- Naturaleza de los procedimientos de análisis la significancia de los resultados, ensayos destructivos o no destructivos, tiempo de duración y costo de los análisis.

El primer paso para la elaboración de un muestreo correcto consiste en la selección adecuada del diseño o tipo de muestreo que se desea utilizar. Para ello se genera un “Marco Muestral” que es una lista, ordenación, fotografía, esquema o cualquier otro método que permita visualizar en su conjunto a todas y cada una de las unidades que componen la población. Sin embargo,

en situaciones prácticas no siempre es posible elaborar en detalle esta lista, por lo que una visión del conjunto de la población serviría para realizar un muestreo al azar (Cochran, 2009).

Otro aspecto importante es la variable que se va a considerar. Se debe elegir, antes de iniciar el estudio la variable de “interés”, es decir, aquella que va a permitir realizar los análisis necesarios a fin de cumplir los objetivos propuestos (control de calidad, investigación sobre algún aspecto en particular y otros). Simultáneamente debe seleccionarse las unidades en que se van a medir dichas variables (cm, m, ft, l y otros) (Raj, 2010).

El segundo paso a seguir en una investigación es la selección adecuada de la muestra. Esta selección se realiza en base a dos elementos principales: la variabilidad propia de la población y el margen de error que pueda tolerar el control de calidad deseado (Ibáñez, 2010).

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1. LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN

Se realizaron varias visitas a los seis cantones de la Provincia del Carchi (Tulcán, Bolívar, Espejo, Mira, Montúfar y Huaca), para recopilar toda la información necesaria; se recorrieron restaurantes, mercados, ferias; se realizó además una búsqueda de información bibliográfica en Universidades e Instituciones Públicas y Privadas del Sector. Se contó con la ayuda de la Prefectura del Carchi con información sobre toda la provincia y transporte a la comunidad Awá, donde elaboran estas bebidas.

Una vez recopilada la información se seleccionaron las tres bebidas más representativas de la Provincia, y de cada una dos productores; esta selección se realizó de acuerdo a la importancia que poseen estas bebidas y productores en cada uno de los Cantones de la Provincia del Carchi.

3.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

3.2.1 TOMA DE MUESTRA

La materia prima se obtuvo en la provincia del Carchi; el muestreo de estas bebidas fermentadas se realizó según la NORMA INEN 0339 (1994), que se aplica para bebidas alcohólicas fermentadas y/o destiladas.

De las tres bebidas seleccionadas se tomó muestras en la etapa fermentativa de venta al público, de 3 lotes diferentes de producción (1 cada semana) para realizar los análisis microbiológicos, mientras que para los análisis físico-químicos se tomó 1 lote de producción. Se trabajó con muestras de dos productores diferentes para cada bebida, y se realizará dos réplicas.

Las muestras fueron colocadas en frascos estériles de vidrio, y fueron transportadas en una hielera manteniéndose en frío constante (~5 °C) y protegidos de la luz. Los análisis microbiológicos fueron realizados en los laboratorios de Microbiología de la Universidad Tecnológica Equinoccial y los análisis físico-químicos fueron realizados en el Laboratorio Acreditado LABOLAB.

3.2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se realizó análisis microbiológicos para bacterias ácido lácticas, coliformes, enterobacterias, aerobios mesófilos, mohos y levaduras. Para ello se prepararon diluciones sucesivas según la norma técnica ecuatoriana INEN 1 529-2 (1999). Este procedimiento y la siembra se realizaron en una cámara de flujo laminar marca Telstar. Se homogenizó 25 ml de muestra en 225 ml de diluyente (agua peptonada tamponada estéril) para preparar la dilución 10^{-1} ; a partir de esta se realizó dos diluciones sucesivas 10^{-2} y 10^{-3} (en dos muestras se realizó 10^{-0} , se tomó muestra pura).

3.2.3 RECuento TOTAL DE POBLACIONES MICROBIANAS

De cada dilución se tomó una alícuota de 1000 μ l y se inoculó en placas Petrifilm 3M. Se siguieron los protocolos especificados para la siembra de cada tipo de placas Petrifilm. Los tipos de placas y rangos de aceptación, tiempos y condiciones de incubación se observa en la tabla 2.

Tabla 2. Especificaciones Placas Petrifilm

Microorganismo	Especificaciones Petrifilm	Tiempo de Incubación	Rango de Aceptación
Coliformes	Contiene Rojo Violeta y bilis (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio para facilitar el recuento de colonias. La membrana atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa propia de los coliformes.	De 24 a 48 horas por 35 °C	15 a 150 colonias
Enterobacterias	EL medio se compone de VRB y glucosa.	De 24 a 48 horas por 35 °C	15 a 100 colonias
Aerobios Mesófilos	Contiene nutrientes del Agar <i>Standard Methods</i> y un indicador de color rojo que facilita el recuento.	De 24 a 48 horas por 35 °C	25 a 250 colonias
Mohos y Levaduras	Contiene nutrientes de "Sabhi", dos antibióticos, indicador de fosfatos (BCIP), para facilitar la numeración de colonias tiene agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador.	De 3 a 5 días por 25 °C	

(3M, 2014)

En la Tabla 3 se presentan las especificaciones de la siembra en placa en profundidad.

Tabla 3. Especificaciones de la siembra en placa en profundidad

Microorganismo	Bacterias ácido lácticas
Medio de Cultivo	MRS (Man, Rogosa y Sharpe)
Condiciones de Incubación	24-48 horas a 37 °C
Características del Medio	Permite el desarrollo abundante de todas las especies de lactobacilos; la presencia de monoleato de sorbitán, magnesio, manganeso y acetato, contribuyen cofactores e inhiben el crecimiento de otros microorganismos.

(Madrid & Cenzano del Castillo, 2003)

Una vez que el tiempo de incubación transcurrió, se contaron las colonias para definir la población microbiana de cada una de las muestras analizadas. Se tomó la metodología de Rodríguez (2005).

Para el recuento en placa se utilizó una lámpara de luz fluorescente y una lupa el conteo se realizó visualmente, se usó un marcador con el fin de confundir las colonias ya contadas y así obtener resultados más exactos. Los resultados del recuento se expresaron como unidades formadoras de colonias por unidad de volumen (UFC/ml) y se calcularon mediante la Ecuación 3.

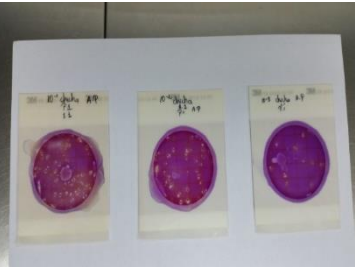
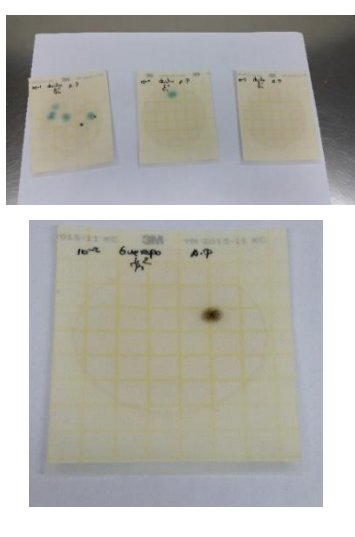
[3]

$$\text{Recuento UFC/ml} = \frac{\text{Media del número de colonias de placas duplicadas}}{\text{Factor de dilución} \times \text{volumen inoculado en la placa}}$$

Para las placas bacterias ácido lácticas, enterobacterias, coliformes y aerobios mesófilos, la lectura se realizó a las 24 y 48 horas de realizada la inoculación, mientras que las placas de mohos y levaduras fueron leídas entre 3 y 5 días. Con la interpretación de los resultados y la aplicación de estadística se evaluó las condiciones en las cuales se encontraban las bebidas al momento de su venta ver Anexos I, II, III, IV, V.

Para la interpretación de los recuentos microbianos de cada grupo que se analizó, se tomaron las recomendaciones que se establecen en las Guías de interpretación 3M Petrifilm una síntesis de lo más importante se encuentra en la tabla 4.

Tabla 4. Interpretación de Placas Petrifilm

Microorganismo	Interpretación y Especificaciones	Presencia de Microorganismos en Recuento
Coliformes	Se cuentan todas las colonias que presentan color rojo y en su alrededor se puede o no observar la producción de gas.	
Enterobacterias	Las colonias de Enterobacterias se las observa de color rojo rodeadas con un halo de gas a veces se encuentran un color amarillo con halo de gas.	
Aerobios Mesófilos	Las colonias se presentan de color rojo cualquiera sea el tamaño que presenten y la intensidad.	
Mohos y Levaduras	<p>Mohos: se observan colonias grandes, color variable (producen sus propios pigmentos), poseen bordes difusos, formas planas, con núcleo en el centro.</p> <p>Levaduras: poseen bordes definidos, colonias pequeñas, color azul verdoso o rosa tostado, de aspecto abultadas en (3D) con un color uniforme.</p>	

(3M, 2014)

3.2.4 IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS

Se realizó inicialmente una tinción simple, para ello se preparó un frotis con las cepas aisladas y seleccionadas. Se cubrió el frotis con azul de metileno, se dejó reposar por un minuto, se eliminó el exceso de colorante con un fino chorro de agua destilada. Se dejó secar. Se observó en el microscopio utilizando primero el lente objetivo seco débil (10x) y posteriormente el lente seco fuerte (40x). Finalmente se colocó una gota de aceite de inmersión y se observó con el lente de 100x, como se observa en el Anexo VI.

Para la Identificación de levaduras se utilizó el kit de identificación API 20C AUX.

Se realizó una suspensión de cada levadura previamente aislada en agar Sabouraud con 40 ppm de gentamicina en un tubo con 3 ml de NaCl al 0.85 % hasta obtener un grado de turbidez de McFarland 2; a esta suspensión se le dio el nombre de API Suspensión Medium. Con ayuda de una micropipeta se depositó 100 µl de API Suspensión Medium en una ampolla de API C Medium. Se llenó las cúpulas del kit con API C Medium, y para obtener un ambiente húmedo en la cámara, se llenó las cúpulas adversas con agua destilada, se tapó la cámara y se incubó a 30 °C por un tiempo de 72 horas. Para la interpretación de los resultados se esperó el tiempo de incubación y se comparó las cúpulas con la cúpula control. Si las cúpulas se reflejaban turbias el resultado era positivo (+) y negativo (-) si las cúpulas no tuvieron ningún cambio. Estas interpretaciones se colocaron en la hoja de resultados que viene en el kit y se procedió a sumar todas las pruebas positivas y negativas obteniendo al final un código para cada colonia deseada. Estos códigos se insertaron en el programa API WEB que fue proporcionado por la Facultad de Medicina de la Universidad Tecnológica Equinoccial y de esta manera se determinó el nombre de cada levadura, según se indica en los Anexos VII, VIII.

3.3. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

Los análisis físico-químicos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos LABOLAB, el cual se encuentra ubicado en el Distrito Metropolitano de Quito y posee una acreditación otorgada el año 2006 por el Organismo de Acreditación Ecuatoriano (OAE). A continuación se describen los protocolos utilizados por este laboratorio como se observa en la Tabla 5.

Tabla 5. Análisis Físico-Químicos y Protocolos utilizados

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	NORMA
Peso Específico	INEN, (1978), NORMA INEN 346:1978-03.BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DEL EXTRACTO SECO
Grado Alcohólico	INEN, (1994), NORMA INEN 340:1994.BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACIÓN GRADO ALCOHOLICO
Acidez total, Fija y Volátil	INEN, (1978), NORMA INEN 341:1978-03.BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ
Ésteres	INEN, (1978), NORMA INEN 342:1978-03.BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACIÓN DE ESTERES
Aldehídos	INEN, (1978), NORMA INEN 343:1978-03.BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DE ALDEHIDOS
Metanol	INEN, (1978), NORMA INEN 347:1978-03.BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DEL METANOL

(INEN, 2014)

3.3.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras fueron llevadas al laboratorio LABOLAB; se realizaron los análisis por duplicado. Se homogenizó las muestras mediante agitación al momento de tomar el volumen que fue de un litro para realizar cada uno de los análisis, debido al paso del tiempo el proceso fermentativo continúa de tal manera que se afectan las características físicas, químicas y organolépticas de estas bebidas.

3.3.2 GRADO ALCOHÓLICO

Para este procedimiento se utilizó la metodología detallada por la norma INEN NTE 0340 (1994). Se utilizó un alcoholímetro Gay-Lussac previamente lavado con agua destilada, se enjuagó un matraz de 1000 ml con una porción de la muestra y posteriormente se llenó con la muestra sobrepasando los 250 ml, se tapó el matraz y se colocó en el baño de agua a una temperatura constante $15 \pm 0,5$ °C por 20 minutos y se retiró el exceso de muestra con una pipeta hasta obtener un volumen de 250 ml. Se transfirió el contenido al matraz del aparato de destilación y se lavó con tres porciones de 10 ml de agua destilada, se recogió el agua de lavado en el mismo matraz del aparato de destilación y se añadieron núcleos de ebullición. Se destiló la muestra y se recogió el condensado en un matraz volumétrico de 250 ml, al que se añadió previamente 10 ml de agua destilada, hasta que se recogió aproximadamente 220 ml de condensado. Se colocó el matraz en un baño de agua a temperatura constante de $15 \pm 0,5$ °C durante 20 minutos y se añadió agua destilada a la misma temperatura cuidadosamente hasta completar el volumen de 250 ml y se homogenizó.

Se colocó la muestra preparada en una probeta limpia y seca, se introdujo suavemente el alcoholímetro y el termómetro, se mantuvo por 10 minutos, se agitó lentamente para igualar la temperatura y se realizó la lectura. Se dejó

reposar la probeta hasta que desaparezcan las burbujas del líquido y se efectuó la lectura del alcoholímetro, para corregir el grado alcohólico aparente medido a 20 °C se utilizó la tabla anexa en la norma INEN NTE 340.

3.3.3 ACIDEZ FIJA, VOLÁTIL Y TOTAL

La determinación de la acidez fija, volátil y total se realizó basándose en la Norma INEN 0341 (1978) para bebidas fermentadas.

3.3.3.1 ACIDEZ TOTAL

En un Erlenmeyer de 500 ml se colocó 250 ml de agua destilada previamente hervida, se añadió 25 ml de muestra y 5 gotas de fenolftaleína; se realizó la titulación utilizando una bureta con hidróxido de sodio 0.1 N. Se realizó el cálculo empleando la Ecuación 4.

[4]

$$AT = 2,4 \frac{V1}{G}$$

Donde:

AT: Acidez total, expresada como ácido acético, en g/100ml de alcohol anhidro.

V1: Volumen de solución de NaOH usado en la titulación, expresado en ml.

G: Grado alcohólico de la muestra a determinar.

