



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**

**CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS  
FERMENTADORES DE UNA BEBIDA ANCESTRAL FERMENTADA  
(CHICHA) A PARTIR DE CHONTA (*Bactris gasipaes H.B.K*)”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de  
Ingenieros Agroindustriales

Autores:

Murillo Gallardo Erika Lisbeth

Pullupaxi Chiluzza Luis Sebastián

Tutor:

Ing. Zambrano Ochoa Zoila Eliana Mg

Latacunga – Ecuador

Agosto 2019



## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Erika Lisbeth Murillo Gallardo, con C.C 050399034-3 y Luis Sebastián Pullupaxi Chiluiza con C.C 180550940-1 declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: “Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)”, siendo la Ing. Zambrano Ochoa Zoila Eliana Mg tutora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

.....  
Murillo Gallardo Erika Lisbeth  
C.I. 050399034-3

.....  
Pullupaxi Chiluiza Luis Sebastián  
C.I. 180550940-1

.....  
Ing. Zambrano Ochoa Zoila Eliana Mg  
C.I.0501177393-1

## CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **Murillo Gallardo Erika Lisbeth**, identificada/o con C.C. N° **0503990343**, de estado civil **Soltera** y con domicilio en **Saquisili y Pullupaxi Chiluiza Luis Sebastián**, identificada/o con C.C. N° **1805509401**, de estado civil **Soltero** y con domicilio en **Pillaro**, a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el }, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- LA/EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico.- **septiembre 2014 – Agosto 2019**

Aprobación HCA.- **04 de Abril del 2019**

Tutor.- **Ing. Zambrano Ochoa Zoila Eliana Mg**

Tema: **“Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)”**

**CLÁUSULA SEGUNDA.- LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.-** Por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA.- OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.-** El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.-** El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.-** Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.-** **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.-** El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.-** En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.-** Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 4 días del mes de **abril del 2019**

.....

Murillo Gallardo Erika Lisbeth

**EL CEDENTE**

.....

Pullupaxi Chiluiza Luis Sebastian

**EL CEDENTE**

.....

Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez

**EL CESIONARIO**

## **AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

“Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)”, de Murillo Gallardo Erika Lisbeth y Pullupaxi Chiluzza Luis Sebastián de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga 22 de julio, 2019

.....  
Ing. Zambrano Ochoa Zoila Eliana Mg  
**C.I.05011773931**

## **AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Lectores del Proyecto de Investigación con el título:

“Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)”, de Murillo Gallardo Erika Lisbeth y Pullupaxi Chiluiza Luis Sebastián de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga 22 de julio, 2019

---

**Lector 1 (Presidente/a)**  
**Ing. Cerda Andino Edwin Fabián Mg**  
**CC: 0501369805**

---

**Lector 2**  
**Ing. Fernandez Paredes Manuel Enrique**  
**CC: 0501511604**

---

**Lector 3 (Secretario/a)**  
**Nombre: Ing. Rojas Molina Jaime Orlando Mg**  
**CC: 0502645435**

## AVAL DE TRADUCCIÓN

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres Arturo y Luisa, por nunca haberme negado su apoyo ya sea moral o económico, por inculcarme buenos valores, por su amor paciencia y comprensión para seguir adelante.

A mi hermanita pequeña Cristel, por permitirme disfrutar de cada momento vivido, cada risa compartida, por haberme entendido cuando algún rato no te pude haber regalado un poco de tiempo.

A mi novio Daniel, por la ayuda que me has brindado ha sido muy importante, estuviste a mi lado en los buenos y malos momentos de la carrera, siempre ayudándome con palabras motivadoras.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi porque en sus aulas recibí las más gratas enseñanzas y logré ser una profesional.

A mis compañeros y amigos presentes y pasados, quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas y a todas aquellas personas que durante estos años estuvieron a mi lado apoyándome y lograron que este sueño se haga realidad.

**ERIKA**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo va dedicado con todo cariño a:

Mis padres Arturo y Luisa por su sacrificio y esfuerzo, quienes han estado todo este tiempo a mi lado apoyándome para lograr esta meta.

A mi hermanita Cristel por ser parte esencial de mi vida, estar a mi lado y hacerme compañía.

**ERIKA**

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero agradecer a Dios en primer lugar por la vida y salud que nos da y fortalecerme espiritualmente para afrontar el camino lleno de retos

Agradezco de una manera muy especial a mis padres María Chiluiza y Ernesto Pullupaxi que me han brindado todo su esfuerzo para que yo ahora este logrando este sueño hecho realidad

Una gratitud ilimitada a mi hijo porque su presencia ha sido y será siempre el motivo más grande que me ha impulsado para lograr esta meta.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi porque en sus aulas recibí las más gratas enseñanzas.

A mis amigos por estar siempre presentes en la realización de este sueño para mí, agradezco a mi primo Milton Pullupaxi por estar apoyándome en los momentos buenos y malos, gracias por sus consejos y su amistad sincera

**SEBASTIAN**

## **DEDICATORIA**

Esta investigación va dedicada a las personas que me han apoyado en mi vida universitaria guiándome y haciéndome una persona de bien, con todo mi cariño se los dedico.

A mi hijo Alan Ismael Pullupaxi que me ha dado tanta felicidad y fuerza para seguir adelante contribuyendo incondicionalmente a lograr las metas y objetivos propuestos.

De igual manera dedico esta investigación a mis padres María Chiluiza y Ernesto Pullupaxi que ha sabido formarme con buenos valores. A mi hermana que siempre ha estado junto a mí brindándome apoyo para poder afrontar los retos a lo largo de mi vida universitaria.

**SEBASTIAN**

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

## FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**TITULO:** “Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)”

### Autores:

Murillo Gallardo Erika Lisbeth  
Pullupaxi Chiluiza Luis Sebastián

### RESUMEN

Esta investigación fue desarrollada en la Universidad Técnica de Cotopaxi en los laboratorios de microbiología de la carrera de Ingeniería Agroindustrial el cual tuvo como objetivo el aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*), la finalidad de esta investigación fue aislar e identificar los microorganismos fermentadores con el propósito de tecnificar y dar nuevas alternativas a la comunidad en el proceso de elaboración de esta bebida.

En el aislamiento se utilizó la técnica de siembra por estría en cuatro cuadrantes sobre un medio de cultivo sólido adecuado dispuesto en una placa petri. Cada unidad formadoras de colonias microbiológicas tienen características determinadas en cuanto a su forma, borde, elevación, tamaño y consistencia para el aislamiento se utilizó agar nutritivo, Sabouraud dextrosa, caldo lactobacilli MRS y se verificó la pureza de colonias mediante tinción simple y tinción Gram, la identificación se realizó con las pruebas bioquímicas API 50 CHL

Se aisló 30 cepas de tres tipos de microorganismos levaduras, mohos y bacterias ácido lácticas de las cuales fueron 10 levaduras, 6 mohos y 14 de ácidos lácticas logrando caracterizarles e identificar 5 cepas ácidas lácticas y tres levaduras bioquímicamente como *Bacillus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Sporolactobacillus*, *Lactococcus* que son microorganismos distinguidos como cocos por su forma esférica y levaduras como son género *saccharomyces cerevisiaea*, *candida sphaerica*, *candida utilis*.

**Palabras claves:** Aislamiento, identificación, microorganismos, fermentación, chicha, chonta.

# TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

## FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

**TITLE:** “insolation and identification fermenting microorganisms of ancestral drink from chonta (chicha). (*Bactris gasipaes H. B.K*)”

### Authors:

Murillo Gallardo Erika Lisbeth  
Pullupaxi Chiluiza Luis Sebastián

### ABSTRACT

This research was developed at Technical University of Cotopaxi in microbiology laboratories of Agro industrial Engineering where were aimed the identification and isolation fermenting microorganisms of ancestral drink from chonta (chicha). (*bactris gasipaes h.b.k*) , the purpose of this research was to insolate and identify fermenting microorganisms to technify and give new alternatives to the community marking of process of making this drink. At isolation, through the seedtime technique was used on a suitable solid medium crop in a Petri plate. Each bacterial colony has certain characteristics in its shape, edge, elevation, size and consistency for insolation agar Saboraud dextrose were used, the technique of fluted in four quadrants and the colony purity was verified by simple staining with blue methylene, and Gram staining with violet crystal, lugol, alcohol and safranine, identification was done by API NE 50 CHL biochemical tests. 30 plates were isolated, 14 were lactic acids, 10 of leaven identifying and characterizing to 3 lactic acids strains and two biochemically and morphologically leaven though biochemical tests, it was possible to identify lactic acid bacteria such as bacillus, lactobacillus, Sporolactobacillus, which are Gram positive for endospores and leaven such as Saccaromyces cerevisiaea, candida utilis.

**Key words:** Isolation, identification, microorganisms, fermentation, chicha, chonta.

## ÍNDICE

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vii
AVAL DE TRADUCCIÓN.....	viii
AGRADECIMIENTO.....	ix
DEDICATORIA .....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
ÍNDICE.....	xv
1. INFORMACIÓN GENERAL .....	1
2. RESUMEN DEL PROYECTO .....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	4
4.1 Beneficiarios Directos: .....	4
4.2 Beneficios Indirectos .....	4
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	4
6. OBJETIVOS .....	5
6.1 Objetivo General .....	5
6.2 Objetivos Específicos .....	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	6
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	7
8.1 Antecedentes .....	7
8.2 Fundamentación teórica.....	9
8.2.1 Chontaduro ( <i>Bactris gasipaes H.B.K</i> ).....	9

8.2.2 Origen y distribución: .....	9
8.2.3 Descripción botánica.....	10
8.2.4 Taxonomía .....	11
8.2.5 Microorganismos .....	12
8.2.6 Fermentación.....	12
8.2.7 Tipos de fermentación.....	13
8.2.8 Fermentación alcohólica .....	13
8.2.9 Fermentación ácido láctica .....	13
8.2.10 Fermentación acética .....	14
8.2.11 Fermentación butírica .....	14
8.2.12 Microorganismos fermentadores.....	14
8.2.13 Bebidas fermentadas tradicionales .....	15
8.2.14 Clasificación de bebidas.....	15
8.2.15 Chicha una bebida fermentada tradicional.....	16
8.2.16 La chicha en el Ecuador .....	16
8.2.17 Chicha de chonta .....	17
8.2.18 Microbiología de las bebidas fermentadas.....	17
8.2.19 Aerobios mesófilos .....	17
8.2.20 Mohos y levaduras .....	18
8.2.21 Coliformes totales .....	18
8.2.22 Enterobacterias .....	18
8.2.23 Bacterias de ácido láctico (LAB) .....	19
8.2.24 Métodos de cultivo.....	19
8.2.25 Medios de cultivo .....	19
8.2.26 Aislamiento de microorganismos.....	20
8.2.27 Cultivo en placa.....	20
8.2.28 Dilución .....	20

8.2.29 Siembra y formas para realizar la transferencia .....	21
8.2.30 Caracterización morfológica de bacterias .....	21
8.2.31 Tinción Gram .....	21
8.2.32 Tinción Simple .....	22
8.2.33 Formas de las bacterias .....	22
8.2.34 Pruebas bioquímicas API .....	23
8.3 MARCO CONCEPTUAL.....	23
9. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS.....	26
10. METODOLOGÍA E INVESTIGACIÓN DESCRIPTIVA.....	26
10.1 Tipos de investigación .....	26
10.1.1 Etapas de la investigación descriptiva: .....	27
10.1.2 Recolección de datos de la investigación descriptiva: .....	27
10.1.3 Expresión de datos de la investigación descriptiva: .....	28
10.1.4 Tipos de investigación descriptiva: .....	28
10.2 Métodos de investigación.....	31
10.2.1 Método inductivo.....	31
10.2.2 Método deductivo .....	31
10.2.3 Método experimental .....	31
10.3 Técnicas de investigación.....	31
10.3.1 La observación .....	31
10.3.2 El fichaje .....	32
10.4 Instrumentos de investigación .....	32
10.4.1 Fichas.....	32
10.4.2 Informe .....	32
10.5 METODOLOGÍA DE AISLAMIENTO.....	32
10.5.1 Procedencia de la muestra experimental ( muestreo) .....	32
10.5.2 Tratamiento de enriquecimiento de las muestras .....	33

10.5.3 Preparación de medios de cultivo .....	33
10.5.4 Esterilizar la disolución.....	33
10.5.5 Aislamiento .....	33
10.5.6 Estriado .....	34
10.5.7 Incubación.....	34
10.5.8 Purificación de colonias: .....	34
10.5.9 Caracterización .....	34
10.5.10 Identificación.....	35
10.6 Materiales, equipos e insumos para el aislamiento e identificación de microorganismos.....	38
10.6.1 Materia prima e insumo.....	38
10.6.2 Materiales de laboratorio.....	38
10.6.3 Materiales de oficina.....	38
10.6.4 Equipos: .....	38
10.6.5 Reactivos.....	39
10.6.6 Materiales de proceso.....	39
11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS .....	39
11.1 Aislamiento de microorganismos .....	39
11.2 Caracterización morfológica y microscópica.....	40
11.2.1 Morfología de las bacterias ácido lácticas .....	40
11.2.2 Morfología de levaduras.....	41
11.3 Identificación de microorganismos pruebas API 50 CHL .....	42
11.3.1 Bacterias ácido lácticas identificadas .....	43
11.3.2 Levaduras identificadas.....	45
12 IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS):....	46
12.2 Impactos técnicos .....	46
12.3 Impactos sociales.....	47

12.4 Impactos económicos:.....	47
12.5 Impactos ambientales:.....	47
13 PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO: .....	48
14 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	50
14.2 Conclusiones .....	50
14.3 Recomendaciones .....	51
15 REFERENCIAS .....	52
16 ANEXOS.....	55

### ÍNDICE DE TABLAS

<b>Cuadro 1:</b> Actividades por objetivo.....	6
<b>Cuadro 2:</b> Taxonomía del chontaduro .....	11
<b>Cuadro 3:</b> Tipo de fermentaciones y productos formados.....	14
<b>Cuadro 4:</b> Microorganismos y productos finales de la fermentación.....	15
<b>Cuadro 5:</b> Medios de cultivos utilizados en el aislamiento .....	34
<b>Cuadro 6:</b> Características de incubación de acuerdo a los microorganismos en distintos medios .....	40
<b>Tabla 7:</b> Identificación de microorganismos .....	43
<b>Tabla 8:</b> Identificación de bacterias acidas lácticas .....	44
<b>Tabla 9:</b> Identificación de levaduras.....	46
<b>Tabla 10:</b> Presupuesto para la propuesta del proyecto .....	48

### ÍNDICE DE IMAGENES

<b>Imagen 1:</b> Distribución del cultivo de chontaduro en América Latina .....	10
<b>Imagen 2:</b> Planta de chontaduro ( <i>Bactris gasipaes</i> H.B.K) .....	11
<b>Imagen 3:</b> Vista microscópica de bacterias coliformes .....	18
<b>Imagen 4:</b> Clasificación morfológica de las bacterias .....	23
<b>Imagen 5:</b> Sustratos incluidos en cada uno de los 50 recipientes de la galería enzimática para bacterias ácido-lácticas API 50 CH .....	36

<b>Imagen 6:</b> Diagrama de flujo de aislamiento e identificación de microorganismos....	37
<b>Imagen 7:</b> morfología colonial y microscópica de bacterias ácido lácticas .....	<b>¡Error!</b>
<b>Marcador no definido.</b>	
<b>Imagen 8:</b> Galería enzimática (metabolismo de hidratos de carbono) API 50 CH para bacterias ácido lácticas Y levaduras .....	43
<b>Imagen 9:</b> Ubicación geográfica Cotopaxi.....	55
<b>Imagen 10:</b> Ubicación geográfica de la Universidad Técnica de Cotopaxi .....	56

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexos 1:</b> Ubicación geográfica .....	55
<b>Anexos 2:</b> Hoja de vida del tutor .....	58
<b>Anexos 3:</b> Hoja de vida estudiante 1 .....	59
<b>Anexos 4:</b> Hoja de vida estudiante 2.....	60
<b>Anexos 5:</b> Muestreo de la chicha de chonta.....	61
<b>Anexos 6:</b> Aislamiento de microorganismos .....	62
<b>Anexos 7:</b> Caracterización de microorganismos .....	63
<b>Anexos 8:</b> Caracterización morfológica colonial .....	64
<b>Anexos 9:</b> Caracterización microscópica.....	66
<b>Anexos 10:</b> Identificación de microorganismo .....	68
<b>Anexos 11:</b> Ficha sabouraud dextrosa.....	69
<b>Anexos 12:</b> Ficha caldo MRS.....	69
<b>Anexos 13:</b> Ficha técnica API 50 CHL.....	69
<b>Anexos 14:</b> Esquema general de pruebas morfológicas e identificación Bioquímica por el sistema API 50 CHL.....	69

## 1. INFORMACIÓN GENERAL

### **Título**

“Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)”

### **Lugar de ejecución:**

Barrio: Salache Bajo

Parroquia: Eloy Alfaro

Cantón: Latacunga

Provincia: Cotopaxi

Zona: 3

Institución: Universidad Técnica de Cotopaxi- Campus Salache “CAREN” Laboratorios de la Carrera de Ing. Agroindustrial. (Anexo N° 1)

### **Nombres de equipo de investigadores**

**Tutor de titulación:** Ing. Zambrano Ochoa Zoila Eliana Mg. (Anexo N° 2)

### **Estudiantes:**

Murillo Gallardo Erika Lisbeth (Anexo N° 3)

Pullupaxi Chiluiza Luis Sebastián (Anexo N°4)

**Área de conocimiento:** Ingeniería Industria y Construcción

**Línea de investigación:** Procesos industriales (Línea No. 4).

**Sub línea:** Desarrollo de tecnologías para la conservación de productos agroalimentarios que permitan una mayor disponibilidad de alimentos a la sociedad.

