



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE
LAS PRINCIPALES BEBIDAS FERMENTADAS TRADICIONALES
DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO**

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

JENNIFER CARLA PARREÑO CARRERA

DIRECTORA: ING. NUBIA GRIJALVA

Quito, Enero, 2016

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2016
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo **JENNIFER CARLA PARREÑO CARRERA**, 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.

JENNIFER CARLA PARREÑO CARRERA

C.I. 171518669-6

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título “**CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LAS PRINCIPALES BEBIDAS FERMENTADAS TRADICIONALES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO – ECUADOR**”, que, para aspirar al título de **Ingeniera de Alimentos** fue desarrollado por **Carla Parreño**, 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 Vallejo

DIRECTORA DEL TRABAJO

C.I. 171766568-9

DEDICATORIA

Este trabajo dedico con mucho cariño a mis padres Carlos y Patricia, por su esfuerzo y apoyo. A mis hermanas Carolina, Salomé y Doménica. A mi esposo Alex y a mi hijo Thiago.

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme cumplir una meta más en mi vida, por darme salud y fuerza para salir adelante.

Quiero agradecer a mis padres por el sacrificio y esfuerzo que hicieron para poder cumplir esta meta que no es solo mía sino de toda mi familia. A mis hermanas por el apoyo y por cuidar de mi hijo para poder terminar mi trabajo, gracias.

A mi esposo que ha sido mi compañero, mi amigo y apoyo primordial en todas las etapas de mi vida, gracias por tu amor y tus palabras. A mi hijo que es mi mayor ilusión y por quien estoy dispuesta a seguir luchando.

También quiero agradecer a mi directora de Tesis la Ingeniera Nubia Grijalva, por su paciencia, cariño y palabras de motivación, gracias por ayudarme a hacer realidad este sueño.

Finalmente agradezco a la Universidad Tecnológica Equinoccial y a los docentes de la Facultad de Ingeniería de Alimentos por sus conocimientos impartidos y por crear y fortalecer el amor a mi carrera.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁGINA
RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCOTEÓRICO	4
2.1 PROVINCIA DE CHIMBORAZO	4
2.1.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA	4
2.1.2 BEBIDAS FERMENTADAS DE LA PROVINCIA DEL CHIMBORAZO	5
2.2 FERMENTACIONES	6
2.2.1 FERMENTACIÓN NATURAL	7
2.2.2 FERMENTACIÓN CONTROLADA	7
2.2.3 HISTORIA DE LA FERMENTACIÓN	7
2.2.4 TIPOS DE FERMENTACIONES	8
2.2.5 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	8
2.2.6 FERMENTACIÓN ÁCIDA	10
2.3 FERMENTACIONES APLICADAS A LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS	10
2.4 MICROORGANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA FERMENTACIÓN	11
2.4.1 MOHOS	13
2.4.2 LEVADURAS	14

2.4.3	BACTERIAS	16
2.5	BEBIDAS FERMENTADAS EN EL MUNDO	17
2.6	BEBIDAS FERMENTADAS ECUATORIANAS	19
2.6.1	CHICHAS	19
2.6.1.1	TIPOS DE CHICHAS	20
2.6.2	EL AGUARDIENTE	22
2.6.2.1	TIPOS DE AGUARDIENTES	23
2.6.3	PREPARADOS DE FRUTAS	24
3.	METODOLOGÍA	25
3.1	LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN	25
3.1.1	TOMA DE MUESTRA	25
3.2	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	26
3.2.1	DILUCIONES SUCESIVAS	26
3.2.2	SIEMBRA EN PLACA EN PROFUNDIDAD	26
3.2.3	RECuentos totales de poblaciones microbianas	28
3.3	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	29
3.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
4.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	33
4.1	SELECCIÓN DE LAS PRINCIPALES BEBIDAS FERMENTADAS DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO	33
4.2	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	37
4.2.1	CHICHA DE JORA	37

4.2.2	CHICHA HUEVONA	39
4.2.3	PREPARADO DE FRUTAS (DELICIOSO)	42
4.2.4	COMPARACIÓN DE RECuentOS MICROBILÓGICOS ENTRE LA CHICHA DE JORA Y LA CHICHA HUEVONA.	44
4.3	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	46
4.3.1	GRADO ALCOHÓLICO	46
4.3.2	EXTRACTO SECO	47
4.3.3	pH	48
4.3.4	GRAVEDAD ESPECÍFICA	49
4.3.5	ACIDEZ TOTAL, FIJA Y VOLÁTIL	49
4.3.5.1	ACIDEZ FIJA	49
4.3.5.2	ACIDEZ VOLÁTIL	50
4.3.5.3	ACIDEZ TOTAL	50
4.3.6	ÉSTERES	51
4.3.7	ALDEHÍDOS	51
4.3.8	METANOL	52
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
5.1	CONCLUSIONES	53
5.2	RECOMENDACIONES	55
	BIBLIOGRAFÍA	56
	ANEXOS	65

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Bebidas producidas a nivel mundial.	17
Tabla 2. Especificaciones para la siembra en placa en profundidad de algunos microorganismos.	27
Tabla 3. Metodología Análisis Físico-Químicos.	29
Tabla 4. Trabajos de titulación realizados en la UNACH y SPOCH afines al tema de bebidas fermentadas.	34
Tabla 5. Bebidas Fermentadas más representativas de la Provincia de Chimborazo.	36
Tabla 6. Análisis microbiológicos realizados en la Chicha de Jora.	38
Tabla 7. Análisis microbiológicos realizados en la Chicha Huevona.	40
Tabla 8. Análisis microbiológicos realizados en el Delicioso (Preparado de frutas).	42
Tabla 9. Interacción entre Chicha de Jora y Chicha Huevona.	44
Tabla 10. Resultados de los Análisis Físico-Químicos.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Mapa de la Provincia de Chimborazo	4
Figura 2. Pasos de la Fermentación Alcohólica	9
Figura 3. Morfología de los hongos	13
Figura 4. Proceso de Elaboración de la Chicha de Jora	20
Figura 5. Proceso de Elaboración de la Chicha Huevona	21
Figura 6. Destilería de aguardiente totalmente de cobre (Portugal)	22
Figura 7. Proceso de Elaboración del Delicioso de Frutas	24

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
Anexo I. Recuentos Microbiológicos para la muestra Chicha de Jora	65
Anexo II. Recuentos Microbiológicos para la muestra Chicha Huevona	66
Anexo III. Recuentos Microbiológicos para la muestra Delicioso	67
Anexo IV. Recuentos Totales de Microorganismos Presentes en la Muestra Chicha de Jora	68
Anexo V. Recuentos Totales de Microorganismos Presentes en la Muestra Chicha Huevona	69
Anexo VI. Recuentos Totales de Microorganismos Presentes en la Muestra Delicioso	70
Anexo VII. Resultados de Análisis Físico-Químico de la Chicha de Jora Productor 1	71
Anexo VIII. Resultados de Análisis Físico-Químico de la Chicha de Jora Productor 2	72
Anexo IX. Resultados de Análisis Físico-Químico de la Chicha Huevona Productor 1	73
Anexo X. Resultados de Análisis Físico-Químico de la Chicha Huevona Productor 2	74
Anexo XI. Resultados de Análisis Físico-Químico del Delicioso de Frutas Productor 1	75
Anexo XII. Resultados de Análisis Físico-Químico del Delicioso de frutas Productor 2	76

RESUMEN

Como parte de la cultura de los pueblos indígenas y mestizos de la serranía ecuatoriana, se elaboran y consumen bebidas fermentadas tradicionales en celebraciones religiosas y en las fiestas de cada cantón. En la provincia de Chimborazo existe una importante población indígena, la más alta del país, por lo cual el consumo de bebidas fermentadas es sustancial. Se realizó inicialmente un trabajo de campo, en donde se efectuaron entrevistas a los productores directos de las bebidas fermentadas más representativas en los diez cantones de la provincia de Chimborazo; además se realizaron consultas bibliográficas en Universidades e Instituciones públicas y privadas. Una vez analizada toda la información disponible, tomando en cuenta frecuencia de elaboración y consumo, difusión y distribución, se seleccionaron como las tres bebidas más representativas de la provincia a las siguientes: Chicha de Jora, Chicha Huevona y Delicioso de frutas. Se tomaron muestras de estas bebidas elaboradas por dos productores diferentes en tres lotes de producción (un lote semanal). Se realizaron análisis microbiológicos y físico-químicos para determinar la calidad de estos productos. Se realizó recuentos en placa en medios selectivos para determinar la carga microbiana total de coliformes, enterobacterias, aerobios mesófilos, bacterias ácido-lácticas, mohos y levaduras. Con respecto a los análisis físico-químicos, se determinó para cada bebida los siguientes parámetros: grado alcohólico, extracto seco, gravedad específica, pH, acidez total, acidez fija, acidez volátil, aldehídos, ésteres y metanol. La Chicha de Jora y la Chicha Huevona presentaron los valores de recuentos más altos (4 – 6 log UFC/ml) para todos los indicadores microbianos evaluados; el Delicioso de Frutas presentó valores inferiores sin embargo importantes, entre 2 – 4 log UFC/ml; para varios análisis se reportaron diferencias significativas entre productores y lotes de producción, lo que refleja variabilidad en la forma de elaboración de las bebidas y problemas de contaminación. En relación a los resultados de los análisis físico químicos, las dos chichas estudiadas presentaron

un pH ácido mientras que el Delicioso de frutas presentó un pH cercano a 7, en todas las bebidas se detectó un valor alto de aldehídos y ésteres, el grado alcohólico más alto lo presentó el delicioso de frutas (mayor a 13° GL) ya que contiene aguardiente y ninguna bebida presentó metanol. Las bebidas fermentadas tradicionales de la provincia de Chimborazo presentan una calidad deficiente ya que no existe estandarización de los procesos de elaboración de las mismas además de errores de higiene y manipulación.

ABSTRACT

An important part of the indigenous and mestizo culture of the people of the Ecuadorean Sierra is the making and consuming of traditional fermented beverages in religious festivals and town parties. In the province of Chimborazo there is an important indigenous population, the highest in the country, for whom the consumption of fermented beverages is substantial. Initially they did a study of the countryside in which they directly interviewed the makers of the fermented beverages from each of the ten villages in the province of Chimborazo. Additionally they did research at libraries at universities and public and private institutions. Upon analyzing all of the available information, taking into account the frequency of production and consumption, diffusion and distribution, they selected the three drinks that were most representative of the province: Chicha de Jora, Chicha Huevona, and Delicioso de Frutas. They took samples of these beverages made by two different producers from three batches (weekly batch). They completed microbiological and physical-chemical analyses to determine the quality of the products. They took samples to determine the total microbial load of coliforms, enterobacteria, aerobic mesophilic, lactic bacteria, molds and yeasts. With respect to the physical-chemical analysis, they determined the following things for each drink: alcoholic content, dryness, pH level, total acidity, fixed acidity, volatile acidity, aldehydes, esters and methanol. The Chicha de Jora and the Chicha Huevona presented the highest levels (4-6 log UFC/ml) for all of the microbes evaluated. The Delicioso de Frutas, however, presented significantly lower values, between 2 - 4 log cfu/ml, and significant differences between producers and production lots were noted, reflecting variability in the form of preparation of beverages as well as pollution problems. In relation to the results of the physical-chemical analysis, the two studied chichas showed a pH acid level of 1 while Delicioso de Frutas presented a pH close to 7. They detected a high value of aldehydes and esters in all the drinks, the highest alcoholic percentage being the Delicioso de Frutas (more than 13 ° GL) since it contains brandy. No

drink presented methanol. Traditional fermented beverages of Chimborazo province are of poor quality due to lack of standardization of the manufacturing processes, as well as poor hygiene conditions and handling errors.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, la fermentación ha sido la principal forma de preservar los alimentos. El crecimiento microbiano causa cambios químicos y de textura para formar un producto que puede almacenarse durante largos periodos de tiempo, alargando así su vida útil (Willey, Sherwood&Woolverton, 2009).

La fermentación ayuda a desarrollar un sabor más agradable, hace al alimento más nutritivo y principalmente hace que adquiera una estabilidad natural debido a los microorganismos que generan ácidos orgánicos y otros compuestos que impiden el crecimiento de patógenos, de tal manera que el alimento no necesita de medios sofisticados de conservación, que en muchas partes del mundo son imprácticos, y en otras inexistentes (Steinkraus, 1989).

La fermentación más importante es la Alcohólica, los azúcares simples como la glucosa se convierten en alcohol etílico y dióxido de carbono, ésta se lleva a cabo mayoritariamente por levaduras del género *Saccharomyces*, y se produce a partir de azúcares del arroz, del trigo, cebada y del maíz. La producción de etanol se basa en un proceso químico de fermentación, que provoca un cambio en las sustancias de naturaleza orgánica llevado a cabo por la acción de enzimas en donde las sustancias orgánicas complejas se transforman en otras simples (Sánchez, 2005).

La fermentación alcohólica tiene una serie de subproductos además del etanol, estos incluyen compuestos carbonil, alcoholes, ésteres, ácidos y acetales; los cuales influyen en la calidad del producto final, además los niveles de la composición y de concentración de los subproductos son extensamente variables (Dragone et al, 2009).

Las bebidas alcohólicas que se obtienen a partir de cereales sufren dos grandes procesos antes de llegar a los consumidores; uno de ellos es la degradación del almidón a azúcares fermentables y el otro es la conversión de los azúcares a

ácidos orgánicos y alcohol. Dado a su bajo pH y alta concentración de alcohol, este tipo de bebidas alcohólicas son productos poco perecederos y además no contienen bacterias patógenas, que causan enfermedades (Steinkraus, 1983). Para la fermentación de cereales y granos, el almidón y las proteínas contenidas en estos sustratos deben primero hidrolizarse para producir sustratos para la fermentación alcohólica (Willey, Sherwood&Woolverton, 2009).

La chicha es una bebida obtenida de la harina de maíz denominado Jora, el mismo que es una herencia de nuestros antepasados, que elaboraban este brebaje para rituales y celebraciones. Por este motivo es conocida como la bebida sagrada de los Incas. La Chicha es elaborada a lo largo de los países del callejón interandino, en el Ecuador es famosa en la Sierra, entre los lugares que conservan su elaboración podemos señalar a los pueblos de Cotacachi, Otavalo, Cayambe, la provincia de Chimborazo y Azuay (Rosas, 2012).

La chicha es una bebida alcohólica ácida efervescente cuyo color varía desde amarillo hasta rojo púrpura, dependiendo del tipo y color del maíz que se utilice como materia prima. El contenido de alcohol también varía, por lo general entre 5 y 9%. El producto debe ser consumido rápidamente ya que si se deja reposar habrá una formación excesiva de ácido acético, lo que afecta negativamente las propiedades organolépticas. Esta bebida está incluida dentro de los pocos productos cuya obtención se da por la hidrólisis del almidón por medio de la saliva. Las enzimas amilolíticas de la saliva transforman parte del almidón en carbohidratos fermentados (Othon, 1996).

La información sobre bebidas fermentadas tradicionales que se producen y comercializan en la provincia de Chimborazo es escasa, este fue el motivo por el que se llevó a cabo esta investigación. La información se recopiló en el campo mediante entrevistas a moradores y productores directos de la provincia, también se realizó una búsqueda bibliográfica ya que estos conocimientos se han transmitido por generaciones y no han podido ser documentadas.

El objetivo general que se planteó para este trabajo de titulación fue: Caracterizar físico-química y microbiológicamente las principales bebidas fermentadas tradicionales de la provincia de Chimborazo-Ecuador y como objetivos específicos: Identificar las principales bebidas fermentadas de la Provincia de Chimborazo; Caracterizar microbiológicamente a las tres bebidas fermentadas más representativas de la provincia de Chimborazo; Caracterizar fisicoquímicamente a las tres bebidas fermentadas más representativas de la Provincia de Chimborazo.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1 PROVINCIA DE CHIMBORAZO

2.1.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

La Provincia de Chimborazo está ubicada en la parte central de callejón interandino del Ecuador. Limita al norte con la provincia de Tungurahua, al sur con las provincias de Cañar y Guayas, al este con la provincia de Morona Santiago y al oeste con la provincia de Bolívar. Actualmente, se divide en 10 cantones y 45 parroquias. Su extensión alcanza los 6600 kilómetros cuadrados y su población consta de 458581 habitantes. La capital provincial es Riobamba conocida como "Sultana de Los Andes" (Gobierno Autónomo Descentralizado de la provincia de Chimborazo, 2008; INEC, 2010).



Figura 1. Mapa de la Provincia de Chimborazo

La provincia está integrada por los cantones Alausí, Colta, Cumandá, Chambo, Chunchi, Guamote, Guano, Pallatanga, Penipe y Riobamba (Figura 1). Por estar situada en plena cordillera de los Andes, su paisaje está adornado por nevados y elevaciones de gran importancia como el Cubilín (4 711 m), el Chimborazo (6 310 m), el Altar (4 545 m) entre otros. Es una provincia agrícola y ganadera, dentro de la cual se cultiva una gran variedad de legumbres como trigo, cebada, además de papas y frutas. Se destaca también la producción de carne, leche y quesos de gran calidad (Avilés, 2014).