3.3.3.2 ACIDEZ FIJA

En un crisol de porcelana se colocó 25 ml de muestra, se sometió a un baño de vapor hasta alcanzar la sequedad de la muestra. Posteriormente se llevó el crisol con la muestra seca a una estufa a 100°C, durante 30 minutos, utilizando 25 ml de alcohol neutro se disolvió el residuo de la muestra y se colocó en un Erlenmeyer con 250 ml de agua destilada previamente hervida y neutralizada; se adicionó 5 gotas de indicador fenolftaleína y se tituló con solución de 0.1 N de hidróxido de sodio. Se realizó el cálculo empleando la Ecuación 5.

[5]

$$AT = 2,4 \frac{V2}{G}$$

Donde:

AT: Acidez fija, expresada como ácido acético, en g/100 ml de alcohol anhidro.

V2: Volumen de solución de NaOH usado en la titulación, expresado en ml.

G: Grado alcohólico de la muestra a determinar.

3.3.3.3 ACIDEZ VOLÁTIL

La acidez volátil se determinó restando el valor de acidez de la fija menos la de acidez total, utilizando la Ecuación 6.

[6]

$$AV = AT - AF$$

Donde:

AV: Acidez volátil, expresada como ácido acético, en g/100 ml de alcohol anhidro.

AT: Acidez total

AF: Acidez fija

3.3.4 EXTRACTO SECO

Para determinar el extracto seco se utilizó la metodología de la norma INEN NTE 0346 (1978). Se realizó los análisis por duplicado. Se colocó la muestra en un vaso de precipitación en la estufa a 90 °C por 2 horas, se llevó al desecador hasta llegar a temperatura ambiente y se pesó en una balanza analítica. Se colocó 50 ml de muestra en el vaso de precipitación y se transfirió a un baño de vapor hasta sequedad total de la muestra; se secó el vaso y se llevó la estufa a 90 °C durante 1 hora, luego se enfrió en el desecador por 15 minutos y se pesó. Se determinó el extracto seco mediante la Ecuación 7.

[7]

$$E = 20 (m2 - m1)$$

Donde:

E: Extracto seco, en g/100 ml de muestra

m1: Masa del vaso de precipitación, en gramos.

m2: Masa del vaso de precipitación con el residuo seco, en gramos.

3.3.5 PESO ESPECÍFICO

Para la determinación del peso específico de las bebidas fermentadas se tomó la metodología de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Se llenó un picnómetro con agua destilada, se tapó y se colocó en un baño de agua a temperatura ambiente, por 30 minutos. Posteriormente se quitó la tapa

y se enrasó con un tubo capilar, se secó el interior del cuello del picnómetro utilizando un hisopo. Se volvió a tapar y se sumergió en el baño de agua por 15 minutos. Se sacó el picnómetro, se secó y después de 15 minutos se procedió a pesar, luego se vació el contenido, se enjuagó con acetona y se secó a temperatura ambiente; se tapó el picnómetro y se pesó. Este procedimiento se realizó de igual manera con las muestras de las bebidas en lugar de utilizar agua destilada.

3.3.6 ALDEHÍDOS

En la determinación de aldehídos se utilizó la norma INEN NTE 0343 (1978). Se realizó el análisis por duplicado. Se colocó 250 cm³ de muestra en un matraz de destilación de 1000 cm³, debido a que el contenido de extracto seco (sólidos) fue menor o igual a 25 g/100 cm³, se agregó 5 cm³ de agua por cada 10 g de sólidos presentes al mismo tiempo que se colocó la muestra en el matraz de destilación. Se destiló la muestra, recogiendo el condensado en un matraz volumétrico de 250 cm³, al que se añadió previamente 10 cm³ de agua destilada, se colocó el matraz en un baño de agua a temperatura constante (15 ± 0.5 °C) por 20 minutos, se añadió agua destilada a 15 °C, y se homogenizó.

Luego se transfirió 100 cm³ del destilado a un matraz Erlenmeyer de 500 cm³, se adicionó 100 cm³ de agua destilada y exceso de solución de bisulfito de sodio (el exceso de solución de bisulfito de sodio debe ser aproximadamente equivalente de 25 cm³ de solución de yodo), se agitó y dejó en reposo durante 30 min, repitiendo la acción ocasionalmente.

Se añadió una solución de yodo en exceso y se tituló luego con la solución valorada de tiosulfato de sodio.

Se efectuó un ensayo en blanco utilizando las mismas cantidades de reactivos empleados en la operación con la muestra. Para los cálculos se utilizó la Ecuación 8.

[8]

$$AL = 0,11 \frac{(V1-V2)}{G}$$

Donde:

AL: contenido de aldehídos, expresado como aldehído acético en g/100 cm³ de alcohol anhidro.

V1: volumen de solución 0,05 N de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la muestra.

V2: volumen de solución de tiosulfato de sodio empleado en el ensayo en blanco.

G: grado alcohólico de la muestra

3.3.7 ÉSTERES

Para la determinación de ésteres se utilizó la metodología de la norma INEN NTE 0342 (1978). El análisis se realizó por duplicado. Como primer paso se realizó el proceso de destilación descrito en el punto 3.3.2 en el análisis de grado alcohólico, posteriormente se transfirió 50 ml de muestra preparada a un matraz de 500 ml y se neutralizó con una solución 0.1 N de hidróxido de sodio, utilizando dos gotas de fenolftaleína; luego se adicionó 10 ml de la solución de hidróxido de sodio, medidos con aproximación al 0.1 ml, se conectó el condensador de reflujo al matraz y se procedió a calentar durante una hora para saponificar los ésteres; luego se enfrió hasta llegar a temperatura ambiente, finalmente se tituló el exceso de álcali usando la solución indicador de fenolftaleína y una solución 0,1 N de ácido clorhídrico. El contenido de ésteres se determinó utilizando la Ecuación 9.

$$E = 1,76 \frac{10f_1 - Vf_2}{G}$$

Donde:

E: contenido de ésteres en bebidas alcohólicas, expresado como acetato de etilo, en gramos por 100 ml de alcohol anhidro.

f1: factor correspondiente a la solución de hidróxido de sodio.

f2: factor correspondiente a la solución de ácido clorhídrico.

V: volumen de solución de ácido clorhídrico usado en la titulación, en cm³.

G: grado alcohólico de la muestra (ver INEN 340).

3.3.8 METANOL

Para la determinación de metanol se utilizó la metodología en la norma INEN NTE 0347 (1978). Inicialmente se realizó una destilación descrita anteriormente en el punto 3.4.8 en el análisis de grado alcohólico, se colocó 2 ml de solución de permanganato de potasio en un matraz volumétrico de 50 ml, se enfrió en un baño de agua con hielo, se añadió 1 ml de muestra preparada y se dejó reposar en el baño helado durante 30 minutos.

Luego se decoloró la muestra con una pequeña porción de bisulfito de sodio seco y se adicionó 1 ml de solución de ácido cromotrópico, a esto se añadió 15 ml de ácido sulfúrico lentamente y con agitación constante, se colocó en un baño de agua caliente de (60 a 75 °C) durante 15 minutos y se esperó a que se enfríe para adicionar agua destilada hasta tener un volumen de 50 ml y se mezcló para posteriormente determinar la absorbancia (A) a 575 nm, con respecto a una referencia de alcohol etílico al 5,5 % tratado similarmente, se trató la solución patrón de metanol en igual forma y se determinó la absorbancia (A1).

El contenido de metanol se determinó mediante la Ecuación 10.

$$M = 0,0025 \frac{A}{A_1} X f$$

Donde:

M: contenido de metanol en la muestra, en porcentaje de volumen

A: absorbancia correspondiente a la muestra

A₁: absorbancia correspondiente a la solución patrón de metanol

f: factor de dilución de la muestra

3.3.9 pH

La determinación del pH se realizó según la norma INEN 383 (1985). En un vaso de precipitación de 100 cm³ se colocó 10 ml de la muestra, se sumergió el electrodo del potenciómetro calibrado, y se reportó el valor que registró el potenciómetro en la pantalla.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño de Bloques Completamente al Azar para los recuentos microbiológicos de cada bebida. Los resultados se procesaron mediante el análisis de varianza (ANOVA), para las medidas comparadas por Tukey con el software INFOSAT/L.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. SELECCIÓN DE LAS PRINCIPALES BEBIDAS FERMENTADAS TRADICIONALES DE LA PROVINCIA DEL CARCHI

La búsqueda bibliográfica se realizó en la Universidad Politécnica Estatal del Carchi; ubicada en Tulcán, que es la única institución de educación superior del sector. Se encontró un solo trabajo de titulación relacionado al tema: Evaluación de tres tipos de Maíz (*Zea mays*) Suave Morado, Suave Dulce, Blanco y Suave Dulce Amarillo, en la elaboración de Chicha de Jora, Autor: Silvia Lorena Anrango Portilla, Año: 2013, Facultad-Escuela: Facultad de Industrias y Ciencias Ambientales.

En la visita realizada a los seis cantones que posee la provincia del Carchi se encontró que, a excepción del sector que ocupa la comunidad Awá, la elaboración de bebidas fermentadas tradicionales es escasa; en Tulcán se elaboran bebidas nuevas como vino de miel y vino de ovo.

La comunidad de los Awá se encuentra en Chical, parroquia situada al noroccidente de la provincia del Carchi, lugar muy aislado cercano a la frontera con Colombia. Esta zona es reconocida como la parte más pobre de la provincia, incluso se reconoce la presencia de plantaciones de coca. Existen comunidades Awá dispersas también en Imbabura y en algunas provincias del Oriente que cuentan con una organización de etnias para proteger su cultura y sus prácticas ancestrales.

Los Awá son los únicos que mantienen la elaboración de Chicha de Choclo y Guarapo, la prefectura del Carchi les ha dotado con animales de granja y ciertos tipos de plantas y semillas debido a que son una comunidad pobre. Cuentan con un trapiche industrial comunal para la obtención de: panela, alcohol y otros derivados.

La chicha de choclo y el guarapo como se observa en la Figura 9 se realizan para consumo diario, en la parte noroccidente tienen diversidad de alimentos como: verde, yuca y pescado; cuando poseen recursos económicos pueden conseguir diferentes productos en la feria que tienen todos los viernes o a su vez intercambian los mismos.



Figura 9. Proceso de Elaboración de la Chicha de Choclo y el Guarapo. a) Recolección de la materia para el Guarapo, b) Obtención del jugo de caña a través de un trapiche de acero inoxidable, c) Molienda del choclo tierno en un molino de metal, d) Mezcla del choclo molido con agua en una tina de plástico.

Ciertas familias optan por no realizar la fermentación de la chicha de choclo y prefieren tomarla como una colada para su consumo diario; esta colada tiene un sabor dulce, es blanca y se la debe consumir caliente ya que fría posee un sabor desagradable.

El gran problema que se encontró en estas comunidades es el alcoholismo; consumen estas bebidas en todo momento, hasta para realizar trabajos de campo o simplemente salir a los pueblos pequeños ya que viven a grandes distancias, según los pobladores estas bebidas les da fuerza para poder caminar durante seis horas o más.

En el cantón Mira perdura la elaboración del Tardón de Mira, una bebida fermentada muy conocida en esta zona que se realiza todo el año, ya que aún quedan haciendas que les proveen de naranja y el aguardiente puro de caña, pero un mayor consumo de esta bebida se realiza en sus fiestas como se observa en la Figura 10.

En los demás cantones ya no se realizan bebidas fermentadas, ya no se encuentra gente indígena en la provincia, se perdió la costumbre de realizarlas optaron por otras prácticas, lo que más se consume son las puntas o el Norteño que es una bebida muy apreciada en toda la provincia.

En la provincia del Carchi se encuentran pocas bebidas fermentadas a pesar de tener gran importancia tradicional y cultural, en la Tabla 6 se destacan las más conocidas y difundidas.

Tabla 6. Bebidas Fermentadas de la Provincia del Carchi

CANTÓN	PRODUCTO	INGREDIENTES	TIEMPO DE FERMENTACIÓN	ÉPOCA DE ELABORACIÓN
Mira	Tardón de Mira	Naranja Aguardiente de caña Azúcar	3 días	Todo el año
Tulcán	Chicha de Choclo	Choclo tierno Azúcar Agua	3 días	Todo el año
Tulcán	Guarapo	Jugo de caña Azúcar	3 días	Todo el año
Tulcán	Vino de Ovo	Jugo de Ovo Azúcar	3 días	Tiempo de cosecha del ovo
Tulcán	Vino de Miel	Miel Agua Aguardiente	3 días	Todo el año

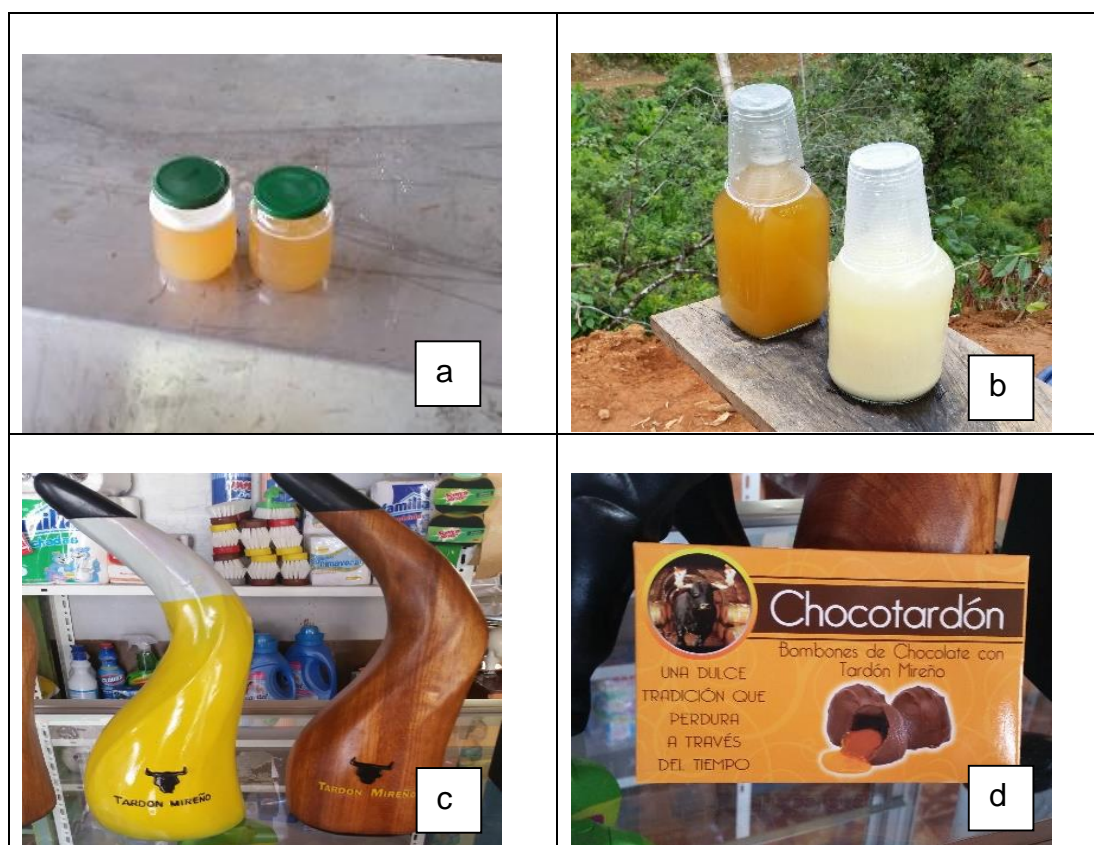


Figura 10. Proceso de comercialización de las tres bebidas. a) Envasado del guarapo en frascos de vidrio , b) Expendio de chicha de choclo y guarapo, c) Venta de Tardón de Mira en una tienda, d) Elaboración de otros productos como chocolate a partir de Tardón