## 2. RESUMEN DEL PROYECTO

Esta investigación fue desarrollada en la Universidad Técnica de Cotopaxi en los laboratorios de microbiología de la carrera de Ingeniería Agroindustrial el cual tuvo como objetivo el aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*)” la finalidad de esta investigación fue aislar e identificar los microorganismos fermentadores con el propósito de tecnificar y dar nuevas alternativas a la comunidad en el proceso de elaboración de esta bebida.

En el aislamiento se utilizó la técnica de siembra por estría en cuatro cuadrantes sobre un medio de cultivo sólido adecuado dispuesto en una placa petri. Cada unidad formadoras de colonias microbiológicas tienen características determinadas en cuanto a su forma, borde, elevación, tamaño y consistencia para el aislamiento se utilizó agar nutritivo, Sabouraud dextrosa, caldo lactobacilli MRS y se verificó la pureza de colonias mediante tinción simple y tinción Gram, la identificación se realizó con las pruebas bioquímicas API 50 CHL

Se aisló 30 cepas de tres tipos de microorganismos levaduras, mohos y bacterias ácido lácticas de las cuales fueron 10 levaduras, 6 mohos y 14 de ácidos lácticas logrando caracterizarles e identificar 5 cepas ácidas lácticas y tres levaduras bioquímicamente como *Bacillus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Sporolactobacillus*, *Lactococcus* que son microorganismos distinguidos como cocos por su forma esférica y levaduras como son género *saccharomyces cerevisiaea*, *candida sphaerica*, *candida utilis*.

**Palabras claves:** Aislamiento, identificación, microorganismos, fermentación, chicha, chonta.

### 3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El maíz, yuca y chontaduro son frutos de especies vegetales que se cultivan a lo largo y ancho de nuestro país. La bebida ancestral a partir de chonta, en la actualidad es elaborada mediante métodos y técnicas rudimentarias, por escasas personas de edad avanzada y únicamente cuando festejan, no está al alcance de todos, ni en cualquier época del año. El tiempo de fermentación muy prolongado y la calidad e inocuidad de estas bebidas están en dudas, lo que trae como consecuencia escasa reproducción en su elaboración, resultando un producto con una baja relación costo- beneficio.

Entonces en la presente investigación se aisló e identifico microorganismos fermentadores para el desarrollo tecnológico en la elaboración de la bebida ancestral con fines comerciales obteniendo información que ayude en futuras investigaciones tendientes a buscar mejoras en el proceso de esta bebida.

Los beneficios que se pretende dar son a los agricultores y productores de la chonta, el agricultor tendrá un ingreso económico a partir del cultivo de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K*) y el productor obtendrá una bebida tecnificada, elaborada de una manera más rápida y de bajo contenido alcohólico.

Esta investigación es de gran relevancia, debido a las alternativas que se pretende dar en el proceso de fermentación a los productores de la Asociación Agua Viva dándoles a conocer la tecnología y su aplicación en el proceso de elaboración asegurando una mejor calidad, mayor duración, mejor resistencia a contaminación microbiana y además presenten actividades benéficas para la salud de los consumidores, lo cual mejorara el nivel competitivo del producto artesanal.

Los aportes que brinda esta investigación son a la ciencia y tecnología para generar nuevos beneficios sociales y recursos a la comunidad tecnificando el proceso de producción de la bebida.

## **4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

La elaboración de la presente investigación básicamente tiene dos beneficiarios los cuales son:

### **4.1 Beneficiarios Directos:**

Los beneficiarios directos son las comunidades ancestrales de nuestra región amazónica y principalmente la asociación Agua Viva ubicada en la parroquia Madre Tierra del cantón Puyo que se encuentra a unos 950 m.s.n.m. Posee un clima cálido húmedo ocupa un territorio de unos 29 520 km<sup>2</sup>, habitan 83 933 personas, según el último censo nacional (2010) estos se dedican a la elaboración de esta bebida.

### **4.2 Beneficios Indirectos**

Los beneficiarios indirectos son los estudiantes de la Universidad Técnica de Cotopaxi de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial interesados en continuar con el estudio, este tipo de proyectos contribuye a la investigación y a fomentar técnicas innovadoras en procesos industriales el aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada a partir de chonta.

## **5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

Se cree que en el mundo existen cerca de 3 500 alimentos fermentados tradicionales. No obstante, los cambios en los hábitos de consumo, aunados al “progreso económico” de algunos sectores de la población, así como la mundialización y homogenización de la ingesta cotidiana, han propiciado una disminución alarmante en su consumo. De ahí que se piense que, en los próximos años, varios de estos alimentos podrían desaparecer sin haber sido documentados. Con ello se perdería parte del conocimiento y la sabiduría acumulados por la humanidad durante miles de años, o lo que la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (Unesco) ha definido como patrimonio cultural inmaterial de la humanidad. (Quintero y Bernáldez, 2012)

El Ecuador es un país rico en diversidad, en la Sierra, Costa y Oriente existe una variedad de bebidas fermentadas que forman parte de la tradición de comunidades indígenas; estas bebidas son elaboradas a partir de diferentes sustratos como el maíz, quinua, cebada, arroz, avena, chontaduro, yuca, maduro, entre otros. En las fiestas de pueblo se suele servir algunas bebidas fermentadas tradicionales entre las que se destacan los

aguardientes conocidos como “puntas” y diferentes tipos de chichas que son bebidas espesas de sabor dulce cuyo color varía dependiendo de los ingredientes a usar como el maíz, los plátanos, la mandioca o yuca, la quinua, el arroz, entre otras. (López, 2015)

La ‘Chicha de chonta’ es una bebida prehispánica, de la etnia shuar, elaborada a base de los frutos de la chonta conocidos como chontaduros. Esta bebida es elaborada de manera tradicional, por lo que no existe un proceso tecnológico para su producción, cada persona utiliza las cantidades que considera adecuadas de cada uno de los ingredientes, haciéndolo un producto variante. Para el proceso de fermentación de esta bebida las mujeres mastican el masato que es el fruto de la chonta cocinada y aplastada, el masticado y salivado es el paso que endulza y aporta enzimas digestivas a la chonta para que fermente bien, proceso que no les agrada a la mayoría de visitantes. Por lo anterior, se realizó el aislamiento de microorganismos fermentadores de la bebida a partir de la chonta, para identificar los microorganismos de relevancia y sustituir el proceso de masticado.

Otro problema se está dando con la pérdida de nuestra cultura ancestral, ya que no solo se basa en costumbres como religión y vestuario también se enfoca primordialmente en los alimentos. La situación actual de la chicha de Chonta es una bebida que hoy en día no tiene una aceptación importante dentro de nuestro medio, el problema se basa en técnica de elaboración, también en que la mayoría de personas desconocen sus propiedades y usos gastronómicos que nos ofrece esta bebida ancestral.

Es importante mencionar la relevancia de este estudio ya que su consumo puede terminar con la problemática social del desconocimiento y de esta manera rescatar una parte importante de la cultura gastronómica ecuatoriana mejorando el proceso de elaboración de esta bebida.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1 Objetivo General**

- ❖ Identificar microorganismos fermentadores de una bebida ancestral fermentada (chicha) a partir de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K.*)

### **6.2 Objetivos Específicos**

- ❖ Aislar microorganismos fermentadores de una bebida ancestral (chicha) mediante la técnica de siembra por estrías en placa Petri.
- ❖ Caracterizar a los microorganismos fermentadores mediante técnicas microscópicas y de tinción.

- ❖ Identificar los microorganismos causantes de la fermentación mediante pruebas bioquímicas para su posterior clasificación.

## 7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

**Cuadro 1:** Actividades por objetivo

Objetivos	Actividades	Resultado de la actividad	Medios de verificación
<p><b>Objetivo 1</b></p> <p>Aislar microorganismos fermentadores de una bebida ancestral (chicha) mediante la técnica de siembra por estrías en placa Petri.</p>	<p>–Recolección de muestras de bebida fermentada a partir de chonta del cantón Puyo de la asociación Agua Viva</p> <p>-Aislamiento de cepas fermentativas a partir de la bebida, utilizando medios de cultivos adecuados.</p>	<p>Microorganismos fermentadores aislados levaduras y bacterias ácido lácticas.</p>	<p>Microorganismos aislados de la bebida ancestral fermentada. (Anexo 6)</p>
<p><b>Objetivo 2</b></p> <p>Caracterizar a los microorganismos fermentadores mediante técnicas microscópicas y de tinción.</p>	<p>Caracterización morfológica de los microorganismos fermentadores mediante la técnica de tinción simple y gram.</p>	<p>Microorganismos caracterizados morfológicamente</p>	<p>Caracterización por tinción simple y gram de microorganismos fermentadores. (Anexo 7)</p>

<p><b>Objetivo 3</b></p> <p>Identificar los microorganismos predominantes causantes de la fermentación mediante pruebas bioquímicas para su posterior clasificación.</p>	<p>Clasificación de microorganismos fermentadores de acuerdo a su morfología mediante las pruebas bioquímicas.</p>	<p>Microorganismos fermentadores identificados.</p>	<p>Microorganismos identificados mediante pruebas bioquímicas API 50 CHL. (Anexo 8)</p>
--	--	---	---

**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

## **8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA**

### **8.1 Antecedentes**

Según MONTAGUANO (2012) en la investigación titulada “INVESTIGACIÓN DE BEBIDAS TRADICIONALES ECUATORIANAS”

Se plantearon como objetivo la recopilación de información de varios pueblos del Ecuador donde se preparan bebidas utilizando materia prima ecuatoriana con mucha riqueza cultural llegando a obtener los siguientes resultados que en el Ecuador existe una gran riqueza gastronómica por descubrir, rescatar, y exportar debido a los diversos climas ecuatorianos que nos proporcionan una gran variedad de materia prima con la que se pueden desarrollar bebidas, la bebida tradicional más conocida por los ecuatorianos es la chicha cada pueblo aprovecha la materia prima para preparar las bebidas que son su representación cultural y que están llenas de mucha riqueza.

Según Pazmiño, Escudero & Grijalva (2014) en su estudio “Diversidad microbiana asociada a la chicha de arroz: una bebida tradicional de Bolívar – Ecuador” realizados en la Universidad Tecnológica Equinoccial menciona en los resultados que Los microorganismos aislados en la chicha de arroz representaron un consorcio de enterobacterias, bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras. Los valores de los recuentos fueron diferentes en las tres fases del proceso de elaboración. Según en una bebida fermentada se recrea un ecosistema con una amplia diversidad microbiana, las relaciones entre los microorganismos desarrollados en ella y su metabolismo ejercen una influencia en las propiedades organolépticas de la bebida, así como en su duración y mejoramiento

de su calidad nutritiva. Se obtuvieron 9 cepas distintas de bacterias ácido lácticas, pertenecientes a los géneros: *Lactobacillus*, *Sporolactobacillus* y *Bacillus*. *Sporolactobacillus* es un tipo de bacteria ácido láctica que tiene como hábitat productos fermentados y salmueras; se ha comprobado que también se desarrollan en las heces de los animales herbívoros, aguas residuales, por lo que indica su posible asociación con alimentos. La presencia de estas bacterias podría atribuirse a la falta de precaución en la elaboración de la bebida.

Según García (2010) indica que, en la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” se realizó un estudio sobre AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS A PARTIR DE BEBIDAS FERMENTADAS.

En la cual se plantearon como objetivos aislar, identificar y caracterizar morfológicamente a los microorganismos probióticos de bebidas tradicionales fermentadas (aguamiel, sotol y pozol); evaluar el efecto de inhibición de las cepas seleccionadas sobre algunos microorganismos patógenos de interés agroindustrial.

Como resultados se lograron obtener 5 cepas aisladas de bebidas fermentadas elaboradas artesanalmente (aguamiel, pozol negro, pozol blanco, sotol filtrado y sotol sin filtrar). Se ha demostrado la posibilidad de utilizar a las cepas aisladas como probióticos, basados en la realización de algunos experimentos in vitro tales como: Resistencia a pH 2.5 y 3 durante 4 h y a elevadas concentraciones de sales biliares de 2%. Esto indica que las cepas aisladas podrían llegar viables a su sitio de acción el colon, después de ser ingerida y pasar a través del tracto gastrointestinal.

LEÓN (2012) indica que en la Universidad Simón Bolívar, México en su estudio realizado sobre “Análisis bromatológico y aislamiento de microorganismos con potencial probiótico del pulque”.

La concentración de macronutrientes en el pulque es menor que en los productos comerciales con probióticos, lo que demuestra que los microorganismos con potencial probiótico obtenidos en el pulque tienen menos requerimientos nutricionales que los utilizados en bebidas comerciales de probióticos. Se aislaron un total de ocho cepas a partir de técnicas convencionales de microbiología, de estas ocho cepas, dos pueden tener potencial probiótico, un bacilo Gram positivo y una levadura, las cuales presentaron resistencia a pH ácido y a jugo gástrico artificial.

Salcedo (2008), en su estudio “Aislamiento y Selección de Levaduras Fermentadoras de Melaza de Caña de azúcar (*Saccharum officinarum*)” realizados en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo menciona en su tesis que en los resultados se aislaron un total de 27 colonias de levaduras fermentadoras espontáneas en jugo de melaza de caña de azúcar del proceso de fermentación de la melaza diluida con agua destilada a 30 y 40° Brix, durante 48 horas; se realizaron 8 diluciones de cada una de las muestras, posteriormente se tomaron 100µl de las diluciones para sembrar en medio sólido YPD para obtener las levaduras que intervienen en el proceso de fermentado de la melaza.

## **8.2 Fundamentación teórica**

### **8.2.1 Chontaduro (*Bactris gasipaes H.B.K*)**

Según Calero (2014) “El chontaduro es un fruto que cada día adquiere mayor importancia tanto en el ámbito nacional como internacional, debido a su alto valor nutritivo” (p 12)

### **8.2.2 Origen y distribución:**

Como manifiesta Forero y Godoy (2005):

**El chontaduro ha sido cultivado por los indígenas del trópico americano desde la época precolombina, particularmente para el consumo de sus frutos. Se caracteriza por ser una especie adaptada al trópico húmedo, con lluvias entre 1.900 a 5.000 mm al año y temperaturas medias entre 23 a 28°C. (p 81).**

**Imagen 1:** Distribución del cultivo de chontaduro en América Latina



**Fuente:** (Segovia, 2015)

### 8.2.3 Descripción botánica

Como menciona Corpoica (2015):

**El chontaduro es una palma de forma cilíndrica, puede alcanzar los 25 m de alto y el diámetro del tallo va de 15 a 30 cm. Su tallo presenta espinos como sistema de protección ante adversidades del medio ambiente y generalmente produce brotes. Las hojas son de forma pinada, miden de 2 a 4 metros y tienen un raquis espinoso.**  
(p 3)

**Imagen 2:** Planta de chontaduro (*Bactris gasipaes* H.B.K)



**Fuente:** (Segovia, 2015)

Las personas de la asociación Agua Viva de la Parroquia Madre Tierra del cantón Puyo recolectan el fruto de la chonta en los meses de febrero- abril por lo general esta actividad lo realizan los hombres, con el cual las mujeres preparan diferentes platos como chonta asada, cocinada y la chicha.