2.1.2 BEBIDAS FERMENTADAS DE LA PROVINCIA DEL CHIMBORAZO

Las bebidas más importantes en la provincia debido a su carácter religioso y ancestral son las chichas y los preparados de frutas (Deliciosos). La chicha de jora llamada así por su variedad de maíz, es endulzada con panela y fermentada con piña; la comida como el hornado con tortillas, yaguarlocro y fritada son acompañadas con este delicioso brebaje. También se encontró en Guano una bebida muy popular denominada chicha huevona, conocida por su incomparable sabor y elevado grado alcohólico, debido a su preparación en la que se añade huevo y cerveza a la chicha de jora. En Pallatanga y Riobamba se encontró los preparados de frutas denominados Deliciosos, producidos principalmente para ocasiones especiales como el carnaval y fiestas religiosas en las que los turistas pueden degustar de estas bebidas típicas y artesanales (Gobierno Autónomo Descentralizado de la provincia de Chimborazo, 2008; INEC, 2010).

2.2 FERMENTACIONES

La fermentación requiere la presencia de un conjunto de catalizadores denominados enzimas, las mismas que son mediadoras del metabolismo y están encargadas de las reacciones que ocurren dentro de una célula; las enzimas poseen un extraordinario potencial catalítico y grado de especificidad elevado acelerando las reacciones químicas específicas sin formación de subproductos (Melo & Cuamatzi 2006).

Durante la fermentación espontánea de los mostos pueden intervenir un gran número de variables que hacen inestable e insegura la fermentación y la calidad del producto como la demora en el inicio de la fermentación y consumo parcial de azúcares fermentables por levaduras con poco poder fermentativo, temperaturas variables que generalmente provocan la parada del proceso fermentativo, poca aireación del mosto al comienzo del proceso y precaria higiene (Suarez & Iñigo, 1992).

El objetivo de la fermentación es obtener un aroma característico en el producto y mantener su efecto conservador. En la actualidad, los sectores industriales de alimentos fermentados son una parte importante de la industria alimentaria (Fellows, 2007).

Los microorganismos fermentadores pueden proporcionar, factores de crecimiento para los microorganismos que influyen en la secuencia microbiológica, fortifican la bebida, proveen sustancias químicas que dan a la bebida un sabor definitivo, así mismo como un olor y un color característico (Litzinger, 1983, mencionado por Sedano 2006).

2.2.1 FERMENTACIÓN NATURAL

Consiste en añadir una población microbiana presente de manera natural en materiales crudos o algunos productos que contienen los microorganismos deseables, entonces se establecen las condiciones de fermentación para prevenir el crecimiento de microorganismos no deseables que pudieran estar presentes en los materiales crudos (Ray&Arun, 2010).

Las fermentaciones naturales se desarrollan por selección de microorganismos particulares que a través de sus metabolismos específicos orientan los procesos fermentativos en una dirección determinada, dando como resultado la conservación natural por la formación de sustancias de actividad conservante, tales como ácido láctico, ácido acético o bacteriocinas (Bello, 2005).

2.2.2 FERMENTACIÓN CONTROLADA

En este tipo de fermentación se identifican y purifican los microorganismos relacionados con la fermentación de un alimento y se mantienen en el laboratorio, cuando se requieran para la fermentación de un alimento específico se cultivan las especies relacionadas y se añaden a los materiales crudos como inóculo (Ray&Arun, 2010).

2.2.3 HISTORIA DE LA FERMENTACIÓN

Algunas bebidas tradicionales han trascendido en el tiempo y espacio, hasta el momento continúan siendo objeto de estudio por la importancia socioeconómica e industrial, como es el caso de los aguardientes y chichas que son bebidas

fermentadas con o sin alcohol, que se siguen produciendo mayoritariamente en las comunidades indígenas del Ecuador, cuya preparación es local pero su importancia es regional (Hernández 1996).

La fermentación de alimentos es una práctica antigua presente en las culturas de todo el mundo, la mayoría de los alimentos fermentados se denominan tradicionales debido a su elaboración que es artesanal y a su consumo dentro de los grupos étnicos. La elaboración de este tipo de alimentos y bebidas es relativamente sencilla y tienen costos bajos (García, Quintero, López 2004).

En la fermentación de alimentos, se hace uso de la acción controlada de microorganismos seleccionados para modificar su textura, conservarlos mediante la producción de ácidos o alcohol y desarrollar en ellos delicados aromas para aumentar la calidad y su valor nutritivo (Fellows, 2007).

2.2.4 TIPOS DE FERMENTACIONES

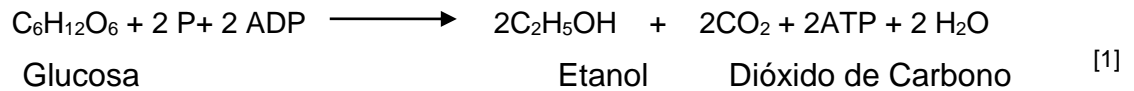
Existen dos tipos de fermentaciones ácida y alcohólica. En ambos casos se introducen microorganismos especiales que no causan daño al alimento, se les permite quedar en él y multiplicarse. Dichos microorganismos producen cambios químicos beneficiosos en los alimentos (Ashworth, 2005).

2.2.5 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

La fermentación alcohólica es un proceso en el cual se transforma el mosto o zumo azucarado en un líquido con un determinado contenido de alcohol etílico; este proceso dura aproximadamente una semana a una temperatura de 20°C, lo que produce una disminución de la densidad del mosto. En esta fermentación el

oxígeno es necesario para oxidar el carbono y obtener dióxido de carbono junto con el etanol (Vincent, Álvares, Zaragoza, 2006).

La reacción de fermentación alcohólica se representa mediante la ecuación [1].



La fermentación alcohólica sigue algunos pasos para su producción en el que las levaduras juegan un papel importante ya que se sirven de esta vía anaeróbica para elaborar adenosintrifosfato (ATP) (figura 2). En la fermentación alcohólica el intermediario acetaldehído funge de aceptor final de electrones dando como producto final de estas reacciones el etanol (Starr&Taggart, 2008).

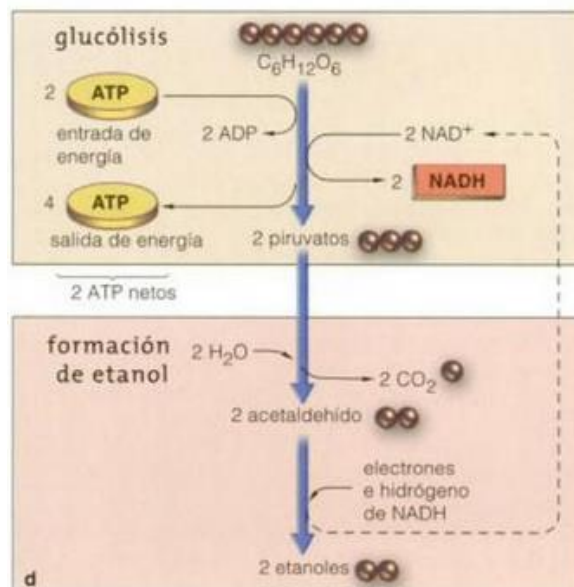


Figura 2. Fermentación Alcohólica

Starr&Taggart (2008).

2.2.6 FERMENTACIÓN ÁCIDA

Los microorganismos que dan lugar a la fermentación ácida son las enterobacterias y producen etanol, ácidos carboxílicos como acetato, lactato, succinato, fórmico, además de hidrógeno molecular. En este caso el piruvato no se descarboxila sino que se descompone en formiato y acetil-CoA (formiato liasa). El formiato se oxida a CO_2 gracias a la hidrogeno liasa, una enzima acoplada a una hidrogenasa de producción de H_2 (Castillo, 2005).

Biotechnológicamente se han desarrollado bacterias ácido lácticas que tienen propiedades estabilizantes. Se usan en la fermentación de leches fermentadas, aliños y panes reduciendo así el uso de estabilizantes sintéticos y emulsificantes. Por ejemplo *Pediococcus acidilacti*, es usado en la carne fermentada, para inhibir el crecimiento de bacterias que causen el deterioro de la misma, reduciendo así la necesidad de utilizar nitratos (Fellows, 2007).

2.3 FERMENTACIONES APLICADAS A LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

La fermentación de los alimentos implica un proceso en el que se convierten los materiales crudos en fermentados por medio del crecimiento y las actividades metabólicas de microorganismos deseables. Estos microorganismos utilizan componentes que se encuentran presentes en los materiales crudos como sustrato para aumentar la población y producir productos secundarios útiles (Ray&Arun, 2010).

Mediante la fermentación anaerobia se producen varios aminoácidos que se emplean posteriormente en la industria alimentaria. Algunos son empleados para

mejorar o modificar el sabor de los alimentos y otros se emplean para aumentar su valor nutritivo (Ingraham, 1998).

En la fermentación anaerobia el proceso de producción del metabolito de interés se desarrolla en ausencia de oxígeno; los productos finales son sustancias orgánicas como ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético, butanol, etanol y acetona. Sin embargo, en la mayoría de fermentaciones anaerobias, se requiere un poco de oxígeno al inicio del proceso para favorecer el crecimiento y la reproducción de los microorganismos (Hernández, 1996).

Los microorganismos que producen un solo producto se denominan homo fermentativos, mientras que los que producen una mezcla de productos se llaman hetero fermentativos. En los países tropicales, los cereales y las raíces se fermentan obteniéndose toda variedad de bebidas y alimentos básicos (Fellows, 2007).

2.4 MICROORGANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA FERMENTACIÓN

Los microorganismos que intervienen y permiten la fermentación son las bacterias, mohos y levaduras. Las bacterias son los microorganismos que realizan fermentaciones lácticas, se utilizan para la producción de vinagre (*Bacillus macerans*), acetona (*Acetobacter aceti*) y butanol (*Clostridium acetoutylicum*), y algunos hongos que a su vez son utilizados industrialmente para la obtención del queso y otros productos lácteos como por ejemplo *Aspergillus niger* produce ácido cítrico, los que realizan fermentación alcohólica son las levaduras que son utilizadas para la obtención del vino, cerveza y otras bebidas alcohólicas como *Saccharomyces cerevisiae* empleada en panificación y producción de cerveza (Hernández, 1996).

Las bacterias ácido lácticas son inocuas para la especie humana y sus productos metabólicos tienen un sabor agradable; estas propiedades permiten utilizarlas para preparar y conservar alimentos. Los alimentos deben contener suficiente cantidad de azúcar para que estos microorganismos produzcan cantidades inhibitorias de dicho ácido, además debe excluirse el O₂, para que los microorganismos aerobios, que metabolizan más rápidamente, no puedan utilizar el azúcar antes de que las bacterias del ácido láctico tengan la posibilidad de desarrollarse (Ingraham, 1998).

El antagonismo es la interacción microbiana mejor conocida en ecosistemas de alimentos, debido a esto se puede aplicar como una estrategia natural de biocontrol para mejorar la calidad y la inocuidad de los alimentos y bebidas fermentadas. Determinadas cepas lácticas de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* y *Leuconostoc*, además de participar en la fermentación, sintetizan proteínas denominadas bacteriocinas, las mismas que son biocompuestos que funcionan como antibióticos de reducido espectro y dañan solo aquellos microorganismos similares a las bacterias que los producen (Sedano, 2006).

La fermentación por acción de las levaduras da lugar a la producción de bebidas alcohólicas y alcohol para fines industriales. La producción de etanol se produce fundamentalmente por la acción del microorganismo productor, como la levadura de la especie *Saccharomyces*, sobre los carbohidratos, que a su vez hidrolizan gran cantidad de azúcares para su fermentación (Páez V, 2010).

Las bacterias, levaduras y mohos se emplean en diversas combinaciones para producir muchos alimentos fermentados en el mundo como leches y bebidas. Las especies y cepas que se usan como cultivos iniciadores en la fermentación controlada deben ser seguros, regulados y capaces de producir características deseables en los alimentos fermentados, estas características son el resultado

de la degradación metabólica de carbohidratos, proteínas y lípidos presentes en el alimento (Ray&Arun, 2010).

2.4.1 MOHOS

Los hongos juegan un papel fundamental en la descomposición de materia orgánica, con la fertilidad de los suelos, así como también producen el deterioro de alimentos, textiles y demás productos (Vera, 1996).

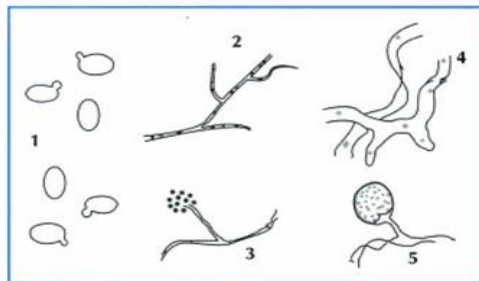


Figura 3. Morfología de los hongos Prats Guillem (2005).

La clasificación de los hongos es muy diversa, como se muestra en la Figura 3, en donde se puede observar: (1) Las levaduras que forman parte de los hongos unicelulares que se reproducen por gemación, (2) Los hongos filamentosos están constituidos por células alargadas que forman filamentos denominados hifas, las mismas que se entrecruzan, (3) Los hongos forman esporas asexuales de localización externa en el extremo de un conidióforo, (4) El micelio de los hongos filamentosos presenta escasos septos formando así un citoplasma continuo que contiene numerosos núcleos y (5) Las esporas asexuales de los hongos inferiores se sitúan en el interior de un sáculo denominado esporangio (Prats, 2005).

Es difícil identificar una cepa que no produce micotoxinas en el caso de la fermentación natural y en la fermentación controlada es un parámetro muy importante (Ray&Arun, 2010).

Los mohos son empleados en la producción de antibióticos, enzimas, vitaminas, ácidos orgánicos y productos orientales, así como también en la maduración de algunos quesos como el Roquefort. Algunos ejemplos de mohos son *Aspergillus niger* produce ácido cítrico, *Penicillium*spp. Produce ácido glucónico (Hernández, 1996).

A diferencia de la mayoría de las bacterias, los mohos crecen a valores de pH más bajos (pH de crecimiento óptimo menos de 7), siendo así útiles en procesos industriales como en la maduración de quesos y algunos productos cárnicos; actúan como auxiliares en la producción biotecnológica de enzimas, componentes químicos o aromáticos, antibióticos, entre otros; también intervienen en la biodegradación de algunos residuos industriales, agrícolas y subproductos. Se han cultivado mohos para ser utilizados como alimento humano o como pienso para los animales y en la actualidad se emplean para elaborar alimentos como el ácido cítrico que se utiliza en bebidas refrescantes (Pascual & Calderón, 2000).

2.4.2 LEVADURAS

Las levaduras son organismos anaeróbicos facultativos. Cuando hay oxígeno lo utilizan para la respiración, es decir para oxidar la glucosa completamente y así obtener ATP. En condiciones de anaerobiosis, las cepas de *Sacharomyces cerevisiae* y otras especies de levaduras transforman la glucosa en ácido pirúvico, siguiendo la secuencia de reacciones de la glucólisis (García, 2007).

Las bebidas fermentadas se obtienen al actuar las levaduras que transforman el azúcar en alcohol sobre un mosto, las más características son la sidra que se obtiene por fermentación alcohólica del zumo de manzanas y tiene de 5 a 9° de alcohol, la cerveza que es una bebida que resulta de fermentar el mosto lupulizado y cocido procedente de la malta de cebada y tiene de 3 a 7° de alcohol y el vino que resulta de una fermentación alcohólica del mosto de la uva y tiene de 7 a 20° de alcohol (Vincent, Álvares, Zaragoza, 2006).

Las levaduras que llevan a cabo la fermentación alcohólica, se han empleado durante miles de años para la fabricación de varias bebidas fermentadas ya que el dióxido de carbono producido por la levadura ayuda a la fermentación (Campbell, Reece, 2007).

Los microorganismos más importantes en la industria son las levaduras debido a que pueden convertir los azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono, la levadura que sigue siendo la más utilizada por el hombre es *Saccharomyces cerevisiae*, de la que se emplean diferentes cepas para la fabricación de cerveza, vino, sake, pan y alcoholes industriales. *Kluyveromyces fragilis* es una especie fermentadora de la lactosa que se explota en pequeña escala para la producción de alcohol a partir del suero de la leche. *Yarrowia lipolytica* es una fuente industrial de ácido cítrico. *Trichosporum cutaneum* desempeña un importante papel en los sistemas de digestión aeróbica de aguas residuales debido a su enorme capacidad de oxidación de compuestos orgánicos, incluidos algunos que son tóxicos para otras levaduras y hongos como los derivados fenólicos (Vincent, Álvares, Zaragoza, 2006).