4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

4.2.1. CHICHA DE CHOCLO

Los valores más altos de los recuentos microbiológicos para todos los microorganismos en estudio correspondieron al productor uno; se encontraron diferencias significativas en las variables de productor y lote para enterobacterias, mohos y levaduras como se puede observar en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados de los recuentos microbiológicos de la Chicha de Choclo

ANÁLISIS	PRODUCTOR 1	PRODUCTOR 2
	Log UFC/ml ¹	
Enterobacterias	4,09 ± 0,47 b	2,32 ± 0,33 a
TUKEY _(Productor) = 0,56		
TUKEY _(Lote) = 0,85		
Coliformes Totales	3,02 ± 0,80 b	2,06 ± 0,44 a
TUKEY _(Productor) = 0,91		
TUKEY _(Lote) = 1,39		
Aerobios Mesófilos	4,76 ± 0,46 b	3,57 ± 0,33 a
TUKEY _(Productor) = 0,58		
TUKEY _(Lote) = 0,88		
Ácido Lácticas	5,11 ± 0,59 a	5,23 ± 0,60 a
TUKEY _(Productor) = 0,35		
TUKEY _(Lote) = 0,53		
Mohos y Levaduras	4,26 ± 0,57 a	3,82 ± 0,66 a
TUKEY _(Productor) = 0,51		
TUKEY _(Lote) = 0,78		

¹media ± desviación estándar (P> 0,0005)

Letras minúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas entre productores

Para enterobacterias y coliformes totales se presentaron valores cercanos a los reportados por (Valdez, Betcher, & Valdez, 2010) para una bebida de cerveza de maíz de 2,30 log UFC/ml. La presencia de estos microorganismos indica una mala manipulación al momento de la elaboración de estas bebidas, los cuales provoca enfermedades gastrointestinales. En el recuento de aerobios mesófilos el promedio para ambos productores fue de 4,16 log UFC/ml, en el estudio realizado (D. Sanchez *et al.*, 2010) con una bebida tradicional mexicana llamada Axokot que se realizó a partir de maíz nixtamalizado (*Zea mays*) y una pasta preparada con cal y axokot xihuit (*Fleischmanniapycnoccephala*) reportaron un recuento para este indicador de 9,55 log UFC/ml, el valor obtenido se atribuye que este tipo de sustratos proporcionan un ambiente favorable para un desarrollo normal de varios microorganismos que intervienen en el proceso de fermentación lo que confiere a la bebida un olor y sabor característico.

Para bacterias ácido lácticas el resultado del promedio de recuento entre los dos productores fue de 5,17 log UFC/ml. En Egipto se realizaron diferentes estudios en jugos y bebidas se reportaron valores cercanos a 8 log UFC/ml, superiores a los encontrados en esta bebida (Daw, El-Gizawy, & Saiid, 1994) debido a que estas contienen una alta cantidad de azúcares. En otros estudios realizados se encontró en Chicha de Jora y Chicha de avena se encontró un promedio de 8,34 y 7,76 log UFC/ml respectivamente observándose un alto crecimiento de bacterias ácido lácticas (Carrera, 2014).

En el recuento de mohos y levaduras, el promedio de las dos bebidas fue de 4,04 log UFC/ml; en un estudio realizado con una bebida fermentada llamada Sobia elaborada a base de trigo se reportaron resultados recuentos para este indicador de 6,29 y 3,96 log UFC/ml respectivamente (Gassem, 2002). Estos resultados se atribuyen a que los mohos representan a la mala manipulación en la elaboración y las levaduras están involucradas directamente en el proceso fermentativo (Bravo, 2004). En bebidas fermentadas elaboradas a

partir de maíz de jora y arroz se encontraron valores de 6,14 log UFC/ml y 2,25 log UFC/ml respectivamente (Escudero, 2014).

4.2.2. GUARAPO

En los recuentos microbiológicos del Guarapo no se encontraron diferencias significativas entre productores y lotes en ninguno de los indicadores microbiológicos (enterobacterias, coliformes totales, aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras) como se observa en la Tabla 8.

Tabla 8. Recuentos microbiológicos del Guarapo

ANÁLISIS	PRODUCTOR 1	PRODUCTOR 2
	Log UFC/ml ¹	
Enterobacterias	2,77 ± 0,49 a	2,65 ± 0,60 a
TUKEY _(Productor) = 0,43		
TUKEY _(Lote) = 0,65		
Coliformes Totales	2,51 ± 0,63 a	2,71 ± 0,67 a
TUKEY _(Productor) = 0,28		
TUKEY _(Lote) = 0,42		
Aerobios Mesófilos	4,82 ± 0,64 a	4,96 ± 0,34 a
TUKEY _(Productor) = 0,64		
TUKEY _(Lote) = 0,98		
Ácido Lácticas	5,27 ± 0,40 a	5,09 ± 0,60 a
TUKEY _(Productor) = 0,47		
TUKEY _(Lote) = 0,71		
Mohos y Levaduras	4,43 ± 0,71 a	4,45 ± 0,70 a
TUKEY _(Productor) = 0,14		
TUKEY _(Lote) = 0,22		

¹media ± desviación estándar (P> 0,0005)

Letras minúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas entre productores

Para enterobacterias y coliformes totales se presentan valores cercanos a los ya mencionados por (Valdez *et al.*, 2010) de 2,30 log UFC/ml, para el productor 1 y el productor 2. La presencia de estos microorganismos nos indica que existió una mala manipulación al momento de la elaboración de estas bebidas, los cuales provocan enfermedades gastrointestinales (Alvarez *et al.*, 2004).

Ilha, Bertoldi, Cleber, Vanderli, y Coruma (2008), obtuvieron un valor de 3,10 log UFC/ml de aerobios mesófilos en la elaboración de un vino de miel, resultado inferior al promedio obtenido en este estudio, 4,89 log UFC/ml para los dos productores. El incremento de estos microorganismos se genera principalmente por la mala manipulación.

En un estudio realizado por (Guzmán, 2010) en bebidas fermentadas utilizando probióticos se obtuvo 10 log UFC/ml, valor superior a la media obtenida en este estudio; 5,08 log UFC/ml de bacterias ácido lácticas. Este comportamiento se debe al alto contenido de azúcares presentes en los sustratos utilizados en el guarapo, que al fermentarse dan como resultado un aumento en la producción de ácido láctico (Ingraham, 1998).

En la Tabla 8 se puede observar que tanto para mohos y levaduras entre los dos productores se obtuvo un promedio de 4,44 log UFC/ml; en un estudio realizado para una bebida de hidromiel se encontraron valores de 11 log UFC/ml, estos valores se encuentran en rangos permisibles para el consumo (Romero, 2012).

4.2.3. TARDÓN DE MIRA

En los recuentos microbiológicos realizados a las muestras de Tardón de Mira se determinó en enterobacterias, coliformes totales, mohos y levaduras se encontraron diferencias significativas entre productores y lotes; se atribuye a

que cada productor tiene una manera distinta de realizar esta bebida como se puede observar en la Tabla 9.

Tabla 9. Recuentos microbiológicos del Tardón de Mira

ANÁLISIS	PRODUCTOR 1	PRODUCTOR 2
	Log UFC/ml ¹	
Enterobacterias	3,90 ± 0,71 b	2,75 ± 0,68 a
TUKEY _(Productor) = 0,64		
TUKEY _(Lote) = 0,97		
Coliformes Totales	3,44 ± 0,76 b	2,89 ± 0,69 a
TUKEY _(Productor) = 0,44		
TUKEY _(Lote) = 0,68		
Aerobios Mesófilos	4,63 ± 0,67 a	4,94 ± 0,36 a
TUKEY _(Productor) = 0,34		
TUKEY _(Lote) = 0,52		
Ácido Lácticas	4,40 ± 0,53 a	4,71 ± 0,69 a
TUKEY _(Productor) = 0,78		
TUKEY _(Lote) = 1,19		
Mohos y Levaduras	2,66 ± 0,44 a	3,15 ± 0,38 b
TUKEY _(Productor) = 0,42		
TUKEY _(Lote) = 0,64		

¹media ± desviación estándar (P> 0,0005)

Letras minúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas entre productores

Los indicadores de higiene en estas bebidas son los coliformes totales y enterobacterias presentes en el jugo de naranja, donde las medias de los dos productores presentaron valores de 3,33 y 3,17 log UFC/ml respectivamente, mientras el grado alcohólico aumenta, el crecimiento de microorganismos patógenos tiende a disminuir (Bravo, 2004). En otros estudios realizados de

una bebida llamada Sánduche, que es una bebida fermentada tipo coctel compuesta por jugo de caña fresco y aproximadamente un 25% de alcohol etílico, se obtuvieron valores de 2,86 log UFC/ml para enterobacterias y 2,1 log UFC/ml para coliformes totales siendo indicadores microbiológicos de higiene, se atribuyen a las malas prácticas de elaboración (Rivera, 2014).

En cuanto al recuento de aerobios mesófilos se presentó un promedio de 4,79 log UFC/ml para las bebidas. En un estudio realizado con un jugo de caña envasado en vidrio, elaborado en base a normas y cumplimientos que se encuentran en Buenas Prácticas de Manufactura se obtuvieron resultados de 1 log UFC/ml (Aguirre, 2011); los valores reportados en el Tardón superan considerablemente este valor posiblemente se debe a su elaboración es artesanal y las plantas no cuentan con la certificación BPM. El recuento de aerobios mesófilos se expresa como una medida cualitativa para el alimento ya que son indicadores de presencia de patógenos o toxinas (M. Sanchez, 2003).

En relación al recuento de bacterias ácido lácticas se obtuvo un promedio de 4,55 log UFC/ml para ambos productores. Para la elaboración de bebidas fermentadas en base a miel y polen utilizando probióticos se reportaron valores de 10 log UFC/ml (Guzmán, 2010). Se estima que la baja cantidad de bacterias ácido lácticas en el Tardón se debe a que tiene un grado alcohólico de 25 GL y en la fermentación estas bacterias consumen todos los azúcares disponibles quedando solo las levaduras las cuales continúan con la fermentación, por esta razón se observa un valor bajo en relación a otros estudios (Adams, 2005; Ulloa, 2006).

En el caso de mohos y levaduras el resultado entre los dos productores fue de 2,90 log UFC/ml. Se considera que el aguardiente añadido al jugo de naranja con azúcar disminuyó el valor en el recuento microbiano en relación a este indicador. Según (Verapinto, 2009), el alcohol se vuelve tóxico en levaduras y en sustratos cuyo grado alcohólico es superior a 13 °GL; el Tardón presento un grado alcohólico de 25 °GL por lo posiblemente esto causó un descenso en la población de levaduras.

4.3. LEVADURAS IDENTIFICADAS EN EL PROCESO FERMENTATIVO

Se aislaron e identificaron cinco tipos de colonias con características morfológicas diferentes (Tabla 10), que fueron encontradas en la Chicha de Choclo y en el Guarapo, en tres diluciones diferentes y cada productor ver Anexo IX.

Tabla 10. Levaduras identificadas en las bebidas evaluadas que presentaron morfologías distintas

COLONIA	MORFOLOGÍA	IDENTIFICACIÓN
1	Colonias de color beige, con forma redonda y pequeñas, sus dimensiones son 2 μm de ancho y 4 μm de largo.	<i>Kloeckera</i> sp.
2	Colonias de color blanco, con formas ovoides y grandes, sus dimensiones 4 μm de ancho y 6 μm de largo.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1
3	Colonias de color café, con formas alargadas y pequeñas, sus dimensiones 2 μm de ancho y 4 μm de largo.	<i>Cryptococcus laurentii</i>
4	Colonias de color blanco, con formas cilíndricas y grandes, sus dimensiones 4 μm de ancho y 6 μm de largo.	<i>Candida utilis</i>
5	Colonias de color café, con formas redondas y pequeñas, sus dimensiones 2 μm de ancho y 4 μm de largo.	<i>Trichosporon mucoides</i>

Kloeckera spp. es una levadura anaerobia facultativa se encuentra al inicio de la fermentación espontánea, está en mayores proporciones en mostos blancos y rojos particularmente en aquellos procedentes de uvas infectadas por la podredumbre; *Saccharomyces cerevisiae* 1 es una levadura anaerobia facultativa que se desarrolla en el sustrato a medida que aumenta el grado

alcohólico a 3 °GL; *Kloeckera* spp. decrece su crecimiento por lo tanto la otra predomina; mientras se alcanzan 6 °GL las otras cepas de levaduras iniciales van desapareciendo del proceso fermentativo, siendo *Saccharomyces cerevisiae* 1 resistente a altas cantidades de alcohol este patrón de sucesión está fuertemente influenciado por la temperatura a 25 °C y pH de 3,0-3,5 (Garcia, 2004; Montville, 2008) .

Cryptococcus laurentii crece muy bien en todos los medios de cultivo formando colonias mucosas, aunque con el tiempo pueden aparecer secas; el color es muy variable (crema, ocre, rosa, amarillo). Las cepas que poseen una cápsula muy pequeña, forman colonias similares a las del género *Candida*. Tienen metabolismo aerobio, por lo que no son fermentadoras, producen ureasa y utilizan varios hidratos de carbono; también se encuentra en las fosas nasales de las personas, por lo que su presencia atribuye a falta de higiene en el procesamiento de un alimento (Okafor, 2007; M. Pascual, 2005).

Candida utilis también llamada torula, es una levadura altamente versátil. Se encuentra en todo el mundo y puede crecer en la madera, pulpa de celulosa, hojas secas, y sustratos que son ricos en celulosa. Tiene aplicaciones en biotecnología, farmacéuticas e industriales. Es un aditivo multifuncional y una materia prima para la industria del sabor y la fragancia (Garcia, 2004; Rodriguez, 2005; M. Sanchez, 2003).

Trichosporon mucoides es una levadura presente en el suelo, el agua, vegetales, mamíferos y aves. Así como se presenta como parte de la microbiota de la mucosa bucal, la piel y las uñas, puede ser agente causal de infecciones superficiales y profundas en humanos (Bataller, 2004; Ibarza et al., 2000).

4.4. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

Los resultados obtenidos en los análisis físicos – químicos realizados por LABOLAB se especifican en los Anexos X, XI, XII, XIII, XIV, VI.