#### 8.2.4 Taxonomía

Según Corpoica (1996) citado por Segovia (2015) “La botánica, ciencia especializada en la descripción de las especies vegetales, le ha otorgado a esta planta la siguiente clasificación taxonómica” (p 34)

**Cuadro 2:** Taxonomía del chontaduro

<b>Nombre científico:</b>	Bactris gasipaes H.B.K
<b>Nombre común:</b>	Chontaduro, Pejibaye, Cachipay, etc
<b>Tipo:</b>	Fanerógamas
<b>Subtipo:</b>	Angiospermas
<b>Clase:</b>	Monocotiledóneas
<b>Subclase:</b>	Micrانتinas
<b>Orden:</b>	Espadiciflorineas

<b>Familia:</b>	Palmáceas
<b>Género:</b>	Bactris
<b>Especie:</b>	Gasipaes

**Fuente:** (Segovia, 2015)

### 8.2.5 Microorganismos

Arias (2010), manifiesta en su proyecto que los microorganismos participan en procesos ecológicos que permiten el funcionamiento de los ecosistemas, y biotecnológicos que son esenciales para la industria farmacéutica, alimenticia y médica. Ellos son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica y del ciclaje de los nutrientes. En la industria biotecnológica, de los microorganismos se han obtenido y producido antibióticos de enorme importancia médica como la penicilina, sintetizada por los hongos *Penicillium notatum* y *P. chrysogenum*, la cefalosporina por el género fúngico *Cephalosporium*. Mientras que otras bacterias son indispensables para la industria alimentaria, como ocurre con el género *Lactobacillus* usado en la producción de vitamina b12 en el yogurt. En el rubro industrial, las levaduras son también microorganismos ampliamente utilizados. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* se emplea para elaborar vino, tequila y cerveza.

### 8.2.6 Fermentación

Según Hernández (2003) citado por Terán (2014) en su investigación:

**Fermentación se define como el proceso en el que los microorganismos producen metabolitos o biomasa, a partir de la utilización de sustancias orgánicas, en ausencia o presencia de oxígeno, la descomposición de los sustratos es llevada a cabo por enzimas producidas por los microorganismos para tal finalidad. (p 3)**

Según PARZANESE (2014) manifiesta que **“En la mayoría de los procesos de fermentación tradicionales aplicados comercialmente, los microorganismos están en contacto con el sustrato en un ambiente acuoso, es decir se trata de un cultivo sumergido, donde la disponibilidad de agua es abundante, lo que facilita y favorece el crecimiento y desarrollo de los microorganismos” (p 2)**

La fermentación es un proceso que realizan varios microorganismos, efectuando reacciones sobre algunos sustratos. El proceso es espontaneo comienza con el desarrollo de microorganismos como entero bacterias, mohos, levaduras y bacterias acido lácticas.

### **8.2.7 Tipos de fermentación**

Como indica Mendoza (2008) citado por Terán (2014) en su investigación:

**Existe una fermentación natural cuando las condiciones ambientales permiten la interacción de los microorganismos y los sustratos orgánicos susceptibles, y artificial, cuando el ser humano propicia condiciones y el contacto referido, según el tipo de sustrato encontramos fermentación alcohólica, ácido láctico, acético y butírico. (p 3)**

### **8.2.8 Fermentación alcohólica**

Según Mendoza (2008) citado por Terán (2014) “La fermentación alcohólica es un proceso que tiene lugar en ciertas levaduras y en algunas células vegetales en condiciones anaerobias. Este proceso requiere de enzimas que metabolizan el piruvato, estas son oxidorreductoras y carboxilasas” (p 4)

Según CORRALES, ANTOLINEZ, & CORREDOR ( 2015) “La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a partir de la glucosa a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno” (p 62)

### **8.2.9 Fermentación ácido láctica**

Como indica Mendoza (2008) citado por Terán (2014) en su investigación:

**La fermentación ácido láctica consta de una primera fase que es la glucólisis en donde la oxidación de una molécula de glucosa produce dos moléculas de ácido pirúvico, esta reacción de oxidación genera la energía necesaria para formar las dos moléculas de ATP. En la siguiente etapa las dos moléculas de ácido pirúvico son reducidas por dos moléculas de NADH para formar dos moléculas de ácido láctico.**

**Dado que el ácido láctico es el producto final de la reacción, este compuesto no experimenta una oxidación posterior y la mayor parte de la energía producida por la reacción permanece almacenada en el ácido láctico. Este tipo de fermentación solo genera una escasa cantidad de energía.**

### 8.2.10 Fermentación acética

Esta fermentación se produce por la acción de un sin número de bacterias y microorganismos con capacidad de producir ácido acético a partir de sustratos que contienen etanol. A escala industrial se emplean bacterias del género *Acetobacter*, conocidas como bacterias acéticas como menciona.

### 8.2.11 Fermentación butírica

La fermentación butírica es la conversión de los glúcidos en ácido butírico por acción de bacterias del género *Clostridium* en ausencia de oxígeno, es decir es una fermentación anaerobia. Se produce a partir de la lactosa con formación de ácido butírico y gas. Es típica de las bacterias del género *Clostridium* y se caracteriza por la aparición de olores pútridos y de agradables.

**Cuadro 3:** Tipo de fermentaciones y productos formados

Tipos de fermentación	Productos
Fermentación láctica	Lactato
Fermentación alcohólica	Etanol, CO <sub>2</sub>
Fermentación acida- mixta	Etanol, Succinato, Acetato, Formiato, Lactato, Co <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>
Fermentación butilénglicóica	Butilénglicol, CO <sub>2</sub>
Fermentación aceto - butírica	Acetato, Acetona, Butirato, Butanol, Etanol, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>

**Fuente:** (Bailón, 2012)

### 8.2.12 Microorganismos fermentadores

Como indica VÁSCONEZ (2014) citado por FULA (2010) en su investigación:

Los microorganismos que intervienen en la fermentación tienen varias funciones, entre ellas: la producción de ácido láctico por fermentación de la lactosa, que le imparte un sabor ácido y refrescante, la producción de compuestos volátiles los cuales contribuyen al sabor de los productos. En el caso específico del maíz se produce diacetilo, ácido butírico y ácido láctico por lacto bacterias a partir del almidón, además inhibe el crecimiento de patógenos y de microorganismos que deterioran el producto. (p 11)

**Cuadro 4:** Microorganismos y productos finales de la fermentación

Microorganismos	Productos Finales
<i>Streptococcus, Lactobacillus, Bacillus</i>	Ácido láctico
<i>Saccharomyces</i>	Etanol y CO <sub>2</sub>
<i>Propionibacterium</i>	Ácido propiónico, ácido acético, CO <sub>2</sub> y H <sub>2</sub>
<i>Clostridium</i>	Acido butírico, butanol, acetona, alcohol isopropílico y CO <sub>2</sub>
<i>Escherichia, Salmonella</i>	Etanol, ácido láctico, ácido succínico, ácido acético, CO <sub>2</sub> y H <sub>2</sub>
<i>Enterobacter</i>	Etanol, ácido láctico, ácido fórmico, butanediol, acetoína CO <sub>2</sub> y H <sub>2</sub>

**Fuente:** (Frazier & Whesthoff, 2010)

### 8.2.13 Bebidas fermentadas tradicionales

De acuerdo a Carvalho (1994) citado por Terán (2014) “El Ecuador es un país con una gran variedad de productos, entre estos destaca el maíz, abundante en casi todo el territorio ecuatoriano. Dentro de la culinaria nacional abundan los platos y bebidas elaborados con este producto que desde tiempos antiguos, ha sido la base de la alimentación de nuestros pueblos” (p 12)

### 8.2.14 Clasificación de bebidas

Según Lamas (2014) “El mercado de las bebidas está claramente dividido en dos grandes grupos: bebidas alcohólicas y bebidas no alcohólicas”

La bebidas alcohólicas están representadas por: licores (whisky, ron, tequila), aguardiente, vino, cerveza, sidra, etc. Entre las bebidas no alcohólicas se encuentran

productos como: jugos, bebidas saborizadas, bebidas refrescantes, bebidas gaseosas, bebidas suaves, agua purificada envasada, etc.

Las bebidas no alcohólicas, por su alto contenido de agua, favorecen el mantenimiento corporal previniendo la deshidratación del organismo. Aunque estas bebidas no son consumidas por su valor nutritivo sino por su poder refrescante, el azúcar contenido aporta una cantidad de calorías necesarias para el organismo.

### **8.2.15 Chicha una bebida fermentada tradicional**

Como indica Silva (2014) en su investigación:

**Chicha es el nombre que reciben diversas variedades de bebidas alcohólicas derivadas principalmente de la fermentación no destilada del maíz y otros cereales originarios de América, aunque también en menor medida, se suele preparar a partir de la fermentación de diferentes frutos. Según la Real Academia Española y otros autores, la palabra "chicha" proviene de una voz aborígen del Panamá (kuna chichab) que significa "maíz". (p 28)**

### **8.2.16 La chicha en el Ecuador**

La chicha tiene sus orígenes en el Imperio Inca, actualmente es consumida por las comunidades indígenas principalmente en la Sierra y Amazonía, ésta bebida fermentada se consume en celebraciones tradicionales como la mama negra, el carnaval y otras. Generalmente se toma a temperatura ambiente, en vasos plásticos o “chilpe” que tengan la forma de los keros de origen prehispánico.

En la Amazonía, las comunidades preservan la elaboración de bebidas que desde sus ancestros se han elaborado y se han mantenido de generación en generación, es así que, dentro de las más importantes y ceremoniales están la chicha de chontaduro, la de yuca, y la ayahuasca. Los nativos elaboran la chicha de yuca en un ritual ancestral, es la bebida por excelencia en las tribus amazónicas como lo manifiesta Silva (2014)

La chicha de chonta es una bebida que tradicionalmente es prepara por la Asociación Agua Viva en la que los hombres son encargados de traer la materia prima y las mujeres en su elaboración y masticación del masato para su fermentación, la bebida

principalmente es ofrecida a las personas extrañas a su comunidad durante un rito ancestral.

### **8.2.17 Chicha de chonta**

Según Yucci, León & Torres (2017) “La chicha de chonta es una bebida que tradicionalmente prepara la población Shuar en la Amazonía entre marzo y junio, época en que se da la fruta, tanto la preparación como el consumo de la chicha de chonta guardan un fuerte valor simbólico dentro de la cultura ecuatoriana” (12)

Esta es una bebida más bien espesa, que se sirve en las mukawas, que es la palabra kichwa para los pilches hondos que se utilizan para el consumo de esta chicha. Esta preparación puede ser con sumida sin necesidad de fermentar.

### **8.2.18 Microbiología de las bebidas fermentadas**

Como indica Torres (2012) citado por Terán (2014) en su investigación:

**Los análisis microbiológicos en los alimentos son métodos que se utilizan para conocer la carga microbiana que contiene cada uno de estos. Esta carga microbiana nos indica si un alimento es seguro o no para la ingesta humana, dependiendo del tipo de microorganismo que esté presente. En el caso de las bebidas fermentadas se trata de identificar la presencia y cantidad de microorganismos alterantes y fermentativos por medio de diferentes técnicas de cultivo. (p 18)**

### **8.2.19 Aerobios mesófilos**

En el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la flora total, sin especificar el tipo de gérmenes. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración. Tiene un valor limitado como indicador de la presencia de patógenos o sus toxinas. Un recuento total de aerobios mesófilos bajo no asegura que un alimento esté libre de patógenos o sus toxinas, tampoco un recuento total alto significa presencia de flora patógena. Pascual y Calderón (2006)

### 8.2.20 Mohos y levaduras

Los mohos son hongos multicelulares que forman estructuras ramificadas extensas, coloreadas o no, conocida en la industria alimenticia como micelios; por otro lado, las levaduras son hongos unicelulares de forma esférica, alargada, piriforme, ovoide y a veces en forma de micelios. Se entiende por recuento total de mohos y levaduras, al número de colonias que se desarrollan a partir de 1 mililitro o gramo de alimento, sobre el medio Sabouraud Dextrosa, durante 5 días a 22 - 25°C. IICA (2001)

### 8.2.21 Coliformes totales

Son bacterias de morfología bacilar, gram negativas, aerobias o anaerobias facultativas, no formadoras de endoesporas, oxidasas negativas y que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas. Por otro lado también dentro de este grupo existen los Coliformes Fecales y la *E. coli*, que son los coliformes totales más próximamente relacionadas con la contaminación fecal como lo manifiesta García (2004).

**Imagen 3:** Vista microscópica de bacterias coliformes



**Fuente:** (Vanguardia, 2014)

### 8.2.22 Enterobacterias

Los miembros de la familia *enterobacteriaceae* son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos que fermentan la glucosa en anaerobiosis; citocromo oxidasa negativos; la característica principal es que reducen los nitratos a nitritos. Cuando son móviles son flagelados peritricos. Las enterobacterias son microorganismos propagados mundialmente y que se encuentran en el suelo, agua, la vegetación y forman parte de la flora intestinal normal de casi todos los animales, incluido el ser humano. Algunos miembros de la familia (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*) siempre se asocian a enfermedades cuando

se aíslan en el hombre, mientras que otros (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) producen infecciones oportunistas afirma García (2008)

### **8.2.23 Bacterias de ácido láctico (LAB)**

Las bacterias de ácido láctico son un grupo heterogéneo de organismos grampositivos (eslabones o bacilos) no esporulados que se caracterizan por un metabolismo fermentativo del azúcar, en el que el ácido láctico es el producto principal (Herrero, et al., 1996). . Pueden ser anaeróbicas, microaerófilas o aerotolerantes, también catalasa y oxidasa negativas. Crecen en un rango extendido de pH que puede oscilar de 3.2 a 9.6, pero en su mayoría crecen de 4 a 4.5.

Para el aislamiento de bacteria ácido lácticas las placas Petri fueron incubadas a 37° C por 48h en un medio de caldo lactobacilli MRS, Este medio apoya el crecimiento exuberante de BAL y otras fuentes.

### **8.2.24 Métodos de cultivo**

#### **8.2.25 Medios de cultivo**

Según CUEVAS (2016) describe “El medio de cultivo es aquel que contiene agua y una serie de nutrientes, necesarios para su metabolismo. Normalmente se utilizan placas de Petri con agar más nutrientes específicos (según el microorganismo que se desea aislar), aunque también existen medios de cultivo en tubo”. (p 39)

Según la proporción de agar, existen tres tipos: 3

- ✓ Líquidos (caldos): No contiene ningún agente gelificante, por lo que los microorganismos crecen por todo el medio. El crecimiento en este tipo de medios es más rápido puesto que la movilidad permite acceder de una forma más fácil a los nutrientes.
- ✓ Sólidos. Tienen una proporción de agar de, aproximadamente, el 1,5%. El crecimiento se desarrolla en la superficie del medio. Estos medios pueden depositarse en placas de Petri o en tubos de ensayo.
- ✓ Semisólidos. Son aquellos que contienen una proporción de agar inferior al 0,5%. Se utilizan para pruebas bioquímicas y de movilidad.

Para nuestra investigación se utilizó los medios de cultivo agar nutritivo, Sabouraud dextrosa y caldo lactobacilli MRS, el agar Sabouraud es un medio de cultivo que por sus características funciona como medio de enriquecimiento para levaduras y que en caso de

contener cloranfenicol u otro antibiótico, se convierte en un medio selectivo para los mismos.

#### **8.2.26 Aislamiento de microorganismos**

Como manifiesta Rodríguez, Hernández y García (2004) en su investigación:

**Aislar es separar un tipo de microorganismo a partir de una población heterogénea de micoorganismos. En hábitats naturales raramente encontramos un solo tipo de microorganismo en una muestra, por lo tanto, es necesario hacer algún procedimiento de aislamiento para separar e identificar los distintos tipos de microorganismos presentes. El objetivo del aislamiento es obtener colonias bien separadas (las colonias se forman a partir de una sola “unidad formadora de colonias”) de las que se conseguirá un cultivo puro. Una vez obtenidos los cultivos puros se podrán estudiar las características macroscópicas, microscópicas, fisiológicas, etc. de un microorganismo en particular. Hay que tener en cuenta que siempre el aislamiento se da en un medio sólido. El medio líquido sirve para enriquecer, pero no para aislar. Para aislar se utiliza alguno de los siguientes procedimientos: Métodos generales y Métodos especiales.**

#### **8.2.27 Cultivo en placa**

Según Salinas & Pajares ( 2016) “En esta técnica las unidades formadoras de colonias (ufc) se encuentran en un medio sólido que da como resultado la proliferación de cada una. Se menciona el método de vertido en placa donde una suspensión de células con agar líquido se vierte en una caja de Petri. Al momento de que el agar se haya solidificado, las ufc, permanecen inmóviles y se reproducen dando origen a colonias” (p 30)

Se ejecutó la siembra de microorganismos fermentadores de la bebida de chonta en una cámara de flujo laminar evitando que exista contaminación.