2.4.3 BACTERIAS

Las bacterias son utilizadas en varios procesos fermentativos como la producción de vinagre (*Acetobacter*), acetona y butanol producidas por el género *Clostridium*, los yogures son producidos por la bacteria *Lactobacillus bulgaris* (Vincent, Álvares, Zaragoza, 2006).

Los *Lactobacillus* representan el grupo (BAL) más ubicuas pudiendo crecer en todos los hábitats que contengan azúcares fermentables, productos hidrolizados de proteínas, vitaminas, factores de crecimiento y aún baja tensión de oxígeno, tienden a dominar numéricamente y limitar o impedir el desarrollo de microorganismos patógenos (Mejía, Chacón, Guerrero, 2007).

La aplicación de las modernas técnicas de la biotecnología ha incrementado la importancia de aquellas fermentaciones que pueden ser provocadas de modo deliberado y orientadas por vías metabólicas concretas, a la producción de algunos alimentos fermentados (Bello, 2005).

En la fermentación intervienen BAL que producen pequeñas cantidades de aldehídos, ácido láctico y ácido acético, que confieren a los diferentes productos sabores y aromas característicos como por ejemplo el vino de palma que se fabrica por fermentación de la savia de la palmera por *Zymomonasspp*. Que se encuentran de forma natural en la palma (Fellows, 2007).

Las BAL también intervienen en el proceso de elaboración del vino. En la mayoría de las regiones productoras de vino, el ácido málico del vino tinto de calidad se elimina de manera tradicional mediante una fermentación maloláctica espontánea, producida por las BAL, tales como *Pediococcus*, *Leuconostoc* y *Lactobacillus*, esta fermentación secundaria, convierte el ácido málico que contiene dos grupos de ácidos, en un ácido láctico que contiene solo un grupo

de ácido, dando como resultado un vino con más aroma y medio ácido (Ingraham, 1998).

El principal ácido presente en la mayor parte de los vinos y bebidas fermentadas es el ácido tartárico, en algunos vinos tintos poseen una elevada concentración de ácido málico, se someten a una fermentación secundaria denominada maloláctica mediante el uso de bacterias lácticas que transformen el ácido málico en ácido láctico, reduciendo su acidez y mejorando su aroma (Fellows, 2007).

Entre las especies bacterianas de interés industrial están las bacterias de ácido acético, *Gluconobacter* y *Acetobacter* que pueden convertir el etanol en ácido acético. El género *Bacillus* es productor de antibióticos (gramicidina, bacitrocina, polimixina), proteasas e insecticidas. Del género *Clostridium* cabe destacar *Clostridium acetobutylicum* que pueden fermentar los azúcares originando acetona y butanol. Las bacterias del ácido láctico incluyen entre otras las especies de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus* que producen yogurt. *Corynebacterium glutamicum* es una importante fuente de lisina. El olor característico a tierra mojada se debe a compuestos volátiles (geosmina) producidos por *Streptomyces* aunque su principal importancia es la producción de antibióticos como neomicina, estreptomicina (Vera García, 2006).

2.5 BEBIDAS FERMENTADAS EN EL MUNDO

Se tiene conocimiento que alrededor del mundo existen muchas culturas, con costumbres diferentes y en muchas de ellas existen bebidas autóctonas fermentadas a base de granos las cuales no se conocen en su totalidad. Las bebidas fermentadas obtenidas a base de granos son muchas, pero las más conocidas son: la cerveza, el whisky, el sake (Páez, 2010).

En la tabla 1 se pueden encontrar algunas de las bebidas fermentadas que se producen a nivel mundial con su respectiva preparación.

Tabla 1.Bebidas producidas a nivel mundial

Bebida	Preparación	Países Productores	Referencia
Cerveza	Preparada a partir de la malta macerada, germinada, secada, tostada y molida obteniéndose así el mosto y dejándola fermentar y madurar.	China, Estados Unidos, Alemania, Tailandia, Filipinas, Indonesia, Canadá	Hernández& Sastre (1999).
Whisky	Destilado de malta, obtenida de la cebada u otro cereal, se ablanda en agua y se deja germinar, el almidón se transforma en azúcar, una vez obtenida la malta se seca y se tuesta en hornos.	España, Australia, India, Francia, Estados Unidos entre otros.	Charquero & Rey (2012).
Sake	Mediante fermentación microbiana de granos de arroz de núcleo blanco, que son mayores y más pesados que los normales y se cultivan especialmente para hacer vino, el inóculo es de arroz cubierto de moho que contiene enzimas.	Japón	Redhead&Boelen. FAO (1990)
Chiu	Elaborado a partir de granos de arroz contaminados naturalmente con mohos.	China	García; Quintero; López, 2004
Ogi	Se prepara remojando el maíz durante tres días antes a su molienda.	África	Quirós, 2010
Pulque	Producido por fermentación del jugo de varias especies de agave y el pozol preparada con masa de maíz nixtamalizado fermentada.	México	Gutiérrez, 2013

Abati	Bebida embriagante de maíz que se muele y se deja fermentar con un poco de dulce	Argentina y Paraguay	Claude, 2003
Chicha	Bebida alcohólica hecha a base de maíz.	Perú, Ecuador y Bolivia	Gutiérrez, 2013

2.6 BEBIDAS FERMENTADAS ECUATORIANAS

2.6.1 CHICHAS

En los tiempos del descubrimiento y de la conquista, los españoles se asombraban de la importancia que tenía la chicha en las celebraciones comunitarias y de la manera tan singular como se elaboraba: las mujeres del grupo, muchas veces las más viejas, masticaban los granos del maíz para acelerar la fermentación, y después lo cocinaban para hacer una bebida un poco espesa, que bebían para festejar los grandes acontecimientos (Lovera, 2009).

Se denomina a la chicha comúnmente como una bebida altamente alcohólica que originalmente era preparada por los indígenas de la provincia de Chimborazo, a través de un proceso artesanal de fermentación del maíz. Esta bebida se caracteriza por tener un olor agrio y frutado (Gutiérrez, 2013).

El sabor depende de los ingredientes utilizados, del grado de fermentación y del nivel de azúcares que se empleen en su producción. La graduación alcohólica varía de 1 a 3°.

2.6.1.1 TIPOS DE CHICHAS

La chicha básicamente se elabora con maíz molido, aunque hay variedades preparadas con piña, yuca o batata (Quirós, 2010).

La chicha de Jora es una bebida realizada con maíz germinado endulzada con panela (Figura 4). La chicha adquiere su sabor característico por la fermentación de la fruta con el dulce de caña, la canela, clavo de olor y pimienta dulce (Negrete, 2012).

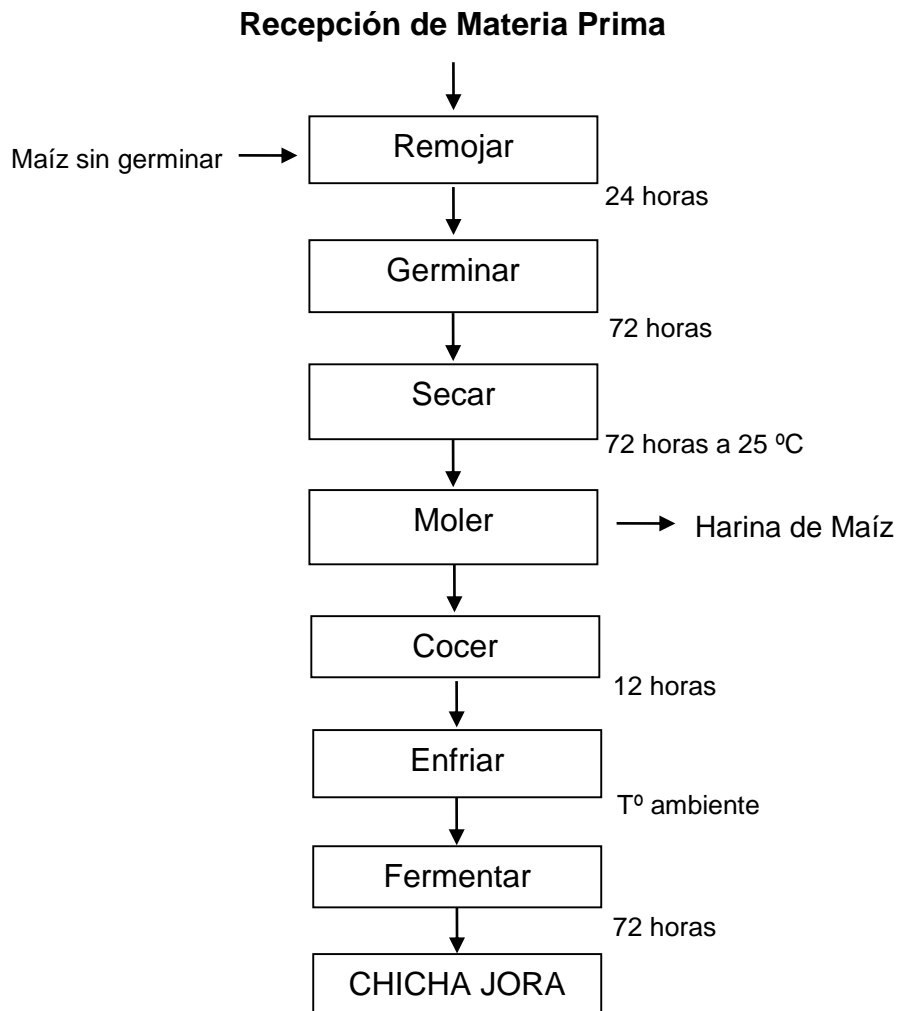


Figura 4.Proceso de Elaboración de la Chicha de Jora

En la ciudad de Guano, provincia de Chimborazo, es tradicional la Chicha Huevona, que debe su nombre a los ingredientes adicionales a la chicha de jora: huevos, cerveza, una copa de licor de puntas y azúcar (Negrete, 2012). El proceso de elaboración de la chicha huevona se muestra en la Figura 5.

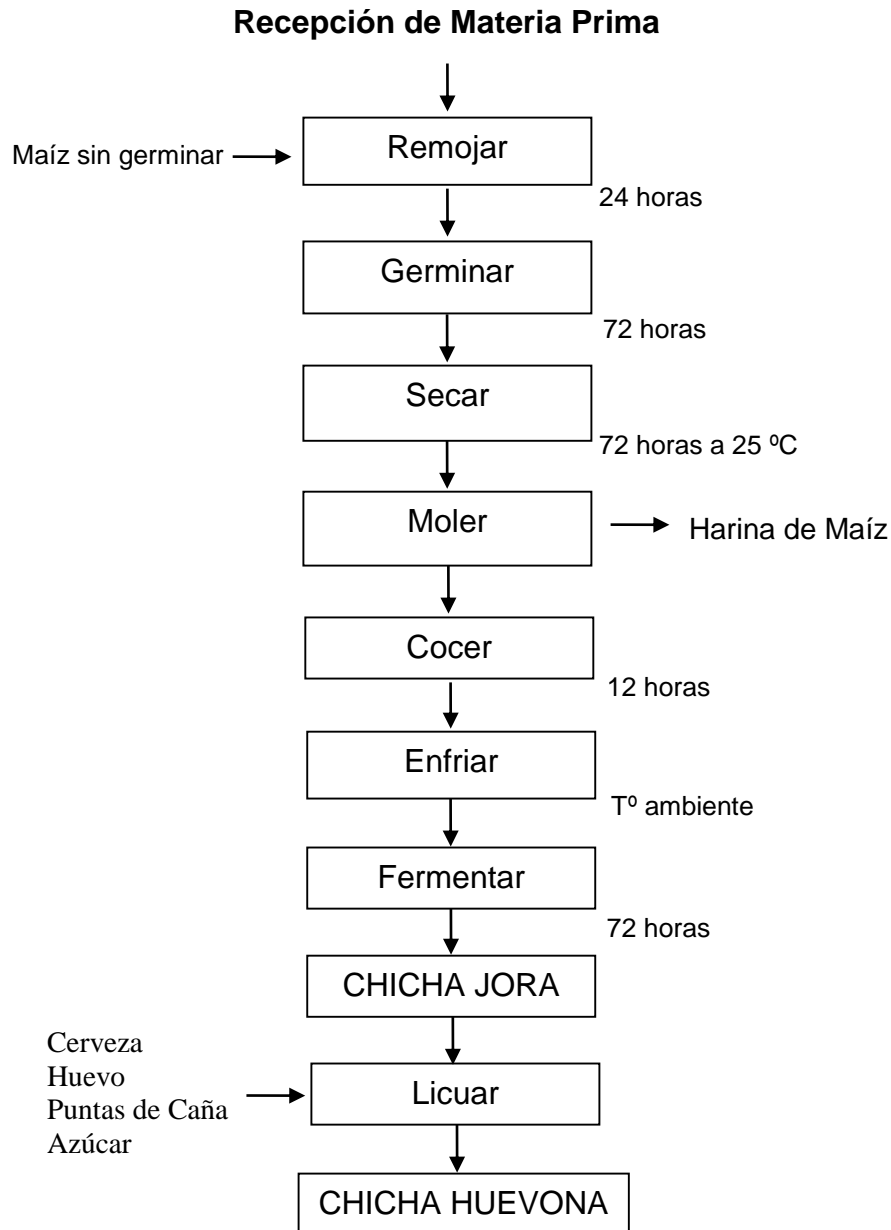


Figura 5.Proceso de Elaboración de la Chicha Huevona

Una bebida que también se consume comúnmente en Chimborazo es la chicha de arroz que recibe su nombre por la fermentación de este cereal, uno de los más consumidos en el mundo que da origen a esta deliciosa y refrescante bebida (Proaño, 2009).

2.6.2 EL AGUARDIENTE

El aguardiente es una bebida alcohólica destilada que proviene de un fermentado alcohólico, provienen de plantas ricas en sacarosa, que es elemento esencial en la elaboración de la bebida ya que a partir de ésta surge el etanol, siendo en principio el aguardiente alcohol diluido en agua, existen aguardientes simples como el ron que se realiza a partir de la caña, el brandy que se lo consume en Francia y que se lo conoce como pisco en América Latina y el whisky que se basa en maíz y los aguardientes compuestos son aquellos que se los anisaba para liberar el sabor y el olor fuerte (Claude, 2003).

Durante la época de Alejandro Magno se difundió por Persia, Siria, Egipto y Sicilia, durante la conquista y organización del Imperio Persa en 327 antes de Cristo. La expansión de sus dominios abrió canales comerciales que facilitaron la difusión e influencia de artículos, especies y costumbres entre Asia Meridional, Europa y el Norte de África. La figura 6 muestra una destilería de aguardiente hecha totalmente de cobre en Portugal. Actualmente, el aguardiente de caña es conocido a través de las más variadas expresiones y nombres, tales como agua bendita, agua que los pájaros no beben, branquinha, cachaca, caninha, purinha, zuninga, entre otros (Ramírez de la Torre, 2010).



Figura 6. Destilería de aguardiente totalmente de cobre (Portugal). Ramírez de la Torre 2010.

Los árabes fueron los primeros en destilar vino para obtener alcohol. Arnau de Vilanova y Ramón Llull pueden considerarse como los padres de los aguardientes, por haber recibido de los árabes los secretos de la alquitara, la destilación y perfeccionar sus técnicas (Ramírez de la Torre, 2010).

2.6.2.1 TIPOS DE AGUARDIENTES

El auge de las preparaciones médicas y farmacéuticas del alcohol, influyeron en la popularización del aguardiente; para mejorar su sabor se comenzó a agregarle azúcar, limón, naranja, flores de azahar, pétalos de rosa, granos de anís y hasta pepitas de oro (Ramírez de la Torre 2010).

En este grupo se incluyen varias bebidas alcohólicas de alta graduación (mayor a 40°), como el Gin, la Zubrovka y la Akvavit Escandinava, la Cachaça. El Gin se produce a partir de fresas, moras o frambuesas. La Zubrowka tiene una graduación de 45° GL, y es aromatizada con ciertas variedades de hierbas aromáticas; la Akvavit Escandinava posee alrededor de 46° GL, se produce en forma similar al Gin pero incluye fermento de papas y se aromatiza con semillas

de comino. La variedad Akvavit Danesa es incolora y aromatizada con semilla de carvi y la variedad Finlandesa es aromatizada con canela. La Cachaça brasilera es hecha a partir de caña de azúcar, con la diferencia que no incluye añejamiento en madera, ni es aromatizada. Suele complementarse con azúcares y cítricos (Macek, 2013).