4.1.1 ACIDEZ TOTAL

Según Mosquera (2012), la acidez en el mosto depende de la actividad que realizan las enzimas vegetales, el metabolismo de bacterias y levaduras. En la Figura 11 se observa que la mayor acidez total se presentó en el Guarapo y en el Tardón de Mira debido al tiempo de fermentación y los sustratos utilizados en la elaboración. En la elaboración de una cerveza artesanal a base de yuca y cebada se presentaron valores de 0,7 a 7 g ácido acético / 100 ml alcohol anhidro (Carvajal & Insuasti, 2010). Los valores contenidos de acidez total en el Guarapo y el Tardón de Mira se realizan por reacciones ácidas, debido a que contienen ácidos orgánicos que se forman en el transcurso de la fermentación (M. Vicent, Álvarez, S & Zaragoza, J., 2006). Por lo tanto las dos bebidas en estudio contienen una alta cantidad de ácidos orgánicos formados por los sustratos utilizados en la elaboración.

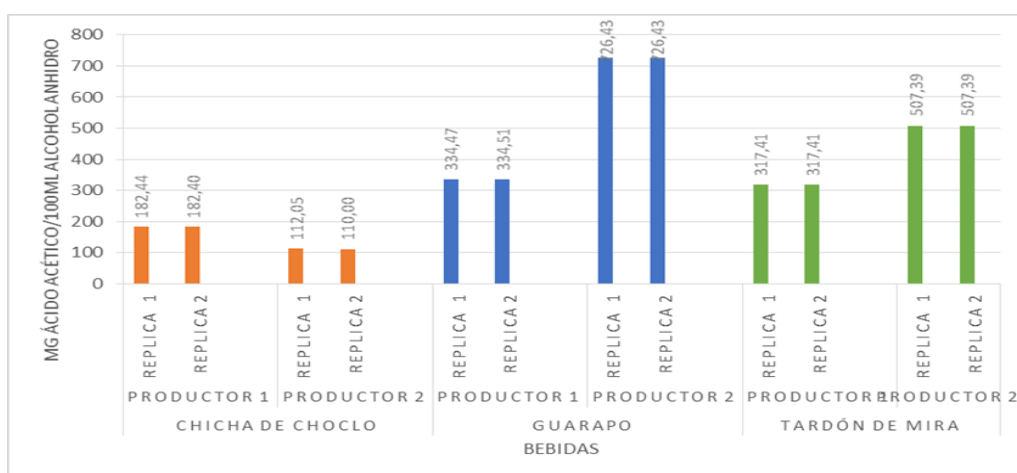


Figura 11. Acidez Total de las bebidas evaluadas

4.4.2 ACIDEZ FIJA

En la Figura 12 se observa que las bebidas Guarapo y Tardón de Mira presentan los valores más altos de acidez fija. En un estudio para Chicha de Jora se reportaron valores de 12,9 g ácido acético / 100 ml alcohol anhidro y para Chicha Yamor 15 g ácido acético / 100 ml alcohol anhidro (Terán, 2014), valores inferiores a los reportados en esta investigación donde el mínimo en Chicha de Choclo fue 100,08 mg ácido acético / 100 ml alcohol anhidro. Este comportamiento se atribuye a la elevada concentración de minerales, ácidos fijos y orgánicos como: málico, cítrico, láctico, entre otros. (Voet, 2004).

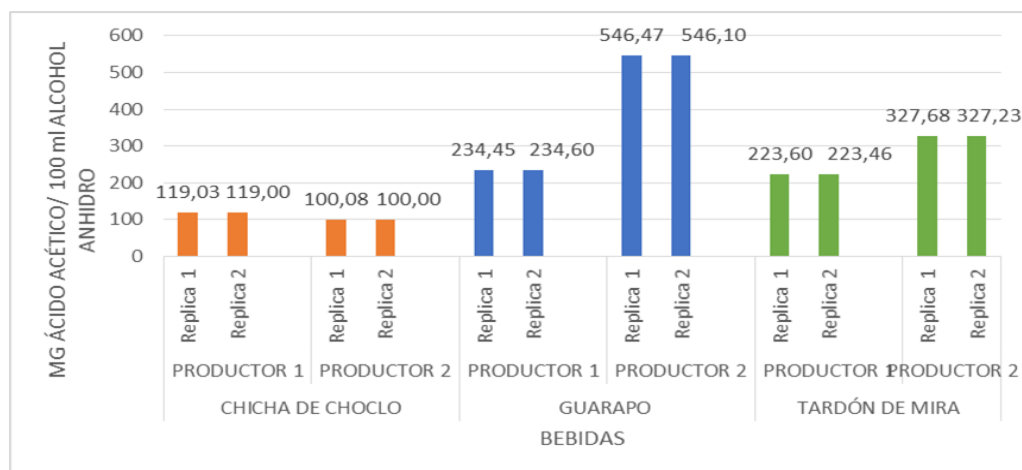


Figura 12. Acidez Fija de las bebidas evaluadas

4.4.3 ACIDEZ VOLÁTIL

En la Figura 13 se observa que la mayor acidez volátil se presentó en el Guarapo y el Tardón de Mira. Según Hoyos, Urbano, Villada, Mosquera, y Navia (2010) en un estudio realizado sobre elaboración de un vino con jugo de naranja con un grado alto de madurez el resultado reportado fue de 90 ácido acético / 100 ml alcohol anhidro; los valores obtenidos en este estudio

sobrepasan estos valores. En la elaboración de una chicha de maduro se obtuvo un rango de 2,84 a 5,34 g ácido acético/ 100 ml alcohol anhidro, la acidez volátil se da por la presencia de microorganismos que se encuentran en el proceso fermentativo (López, 2015; Voet, 2004).

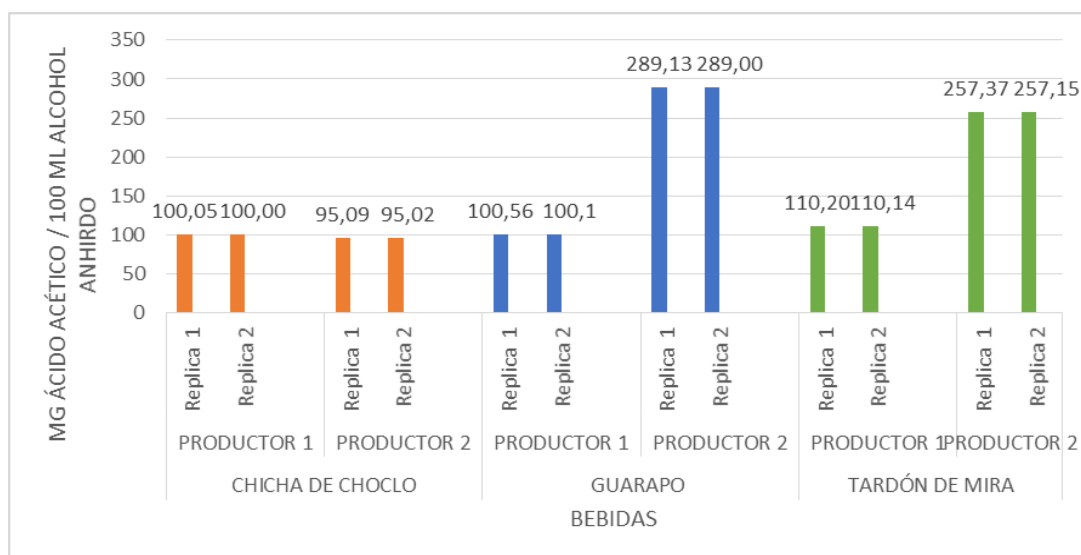


Figura 13. Acidez Volátil de las bebidas evaluadas

4.4.4 EXTRACTO SECO

En la Figura 14 se pueden observar las diferencias entre las tres bebidas existentes en relación al extracto seco; donde los valores más altos se obtuvieron en el Tardón de Mira, la variación del extracto seco entre un productor y otro se debe a la utilización de diferentes sustratos, corroborando lo mencionado por Rivera (2014), que obtuvo un valor de 14,42 g/100ml en una bebida fermentada conocida como Sánduche, resultado inferior al obtenido en este estudio.

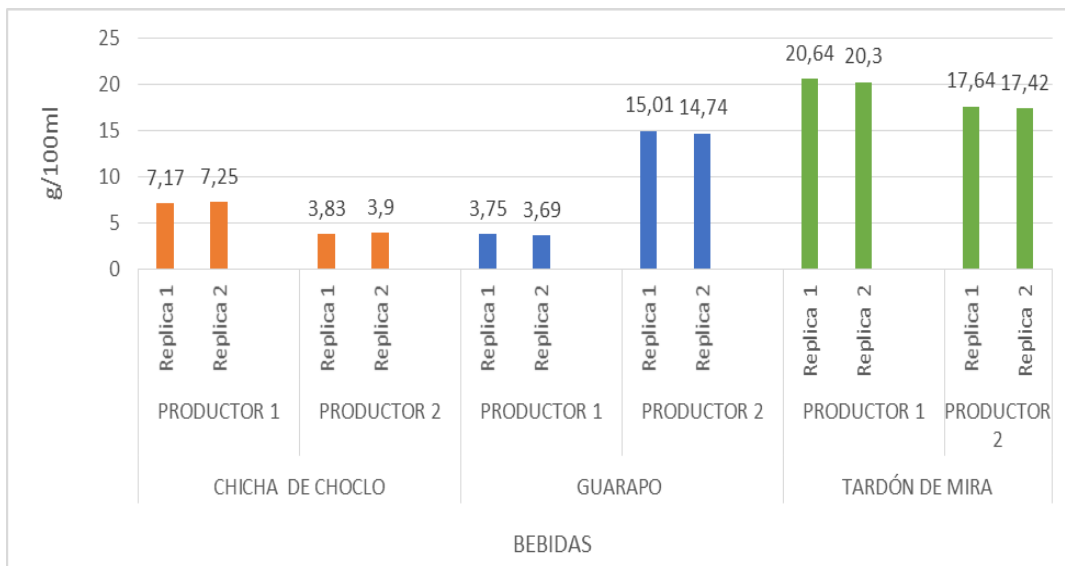


Figura 14. Extracto Seco de las bebidas evaluadas

4.4.5 PESO ESPECÍFICO

Los valores del peso específico para cada una de las bebidas valoradas se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Peso Específico de las bebidas evaluadas

Bebida	Productor	Contenido
Chicha de Choclo	1	0,99
	2	0,99
Guarapo	1	0,98
	2	0,99
Tardón de Mira	1	0,96
	2	0,96

En la mayoría de las bebidas los resultados se encuentran cercanos siendo el Tardón de Mira el que presenta los valores más bajos. Según Álvarez-Ainza, Zamora, y Acedo (2009) para una bebida llamada Bacanora elaborada con

mezcal y jugos de frutas como naranja y aguamiel se reportaron valores cercanos a 1. En la elaboración de una bebida fermentada realizada a base de maíz negro se presentaron los siguientes resultados entre 1,010 y 1,00924 muy cercanos a los obtenidos en este estudio, la diferencia entre los resultados obtenidos y presentados en esta investigación se debería a la materia prima, la elaboración y los envases utilizados contando con la manera de venta y su conservación (Galecio & Haro, 2012).

4.4.6 ALDEHÍDOS

Los aldehídos presentes en las bebidas evaluadas difieren entre ellas, como se puede observar en la figura 15. La chicha de choclo y el guarapo obtuvieron un valor alto. Según Macy (2005) los aldehídos conceden un buen aroma complementando un mejor sabor que generalmente se presentan en las chichas; se afirma que los aldehídos contienen un efecto antimicrobiano los cuales actúan sobre los patógenos que se encuentran en las bebidas por lo que su presencia es favorable (Fula, 2010).

La chicha de choclo y el guarapo presentaron valores de 100.1 y 454,35 mg de etanal / 100 ml alcohol anhidro, respectivamente, resultados que no cumplen con lo establecido en la norma INEN 1837 (1991), que señala un máximo de 10 mg de etanal / 100 ml alcohol anhidro. Según Rivera (2014) en un estudio realizado para una Chicha de Uva, una bebida llamada Sánduche y Chaguarmishqui superaron los valores presentes en la norma.

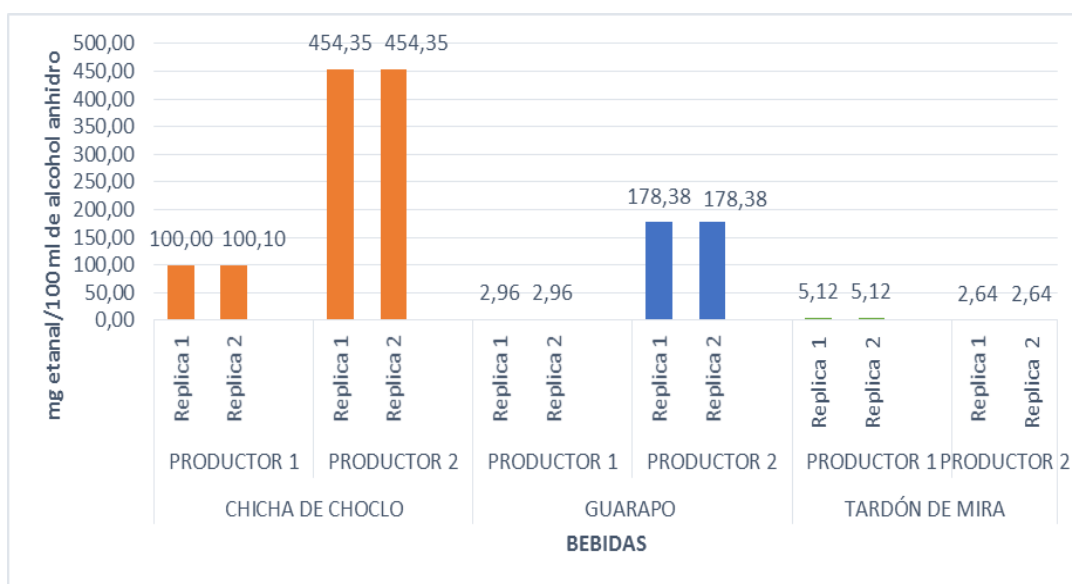


Figura 15. Aldehídos de las bebidas evaluadas

4.4.7 ÉSTERES

Las tres bebidas evaluadas presentaron valores elevados de ésteres, resultados reportados en la Figura 16. La presencia de este tipo de compuestos en las bebidas fermentadas tiene un aporte importante ya que le confiere características organolépticas como aroma (Bamforth, 2005). Según Gil (2010) la presencia de ésteres aporta un aroma especial a cada bebida fermentada, una mayor producción de estos compuestos se derivan aromas desagradables, se toma en cuenta los valores expuestos en las normas.

La Chicha de Choclo y el Guarapo sobrepasaron los valores los valores establecidos en la norma INEN 1837 (1991) referente a bebidas alcohólicas, se establece un valor máximo de 30 mg de acetato de etilo / 100 ml de anhídrido alcohólico. En los resultados obtenidos para las bebidas evaluadas se tienen de 14970, 20 el máximo y el mínimo de 25,15 mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro cumpliéndose para el Tardón de Mira como lo indica la norma.