#### **8.2.28 Dilución**

Según GARCÍA (2010) citado por BASTIDAS & VACA (2018) “La dilución permite diferenciar la morfología de las colonias, por lo que es cualitativa; mientras que es cuantitativo porque va a dar como dato, el número de microorganismos que hay en una

suspensión. El procedimiento debe ser bajo condiciones de esterilidad y se basa en realizar diluciones sucesivas de la muestra, lo que lleva a disminuir la cantidad de microbios de la suspensión inicial”. (p 16)

### **8.2.29 Siembra y formas para realizar la transferencia**

Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano. Para sembrar en microbiología es necesario mantener la habitación sin corrientes de aire y estar al lado de la llama de un mechero (no más de 15 cm. de distancia).

La siembra puede realizarse en medio líquido, sólido o semisólido, utilizando ansa, hilo, o bien hisopo o pipeta estéril. Se debe esterilizar en la llama (hasta que todo el filamento se haya puesto al rojo vivo) el ansa o el hilo y enfriar, antes y después de realizada la siembra. Negroni, (2009)

### **8.2.30 Caracterización morfológica de bacterias**

Según VARGAS (2014) “Las bacterias pueden presentar ciertas variaciones morfológicas, entre estas se encuentran las que tienen forma de estrella, las planas y rectangulares, las alargadas en forma de pera y por último aquellas que forman pedúnculos no celulares” (p 1)

Para la caracterización se utilizó las pruebas de tinción simple y Gram. Estas técnicas nos permiten identificar distintos tipos de bacterias según su color su superficie, forma, elevación.

### **8.2.31 Tinción Gram**

Como indica Maldonado (2018) citado por Perez (2016):

**Un método para poder clasificar las bacterias Gram negativas y Gram positivas es la tinción Gram, que permite tener una aproximación a la morfología de las bacterias. Esta técnica es denominada por el bacteriólogo Christian Gram en 1844, donde se usa una serie de reactivos que generarán una coloración que permitirá distinguir las: cristal violeta, lugol, alcohol acetona, agua y safranina. Las bacterias Gram positivas y Gram negativas se tiñen de forma diferente por las diferencias constitutivas en la estructura de sus paredes celulares; en el caso de las primeras la**

**cantidad de peptidoglicano es del 80 al 90 % mientras que de las Gram negativas oscila entre el 10 y 20 % de la pared celular. ( p 23)**

### **8.2.32 Tinción Simple**

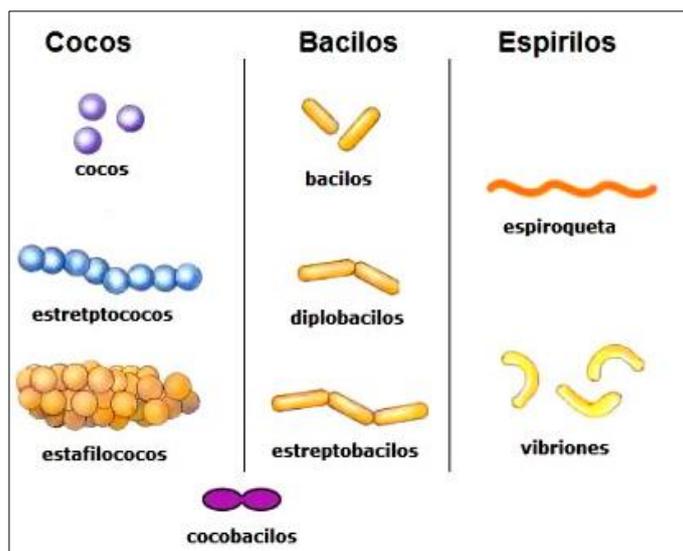
Como indica López, Pazos & Torres (2005):

**Una tinción simple se fundamenta en la afinidad que va a tener la pared bacteriana por un colorante, es una técnica de decantación en la que se hace uso de los puentes de tinción, en los que se colocan los portaobjetos con las preparaciones secas y fijadas. La técnica de tinción se realiza según el protocolo. Se usa un solo colorante para teñir la pared bacteriana y observar así su morfología y agrupación. No sirve para visualizar estructuras puesto que rara vez se tiñen. (p 26)**

### **8.2.33 Formas de las bacterias**

Según menciona MOLINA & URIBARREN (2015) “Las bacterias que tienen forma esférica u ovoide se denominan cocos. Y si se tiñen de azul con el Gram, se les llama Gram positivos. Cuando los cocos se agrupan en cadenas, se les denomina estreptococos y cuando lo hacen en racimos, se les llama estafilococos; también se pueden agrupar en pares que reciben el nombre de diplococos. Las bacterias en forma de bastón reciben el nombre de bacilos. Si al teñirlos con el Gram quedan de color rojo, se les denomina gramnegativos. Los bacilos curvados que presentan espirales se llaman espirilos, rígidos; algunas bacterias en espiral presentan formas fácilmente reconocibles, como las espiroquetas, semejantes a un tornillo o sacacorchos, flexibles. Las bacterias que carecen de pared celular tienen gran plasticidad (micoplasmas) y adoptan una variedad de formas. Las bacterias esféricas tienen un tamaño promedio de 1 micrómetro de diámetro, mientras que los bacilos miden 1.5 de ancho por 6 micrómetros de largo.” (p 4)

**Imagen 4:** Clasificación morfológica de las bacterias



**Fuente:** (Copérnico, 2004)

#### 8.2.34 Pruebas bioquímicas API

Según Trávez (2015) citado por Román (2012) “Es un conjunto de métodos rápidos que reconocen diferentes microorganismos a través de diferentes pruebas bioquímicas. Estos sistemas consisten en un dispositivo de plástico con varios microtubos en los cuales existen diferentes medios de cultivo dependiendo del tipo de prueba que se requiera.” (p 24)

Las pruebas bioquímicas utilizadas en la presente investigación fueron las API 50 CHL las cuales nos ayudaron a identificar rápidamente los microorganismos presente en la bebida ancestral de chonta nos permitió realizar numerosas pruebas a la vez. Cada tira de API 50CHL contiene 50 micro tubos o pocillos con distintos sustratos deshidratados. Cada tubo es una prueba bioquímica distinta.

### 8.3 MARCO CONCEPTUAL

**Aislamiento:** es la separación de un determinado microorganismo del resto que le acompañan técnicas usadas en el laboratorio de microbiología para la transferencia de un microorganismo de un ambiente a otro con la finalidad de inducir su crecimiento para su identificación.

**Ancestral:** refiere a un grupo de antepasados relacionados a un antepasado directo del cual desciende o cree descender un individuo o grupo social, familia, clan, tribu, etnia, pueblo, entre otros.

**Amilasa:** La amilasa es una enzima o proteína especial que ayuda a digerir los alimentos. La mayoría de la amilasa se produce en el páncreas y en las glándulas salivales.

**Bioquímicas:** son una serie de análisis que sirven para determinar la actividad metabólica de una cepa pura de microorganismos. Son empleadas principalmente para la identificación y clasificación de bacterias y hongos

**Cepas:** población de células de una sola especie descendientes de una única célula, usualmente propagada colonialmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias.

**Colonia:** Se denomina colonia la agrupación de un conjunto de microorganismos de un mismo tipo como son las bacterias hongos y los protozoos o protozoario

**Cultivos:** es una técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas.

**Chicha:** bebidas derivadas principalmente de la fermentación no destilada del maíz y otros cereales originarios de América.

**Chonta:** es nativa de las regiones tropicales y subtropicales de América, se aprovecha su fruto, una drupa de gran valor alimentario.

**Estrías:** la técnica de siembra en estría es usada para aislar cepas puras en una placa Petri a partir de un inóculo o muestra con diferentes especies.

**Fermentación:** es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno, y cuyo producto final es un compuesto orgánico.

**Gram:** La tinción de Gram o coloración de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en bacteriología para la visualización de bacterias.

**Gram positivo:** son aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram. Esta característica química está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular.

**Gram negativo:** son aquellas que no se tiñen de azul oscuro o de violeta por la tinción de Gram, y lo hacen de un color rosado tenue: de ahí el nombre de "gramnegativas"

**Hidrolisis:** es una reacción química entre una molécula de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua se divide y sus átomos pasan a formar unión de otra especie química

**Inoculo:** Término colectivo para referirse a los microorganismos o sus partes esporas, fragmentos miceliales, capaces de provocar infección o simbiosis cuando se transfieren a un huésped.

**Incubadora:** es un dispositivo que sirve para mantener y hacer crecer cultivos microbiológicos cultivos celulares

**Microorganismo:** también llamado 'microbio', es un ser vivo, o un sistema biológico, que solo puede visualizarse con el microscopio son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales superiores, una organización biológica elemental.

**Morfológicamente:** es la disciplina encargada del estudio de la estructura de un organismo o sistema y sus respectivas características esto incluye aspectos de la apariencia externa (forma, color, estructura)

**Nutrición:** Un nutriente es aquello que nutre, es decir, que aumenta la sustancia del cuerpo microbiano para su crecimiento

**Purificación:** es un concepto que deriva de purificatio, un vocablo de la lengua... en reducir el nivel de sustancias dañinas para el organismo en bacterias.

**Prebióticos:** sustancias mayoritarias de origen vegetal que estimulan el crecimiento y la actividad de las especies bacterianas beneficiosas para el organismo.

**Prebióticos:** aquellos microorganismos vivos, principalmente bacterias y levaduras que son agregados como suplemento en la dieta y que se benefician al huésped mejorando el balance microbiano de su flora intestinal.

**Siembra:** es la operación que consiste en depositar asépticamente microorganismos en un medio de cultivo.

## 9. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS.

- Es posible aislar microorganismos fermentadores de una bebida ancestral (chicha) fermentada a partir de chonta (*Bactris Gasipaes H.B.K*).

Mediante la presente investigación fue posible aislar mohos, levaduras y bacterias ácido lácticas de la bebida ancestral fermentada a partir de chonta.

- Es posible caracterizar a los microorganismos mediante técnicas microscópicas y de tinción.

Si fue posible caracterizar a los microorganismos en gram positivos y gram negativos mediante la técnica de tinción gram y simple.

- Es posible identificar los microorganismos causantes de la fermentación mediante pruebas bioquímicas para su posterior clasificación.

Si fue posible identificar los microorganismos mediante las pruebas bioquímicas API 50 CHL.

## 10. METODOLOGÍA E INVESTIGACIÓN DESCRIPTIVA

### 10.1 Tipos de investigación

Los tipos de investigación que se utilizaron son: descriptiva, exploratoria y experimental

- a) **Descriptiva:** Es el procedimiento usado en ciencia para describir las características del fenómeno, sujeto o población a estudiar. Al contrario que el método analítico, no describe por qué ocurre un fenómeno, sino que se limita a observar lo que ocurre sin buscar una explicación.

En las investigaciones de tipo descriptiva, llamadas también investigaciones diagnósticas, buena parte de lo que se escribe y estudia sobre lo social no va mucho más allá de este nivel consiste, fundamentalmente, en caracterizar un fenómeno o situación concreta indicando sus rasgos más peculiares o diferenciadores.

El objetivo de la investigación descriptiva consiste en llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades, objetos, procesos y personas. Su meta no se limita a la recolección de datos, sino a la predicción e identificación de las relaciones que existen entre dos o más variables.

Los investigadores no son meros tabuladores, sino que recogen los datos sobre la base de una hipótesis o teoría, exponen y resumen la información de manera cuidadosa y luego

analizan minuciosamente los resultados, a fin de extraer generalizaciones significativas que contribuyan al conocimiento.

#### **10.1.1 Etapas de la investigación descriptiva:**

- ✓ Examinan las características del problema escogido.
- ✓ Lo definen y formulan sus hipótesis.
- ✓ Enuncian los supuestos en que se basan las hipótesis y los procesos adoptados
- ✓ Eligen los temas y las fuentes apropiados.
- ✓ Seleccionan o elaboran técnicas para la recolección de datos.
- ✓ Establecen, a fin de clasificar los datos, categorías precisas, que se adaptan al propósito del estudio y permitan poner de manifiesto las semejanzas, diferencias y relaciones significativas.
- ✓ Verifican la validez de las técnicas empleadas para la recolección de datos.
- ✓ Realizan observaciones objetivas y exactas.
- ✓ Describen, analizan e interpretan los datos obtenidos, en términos claros y precisos.

#### **10.1.2 Recolección de datos de la investigación descriptiva:**

En el informe de la investigación se señalan los datos obtenidos y la naturaleza exacta de la población de donde fueron extraídos. La población a veces llamada universo o agregado constituye siempre una totalidad. Las unidades que la integran pueden ser individuos, hechos o elementos de otra índole. Una vez identificada la población con la que se trabajará, entonces se decide si se recogerán datos de la población total o de una muestra representativa de ella. El método elegido dependerá de la naturaleza del problema y de la finalidad para la que se desee utilizar los datos.

- **Población total:** Muchas veces no es difícil obtener información acerca de todas las unidades que componen una población reducida, pero los resultados no pueden aplicarse a ningún otro grupo que no sea el estudiado.
- **Muestra de la población:** Cuando se trata de una población excesivamente amplia se recoge la información a partir de unas pocas unidades cuidadosamente seleccionadas, ya que si se aborda cada grupo, los datos perderían vigencia antes de concluir el estudio. Si los elementos de la muestra representan las características de la población, las generalizaciones basadas en los datos obtenidos pueden aplicarse a todo el grupo.

### 10.1.3 Expresión de datos de la investigación descriptiva:

Los datos descriptivos se expresan en términos cualitativos y cuantitativos se puede utilizar uno de ellos o ambos a la vez.

- **Cualitativos:** (mediante símbolos verbales): Se usan en estudios cuyo objetivo es examinar la naturaleza general de los fenómenos. Los estudios cualitativos proporcionan una gran cantidad de información valiosa, pero poseen un limitado grado de precisión, porque emplean términos cuyo significado varía para las diferentes personas, épocas y contextos, los estudios cualitativos contribuyen a identificar los factores importantes que deben ser medidos.
- **Cuantitativos** (por medio de símbolos matemáticos): Los símbolos numéricos que se utilizan para la exposición de los datos provienen de un cálculo o medición. Se pueden medir las diferentes unidades, elementos o categorías identificables.

### 10.1.4 Tipos de investigación descriptiva:

Tomando en cuenta que las siguientes categorías no son rígidas, muchos estudios pueden encuadrarse sólo en alguna de estas áreas, y otros corresponden a más de una de ellas .Encuestas, estudio de interrelaciones y estudios de desarrollo

**Estudios tipo encuesta:** Se llevan a cabo cuando se desea encontrar la solución de los problemas que surgen en organizaciones educacionales, gubernamentales, industriales o políticas. Se efectúan minuciosas descripciones de los fenómenos a estudiar, a fin de justificar las disposiciones y prácticas vigentes o elaborar planes más inteligentes que permitan mejorarlas. Su objetivo no es sólo determinar el estado de los fenómenos o problemas analizados, sino también en comparar la situación existente con las pautas aceptadas. El alcance de estos estudios varía considerablemente; pueden circunscribirse a una nación, región, Estado, sistema escolar de una ciudad o alguna otra unidad. Los datos pueden extraerse a partir de toda la población o de una muestra cuidadosamente seleccionada la información recogida puede referirse a un gran número de factores relacionados con el fenómeno o sólo a unos pocos aspectos recogidos. Su alcance y profundidad dependen de la naturaleza del problema.

**Estudios de interrelaciones:** Si el objeto es identificar las relaciones que existen entre los hechos para lograr una verdadera comprensión del fenómeno a estudiar, los estudios de esta índole son los estudios de casos, estudios causales comparativos y estudios de correlación.

**Estudio de casos:** El educador realiza una investigación intensiva de una unidad social o comunidad. Para ello recoge información acerca de la situación existente en el momento en que realiza su tarea, las experiencias y condiciones pasadas y las variables ambientales que ayudan a determinar las características específicas y conducta de la unidad. El objetivo de los estudios de casos consiste en realizar una indagación a profundidad dentro de un marco de referencia social, las dimensiones o aspectos de dicho marco dependen de la naturaleza del caso estudiado. Los estudios de casos son similares a las encuestas, pero en ellos hay un estudio intensivo de una cantidad limitada de casos representativos, en lugar de reunir datos de pocos aspectos de un gran número de unidades sociales. Tiene un alcance más limitado pero es más exhaustivo que el de encuestas, y le da más importancia a los factores cualitativos.

**Estudios causales comparativos:** Si además de pretender descubrir cómo es un fenómeno se quiere saber de qué manera y por qué ocurre, entonces se comparan semejanzas y diferencias que existen entre fenómenos, para descubrir los factores o condiciones que parecen acompañar o contribuir a la aparición de ciertos hechos y situaciones. Por la complejidad y naturaleza de los fenómenos sociales, es menester estudiar las relaciones de causalidad, este tipo de estudio se usa en los casos en que los investigadores no pueden manejar una variable independiente y establecer los controles requeridos en los experimentos.

**Estudios de correlación:** se utilizan para determinar la medida en que dos variables se correlacionan entre sí, es decir el grado en que las variaciones que sufre un factor se corresponden con las que experimenta el otro. Las variables pueden hallarse estrecha o parcialmente relacionadas entre sí, pero también es posible que no exista entre ellas relación alguna. Puede decirse, en general, que la magnitud de una correlación depende de la medida en que los valores de dos variables aumenten o disminuyan en la misma o en diferente dirección.

Si los valores de dos variables aumentan o disminuyen de la misma manera, existe una correlación positiva; si, en cambio, los valores de una variable aumentan en tanto que disminuyen los de la otra, se trata de una correlación negativa y si los valores de una variable aumentan, los de la otra pueden aumentar o disminuir, entonces hay poca o ninguna correlación.

**Estudios de desarrollo:** consiste en determinar no sólo las interrelaciones y el estado en que se hallan los fenómenos, sino también en los cambios que se producen en el transcurso del tiempo. En él se describe el desarrollo que experimentan las variables

durante un lapso que puede abarcar meses o años. Abarca estudios de crecimiento y de tendencia.

**Los estudios de crecimiento:** se refieren a la identificación de los diversos factores interrelacionados que influyen sobre el crecimiento en sus diferentes etapas, saber en qué momento se tornan observables los diversos aspectos y cuándo surgen, permanecen estacionarios, alcanzan su desarrollo óptimo y, finalmente, decaen. Para el estudio del desarrollo humano se usan dos métodos: las técnicas lineales y las de corte transversal. En ambos tipos de investigación, se deben efectuar una serie de observaciones sistemáticas.

**Los estudios de tendencia:** consisten en obtener datos sobre aspectos sociales, económicos y políticos y en analizarlos posteriormente para identificar las tendencias fundamentales y predecir los hechos que pueden producirse en el futuro. En ellos se combinan a veces técnicas históricas, documentales y las que se usan en las encuestas. Resulta aventurado formular predicciones basadas en los datos de tendencia social, porque las condiciones económicas, los avances tecnológicos, las guerras, las aspiraciones individuales y otros hechos imprevisibles pueden modificar de manera repentina el curso esperado de los acontecimientos.

A causa de los innumerables factores impredecibles que pueden ejercer influencia sobre los fenómenos sociales, la duración de los análisis de tendencia afecta en una medida considerable la validez de la predicción, la mayoría de las predicciones de largo alcance constituyen meras estimaciones, en tanto que las que se refieren a lapsos más breves gozan de mayores posibilidades de certeza.

- b) **Exploratoria:** la investigación de tipo exploratoria se realiza para conocer el tema que se abordará, lo que nos permita “familiarizarnos” con algo que hasta el momento desconocíamos, los resultados de este tipo de tipo de investigación nos dan un panorama o conocimiento superficial del tema, pero es el primer paso inevitable para cualquier tipo de investigación posterior que se quiera llevar a cabo.
- c) **Experimental:** la investigación experimental es un tipo de investigación que bien utiliza experimentos y los principios encontrados en el método científico. Los experimentos pueden ser llevados a cabo en el laboratorio o fuera de él (entorno natural). Estos generalmente involucran un número relativamente pequeño de personas y abordan una pregunta bastante enfocada. Los experimentos son más efectivos para la investigación explicativa y frecuentemente están limitados a

temas en los cuales el investigador puede manipular la situación en la cual las personas se hallan.

## **10.2 Métodos de investigación**

### **10.2.1 Método inductivo**

A través de este método pueden analizarse situaciones particulares mediante un estudio individual de los hechos que formula conclusiones generales, que ayudan al descubrimiento de temas generalizados y teorías que parten de la observación sistemática de la realidad.

Con este método se obtuvo conclusiones que partieron de hechos particulares aceptados como válidos, cuya aplicación son de carácter general.

### **10.2.2 Método deductivo**

Se refiere a un método que parte de lo general para centrarse en lo específico mediante el razonamiento lógico y las hipótesis que puedan sustentar conclusiones finales. Este proceso parte de los análisis antes planteados, leyes y principios validados y comprobados para ser aplicados a casos particulares.

Este método permitió pasar de afirmaciones de carácter general a hechos particulares siendo usado para comparar las preguntas científicas con base en el material empírico obtenido a través de la práctica.

### **10.2.3 Método experimental**

Es un tipo de método de investigación en el que el investigador controla deliberadamente las variables para delimitar relaciones entre ellas, está basado en la metodología científica. En este método se recopilan datos para comparar las mediciones de comportamiento de un grupo control, con las mediciones de un grupo experimental.

Se utilizó para realizar el aislamiento y caracterización de los microorganismos en base a temperatura y tiempo de crecimiento, la información recolectada ayudó a su identificación.

## **10.3 Técnicas de investigación**

### **10.3.1 La observación**

Es una técnica que consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su posterior análisis. La observación es un elemento

fundamental de todo proceso investigativo; en ella se apoya el investigador para obtener el mayor número de datos. Gran parte del acervo de conocimientos que constituye la ciencia ha sido lograda mediante la observación.

Al utilizar esta técnica activamos nuestro sentido que nos ayuda a la recolección de datos también ayuda a notar cambios presentes en la práctica.

### **10.3.2 El fichaje**

El fichaje es una técnica auxiliar de todas las demás técnicas empleada en investigación científica; consiste en registrar los datos que se van obteniendo en los instrumentos llamados fichas, las cuales, debidamente elaboradas y ordenadas contienen la mayor parte de la información que se recopila en una investigación por lo cual constituye un valioso auxiliar en esa tarea, al ahorra mucho tiempo, espacio y dinero.

El fichaje fue utilizado en la elaboración de índice y autores, títulos consultados así como la memorización y la comprensión de resultados.

## **10.4 Instrumentos de investigación**

### **10.4.1 Fichas**

Las fichas son técnicas importantes para recolectar datos de documentos, textos, libros, tesis, monografías u otros con la finalidad de estructurar una investigación científica, debido a que se trabaja en el campo académico con una cantidad inmensa de información que se debe procesa. En este sentido se debe ordenar, clasificar y categorizar la información que queremos consultar.

### **10.4.2 Informe**

El informe de investigación es el principal instrumento de comunicación de la investigación. Se elabora al final de la investigación; aunque, durante el proceso, se van confeccionando piezas del documento. Este informe debe cumplir una serie de directrices que garanticen su correcta lectura.

## **10.5 METODOLOGÍA DE AISLAMIENTO**

### **10.5.1 Procedencia de la muestra experimental ( muestreo)**

La muestra se recolectó de la asociación Agua Viva, parroquia Madre Tierra del cantón Puyo, esta muestra la elaboran artesanalmente.

La muestra recolectada se sometió a cadena de frío a 4- 5° C, hasta llegar a los laboratorios de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, donde inmediatamente fue almacenada en un congelador a una temperatura de -20 °C.

### **10.5.2 Tratamiento de enriquecimiento de las muestras**

Luego de la congelación se procedió al enriquecimiento de la muestra con caldo nutritivo, para el desarrollo de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales.

Un medio de enriquecimiento contiene los nutrientes necesarios para apoyar el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos, entre ellos algunos de los más exigentes. Se utilizan comúnmente para la cosecha de diferentes tipos de microbios que están presentes en la muestra, ciertos organismos no crecen en medios de cultivo ordinarios, requieren ingredientes que promueven el crecimiento, como la sangre, glucosa, suero, huevo, entre otros. Otra característica de los medios de enriquecimiento es que pueden contener componentes químicos que inhiben ciertos tipos de microorganismos.

### **10.5.3 Preparación de medios de cultivo**

Se disolvió los componentes del medio en agua destilada siguiendo las instrucciones del fabricante, añadiendo la cantidad de agua adecuada para conseguir la concentración deseada de los mismos. Si el medio contiene un agente solidificante (agar-agar) hay que calentar el preparado hasta la ebullición del mismo agitando de vez en cuando, para asegurar una completa disolución del agar.

### **10.5.4 Esterilizar la disolución**

Una vez disuelto el medio se esterilizó para evitar el crecimiento de contaminantes. Una vez estéril se repartió en placas de Petri estériles y se dejó en reposo para que solidifique.

### **10.5.5 Aislamiento**

A partir de una muestra de chicha enriquecida con Agar nutritivo que permitió el desarrollo de varios microorganismos, se tomó muestras para su inoculación en distintos medios con características que permitieron el crecimiento de algunos microorganismos, los medios utilizados fueron:

**Cuadro 5:** Medios de cultivos utilizados en el aislamiento

<b>Medio de cultivo Agar nutritivo</b>	<b>Medio de cultivo Agar Sabouraud dextrosa</b>	<b>Medio de cultivo caldo lactobacilli MRS</b>
Agua destilada 150 ml Muestra 50ml Agar 15g	Agua destilada 1 L Muestra 50ml Agar 40g	Agua destilada 1 L Muestra 50ml Agar 55 g

**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

### **10.5.6 Estriado**

El estriado se realizó en placa Petri se dividió imaginariamente en cuatro cuadrantes, para ello se tomó una pequeña cantidad de muestra con un asa de platino esterilizada y se estrío el 1er cuadrante con el procedimiento básico de S. Se trabajó en el sentido de las agujas del reloj, estriando cuadrante por cuadrante, esterilizando el asa antes de seguir a otro. Estas placas se incubaron a temperatura adecuada en posición invertida.

### **10.5.7 Incubación**

Para la incubación se utilizó una incubadora, para alcanzar y mantener las temperaturas de los medios de cultivos de 25 y 37°C por 72 horas.

Tras la incubación en condiciones adecuadas, cada célula viable origina una colonia visible resultado de sucesivas divisiones celulares. Cada colonia bacteriana tiene unas características determinadas en cuanto a su forma, borde, elevación, tamaño, consistencia, etc.

### **10.5.8 Purificación de colonias:**

Se obtiene una pequeña cantidad de masa bacteriana de una colonia separada en el aislamiento. Con ella se inoculo un nuevo medio de cultivo haciendo estrías muy juntas. La incubación en condiciones adecuadas proporcionará un cultivo puro. Puede repetirse el proceso con cada tipo de colonia.

### **10.5.9 Caracterización**

Las cepas aisladas fueron microscópicamente caracterizadas a través de la tinción simple y Gram. Estas coloraciones permiten la clasificación de las bacterias Gram positivas y Gram negativas según la composición de su pared celular.

Para la tinción simple se cubrió la extensión debidamente preparada con azul de metileno, al minuto se lavó con agua hasta eliminar el exceso de colorante dejando secar al ambiente y finalmente se observó en el microscopio.

Para la tinción gram cada muestra se tiñó con violeta de cristal por un minuto y lavar con agua destilada, cubrir con lugol un minuto y lavar con agua, se decoloró con el alcohol al 96% por 30 segundos después lavándolo con agua, se tiñó con safranina por 1 minuto, se lavó con agua para eliminar el exceso de colorante y se secó al ambiente para observar en el microscopio.

#### **10.5.10 Identificación**

La identificación de microorganismos se realizó mediante pruebas bioquímicas API 50 CHL, el sistema consta de una plantilla plástica con una serie de galerías de 50 microtubos con 49 sustratos fermentables (carbohidratos) y un testigo. Los resultados establecieron los perfiles de fermentaciones de carbohidratos de los microorganismos muestra.

##### **○ Preparación de la tira de sustrato**

Cada placa tiene 5 tiras con 10 microtubos numerados; las tiras fueron ordenadas en secuencia y colocadas en la caja plástica de incubación. Para crear una atmósfera con suficiente humedad se distribuyeron 10ml de agua destilada estéril en la placa de incubación.

##### **○ Preparación del inóculo**

Para obtener una suspensión bacteriana densa, se transfirieron varias colonias de la caja Petri a la ampolla con medio de suspensión (2ml de agua desmineralizada) posteriormente se tomaron 250 ul de la suspensión para agregarlo a otra ampolla con 5 ml del medio de suspensión, finalmente se inocularon 500 ul de suspensión bacteriana en la ampolla con 10 mL de API 50CHL que se agitó para homogenizar el cultivo.

##### **○ Inoculación de la tira de sustratos**

Para inocular, se inclinó ligeramente hacia adelante la caja de incubación. Los microtubos se adicionaron con 200 ul de muestra, evitando la formación de burbujas colocando la punta de la micropipeta contra la pared del microtubo. El inóculo se recubrió con aceite de parafina para crear condiciones anaeróbicas. Las cajas se incubaron a 35-37° C durante 48h

○ **Lectura e interpretación de la tira de sustratos**

Las tiras se leyeron a las 48 h de incubación, en cada microtubo se observó la acidificación del medi, producto de la fermentación del sustrato, una prueba positiva es visible por el vire del indicador purpura de bromocresol (purpura bajo condiciones no acidas) a un color *amarillo*. Una prueba positiva se observa cuando el medio pasa de un color purpura a negro por la reacción de sales de hierro. Los resultados fueron anotados en la hoja de resultados como: positivo (+) y negativo (-).

**Imagen 5:** Sustratos incluidos en cada uno de los 50 recipientes de la galería enzimática para bacterias ácido-lácticas API 50 CH

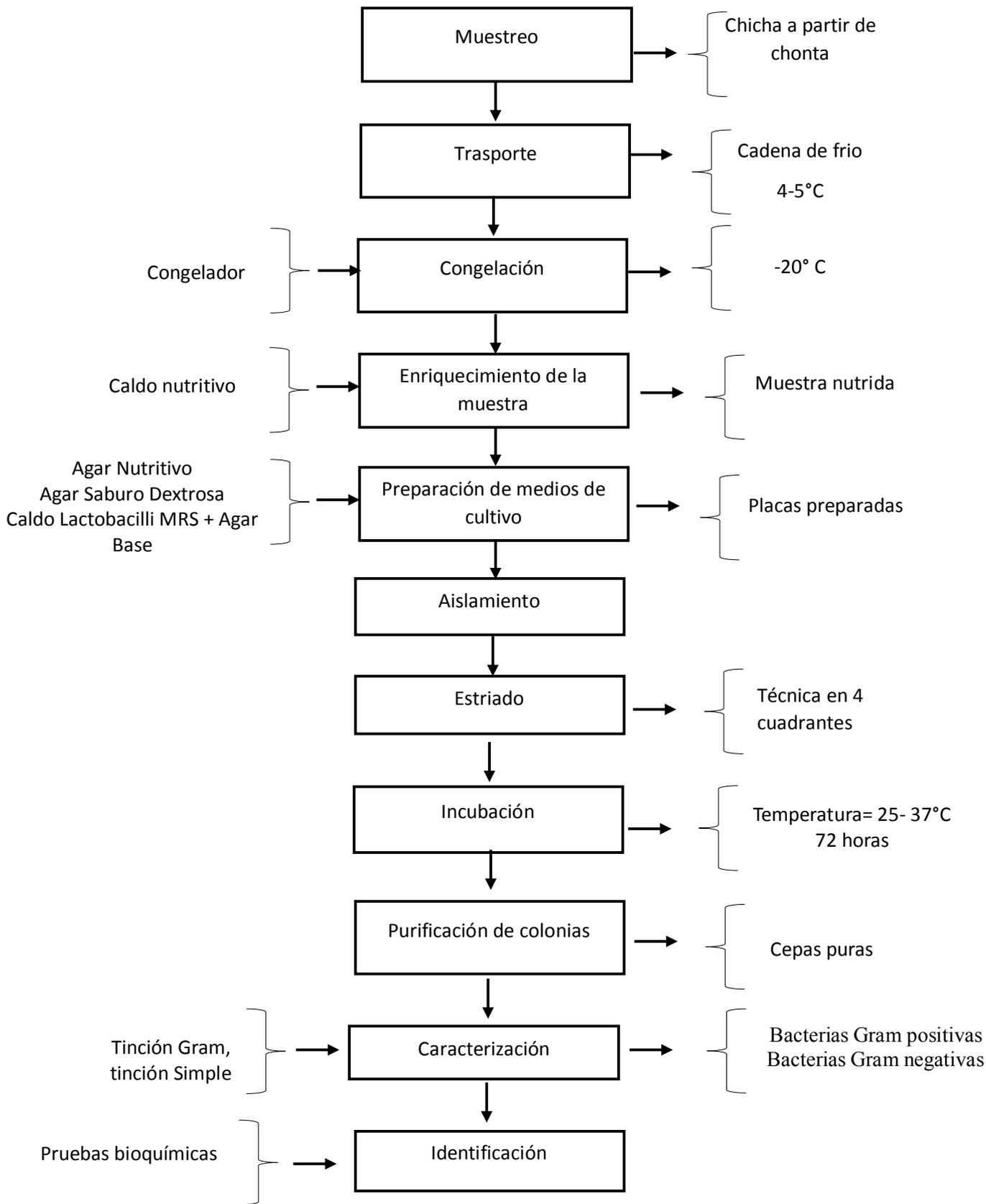
Tira 0-9	Tira 10-19	Tira 20-29	Tira 30-39	Tira 40-49
Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato	Pocillo/sustrato
0. CONTROL*	10. GALactose	20. 1-Methyl-D-Mannoside	30. MELibiose	40. D-TURanose
1. GLYcerol	11. GLUcose	21. 1-Methyl-D-Glucoside	31. Sucrose	41. D-LYXose
2. ERYthrol	12. FRUctose	22. N-Acetyl-Glucosamine	32. TREhalose	42. D-TAGatose
3. D-ARAbinose	13. MaNosE	23. AMYgdaline	33. INUlin	43. D-FUCose
4. L-ARAbinose	14. SorBosE	24. ARButin	34. MeLeZitose	44. L-FUCose
5. RIBose	15. RHAmnose	25. ESCulin	35. RAFFinose	45. D-ARAbitol
6. D-XYLose	16. DULcitol	26. SALicin	36. Starch	46. L-ARAbitol
7. L-XYLose	17. INOsitol	27. CELlobiose	37. GLYcoGen	47. GlucoNaTe
8. ADOnitol	18. MANitol	28. MALTose	38. XyLiTol	48. 2-Keto-Gluconate
9. β-Methyl-D-Xyloside	19. SORbitol	29. LACTose	39. GENTIobiose	49. 5-Keto-Gluconate

En la práctica, sólo se usan las abreviaturas en mayúsculas de los respectivos hidratos de carbono

**Fuente:** (Giraldo, 2010)

**Imagen 6:** Diagrama de flujo de aislamiento e identificación de microorganismos

**Aislamiento e identificación de microorganismos**



## **10.6 Materiales, equipos e insumos para el aislamiento e identificación de microorganismos.**

### **10.6.1 Materia prima e insumo**

- ✓ Bebida ancestral de chonta (*Bactris gasipaes H.B.K.*)

### **10.6.2 Materiales de laboratorio**

- Vasos de precipitación de 250 ml y 500 ml
- Matraces de 250 ml y 100 ml
- Pipetas 10 ml
- Cajas Petri
- Mechero bunsen
- Espátula
- Asas de siembra
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Goteros
- Papel aluminio
- Toallas absorbentes

### **10.6.3 Materiales de oficina**

- Computadora
- Calculadora
- Flash memory
- Impresora
- Papel de impresión
- Libretas
- Lápiz
- Escritorio
- Sillas

### **10.6.4 Equipos:**

- Termómetro
- PH metro
- Refractómetro
- Autoclave

- Balanza Analítica
- Incubadora
- Cámara flujo laminar
- Microscopio Óptico

#### **10.6.5 Reactivos**

- Agar nutritivo
- Agar Sabouraud dextrosa
- Caldo lactobacilli MRS BROTH
- Agar Base
- Agua destilada
- Azul de metileno
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol
- Safranina
- Kits pruebas Bioquímicas API

#### **10.6.6 Materiales de proceso**

- Mandil
- Cofia
- Guantes
- Mascarilla
- Botas

## **11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS**

### **11.1 Aislamiento de microorganismos**

Se Aislaron treinta cepas de tres tipos de microorganismos levaduras, mohos y bacterias ácido láctica las mismas que son responsables del proceso de fermentación en la chicha de chonta.

Para el aislamiento de levaduras se utilizó agar nutritivo en donde crecieron 10 cepas mientras que para mohos se utilizó Sabouraud dextrosa en donde crecieron 6 cepas

Para las bacterias ácido lácticas se utilizó caldo lactobacilli MRS donde crecieron 14 cepas.

**Cuadro 6:** Características de incubación de acuerdo a los microorganismos en distintos medios

Medio	Grupo	Características de Incubación
Sabouraud dextrosa	Levaduras	48h -28° C
Agar nutritivo	Mohos	48h – 28°C
Caldo lactobacilli MRS	Bacterias Acido Lácticas	48h- 37°C

**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

Según Sánchez (2010), en una bebida fermentada se recrea un ecosistema con una amplia diversidad microbiana, las relaciones entre los microorganismos desarrollados en ella y su metabolismo ejercen una influencia en las propiedades organolépticas de la bebida ancestral, así como en su duración y mejoramiento de su calidad.

## 11.2 Caracterización morfológica y microscópica

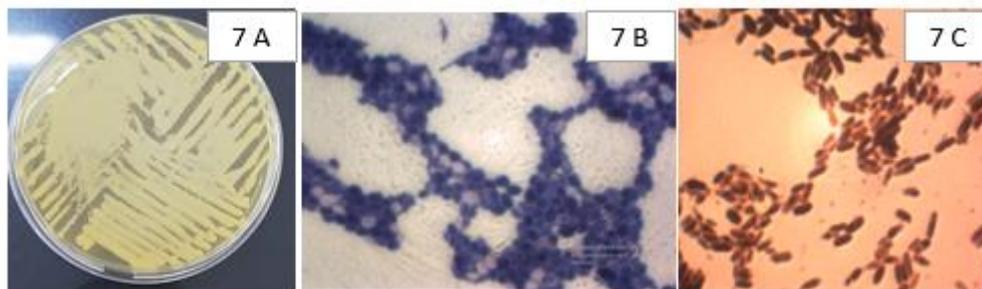
Se caracterizaron 10 cepas entre levaduras y bacterias ácido láctico

### 11.2.1 Morfología de las bacterias ácido lácticas

En las placas de caldo MRS, las cepas BAL formaron colonias cuyo tamaño fue de 1 a 2 mm, de color blanco cremoso, forma redonda, puntiformes, borde enteros, superficie convexa, consistencia butirosa y consistencia húmeda, lo que corresponde a sus características.

Las bacterias lácticas son microorganismos no esporulados, distinguidos como cocos por su forma esférica o ligeramente ovoide, también pueden estar agrupados en parejas (diplococos), o en hileras simples (estreptococos), en hileras pareadas (estreptodiplococos), en grupos de cuatro (tétradas), en forma cúbica (sarcinas), en masas irregulares (estafilococos), además de estas también puede presentar forma alargada como bacilos o bastones, los mismos que pueden estar aislados o agrupados en parejas (diplobacilos), o en hileras simples (estreptobacilos). El tamaño aproximado de los cocos es de 0,4 a 1,0 micras de diámetro y los bacilos pueden presentar 0,5 micras de ancho y de 2,0 a 5,0 micras de largo.

**Imagen 7:** morfología colonial y microscópica de bacterias ácido lácticas



**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

En la imagen 7A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie plana, su forma filamentosa, sus bordes redondeados con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 7B se muestra una bacteria ácido láctica que presenta características de tinción gram positivas. En la figura 7C se determina que presenta una forma celular de bacilo.

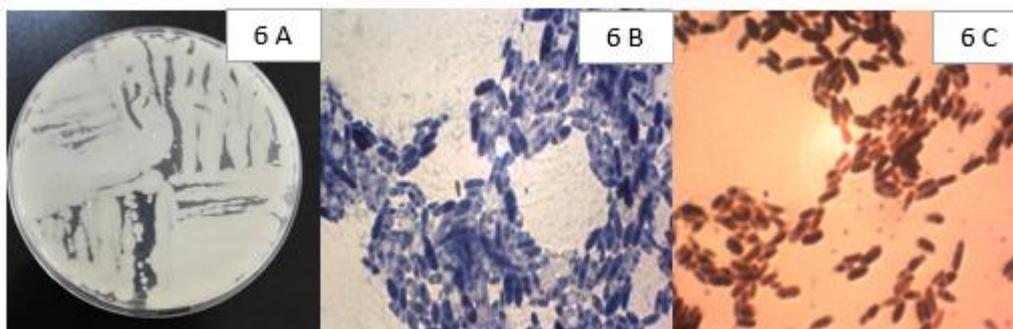
### 11.2.2 Morfología de levaduras

En las placas de agar Sabouraud dextrosa, las cepas de levaduras formaron colonias cuyo tamaño fue de 2 a 8, de color crema, forma redonda, puntiaguda, opaca, regulares lo que corresponde a sus características.

Las levaduras son grandes comparadas con una bacteria común, posee un tamaño aproximado de 10 - 20  $\mu\text{m}$  de diámetro, aunque la mayoría puede estar entre 3 y 8  $\mu\text{m}$  de diámetro. En cuanto a su forma, la mayoría son ovoides, también pueden ser alargadas o esféricas con forma de limón o pera, incluso pueden ser triangulares, en algunos casos forman cadenas de células alargadas, adheridas de modo suelto, por lo que se las denomina pseudomicelio.

Las levaduras posee gran importancia a nivel industrial ya que la mayoría se usan en la producción de cerveza, vino y pan; las especies que se cultivan para la producción comercial son los géneros *Saccharomyces*, *Candida* y *Kluyveromyces*, pero la de mayor importancia comercial es la levadura *Saccharomyces cerevisiae* por su alto contenido de vitaminas y minerales. García (2005).

**Imagen 6:** morfología colonial y microscópica de levaduras



**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

En la imagen 6 A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema blanca, una textura pastosa, una superficie acuminada, su forma puntiforme, sus bordes redondeados con 2 o 3 mm de diámetro. En la figura 6 B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram positiva presentado una forma celular de bacilos observadas microscópicamente como muestra la imagen 6 C.

La mayoría de las levaduras son ovaladas o cilíndricas que se dividen por gemación, comúnmente no desarrollan micelio, sino que permanecen en estado unicelular durante todo el ciclo de crecimiento, sin embargo algunas pueden presentar pseudomicelio debido a las condiciones en las que se cultive Madigan (2004).

### 11.3 Identificación de microorganismos pruebas API 50 CHL

Se identificó ocho cepas cinco bacterias ácido lácticas *Bacillus* *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus casei*, *Sporolactobacillus*, *Lactococcus* y tres levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida sphaerica*, *Candida utilis*, se identificó mediante el sistema de galerías estandarizado, API 50 CHL (BioMérieux, Inc., Hazelwood Missouri, E.U.), destinado al estudio del metabolismo de hidratos de carbono para la identificación del género *Lactobacillus* y otros microorganismos próximos.

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Lactobacillus casei* ya que reacciono a los pasillos de glucosa, maltosa, sucrosa, trehalosa y rafinosa.

Para la interpretación de los resultados los pasillos que aparecieron sin cambio de color (púrpura) se consideraron como “negativos” y aquellos dónde se detectó un cambio de color (amarillo, ó negro) se consideró “positivo” (Imagen 6).

**Imagen 8:** Galería enzimática (metabolismo de hidratos de carbono) API 50 CH para bacterias ácido lácticas y levaduras



**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

**Tabla 7:** Identificación de microorganismos

Tipo	Especie Identificada
Ácido Lácticas	<i>Bacillus</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Sporolactobacillus</i> <i>Lactococcus</i>
Levaduras	<i>Saccharomyces cerevisiaea</i> <i>Candida sphaerica</i> <i>Candida utilis</i>

**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

### 11.3.1 Bacterias ácido lácticas identificadas

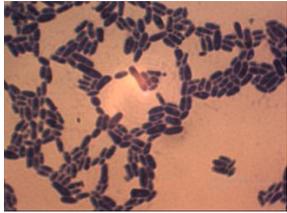
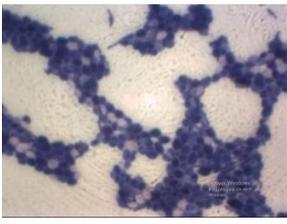
Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a las levaduras *Bacillus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Sporolactobacillus*, *Lactococcus* ya que reaccionaron a los pasillos de glucosa, maltosa, sucrosa, trehalosa y rafinosa.

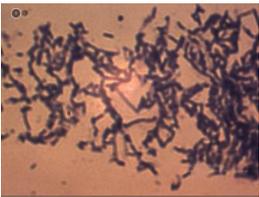
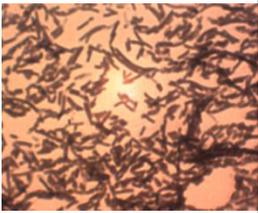
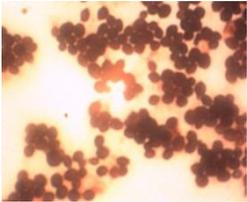
La cepa 31 (Tabla 8) presentó una coincidencia con un 91.8 de probabilidad, el Kit Api 50 CH, es un kit rápido para identificación de *Lactobacillus*, pero puede presentar un margen de error y para ello se cuenta con otras pruebas rápidas para la seguridad de la identificación. De acuerdo a los resultados observados en cuanto a características

morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, las cepas presentaron bacterias del género *Lactobacillus* y las bacterias pertenecientes a este género.

Las bacterias ácido lácticas son microorganismos que para su desarrollo requieren de azúcares como glucosa y lactosa, además de aminoácidos, vitaminas. Las bacterias ácido lácticas están conformadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. Poseen la forma de cocos o bacilos gram positivos.

**Tabla 8:** Identificación de bacterias acidas lácticas

Cepa	Tinción simple	Gram	Familia	Genero	Características
 1			<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	<p>Bacilos gram positivos largos y delgados.</p> <p>Productores de enzimas hidrolíticas.</p>
 31			<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<p>Son bacilos gram positivos largos y delgados.</p> <p>Aerobias facultativas.</p> <p>No forman esporas.</p>
 26			<i>Sporolactobacillaceae</i>	<i>Sporolactobacillus</i>	<p>Forma redonda no tan definida, con un diámetro aproximado de 0,5 mm, color crema opaco</p>

 <p>8</p>			<i>Lactobacilla ceae</i>	<i>Lactoba cillus casei</i>	Son bacilos gram positivos largos y delgados anaeróbicamente facultativa, no esporulada
 <p>14</p>			<i>Streptococca ceae</i>	<i>Lactococ cus</i>	Son cocos gram positivos esféricas u ovoides se agrupan en pares o en cadenas cortas no formadoras de esporas

**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

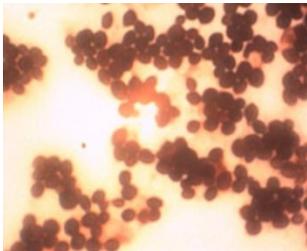
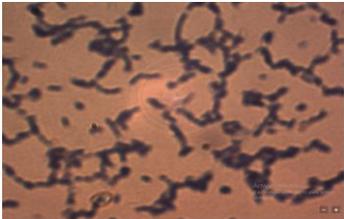
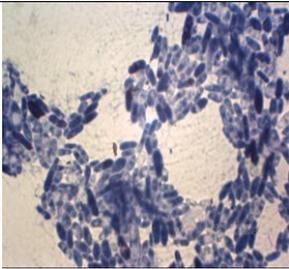
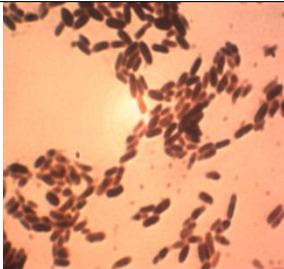
Para la identificación correcta de la BAL, las cepas aisladas de las muestras que presentaron una forma redonda y color blanco o cremoso, al realizar la tinción de Gram fueron descartadas aquellas que fueron Gram-negativas. Narváez (2015)

### 11.3.2 Levaduras identificadas

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a las levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida sphaerica* y *Candida utilis* ya que reaccionaron a los pasillos de glucosa, maltosa, sucrosa, trehalosa y rafinosa.

Las levaduras son hongos microscópicos unicelulares que se encuentran distribuidas en la naturaleza, en la superficie de las frutas. Las levaduras están conformadas por 350 géneros aproximadamente, son un grupo con características morfológicas y fisiológicas bastante heterogéneas; son microorganismos Gram positivos que poseen formas alargadas, esféricas, entre otras. Las levaduras son importantes por su capacidad para realizar la fermentación de hidratos de carbono produciendo sustancias como CO<sub>2</sub>.

**Tabla 9:** Identificación de levaduras

Placa	Tinción simple	Gram	Genero	Características
 4			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Son Gram negativas. Morfología ovoide, con un diámetro aproximado de 0,5 mm, color blanco, aspecto cremoso. Alta capacidad fermentativa.
 10			<i>Cándida utilis</i>	Bacilos gram positivos largos y delgados. Aerobias facultativas.
 13			<i>Candida sphaerica</i>	Forma redonda, con un diámetro aproximadamente de 0,5 mm, color crema brillante

**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

## 12 IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS):

### 12.2 Impactos técnicos

Mediante esta investigación se dio a conocer un impacto positivo por lo que se utilizó varias metodologías, que garantiza un proceso tecnológico e innovador reduciendo el tiempo de fermentación en donde se obtiene una ventaja agilitándose en la producción, al comparar por el otro método tradicional de fermentación de esta bebida.

### **12.3 Impactos sociales**

El presente trabajo investigativo tiene un impacto social ya que se pretende alcanzar un cambio en la sociedad debido a la innovación en el proceso de elaboración de esta bebida, los principales beneficiarios son las personas de la asociación Agua Viva de la parroquia Madre Tierra del cantón Puyo.

### **12.4 Impactos económicos:**

El proyecto beneficiara económicamente a la Asociación Agua Viva y agricultores de la chonta fomentando técnicas innovadoras de elaboración de la bebida ancestral y a los estudiantes de la carrera de Ingeniera Agroindustrial interesados en seguir con el estudio.

### **12.5 Impactos ambientales:**

La investigación no afecta a la naturaleza por lo que no causa efectos nocivos para el ambiente por tal motivo se procedió a realizar la investigación.

### 13 PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO:

Tabla 10: Presupuesto para la propuesta del proyecto

RECURSOS	CANTIDAD	UNIDAD	V. UNITARIO	V. TOTAL
<b>HUMANOS</b>				
• Tutor	1			
• Lectores	3			
• Postulantes	2			
<b>MATERIA PRIMA</b>				
Bebida ancestral de Chonta ( <i>Bactris gasipaes</i> )	2	lt	6	12,00
<b>SUBTOTAL</b>				<b>12,00</b>
<b>MATERIALES DE LABORATORIO</b>				
Vasos de precipitación	3	U	7,00	21,00
Matraces	3	U	7,00	21,00
Pipetas	3	U	3,00	9,00
Cajas Petri plásticas	90	U	0,20	18,00
Toallas de limpieza	1	U	7,50	7,50
Mechero Bunsen	1	U	5,00	5,00
Espátula	1	U	2,00	2,00
Asas microbiológicas	4	U	1,50	6,00
Porta objetos	100	U	0,08	8,00
Cubre Objetos	100	U	0,08	8,00
Papel Aluminio	2	U	7,00	14,00
Desinfectante liquido	1	U	4,50	4,50
<b>SUBTOTAL</b>				<b>124,00</b>
<b>SUMINISTRO DE OFICINA</b>				
Impresiones y copias	440	U	0,10	44,00
Flash memory	1	U	10,00	10,00
Calculadora	1	U	15,00	15,00
Libretas	1	U	0,75	0,75
Lápiz	2	U	0,30	0,60
Hojas	500	U	0,02	10,00
Internet	60	Horas	0,75	45
Anillados	10	U	2,00	20,00
<b>SUBTOTAL</b>				<b>200,35</b>
<b>EQUIPOS</b>				
Microscopio óptico	1	Día de alquiler/ Precio de depreciación	5,00	5,00
PH metro	1	Hora de alquiler/	4,00	4,00

		Precio de depreciación		
Refractómetro	1	Hora de alquiler/ Precio de depreciación	4,00	4,00
Termómetro	1	U	4,00	4,00
Autoclave	1	Día de alquiler/ Precio de depreciación	6,00	6,00
Balanza analítica	1	Hora de alquiler/ Precio de depreciación	5,00	5,00
Incubadora	1	Días de alquiler/ Precio de depreciación	6,00	6,00
Cámara flujo laminar	1	Hora de alquiler/ Precio de depreciación	6,00	6,00
<b>SUBTOTAL</b>				<b>40,00</b>
<b>REACTIVOS</b>				
Agar nutritivo	1	U	45,00	45,00
Agar sabouraud dextrosa	1	U	50,00	50,00
Agar Lactobacilli Mrs Broth	1	U	50,00	50,00
Agar base	1	U	30,00	30,00
Agua destilada	10	Lts	2,00	20,00
Azul de metileno	100	MI	5,00	5,00
Cristal Violeta	70	MI	5,00	5,00
Lugol	100	MI	5,00	5,00
Alcohol	1	U	4,50	4,50
Safranina	1	U	8,00	8,00
Kits de pruebas Bioquímicas	1	U	500	500
<b>SUBTOTAL</b>				<b>722,50</b>
<b>TRANSPORTE Y ALIMENTACIÓN</b>				
Transporte	3	Días	4,50	13,50
Alimentación	2	Personas	30,00	60,00
<b>SUBTOTAL</b>				<b>73,00</b>
<b>SUBTOTAL</b>				<b>1071,81</b>
<b>GASTOS VARIOS</b>				<b>120,00</b>

<b>SUB TOTAL</b>	<b>1191,81</b>
<b>IMPREVISTOS 15%</b>	<b>178,77</b>
<b>TOTAL</b>	<b>1371,58</b>

**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

## 14 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 14.2 Conclusiones

- ✓ Se aisló 30 cepas de tres tipos de microorganismos levaduras, mohos y bacterias ácido lácticas de las cuales fueron 10 levaduras, 6 mohos y 14 de ácidos lácticas logrando caracterizarles e identificar 5 cepas acidas lácticas y tres levaduras.
- ✓ Las cepas se caracterizó morfológicamente su estructura, forma, superficie, color, borde, las cuales fueron identificadas como gram positivas y gram negativas.
- ✓ Mediante las pruebas bioquímicas API 50 CHL se identificó bacterias acidas lácticas como *Bacillus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Sporolactobacillus*, *Lactococcus*, que son gram positiva formadores de endosporas y levaduras como son genero *Saccharomyces cerevisiaea*, *candida sphaerica*, *candida utilis*.
- ✓ El microorganismos predominante identificado durante el proceso de la fermentación fue las levaduras específicamente del género *Saccharomyces cerevisiaea*.

### **14.3 Recomendaciones**

- ✓ Leer cuidadosamente las etiquetas de los medios de cultivo para su posterior preparación.
- ✓ Realizar la identificación molecular de las cepas aisladas y correlacionarlas con las pruebas bioquímicas.
- ✓ Realizar el estudio de la cinética de crecimiento de los microorganismos presentes en la bebida fermentada de chonta
- ✓ Estudiar otros tipos de bebidas fermentadas tradicionales ya que, al identificar la diversidad microbiana en estas bebidas, se podría en un futuro industrializar las cepas que presenten una importante capacidad fermentativa.

## 15 REFERENCIAS

- Arrebola, D. F., Rosario Fernández, L. A., & Gámez Menéndez, R. (2008). *Metodos generales de la conservacion de microorganismos*. Finlay Ediciones, 2-4.
- Bailón Neira, R. C. (30 de Abril de 2012). unac.edu.pe. *Obtenido de fermentaciones industriales*:[https://unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/Informes\\_Finales\\_Investigacion/if\\_mayo\\_2012/if\\_bailon%20neyra\\_fipa.pdf](https://unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/Informes_Finales_Investigacion/if_mayo_2012/if_bailon%20neyra_fipa.pdf).
- Barreros Cuevas, L. (2016). www.sintesis.com. *Obtenido de Microbiología*: <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>
- Bastidas Cevallos, Y. E., & Vaca Viracucha, J. K. (Septiembre de 2018). dspace.ups.edu.ec. *Obtenido de bitstream*:
- Biomerieux. (2016). *Obtenido de API 20E*: apiweb. <http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/microbiologia/unidades/LabV/API/api.html>
- Biomerieux. (2016). *Batería de pruebas API20E*. apiweb.
- Constanza Corrales MSc, L., Antolinez Romero, D. M., & Corredor Vargas, A. M. (2015). *Bacterias anaerobias*. Artículo de revisión, 27.
- Calero Córdova, E. C. (2014). dspace.unl.edu.ec. *Obtenido de dspace.unl.edu.ec*: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/15694/1/TESIS%20FINAL%20ELVIA.pdf>
- Copérnico, N. (2004). *Biografía y vidas*. Obtenido de La enciclopedia biografica en linea: <https://www.biografiasyvidas.com/tema/bacterias.htm>
- Corpoica. (Enero de 2015). *Obtenido de Bibdigital.epn.edu.ec*: Bibdigital.epn.edu.ec. <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/9058/3/CD-6044.pdf>
- Constanza Corrales MSc, L., Antolinez Romero, D. M., & Corredor Vargas, A. M. (2015). *Bacterias anaerobias*. Artículo de revisión, 27.
- Escobar Acevedo, C. J., Zuuaga Pelaez, J. J., & Cardenas Gusman, C. A. (1998). *El cultivo de chontaduro ( bactris gasipaes h.b.k) para fruto y palmito*. Florencia: Corpoica Regional 10.
- Fernández, A. (2001). *Microbiología Industrial*. universidad estatal a distancia.
- Forero Gómez, C. L., & Godoy Bonilla, S. P. (2005). *Estandarización conservas de chontaduro como alternativa*. Dalnet, 81.
- Frazier, W. C., & Whesthoff, D. C. (2010). *Microbiología de loa alimentos*. En W. Frazier, *Microbiología* (pág. 700). España: Acribia, s.a.
- García Gallego, J. (2008). *Maridaje, enología y cata de vinos*. Málaga: Innovación y Cualificación.
- García Garibay, M., & Quintero Ramírez, Q. (2004). *Biotecnología Alimentaria*. México: Limusa, 1993 - 636 páginas.

- García Lopez, D. (2010). *Obtenido de Aislamiento de microorganismos probióticos a partir de bebidas fermentadas*: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/424/61074s.pdf?sequence=1>
- García, D., Sotero, V., & Lessi, E. (1996). *bebida fermentada a partir de pijuayo (Bactris gasipaes h.b.k.)* parametros y evaluacion. *Folia Amazonica* , 14.
- Giraldo, D. J., del Pilar Meléndez, A., & Medina, O. F. S. (2010). Evaluación de la producción de bacteriocinas a partir de Lactobacilos y Bifidobacterias. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), 193-209.
- IICA. (2001). *Manual de procedimientos para el control microbiológico de alimentos*. Paraguay: Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- León-de la O, D. I. (2012). *Análisis bromatológico y aislamiento de microorganismos*. Universidad Simón Bolívar, México , 8.
- López Guanín, E. M. (Enero de 2015). *repositorio.ute.edu.ec*. Obtenido de [repositorio.ute.edu.ec](http://repositorio.ute.edu.ec): [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5402/1/59994\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5402/1/59994_1.pdf)
- López, A. I. S., Pazos, V., & Torres, D. (2005). Aislamiento y selección de bacterias pertenecientes al género Bacillus con potencialidades para el control biológico en semilleros de tabaco. *Centro Agrícola*, 32(3), 25-29.
- Molina López, J., & Uribarren Berrueta, T. (2015). *UNAM. obtenido de generalidades de bacterias*: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/generalidades.html>
- Montaguano Asimbaya, M. G. (2012). *Obtenido de Investigación de bebidas tradicionales ecuatorianas*: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/3651> bachelorThesis.
- Montaño Arias, N. M., Sandoval Pérez, A. L., Camargo Ricalde, S. L., & Sánchez Yáñez, J. M. (2010). *Los microorganismos: pequeños gigantes*. *Redalyc*, 23.
- Pacheco Molina, J. M., & Serpas Tejada, R. A. (diciembre de 2013). <http://ri.ues.edu.sv>. Recuperado el 2013, de <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5268/1/16103407.pdf>
- Parzanese, L. M. (2014). *Alimentos Argentinos Tecnologías para la industria de alimentos*. Obtenido de fermentación en sustrato sólido:: [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha\\_27\\_Fermentacion\\_en\\_sustrato\\_solido\\_para\\_el\\_aprovechamiento\\_de\\_subproductos\\_de\\_la\\_agroindustria.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_27_Fermentacion_en_sustrato_solido_para_el_aprovechamiento_de_subproductos_de_la_agroindustria.pdf)
- Pascual, A., & Calderon, M. R. (2006). *Microbiología Alimentaria*. Madrid (España): Díaz de Santos, S.A.
- Quintero Salazar, B., & Bernáldez Camiruaga, A. I. (2012). *Consumo y conocimiento actual de una bebida fermentada tradicional en Ixtapan del Oro, México*: la sambumbia. *SciELO*, 129.

- Rodríguez Cavallini, e., Hernández Chavarria, F., & García Hidalgo, J. D. (2004). *Bacteriología General*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Rodríguez-Herrera, R., Aguilar-González, C., Ayala-Labarríos, L., & Espinosa-Hernández, T. (2009). *Detección de microorganismos mediante métodos moleculares*. Pos grado en investigación, 2. Obtenido de <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%201/AQMmicroorganismos.html>
- Salcedo Cárdenas, M. E. (Agosto de 2008). *Obtenido de Facultad de Biología: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*. [https://datospdf.com/download/universidad-michoacana-de-san-nicolas-de-hidalgo-\\_5a4b79feb7d7bcab67d6be26\\_pdf](https://datospdf.com/download/universidad-michoacana-de-san-nicolas-de-hidalgo-_5a4b79feb7d7bcab67d6be26_pdf)
- Salinas Bonilla, M., & Pajares Moreno, S. (2016). *Manual de prácticas de microbiología básica*. ISBN: 978-607-28-0975-8.
- Segovia Paredes, J. L. (Enero de 2015). *Bibdigital.epn.edu.ec*. Obtenido de [Bibdigital.epn.edu.ec](http://bibdigital.epn.edu.ec): [http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/9058/3/CD-6044.pdf?fbclid=IwAR3\\_qNMr-RzveWgiypy2v9wQLPBFvaFaz\\_rqauNIXZYBAbtuc0bHZDG1SYc](http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/9058/3/CD-6044.pdf?fbclid=IwAR3_qNMr-RzveWgiypy2v9wQLPBFvaFaz_rqauNIXZYBAbtuc0bHZDG1SYc)
- Silva Tubón, L. J., & Machado Campoverde, A. E. (2014). *dspace.uce.edu.ec*. Obtenido de [dspace.uce.edu.ec](http://www.dspace.uce.edu.ec): <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2778/1/T-UCE-0017-67.pdf>
- Silva, L. (Diciembre de 2014). *dspace.uce.edu.ec*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec>: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2778/1/T-UCE-0017-67.pdf>
- Stanier, R. Y. (1996). *Microbiología*. Barcelona: Reverte, S,A.
- Terán Andrade, J. V. (Diciembre de 2014). *Repositorio.ute.edu.ec*. Obtenido de <http://repositorio.ute.edu.ec>: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5120/1/58483\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5120/1/58483_1.pdf)
- Vanguardia, L. (2014). *Las siete bacterias más peligrosas*. La Vanguardia, 7. Obtenido de [lavanguardia.com](http://lavanguardia.com).
- Vargas Flores, T., & Kuno Vargas, A. (2014). *Morfología Bacteriana*. revistasbolivianas, 5.
- Vásconez, B. M. (Enero de 2014). *Obtenido de caracterización físico-química y microbiológica*: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5053/1/55033\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5053/1/55033_1.pdf)<http://repositorio.ute.edu.ec>.
- Yucci, T. E. V., León, P., & Torres, D. (2017). Fiesta de la chonta y su impacto en el turismo comunitario del pueblo shuar. *Killkana sociales: Revista de Investigación Científica*, 1(3), 9-14.

## 16 ANEXOS.

### Anexos 1: Ubicación geográfica

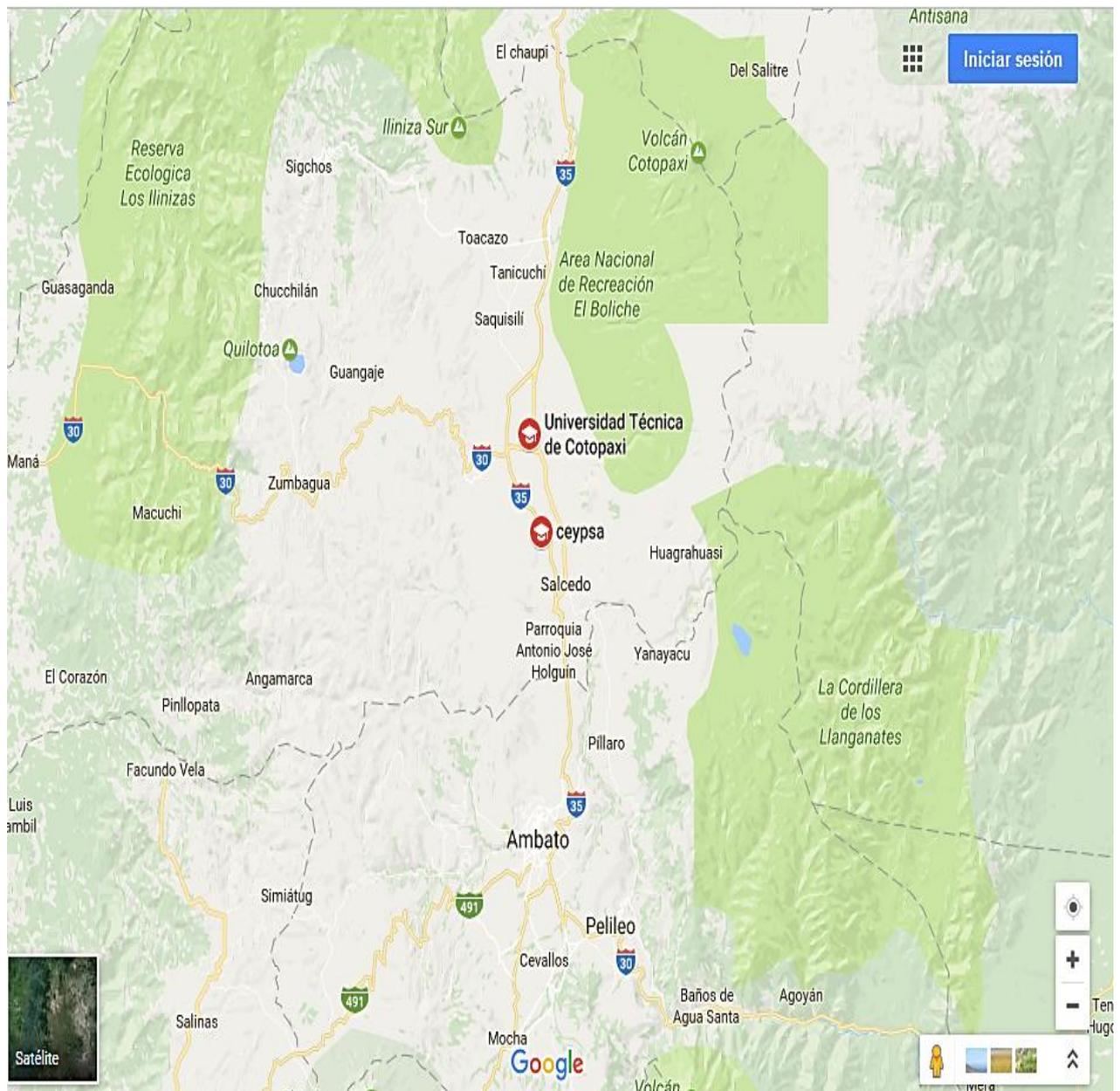
La Provincia de Cotopaxi es una de las 24 provincias de la República del Ecuador, localizada en la región sierra del país, al centro-norte del país. Su capital es Latacunga. La provincia toma el nombre del volcán más grande e importante de su territorio, el volcán Cotopaxi. Cotopaxi se encuentra dividida políticamente en 7 cantones. Según el último ordenamiento territorial, la provincia de Cotopaxi pertenece a la región centro 3 comprendida también por las provincias de Pastaza, Chimborazo y Tungurahua.

**Imagen 9:** Ubicación geográfica Cotopaxi



**Fuente:** (División Provincia de Cotopaxi)

**Imagen 10:** Ubicación geográfica de la Universidad Técnica de Cotopaxi



**Fuente:** (Google Earth)

La Universidad Técnica de Cotopaxi se encuentra ubicada en la zona conocida como San Felipe al Nor-Occidente de Latacunga, en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, parroquia Eloy Alfaro, sector el Ejido, avenida Simón Rodríguez.

Ubicación Geográfica del CEYPSA El CEYPSA está localizada en la Provincia de Cotopaxi, en el Cantón Latacunga, a 7 Km al sur del casco urbano, para llegar a la Universidad se toma la carretera pavimentada vía a Salache Bajo en un tiempo de 30 minutos en carro.

### **Ubicación**

- Sitio: Salache Bajo
- Parroquia: Eloy Alfaro
- Cantón: Latacunga
- Provincia: Cotopaxi

### **Coordenadas**

- Longitud: 78°37'19,16" E
- Latitud: 00°59'47,68" N

**Anexos 2: Hoja de vida del tutor****DATOS PERSONALES**

APELLIDOS: ZAMBRANO OCHOA

NOMBRES: ZOILA ELIANA

ESTADO CIVIL: CASADA

CEDULA DE CIUDADANIA: 0501773931

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: Alausí, 07 de agosto de 1971

DIRECCION DOMICILIARIA: El Loreto, calle Quito y Gabriela Mistral

TELEFONO CONVENCIONAL: 032814188  
095232441

TELEFONO CELULAR:

CORREO ELECTRONICO: [zoila.zambrano@utc.edu.ec](mailto:zoila.zambrano@utc.edu.ec)

EN CASO DE EMERGENCIA CONTACTARSE CON: Laura Ochoa. 032802919

**ESTUDIOS REALIZADOS Y TITULOS OBTENIDOS**

NIVEL	TITULO OBTENIDO	FECHA DE REGISTRO EN EL CONESUP	CODIGO DEL REGISTRO CONESUP
<b>TERCER</b>	<b>INGENIERA AGROINDUSTRIAL</b>	27/AGOSTO/2002	1020-02-180061
<b>CUARTO</b>	<b>MAGISTER EN GESTION DE LA PRODUCCIÓN</b>	29/OCTUBRE/2007	1020-07-668515

**HISTORIAL PROFESIONAL**

FACULTAD EN LA QUE LABORA: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

CARRERA A LA QUE PERTENECE: Ingeniería Agroindustrial.

AREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA: Ingeniería, Industria y Construcción.

PERÍODO ACADÉMICO DE INGRESO A LA UTC: Septiembre 2000

-----  
**Eliana Zambrano Ochoa**  
**C.C. 0501773931**

**Anexos 3:** Hoja de vida estudiante 1***DATOS PERSONALES***

<b>APELLIDOS</b>	Murillo Gallardo
<b>NOMBRE</b>	Erika Lisbeth
<b>DOCUMENTO DE IDENTIDAD</b>	0503990343
<b>FECHA DE NACIMIENTO</b>	30 de agosto de 1994
<b>LUGAR DE NACIMIENTO</b>	Saquisili
<b>EDAD</b>	24 años
<b>ESTADO CIVIL</b>	Soltera
<b>CIUDAD</b>	Latacunga
<b>DIRECCIÓN</b>	Saquisili, Barrio La Libertad
<b>TELÉFONO</b>	(03) 2721595 - 0969462561
<b>E-MAIL</b>	erika.murillo3@utc.edu.ec

***FORMACION ACADEMICA***

**Estudios Primarios:** Escuela Fiscal Mixta “18 de Octubre”

Cotopaxi-Saquisili

**Estudios Secundarios:** I.T.S “Vicente León”

Químico Biólogo

Cotopaxi- Latacunga

**Estudios Universitarios:** Universidad Tecnica de Cotopaxi  
(Noveno ciclo)

**Idiomas:** Tercer Nivel de Ingles

-----

**Anexos 4:** Hoja de vida estudiante 2***DATOS PERSONALES***

<b>APELLIDOS</b>	Pullupaxi Chiluiza
<b>NOMBRE</b>	Luis Sebastián
<b>DOCUMENTO DE IDENTIDAD</b>	180550940-1
<b>FECHA DE NACIMIENTO</b>	22 de Febrero de 1994
<b>LUGAR DE NACIMIENTO</b>	Pillaro
<b>EDAD</b>	24 años
<b>ESTADO CIVIL</b>	Soltero
<b>CIUDAD</b>	Pillaro
<b>DIRECCIÓN</b>	Pillaro, ciudadela El Triunfo
<b>TELÉFONO</b>	(03) 28755472 - 0988096073
<b>E-MAIL</b>	luis.pullupaxi1@utc.edu.ec

***FORMACION ACADEMICA***

**Estudios Primarios:** Escuela Fiscal Mixta “Mariscal Sucre”

Tungurahua-Pillaro

**Estudios Secundarios:** “Jorge Alvarez”

Químico Biólogo

Tungurahua- Pillaro

**Estudios Universitarios:** Universidad Tecnica de Cotopaxi  
(Noveno ciclo)

**Idiomas:** Tercer Nivel de Ingles

-----

**Anexos 5: Muestreo de la chicha de chonta**



Toma de muestra



Parámetros de control



Transporte

## Anexos 6: Aislamiento de microorganismos



Esterilización de materiales



Enriquecimiento de muestras



Estriado e incubación

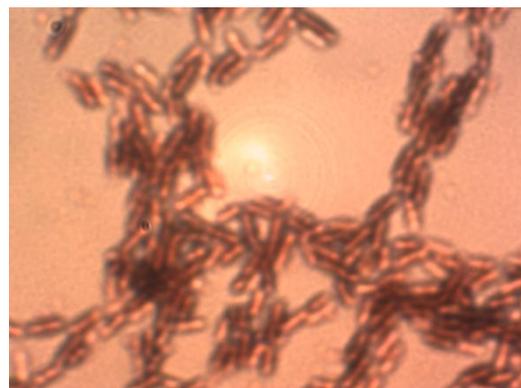
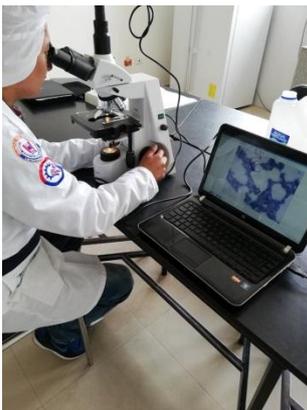
## Anexos 7: Caracterización de microorganismos



Preparación aditivos, esterilizaciones materiales



Tinción Gram



Verificación resultados

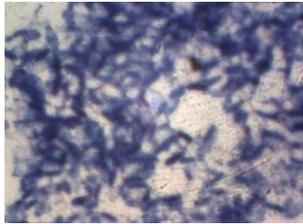
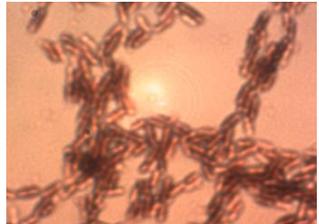
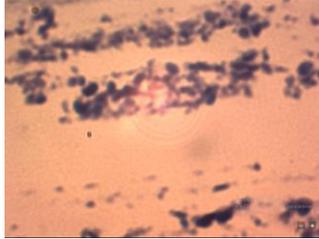
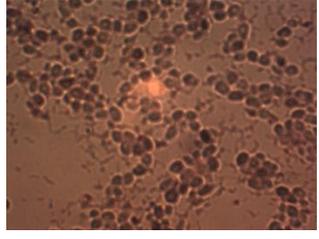
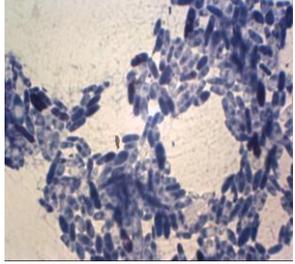
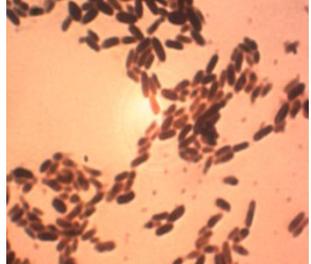
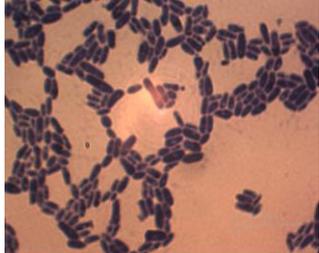
**Anexos 8:** Caracterización morfológica colonial

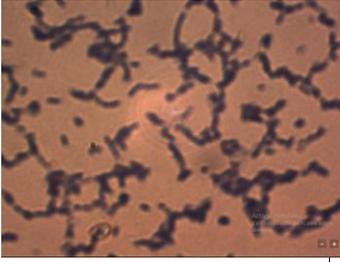
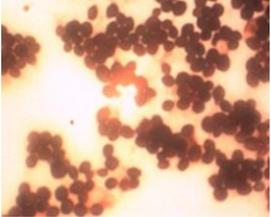
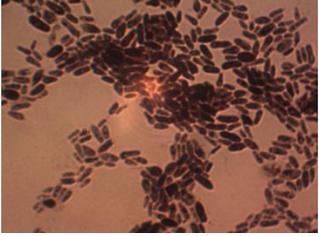
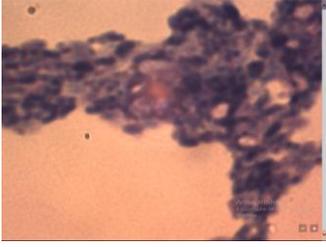
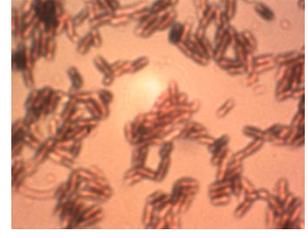
PLACA	FORMA	COLOR	SUPERFICIE	BORDE
 <p>1</p>	Circular	Blanco	elevación convexas en los extremos	ondulado
 <p>4</p>	Circular	Blanquecino brillante	Acuminada	Redondeados
 <p>13</p>	Puntiforme e irregular  Elevación plana	Blanquecino brillante	Lisa	Entero
 <p>31</p>	Puntiforme e irregular	Mate y brillante	Lisa  Elevación plana	Entero
	Colonias pequeñas forma redonda	blanco, brillantes	Convexa Lizos	Entero

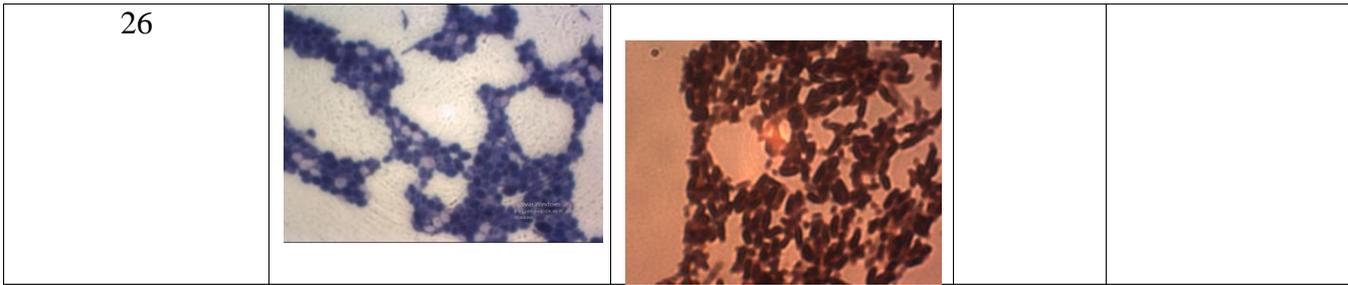
 <p>10</p>				
 <p>14</p>	Circular	Blanquecino brillante	Acuminada	Redondeados
 <p>8</p>	Colonias pequeñas forma redonda	blanco, brillantes	Convexa y Lizos	Regulares
 <p>17</p>	Circular	Blanquecino brillante	Acuminada	Redondeados
 <p>28</p>	Circular	Blanquecino brillante	Acuminada	redondeados

 <p>26</p>	Circular	Blanquecino brillante	Acuminada	Redondeados
---	----------	-----------------------	-----------	-------------

### Anexos 9: Caracterización microscópica

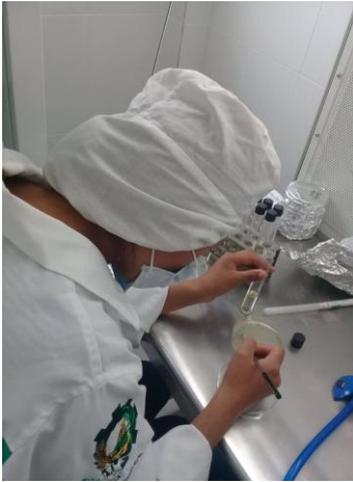
CEPA	Tinción Simple	Tinción Gram	GRAM + o -	Caracterización
 <p>1</p>			+	Bacilos
 <p>4</p>			+	Streptococos
 <p>13</p>			+	Bacilos
			+	Streptobacilos

31				
 10			+	estreptococos
 14			+	Cocos
 8			+	Bacilos
 17			+	Estreptobacilos
 28			+	Bacilos
			+	Bacilos



**Elaborado por:** Autores (Murillo, Pullupaxi)

### Anexos 10: Identificación de microorganismo



Nutrición muestra



Incubación

**Anexos 11:** Ficha sabouraud dextrosa

**Anexos 12:** Ficha caldo MRS

**Anexos 13:** Ficha técnica API 50 CHL

**Anexos 14:** Esquema general de pruebas morfológicas e identificación Bioquímica por el sistema API 50 CHL