2.6.3 PREPARADOS DE FRUTAS

Los licores de frutas derivan históricamente de los preparados que en la Edad Media elaboraban monjes, alquimistas y químicos con distintos tipos de hierbas medicinales, frutas y otros elementos con fines curativos, afrodisíacos o incluso mágicos. Los licores de frutas son un tipo de bebida alcohólica, dulce o seca que poseen sabor a gran cantidad de frutas distintas. Estos licores son de colores brillantes y vivos, con sabor dulce, y una graduación alcohólica entre 27 y 55° GL (Internelia Network S.L, 2015). En la provincia de Chimborazo es muy conocida la bebida fermentada llamada “delicioso” que es obtenida a partir de zumos de diferentes frutas a las que se le añade vodka y se deja fermentar por unos días, el proceso de elaboración se presenta en la Figura 7.

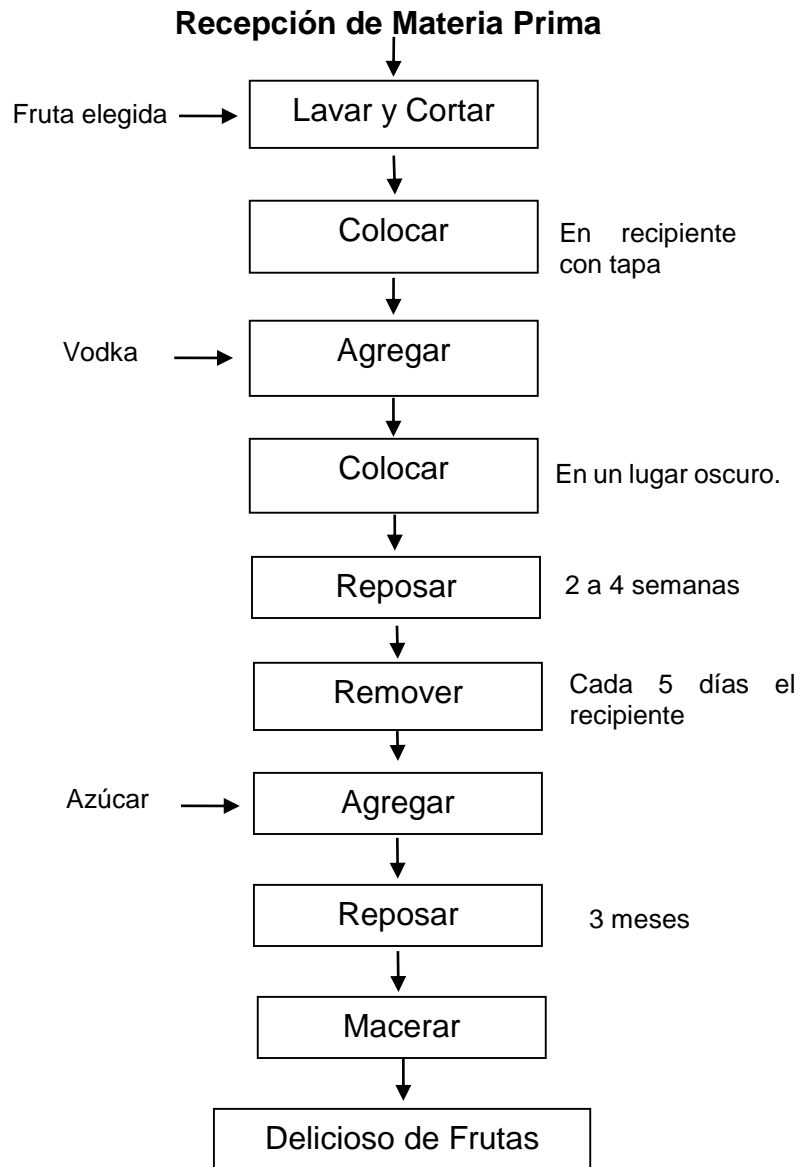


Figura 7.Proceso de Elaboración del Delicioso de Frutas

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1 LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN

Se visitó los diferentes cantones de la provincia de Chimborazo y se realizó una búsqueda bibliográfica en las bibliotecas de universidades, oficinas de turismo, municipios y agencias gubernamentales. Se realizaron además entrevistas a moradores de los cantones y a los productores directos de las bebidas fermentadas para tener información acerca de la aceptabilidad, conocimiento y producción en la provincia.

3.1.1 TOMA DE MUESTRA

Se seleccionaron las tres bebidas fermentadas más representativas de la provincia de Chimborazo con dos productores por cada una, luego de haber realizado la visita de campo y recopilado la información.

Para los análisis microbiológicos y físico-químicos las muestras se tomaron en la etapa de venta al público, de cada productor se tomó una muestra por semana (3 semanas), a estos se los denominó lotes. Cada lote de muestra fue recolectado en frascos estériles de vidrio, los análisis se realizaron por duplicado y fueron transportadas a la ciudad de Quito en cajas térmicas manteniéndose en frío constante (~5°C) y protegidos de la luz para sus respectivos análisis.

3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

3.2.1 DILUCIONES SUCESIVAS

Para realizar los análisis microbiológicos se realizaron diluciones sucesivas según la norma técnica ecuatoriana INEN 1 529-2 (1999).

Se tomó 25ml de muestra y se transfirió a un frasco con 225ml de agua peptonada tamponada, se homogenizó la muestra agitando el frasco 25 veces en 10 segundos (dilución 10^{-1}), a partir de ésta se realizó la dilución 10^{-2} con la ayuda de una micropipeta; se tomó una alícuota de 1ml de la dilución 10^{-1} y se colocó en un tubo con 9ml de agua peptonada tamponada, posteriormente se utilizó un homogenizador tipo "vortex" por 5 a 10 segundos, de esta manera se realizaron diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , dependiendo del tipo de bebida, esto corresponde al factor de dilución y se calcula mediante la ecuación[2] (Ahmed&Carlstrom2006).

$$\text{Factor de dilución} = \frac{\text{Volumen de la muestra}}{\text{Volumen de la muestra} + \text{Volumen de diluyente}} \quad [2]$$

3.2.2 SIEMBRA EN PLACA EN PROFUNDIDAD

Este proceso se realizó en una cámara de flujo laminar para garantizar esterilidad total y se siguió la metodología detallada por Gamazo, López & Díaz (2009). Para la siembra se utilizaron 3 diluciones por cada muestra. Se colocó 1ml de cada dilución en placas de Petri y se añadió de 18ml a 20ml del medio de cultivo fundido y atemperado a 45-50°C. Posteriormente se homogenizó el contenido de las placas mediante un agitador de placas, una vez solidificado el agar se

invertieron las placas y se incubaron según las condiciones requeridas para cada microorganismo (tabla 2).

Tabla 2. Especificaciones para la siembra en placa en profundidad de algunos microorganismos.

Microorganismo	Medio de cultivo	Condiciones de incubación	Forma de Actuación
Coliformes Totales	Violet Red Bile Agar	37 °C de 24 a 48 horas	El extracto de levadura proporciona vitaminas del complejo B que estimulan el crecimiento de bacterias. La mezcla de sales biliares y cristal violeta inhiben el crecimiento de la flora Gram-positiva. Se observa la degradación de la lactosa por el viraje a rojo del indicador de pH.
Aerobios Mesófilos	PlateCount Agar	37 °C de 24 a 48 horas	El carbono y nitrógeno favorecen el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos.
Bacterias Acido lácticas	Lactobacilli MRS Agar	37 °C de 48 a 72 horas	Permite un abundante desarrollo de todas las especies de lactobacilos; la presencia de monoleato de sorbitán, magnesio, manganeso y acetato, aportan cofactores y pueden inhibir el desarrollo de algunos microorganismos.
Enterobacterias	MacConkey Agar	37 °C de 24 a 48 horas	Sirve como un indicador visual de pH, distinguiendo así las bacterias Gram negativas que pueden fermentar la lactosa de las que no pueden.
Mohos y Levaduras	SabouraudDextrose Agar+ 40ppm de Gentamicina	25 °C de 3 a 5 días.	El bajo pH del medio resulta favorable para el crecimiento de los hongos y ligeramente inhibitorio para las bacterias

3.2.3 RECuentos Totales de Poblaciones Microbianas

Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar las colonias para determinar la población microbiana de las muestras analizadas, se siguió la metodología detallada por Ahmed & Carlstrom (2006). El recuento en placa se realizó visualmente con la ayuda de una lámpara de luz fluorescente y una lupa; además se utilizó un lápiz marcador con el propósito de señalar las colonias que se contaron y evitar que las mismas vuelvan a enumerarse. Los resultados del recuento se expresan como unidades formadoras de colonias por unidad de volumen (UFC/ml) y fueron calculadas mediante la ecuación [3].

$$\text{Recuento} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Número de colonias de la placa}}{\text{Factor de dilución} * \text{Volumen de inóculo}} \quad [3]$$

3.3 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

Los análisis físico-químicos fueron realizados en el laboratorio de Análisis de Alimentos Labolab, según la metodología que se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Metodología Análisis Físico-Químicos

ANÁLISIS	NORMA	METODOLOGÍA
Grado alcohólico	INEN NTE 0340 (1994)	Se utilizó un equipo de destilación previamente lavado con agua destilada. 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.
Metanol	INEN NTE 0347 (1978)	El contenido de metanol en las bebidas se determinó mediante la ecuación. $M = 0,025 \frac{A}{A_1} x f$ Donde: M: contenido de metanol en la muestra, en porcentaje de volumen. A: absorbancia correspondiente a la muestra. A ₁ : absorbancia correspondiente a la solución patrón de metanol. f: factor de dilución de la muestra.
Ésteres	INEN NTE 0342 (1978)	El contenido de ésteres en bebidas alcohólicas se determinó utilizando la ecuación. $E = 1,76 \frac{10f_1 - Vf_2}{G}$ Donde: E: contenido de ésteres en bebidas alcohólicas, expresado como acetato de etilo, en gramos por 100 ml de alcohol anhidro. f ₁ : factor correspondiente a la solución de hidróxido de sodio.

		<p>f_2: factor correspondiente a la solución de ácido clorhídrico usado en la titulación, en cm^3. G: grado alcohólico de la muestra.</p>
Aldehídos	INEN NTE 0343 (1978)	<p>Se determinó el contenido de aldehídos en bebidas alcohólicas mediante la ecuación.</p> $AL = 0,11 \frac{V_1 - V_2}{G}$ <p>Donde: AL: contenido de aldehídos, expresado como aldehído acético en $\text{g}/100 \text{ cm}^3$ de alcohol anhidro. V_1: volumen de solución $0,05 \text{ N}$ de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la muestra. V_2: volumen de solución de tiosulfato de sodio empleado en el ensayo en blanco. G: grado alcohólico de la muestra.</p>
Peso específico	A.O.A.C	<p>Para la determinación de peso específico en bebidas fermentadas se siguió la metodología detalla por la Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.). Este procedimiento se realizó de igual manera con las muestras de bebida en lugar de utilizar agua destilada y se realizó el cálculo utilizando la ecuación.</p> $\text{Peso específico} = \frac{\text{Peso de la muestra}}{\text{Peso del agua destilada}}$
Extracto seco	INEN NTE 0346 (1978)	<p>Se determinó el extracto seco mediante la ecuación [8].</p> $E = 20(m_2 - m_1)$ <p>Donde: E: Extracto seco, en $\text{g}/100 \text{ ml}$ de muestra. m_1: Masa del vaso de precipitación, en gramos. m_2: Masa del vaso de precipitación con el residuo seco, en gramos.</p>

Acidez total	INEN NTE 0341 (1978)	<p>Se anotó el volumen consumido de NaOH en ml y se realizó el cálculo empleando la ecuación [9].</p> $AT = 2,4 \frac{V_1}{G}$ <p>Donde: AT: Acidez total, expresada como ácido acético, en g/100 ml de alcohol anhidro. V₁: Volumen de solución de NaOH usado en la titulación, expresado en ml. G: Grado alcohólico de la muestra a determinar.</p>
Acidez fija		<p>Se realizó el cálculo empleando la ecuación.</p> $AF = 2,4 \frac{V_2}{G}$ <p>Donde: AF: 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.</p>
Acidez volátil		<p>La acidez volátil determinó restando el valor de acidez fija al de acidez total, utilizando la ecuación.</p> $AV = AT - AF$ <p>AV: Acidez volátil, expresada como ácido acético, en g/100 ml de alcohol anhidro. AT: Acidez Total AF: Acidez Fija</p>
pH	Potenciómetro	<p>Se colocó un volumen significativo de muestra en un vaso de precipitación de 100 ml, se procedió a medir el pH de cada bebida utilizando un potenciómetro OMEGA por inmersión del electrodo en la muestra y se anotó la lectura.</p>

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados obtenidos en los recuentos microbiológicos se empleó un diseño experimental por bloques, para evaluar la influencia tanto entre los productores de cada bebida como entre los lotes determinando así las diferencias que existen. Los análisis fueron realizados por cada bebida (Chicha de Jora, Chicha Huevona y el Delicioso) y por cada recuento microbiológico (Mohos y levaduras, coliformes totales, enterobacterias, aerobios mesófilos y bacterias ácido lácticas).

Para la comparación de los recuentos microbiológicos entre las bebidas (Chicha de Jora y la Chicha Huevona); se utilizó el diseño factorial AxB siendo la variable A las bebidas y B los productores, adicionalmente se analizó la interacción entre las variables; se determinó la influencia del tipo de bebida y los productores sobre la cantidad de microorganismos presentes, los resultados fueron procesados mediante análisis de varianza (ANOVA) y las medias comparadas por Tukey usando el software InfoStat.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 SELECCIÓN DE LAS PRINCIPALES BEBIDAS FERMENTADAS DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO

La información encontrada sobre bebidas fermentadas en las instituciones públicas fue escasa, únicamente se cuenta con un folleto sobre las recetas de comidas y bebidas más representativas de todas las provincias del Ecuador (Ministerio de Turismo del Ecuador, 2012).

Representantes del Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Guano indicaron que las bebidas fermentadas más conocidas y solicitadas en este cantón, y que son producidas comúnmente, son la chicha de jora y la chicha huevona, se hizo referencia a que algunas personas, en especial los turistas, sienten desconfianza de consumirlas debido a su preparación artesanal y a creencias antiguas.

En dos universidades de la provincia (Universidad Nacional de Chimborazo – UNACH y Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – ESPOCH), se realizó la búsqueda de trabajos de titulación afines con el tema, que se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Trabajos de Titulación realizados en la UNACH y ESPOCH afines al tema de bebidas fermentadas.

TITULO	AUTOR	AÑO
Diseño, Cálculo y Construcción de un Trapiche.	<i>Trujillo Gavilanes, Mauro Alejandro; Pazmiño Palma, Vicente Rolando</i>	2010
Utilización del Agave como Edulcorante Natural en la Elaboración de una Bebida Hidratante a Partir del Suero	<i>Romero Guanoluisa, Alexis</i>	2011
Aprovechamiento Tecnológico del Lactosuero y el Gel Deshidratado de <i>Opuntia subulata</i> para la Elaboración de una Bebida Nutraceutica	<i>Valencia Lucio, Tania Alexandra</i>	2011
Diseño de Mezclas y Caracterización Físico Química y Microbiológica de un Cremogenado Lácteo de Guayaba	<i>Proaño Lozada, Yolanda Betsabet</i>	2011
Efecto de Diferentes Niveles de Harina de Quinoa en la Elaboración de una Bebida Proteica de Lactosuero	<i>Bermejo Mainato, , Nancy Beatriz</i>	2011
Desarrollo de Bebidas Nutritivas a Partir de Suero de Leche y Concentrado de Frutas Nativas (Tuna, Pitajaya, Uvilla) no Tradicionales	<i>Yumisaca Tuquinga, Carlos Alberto</i>	2011
Elaboración y Evaluación Nutricional de una Bebida Proteica a Base de Lactosuero y Chocho (<i>Lupinus mutabilis</i>) como Suplemento Alimenticio.	<i>González Saltos, Joanna Martha</i>	2012
Utilización de Subproductos de Destilería de Alcohol (Vinaza) como Suplemento en la Dieta de Gallinas Ponedoras White Leghorn L33	<i>Costales Puchaicela, Raúl Fabricio</i>	2012
Utilización de Subproductos de Destilería de la Industria Vinícola en la Alimentación de Ganado de Carne	<i>Concha Romero, Carlos Washington</i>	2012
Elaboración y Control de Calidad de una Bebida a Base de Suero de Leche y Avena (<i>Avena sativa</i>) para PRODUCCOOP El Salinerito	<i>Vega Montero, Glenda Stefania</i>	2013
Elaboración y Control de Calidad de una Bebida Nutritiva a Base de Malteado de Quinoa, Lecha y Zanahoria Deshidratada	<i>Colcha Saltos, María Alexandra</i>	2013
Diseño del proceso de elaboración de una bebida nutritiva a base de máchica y leche para la Molinera San Luis	<i>Choto Ramos, Edison Geovanny</i>	2013
Control de Calidad y Evaluación Nutricional de las Chichas (Jora y Morada) Elaboradas en la Fundación Andinamarca Calpi - Riobamba	<i>Rojas Oviedo, Byron Stalin</i>	2013
Parámetros Óptimos en la Fermentación Alcohólica para Industrializar la Chicha de Jora en la Procesadora de Alimentos y Bebidas Kutacachi Sara Mama	<i>Pomasqui Benavides, Jéssica Karina</i>	2013

Diseño e Instalación de los Servicios de Funcionamiento para la Rectificación del Metanol Mediante Columna de Destilación en el Proceso de Biodiesel de la Empresa LA FABRIL S.A. de Manta.	<i>Tapia Moyano, Claudio Anibal</i>	2013
Utilización de 4 Niveles de Pulpa de Pitahaya en la Elaboración de una Bebida a Base de Lactosuero	<i>Guevara Calle, Carlos Julio</i>	2014
Análisis estadístico de la influencia de las frutas, mora ("robusglaucusbenth"), frutilla ("fragaria vesca") y tomate de árbol ("cyphomandrabetacea") que se producen en las zonas rurales del cantón Guaranda, provincia de Bolívar, en la cantidad destilada de alcohol etílico	<i>Rea Rea, Nelson Steve</i>	2014
Elaboración y control de calidad de vino de taxo (<i>Passiflora tripartita var. mollisima</i>)	<i>Barreno Pérez, Carlos Iván</i>	2014

El cantón de mayor interés por sus bebidas y gastronomía es Guano; en este se prepara la chicha de jora y la chicha huevona que es la más reconocida de la provincia, los ingredientes de la chicha huevona son los mismos que la de jora con la diferencia que a esta se le aumenta huevo y cerveza. En cuanto a la gastronomía es reconocido el chorizo de Guano por su sabor y por ser consumido con las tortillas.