Los ésteres encontrados en el Guarapo y la Chicha de Choclo fueron producidos por levaduras. La generación de estos compuestos dependen de algunas variables como, la temperatura de fermentación y la cepa de levadura, donde se obtuvieron valores elevados, debido al estrés de las levaduras o una deficiencia de oxigenación del mosto generados por los cambios bruscos de temperatura y una cantidad insuficiente de sustrato al comienzo de la fermentación. Cuanta más alta sea la temperatura de fermentación, más cantidad de ésteres se va a producir (Aldabe *et al.*, 2004; Barreiro, 2006; Durst, 2007).

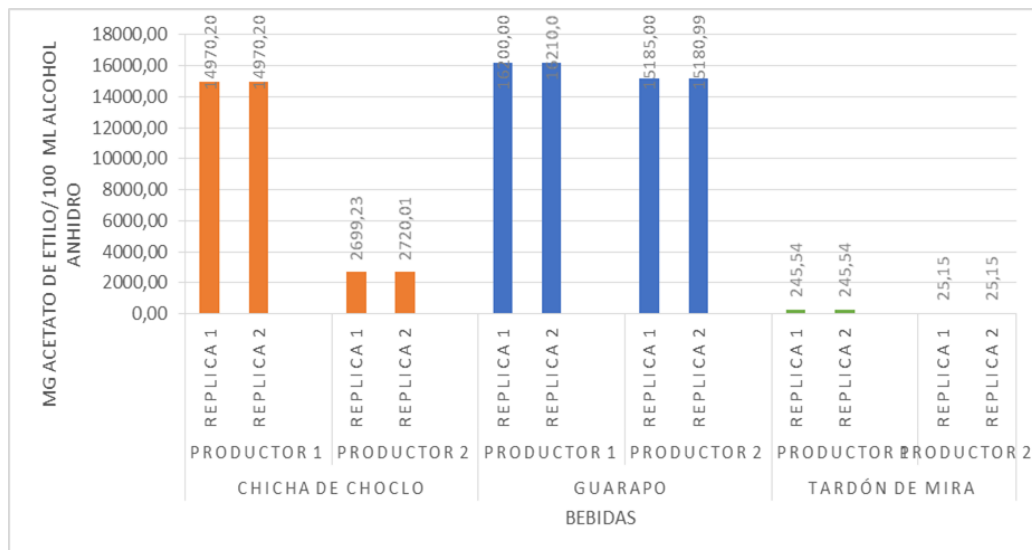


Figura 16. Ésteres de las bebidas evaluadas

4.4.8 METANOL

Según la norma NOM-142-SSA1-1995 Mexicana el límite máximo permisible que deben contener las bebidas fermentadas es de 0,3 mg / 100 ml de alcohol anhidro, las bebidas en este estudio obtuvieron valores de cero, por lo que no existe peligrosidad en ninguna de ellas en relación a este parámetro.

4.4.9 GRADO ALCOHÓLICO

En la Figura 17 se observa que el Tardón de Mira es el que tiene mayor grado alcohólico, la lectura más alta fue en la bebida del productor 1 cuyo promedio fue de 30,01, se encontró una gran diferencia entre bebidas. El alto grado alcohólico de esta bebida se atribuye a que uno de sus ingredientes es el aguardiente con 28° GL y que además el jugo de naranja añadido con el azúcar representan una fuente adicional de azúcares simples para los microorganismos presentes que favorece su conversión en etanol en la fermentación alcohólica (Becerra, 2014). Según un estudio realizado por Hours *et al.* (2005) para jugos de naranja destinados a la vinificación se reportaron resultados de 12 °GL.

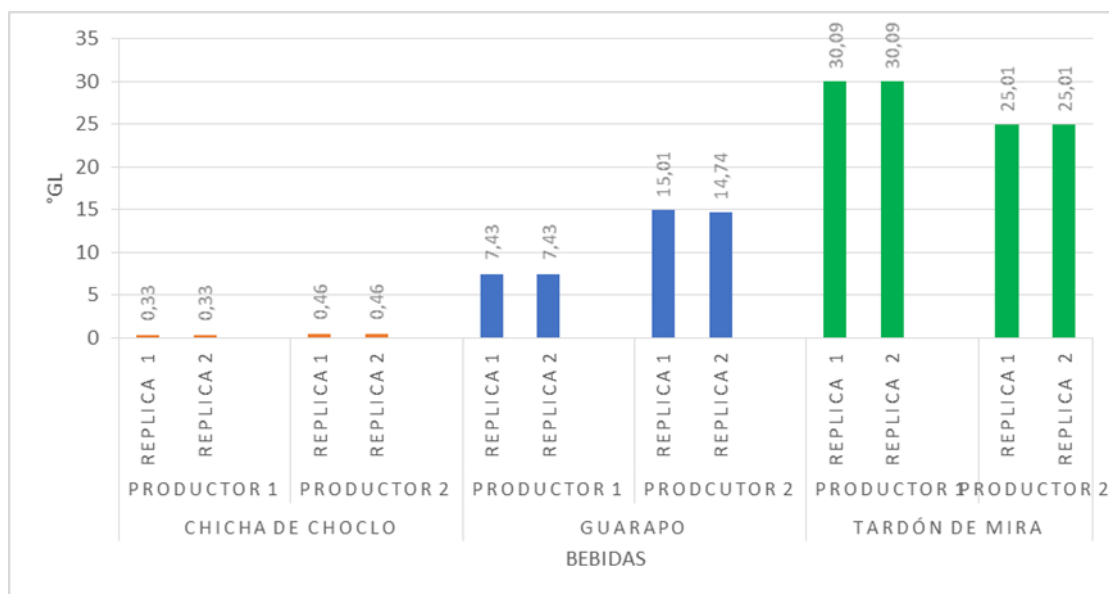


Figura 17. Grado Alcohólico de las bebidas evaluadas

4.4.10 pH

El pH más alto se encontró en el Tardón de Mira con 4,04 como se observa en la Figura 18. En un estudio para la fermentación alcohólica de jugo de naranja con *Saccharomyces cerevisiae* se reportó un pH de 3,5 a 4,0 (Ferreyra, Schvab, Gerard, & Zapata, 2009), los valores que se obtuvieron en este estudio son cercanos. Las bacterias patógenas requieren sustratos con un pH cerca del neutro para su crecimiento, por lo tanto el pH ácido de estas bebidas se convierte en un ambiente difícil para las mismas (Almenar, 1997).

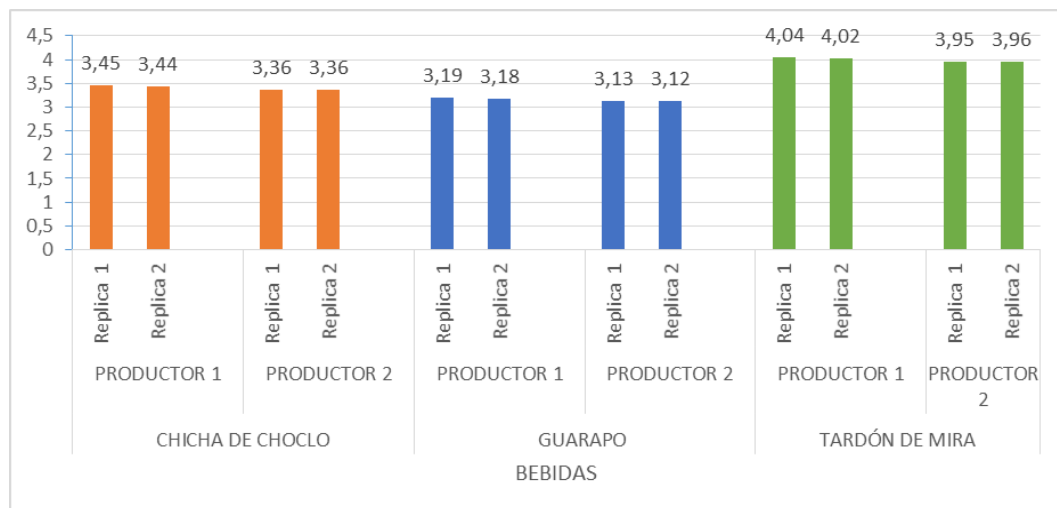


Figura 18. pH de las bebidas evaluadas

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La elaboración de bebidas fermentadas tradicionales se está perdiendo por la adopción de nuevas costumbres; esto se evidenció en esta provincia, ya que solo una comunidad alejada (Awá) prepara dos de estas bebidas: Chicha de Choclo y Guarapo. Por otro lado, el Tardón de Mira se continúa elaborando de manera artesanal debido a que las familias conservan esta tradición.
- De acuerdo con los análisis microbiológicos las bebidas que presentaron mayor carga microbiana en relación a indicadores de inocuidad (enterobacterias, coliformes, aerobios mesófilos) fueron la chicha de choclo y el guarapo debido a que se realizan artesanalmente y no se toman en cuenta normas de higiene a lo largo de todo el proceso.
- En relación a los microorganismos fermentadores se obtuvo valores elevados en los recuentos realizados en Chicha de Choclo y Guarapo debido a la utilización de diferentes sustratos que contienen alta cantidad de carbohidratos, el Tardón de Mira presentó baja cantidad debido a su grado alcohólico superior.
- De acuerdo con los análisis físico-químicos las tres bebidas fermentadas no presentaron metanol en su composición. Tanto la Chicha de Choclo, como el Guarapo presentaron valores altos de ésteres debido a la elevada cantidad de levaduras existentes en estas dos bebidas. La presencia de aldehídos fue favorable para este tipo de bebidas ya que aportan aromas y sabores favorables.

- En cuanto a los parámetros físico-químicos, el Tardón de Mira se obtuvo un grado alcohólico de 25 °GL, valor atribuido al alto contenido de azúcares simples. En la acidez total, fija y volátil se determinaron valores altos con respecto a lo establecido en las normas, que están relacionados directamente con los sustratos utilizados, el tiempo de fermentación y la presencia de microorganismos presentes en el proceso fermentativo.
- Las bebidas fermentadas elaboradas en la provincia del Carchi son una fuente importante de riqueza ancestral, cultural, gastronómica y microbiológica que lastimosamente se está perdiendo, ya que las formulaciones y formas de procesamiento son artesanales

5.2. RECOMENDACIONES

- Es importante mantener los procesos tradicionales de elaboración de estas bebidas fermentadas, para evitar la pérdida de las características sensoriales propias y las costumbres relacionadas con su producción y consumo.
- Es necesario realizar más estudios sobre la diversidad de cepas fermentativas que poseen estas bebidas para poder potencializar nuevas bebidas.
- Se sugiere realizar capacitaciones en cuanto a normas de calidad para mejorar los rendimientos y sabor de las bebidas después de su proceso de obtención.
- Se debe realizar un tema de tesis relacionado con los microorganismos fermentadores presentes en estas bebidas en el que consten la curva de crecimiento, cuales son los más representativos y sus características principales.
- Es muy importante documentar esta información, reconocer el estado de estas bebidas y buscar estrategias de mejora en la que participe directamente la Ingeniería en Alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, M. M., O. (2005). *Microbiología de los Alimentos* (Editorial Acribia, S.A ed.). University of Surrey, Guildford, UK.
- Aguirre, M. (2011). *Jugo de caña de azúcar envasado en vidrio ESPOL Guayaquil - Ecuador.*
- Aidoo, K., Rob, M & Sarkar, P. (2006). Occurrence and function of yeasts in Asian indigenous fermented foods. *Blackwell Publishing, Vol 6.*
- Aldabe, S., Bonazzola, C., Aramendía, P., & Lacreu, L. (2004). *Química 2 en acción* Buenos Aires
- Almeida, P. (2006). *Costumbres y Tradiciones del Carchi: Fomento del Turismo Cultural en la Provincia Monografía de Licenciatura.* UTE, Quito.
- Almenar, V., Vandevenne, C., Almenar, I., Martí, N., Grifo, M. (1997). *Prácticas de Microbiología de Alimentos* (Edicions de la Universitat de Lleida. ed.). Lleida, España.
- Álvarez-Ainza, M., Zamora, K., & Acedo, E. (2009). Perspectivas para el uso de levaduras nativas durante la elaboración de bacanora. *Revista Latinoamericana de Microbiología vol 52, Nos. 1-2, 58-63.*
- Alvarez, M., Machado, A., Arelis, P., García, D., & Douglas, R. (2004). Evaluación microbiológica y fisicoquímica de bebidas pausterizadas fortificadas con extractos de desechos desodorizados de naranja. *Scielo.*

- Allaert, C. R., M. (2002). Métodos de Análisis Microbiológicos de Alimentos (Ediciones Diaz de Santos, S.A ed.). Madrid, España
- Arenillas, J. (2009). Guarapo de Caña Recuperado Sábado 03 de Enero del 2015, de <http://www.vivacatamayo.com.ec/comidas-tipicas/334-guarapo-de-cana-jugo.html>
- Bamforth. (2005). Alimentos, Fermentacion y Microorganismos (Editorial Acribia ed.). Zaragoza, España.
- Barreiro, J., SAndoval, A. (2006). Operaciones de Conservación de Alimentos por Bajas Temperaturas. (Editorial Equinoccio ed.). Venezuela, Universidad Simón Bolívar.
- Barros, C. (2009). Los aditivos en la alimentación de los españoles y la legislación que regula su autorización y uso. (Vol. 2ª Edición). Madrid - España
- Bataller, R. (2004). Toxicología clínica Valencia- España
- Becerra, M. (2014). Bebidas Fermentadas a partir de maíz y arroz: elaboración, control y conservación *Alimentos hoy Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos Vol 22, No 31.*
- Bravo, M. (2004). El Manejo Higiénico de los Alimentos (Editorial Limusa, S.A ed.). México
- Carrera, J. (2014). *Caracterización Físico-Química y Microbiológica de las Principales Bebidas Fermentadas de la Provincia de Pichincha* Universidad Tecnológica Equinoccial Quito- Ecuador

- Carvajal, L., & Insuasti, M. (2010). *Elaboración de Cerveza Artesanal Utilizando Cebada (Hordeum vulgare) y Yuca (Manihot Esculenta Crantz)*. Universidad Técnica del Norte Ibarra-Ecuador.
- Cedeño, M. (2003). Tequila production from agave: historical influences and contemporary *The alcohol Textbook, chapter 15*. T.P Lyons, PhD, D.R Kels. USA: Nottingham University Press.
- Cochran, W. (2009). *Técnicas de Muestreo*. (Ed. C.E.C.S.A ed.). México.
- CODENPE. (2008). Pueblos y tradiciones del Ecuador de http://www.siise.gob.ec/siiseweb/PageWebs/Marco%20Conceptual/macsdp_codemp.htm
- Coloma, C. (2004). La Chicha de Maíz Recuperado Miércoles 21 de Enero del 2015, de <https://sites.google.com/site/historiadela culinariaperuana/chicha-de-maiz>
- Daw, Z., El-Gizawy, S., & Saïid, A. (1994). Microbiological evaluation of some local juices and drinks *Cairo univ., fac. agriculture, microbiology dep., Cairo-Giza, EGYPTE, vol. 16, n 1-2*
- Doyle, M. (2004). *Microbiología de los Alimentos, Fundamentos* (Editorial Acribia, S.A ed.). Zaragoza, España.
- Durst, D., Gokel, W. (2007). *Química Orgánica Experimental*. (Editorial Reverté, S.A ed.). Barcelona, España
- Escamilla, M. (2000). *Producción de Diacetilo y otros compuestos aromatizantes relacionados, por bacterias lácticas en cultivos axénicos mixtos a base de maíz* Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma Metropolitana., México

- Escudero, M. (2014). *Caracterización Físico-Química y Microbiológica de las Principales Bebidas Fermentadas de la Provincia de Bolívar*. Universidad Tecnológica Equinoccial Quito- Ecuador
- Farrás, R., Giménez, A. (2002). *Bioquímica de los Microorganismos*. (Editorial Reverté ed.). Barcelona, España
- Ferreyra, M., Schvab, M., Gerard, L., & Zapata, L. (2009). Fermentación alcohólica de jugo de naranja con *Saccharomyes cerevisiae*. *Ciencias Exactas y Naturales n°39*.
- Frazier, W. (1995). *Microbiología de los Alimentos* (Westhoff ed.). Zaragoza, España
- Fula, A. (2010). *Desarrollo de una bebida fermentada con adición de cocción de maíz*. Tesis. Universidad Nacional de Colombia Colombia.
- Galecio, G., & Haro, C. (2012). *Bebidas Fermentadas a base de "maíz negro" Zea Mays L.Poaceae; con el eco tipo "racimo de uva" y la variedad "mishca" de la serranía Ecuatoriana*. Tesis previa a la obtención del título de Ingeniería de Biotecnología de los Recursos Naturales, Universidad Politécnica Salesiana, Quito- Ecuador
- Gallego, J. (2011). *Servicio de Vinos España*
- García, J. (2008). *Maridaje, Enología y Cata de Vinos* (Innovacion y Cualificación Ediciones ed.). España
- Garcia, M. Q., R & Lopez, A. (2004). *Biotecnología Alimentaria* (Editorial Limusa ed.). Mexico
- García, P., García, F., & Muela, M. (2004). *Bebidas España*

- Gassem, M. (2002). A microbiological study of Sobia: a fermented beverage in the Western province of Saudi Arabia. *World journal of microbiology & biotechnology*, vol.18.
- Gerard, T., Funke. (2007). INTRODUCCION A LA MICROBIOLOGIA (Editorial Medica Panamericana ed.). España.
- German, J. (2007). Genética Texto y Atlas (Edición Panamericana ed.). New York.
- Gil, A. (2010). Tratado de Nutrición Tomo II Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos (Editorial Médica Panamericana ed.). Argentina
- Grupo García Carrión. (2014). Fermentación Alcohólica, de <http://www.garciacarrion.es/es/vinos-garcia-carrion/pregunta-al-enologo/que-es-la-fermentacion-alcoholica>
- Guzmán, J., Cárdenas, S & Valdez, Z. (2010). FORMULACIÓN DE BEBIDAS FERMENTADAS UTILIZANDO UN PROBIÓTICO (*Lactobacillus casei-shirota*), EZAL Y DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MIEL Y POLEN México: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. .
- Hernandez, A. (2008). Microbiología Industrial (Editorial Zamora-Murillo ed.). Costa Rica
- Herrera, T. (1993). Semblanza del Estudio de las Bebidas y los Fermentados Mexicanos. Alimentos Fermentados Indígenas de México *Universidad Nacional Autónoma de México*
- Hidalgo, J. (2010). Tratado de Enología México-Toluca.
- Hours, R., Ferreyra, M., Schwab, M., Gerard, L., Zapata, L., & Davies, C. (2005). Caracterización físicoquímica y microbiológica de jugos de

naranja destinados a vinificación *Ciencia, Docencia y Tecnología* (31: 219-239).

Hoyos, L., Urbano, F., Villada, H., Mosquera, S., & Navia, D. (2010). Determinación de Parámetros Fermentativos para la Formulación y Obtención de Vino de Naranja (*Citrus sinensis*). *Sector Agropecuario y Agroindustrial, vol.8.no.1*.

Ibáñez, F., Barcina, Y. (2010). Análisis Sensorial de Alimentos Métodos y Aplicaciones (Sprint Copy ed.). Barcelona, España

Ibarza, A., Barboza, G., Garza, S., & Gimeno, V. (2000). Métodos Experimentales en la Ingeniería Alimentaria Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Ilha, E., Bertoldi, F., Cleber, A., Vanderli, D., & Coruma, E. (2008). Alcoholic Fermentation Yield and Efficiency from Honey Wine Production *Boletín de pesquisa e desenvolvimento* 82.

Ingraham, J., Ingraham, C. (1998). Introducción a la Microbiología. (Editorial Reverté, S.A ed.). Barcelona, España

Johnson, M., Steele, J. (2006). Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. (ASM Press ed.). Washington, DC.

Keith, H. (2003). Handbook of Indigenous Fermented Foods (Marcel Dekker, INC. ed.). Cornell University, Ithaca, New York

Klinberg, T. (2005). Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology, Vol 105*.

- Kotz, J., Reichel, P., & Weaver, G. (2005). Chemistry and Chemical Reactivity. USA.
- Lachance, M. (1995). Yeast communities in a natural tequila fermentation. *Antonie van Leeuwenhoek*, 68: 151-160. USA.
- Long, J. (2003). Conquista y Comida Consecuencia del Encuentro de Dos Mundos (Universidad Nacional Autónoma de México ed.). México.
- López, E. (2015). *Caracterización Físico-Química y Microbiológica de las Bebidas Fermentadas de la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas*. Trabajo Previo a la Obtención del Título de Ingeniera de Alimentos, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito-Ecuador. Retrieved from http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5402/1/59994_1.pdf
- Lozano, T. (1997). "Mezclas Pulques y Chinguiritos". En Long, J. (coord). Conquista y Comida. Consecuencias del encuentro de dos mundos. Universidad Nacional Autónoma de México México.
- Lucas, E. (2009). Biotecnología de Alimentos Mexico- Toluca.
- Macy, R. (2005). Química Orgánica Simplificada. Barcelona - España.
- Martínez de Toda, F. (2011). Claves de la viticultura de calidad México.
- Mauri, A., Llobat, M., & Herráez, R. (2010). Laboratorio de Análisis Instrumental Valencia - España
- Mercurio, E. (2014). Pindal, "capital maicera" una alternativa para visitar, Jueves 29 de Enero del 2015, de http://www.elmercurio.com.ec/413068-pindal-capital-maicera-una-alternativa-para-visitar/#.VSQ-K_mG80w

Ministerio de Turismo. (2013). Carchi y su Entorno. Recuperado, Jueves 13 de Noviembre del 2014., de <http://www.turismo.gob.ec/>

Mollendorff, J., Todorov, S & Dicks, L. (2006). Comparison of bacteriocins produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Boza, a cereal-based fermented beverage from the Balkan Peninsula *South Africa : Current microbiology*.

Montville, T. M., K. (2008). Microbiología de Alimentos (Editorial Acribia, S.A ed.). Department of Food Science School of Environmental and Biological Sciences Rutgers, the State University of New Jersey

Mosquera, T. (2012). *Aprovechamiento del Suero de Quesería en la Obtención de una Bebida Fermentada a partir de Mezclas con Jugo de Caña (Saccharum officinarum)*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador.

Naranjo, M. (2005). La Cultura Popular en el Ecuador; Tomo XII Carchi. Cuenca

NIST/SEMATECH. (2009). e-Handbook of Statistical Methods NIST/SEMATECH (Ed.) Retrieved from <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/pri/section3/pri335.htm>

Noriega, B. (2004). Introducción a la Tecnología de Alimentos (Editorial Limusa ed.). México

Norte. (2013). *El Tardón Mireño*. Ibarra. Retrieved from <http://www.elnorte.ec/opinion/editorialistas/36172-el-tard%C3%B3n-mire%C3%B1o.html>

- Norte, E. (2012). Fiestas del Carchi. Recuperado, Viernes 12 de Diciembre del 2014, de <http://www.elnorte.ec/carchi/actualidad/26946-inician-fiestas-de-la-provincia-del-carchi.html>
- O`kennedy, K. a. R., Graham. (2008). Yeast nutrient managment in winemaking. The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker, issue 537.
- Okafor, N. (2007). Modern Industrial Microbiology and Biotechnology. (Science Publishers ed.). Departement of Biological Sciences Clemson University, South Carolina
- Ospina, G., García, J., & Martínez, P. (2010). Gravimetría y Volumetría Fundamentación Experimental en Química Analítica Armenia-Colombia
- Pascual, M. (2005). Enfermedades de Origen Alimentario (Ediciones Diaz de Santos, S.A ed.). México.
- Pascual, M., Calderon, V. (2000). Microbiología Alimentaria Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. (Ediciones Diaz Santos ed.). Madrid, España
- Pereda, M. (2011). Elaboración de Sidra Natural Ecológica México
- Potter, N., Hotchkiss, J. (2005). Ciencia de los Alimentos (Editorial Acribia, S.A. ed.). Zaragoza, España.
- Potter, N., Hotchkiss, J. (2007). FOOD SCIENCE. (Chapman & Hall ed.). Canadá.
- Prefectura del Carchi. (2014). Povincia del Carchi, de <http://www.carchi.gob.ec/index.php/informacion-provincial>

- Raj, D. (2010). *La Estructura de las Encuestas por Muestreo*. (Fondo de Cultura Económica ed.). México
- Ramírez, J. e. a. (2011). *Bacterias lácticas: Importancia en Alimentos y sus Efectos en la Salud*.
- Ray, B. A., B. (2007). *Fundamental Food Microbiology*. (CRC Press ed.). London.
- Rivera, H. (2014). *Caracterización Físico-Química y Microbiológica de las Principales Bebidas Fermentadas de la Provincia de Tungurahua* Universidad Tecnológica Equinoccial Quito- Ecuador.
- Rodriguez, E. (2005). *Bacteriología General: Principios y Practicas de Laboratorio*. (Editorial de la Universidad de Costa Rica ed.). San Jose, Costa Rica.
- Rodríguez, V. (2008). *Bases de la Alimentación Humana* (Editorial Netbiblo, SA ed.). España
- Romero, C. (2012). *Evaluación de la Fermentación Alcohólica para la Producción de Hidromiel*. Obtención del Título Magister en Ingeniería Química Universidad Nacional de Colombia Bogotá- Colombia
- Sanchez, A. (2008). *Mi Lindo Ecuador Recuperado* Viernes 5 de Diciembre, 2014, de <http://fullecuador.blogspot.com/2008/06/las-bebidas-de-mi-lindo-ecuador-el.html>
- Sanchez, D., Lopez, C., Valadez, M., Jofre, A., Aguirre, J., Morales, E., & Reyes, R. (2010). Estudio preliminar del Axokot, bebida tradicional fermentada, bajo una prespectiva transdisciplinaria. *Revista de Investigación de la Universidad Simón Bolívar México*.

- Sánchez, F. (2010). Tratado de Nutrición Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición (Editorial Médica Panamericana ed.). Colombia- Bogota.
- Sanchez, M. (2003). Procesos de Elaboracion de Alimentos y Bebidas. (Ediciones Mundi-Prensa ed.). España- Barcelona.
- Serrano. (2008). El Proceso de Fermentación, de <http://facultad.bayamon.inter.edu/yserrano/microbiologia%20industrial/Proceso%20de%20fermentacion.pdf>
- Sierra, I., Pérez, D., Gómez, S., & Morante, S. (2010). Análisis Instrumental. (Vol. 1 Edición). Coruña- España
- Subero, E. (2007). Obituario de Voces Caraqueñas Caracas- Venezuela
- Telégrafo. (2013). La Producción de Caña de Azúcar Recuperado Jueves 15 de Enero del 2015, de <http://www.telegrafo.com.ec/economia/item/la-produccion-de-cana-de-azucar-crecio-en-tres-anos.html>
- Tequila, C. y. T. d. (2004). Anne Christine Gschaedeler Mathis. Editora técnica Guadalajara, Jalisco, México.
- Terán. (2014). *Caracterización Físico-Química y Microbiológica de las Principales Bebidas Fermentadas de la Provincia de Imbabura* Universidad Tecnológica Equinoccial Quito- Ecuador
- Togores, J. (2006). La calidad del vino desde el viñedo México.
- Ulloa, J. (2006). *Utilización del Suero de Leche en la Elaboración de Bebidas de Bajo Grado Alcohólico con el empleo de Bacterias Ácido Lácticas* Universidad Técnica de Ambato Ambato - Ecuador Retrieved from <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3358/1/P93%20Ref.2982.pdf>

Valdez, L., Betcher, K., & Valdez, E. (2010). Production of Maize Beer at a Wari Site in the Ayacucho Valley, Perú. *Arqueología Iberoamericana* 23-35.

Verapinto, M. (2009). Elaboración de Destilado de Pera y Derivados. Programa Regional Sur - Unidad Operativa Territorial Caravelí
Recuperado Jueves 16 de Abril del 2015, de <http://www.desco.org.pe/sites/default/files/publicaciones/files/13536.pdf>

Vicent, M., Álvarez, S., & Zaragoza, J. (2006). Química Industrial Orgánica, Ingeniería Química y Nuclear Editorial Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.