La mayor parte de las bebidas fermentadas se producen en días festivos como en carnaval; en fiestas de cada parroquia y celebraciones religiosas; la preparación de estas bebidas se realiza de acuerdo a las costumbres en cada cantón.

Las bebidas fermentadas son preparadas artesanalmente; sus productores son personas que han heredado el conocimiento de sus antepasados y desean seguir con la costumbre familiar, la mayoría de ellos produce las bebidas en cantidades mínimas debido a que tienen clientes fijos, y en las fiestas de cada cantón preparan una gran cantidad para los visitantes.

En las entrevistas realizadas muchos de los productores se negaron a revelar todos los ingredientes que utilizan, ya que dicen que tienen secretos para ser los

únicos que pueden preparar las bebidas, además del temor que sentían al ser pequeños productores y no contar con procesos estandarizados de fabricación.

Se seleccionaron las 3 bebidas fermentadas más representativas de la provincia, por ser conocidas en todos los cantones y por su elaboración en festividades; se escogieron 2 productores por cada bebida; las bebidas fermentadas son la Chicha de Jora que se elabora en la mayoría de los cantones, la Chicha Huevona que se elabora en el cantón Guano y los Preparados de Frutas (Deliciosos) elaborados en Riobamba (Tabla 5).

Tabla 5. Bebidas Fermentadas más representativas de la Provincia de Chimborazo.



a) Expendio de Chicha de Jora b) Preparación de Chicha Huevona c) Expendio del Delicioso d) Chicha de Jora e) Chicha Huevona con comida típica f) Delicioso de Uva.

4.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Se obtuvieron diferentes resultados para cada tipo de bebida en los recuentos totales de enterobacterias, coliformes totales, BAL, aerobios mesófilos, mohos y levaduras; la detección y cuantificación de estos microorganismos en las bebidas fermentadas es de gran importancia para indicarla higiene con la trabajan los productores y la inocuidad de dichas bebidas.

4.2.1 CHICHA DE JORA

Al realizar los análisis estadísticos de los resultados de los recuentos microbianos reportados para la bebida Chicha de Jora se observó diferencias significativas entre productores solo para el indicador aerobios mesófilos, mientras que existieron diferencias significativas entre lotes para casi todos los análisis realizados como se muestra en la tabla 6. El anexo IV muestra los recuentos totales de microorganismos presentes en la Chicha de Jora.

Tabla 6. Recuento de los análisis microbiológicos realizados en la Chicha de Jora.

Análisis	Productor 1	Productor 2	Límites Permisibles	Norma Técnica
Microorganismo	Log UFC/ml^{1/2}			
Coliformes	4.4 ± 0.8 ^a	4.7 ± 0.2 ^a	0	NTE INEN 2302:2009
Tukey _(Productor)	0.5			
Tukey _(Lote)	0.8			
Ácido Lácticas	6.7 ± 0.3 ^a	6.7 ± 0.2 ^a	Max: 6 Min: --	NTE INEN 2395:2011
Tukey _(Productor)	0.2			
Tukey _(Lote)	0.3			
Enterobacterias	4.3 ± 0.4 ^a	4.2 ± 0.5 ^a	0	NTON 03 038 2006
Tukey _(Productor)	0.1			
Tukey _(Lote)	0.2			
Aerobios Mesófilos	5.4 ± 0.7 ^a	5.7 ± 0.6 ^b	Max: 2 Min: --	NTON 03 038 2006
Tukey _(Productor)	0.1			
Tukey _(Lote)	0.2			
Mohos y Levaduras	6.4 ± 0.5 ^a	6.86 ± 0.2 ^a	Max: 1.7 Min: --	NTE INEN 2262:2003
Tukey _(Productor)	0.4			
Tukey _(Lote)	0.6			

1: Medias ± Desviación Estándar (n=6).

2: Letras minúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas entre productores ($p > 0.005$).

En relación al recuento microbiano de enterobacterias, se encontró un promedio de 4.2 log UFC/ml. En cuanto al recuento de las bacterias aerobias mesófilas se obtuvo un promedio de 5.6 log UFC/ml, el valor reportado es inferior a los obtenidos en un estudio preliminar del Axokot, bebida tradicional mexicana fermentada, elaborada a partir de maíz nixtamalizado, en donde se reportó 9.5 log UFC/ml (Sánchez, et al. 2010). La NTON 03 038 (2006) para cervezas indica que límite máximo permisible es de 2 log UFC/ml; con respecto a la norma el valor se encuentra fuera del límite permisible esto podría deberse a una mala manipulación de la bebida.

Pomasqui (2012) que reportó 2.5 log UFC/ml en su estudio Parámetros Óptimos en la Fermentación Alcohólica para la Industrialización de la Chicha de Jora, este valor difiere del obtenido a la chicha de jora que obtuvo un recuento microbiano promedio de 6.6 log UFC/ml; los valores obtenidos en la Chicha de Jora casi triplican estos valores, posiblemente debido al alto grado de fermentación alcohólica de esta bebida y al sustrato rico en carbohidratos.

En el caso de las BAL el resultado del recuento entre los dos productores fue un promedio de 6.7 log UFC/ml; este valor es superior al obtenido en un estudio realizado sobre la caracterización microbiológica de la chicha de arroz en Barquisimeto, Venezuela, en donde se consideró como valor máximo permitido 4 log UFC/ml para bacterias ácido lácticas en bebidas fermentadas. Se puede decir que la Chicha de Jora posee una cantidad de bacterias ácido lácticas capaces de crecer bajo diferentes condiciones ambientales y jugar un rol importante en la fermentación, debido a que mejora las características organolépticas y mantiene la conservación e inocuidad del producto por efecto de ácidos orgánicos (Adams & Moss, 1997).

En relación al recuento de coliformes totales, en la bebida Chicha de Jora se obtuvo un promedio de 4.6 log UFC/ml; Tortora (1993), manifiesta que por lo general las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos de fondo por esta razón, es muy fácil la contaminación de los utensilios empleados ya que se utiliza agua de tanques para lavarlos.

4.2.2 CHICHA HUEVONA

Al realizar los análisis estadísticos de los resultados de los recuentos microbianos reportados para la bebida Chicha Huevona se obtuvieron diferencias

significativas entre productores para el indicador coliformes y enterobacterias, mientras que existieron diferencias significativas entre lotes para casi todos los análisis realizados (tabla 7). El anexo V muestra los recuentos totales de microorganismos presentes en la Chicha Huevona.

Tabla 7. Recuento de los análisis microbiológicos realizados en la Chicha Huevona

Análisis	Productor 1	Productor 2	Límites Permisibles	Norma Técnica
Microorganismo	Log UFC/ml ^{1/2}			
Coliformes	4.8 ± 0.5 ^a	3.9 ± 0.8 ^b	0	NTE INEN 2302:2009
Tukey (Productor)	0.5			
Tukey (Lote)	0.7			
Ácido Lácticas	5.8 ± 0.2 ^a	5.9 ± 0.1 ^a	Max: 6 Min: --	NTE INEN 2395:2011
Tukey (Productor)	0.2			
Tukey (Lote)	0.4			
Enterobacterias	5.1 ± 0.5 ^a	3.6 ± 0.4 ^b	0	NTON 03 038 2006
Tukey (Productor)	0.4			
Tukey (Lote)	0.7			
Aerobios Mesófilos	5.5 ± 0.2 ^a	5.6 ± 0.4 ^a	Max: 2 Min: --	NTON 03 038 2006
Tukey (Productor)	0.2			
Tukey (Lote)	0.3			
Mohos y Levaduras	6.1 ± 0.4 ^a	5.9 ± 0.2 ^a	Max: 1.7 Min: --	NTE INEN 2262:2003
Tukey (Productor)	0.3			
Tukey (Lote)	0.5			

1: Medias ± Desviación Estándar (n=6).

2: Letras minúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas entre productores (p>0.005).

Para el recuento de aerobios mesófilos se obtuvo un promedio de 5.5 log UFC/ml, este valor es superior al obtenido por Vega (2012) en su estudio de elaboración

y control de calidad de una bebida de suero de leche y avena, para Producoop “El Salinerito”; que fue de 4 log UFC/ml. Así como también difiere con la NTON 03 038 (2006) para cervezas que indica un límite máximo permisible de 2 logUFC/ml.

Rojas (2013), reportó un recuento de BAL de 8.0 log UFC/ml para un estudio de control de calidad y evaluación nutricional de bebidas fermentadas producidas en Calpi- Riobamba, este valor es superior al obtenido en la Chicha Huevona que obtuvo un recuento microbiano promedio de 5.8 log UFC/ml; comparando la chicha huevona con la norma NTE INEN 2305 (2011) para leches fermentadas, se puede decir que se encuentra dentro de los parámetros que especifica la norma en donde se muestra los requerimientos que indica el límite máximo de aceptabilidad para este tipo de bebidas es de 6 log UFC/ml. Las BAL son inocuas para la especie humana, sus productos metabólicos tienen un sabor agradable lo que permite utilizarlas para preparar y conservar alimentos y bebidas (Ingraham, 1998).

En relación con el recuento de mohos y levaduras en la bebida chicha huevona, se obtuvo un promedio de 6.0 log UFC/ml entre los dos productores evaluados, este valor difiere al de Pomasqui (2012) que reportó 2.5 log UFC/ml en su estudio Parámetros Óptimos en la Fermentación Alcohólica para la Industrialización de la Chicha de Jora. La NTE INEN 2262 (2003) para cervezas no pasteurizadas establece el límite máximo permisible de mohos y levaduras de 1.7 log UFC/ml.

El resultado obtenido en el recuento de enterobacterias en la chicha huevona fue de un promedio de 4.3 log UFC/ml. La norma NTON 03 038 (2006) para cervezas especifica que debe haber ausencia total de enterobacterias en dichas bebidas para que puedan ser aptas para el consumo sin riesgo microbiológico.

En el recuento de coliformes para la chicha huevona se obtuvo un promedio de 3.3 log UFC/ml. La norma NTE INEN 2302 (2009) que contiene los requerimientos para bebidas de malta nos indica que debe haber una ausencia

total de coliformes para este tipo de bebidas. En el estudio de Rojas (2013), no se reportó la presencia de coliformes totales en un estudio de control de calidad y evaluación nutricional de bebidas fermentadas producidas en Calpi- Riobamba.

4.2.3 PREPARADO DE FRUTAS (DELICIOSO)

Al realizar los análisis estadísticos de los resultados de los recuentos microbianos reportados para la bebida Delicioso de frutas se obtuvieron diferencias significativas entre productores para los indicadores coliformes y BAL, mientras que existieron diferencias significativas entre lotes para casi todos los análisis realizados como se muestra en la tabla 8. El anexo VI muestra los recuentos totales de microorganismos presentes en el Delicioso.

Tabla 8. Recuento microbiológicos realizados en el Delicioso (Preparado de frutas).

Análisis	Productor 1	Productor 2
Microorganismo	Log UFC/mL^{1/2}	
Coliformes	2.7 ± 0.6 ^a	2.5 ± 0.7 ^a
Tukey_(Productor)	0.2	
Tukey_(Lote)	0.4	
Ácido Lácticas	2.4 ± 0.4 ^a	2.5 ± 0.3 ^a
Tukey_(Productor)	0.5	
Tukey_(Lote)	0.9	
Enterobacterias	3.6 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.6 ^a
Tukey_(Productor)	0.3	
Tukey_(Lote)	0.5	
Aerobios Mesófilos	4.4 ± 0.6 ^a	4.2 ± 0.1 ^a
Tukey_(Productor)	0.6	
Tukey_(Lote)	0.9	
Mohos y Levaduras	4.0 ± 0.7 ^a	2.8 ± 0.3 ^a
Tukey_(Productor)	0.6	
Tukey_(Lote)	0.9	

1: Medias ± Desviación Estándar (n=6).

2: Letras minúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas entre productores (p>0.005).

En relación al recuento de coliformes totales, para la bebida delicioso se obtuvieron valores de 2.7 log UFC/ml y 2.5 log UFC/ml para cada productor, respectivamente. Con respecto al recuento de enterobacterias, los resultados de los análisis reflejan un promedio de 3.4 log UFC/ml. Estos dos grupos microbianos son considerados indicadores de higiene y los valores detectados en esta bebida son relativamente altos. En aguardientes no se realizan análisis microbiológicos, pero la norma NTE INEN 2302 (2009) contiene los requerimientos para bebidas de malta indica que debe haber una ausencia total de coliformes y enterobacterias para este tipo de bebidas; esto se puede atribuir al agua no purificada utilizada en la elaboración de la bebida, así como también a los utensilios empleados que no son esterilizados adecuadamente.

En el recuento de aerobios mesófilos totales se obtuvo una media de 4.4 y 4.2 log UFC/ml para cada productor, respectivamente. La Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (2000) señala que el recuento de aerobios mesófilos no debería ser alto ya que la bebida fue sometida a un proceso de destilación y adicionalmente posee un alto contenido de etanol, lo que se puede atribuir al jugo de fruta fermentado adicionado posteriormente.

En cuanto a mohos y levaduras en el Delicioso el valor promedio fue de 3.4 log UFC/ml, este resultado no concuerda con el valor obtenido por Gasseem (2002), quien obtuvo en su investigación un promedio de 6.2 log UFC/ml, además asegura que la asociación de mohos y levaduras es conocida en varias fermentaciones tradicionales tanto de alimentos como de bebidas, dando así características organolépticas deseables a los productos.

Para el recuento de BAL se obtuvo un promedio de 2.4 log UFC/ml. Kunene et al. (1999), afirma que el grupo que incluye a las bacterias ácido lácticas es uno de los más diversos y conocidos ya que son inofensivos para el consumo humano en cantidades moderadas de hasta 0.2 log UFC/ml. Narváez & Zapata (2009) en su estudio de la micro flora bacteriana del mezcal expone que las BAL confieren

muchas de las características organolépticas de la mayoría de los destilados, las especies más representativas que se encuentran en este tipo de bebidas son *Pediococcus parvulus*, *Lactobacillus brevis*, entre otras.

4.2.4 COMPARACIÓN DE RECuentOS MICROBIOLÓGICOS ENTRE LA CHICHA DE JORA Y LA CHICHA HUEVONA.

Las chichas son consideradas un brebaje de maíz, arroz, yuca o frutas, heredado de nuestros antepasados aborígenes que lograron construir desde refresco hasta especies de bebidas embriagantes; la chicha es una bebida andina conocida desde tiempos de la Conquista y la Colonia que sigue consumiéndose hasta el presente. El sabor depende de los ingredientes utilizados, del grado de fermentación y del nivel de azúcares que se empleen en su producción; básicamente se elabora con maíz molido y la adición de frutas para su fermentación, gracias a los productos fermentados la alimentación es rica en vitaminas, fáciles de digerir y sabrosa (Páez, 2010).

En la Tabla 9 se puede observar la interacción estadística de las variables bebidas y productores, obtenidos de los resultados microbiológicos realizados a las chichas de jora y huevona.

Tabla 9. Interacción entre bebidas (Chicha de Jora y Chicha Huevona)

	BAL	Mohos y Levaduras	Coliformes	Enterobacterias	Aerobios Mesófilos
Fuente	Valor -p				
A: Bebida	<0.0001*	<0.0010*	0.3908	0.6153	0.5667
B: Productor	0.3423	0.6219	0.2658	0.0014	0.9678
Interacciones					
AB	0.6645	0.0700	0.0523	0.0033*	0.9401

Valor-P prueba la significancia estadística de cada uno de los factores ($P > 0.005$) y 95% de nivel de confianza.

* Diferencias significativas

Al evaluar las dos bebidas elaboradas bajo procedimientos similares se encontraron diferencias significativas para las dos chichas, tanto para el recuento de mohos y levaduras como para las BAL, como se puede observar en la Tabla 9; esto se puede atribuir a los diferentes ingredientes utilizados. La chicha de jora se prepara a partir de la cocción de harina de maíz de jora germinado y panela, y la chicha huevona tiene el mismo procedimiento de la chicha de jora pero se le adiciona un huevo, cerveza y un poco de puro si la chicha de jora no está lo suficientemente fermentada; estos sustratos tienen gran influencia sobre el desarrollo de estos microorganismos considerados como fermentadores. Los microorganismos son los responsables de la fermentación de cualquier tipo de producto, éstos pueden ser levaduras, mohos, bacterias o una combinación de ellos, siendo las primeras los microorganismos clave en la fermentación alcohólica (Fula, 2010).

En la Tabla 9 se puede observar que existen diferencias significativas en el recuento de enterobacterias en cuanto a bebidas y productores; para el recuento de coliformes no se presenta diferencias significativas, para recuento de aerobios mesófilos existen diferencias significativas entre productores y bebidas. El alcohol etílico coagula y desnaturaliza las proteínas, de ahí su efecto inhibitorio del desarrollo microbiano. El contenido de alcohol de la cerveza, vino y bebidas fermentadas no es suficientemente elevado para inhibir por sí solo los microorganismos alterantes de estas bebidas, aunque sí es capaz de limitar el crecimiento de algunos de ellos, además los destilados suelen contener cantidad suficiente para evitar la alteración (Gil & Ruiz, 2010).

4.3 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

Tabla 10. Resultados de los Análisis Físico-Químicos

Bebida	Chica de Jora		Chicha Huevona		Delicioso		Método Aplicado
Productor	1	2	1	2	1	2	
Parámetro F.Q							
Extracto Seco	14.40	7.30	9.43	4.90	7.65	4.51	INEN 346
Grado Alcohólico	1.61	1.54	3.68	3.76	13.07	21.32	INEN 340
Gravedad Específica	0.9976	0.9977	0.9946	0.9945	0.9828	0.9738	
pH	4.15	3.79	4.32	4.55	7.09	7.19	INEN 1087
Acidez Total	331.94	285.39	252.41	218.81	45.91	28.14	INEN 341
Acidez Fija	217.27	178.37	222.36	115.48	27.54	16.89	
Acidez Volátil	114.67	107.02	30.05	103.33	18.37	11.25	
Ésteres	2666.00	3500.00	710.35	930.15	220.28	232.40	INEN 342
Aldehídos	201.55	89.29	74.73	0.00	41.24	9.80	INEN 343
Metanol (mg/100 ml alcohol anhidro)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	INEN 347

4.3.1 GRADO ALCOHÓLICO

Los valores de grado alcohólico reportados fueron muy diferentes para cada bebida evaluada (Tabla 10). “El Delicioso” presentó un contenido alcohólico más alto (>13.07 °GL), seguido por la Chicha Huevona con un dato promedio de 3.72 °GL y finalmente la Chicha de Jora que obtuvo un promedio de 1.575 °GL.

De acuerdo con los valores obtenidos la Chicha de Jora y la Chicha Huevona presentan valores moderados de grado alcohólico esto se debe a que los cereales y otros materiales amiláceos son utilizados como sustratos en la producción de alcohol, para esto primero deben hidrolizarse sus carbohidratos complejos, y su producto final podría contener entre 10 y 14% de alcohol (Willey, Sherwood&Woolverton, 2009).

Los alcoholes son normalmente el grupo con la concentración más alta de los destilados que contribuyen al aroma y carácter esencial (Silva & Malcata, 1999). El valor obtenido para el Delicioso es relativamente alto producido por una elevada actividad microbiana y conllevan a la desaparición de algunas levaduras de *S. cerevisiae*, como sucede en la producción artesanal de cachaca, esto ocurre durante las primeras horas del ciclo fermentativo, desapareciendo al final del proceso. La mayoría de microorganismos no prevalecen en el proceso fermentativo debido al efecto tóxico del etanol en las bebidas fermentadas (Guerra et. al, 2001).

4.3.2 EXTRACTO SECO

Las concentraciones de extracto seco se encontraron entre 14,40 y 7,30 g/100 cm³ de alcohol anhidro para la Chicha de Jora; 9,43 y 4,90 g/100 cm³ de alcohol anhidro para la Chicha Huevona; y en el Delicioso el extracto seco fue de 7,65 y 4,51 (Tabla 10).

En el estudio de Recalde (2010), se determinó un valor de 21 g/100ml; este valor difiere con los resultados obtenidos en esta investigación, debido, probablemente a los sustratos utilizados para la elaboración de las bebidas. Escudero (2014), reportó para Chicha de Jora un valor de extracto seco promedio de 8.58 g/100 ml, este valor es similar a los obtenidos en esta investigación para la Chicha de Jora y la Chicha Huevona.

La NTE INEN 366 (1987) para brandy expone el valor máximo permisible del extracto seco que es de 3.5 g/100 cm³ de alcohol anhidro. Este valor es muy similar al reportado para el Delicioso que tuvo un promedio de 6.08 g/100 cm³ de alcohol anhidro.

4.3.3 pH

El Delicioso presentó el pH más alto con un valor de 7.09 para el productor 1 y un pH de 7.19 para el productor 2; para la Chicha Huevona se obtuvo un pH de 4.32 y 4.55 para los productores 1 y 2, respectivamente; para la Chicha de Jora se obtuvo un promedio de 3.97 (Tabla 10).

Radler (1986) recomienda para este tipo de bebidas fermentadas un pH menor que 4, por cuanto así presentan estos productos una mejor resistencia a la contaminación bacteriana. Willey, Sherwood & Woolverton (2009), aseguran que el pH de un alimento o bebida es muy crítico, puesto que un pH bajo favorece el crecimiento de levaduras y mohos. Microorganismos como bacterias patógenas requieren sustratos con un pH cercano al neutro por lo que la acidez de las bebidas podría convertirse un ambiente hostil para el desarrollo bacteriano. Sotero, García & Lessi en su estudio Bebida fermentada a partir de Pijuayo, presentó un valor de pH de 4.0; este valor es similar al reportado en el presente estudio.

4.3.4 GRAVEDAD ESPECÍFICA

Los valores resultaron muy cercanos para las tres bebidas, esto podría atribuirse a la composición de cada bebida y a los diferentes procesos de elaboración, obteniéndose una densidad propia en cada caso (Tabla 10).

Los resultados obtenidos de acuerdo al peso específico de las chichas se encuentran en un rango de 0.9945 a 0.9977. En un estudio de parámetros óptimos en la fermentación alcohólica para industrializar la chicha de jora en una procesadora de alimentos y bebidas se obtuvieron resultados entre 1.069 y 1.070, éstos valores se asemejan a los obtenidos en este estudio, esto podría atribuirse a la forma de elaboración de las bebidas, a la materia prima y envases empleados (Pomasqui, 2012).

4.3.5 ACIDEZ TOTAL, FIJA Y VOLATIL

4.3.5.1 ACIDEZ FIJA

Los resultados obtenidos en acidez fija para la Chicha de Jora fueron los valores más elevados con un promedio de 197.82 mg ácido acético/ 100 ml alcohol anhidrido, seguida por la Chicha Huevona con un promedio de 168.92 mg ácido acético/ 100 ml alcohol anhidrido y finalmente el Delicioso tuvo un promedio de 22.215 mg ácido acético/ 100 ml alcohol anhidrido (Tabla 9).

Sotero, García & Lessi (1996) presentaron un valor de 1600 mg de ácido acético/ 100 ml de alcohol anhidro; este valor es elevado con relación a los obtenidos en

el estudio Bebida fermentada a partir de Pijuayo, esto se debe a la variación de sustratos utilizados y al empleo de bebidas que ya han sido procesadas como la cerveza y puntas. Según Recalde (2010) la presencia de acidez volátil es notoria en cuanto al sabor desagradable de las bebidas.

4.3.5.2 ACIDEZ VOLÁTIL

La bebida que presentó una acidez volátil mayor fue la Chicha de Jora con valores de 114.67 y 107.02 mg ácido acético/100ml alcohol anhidro; seguido de la Chichas Huevona y el Delicioso con valores entre 11.25 y 103.33 mg ácido acético/100ml alcohol anhidro (Tabla 10).

Los valores obtenidos en esta investigación comparados con la norma NTE INEN 372 (1987) para vinos son menores al valor medio reportado en las tres bebidas analizadas ya que esta norma cita un valor máximo permisible de 1500mg de ácido acético/100 ml de alcohol anhidro.

4.3.5.3 ACIDEZ TOTAL

Los rangos de acidez total varían en cada uno de los casos como se puede observar en la Tabla 10.

Escudero (2014) y Rivera (2015) reportaron resultados elevados de acidez total que tienen como valor promedio 38000 mg ácido acético/ 100 ml alcohol anhidro. Sotero, García & Lessi (1996) presentaron un valor de 2400 mg de ácido acético/ 100 ml de alcohol anhidro, estos resultados elevados se atribuyen a que las bebidas analizadas presentan un sabor más concentrado y deseable en el producto final.

4.3.6 ÉSTERES

Las bebidas analizadas presentan valores de ésteres elevados, como se observa en la Tabla 10.

La Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1837 (1991) indica que los licores no deben exceder el valor de 30 mg de acetato de etilo / 100 ml de alcohol anhidrido y en los resultados obtenidos para la chicha de jora un promedio de 3.083 mg de acetato de etilo / 100 ml de alcohol anhidrido, para la chicha huevona se obtuvo un promedio de 820.235 mg de acetato de etilo / 100 ml de alcohol anhidrido y para el delicioso se obtuvo el valor más bajo que fue de 226.34 mg de acetato de etilo / 100 ml de alcohol anhidrido, lo que indica que difieren del rango de la norma. Mingorance-Cazor et al. (2003), aseguran que la levadura usada en el proceso de fermentación tiene gran influencia en la producción de ésteres, muchas veces asociados a las flores y frutas por su aroma y sabor. Los ésteres son considerados de importancia ya que pueden estabilizar el sabor del destilado y ablanda las características del sabor.

4.3.7 ALDEHÍDOS

La norma NTE INEN 1837 (1991) establece como requisito máximo para licores un valor de 10 mg de etanal/100 ml de alcohol anhidro; lo que indica que las muestras analizadas se encuentran fuera del parámetro establecido (Tabla 10). Los carbonilos totales de bajo peso molecular como los aldehídos y cetonas se encuentran normalmente en bebidas alcohólicas como subproductos de la fermentación de las levaduras y como resultado de la oxidación del alcohol en las diversas etapas de la producción de bebidas; la presencia de estos compuestos

en las bebidas no es deseable, debido a que presentan propiedades organolépticas desagradables (Wardeneki, Sowinski & Curylo, 2003).

4.3.8 METANOL

En las bebidas fermentadas analizadas no se encontró metanol por lo que se puede decir que, tomando en cuenta este parámetro, son bebidas aptas para el consumo humano. Estos resultados difieren con el estudio realizado en bebidas fermentadas tradicionales de Guatemala en donde se encontraron valores promedio de 0.0027 % para la bebida Cusha y para el caldo de frutas se encontró un promedio de 0.0125%, esta contaminación con metanol podría deberse a un proceso fermentativo inadecuado, donde se facilita la formación de metanol por la desesterificación de las pectinas estearasas presentes en las frutas y en muchos casos por la adición de diversas sustancias como cal o excrementos animales que aceleran la fermentación favoreciendo la formación de alcoholes superiores y de metanol (Sánchez, 2005). La NTE INEN 370 (1994) indica que en alcoholes anisados el nivel máximo permitido de metanol es de 10 mg/cm³ de alcohol anhidro sin producir efectos adversos en el ser humano. Geroyiannaki et al. (2007) afirman que el metanol tiene un efecto altamente tóxico, cuya inhalación o ingesta puede causar ceguera o muerte.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Las principales bebidas fermentadas de la provincia de Chimborazo se definieron una vez realizada la investigación de campo. Estas bebidas fueron la Chicha de Jora, la Chicha Huevona y el Delicioso de frutas, ya que son las más representativas de la provincia debido a su preparación y consumo en fiestas y celebraciones tradicionales.
- De acuerdo a los análisis microbiológicos realizados la bebida que presentó menor carga bacteriana en la mayoría de los análisis fue el Delicioso de frutas, debido a su proceso de elaboración ya que al añadir el vodka hace que el grado alcohólico aumente, lo que ocasiona que disminuya el crecimiento microbiano. Las chichas de Jora y Huevona presentaron resultados similares en relación a los recuentos microbiológicos, posiblemente por la manera de preparación de las bebidas y la materia prima, que es similar, ya que la base para la preparación de la Chicha Huevona es la Chicha de Jora.
- Las bebidas chicha de Jora y chicha Huevona presentaron recuentos microbiológicos moderadamente altos con respecto a las normas establecidas, considerándolas no aptas para el consumo humano, debido a que éstas presentan microorganismos que pueden causar infecciones graves.

- Las diferencias significativas encontradas entre lotes de producción en la mayoría de las bebidas evaluadas para cada uno de los productores, posiblemente se deben al empleo de materia prima de distintos proveedores y al proceso de manufactura que es diferente para cada bebida.
- En relación a los análisis físico-químicos la mayoría de las bebidas presentan cantidades considerables de aldehídos, lo que es favorable ya que la presencia de éstos confiere características únicas de aroma y sabor a las bebidas, lo que beneficia su comercialización y consumo. La determinación del grado alcohólico en las bebidas es directamente proporcional al grado de fermentación que presenta cada una. En relación a la determinación de metanol ninguna bebida presentó este compuesto, lo cual es favorable debido a que el consumo de bebidas que presentan este alcohol puede ocasionar ceguera e incluso en porcentajes altos puede provocar la muerte.

5.2 RECOMENDACIONES

- Este estudio es un punto de partida para la estandarización de los procesos de producción de las bebidas fermentadas tradicionales de la provincia de Chimborazo. La posterior identificación de la diversidad microbiana de estas bebidas es importante para aislar las cepas fermentadoras y emplearlas posteriormente en la industria alimentaria.
- Usar métodos rápidos de análisis microbiológicos como las placas Petrifilm, ya que reducen el tiempo del recuento de los microorganismos.
- Es muy importante promover las tradiciones y costumbres ancestrales de los pueblos ya que las bebidas fermentadas son esenciales en cada festividad en esta provincia.
- Realizar capacitaciones de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) a los productores y comerciantes de bebidas fermentadas tradicionales para así asegurar la inocuidad del producto.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, M.&Moss, M. (1997). Microbiología de los Alimentos. Zaragoza Ed. Acribia, p. 321-329.
- Ahmed, Y.&Carlstrom, C. (2006). Microbiología de los Alimentos: Manual de Laboratorio. Editorial Acribia. Zaragoza (España), p. 167-178
- Avilés, E. (2014). Chimborazo Provincia del Ecuador. Enciclopedia del Ecuador. Recuperado el 22 de octubre del 2014. <http://www.encyclopediadelecuador.com/temasOpt.php?Ind=499&Let=>
- Ashworth, A.(2005). Tearfund International LearningZone.TheFermentation.Recuperado el 22 de abril del 2013. <http://tilz.tearfund.org/Espanol/Paso+a+Paso+31-40/Paso+a+Paso+32/La+fermentaci%C3%B3n.htm>
- Bello Gutiérrez J. (2005). Calidad. Microorganismos que intervienen en la fermentación. Ediciones Díaz de Santos. Ciudad Fernández. España, p. 53-68.
- Campell&Reece (2005). Biología. Séptima edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid España, p. 638-640.
- Castillo, F. (2005). Biotecnología Ambiental. Primera Edición. Editorial Tébar, S.L., Madrid. España, p. 66-72.
- Claude, F. (2003). Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. 2 da Edición. Madrid España, p. 503-510.
- Charquero, M. & Rey, L. (2012). Preparación y servicio de bebidas y comidas rápidas en el bar. Elaboración de Whisky. Primera Edición. INNOVA Y CUALIFICACIÓN. Antequera. Málaga, p. 70-72.

- Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos. (2000). Microorganismos de los alimentos 1. Su significado y métodos de enumeración. (2th Edición). Editorial Acribia. Zaragoza (España), p. 70-72.
- Dragone, G., Mussatto, S., Oliveira, J., Teixeira, J. (2009). Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. Institute for Biotechnology and Bioengineering (IBB), Centre of Biological Engineering University of Minho, Campus de Gualtar, Braga. Portugal, p. 47-57.
- España, F. (2004). El Vino. Conózcalo y disfrútelo. Grupo Editorial Norma. Primera Edición. Bogotá. Colombia, p. 57-68.
- Fellows, P. (2000). Tecnología del Procesamiento de Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España, p. 345-360.
- Fula, J. (2010). Desarrollo de una bebida fermentada con adición de cocción de maíz. Facultad de Ciencias. Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia, p.8-9, 22-30.
- Gassem, M. (2002). A microbiological study of Sobia: a fermented beverage in the Western province of Saudi Arabia. Department of Food Science and Nutrition. College of Agriculture, King Saud University. P.O. Box 2460, Riyadh 11451. Saudi Arabia, p. 72-80.
- García, G., Quintero, R., López, M. (2004). Biotecnología Alimentaria. Editorial Limusa S.A. Quinta Impresión. Balderas México, p. 263-313.
- Gamazo, C., López, I., y Díaz, R. (2009). Manual Práctico de Microbiología. (3th Edición). Editorial Elsevier Masson. Barcelona. (España), p. 81-90.

- Geroyiannaki, M. Kamaitis, M.E., Stavrakas, D. E., Polysiou, M. Athanasopoulos, P. E. & Spanos, M. (2007). Evaluation of acetaldehyde and metanol in greek traditional alcoholic everages from varietal fermented grape pomaces. (*Vitisvinifera L.*) Food Control 18, p. 988-995.
- Gil, A. & Ruíz, M. (2010). Tratado de Nutrición. Tomo II. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Editorial Médica Panamericana. Segunda Edición. Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral, SENPE. Madrid. España, p. 641-680.
- Guerra, J., Araújo, C., Pataro, C., Franco, G., Moreira, E., Mendonc, L. (2001). Genetic diversity of *Saccharomyces cerevisiae* strains during the 24 hours fermentative cicle for the production of the artisanal Brazilian Cachaca. Instituto de Microbiología. Universidad Federal do Río de Janeiro. Río de Janeiro. Brazil, p. 650-671.
- Gutiérrez, R. (2013). Revista el Viajero. La Chicha una bebida de nuestras propias raíces. Recuperado el 23 de abril del 2013. http://revistaelviajero.com/index.php?option=com_content&view=article&id=117:la-chicha-una-bebida-de-nuestras-propias-raices&catid=16:donde-comer&Itemid=19
- Hernández, A., Alfaro, I., Arrieta, R. (1996). Microbiología Industrial. Microorganismos utilizados industrialmente, p. 6-18.
- Hernández, R. & Sastre, G. (1999). Tratado de Nutrición. Cerveza Elaboración. Ediciones Días de Santos. Madrid. España, p. 242.
- Ingraham, J. & Ingraham, C. (1998). Introducción a la Microbiología. Editorial Reverté. Barcelona. España, p. 734-742.

- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2011).(Ecuador). Recuperado el 14 de octubre de 2014 de, http://www.inec.gob.ec/cpv/TB_iframe=true&height=450&width=800%27%20rel=slbox.
- Internelia Network S.L. (2015). Licores de Frutas. Valencia. España. Recuperado el 28 de abril del 2015. <http://www.licoresdefruta.net/>
- Kunene. N., Geornaras. I., Von Holy. A., Hastings. J. (1999). Characterization and Determination of Origin of Lactic Acid Bacteria from a Sorghum-Based Fermented Weaning Food by Analysis of Soluble Proteins and Amplified Fragment Length Polymorphism Fingerprinting. School of Molecular and Cellular Biosciences, University of Natal, Scottsville. Department of Molecular and Cell Biology, University of the Witwatersrand. South Africa, p. 104-112.
- Lovera, J. (2009). Historia de la Chicha. Recuperado el 22 de abril del 2013. <https://sites.google.com/site/virginiaysuscosas/luis-felipe-escobar-ramos/historia-de-la-chicha>
- Macek, M. (2013). La destilación. Aguardientes. Zonadiet.com. Recuperado el 28 de mayo del 2013. <http://www.zonadiet.com/bebidas/destilacion.htm>
- Melo, C. (2007). Bioquímica de los Procesos Metabólicos. Editorial Reverté. 2da Edición. México, p. 147-166.
- Mejía, J., Chacón, Z., Guerrero, B. (2007) Obtención de cepas de Lactobacillus. Caracterización In-Vitro como Potenciales Probióticos. Revista Científica. Universidad de Zulia. Venezuela, p. 4-16.
- Mingorance, L., Clemente, J., Marínez, S., Las Heras, F. & Rodríguez, F. (2003). Contribution of different natural yeasts to the aroma of two

alcoholic beverages. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19, 297-304.

Miranda, Oscar. Et.al(2007). Elaboración de una bebida fermentada a partir de suero de queso. Características Distintivas y control de calidad. Instituto de Investigaciones Agropecuarias “Jorge Dimitrov”. Bayamo. Gramna, Cuba, p. 48-54.

NTE INEN 0338. (1992). Bebidas alcohólicas. Definiciones. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador)

NTE INEN 0340. (1994). Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador).

NTE INEN 0341. (1978). Bebidas alcohólicas. Determinación de la acidez. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador).

NTE INEN 0342. (1978). Bebidas alcohólicas. Determinación de ésteres. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador).

NTE INEN 0343. (1978). Bebidas alcohólicas. Determinación de los aldehídos. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador).

NTE INEN 0346. (1978). Bebidas alcohólicas. Determinación del extracto seco. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador).

NTE INEN 0347. (1978). Bebidas alcohólicas. Determinación del metanol. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador).

NTE INEN 0235. (2002).Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación del pH. Norma Técnica Ecuatoriana. Quito. (Ecuador).

NTE INEN 0362. (1992). Bebidas alcohólicas. Aguardiente de caña rectificado. Requisitos. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria. Quito. (Ecuador).

- Othón, S. (1996). Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. Departamento Tecnología de Alimentos. ITESM. Campus Monterrey. México, p. 67-89.
- Páez, V. (2010) Bebidas fermentadas. Reciteia. Volumen 10. Universidad del Valle. Cali-Colombia. Recuperado el 23 de abril del 2013. <http://es.scribd.com/doc/46013334/2010-Paez-Bebidas-fermentadas>.
- Pascual, M., & Calderón, V. (2000). Microbiología Alimentaria. Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. Editorial Díaz de Santos. 2da Edición. Madrid España, p. 13-29.
- Pomasqui, J. (2012). Parámetros Óptimos en la Fermentación Alcohólica para Industrializar la chicha de Jora en la Procesadora de Alimentos y Bebidas KUTACACHI SARA MAMA. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Universidad Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador, p. 60-72.
- Prats, G. (2005). Microbiología clínica. Estructura y Morfología de los hongos. Editorial Médica panamericana. Madrid. España, p. 17-34.
- Proaño V. (2009). Instituto Universitario de Posgrado. Chicha de arroz: una bebida andina muy refrescante. Recuperado el 26 de abril del 2013. http://muchogusto.iup.es/index.php?option=com_content&view=article&id=150:veronica-proano&catid=44:la-coctelera&Itemid=63
- Quirós, E. (2010). De Asia a Latinoamérica. La Chicha. Recuperado el 22 de abril del 2013. <http://www.eloyhanoi.com/2010/10/chicha.html>
- Radler, F. (1986). Microbial Biochemistry in New Progress in vine and wine. *ResearchExperienta*, 4 (8): 884 p.

- Ramirez de la Torre N. (2010). Los Aguardientes. Definición, Origen y Tipos. Recuperado el 26 de abril del 2013. <http://www.alambiques.com/aguardientes.htm>
- Ray, B., & Arun, B. (2010). Fundamentos de Microbiología de los Alimentos. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. Cuarta edición. México, p. 473-481.
- Recalde, D. (2010). Elaboración de una bebida alcohólica de Jícama. Escuela Politécnica Nacional. Quito- Ecuador, p. 46-64.
- Redhead J. & Boelen M. (1990). Utilización de alimentos tropicales. Cereales. Elaboración del Sake. Estudio FAO alimentación y nutrición. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, p. 234-243.
- Rosas, A. (2012). Análisis de la Chicha de Jora como Elemento de Identidad Gastronómica y Cultura de la Ciudad de Cuenca. Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias de la Hospitalidad. Carrera de Turismo. Cuenca. Ecuador, p. 68-75.
- Santamarina, Pilar., García, Francisco. & Roselló, Josefa. (1997). Bacterias. Biología y Botánica. Tomo II. Editorial UPVO. Universidad Politécnica de Valencia, p. 17-20.
- Sánchez, L. (2005). Determinación de metanol en bebidas alcohólicas fermentadas tradicionales y populares de mayor consumo en dos regiones de la república de Guatemala por cromatografía de gases. Guatemala, p. 72-81.
- Sanchez, M., Lopez, C., Flores, M., Jofre, A., Aguirre, J., Morales, E., Reyes, R. (2010). Estudio preliminar del Axokot, bebida tradicional fermentada, bajo una perspectiva transdisciplinaria. Investigación

Universitaria Multidisciplinaria. Universidad Simón Bolívar. Instituto Politécnico Nacional. Instituto de Química. UNAM.

Sedano, J. (2006). Selección de Cepas nativas de *Lactobacillus* con actividad inhibitoria y tolerantes al etanol aisladas de masato. Tesis para obtener título profesional de Biólogo con mención en Microbiología y Parasitología. Lima. Perú, p. 41-57.

Silva, M. & Malcata, F. (1999). Effects of time of grape pomace fermentation and distillation cuts on the chemical compositions of grape marc. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*. 208, p. 134-143.

Sotero, D., & Lessi, E. (1996). Bebida Fermentada a partir de Pijuayo (*Bactris gasipa* H.B.K). Parámetros y evaluación. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana Apdo 611. *Folia Amazónica*. Volumen 8 (1). Iquitos. Perú, p. 47-50.

Steinkraus, K. (1989). Industrialization of Indigenous Fermented Foods. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, NY, USA, p. 452-435.

Steinkraus, K. (1983). Handbook of Indigenous Fermented Foods. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, NY, USA, p. 422-432.

Suárez, J. & Iñigo (1990). Fundamentos de vinificación B. Editorial Mundi-Prensa. Madrid España, p. 397-421

Starr, C., & Taggart, R. (2008). Biología. La Unidad y la Diversidad de la Vida. Fermentación alcohólica. Undécima Edición. Cengage Learning Editores S.A. México, p. 67-78.

Tortora, J. (1993). Introducción a la Microbiología. Edit. Acribia. Zaragoza, España, p. 45-75.

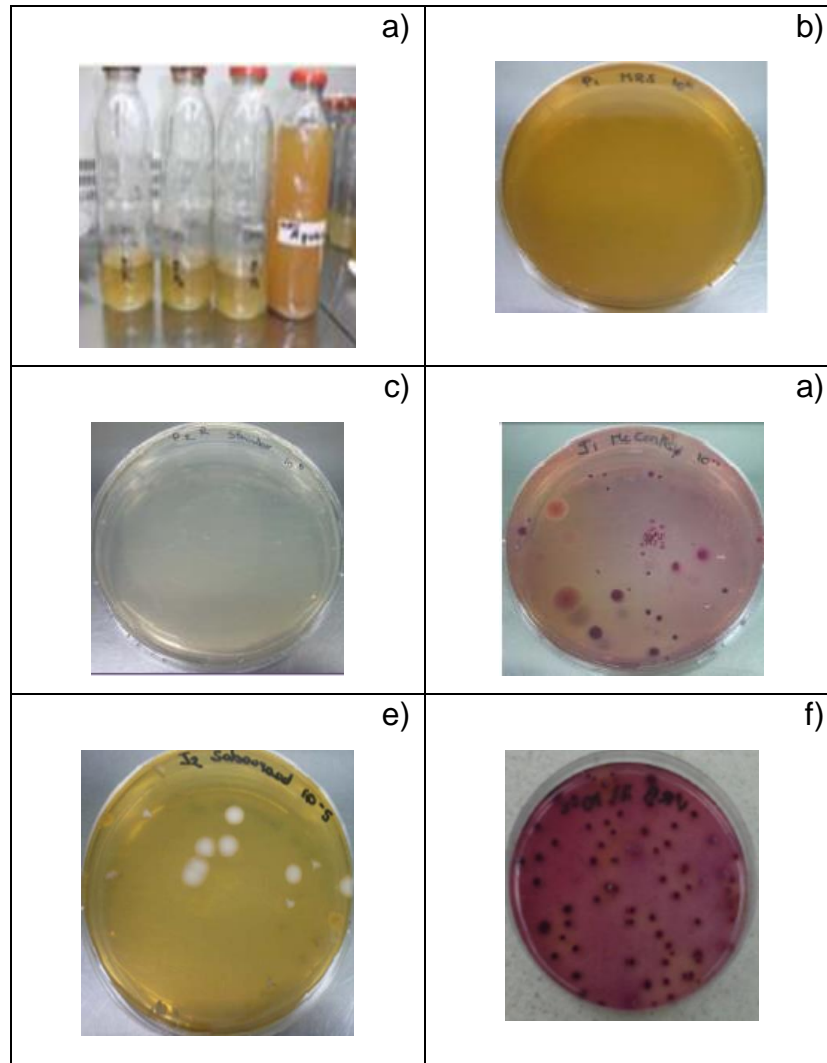
- Vega, G. (2012). Elaboración y control de calidad de una bebida a base de suero de leche y avena (*Avena sativa*), para Producoop “El Salinerito”. Tesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Vera García (1996). Introducción a la Microbiología. Levaduras, Bacterias, Mohos. Editorial EUNED. Universidad Estatal a Distancia, p. 160.
- Vincent, M., Álvarez, S., Zaragozá, J. (2006). Química Industrial Orgánica. Departamento de Ingeniería Química y nuclear. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. Editorial UPV, p. 80-95.
- Wardencki, W. Sowinski, P., & Curylo, J. (2003). Evaluation of headspace solid- phase microextraction for the analisis of volatile carbonyl compounds in spirits and alcoholic beverages. Journal of Chromatography A. 984, p. 89-96.
- Willey, J., Sherwood, L., Woolverton, C. (2009). Microbiología de Prescott, Harley & Klein. Séptima Edición. McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U. Madrid España, p. 824-901.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO I

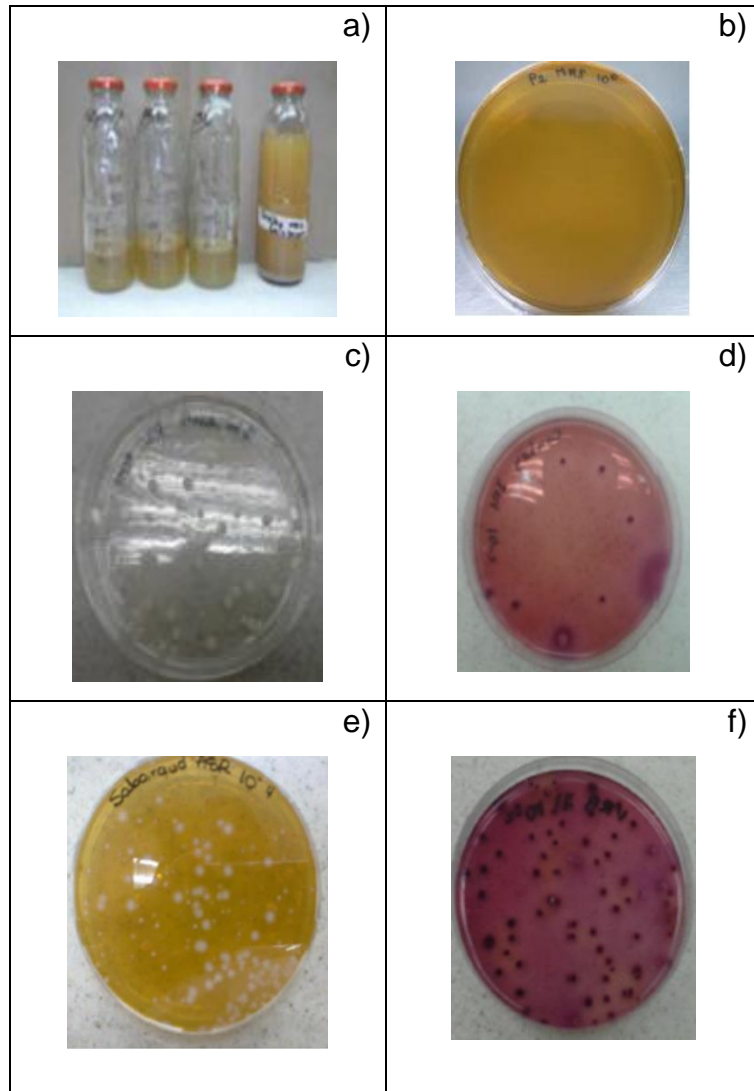
RECUENTOS DE MICROORGANISMOS PARA LA MUESTRA CHICHA DE JORA



a) Muestra Chicha de Jora. Recuentos de microorganismos b) dilución 10^{-1}
Bacterias Ácido Lácticas c) dilución 10^{-3} Aerobios Mesófilos d) dilución 10^{-2}
Entero bacterias e) dilución 10^{-5} Mohos y Levaduras f) dilución 10^{-2} Coliformes
Totales.

ANEXO II

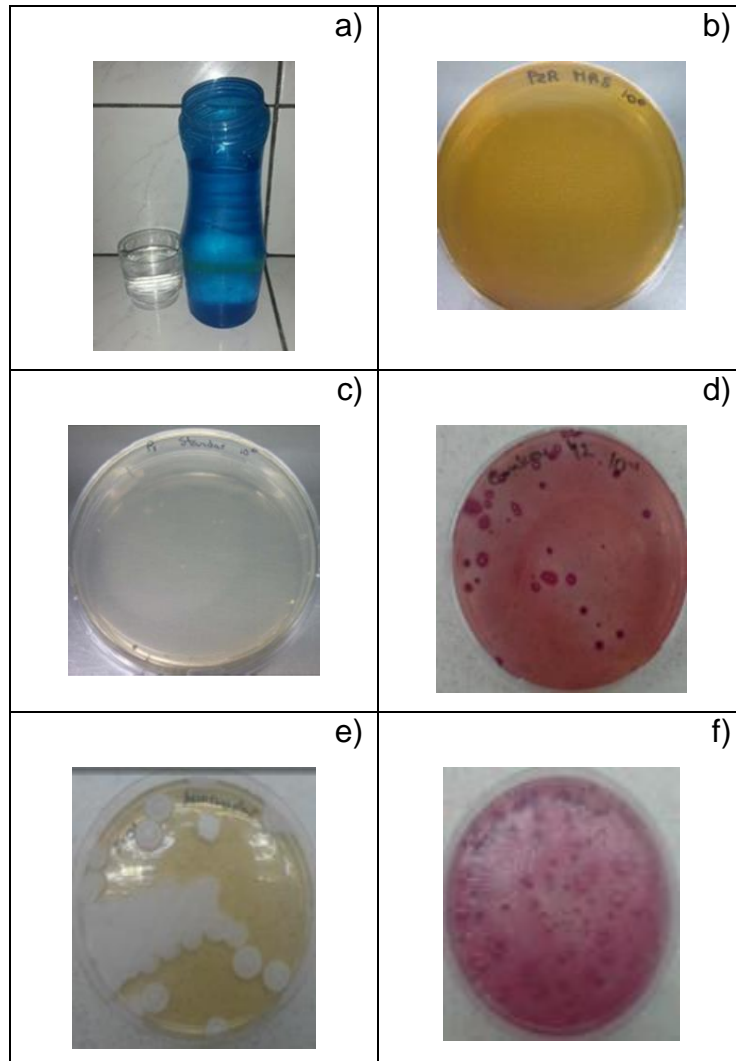
RECUENTOS DE MICROORGANISMOS PARA LA MUESTRA CHICHA HUEVONA



a) Muestra Chicha Huevona. Recuentos de microorganismos b) dilución 10^{-3} Bacterias Ácido Lácticas c) dilución 10^{-2} Aerobios Mesófilos d) dilución 10^{-3} Entero bacterias e) dilución 10^{-7} Mohos y Levaduras f) dilución 10^{-3} Coliformes Totales.

ANEXO III

RECUENTOS DE MICROORGANISMOS PARA LA MUESTRA DELICIOSO



a) Muestra Delicioso. Recuentos de microorganismos b) dilución 10^{-2} Bacterias Ácido Lácticas c) dilución 10^{-1} Aerobios Mesófilos d) dilución 10^{-4} Entero bacterias e) dilución 10^{-2} Mohos y Levaduras f) dilución 10^{-2} Coliformes Totales

ANEXO IV

RECUENTOS TOTALES DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN MUESTRAS DE CHICHA DE JORA

BEBIDA	PRODUCTOR	LOTE	RÉPLICA	COLIFORMES	AEROBIOS MESÓFILOS	ÁCIDO LÁCTICAS	ENTERO BACTERIAS	MOHOS Y LEVADURAS
				UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml
CHICHA DE JORA	1	1	1	$1,96 \times 10^4$	$5,76 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$5,46 \times 10^4$	$1,13 \times 10^7$
			2	$2,12 \times 10^4$	$1,07 \times 10^6$	$1,98 \times 10^7$	$6,05 \times 10^4$	$1,24 \times 10^7$
		2	1	$4,1 \times 10^2$	$1,02 \times 10^5$	$3,25 \times 10^6$	$2,42 \times 10^4$	$1,26 \times 10^6$
			2	$5,5 \times 10^3$	$1,25 \times 10^6$	$2,34 \times 10^6$	$3,045 \times 10^4$	$4,14 \times 10^5$
		3	1	$3,65 \times 10^5$	$3,06 \times 10^3$	$3,76 \times 10^2$	$3,91 \times 10^3$	$1,88 \times 10^6$
			2	$2,69 \times 10^5$	$3,60 \times 10^3$	$3,65 \times 10^5$	$9,8 \times 10^2$	$4,46 \times 10^6$
	2	1	1	$3,63 \times 10^4$	$1,12 \times 10^6$	$9,84 \times 10^6$	$5,10 \times 10^4$	$1,72 \times 10^7$
			2	$2,21 \times 10^4$	$1,07 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$4,36 \times 10^4$	$9,36 \times 10^6$
		2	1	$7,5 \times 10^3$	$1,47 \times 10^6$	$3,36 \times 10^6$	$3,76 \times 10^4$	$8,72 \times 10^6$
			2	$5,2 \times 10^3$	$2,28 \times 10^6$	$3,84 \times 10^6$	$3,395 \times 10^4$	$5,6 \times 10^6$
		3	1	$1,16 \times 10^5$	$8,5 \times 10^2$	$3,84 \times 10^5$	$3,01 \times 10^3$	$4,81 \times 10^6$
			2	$7,45 \times 10^4$	$6,9 \times 10^2$	$9,2 \times 10^5$	$3,78 \times 10^3$	$4,03 \times 10^6$

ANEXO V

**RECUENTOS TOTALES DE MICROORGANISMOS
PRESENTES EN MUESTRAS DE CHICHA
HUEVONA**

BEBIDA	PRODUCTOR	LOTE	RÉPLICA	COLIFORMES	AEROBIOS MESÓFILOS	ÁCIDO LÁCTICAS	ENTERO BACTERIAS	MOHOS Y LEVADURAS
				UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml
CHICHA HUEVONA	1	1	1	$2,185 \times 10^4$	$1,93 \times 10^5$	$1,048 \times 10^6$	$4,06 \times 10^4$	$1,696 \times 10^6$
			2	$1,71 \times 10^4$	$1,71 \times 10^5$	$7,36 \times 10^5$	$2,465 \times 10^4$	$1,856 \times 10^6$
		2	1	$3,8 \times 10^2$	$4,9 \times 10^5$	$3,29 \times 10^4$	$3,52 \times 10^5$	$5,30 \times 10^4$
			2	$9,8 \times 10^2$	$5,62 \times 10^5$	$2,36 \times 10^4$	$1,03 \times 10^5$	$2,97 \times 10^4$
		3	1	$3,25 \times 10^5$	$5,6 \times 10^2$	$5,76 \times 10^5$	$2,51 \times 10^5$	$4,29 \times 10^6$
			2	$1,62 \times 10^5$	$2,27 \times 10^3$	$2,75 \times 10^5$	$5,37 \times 10^4$	$3,46 \times 10^6$
	2	1	1	$4,89 \times 10^3$	$2,25 \times 10^5$	$1,14 \times 10^6$	$1,74 \times 10^3$	$1,53 \times 10^6$
			2	$3,88 \times 10^3$	$2,12 \times 10^5$	1×10^6	$3,79 \times 10^3$	$1,73 \times 10^6$
		2	1	$2,7 \times 10^2$	$1,36 \times 10^6$	$4,96 \times 10^5$	$2,25 \times 10^3$	$5,4 \times 10^5$
			2	$1,3 \times 10^2$	$1,81 \times 10^6$	$7,36 \times 10^5$	$1,28 \times 10^4$	$7,14 \times 10^5$
		3	1	$2,17 \times 10^5$	$3,5 \times 10^2$	$1,34 \times 10^6$	$2,87 \times 10^3$	$5,57 \times 10^5$
			2	$3,73 \times 10^4$	$2,1 \times 10^2$	$1,04 \times 10^6$	$2,01 \times 10^4$	$5,13 \times 10^5$

ANEXO VI

RECUENTOS TOTALES DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN MUESTRAS DE DELICIOSO

BEBIDA	PRODUCTOR	LOTE	RÉPLICA	COLIFORMES	AEROBIOS MESÓFILOS	ÁCIDO LÁCTICAS	ENTERO BACTERIAS	MOHOS Y LEVADURAS
				UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml	UFC/ml
DELICIOSO	1	1	1	1,6x10 ²	2,84x10 ⁵	3,68x10 ⁵	2,85x10 ³	5,33x10 ⁴
			2	1,4x10 ²	2,46x10 ⁴	1,96x10 ⁵	2,76x10 ³	2,44x10 ³
		2	1	1,7x10 ²	2,68x10 ³	9x10 ³	4,12x10 ³	2,98x10 ³
			2	6x10 ²	5,26x10 ⁴	1,31x10 ⁴	4,20x10 ³	2,31x10 ³
		3	1	3,16x10 ⁴	2,2x10 ²	6x10 ¹	6,26x10 ³	3,55x10 ⁵
			2	3,55x10 ⁴	1,5x10 ²	6,1x10 ²	4,47x10 ³	9,7x10 ⁴
	2	1	1	2x10 ²	2,71x10 ⁴	4,2x10 ²	3,1x10 ²	6,5x10 ¹
			2	1,4x10 ²	2,31x10 ⁴	5,5x10 ²	2,2x10 ²	2x10 ¹
		2	1	1,6x10 ²	1,16x10 ⁴	6x10 ¹	4,77x10 ³	8,2x10 ²
			2	7x10 ¹	2,02x10 ⁴	6x10 ²	3,06x10 ³	7,1x10 ²
		3	1	3,31x10 ³	1,4x10 ²	4,2x10 ²	5,51x10 ³	4,7x10 ⁵
			2	3,52x10 ³	1,2x10 ²	4,3x10 ²	3,42x10 ³	7,90x10 ⁵

ANEXO VII

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA CHICHA DE JORA DEL PRODUCTOR 1

LABOLAB

ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 151498
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Carla Parreño
DIRECCIÓN: Sangolquí
FECHA DE RECEPCIÓN: 21 de abril del 2015
MUESTRA: Chicha de Jora P1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color amarillento
ENVASE: Botella de vidrio
FECHA ELABORACIÓN: 17 de abril del 2015
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21 - 30 de abril del 2015
REFERENCIA: 151498
MUESTREO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 33% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Extracto seco (g/100 ml):	INEN 346	14.40
Grado alcohólico (°GL):	INEN 340	1.61
Gravedad específica:	Picnómetro	0.9976
pH (20°C):	INEN 1087	4.15
Acidez total (mg ácido acético/100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	331.94
Acidez fija (mg ácido acético/100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	217.27
Acidez volátil (mg ácido acético/100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	114.67
Esteres (mg acetato de etilo/ 100 ml alcohol anhidro):	INEN 342	2666.00
Aldehídos (mg etanal/100 ml alcohol anhidro):	INEN 343	201.55
Metanol (mg/100 ml alcohol anhidro):	INEN 347	0.00

Cecilia Luzuriaga
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 del cliente 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 / ceciliacruzuriaga@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

ANEXO VIII

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA CHICHA DE JORA DEL PRODUCTOR 2



Orden de trabajo N° 151499
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Carla Parreño
DIRECCIÓN: Sangolquí
FECHA DE RECEPCION: 21 de abril del 2015
MUESTRA: Chicha de Jora P2
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color habano
ENVASE: Botella de vidrio
FECHA ELABORACION: 17 de abril del 2015
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21 - 30 de abril del 2015
REFERENCIA: 151499
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 33% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Extracto seco (g / 100 ml):	INEN 346	7.30
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	1.54
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9977
pH (20°C):	INEN 1087	3.79
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	285.39
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	178.37
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	107.02
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro):	INEN 342	3500.00
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro):	INEN 343	89.29
Metanol (mg/100 ml alcohol anhidro) :	INEN 347	0.00

Cecilia Luquiaga
Dr. Oscar Luquiaga
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 / cecillaluzuriaga@labolab.com.ec
Quito - Ecuador

ANEXO IX

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA CHICHA HUEVONA DEL PRODUCTOR 1

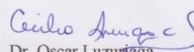



Orden de trabajo N° 151500
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Carla Parreño
DIRECCIÓN: Sangolquí
FECHA DE RECEPCION: 21 de abril del 2015
MUESTRA: Chicha huevona P1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color habano
ENVASE: Botella de vidrio
FECHA ELABORACION: 20 de abril del 2015
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21 - 30 de abril del 2015
REFERENCIA: 151500
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 33% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Extracto seco (g / 100 ml):	INEN 346	9.43
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	3.68
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9946
pH (20°C):	INEN 1087	4.32
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	252.41
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	222.36
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	30.05
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro):	INEN 342	710.35
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro):	INEN 343	74.73
Metanol (mg/100 ml alcohol anhidro) :	INEN 347	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 / cecillialuzuriaga@labolab.com.ec
Quito - Ecuador

ANEXO X

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA CHICHA HUEVONA DEL PRODUCTOR 2



Orden de trabajo N° 151501
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Carla Parreño
DIRECCIÓN: Sangolquí
FECHA DE RECEPCION: 21 de abril del 2015
MUESTRA: Chicha huevona P2
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido turbio color habano
ENVASE: Botella de vidrio
FECHA ELABORACION: 20 de abril del 2015
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21 - 30 de abril del 2015
REFERENCIA: 151501
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 33% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Extracto seco (g / 100 ml):	INEN 346	4.90
Grado alcohólico (°GL):	INEN 340	3.76
Gravedad específica:	Picnómetro	0.9945
pH (20°C):	INEN 1087	4.55
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	218.81
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	115.48
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	103.33
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro):	INEN 342	930.15
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro):	INEN 343	0.00
Metanol (mg/100 ml alcohol anhidro):	INEN 347	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
e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

ANEXO XI

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA BEBIDA DELICIOSO DEL PRODUCTOR 1



Orden de trabajo N° 151502
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Carla Parreño
DIRECCIÓN: Sangolquí
FECHA DE RECEPCION: 21 de abril del 2015
MUESTRA: Aguardiente Delicioso P1
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido transparente color verde
ENVASE: Botella de vidrio
FECHA ELABORACION: 17 de abril del 2015
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21 - 30 de abril del 2015
REFERENCIA: 151502
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 33% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Extracto seco (g / 100 ml):	INEN 346	7.65
Grado alcohólico (°GL):	INEN 340	13.07
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9828
pH (20°C):	INEN 1087	7.09
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	45.91
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	27.54
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	18.37
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro):	INEN 342	220.28
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro):	INEN 343	41.24
Metanol (mg/100 ml alcohol anhidro) :	INEN 347	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
 e-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecillaluzuriaga@labolab.com.ec
www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador

ANEXO XII

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA BEBIDA DELICIOSO DEL PRODUCTOR 2

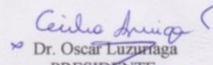
LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 151503
Hoja 1 de 1

NOMBRE: Carla Parreño
DIRECCIÓN: Sangolquí
FECHA DE RECEPCION: 21 de abril del 2015
MUESTRA: Aguardiente Delicioso P2
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido transparente color verde
ENVASE: Botella de vidrio
FECHA ELABORACION: 17 de abril del 2015
FECHA VENCIMIENTO: ----
LOTE: ----
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 21 - 30 de abril del 2015
REFERENCIA: 151503
MUESTREADO: Por cliente
CONDICIONES AMBIENTALES: 23°C 33% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Extracto seco (g / 100 ml):	INEN 346	4.51
Grado alcohólico (°GL) :	INEN 340	21.32
Gravedad específica :	Picnómetro	0.9738
pH (20°C):	INEN 1087	7.19
Acidez total (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	28.14
Acidez fija (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	16.89
Acidez volátil (mg ácido acético /100 ml alcohol anhidro):	INEN 341	11.25
Esteres (mg acetato de etilo / 100 ml alcohol anhidro):	INEN 342	232.40
Aldehídos (mg etanal/ 100 ml alcohol anhidro):	INEN 343	9.80
Metanol (mg/100 ml alcohol anhidro) :	INEN 347	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 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