Vicent, M., Álvarez, S & Zaragoza, J. (2006). Química Industrial Orgánica. (Ed. Universidad Politécnica de Valencia ed.). España

Voet, D., Voet, J. (2004). Bioquímica (Editorial Panamericana ed.). España

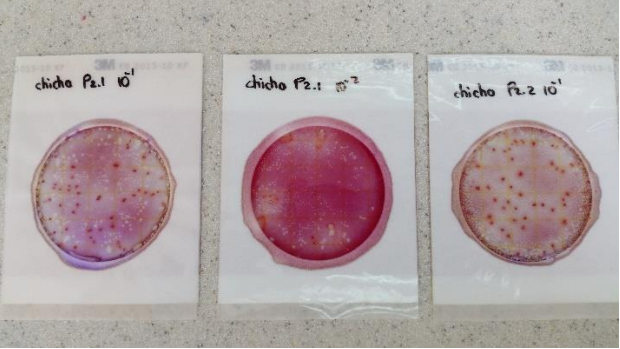
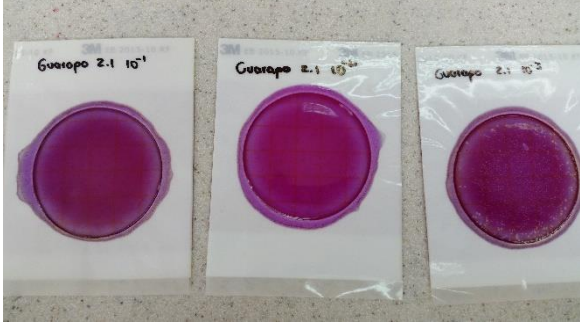
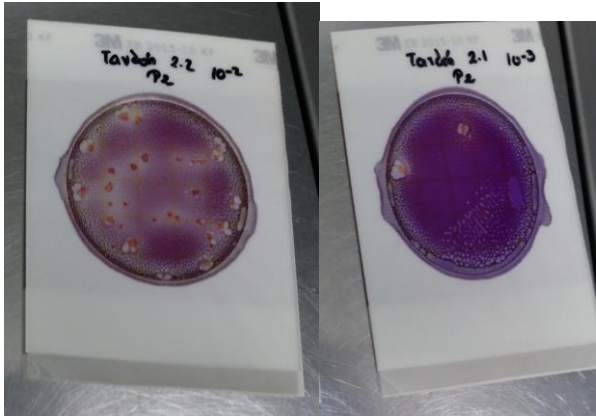
Wriffin, R. (2004). Química Orgánica Moderna Barcelona- España

Zar, J. (2008). Biostatistical Analysis. (Ed. Prentice Hall. Ingelwood ed.). Estados Unidos

ANEXOS

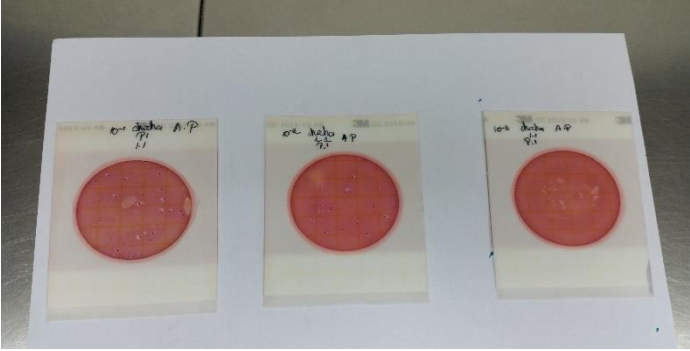

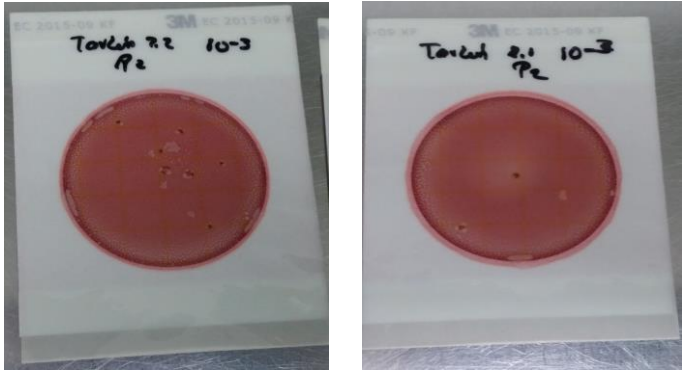
ANEXO I

DIFERENCIAS ENTRE BEBIDAS RECUELTOS MICROBIANOS ENTEROBACTERIAS

BEBIDA	RESULTADOS
CHICHA DE CHOCLO	
GUARAPO	
TARDÓN DE MIRA	

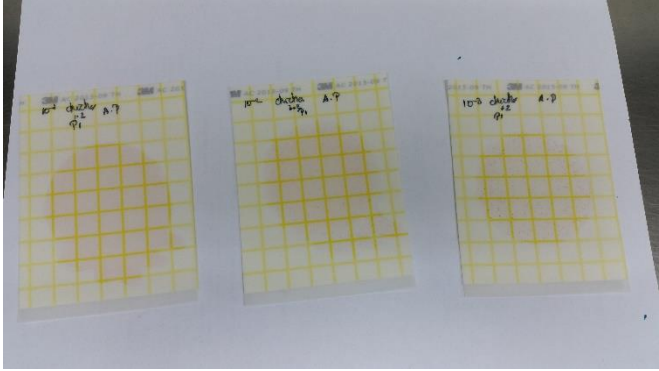
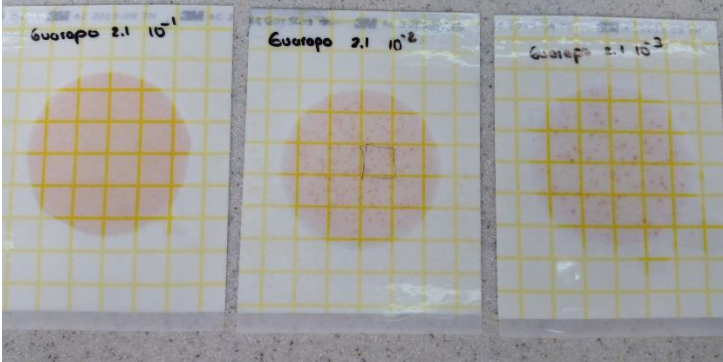
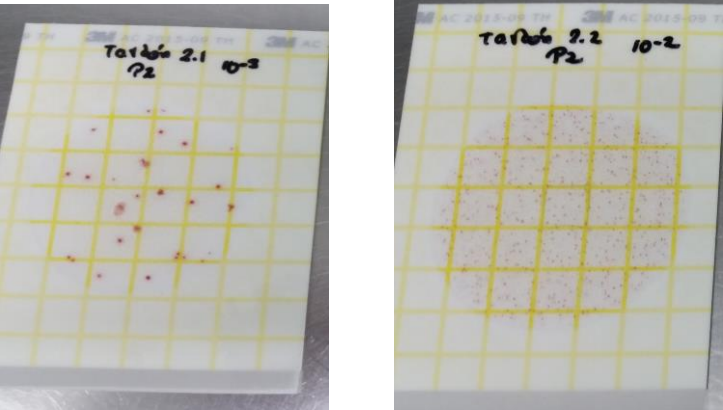
ANEXO II

DIFERENCIAS ENTRE BEBIDAS RECUEENTOS MICROBIANOS COLIFORMES

BEBIDA	RESULTADOS
CHICHA DE CHOCLO	
GUARAPO	
TARDÓN DE MIRA	



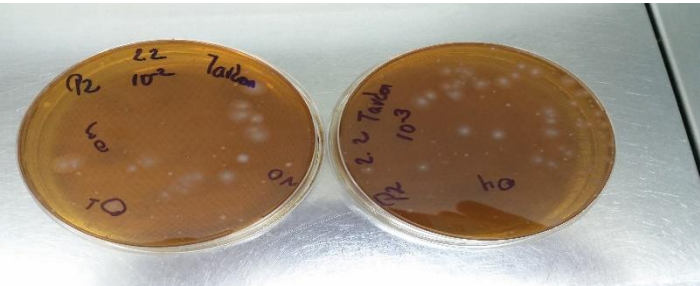
ANEXO III

DIFERENCIAS ENTRE BEBIDAS RECUELTOS MICROBIANOS AEROBIOS MESÓFILOS

BEBIDA	RESULTADOS
CHICHA DE CHOCLO	
GUARAPO	
TARDÓN DE MIRA	

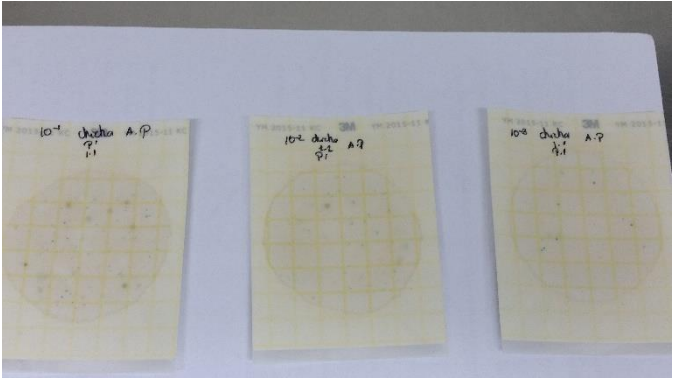

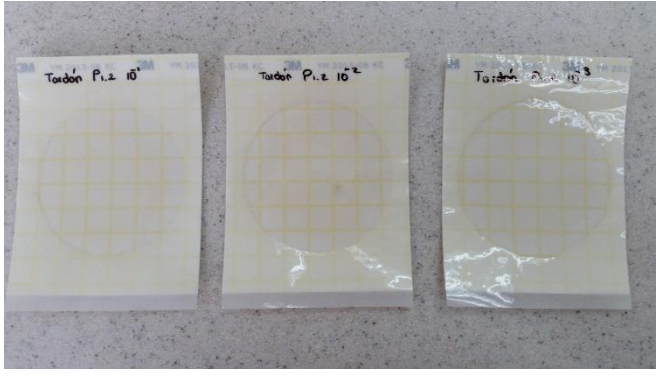
ANEXO IV

DIFERENCIAS ENTRE BEBIDAS RECUELTOS MICROBIANOS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

BEBIDA	RESULTADOS
<p style="text-align: center;">CHICHA DE CHOCLO</p>	
<p style="text-align: center;">GUARAPO</p>	
<p style="text-align: center;">TARDÓN DE MIRA</p>	

ANEXO V

DIFERENCIAS ENTRE BEBIDAS RECUEENTOS MICROBIANOS MOHOS Y LEVADURAS

BEBIDA	RESULTADOS
CHICHA DE CHOCLO	
GUARAPO	
TARDÓN DE MIRA	

ANEXO VI

TINCIÓN SIMPLE LEVADURAS

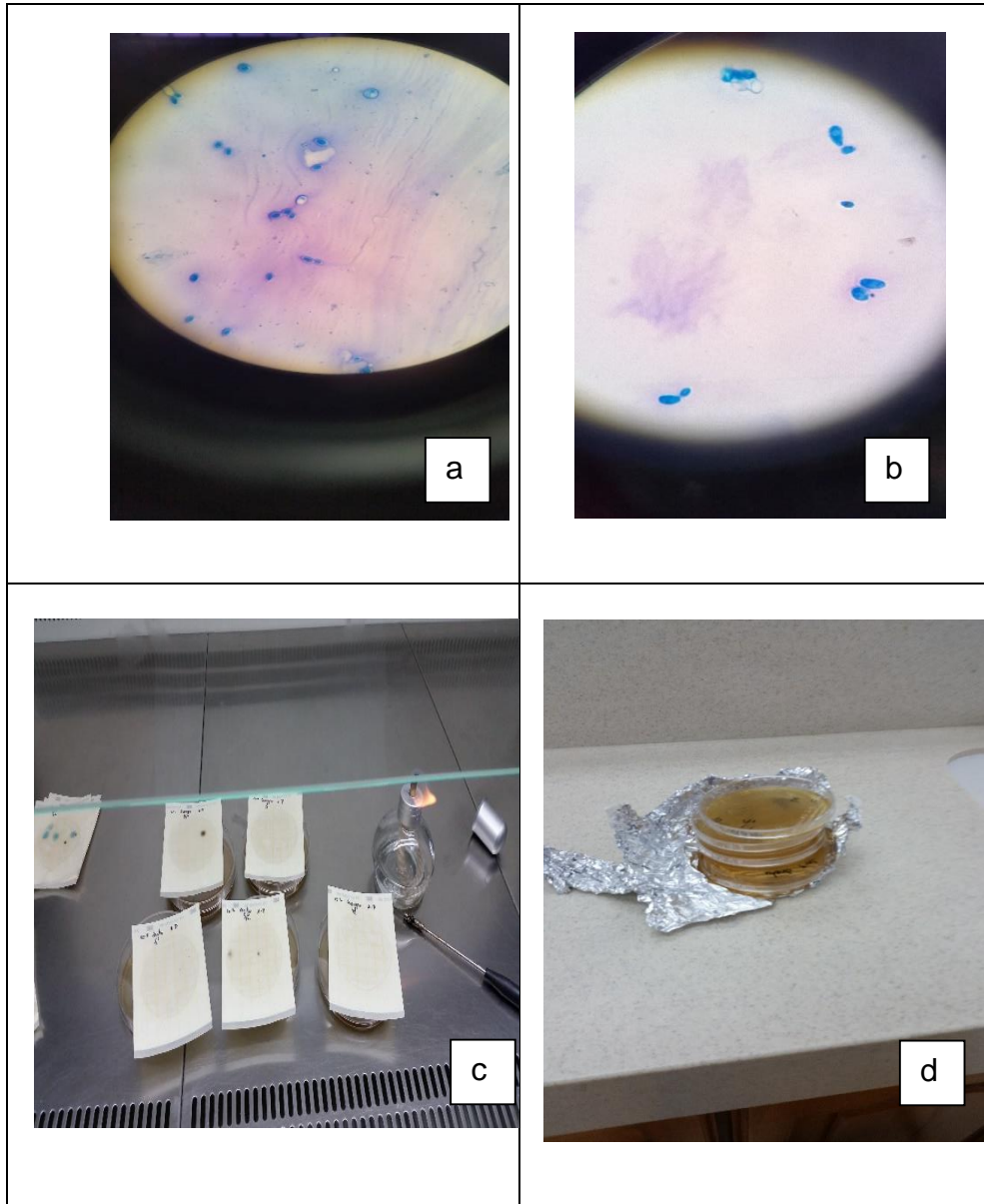


Figura 1. Tinción Simple de Levaduras. a) Levadura medida en 60 x , b) Levadura medida en 100x , c) Toma de muestra de levaduras , d) Elaboración de cepas puras

ANEXO VII

KIT API 20 C AUX PARA LEVADURAS

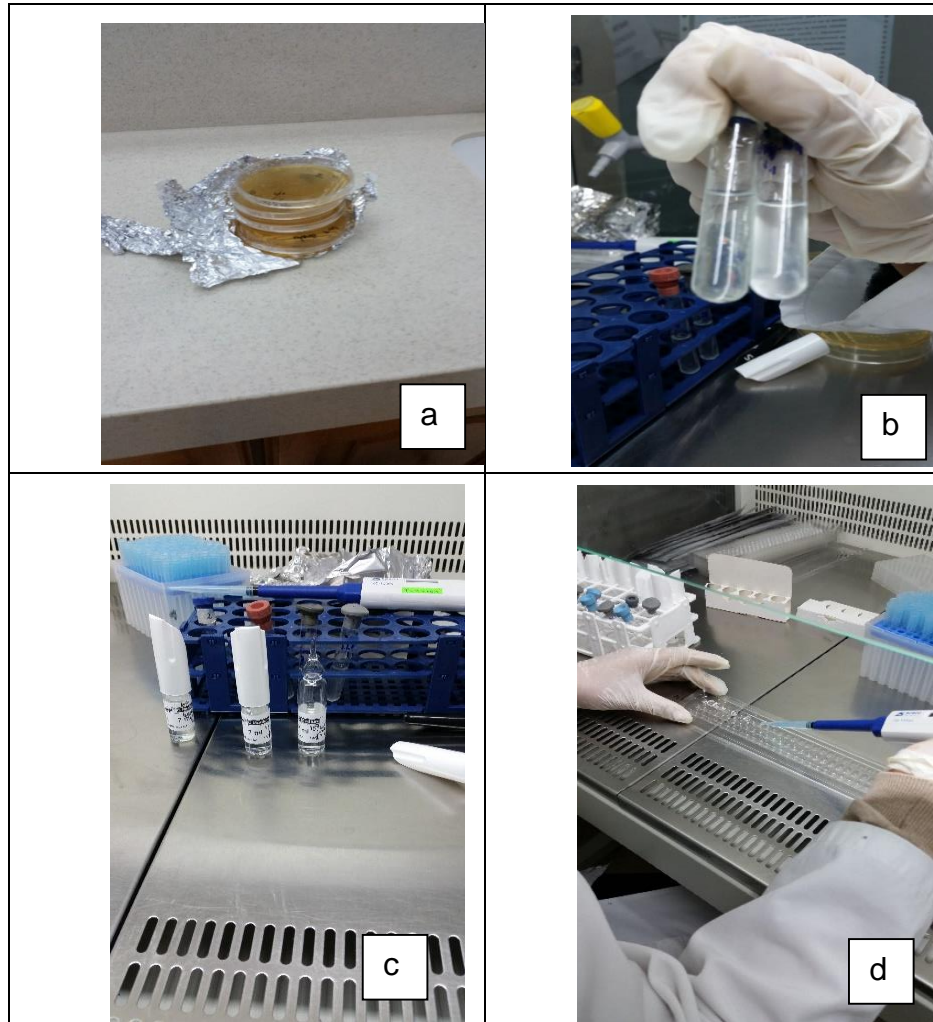


Figura 2. Kit API 20 C AUX para Levaduras. a) Cepas puras, b) Escala McFarland 2, c) API Suspensión Medium Ampolla, d) Cúpulas llenas con agua API C Medium

ANEXO VIII

KIT API 20 C AUX PARA LEVADURAS

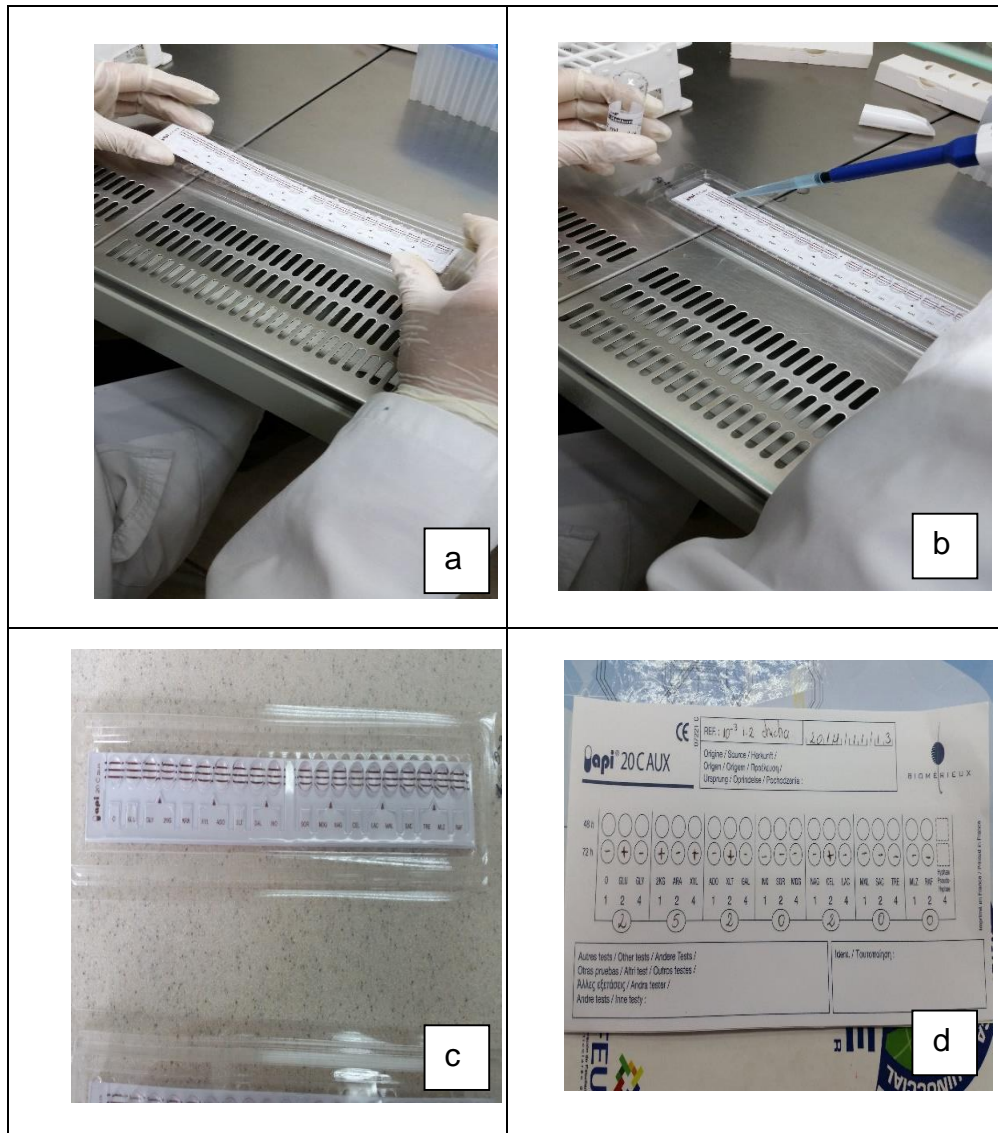


Figura 3. . Kit API 20 C AUX para Levaduras. a) Colocación de las cúpulas para su hidratación, b) Inoculación de las cepas puras de levaduras, c) Revisión de resultados después de 72 horas de incubación, d) Utilización de carta para colocar los resultados positivos y negativos

ANEXO IX

INTERPRETACIÓN RESULTADOS KIT API 20 C AUX PARA LEVADURAS

The figure displays four screenshots of the API WEB interface, each showing the results for a different yeast species. Each screenshot includes a header with the API 20 C AUX V4.0 logo and navigation options (Impresora, Exportar, Nuevo test, Modificar). The interface shows a reference number (21214) and a date (2/12/14). The results are organized into sections: Perfil Inaceptable, Perfil Dudoso, and Taxón significativo. Each section contains a table with columns for % ID, T, and Pruebas en contra. The 'Pruebas en contra' column is further divided into specific tests (XYL, XLT, SOR, MAG, GLY, GAL, MOG, HYPH, ESC, ACTIDORNA). The 'Taxón siguiente' section lists other species with their respective test results.

a) Levadura *Kloeckera spp*

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Kloeckera spp</i>			XYL 0% XLT 0%

b) Levadura *Saccharomyces cerevisiae 1*

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Saccharomyces cerevisiae 1</i>	92.6	0.36	XYL 0% MOG 13%

c) Levadura *Candida utilis*

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Candida utilis</i>	2.3	0.13	GLY 99% GAL 5% MOG 3%

d) Levadura *Trichosporum mucoides*

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Cryptococcus laurentii</i>	46.1	0.8	GLY 6%
<i>Cryptococcus humicola</i>	29.5	0.68	HYPH 99%
<i>Trichosporum mucoides</i>	23.4	0.77	HYPH 95%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Candida famata</i>	0.7	0.5	MO 0%

Pruebas complementarias(s)	LACTADes	ESC (HYD)	ACTIDORNA
<i>Cryptococcus humicola</i>	100%	20%	71%
<i>Cryptococcus laurentii</i>	24%	40%	20%
<i>Trichosporum mucoides</i>	100%	+	100%

Figura 4. API WEB. a) Levadura *Kloeckera spp*, b) Levadura *Saccharomyces cerevisiae 1*, c) Levadura *Candida utilis*, d) Levadura *Trichosporum mucoides*.

ANEXO X

RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

CHICHA DE CHOCLO PRODUCTOR 1



Orden de trabajo N° 144720
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Adriana Páramo
DIRECCIÓN: Santa Anita #2
FECHA DE RECEPCIÓN: 15 de diciembre del 2014
MUESTRA: Bebida fermentada Chicha 1.1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color habano
ENVASE: Frasco de vidrio
CONTENIDO DECLARADO: 1 litro
FECHA DE ELABORACIÓN: 12 de diciembre del 2014
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 15 - 23 de diciembre del 2014
REFERENCIA: 144720
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 32% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	Método	Determinación # 1	Determinación # 2
Color:	Visual	Habano	Habano
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	0.33	0.33
Extracto seco (g / 100 ml)	INEN 346	7.17	7.25
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9995	0.9995
pH (20°C):	INEN 383	3.45	3.44
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro) :	INEN 341	182.44	182.40
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	119.03	119.00
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	100.05	100.00
Aldehidos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 343	100.00	100.10
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 342	14970.20	14970.20
Metanol (mg/100ml alcohol anhidro) :	INEN 347	0.00	0.00

Dr. Oscar Luzuriaga
PRESIDENTE
LABOLAB

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.

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

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versailles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412

www.labolab.com.ec

e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec
Quito - Ecuador

ANEXO XI

CHICHA DE CHOCLO PRODUCTOR 2



Orden de trabajo N° 150072
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Adriana Páramo
DIRECCIÓN: Santa Anita #2
FECHA DE RECEPCIÓN: 12 de enero del 2015
MUESTRA: Bebida fermentada Chicha 2.1 - 2.2
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido con sedimento color habano
ENVASE: Frasco de vidrio
CONTENIDO DECLARADO: 1 litros
FECHA DE ELABORACIÓN: 9 de enero del 2015
LOTE: -----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 12 - 21 de enero del 2015
REFERENCIA: 150072
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 25°C 31% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	Método	Determinación # 1	Determinación # 2
Color:	Visual	Habano	Habano
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	0.46	0.46
Extracto seco (g / 100 ml)	INEN 346	3.83	3.90
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9993	0.9993
pH (20°C):	INEN 383	3.36	3.36
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro) :	INEN 341	112.05	110.00
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	100.08	100.00
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	95.09	95.02
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 343	454.35	454.35
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 342	2699.23	2720.01
Metanol (mg/100ml alcohol anhidro) :	INEN 347	0.00	0.00

O. Luzuriaga
 Dr. Oscar Luzuriaga
 PRESIDENTE DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

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

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax.: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412
 e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec
www.labolab.com.ec
 Quito - Ecuador

ANEXO XII

GUARAPO PRODUCTOR 1



Orden de trabajo N° 144721
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Adriana Páramo
DIRECCIÓN: Santa Anita #2
FECHA DE RECEPCIÓN: 15 de diciembre del 2014
MUESTRA: Bebida fermentada Guarapo 1.1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color habano oscuro
ENVASE: Frasco de vidrio
CONTENIDO DECLARADO: 1 litros
FECHA DE ELABORACIÓN: 12 de diciembre del 2014
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 15 - 23 de diciembre del 2014
REFERENCIA: 144721
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 32% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	Método	Determinación # 1	Determinación # 2
Color	Visual	Habano oscuro	Habano oscuro
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	7.43	7.43
Extracto seco (g / 100 ml)	INEN 346	3.75	3.69
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9896	0.9896
pH (20°C):	INEN 383	3.19	3.18
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro) :	INEN 341	334.47	334.51
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	235.45	234.60
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	100.56	100.10
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 343	2.96	2.96
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 342	16200.00	16210.0
Metanol (mg/100ml alcohol anhidro) :	INEN 347	0.00	0.00

Dr. Oscar Luzuriaga
PRESIDENTE
LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.
Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización de la Secretaría de Alimentos y Afines.

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax.: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412

www.labolab.com.ec

e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec
Quito - Ecuador

ANEXO XIII

GUARAPO PRODUCTOR 2



Orden de trabajo N° 144722
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Adriana Páramo
DIRECCIÓN: Santa Anita #2
FECHA DE RECEPCIÓN: 15 de diciembre del 2014
MUESTRA: Bebida fermentada Guarapo 2.1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color habano oscuro
ENVASE: Frasco de vidrio
CONTENIDO DECLARADO: 1 litros
FECHA DE ELABORACIÓN: 12 de diciembre del 2014
LOTE: ---
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 15 - 23 de diciembre del 2014
REFERENCIA: 144722
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 32% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	Método	Determinación # 1	Determinación # 2
Color	Visual	Habano oscuro	Habano oscuro
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	2.22	2.22
Extracto seco (g / 100 ml)	INEN 346	15.01	14.74
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9967	0.9967
pH (20°C):	INEN 383	3.13	3.12
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro) :	INEN 341	726.43	726.43
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	546.47	546.10
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	289.13	289.00
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 343	178.38	178.38
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 342	15185.00	15180.99
Metanol (mg/100ml alcohol anhidro) :	INEN 347	0.00	0.00

Dr. Oscar Luzuriaga
PRESIDENTE
LABOLAB

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

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 09989590-412
e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

ANEXO XIV

TARDÓN MIREÑO PRODUCTOR 1



Orden de trabajo N° 144723
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Adriana Páramo
DIRECCIÓN: Santa Anita #2
FECHA DE RECEPCION: 15 de diciembre del 2014
MUESTRA: Bebida fermentada Tardón 1.1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color amarillo
ENVASE: Frasco de vidrio
CONTENIDO DECLARADO: 1 litros
FECHA DE ELABORACION: 12 de diciembre del 2014
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 15 - 23 de diciembre del 2014
REFERENCIA: 144723
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 32% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	Método	Determinación # 1	Determinación # 2
Color	Visual	Amarillo	Amarillo
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	30.09	30.09
Extracto seco (g / 100 ml)	INEN 346	20.04	20.30
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9637	0.9637
pH (20°C):	INEN 383	4.04	4.02
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro) :	INEN 341	317.41	317.41
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	223.60	223.46
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	110.20	100.14
Aldehidos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 343	5.12	5.12
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 342	245.54	245.54
Metanol (mg/100ml alcohol anhidro) :	INEN 347	0.00	0.00

Dr. Oscar Luzuriaga
PRESIDENTE

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.

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

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412

www.labolab.com.ec

e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec
Quito - Ecuador

ANEXO XV

TARDÓN MIREÑO PRODUCTOR 2



Orden de trabajo N° 144724
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Adriana Páramo
DIRECCIÓN: Santa Anita #2
FECHA DE RECEPCIÓN: 15 de diciembre del 2014
MUESTRA: Bebida fermentada Tardón 2.1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color amarillo
ENVASE: Frasco de vidrio
CONTENIDO DECLARADO: 1 litro
FECHA DE ELABORACIÓN: 12 de diciembre del 2014
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 15 - 23 de diciembre del 2014
REFERENCIA: 144724
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 32% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	Método	Determinación # 1	Determinación # 2
Color	Visual	Amarillo	Amarillo
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	25.01	25.01
Extracto seco (g / 100 ml)	INEN 346	17.64	17.42
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9697	0.9697
pH (20°C):	INEN 383	3.95	3.96
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro) :	INEN 341	507.39	507.39
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	327.68	227.23
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	257.37	257.15
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 343	2.64	2.64
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro) :	INEN 342	25.15	25.15
Metanol (mg/100ml alcohol anhidro) :	INEN 347	0.00	0.00

Dr. Oscar Luzuriaga
PRESIDENTE

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

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA REGISTRO SANITARIO

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
Av. Pérez Guerrero Oe 21-11 y Versalles - Of. 12 B - 2do. Piso - Telefax.: 2563-225 / 2235-404 / 3214-333 / 3214-353 Cel.: 0999590-412
e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador