



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS
FERMENTADORES DE DOS TIPOS DE BEBIDAS ANCESTRALES
FERMENTADAS A PARTIR DE YUCA (*Manihot esculenta*)”**

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

Autores:

Martínez Molina Carlos Enrique

Paredes Moreno Henry Pablo

Tutor:

Quím. Jaime Orlando Rojas Molina Mg.

Latacunga – Ecuador

Agosto 2019

DECLARACIÓN DE AUDITORÍA

Nosotros: **Martínez Molina Carlos Enrique** con C.C. **050314873-6** y **Paredes Moreno Henry Pablo** con C.C. **050430869-3**, declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: “**Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de yuca (*Manihot esculenta*)**”, siendo el **Quim. Rojas Molina Jaime Orlando Mg.** tutor del presente trabajo; y eximimos 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.

.....
Martínez Molina Carlos Enrique

C.I. 050314873-6

.....
Paredes Moreno Henry Pablo

C.I. 050430869-3

.....
Quim. Rojas Molina Jaime Orlando Mg.

C.I. 0502645435

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 **Martínez Molina Carlos Enrique**, identificado con C.C. N° **050314873-6**, de estado civil soltero y con domicilio en Latacunga, y **Paredes Moreno Henry Pablo** identificado con C.C. N° **050430869-3**, de estado civil soltero y con domicilio en Pujili; a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el **Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez**, 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 son personas naturales estudiantes de la Carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, titulares de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de yuca (*Manihot esculenta*)”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico.- **Septiembre 2014-Febrero 2015 hasta Marzo 2019-Agosto 2019**

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

Tutor.- **Quim. Rojas Molina Jaime Orlando Mg.**

Tema: **“Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de yuca (*Manihot esculenta*)”**

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 04 días del mes de abril del 2019.

.....

Martínez Molina Carlos Enrique

EL CEDENTE

.....

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

.....

Paredes Moreno Henry Pablo

EL CEDENTE

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 dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de yuca (*Manihot esculenta*)”, de Martínez Molina Carlos Enrique y Paredes Moreno Henry Pablo, 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, Julio del 2019

.....
Quim. Rojas Molina Jaime Orlando Mg.

Firma del Tutor

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 dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de yuca (*Manihot esculenta*)”, de Martínez Molina Carlos Enrique y Paredes Moreno Henry Pablo, de la carrera 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.

Lector 1 (Presidente)

Ing. Molina Borja Franklin Antonio Mg.

CC: 050182143-3

Lector 2

Ing. Fernández Paredes Manuel Enrique Mg.

CC: 050151160-4

Lector 3

Ing. Trávez Castellano Ana Maricela Mg.

CC: 050227093-7

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de yuca (*Manihot esculenta*)”

Autores:

Martínez Molina Carlos Enrique

Paredes Moreno Henry Pablo

RESUMEN

La “Chicha” es el nombre que se le da a una bebida fermentada no destilada de bajo contenido alcohólico, derivada principalmente de frutos, cereales y tubérculos. En esta investigación en primera instancia se realizó un muestreo en la comunidad indígena “Madre Tierra” del cantón Puyo, que está ubicada en la amazonia ecuatoriana, en la cual se recolectó dos tipos de bebidas ancestrales como son la negra y la wiwis las mismas que son elaboradas a partir de la yuca. Posteriormente se trasladó al laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi, conservando una cadena de frío a una temperatura de refrigeración de 4°C a 8°C para que así las muestras conserven sus propiedades originarias; se realizó un pre-enriquecimiento de las muestras utilizando un medio nutritivo que tiene como fin revitalizar y nutrir a los microorganismos presente. Inmediatamente se efectuó el aislamiento por la técnica de estriado en medio específico en el cual se obtuvo la presencia de los microorganismos fermentadores, consecutivamente se purificó las cepas para facilitar la caracterización e identificación. La caracterización de las unidades formadoras de colonias se la realizó en base a su morfología (forma, borde, color, textura y superficie); mientras que microscópicamente se valoró su tinción gram y su forma celular. Las identificaciones de las bacterias ácido lácticas y levaduras fueron ejecutadas por medio de pruebas bioquímicas API 50 CHL. Como cepas resultantes del aislamiento se pudo obtener 19 cepas de la chicha negra y 18 de la wiwis, de las cuales se seleccionaron 8 de la chicha negra y 7 de la wiwis las mismas que fueron las más representativas para analizarlas mediante las técnicas de caracterización e identificación microbiológica. Dadas las diferentes características se identificó microorganismos tales como *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida lusitanae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Palabras clave: chicha, microorganismos, caracterización, morfología, aislamiento, Levaduras, bacterias ácido lácticas, identificación.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITLE: “Isolation and identification of microorganisms fermenters of two types of ancestral fermented beverages from yuca. (*Manihot esculenta*)”

Authors:

Martínez Molina Carlos Enrique

Paredes Moreno Henry Pablo

ABSTRACT

The "chicha" is the name given to a fermented beverage not distilled of low alcohol content, derived mainly from fruit, cereals and tubercles. In this research at the first instance a sampling was done in the indigenous community " Madre tierra" from puyo canton, it is located in the amazon ecuatorian region, which were collected two types of ancestral beverages negra and the wiwis elaborated from yuca. Later they moved to the microbiology laboratory of Technical University of Cotopaxi, keeping a cold chain at a freezing temperature of 4°C to 8°C so samples retain their original properties; a pre-enrichment of the samples was carried out using a nutritive medium which aims to revitalize and nourish the presented microorganisms. Immediately the isolation was carried out by streaking technique in a specific medium where the presence of the fermenting microorganisms was obtained, consecutively the strains were purified to facilitate the characterization and identification. The characterization of the colony forming units was based on their morphology (shape, border, color, texture, and surface); while its gram stain and cell form were assessed microscopically. the identifications of the lactic acid bacterium and yeasts were executed by means of biochemical test API 50CHL.

As resulting strains from isolation, 19 strains of the chicha negra and 18 of the wiwis were obtained, 8 of the chicha negra and 7 of the wiwis were selected as most representative to analyze them through characterization techniques, and microbiological identification. Given different characteristics microorganisms as *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida lusitanae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Key words: chicha, microorganisms, characterization, morphology, isolation, yeasts, bacteria lactic acid, identification.

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por permitirnos tener y disfrutar de nuestras familias, gracias a nuestros padres por brindarnos todo el apoyo en nuestras vidas universitarias en lo moral y en lo económico, gracias por el gran sacrificio, esmero y dedicación que hicieron por nosotros para q logremos obtener un título universitario.

Agradecemos a la Universidad y a nuestros docentes por habernos permitido formarnos como personas y como profesionales, gracias a ustedes porque fueron los responsables de realizar su aporte, que hoy se vería reflejado en la culminación de nuestro paso por la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Agradecemos especialmente al Químico Orlando Rojas por haber sido tutor, guía, amigo, y por creer en este trabajo de investigación y con su conocimiento apoyar con el desarrollo del mismo.

Agradecemos a nuestros compañeros por brindarnos su voz de aliento en momentos duros para continuar la investigación a pesar de las pequeñas vicisitudes que se presentaron en el camino.

DEDICATORIA

Familia, amigos, y personas especiales que forman parte de nuestras vidas, han sido un pilar fundamental en nuestra formación como profesionales, por brindarnos consejos, oportunidades y recursos para lograrlo. No podríamos sentirnos tan felices por la confianza que todos ustedes depositaron sobre nosotros, especialmente cuando hemos contado con su mejor apoyo cuando ni siquiera teníamos memoria. Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; hemos logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecerse a una tarea titánica e interminable. Quisiéramos dedicar nuestra tesis a ustedes personas de bien, seres de amor, bienestar y de los más grandes valores.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA.....	i
DECLARACIÓN DE AUDITORÍA	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
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
AGRADECIMIENTO.....	x
DEDICATORIA.....	xi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ÍNDICE DE TABLAS	xvi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvii
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. RESUMEN	3
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	4
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	4
5. BENEFICIARIOS DIRECTOS.....	4
6. BENEFICIARIOS INDIRECTOS.....	5
7. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	5
8. OBJETIVOS	6
8.1. General	6
8.2. Específicos	6
9. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	7

10.	FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	8
10.1.	Antecedentes	8
10.2.	Fundamentación teórica	10
10.2.1.	La yuca (Manihot esculenta)	10
a.	Origen de la yuca.....	10
b.	Generalidades.....	11
c.	Composición de la yuca.....	12
d.	Valor nutricional.....	12
e.	Producción nacional de yuca en Ecuador	13
10.2.2.	Fermentación.....	13
a.	Fermentación Alcohólica	14
10.2.3.	Microorganismos fermentadores	14
a.	Levaduras.....	14
b.	Mohos	15
c.	Bacterias Acido Lácticas.....	16
10.2.4.	Bebidas fermentadas	17
10.2.5.	Bebidas fermentadas no destiladas	17
10.2.6.	Bebidas fermentadas destiladas	17
10.2.7.	Bebidas fermentadas ecuatorianas	18
10.2.8.	Chicha de yuca	19
a.	Elaboración de la chicha de yuca.....	19
10.2.9.	Técnicas microbiológicas para identificación de cepas microbianas.....	20
a.	Cultivo	20
b.	Caracterización.....	22
10.2.10.	Pruebas bioquímicas	23
10.2.11.	El API 50 CHL.....	24

10.3.	Marco conceptual	24
11.	PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.....	26
12.	METODOLOGÍAS	27
12.1.	Tipos de investigación	27
12.2.	Métodos de la investigación.....	27
12.3.	Técnicas de investigación.....	28
12.4.	Instrumentos de investigación.....	29
12.5.	Muestreo y almacenamiento en frío	29
12.6.	Pre-enriquecimiento.....	30
12.7.	Aislamiento.....	30
12.8.	Caracterización.....	30
12.9.	Identificación	31
13.	RESULTADOS.....	32
13.1.	Caracterización e identificación (cepas de la chicha negra).....	32
13.2.	Caracterización e identificación (capas de la chicha wiwis).....	36
14.	IMPACTOS	40
14.1.	Impacto técnico	40
14.2.	Impacto social	40
14.3.	Impacto ambiental	40
14.4.	Impacto Económico.....	40
15.	PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO.....	41
	CONCLUSIONES.....	43
	RECOMENDACIONES	44
	BIBLIOGRAFÍA.....	45
	ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i>	Proceso de elaboración de la chicha de yuca.....	20
<i>Figura 2.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	32
<i>Figura 3.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	33
<i>Figura 4.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	33
<i>Figura 5.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	34
<i>Figura 6.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	34
<i>Figura 7.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	35
<i>Figura 8.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	35
<i>Figura 9.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	36
<i>Figura 10.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	36
<i>Figura 11.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	37
<i>Figura 12.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	37
<i>Figura 13.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	38
<i>Figura 14.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	38
<i>Figura 15.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	39
<i>Figura 16.</i>	A. Colonia; B, C. Células.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	<i>Sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.....</i>	7
Tabla 2	<i>Clasificación botánica de la yuca.....</i>	11
Tabla 3	<i>Valor Nutricional (por 100g de porción comestible de la yuca).....</i>	12
Tabla 4	<i>Producción nacional de yuca en Ecuador.....</i>	13
Tabla 5	<i>Principales bebidas fermentadas en el Ecuador.....</i>	18
Tabla 6	<i>Sugerencia del presupuesto del proyecto.</i>	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Aval de Traducción	48
Anexo 2.	Ubicación geográfica.	49
Anexo 3.	Mapa Físico de Universidad Técnica de Cotopaxi.....	49
Anexo 4.	Tutor.....	50
Anexo 5.	Autores	51
Anexo 6.	Caracterización por medio de pruebas microbiológicas en base a su forma celular.....	53
Anexo 7.	Caracterización por medio de pruebas microbiológicas	57
Anexo 8.	Procedimientos para aislar e identificar microorganismos fermentadores en dos tipos de chicha de yuca (negra y wiwis).....	59

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de la yuca (*Manihot esculenta*)

Fecha de inicio: Octubre 2018

Fecha de finalización: Agosto 2019

Lugar de ejecución:

Barrio: Salache Bajo

Parroquia: Eloy Alfaro

Cantón: Latacunga

Provincia: Cotopaxi (Zona 3)

Institución: Universidad Técnica de Cotopaxi

Ubicación geográfica (Anexo N° 1.)

Mapa físico (Anexo N° 1.1.)

Mapa satelital (Anexo N° 1.2.)

Facultad que auspicia

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Ingeniería Agroindustrial

Proyecto de investigación vinculado:

Tecnologías para la producción de bebidas ancestrales con fines comerciales utilizando preparados enzimáticos TERMAMYL, 120L y AMYLSE AG 300L, kéfir y levadura.

Equipo de Trabajo:**Tutor:**

Quím. Jaime Orlando Rojas Molina Mg. (Anexo N° 2)

Autores:

Martínez Molina Carlos Enrique (Anexo N° 3)

Paredes Moreno Henry Pablo (Anexo N° 4)

Área de Conocimiento:

Ingeniería, Industria y Construcción

Sub-área:

Industria y producción

Línea de investigación:

Desarrollo y seguridad alimentaria

Sub líneas de investigación de la carrera:

Desarrollo de nuevos productos agroindustriales e ingredientes bioactivos para uso alimentario.

2. RESUMEN

La “Chicha” es el nombre que se le da a una bebida fermentada no destilada de bajo contenido alcohólico, derivada principalmente de frutos, cereales y tubérculos. En esta investigación en primera instancia se realizó un muestreo en la comunidad indígena “Madre Tierra” del cantón Puyo, que está ubicada en la amazonia ecuatoriana, en la cual se recolectó dos tipos de bebidas ancestrales como son la negra y la wiwis las mismas que son elaboradas a partir de la yuca. Posteriormente se trasladó al laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi, conservando una cadena de frío a una temperatura de refrigeración de 4°C a 8°C para que así las muestras conserven sus propiedades originarias; se realizó un pre-enriquecimiento de las muestras utilizando un medio nutritivo que tiene como fin revitalizar y nutrir a los microorganismos presente. Inmediatamente se efectuó el aislamiento por la técnica de estriado en medio específico en el cual se obtuvo la presencia de los microorganismos fermentadores, consecutivamente se purificó las cepas para facilitar la caracterización e identificación. La caracterización de las unidades formadoras de colonias se la realizó en base a su morfología (forma, borde, color, textura y superficie); mientras que microscópicamente se valoró su tinción gram y su forma celular. Las identificaciones de las bacterias ácido lácticas y levaduras fueron ejecutadas por medio de pruebas bioquímicas API 50 CHL. Como cepas resultantes del aislamiento se pudo obtener 19 cepas de la chicha negra y 18 de la wiwis, de las cuales se seleccionaron 8 de la chicha negra y 7 de la wiwis las mismas que fueron las más representativas para analizarlas mediante las técnicas de caracterización e identificación microbiológica. Dadas las diferentes características se identificó microorganismos tales como *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida lusitanae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Palabras clave: chicha, microorganismos, caracterización, morfología, aislamiento, Levaduras, bacterias ácido lácticas, identificación.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El desarrollo de este proyecto de investigación brinda un amplio aporte en conocimiento técnico y científico referente a una de las bebidas tradicionales de gran importancia para el país ya que al ayudar a la industrialización de la chicha de yuca beneficiará a los productores artesanales de dicha bebida que podrán darle un valor agregado. Por ello surge el interés por conocer a fondo nuestras costumbres y tradiciones; en las cuales la ingeniería agroindustrial cumple un papel protagónico en rescatar e innovar la industrialización de bebidas ancestrales. Por el mismo motivo se aisló e identificó los microorganismos fermentadores que actúan en la chicha de yuca. Generalmente se habla de las bebidas que existen en el Ecuador, pero en muy pocas ocasiones se mencionan las bebidas tradicionales o ancestrales. Una de ellas es la chicha de yuca, considerada para muchos pueblos como una bebida alcohólica pero refrescante; utilizada para rituales y festividades en algunas regiones indígenas (región amazónica y región sierra) del Ecuador (Beltrán, 2013). Mediante este estudio se suministró conocimiento de forma técnica y científica de los microorganismos fermentadores que serán utilizados en posteriores investigaciones para el mejoramiento del proceso de elaboración, por ende, darle un valor agregado a este tipo de chicha ancestral. De igual manera se pretende que el proyecto tenga un gran impacto investigativo ya que es una herramienta importante para el sustento de nuevas investigaciones y proyectos referentes a la comercialización e incluso exportación de esta bebida.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

Los principales beneficiarios de este proyecto serán mencionados a continuación:

5. BENEFICIARIOS DIRECTOS

Los beneficiarios de este proyecto de investigación serán los estudiantes, docentes y todos los que integramos la carrera de ingeniería Agroindustrial de la Universidad Técnica de Cotopaxi ya que ampliarán sus conocimientos técnicos y científicos, y será la base fundamental para posteriores investigaciones relacionadas al proyecto de bebidas ancestrales.

6. BENEFICIARIOS INDIRECTOS

Los moradores de la comunidad indígena “Madre Tierra” que elaboran este tipo de bebida ancestral se verán beneficiados ya que al identificar los microorganismos fermentadores se podrán hacer proyectos para industrializar la chicha de yuca conservando sus características organolépticas originales.

7. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En la humanidad ya sea por cuestiones religiosas, por celebraciones o ceremonias espirituales, el alcohol o bebidas propias de cada nacionalidad han ido de la mano del hombre desde mucho tiempo atrás. En el mundo existen símbolos como canciones, platillos y monumentos que personifican y enorgullecen a las naciones que los crearon. Y las bebidas también cumplen con este objetivo, por eso existen bebidas ancestrales que representan a su país, con y sin alcohol ya que son utilizadas en ceremonias, actos sociales o por el valor nutricional que ofrecen dichas bebidas.

El Ecuador tiene varios tipos de bebidas ancestrales una de ellas es la chicha de yuca, las investigaciones sobre esta bebida son limitadas referentes a la caracterización e identificación de microorganismos fermentativos, por lo cual no se tiene una aptitud de industrialización de dicha bebida cumpliendo con las mismas características organolépticas de la chicha elaborada artesanalmente en las comunidades indígenas.

Además de que la chicha es la bebida principal, es lo primero que se ofrece a los visitantes que llegan hasta las comunidades indígenas asentadas en la amazonia. La costumbre de esta etnia establece que se debe beber despacio con sorbos cortos. Si se la bebe rápidamente, esto significará que se desea más y ellos llenarán nuevamente el pilche.

En tal sentido es que nace la iniciativa por parte del investigador de procesar este tubérculo para la identificación de los microorganismos fermentadores, hacia la obtención de una bebida alcohólica exótica y apetitiva a escala experimental, que además satisfaga las expectativas de los consumidores de este tipo de productos fermentados para una posterior industrialización.

8. OBJETIVOS

8.1. General

- Identificar los microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de la yuca.

8.2. Específicos

- Aislar los microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de la yuca.
- Caracterizar los microorganismos causantes de la fermentación a través de técnicas de microscopía y tinción.
- Reconocer los microorganismos promotores de la fermentación a partir de pruebas bioquímicas.

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

Tabla 1

Sistema de tareas en relación a los objetivos planteados

Objetivo	Actividad (tareas)	Resultado de la actividad	Medios de verificación
Aislar los microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de la yuca.	Aislar los microorganismos causantes de la fermentación de bebidas ancestrales.	Se logró aislar los microorganismos que causan la fermentación en la chicha de yuca tales como levaduras y bacterias ácido lácticas.	A partir del muestreo de dos bebidas ancestrales elaboradas a base de yuca, se aisló los microorganismos fermentadores utilizando técnicas de estriado en un medio específico como indica en el anexo 3.
Caracterizar los microorganismos causantes de la fermentación a través de técnicas de microscopia y tinción.	Caracterizar los microorganismos causantes de la fermentación de bebidas ancestrales.	Se caracterizó mediante técnicas de microscopia y tinción a las levaduras y bacterias ácido lácticas. Mediante la utilización de pruebas tales como tinciones Gram, tinción simple y caracterización de las colonias.	Se realizó una caracterización de los microorganismos fermentadores a través de las técnicas microbiológicas ya mencionadas. en el anexo 3
Reconocer los microorganismos promotores de la fermentación a partir de pruebas bioquímicas.	Reconocer los microorganismos causantes de la fermentación de bebidas ancestrales.	Se identificó la presencia de levaduras y bacterias ácido lácticas causantes de la fermentación de dicha bebida en base a la lectura de las pruebas API 50CHL.	Se realizaron pruebas bioquímicas para la identificación de los microorganismos fermentadores este se puede verificar en el anexo 3.

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

10. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

10.1. Antecedentes

Para Pimienta y Vergara, (2007) en su trabajo de investigación “Caracterización e identificación de los microorganismos causantes de la fermentación en el suero costeño utilizando leche de vaca de dos regiones diferentes” afirma:

Los microorganismos predominantes causantes de la fermentación durante la elaboración del suero costeño utilizando las muestras de leche cruda de las dos regiones. Llegando a la siguiente conclusión: Se lograron identificar tres tipos de levaduras en ambos fermentos utilizando el método API 20 AUX, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* y *Cryptococcus laurenti*.

Según Pazmiño, Escudero y Grijalva, (2014) en su trabajo de investigación “Diversidad microbiana asociada a la chicha de arroz: una bebida tradicional de Bolívar –Ecuador”.

La misma que en una de las conclusiones afirma que: En cuanto a los valores de los recuentos de enterobacterias, bacterias lácticas mohos y levaduras presentes en las chichas son similares entre productores; las poblaciones microbianas presentes en la “chicha de arroz” cambiaron según la etapa fermentativa en la que esta se encontraba. También se ha determinado que en la bebida tradicional “chicha de arroz” se encuentran cepas representativas de enterobacterias, mohos, bacterias ácido lácticas y levaduras, El aislamiento de cepas con propiedades metabólicas adecuadas para la formulación de cultivos iniciadores en un proceso de fermentación controlado, se convierten en una alternativa viable para el desarrollo de un producto inocuo, de alta calidad que pueda cumplir con los estándares más exigentes.

Parreño, (2016) en su investigación titulada “Caracterización físico-química y microbiológica de las principales bebidas fermentadas tradicionales de la provincia de Chimborazo” indica en sus conclusiones:

Que las principales bebidas fermentadas de la provincia de Chimborazo se definieron una vez realizada la investigación de campo. Estas bebidas fueron la Chicha de Jora, la Chicha Huevona y el Delicioso de frutas, ya que son las más representativas de la provincia debido a su preparación y consumo en fiestas y celebraciones tradicionales. Y que las bebidas chichas de Jora y chicha Huevona presentaron recuentos microbiológicos moderadamente

altos con respecto a las normas establecidas, considerándolas no aptas para el consumo humano, debido a que éstas presentan microorganismos que pueden causar infecciones graves.

Como indica López, (2015) mediante su investigación titulada “Caracterización físico - química y microbiológica de las bebidas fermentadas de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas” en la cual se plantean como objetivos, determinar las principales bebidas fermentadas que se producen en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas y determinar las características microbiológicas de las principales bebidas fermentadas de la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, llegando a obtener los resultados que una vez realizada la investigación de campo se determinó que las bebidas fermentadas tradicionales más representativas de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas son: la chicha de yuca, la chicha de plátano maduro, la chicha de maíz, ya que son las más conocidas; su preparación y consumo es muy común y habitual en fiestas y celebraciones. En la evaluación microbiológica realizada (recuento en placa en medios selectivos), la bebida que presentó mayor carga microbiana en la mayoría de los análisis fue la chicha de yuca, posiblemente por la forma de elaboración de la bebida y por la materia prima empleada (se utiliza la yuca cocinada y majada, pero se le añade azúcar con agua no purificada).

10.2. Fundamentación teórica

10.2.1. La yuca (*Manihot esculenta*)

La yuca, *Manihot esculenta* Crantz, es un cultivo resistente a la sequía, tolerable a suelos pobres, relativamente es fácil de cultivar y tiene altos rendimientos de producción. Además, “este producto ayudaría a proteger la seguridad alimentaria y energética de los países pobres, aquellos que son amenazados en la actualidad por los crecientes precios de los alimentos y el petróleo”, afirmó la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (FAO, 2007).

a. Origen de la yuca

Para Elizalde y Pazmiño, (2015) de acuerdo a (Caetano, y otros, 2015):

La yuca representa una de las principales plantas útiles tropicales difundidas en todos los continentes. Existen diversas opiniones acerca del origen de esta especie; entre ellas están África, Asia, Islas del Pacífico, América Central, México, Brasil y la Región Amazónica. Sin embargo, la mayoría de botánicos y ecólogos consideran la yuca como originaria del Nordeste de Brasil; en esta zona ha sido cultivada desde hace aproximadamente 5000 años. En el Perú, estudios arqueológicos indican que la yuca fue cultivada hace 4000 años por civilizaciones preincaicas. Las evidencias arqueológicas del cultivo de la yuca se basan en la presentación de cerámicas y pedazos de piedra que posiblemente eran utilizadas como ralladores en el beneficio de la yuca por los mismos nativos.

En cada área de cultivo se encuentra un importante número de especies silvestres, las cuales pudieron hibridarse con las variedades cultivadas en cada región, con lo cual la domesticación de la yuca debió ocurrir simultáneamente en varios lugares.

La yuca como cultivo tiene una tradición remota, los indígenas la utilizaron antes de la conquista de América, la consumían como raíces frescas y procesadas para hacer harina, casabe, chicha de yuca y luego del cuarto día de fermentación, como bebida alcohólica, especialmente de los Jíbaros o shuaras del Ecuador (Moltaldo, 1985).

Hasta hace pocos años este cultivo estuvo marginado de la investigación; sin embargo, su reconocida importancia tanto en alimentación humana y animal como en procesos industriales (almidones y alcohol) ha generado la necesidad de implementar estrategias de estudio e investigación que han permitido incrementar los rendimientos de manera considerable, mejorar las técnicas de cultivo, ampliación de su uso aumentando su beneficio social (Caetano, y otros, 2015).

b. Generalidades

El término “yuca” (manioc en los países de habla francófona) se suele aplicar en Europa y los Estados Unidos de América para designar las raíces de planta de yuca. El término “tapioca” está derivado de tapioca, nombre que dan los indios tupis a la harina de yuca que se deposita en el líquido exprimido de los tubérculos rallados y convertidos en bolitas, llamados después tapiocet (Ceballos & De la Cruz, 2002)

De acuerdo a Valdez, (2018)

Debido a que tiene igual rendimiento y apenas es afectada por plagas y enfermedades, las zonas dedicadas a su cultivo están aumentando constantemente. La planta de yuca se cultiva por sus tubérculos comestibles, que sirven como alimento básico en muchos países tropicales, y también es la fuente de un almidón valioso. Su utilidad para paliar las épocas de escasez graves ha sido reconocida desde hace tiempo. En regiones del Lejano Oriente, durante la Segunda Guerra Mundial, mucha gente pudo sobrevivir a base de raíces de yuca; y en África, sirvió como fuente alimenticia principal para los trabajadores ocupados en las minas y en los centros industriales.

Actualmente se está cultivando ampliamente como planta alimenticia o para fines industriales. En muchas regiones de los trópicos, la yuca ocupa el mismo lugar que las patatas en algunas partes de las zonas templadas, por ser el principal carbohidrato de la dieta alimenticia. Cada año aumenta más la utilización industrial de las raíces de yuca.

Tabla 2

Clasificación botánica de la yuca

REINO	Vegetal
SUBREINO	Embryobionta (Plantas con embrión)
PHYLLUM	Spermatophyta (Plantas con semilla)
SUBPHYLLUM	Angiospermae (Angion: recipiente, Spermae: semilla)
TIPO	Dicotyledoneae
ORDEN	Euphorbiales
FAMILIA	Euphorbiaceae
GENERO	Manihot

Fuente: (Ceballos & De la Cruz, 2002)

c. Composición de la yuca

Un corte de raíz de yuca muestra las siguientes partes de acuerdo a (Moltaldo, 1985):

- El periderma o película suberosa de color oscuro, desprende fácilmente y que representa del 1 al 2 % de la raíz total.
- La cáscara o corteza. forma del 12 al 20 % de la raíz.
- El cilindro central o pulpa: Compuesto de líber (floema) y del tejido leñoso (xilema). Este último tiene dos clases de elementos: los vasos leñosos y las células parenquimáticas llenas de almidón. Forma del 78 al 85 % de la raíz.

d. Valor nutricional

La yuca es muy rica en hidratos de carbono complejos, pobre en proteínas, grasas, y muy buena fuente de vitaminas B y C, además de magnesio, potasio y calcio. A continuación, se describe la tabla nutricional de la yuca.

Tabla 3

Valor Nutricional (por 100g de porción comestible de la yuca)

COMPONENTES	CANTIDAD
Calorías	120 cal
Proteínas	3,1 g
Grasas	0,4 g
Hidratos de carbono	26,9 g
Magnesio	66 g
Potasio	764 mg
Vitamina B6	0,3 mg
Vitamina C	48,2 mg
Almidón	19%

Fuente: (Moltaldo, 1985)

e. Producción nacional de yuca en Ecuador

Como indica Muñoz, Hinojosa y Mendoza, (2017)

A nivel nacional se expresa en toneladas métricas de yuca en raíz fresca consumidas en el Ecuador. A continuación, se destaca la producción de yuca anual.

Tabla 4

Producción nacional de yuca en Ecuador

AÑO	PRODUCCIÓN	AÑO	PRODUCCIÓN
1990	134.245	1995	75.683
1991	90.279	1996	73.790
1992	76.285	1997*	138.172
1993	76.337	2000**	84.971
1994	77.490		

Fuente: Muñoz, Hinojosa y Mendoza, (2017)

10.2.2. Fermentación

La fermentación desde el punto de vista microbiológico es un proceso llevado a cabo por enzimas producidas por microorganismos en presencia o ausencia de oxígeno, en el cual se produce metabolitos o biomasa con el uso de materia orgánica, resultando así bebidas alcohólicas o productos lácteos ácidos. La fermentación microbiana es empleada con frecuencia para la conservación de los alimentos. (Koolman & Rohm, 2004).

Vázquez y Dacosta, (2007) explica en su investigación:

La fermentación agrega valor a los alimentos mediante la producción de compuestos de sabor, alternando la textura, aumentando de biodisponibilidad de nutrientes, preservando las características de vegetales y frutas, destruyendo toxinas que se producen naturalmente en las materias primas y enriqueciendo productos con metabolitos microbianos deseados.

La fermentación desde el punto de vista bioquímico, es un proceso en el cual las sustancias orgánicas sufren transformaciones, entre estas: reducciones y oxidaciones, que dan como resultado una acumulación de productos, con un balance

positivo de energía, la misma que es usada en el metabolismo de microorganismos para dichas reacciones.

Existen varios tipos de fermentación que se diferencian por los productos finales obtenidos y que se forman a partir del piruvato, los tipos más comunes de fermentación son: la fermentación alcohólica que da como producto final el etanol; fermentación láctica que da como producto final el ácido láctico; fermentación propiónica que da origen al ácido propiónico y ácido acético; fermentación fórmica que origina el ácido fórmico, láctico, butanodiol y por último la fermentación butírica que obtiene como producto final el ácido butírico, butanol, acetona, isopropanol (Rodríguez, Boucourt, Elias, & Madera, 2001)

a. Fermentación Alcohólica

Para (Vicent, Álvarez, & Zaragoza , 2006) afirma (Espinosa, 2013) explica:

La fermentación alcohólica llamada también fermentación del etanol o fermentación etílica, es un proceso en el que se transforma el mosto o zumo azucarado de fruta en un líquido con un determinado contenido de alcohol etílico. La fermentación alcohólica se debe a un complejo de enzimas llamado zimasa; el proceso de fermentación es una reacción exotérmica que dura aproximadamente una semana a una temperatura de 20°C, donde se obtiene una acidez neutra y un pH de 7, en este proceso se libera moléculas energéticas (ATP) que es la energía puesta a disposición para las levaduras.

La Fermentación Alcohólica es un proceso biológico en ausencia o presencia de oxígeno, causado por la actividad de algunos microorganismos que procesan hidratos de carbono como la glucosa, fructosa, sacarosa, almidón y otros, para obtener productos finales como el alcohol en forma de etanol (CH₃-CH₂-OH), dióxido de carbono (CO₂) en forma de gas y moléculas de ATP (trifosfato de adenosina) que juegan un papel de intermediario en la acumulación de energía, pues para su formación se requiere relativamente poca energía.

10.2.3. Microorganismos fermentadores

a. Levaduras

Las levaduras son microorganismos que se encuentran en las frutas, flores, exudados de plantas; estos microorganismos fermentan los azúcares produciendo CO₂ y etanol. Las levaduras son muy importantes en la industria de los vinos, cervezas, wiski, pan; por lo general las cepas más utilizadas son las de *Saccharomyces cerevisiae* y otras que se relacionan con ella (Ingraham & Ingraham, 1998).

- **Características**

(Espinosa, 2013) Indica que:

Las levaduras son hongos unicelulares, están agrupados en 350 especies, clasificadas en 39 géneros. Las levaduras son bastante heterogéneas en su morfología y fisiología. Poseen un color blancuzco, aunque hay algunas que son de color amarillo, rojo o negro, de aspecto cremoso. Las condiciones ambientales influyen para que algunos hongos crezcan como filamentos o como levaduras, este fenómeno es conocido como dimorfismo y puede presentarse en algunos hongos patógenos.

- **Morfología**

Las levaduras son grandes comparadas con una bacteria común, posee un tamaño aproximado de 10 - 20 μm de diámetro, aunque la mayoría puede estar entre 3 y 8 μm 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. Otras especies forman breves extensiones de verdadero micelio la mayor parte de veces ramificado. (Pascual & Calderón, 2000)

b. Mohos

Para (Ingraham & Ingraham, 1998) confirmado por (Koolman & Rohm, 2004) los mohos son organismos eucariotas que se encuentran en todas partes, en el suelo, agua, alimentos, plantas, etc., y son transportados por el aire, materiales, envases, animales, seres humanos. La mayoría de las industrias alimenticias poseen las condiciones ambientales y las materias orgánicas necesarias para su desarrollo por lo que constituyen un problema. Los mohos son hongos multicelulares que carecen de clorofila y forman estructuras ramificadas extensas denominan hifas, por lo tanto, el conjunto de hifas se llama micelio los que al crecer sobre un alimento se hace visible

- **Características**

Los mohos pueden crecer en ambientes que se consideran hostiles para las bacterias, ya que estos son quimio heterótrofos es decir que absorben los nutrientes en lugar de ingerirlos. Los mohos pueden crecer a una temperatura entre 22 - 30 °C, un pH de 5, casi la mayoría de estos son aerobios, resistentes a la presión osmótica ya que pueden desarrollarse en concentraciones elevadas de azúcares, sales o sustancias de baja humedad y requieren algo de nitrógeno para crecer (Parreño Carrera, 2016)

- **Morfología**

Las hifas crecen alargándose desde sus extremos y cada parte de esta puede crecer cuando se desprende un fragmento, este puede alargarse para formar una nueva hifa. La porción de una hifa que obtiene nutrientes se denomina hifa vegetativa, la porción que participa en la reproducción es la hifa reproductiva o aérea que es la que produce esporas reproductivas. Cuando las condiciones ambientales son adecuadas las hifas crecen hasta formar una masa filamentosa llamada micelio que puede ser observada a simple vista (Toro, 2013).

c. Bacterias Acido Lácticas

De acuerdo con (Pascual & Calderón, 2000) confirmado por (Ingraham & Ingraham, 1998) indica que:

Las bacterias lácticas o también bacterias ácido lácticas son microorganismos que se encuentran presentes en las plantas, crecen a expensas de los nutrientes liberados en la descomposición de vegetales, también están presentes en las vendimias y en los vinos pudiendo desarrollarse o no según las condiciones del medio. Son bacterias que generalmente se encuentran en plantas y productos lácteos en descomposición produciendo ácido láctico como producto de la fermentación de carbohidratos. Las bacterias ácido lácticas son inocuas para los humanos, además sus productos metabólicos son agradables, por lo que poseen propiedades de conservación para los alimentos de consumo diario y materias primas en la industria alimenticia.

- **Características**

Son organismos que no forman esporas, son inmóviles. Este tipo de bacterias abarcan tanto cocos como bacilos. Las bacterias lácticas son Gram positivas, ácido tolerante, su pH está en el rango de 4,8 - 9,6 por lo que pueden sobrevivir en medios donde otras bacterias no soportarían la actividad producida por los ácidos orgánicos. Los medios de cultivo para bacterias lácticas típicamente incluyen fuentes de carbohidratos celulares.

- **Morfología**

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), etc., 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) (Parés & Juarés, 1997).

10.2.4. Bebidas fermentadas

Para (García, Quintero Ramírez, López Munguía, & Canales, 2004)

Las bebidas fermentadas son líquidos cuyo proceso involucra el crecimiento de microorganismos; existe una gran diversidad de bebidas en el mundo, como el vino, la sidra, la cerveza, entre otros. Ciertos productos han sido estudiados detalladamente de tal manera que se ha llegado a aislar los microorganismos presentes como sustratos fermentadores para luego utilizarlos en la producción industrial.

Estas bebidas son parte de la dieta y tradición de muchos grupos étnicos, su consumo en estas poblaciones es generalizado y se ha sostenido a lo largo del tiempo. Estas bebidas fermentadas se producen de forma sencilla y barata; la materia prima para la elaboración de los productos fermentados se encuentra disponible todo el año. Además, este proceso es un método de conservación para los productos, destruyendo microorganismos no favorables y subiendo el valor nutricional.

La forma artesanal de producción en muchas ocasiones no se la realiza bajo condiciones higiénicas y se obtienen productos con calidad variable; el estudio de estas fermentaciones permite mejorar y estandarizar su proceso de elaboración.

10.2.5. Bebidas fermentadas no destiladas

Este tipo de bebidas no destiladas tienen un proceso natural mediante el cual un fruto o grano (uva, manzana, cebada) se transforma en bebida alcohólica, este proceso requiere condiciones físico-químicas determinadas, en presencia de bacterias y levaduras, las que transforman el azúcar de la fruta en alcohol etílico o etanol. Su contenido de alcohol es más bajo que otras bebidas máximo 20° GL, en este grupo están: el vino, la cerveza y la sidra (Villalobos Berruecos, 2007).

Las bebidas de denominación tienen como origen las culturas indígenas. Son producidas en determinada región con materia prima propia del lugar y normas de proceso preestablecidas como la cerveza (sustrato cebada), tesguiño (sustrato maíz), sake (sustrato arroz) y la cerveza africana (sustrato sorgo), entre otras (Paéz, 2010)

10.2.6. Bebidas fermentadas destiladas

Son aquellas bebidas que se obtienen a partir del proceso de destilación del sustrato fermentado. Este proceso es la operación de separar, mediante calor, los diferentes componentes líquidos de una mezcla, aprovechando los compuestos volátiles separados (Paéz, 2010). Estas bebidas se clasifican en aguardientes y licores; los aguardientes se obtienen mediante la destilación de las fermentaciones del vino, malta, caña, entre otros. Su grado alcohólico está por los 40°.

Los licores y otras bebidas son bebidas hidroalcohólicas aromatizadas que se obtienen por la destilación y deben añadir edulcorantes como azúcar, glucosa, miel o mosto de uva; el grado alcohólico aproximadamente es mayor a 30° (FAO, 2007).

10.2.7. Bebidas fermentadas ecuatorianas

(Cock, 1989) indica que:

El Ecuador es un país pluricultural y multiétnico. Se conocen en el país una gran variedad de bebidas fermentadas producidas de forma artesanal y que se consumen generalmente en fiestas populares. En la Tabla 2 se detallan las bebidas fermentadas más comunes en el país de acuerdo a la provincia en la que se producen; se destacan los aguardientes y las chichas.

Tabla 5

Principales bebidas fermentadas en el Ecuador

N°	PROVINCIA	BEBIDA FERMENTADA
1	Pichincha	Chicha de jora
2		Guarapo
3		Chicha de avena
4	Chimborazo	Champús
5		Chicha huevona
6		Chicha de maní
7		Chicha de piña
8		Chicha de ciruelas
9		Chicha de higo
10		Chicha de morocho
11		Chicha de quinua
12		Chicha morada
13	Azuay	Vino de manzana
14		Draquecito

15		Vino hervido
16	Amazonia	Chicha de chontaduro
17		Chicha de yuca masticada
18		Ayahuasca
19	Loja	Guarapo
20	Carchi	Chicha de arroz
21	Tungurahua	Aguardiente
22		Masato (plátano, guayaba y caña)
23	Bolívar	Pájaro azul
24	Guayas	Puntas – alcohol puro de caña

Fuente: (Cock, 1989)

La Chicha es el nombre que reciben diversas variedades de bebidas alcohólicas derivadas principalmente de la fermentación no destilada de los cereales.

La chicha ecuatoriana se la hace a partir de la fermentación del maíz, yuca, quinua, arroz, cebada o harina acompañados de panela o azúcar común.

10.2.8. Chicha de yuca

Conocida por los indígenas como Casire o chicha de yuca. El proceso de elaboración de esta bebida es cocinar la yuca, luego la mastican y escupen para después dejarla fermentar, obteniendo un líquido amarillo listo para ser bebido (Elizalde Cox & Pazmiño García, 2015).

a. Elaboración de la chicha de yuca

El proceso de elaboración de la tradicional chicha de yuca o mandioca se lo indica en la Figura 1, inicia cuando se elimina la corteza para cocinarla, colocando el producto ya cocinado en bateas de madera y aplastarla con el tacanamuco (palo de madera), después se la deja enfriar. El semilíquido se fermenta de 4 a 5 días. En Ecuador existe el masato que es elaborado a base de yuca masticada o triturada (Londoño, 1996)

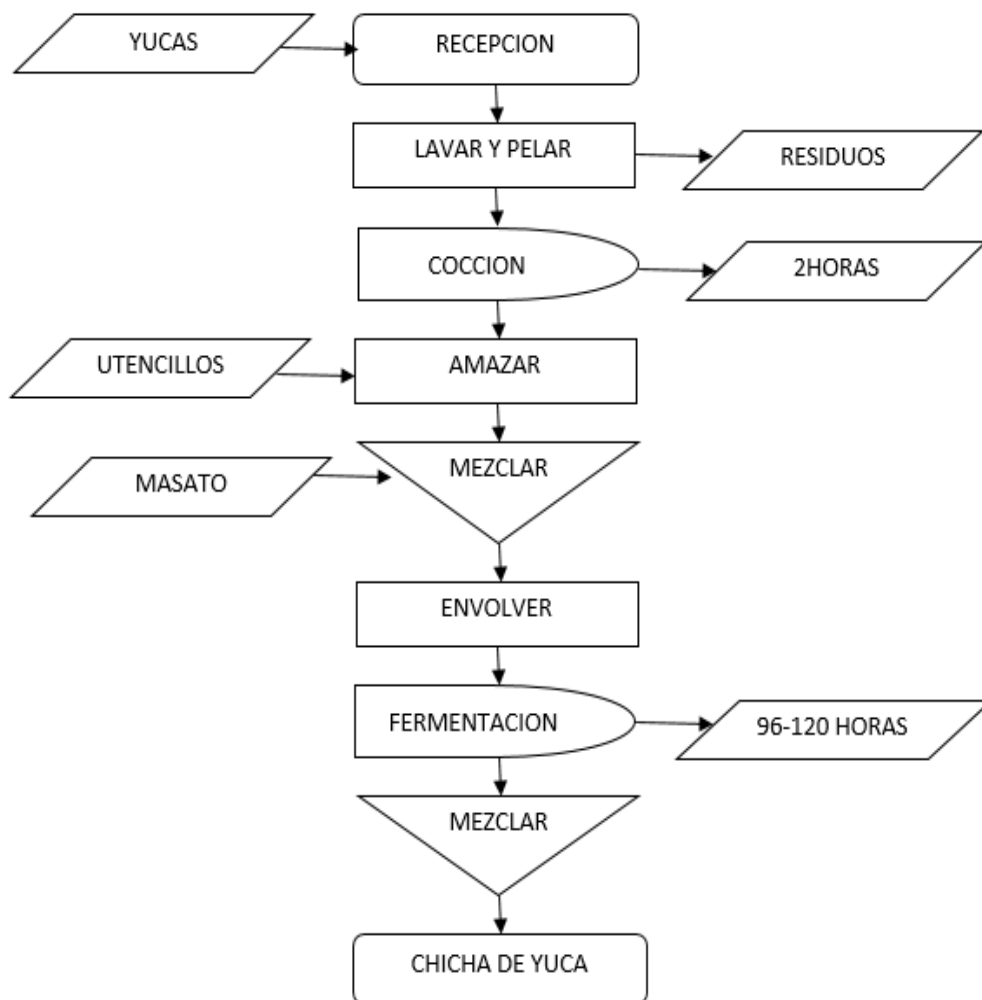


Figura 1. Proceso de elaboración de la chicha de yuca

10.2.9. Técnicas microbiológicas para identificación de cepas microbianas

a. Cultivo

- Medios de cultivo

Para Barrow, Feltham y Cowan, (1993) explican que:

En los medios de cultivo las bacterias se multiplican y es necesario esperar al menos 18-24 horas para visualizarlas. En términos generales todas las bacterias tienen unos requerimientos nutricionales imprescindibles para su crecimiento. Necesitan una

fuerza de energía, una fuerza de carbono, una fuerza de nitrógeno, algunas sales, oligoelementos y agua. Todos los medios de cultivo han de cumplir como mínimo con estos requisitos, pero en muchas ocasiones se necesitan además otras sustancias adicionales como vitaminas, factores o aminoácidos esenciales.

Se utilizan medios de cultivo líquidos y sólidos. En los medios líquidos las sustancias nutritivas se encuentran disueltas. Los medios sólidos suelen consistir en una base de agar, polímeros de origen vegetal que se mantiene en fase líquida a altas temperaturas y que forma un gel al enfriarse, que mantiene una alta humedad y contiene los elementos nutricionales necesarios. El cultivo sobre medios sólidos permite disponer fácilmente de las colonias bacterianas. Por otro lado, en medios líquidos, el crecimiento suele ser mayor porque la disponibilidad de nutrientes también es mayor. El uso de uno u otro tipo de medios depende del tipo de muestra y del microorganismo que se busca. Según su capacidad para permitir el crecimiento microbiano se clasifican en medios básicos o generales, de enriquecimiento, selectivos y diferenciales. También deben mencionarse los medios cromogénicos.

- **Medios básicos**

Son medios ricos en nutrientes que permiten el crecimiento de la gran mayoría de las bacterias. Se utilizan en la siembra primaria de las muestras clínicas. Uno de los medios más utilizados en los laboratorios es el agar sangre.

- **Medios de enriquecimiento**

Están desarrollados para recuperar bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales. Se utilizan para bacterias que no crecen en medios básicos.

- **Medios selectivos**

Contienen sustancias como cloruro sódico a dosis elevadas, citrato sódico, cristal violeta, sales biliares o antibióticos y antisépticos que fomentan el crecimiento de algunas bacterias y evitan el de otras. Son de gran utilidad para el aislamiento bacteriano a partir de una población bacteriana mixta. (Prats, 2006)

- **Medios diferenciales**

Se utilizan para poner de manifiesto características distintivas de las colonias. Son medios que distinguen entre distintos grupos bacterianos en función casi siempre del color de sus colonias. Por ejemplo, el agar MacConkey es un medio sólido que permite el crecimiento de bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores de lactosa. Los primeros adoptan una coloración rosada que la diferencia de los segundos. Los medios diferenciales, además,

pueden poner de manifiesto mezclas y contaminaciones en los cultivos. (Barrow, Feltham, & Cowan, 1993)

- **Medios cromogénicos**

En estos se incorporan sustancias cromogénicas para detectar distintas enzimas producidas por los microorganismos. Cuando la bacteria produce el enzima, hidroliza el sustrato y se libera un compuesto cromogénico que adquiere un color intenso, dando color a la colonia. Estos enzimas pueden ser específicas de un género, una especie o de un grupo reducido de especies. En algunos casos la identificación presuntiva de las bacterias aisladas tiene una especificidad tan elevada que, en la práctica podría hacer innecesaria la realización de pruebas confirmatorias.

En la actualidad la mayoría de los medios pueden adquirirse comercialmente de forma deshidratada o como placas y tubos con los medios ya preparados. (MacFaddin, 2000)

- **b. Caracterización**

Isenberg, (2004) indica en su libro:

- **Caracterización microscópica**

El estudio microscópico en fresco y tras tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño. Las tinciones son el primer paso, y ocasionalmente el único, para la identificación bacteriana. Las tinciones más utilizadas e imprescindibles son la del azul de metileno o simple y la de Gram. La tinción de Gram es, a menudo, la primera y única herramienta que sirve para hacer un diagnóstico provisional en el proceso de identificación de la mayoría de las bacterias teniendo en cuenta también el tipo de muestra.

Estos son algunos de los términos utilizados para preparaciones teñidas:

- Tinción: uniforme, irregular, unipolar, bipolar, etc.
- Forma: cocos, bacilos, cocobacilos, filamentosos, bacilos curvos, etc.
- Cápsula: presente o ausente
- Endosporas: ovals, esféricas, terminales, subterminales
- Tamaño: cortos, largos, etc.
- Bordes laterales: abultados, paralelos, cóncavos, irregulares extremos: redondeados, puntiagudos
- Disposición: parejas, cadenas, tétradas, racimos, etc.

- Formas irregulares: variación en forma y tamaño, ramificados, fusiformes, etc.
- **Caracterización morfológica**

La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y para la diferenciación de los microorganismos. Para la observación o caracterización morfológica es preferible examinar colonias de cultivos frescos crecidas en medios no selectivos. Es muy importante el aislamiento de las bacterias en cultivo puro ya que esta debería estar compuesta por un solo tipo de microorganismos y procedería de una única célula. Las colonias de una única especie, cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones idóneas se describen por sus características de tamaño, forma, consistencia, y a veces por su color. (Isenberg, 2004)

10.2.10. Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de identificación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48h; a este grupo pertenecen la mayoría de las pruebas que detectan componentes metabólicos o aquellas que determinan la sensibilidad de un microorganismo a una sustancia dada tras cultivo en medios de identificación que contienen el sustrato a metabolizar. No obstante, algunas de estas pruebas pueden realizarse de forma rápida tras incubación de unas 2-6h; en general, se trata de reacciones enzimáticas cromogénicas o pruebas convencionales modificadas. Entre ellas están las pruebas ONPG, Aminopeptidasa, LAP, Ureasa, Indol, etc.

Existen en el mercado numerosos sistemas o equipos multipruebas con el fin de conseguir una mayor rapidez en la identificación de algunas bacterias. Todas exigen unas condiciones precisas en cuanto al inóculo, modo de inoculación, incubación y lectura que, de no seguirse, pueden dar lugar a errores. Estos sistemas pueden ser manuales o estar automatizados.

Se trata de celdillas aisladas con un sustrato liofilizado que se inoculan individualmente y que permiten realizar simultáneamente entre 10 y 50 pruebas bioquímicas. Los resultados de las pruebas se expresan de forma. Cada especie está definida por un código numérico, resultado de la codificación de las reacciones a las pruebas que se hubieran utilizado. Para codificar el dígito de un trío de pruebas se establece el siguiente sistema:

- Si una prueba es negativa se asigna un valor 0 (cero) a la prueba.
- Si la primera prueba es positiva se asigna un valor de 1. - Si la segunda prueba es positiva se asigna un valor de 2.
- Si la tercera prueba es positiva se asigna un valor de 4.

El código numérico se obtiene sumando los valores de las tres pruebas. Los límites inferior y superior del código son 0 y 7 respectivamente. Ante un microorganismo problema, se busca el código numérico y se comprueba a qué bacteria pertenece. Algunos de los sistemas comerciales disponibles en el mercado son: API (bioMÈrieux), Enterotube (BBL), Oxi/Ferm Tube (BD), Biochemical ID systems (Microgen), etc. (Murray, Baron, Jorgensen, Pfaller, & Tenover, 2003)

10.2.11. El API 50 CHL

Esta galería está destinada a la identificación del género *Lactobacillus* y microorganismo cercano al mismo, nos permite realizar el estudio de 49 azúcares. (MacFaddin, 2000)

10.3. Marco conceptual

- **Aislamiento:** Es la calidad que posee un elemento, vivo o no, que se encuentra separado y sin contacto con otros. El aislamiento puede ser natural o provocado.
- **Alcohol:** Compuesto de carbono, hidrógeno y oxígeno que deriva de los hidrocarburos y lleva en su molécula uno o varios hidroxilos (OH).
- **Ancestrales:** Se utiliza para referirse a un grupo de antepasados relacionados a un ascendiente directo como puede ser una familia, o etnia del cual desciende un grupo o un individuo.
- **Artesanal:** Que está hecho a mano y siguiendo las técnicas tradicionales.
- **Bacterias ácido lácticas:** Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos que tienen diversas aplicaciones, siendo una de las principales la fermentación de alimentos como la leche, carne y vegetales; utilizadas principalmente en la industria del vino.
- **Bioteología:** Uso de células vivas para la producción y la optimización de medicamentos, alimentos y otros productos de utilidad para el ser humano.
- **Casabe:** Torta elaborada con harina de la raíz de la yuca.

- **Chicha:** Nombre que reciben diversas variedades de bebidas 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 cereales y frutas.
- **Destilación:** Proceso por el que la sustancia volátil de una mezcla se separa de otra que no lo es mediante evaporación y posterior condensación de la misma.
- **Dilución:** Acción de diluir o diluirse un cuerpo o una sustancia.
- **Enzimas:** Es una molécula que se encuentra conformada principalmente por proteína que producen las células vivas, siendo su función destacada la de actuar como catalizador y regulador en los procesos químicos del organismo, es decir, cataliza las reacciones bioquímicas del metabolismo.
- **Estandarizar:** Ajustar a alguien o algo a un estándar o patrón determinado.
- **Etnia:** Conjunto de personas que pertenece a una misma raza y, generalmente, a una misma comunidad lingüística y cultural.
- **Fermentación:** El término está asociado al verbo fermentar que, según el contexto, puede tratarse de un procedimiento del metabolismo para lograr la degradación de una sustancia, o de la acción de perturbarse o conmoverse.
- **Homogenizar:** Transformar en homogénea una cosa compuesta de elementos diversos o hacer que cosas diversas tengan características homogéneas.
- **Indígena:** Término que, en un sentido amplio, se aplica a todo aquello que es relativo a una población originaria del territorio que habita, cuyo establecimiento en el mismo precede al de otros pueblos o cuya presencia es lo suficientemente prolongada y estable como para tenerla por oriunda.
- **Levadura:** Hongo unicelular que produce enzimas capaces de provocar la fermentación alcohólica de los hidratos de carbono.
- **Microorganismo:** Organismo microscópico animal o vegetal.
- **Moho:** Camisa vellosa o filamentosa producido por diversos tipos de hongos sobre materia orgánica, que provoca su descomposición; forma una capa de color negro, azul, verde o blanco.
- **Nativos:** Que ha nacido en el lugar en que vive o en que se especifica; se utiliza a menudo para referirse a los miembros de comunidades consideradas exóticas o primitivas.
- **Pilche:** Vasija hecha de madera o de la corteza seca de un fruto.

- **Pluricultural:** Refieren a aquello que se caracteriza por albergar o reflejar varias culturas.
- **Proveedores:** Los proveedores son aquellas empresas que abastecen a otras con bienes o servicios necesarios para el correcto funcionamiento del negocio. La palabra proveedor deriva del verbo proveer que significa suministrar, abastecer, entregar.
- **Recuento:** Acción de recotar.
- **Remota:** Que está muy lejos o muy apartado en el tiempo o el espacio.
- **Tesguino:** Bebida alcohólica de maíz fermentado, propia de los tarahumaras.
- **Tradición:** Costumbre, composición literaria, doctrina, etc., que se comunica, se transmite o se mantiene de generación en generación.
- **Yuca:** Planta de América tropical que puede alcanzar hasta 10 m de altura, de tallo leñoso muy ramificado, corteza hendida de color marrón rojizo, hojas verdes, largas, finas, rígidas y punzantes, agrupadas en la base del tronco o de las ramas, flores blancas y acampanadas, que nacen en grandes espigas terminales, fruto en baya colgante, carnosos y amarillo; la raíz es un tubérculo comestible.

11. PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

- **¿Cómo garantizamos el aislamiento de los microorganismos causantes de la fermentación en bebidas ancestrales?**

Podemos garantizar el aislamiento de los microorganismos fermentadores mediante la utilización correcta de protocolos de muestreo, de técnicas siembra y estriado, para luego realizar una purificación apropiada de los microorganismos de interés.

- **¿Por qué realizamos la caracterización e identificación de estos microorganismos causantes de la fermentación?**

Con el aislamiento, la caracterización e identificación de estos microorganismos se pretende conocer los tipos de microorganismos que ayudan a fermentar la chicha de yuca, conservando sus características organolépticas originales para una posterior investigación e industrialización con correctos procesos de elaboración de la misma bebida.

12. METODOLOGÍAS

12.1. Tipos de investigación

- **Investigación estratégica**

Tiene como objetivo entender los procesos relevantes para los sectores productivos, de modo que su comportamiento pueda ser predicho bajo variedad de condiciones y subsecuentemente manipulados para crear o mejorar las tecnologías. El propósito es desarrollar conceptos que tengan un potencial de aplicación amplio para resolver problemas importantes para el desarrollo sostenible.

- **Investigación básica**

Tiene como objetivo mejorar de conocimientos, más que generar resultados o tecnologías que beneficien a la sociedad en el futuro inmediato. Este tipo de investigación es esencial para el beneficio económico a largo plazo, pero, como se mencionó antes, no es normalmente aplicable directamente al uso tecnológico.

- **Investigación descriptiva**

Tiene como objetivo 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. Este tipo de investigación será utilizada para aislar e identificar microorganismos fermentadores de dos tipos de chicha de yuca que se realizan en la región amazónica con el fin de caracterizar a los microorganismos presentes.

12.2. Métodos de la investigación.

- **Método comparativo**

Cuando hablamos de este método sabemos que se utiliza para buscar similitudes y comparaciones que nos ayudan a verificar algunas teorías, siempre tratando de encontrar

coincidencias. Cuando hablamos de este método sabemos que se utiliza para buscar similitudes y comparaciones que nos ayudan a verificar algunas teorías, siempre tratando de encontrar coincidencias. El presente método será utilizado para

- **Método cualitativo**

Este tipo de investigación nos proporciona datos no cuantificables que se basan principalmente en la observación, debemos tener en cuenta que la información que obtenemos con este método de investigación es muy subjetiva, además no nos permite explicar algunos fenómenos de una manera más clara. Aunque los datos no sean del todo precisos, pueden ser utilizados luego para su respectivo análisis y dando en algunos casos una mejor explicación sobre el caso o fenómeno que se esté estudiando. El presente método será utilizado para determinar qué tipo de microorganismos fermentadores es de mayor eficiencia en base al aislamiento e identificación para posteriormente caracterizarlos.

- **Método cuantitativo**

Este método se basa en los estudios o análisis de la realidad haciendo uso de distintos procesos que se basan en la medición. La meta principal del método cuantitativo es el encontrar un conocimiento más amplio de algún caso usando datos detallados, también podemos decir que los resultados que obtenemos con este método se basan en estadísticas, mediciones, teste y otros más, además son considerados resultados generalizados.

12.3. Técnicas de investigación.

- **La entrevista**

Es una técnica de recopilación de información mediante una conversación profesional, con la que además de adquirirse información acerca de lo que se investiga, tiene importancia desde el punto de vista educativo; los resultados a lograr en la misión dependen en gran medida del nivel de comunicación entre el investigador y los participantes en la misma.

- **La encuesta**

Es una técnica de adquisición de información de interés sociológico, mediante un cuestionario previamente elaborado, a través del cual se puede conocer la opinión o valoración del sujeto seleccionado en una muestra sobre un asunto dado.

- **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. Esta técnica será empleada en la investigación al momento de registrar los datos que se obtengan, para poder organizar de una manera eficiente la información.

12.4. Instrumentos de investigación.

- **Cuestionarios**

Consisten en un conjunto de preguntas respecto a una o más variables. Asimismo, se puede indicar, que son los instrumentos de recolección de datos más utilizados. Es de hacer notar, que el contenido de las preguntas que constituyen un cuestionario puede ser variado. Igualmente, es posible acotar, que existen básicamente dos tipos de preguntas: las cerradas (cerradas dicotómicas y cerradas con varias alternativas) y las abiertas.

- **Las fichas**

Las fichas se utilizan para registrar y resumir los datos extraídos de fuentes bibliográficas (como libros, revistas y periódicos) o no bibliográficas. Tradicionalmente las fichas eran tarjetas de forma rectangular de diversos tamaños. Las fichas se utilizan como medios para realizar un trabajo de investigación. Contienen datos de identificación de las obras, conceptos, ideas, resúmenes, síntesis, entre otros. La aplicación de las fichas es para ingresar datos de manera organizada que posteriormente nos ayudaran a obtener resultados eficientes y de manera correcta.

12.5. Muestreo y almacenamiento en frio

El muestreo se realizó posteriormente a la elaboración de los dos tipos de chicha de yuca (negra y wiwis) siguiendo protocolos para evitar una posible contaminación. Se tomaron muestras de las chichas en envases estériles, las cuales fueron empacadas individualmente, luego dentro de un refrigerador se almacenaron a una temperatura de 4°C a 8°C, para que posteriormente manteniendo una cadena de frio las muestras sean transportadas hasta el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi en la ciudad de Latacunga.

12.6. Pre-enriquecimiento

El objetivo de esta etapa es principalmente para que los microorganismos se revitalicen y se recuperen mediante la proporción de nutrientes. En el laboratorio se realizó caldo nutritivo el cual abarca un alto contenido de nutrientes lo cual facilitó su desarrollo. Luego de ello se tomó una muestra representativa (10 ml) de las chichas para colocarlo en un volumen de a 100 ml de caldo. Se incubó a una temperatura de 37 °C por 48 horas.

12.7. Aislamiento

El propósito del aislamiento es tener cepas separadas que tengan características propias. Se utilizó la técnica de estriado con la cual se consiguió cepas aisladas, utilizando agar Sabouraud dextrosa y el agar MRS. Se esterilizó el asa de siembra ondeándola en el mechero hasta que la punta del mismo dio un color rojo, después de que el asa se enfrió se procedió a tomar una porción del caldo nutritivo luego se realiza un estriado por cuadrantes donde se divide la parte inferior de la caja Petri en cuatro partes iguales. Se esteriliza el asa y se estria el 1er cuadrante con el procedimiento básico de S. Se trabaja en el sentido de las manecillas del reloj, estriando cuadrante por cuadrante. La incubación se realizó a una temperatura de 37 °C en un lapso de 18 a 48 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a purificar las cepas transfiriéndolas hacia un cultivo estéril, donde se obtuvo cepas puras.

12.8. Caracterización

Las unidades formadoras de colonias se caracterizaron en función de: color, borde, forma, textura y superficie. Para la caracterización microscópica se realizó una tinción simple y una tinción Gram, en el cual se utilizó un microscopio con el lente de 100X y se procedió a reconocer las características celulares, pudimos registrar las imágenes con la ayuda de una cámara incluida en el microscopio y de un programa de computadora llamado ISCapture.

- **Tinción Gram**

Para la identificación de microorganismos Gram positivos y Gram negativos se aplicó el método de tinción Gram siguiendo la metodología propuesta por (Toro, 2013).

Se tomó una pequeña muestra de microorganismo de la placa Petri con la ayuda de un asa anticipadamente esterilizada, se realizó un frotis con la añadidura de una gota de agua en una porta objetos, se llevó a secado a lado de la llama del mechero y se ondeó 3 veces hasta que

se logró fijar la muestra. A continuación, se puso 1 gota de azul de metileno sobre la fijación y se dejó actuar por 1 minuto, después se enjuagó con agua destilada con la ayuda de una pisseta hasta eliminar excesos; luego se puso 1 gota de lugol, se dejó actuar por 1 minuto y se lavó. Posterior a esto se agregó 2 gotas de alcohol cetona, se lavó y por último se añadió 2 gotas de safranina, se volvió a enjuagar y se llevó al porta objetos al microscopio con 1 gota de aceite de inmersión sobre la muestra para ser observada.

- **Tinción simple**

La tinción simple nos proporciona exclusivamente información acerca de la forma, tamaño y tipo de agrupación de los microorganismos. Sin embargo, tiene la ventaja de ser un método muy sencillo y rápido. Tortora, (2007).

Sobre un portaobjetos colocamos una gota de agua y una pequeña alícuota de un cultivo bacteriano con el asa de siembra estéril, posteriormente se realizó el frotis, formando una película homogénea sobre el portaobjetos con el asa de siembra. Fijamos la preparación, pasando a través de la llama del mechero, luego se cubrió con una película de colorante (azul de metileno) durante 1 minuto, enjuagamos el exceso de colorante con agua y dejamos secar al aire y se llevó al porta objetos al microscopio con 1 gota de aceite de inmersión sobre la muestra para ser observada.

12.9. Identificación

Se realizó la identificación mediante la utilización de las pruebas bioquímicas API 50CHL donde se tomó como referencia que estas pruebas están destinadas a la identificación del género la *Lactobacillus* y microorganismos cercanos, también nos permite realizar el estudio de fermentación de 49 azúcares de la galería API CH.

A los microorganismos ya aislados se realizó un pre-enriquecimiento nutricional para que se revitalicen, con el fin de lograr resultados confiables en la utilización de dichas pruebas. Posteriormente a eso se inocula en cada tubo de la galería para después ser incubada a una temperatura de 37°C donde el catabolismo de los glucolisis produce ácidos orgánicos que hacen el viraje del indicador del pH.

13. RESULTADOS

Se aisló diversos tipos de microorganismos a partir de dos tipos de chicha, donde se obtuvo 19 cepas de la chicha negra y 18 de la wiwis, seleccionamos las cepas de mayor relevancia basándonos en sus características morfológicas de las colonias y de las características microscópicas, siendo 8 cepas procedentes de la chicha negra y 7 de la wiwis.

13.1. Caracterización e identificación (cepas de la chicha negra).

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ya que reacciona a los pasillos de glucosa, maltosa, sucrosa, trehalosa y rafinosa. Complementando; en la figura 2A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema blanca, una textura pastosa, una superficie acuminada, su forma puntiforme, sus bordes redondeados con 1 o 2 mm de diámetro. En la figura 2B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram positiva presentado una forma celular de coco observadas microscópicamente como muestra la figura 2C. Por otra parte

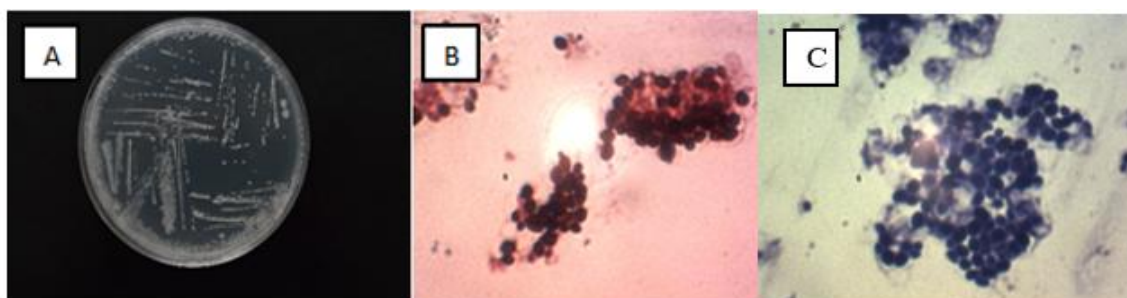


Figura 2. A. Colonia; B, C. Células.

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la levadura *Kluyveromyces marxianus* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, mamnosa, sucrosa, arbutina y xilitol. Complementando; en la figura 3A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema roja, una textura pastosa, una superficie convexa, su forma circular, sus bordes redondeados con 3 a 5 mm de diámetro. En la figura 3B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram negativa presentado una forma celular de coco observadas microscópicamente como muestra la figura 3C.

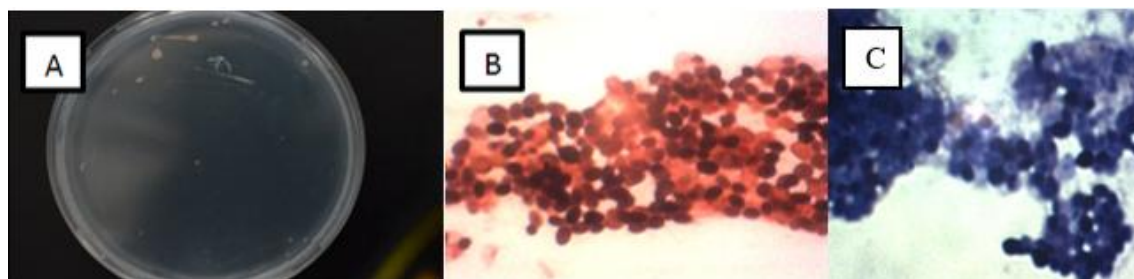


Figura 3. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la levadura *Candida tropicalis* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, sorbosa, sucrosa, adonitol y sacarosa. Complementando; en la figura 4A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie convexa, su forma filamentosa, sus bordes filamentosos con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 4B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram positiva presentado una forma celular de coco observadas microscópicamente como muestra la figura 4C.

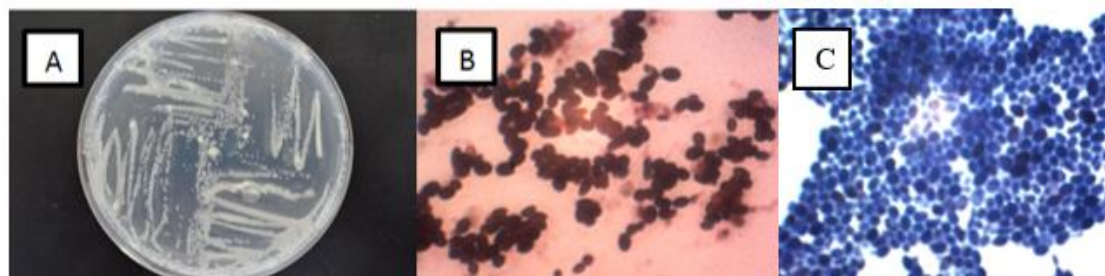


Figura 4. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la levadura *Candida lusitanae* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, sacarosa, inulina, turanosa y tagatosa. Complementando; en la figura 5A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie acuminada, su forma circular, sus bordes redondeados con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 5B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram negativa presentado una forma celular de bacilo observadas microscópicamente como muestra la figura 5C.

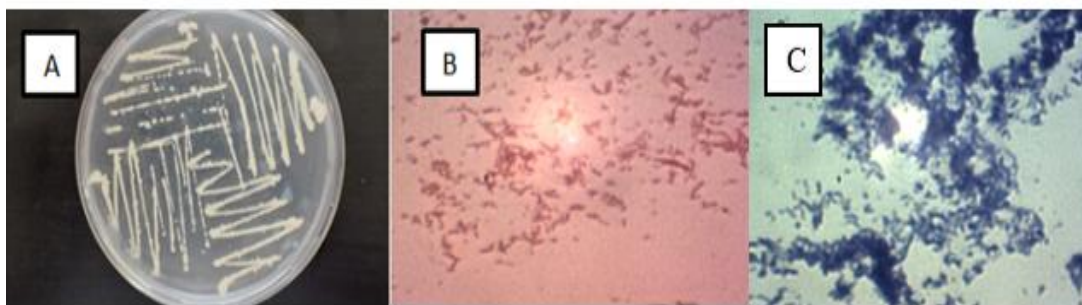


Figura 5. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Lactobacillus casei* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, maltosa, gentiobiosa, salicina y dulcitol. Complementando; en la figura 6A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema blanca, una textura pastosa, una superficie acuminada, su forma circular, sus bordes redondeados con 3 a 4 mm de diámetro. En la figura 6B se muestra una bacteria ácido láctica que presenta características de tinción Gram positiva. En la figura 6C se determina que presenta una forma celular de bacilo observadas microscópicamente como muestra la figura 6C.

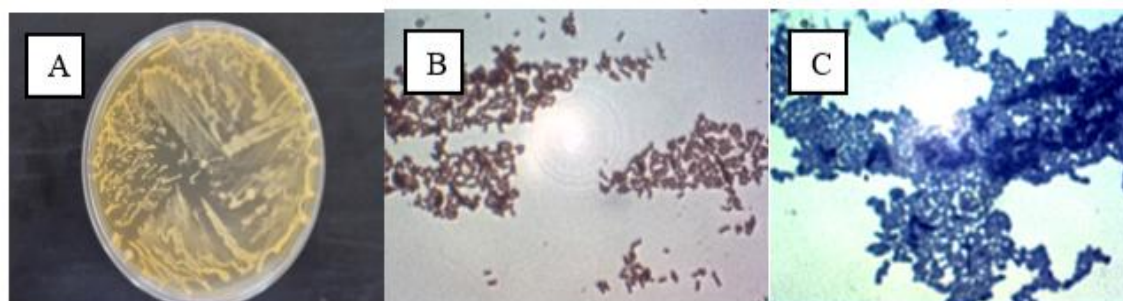


Figura 6. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Leuconostoc oenos* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, trehalosa, melezitosa y sorbitol. Complementando; en la figura 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 negativa. En la figura 7C se determina que presenta una forma celular de bacilo.

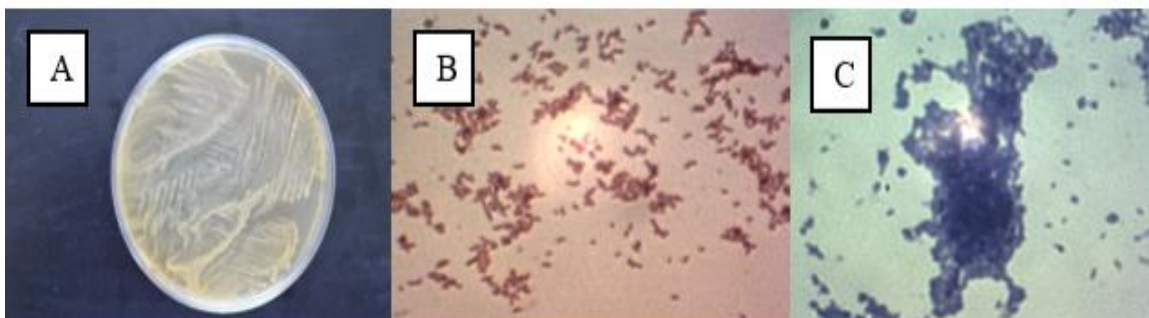


Figura 7. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la levadura *Candida lusitanae* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, sorbosa, gentiobiosa, trehalosa y ucosa. Complementando; en la figura 8A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie convexa, su forma irregular, sus bordes redondeados con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 8B se muestra una bacteria ácido láctica que presenta características de tinción Gram negativa. En la figura 8C se determina que presenta una forma celular de bacilo.

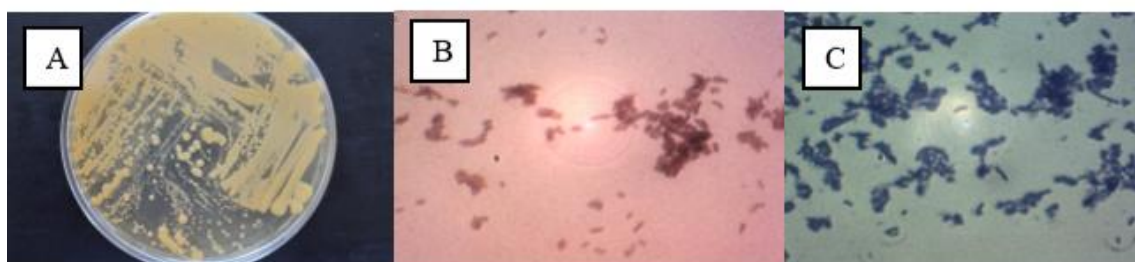


Figura 8. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Lactobacillus plantarum* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, glicerol, arabinosa, y melibiosa. Complementando; en la figura 9A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie convexa, su forma circular, sus bordes redondeados con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 9B se

muestra una bacteria ácido láctica que presenta características de tinción Gram negativa. En la figura 9C se determina que presenta una forma celular de bacilo.

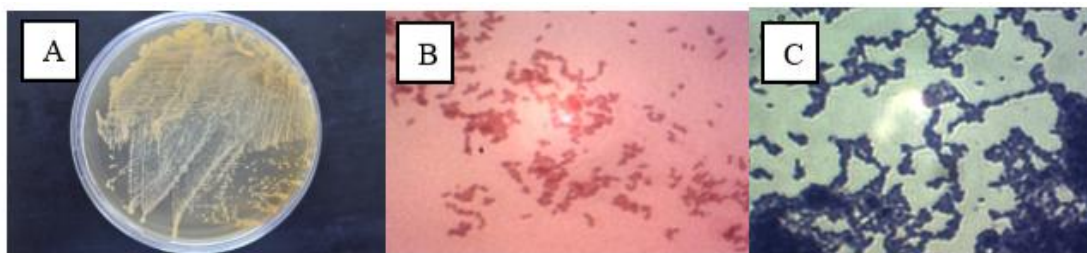


Figura 9. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

13.2. Caracterización e identificación (capas de la chicha wiwis).

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Streptococcus thermophilus* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, rafinosa, melezitosa, melibiosa y rafinosa. Complementando; en la figura 10A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie plano convexo, su forma irregular, sus bordes ondulados con 3 a 5 mm de diámetro. En la figura 10B se muestra la levadura con tinción Gram negativa presentado una forma celular de coco observadas microscópicamente como muestra la figura 10 C.

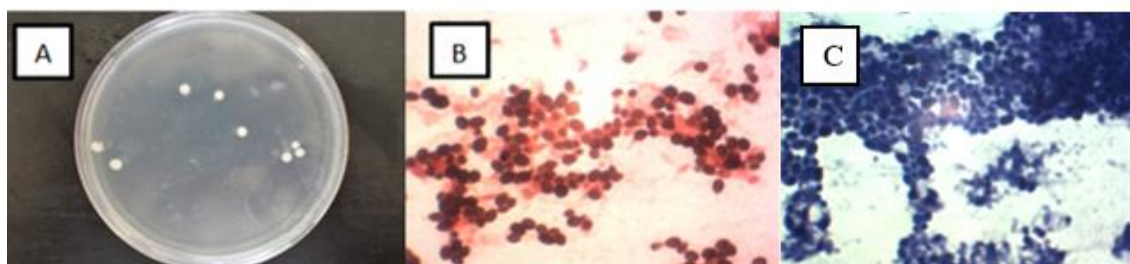


Figura 10. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, maltosa, sucrosa, trehalosa y rafinosa. Complementando; en la figura 11A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema blanca, una textura pastosa, una superficie convexa, su

forma irregular, sus bordes lobulados con 1 o 2 mm de diámetro. En la figura 11B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram positiva presentado una forma celular de coco observadas microscópicamente.

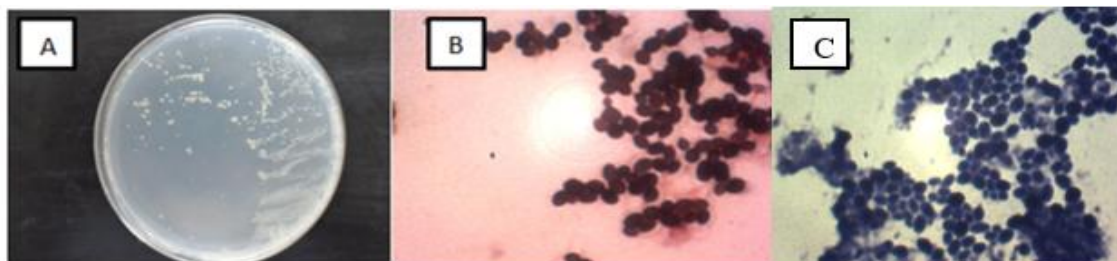


Figura 11. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la levadura *Candida lusitanae* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, sacarosa, inulina, turanosa y tagatosa. Complementando; en la figura 12A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema blanca, una textura pastosa, una superficie plana, su forma circular, sus bordes ondulados. En la figura 12B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram positiva presentado una forma celular de bacilos observadas microscópicamente como muestra la figura 12C.

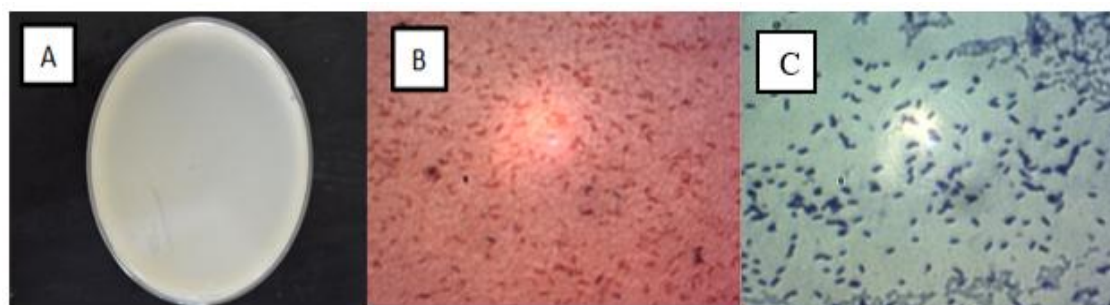


Figura 12. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Lactobacillus bulgaricus* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, tagatosa, sucrosa, acetilglucosamina y maltosa. Complementando; en la figura 13A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema blanca, una textura pastosa, una

superficie papilada, su forma rizoide, sus bordes ondulados. En la figura 13B se muestra que la levadura presenta características de tinción Gram negativo presentado una forma celular de bacilos observadas microscópicamente como muestra la figura 13C.

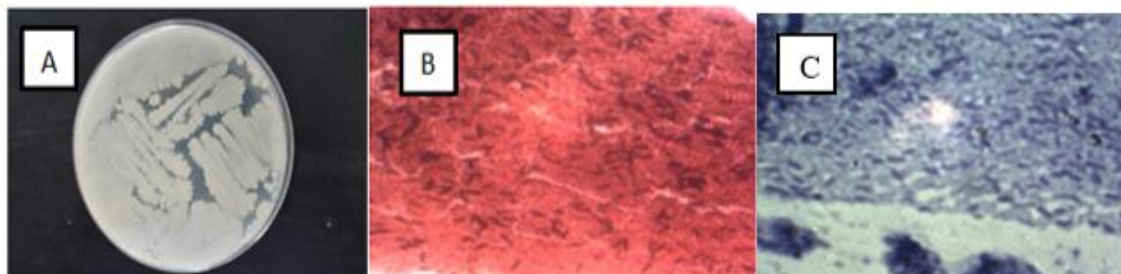


Figura 13. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Lactobacillus casei* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, maltosa, gentiobiosa, salicina y dulcitol. Complementando; en la figura 14A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema blanca, una textura pastosa, una superficie acuminada, su forma circular, sus bordes redondeados con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 14B se muestra una bacteria ácido láctica que presenta características de tinción Gram negativa. En la figura 14C se determina que presenta una forma celular de bacilo.

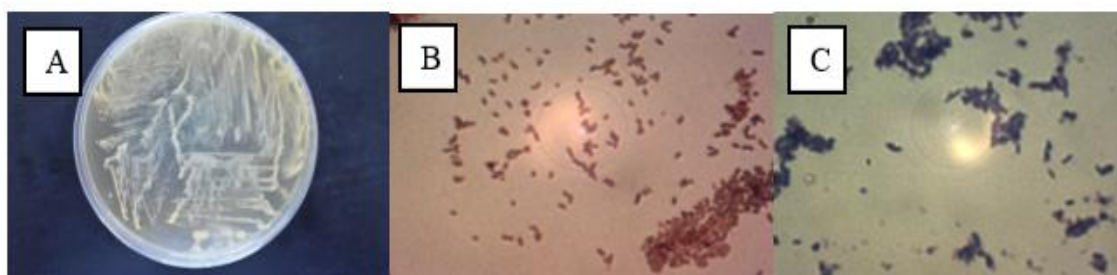


Figura 14. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Lactobacillus plantarum* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, glicerol, arabinosa, y melibiosa. Complementando; en la figura 15A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie convexa, su forma irregular, sus bordes redondeados con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 15B se

muestra una bacteria ácido láctica que presenta características de tinción Gram negativa. En la figura 15C se determina que presenta una forma celular de bacilo.

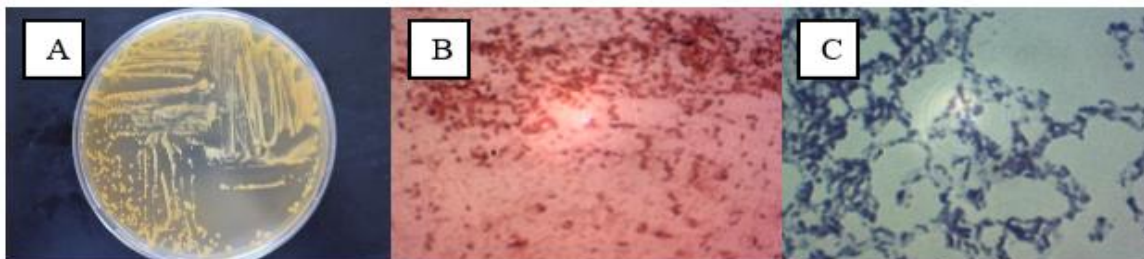


Figura 15. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Aplicando las pruebas bioquímicas mencionadas en la investigación, se logró identificar a la bacteria ácido láctica *Leuconostoc oenos* ya que reaccionó a los pasillos de glucosa, trehalosa, melezitosa y sorbitol. Complementando; en la figura 16A las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarilla, una textura pastosa, una superficie convexa, su forma filamentosa, sus bordes redondeados con 2 a 3 mm de diámetro. En la figura 16B se muestra una bacteria ácido láctica que presenta características de tinción Gram negativa. En la figura 16C se determina que presenta una forma celular de bacilo.

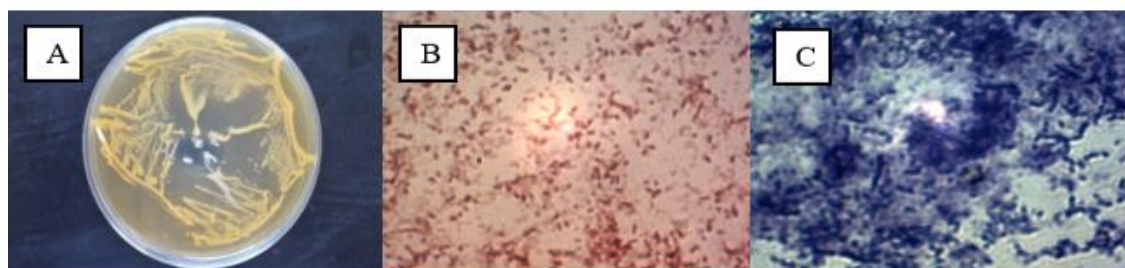


Figura 16. A. Colonia; B, C. Células

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

14. IMPACTOS

14.1. Impacto técnico

En el presente proyecto de investigación tiene un impacto positivo en la parte de investigación por el hecho de aislar, identificar y caracterizar microorganismos fermentadores que están presentes en las bebidas ancestrales como es la chicha de yuca, con el fin de lograr una posterior industrialización.

14.2. Impacto social

En el impacto social tiene una influencia positiva para la sociedad, gracias a la investigación sobre el aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores, ya que dará un valor agregado al producto final y por ende las comunidades indígenas de la amazonia podrán industrializar siguiendo correctos parámetros de producción de la la chicha de yuca manteniendo sus características organolépticas propias del producto.

14.3. Impacto ambiental

La presente investigación tiene un impacto ambiental neutral ya que al momento de realizar el aislamiento se realizó con material reutilizable y orgánico, los residuos que posiblemente podían ejercer un impacto negativo al medio ambiente se los trato adecuadamente para su posterior desecho con la finalidad de evitar posibles contaminaciones en el laboratorio de microbiología .

14.4. Impacto Económico

El impacto económico será favorable ya que con la industrialización de la chicha de yuca que conservara sus características organolépticas las pequeñas comunidades indígenas podrán dedicarse a este nuevo proyecto y así crecer económicamente

15. PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO

Tabla 6

Sugerencia del presupuesto del proyecto.

Elementos	Cantidad	Unidad	Costo Unitario	Costo total
Chicha de yuca	4	Lt	5.00\$	20.00\$
MATERIALES				
Asas siembra	2	U	10.00\$	20.00\$
Cajas Petri	100	U	0.35\$	35.00\$
Papel filtro	3	U	3.00\$	9.00\$
Algodón	1	U	2.00\$	2.00\$
Agares	3	U	60.00\$	180.00\$
Porta y cubre objetos	100	U	0.15\$	15.00\$
REACTIVOS				
Aceite de inmersión	100	ml	10.00\$	10.00\$
Parafina	100	ml	8.00\$	8.00\$
Azul de metileno	100	ml	10.00\$	10.00\$
Alcohol	1000	ml	5.00\$	5.00\$
API	1	Kit	500.00\$	500.00\$
SUMINISTRO DE OFICINA				
Impresiones y copias	400	U	0.05\$	20.00\$
Internet	60	Horas	0.75\$	45.00\$
Anillados	6	U	2.00\$	12.00\$
imprevistos	1	–	–	30.00\$
EQUIPOS				
Microscopio	25	Hora de alquiler	1.00\$	25.00\$
Termómetro	1	U	15.00\$	15.00\$

Estufa	1	Hora de alquiler	5.00\$	5.00\$
Mechero	1	Hora de alquiler	5.00\$	5.00\$
Pipetas de 1ml y 10ml	2	U	5.00\$	10.00\$
Micropipetas	2	U	6.00\$	12.00\$
Incubadora	72	Hora de alquiler	0.50\$	36.00\$
TRANSPORTE Y ALIMENTACIÓN				
Transporte	60	Días	0.70\$	155.00\$
Alimentación	2	Personas	40.00\$	80.00\$
TOTAL				1151.00\$

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

CONCLUSIONES

- Siguiendo protocolos de muestreo y usando adecuadamente la técnica de estriado en medio específico, obtuvimos 19 cepas de la chicha negra y 18 de la wiwis. Se purificó y se seleccionaron las muestras más representativas, 8 cepas pertenecen a la chicha negra y 7 de la chicha wiwis.
- Caracterizamos las unidades formadoras de colonias por medio de pruebas microbiológicas, donde se tomó en cuenta las características morfológicas (color, textura superficie, forma y borde) en el cual su gran mayoría son de color crema o blanca, su textura pastosa, de superficies acuminada, convexa y plana, de formas puntiforme, circular y filamentosa, y bordes redondeados, filamentosos y lobulados. De igual forma microscópicamente su forma celular a partir de la tinción gram y simple. Obteniendo como datos resultantes cuatro cepas gram positivas y once negativas y según sus formas celulares determinamos 6 cocos y 9 bacilos.
- Se logró identificar a las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida lusitanae*, *Schizosaccharomyces pombe*,) y a las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) aplicando las pruebas bioquímicas API 50CHL.

RECOMENDACIONES

- Es necesario que en trabajos posteriores corroboren la identificación genética mediante pruebas de secuenciación de ADN basándose en los datos aquí encontrados en este proyecto, que no fueron caracterizadas por no ser un objetivo de este trabajo de investigación.
- Mediante la utilización de las cepas ya aisladas de los microorganismos fermentadores se puede realizar trabajos de investigación relacionados a la sinergia, antagonismo y del potencial probiótico de los microorganismos.
- Someter a las cepas aisladas a diversas pruebas de fermentación directa en el mosto de la yuca, para determinar la adaptabilidad exacta de las levaduras al contenido nutricional del tubérculo.

BIBLIOGRAFÍA


- Barrow, G. I., Feltham, K. A., & Cowan, S. (1993). *Manual for the identification of medical bacteria*. Londres: Cambridge University Press.
- Beltrán Chávez, M. V. (2013). *Proyecto de menú, Restaurante Marcus Apicius*. Quito.
- Bizzini, A., Durussel, C., Bille, J., Greub, G., Prodhom, G., & Clin, J. (2010). *Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory*. Clin Microbiol.
- Caetano, C. M., Peña, R. D., Maigual, J. L., Vásquez, L. N., Nunes, D. C., & Pazdiora, B. R. (2015). Mejoramiento participativo: herramienta para la conservación de cultivos subutilizados y olvidados. *Acta Agronómica*, 1-10.
- Ceballos, H., & De la Cruz, G. A. (2002). *Taxonomía y morfología de la yuca*. 16-31: La yuca en el tercer milenio.
- Cock, J. (1989). *La yuca, nuevo potencial para un cultivo tradicional*. CIAT.
- Elizalde Cox, M. M., & Pazmiño García, J. A. (2015). *Investigación y estudio de la yuca (Manihot esculenta crantz) y nuevas propuestas*. Guayaquil.
- Espinosa, F. (2013). *Obtención de etanol mediante hidrólisis alcalina, enzimática y fermentación a partir del excedente orgánico del banano variedad Musa paradisiaca*. Quito - Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
- FAO. (2007). *FAO*. Obtenido de *FAO*: <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/010/a1028s/a1028s01.pdf>
- García, G., Quintero Ramírez, M., López Munguía, R., & Canales, A. (2004). *Introducción general. Biotecnología alimentaria*. México.
- Gobernado, M., López, J., & Hontangas, L. (2003). *Identificación bacteriana. Enferm Infecc Microbiol Clin*.
- Ingraham, W., & Ingraham, C. (1998). *Introducción a la Microbiología*. Barcelona - España: Reverte S.A.
- Insuasti, A. M., & Carvajal, M. L. (2013). *Elaboración de cerveza artesanal utilizando cebada*. Ibarra: Universidad Técnica del norte.

- Isenberg, H. D. (2004). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington DC: ASM Press.
- Koolman, J., & Rohm, H. (2004). *Bioquímica Texto y Atlas*. Madrid-España: Médica Panamericana.
- Londoño, V. (1996). *El cultivo de la Yuca*. Medellín: SIA.
- López Guanín, E. M. (2015). *Caracterización físico - química y microbiológica de las bebidas fermentadas de la provincia de santo domingo de los Tsáchilas*. Quito.
- MacFaddin, J. F. (2000). *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Philadelphia: Lippincott Williams y Wilkins.
- Moltaldo, Á. (1985). *La yuca o mandioca*. Lima.
- Muñoz Conforme, X., Hinojosa García, F., & Mendoza García, M. (2017). *El misionero del Agro*. Portoviejo : INIAP.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Tenover, J. C., & Tenover, J. C. (2003). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM Press.
- Paéz, A. (2010). *Bebidas fermentadas*. Cali- Colombia: Universidad del Valle.
- Parés, R., & Juarés, A. (1997). *Bioquímica de los microorganismos*. Barcelona - España: Reverté S.A.
- Parreño Carrera, J. C. (2016). *Caracterización físico-química y microbiológica de las principales bebidas fermentadas tradicionales de la provincia de Chimborazo*. Quito.
- Pascual, M., & Calderón, V. (2000). *Microbiología Alimentaria*. Madrid - España: Díaz de Santos.
- Pazmiño, D., Escudero, M., & Grijalva, N. (2014). Diversidad microbiana asociada a la chicha de arroz: una bebida tradicional de Bolívar –Ecuador. *SciELO*, 1-10.
- Pimienta Sandoval, A. D., & Vergara Ordóñez, J. A. (2007). *Caracterización e identificación de los microorganismos causantes de la fermentación en el suero costeño utilizando leche de vaca de dos regiones diferentes*. Bogotá.
- Prats, G. (2006). *Microbiología Clínica*. Barcelona: Médica Panamericana.

- Rodríguez, Z., Boucourt, R., Elias, A., & Madera, M. (2001). *Dinámica de fermentación de mezclas de caña (Saccharum officinarum) y boniato (Ipomea batata)*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola.
- Schwerin, K. (1970). Apuntes sobre la yuca y sus orígenes. En K. Schwerin, *Apuntes sobre la yuca y sus orígenes* (págs. 23-27).
- Toro, D. (6 de Julio de 2013). *Manual para la introducción al laboratorio de microbiología*.
- Valdez Bustamante, W. O. (2018). *Estudio de la agrobiodiversidad del área arqueológica del monte Puñay, en el cantón Chunchi Provincia de Chimborazo*. Riobamba.
- Vázquez, H., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. En H. Vázquez, & O. Dacosta, *Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas* (págs. 249-260). Ingeniería, investigación y tecnología.
- Vicent, M., Álvarez, S., & Zaragoza, J. (2006). *Química Industrial Orgánica*. Valencia - España: Universidad Politécnica de Valencia.
- Villalobos Berruecos, L. (2007). *Las bebidas indígenas fermentadas y los patrones de consumo de alcohol de los grupos étnicos*. El cotidiano.

ANEXOS

Anexo 1. Aval de Traducción

 Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

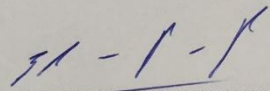
AVAL DE TRADUCCIÓN


En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por los señores egresados de la Carrera de **Ingeniería Agroindustrial** de la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, **MARTINEZ MOLINA CARLOS ENRIQUE Y PAREDES MORENO HENRY** cuyo título versa “ **AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS FERMENTADORES DE DOS TIPOS DE BEBIDAS ANCESTRALES FERMENTADAS A PARTIR DE YUCA (Manihot esculenta)**” lo realizaron bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a los peticionarios hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimen conveniente.

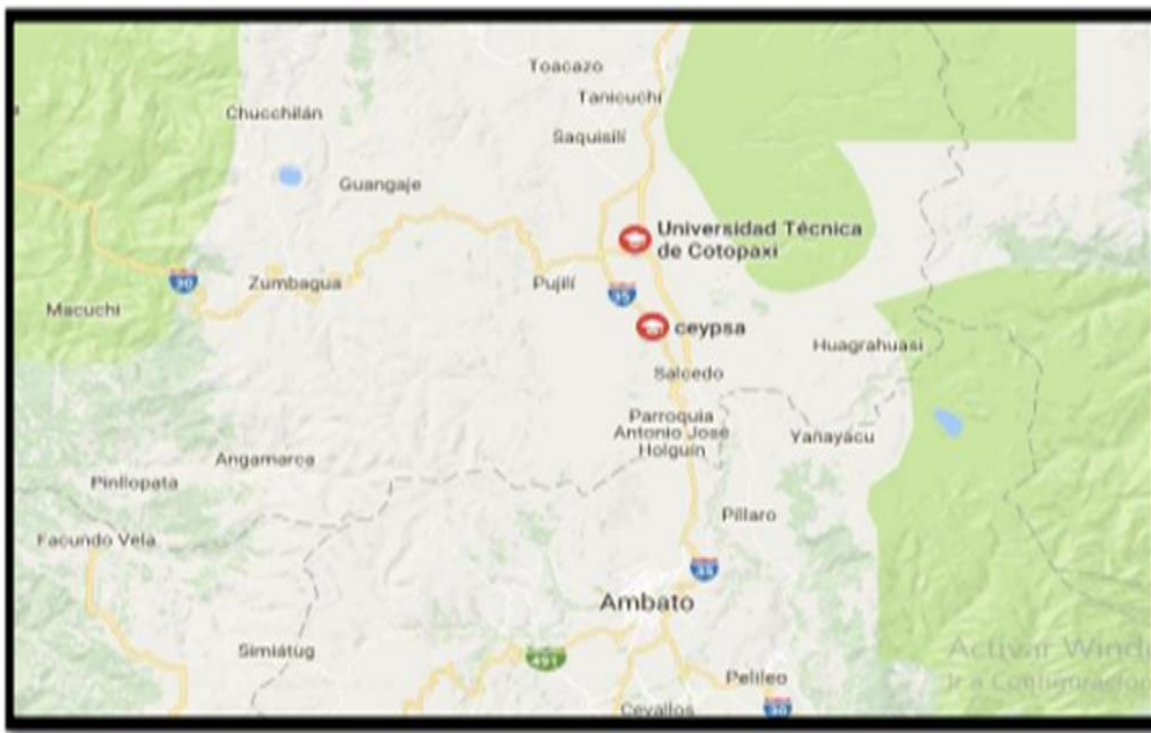
Latacunga, 22 de julio 2019

Atentamente,


.....
DOCENTE DEL CENTRO DE IDIOMAS
Lic. Marcelo Pacheco Pruna
C.C. 050261735-0



Anexo 2. Ubicación geográfica.



Anexo 3. Mapa Físico de Universidad Técnica de Cotopaxi

Vista física de la ubicación de la Universidad Técnica de Cotopaxi del Campus Salache, donde se ejecutará el proyecto de investigación.



Anexo 4. Tutor**PAREDES MORENO HENRY PABLO****Dirección:** Latacunga, La merced**Tel:** 0999084592**E-Mail:** jaime.rojas@utc.edu.ec**DATOS PERSONALES:****Número de cédula:** 0502645435**Nacionalidad:** Ecuatoriana.**País de residencia:** Ecuador.**Provincia de Nacimiento:** Cotopaxi**Fecha de Nacimiento:** 15/10/1984**Lugar de Nacimiento:** La Matriz.**Estado Civil:** Casado.**GRADO ACADEMICO:**

- 2007, Químico en Alimentos
- Instituto: Universidad Central del Ecuador
- MAESTRIA EN SISTEMA DE GESTION DE CALIDAD

EXPERIENCIA PROFESIONAL


- 2014: Fuentes San Felipe S.A / Responsable Técnico
- Mayo 2013 – septiembre 2013: EQF el queso Frances CIA. LTDA/ Responsable de calidad
- Mayo 2013 – septiembre 2013: Deli Mundo CIA. LTDA / responsable de calidad

Anexo 5. Autores

PAREDES MORENO HENRY PABLO

Dirección: Pujilí-Barrio Vicente León **Tel:** 0992695650

E-Mail: carlos.martinez6@utc.edu.ec



DATOS PERSONALES:

Número de cédula: 0503148736

Nacionalidad: Ecuatoriana.

País de residencia: Ecuador.

Provincia de Nacimiento: Cotopaxi

Fecha de Nacimiento: 16/03/1995

Lugar de Nacimiento: La Matriz.

Estado Civil: Soltero.

ESTUDIOS REALIZADOS

Estudios Primarios: Unidad Educativa San José “La Salle”

Estudios Secundarios: Unidad Educativa San José “La Salle”
Bachiller en Químico Biólogo

Estudio Superior: Universidad Técnica de Cotopaxi

Seminarios:

- “Investigación a la comunicación de los resultados”
- “Ciencia y Tecnología Agroindustrial”
- “Buenas prácticas de manufactura en alimentos procesados”
- “Elaboración de cerveza artesanal”
- “Calidad, innovación y nueva tecnología de alimentos”


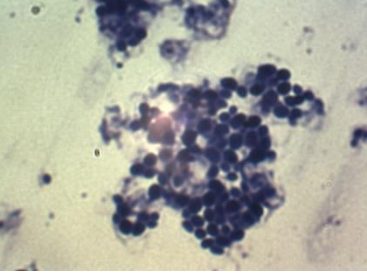
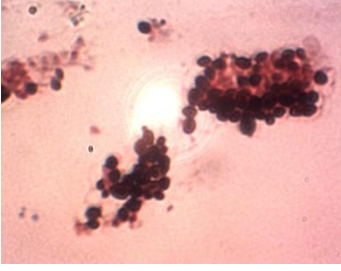
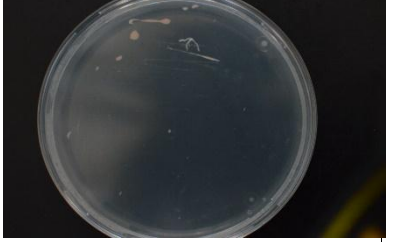
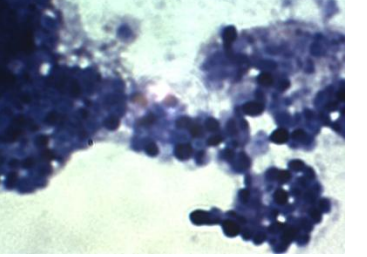
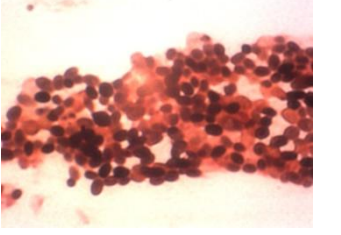

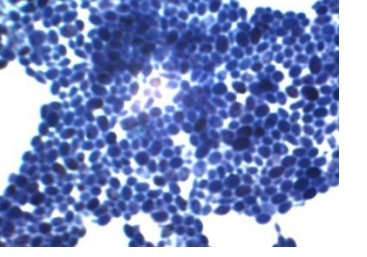
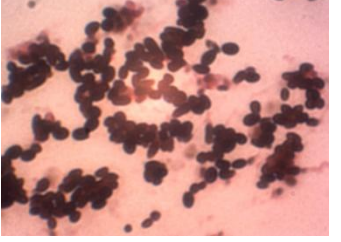

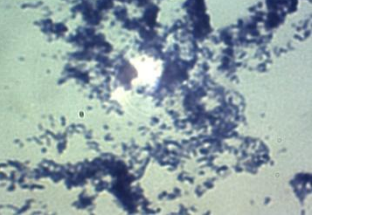

PAREDES MORENO HENRY PABLO**Dirección:** Pujilí-Barrio Vicente León**Tel:** 0998602744**E-Mail:** henry.paredes3@utc.edu.ec**DATOS PERSONALES:****Número de cédula:** 0504308693**Nacionalidad:** Ecuatoriana.**País de residencia:** Ecuador.**Provincia de Nacimiento:** Cotopaxi**Fecha de Nacimiento:** 12/04/96**Lugar de Nacimiento:** La Matriz.**Estado Civil:** Soltero.**ESTUDIOS REALIZADOS****Estudios Primarios:** Escuela “Pedro Vicente Maldonado”**Estudios Secundarios:** Colegio “Nacional Provincia de Cotopaxi”

Bachiller en Físico Matemático

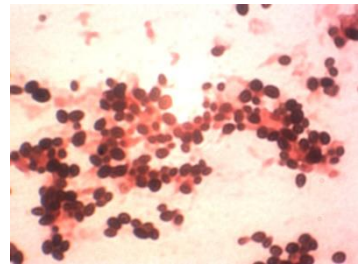
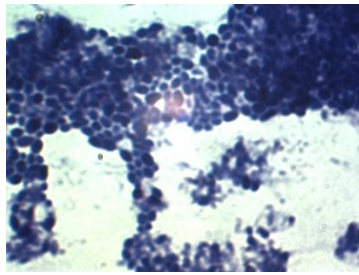
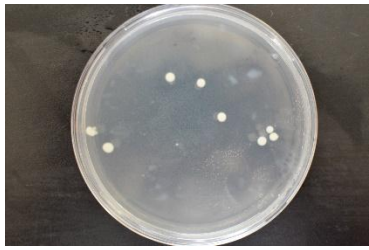
Estudio Superior: Universidad Técnica de Cotopaxi**Seminarios:**

- “Investigación a la comunicación de los resultados”
- “Ciencia y Tecnología Agroindustrial”
- “Buenas prácticas de manufactura en alimentos procesados”
- “Elaboración de cerveza artesanal”
- “Calidad, innovación y nueva tecnología de alimentos”

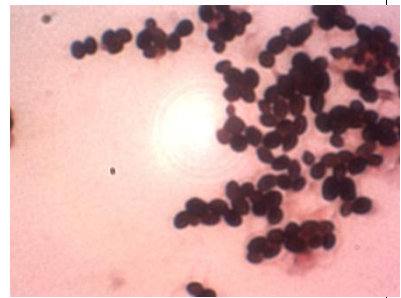
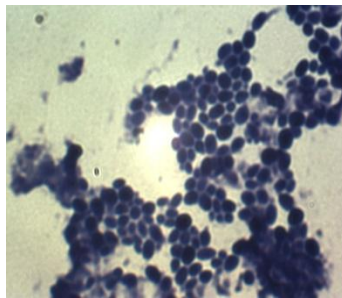
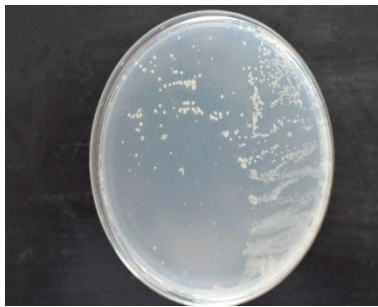
Anexo 6. Caracterización por medio de pruebas microbiológicas en base a su forma celular

Cajas Petri	Tensión simple	Tensión Gram
Cepa 1		
		
Cepa 3		
		
Cepa 4		
		
Cepa 7		
		

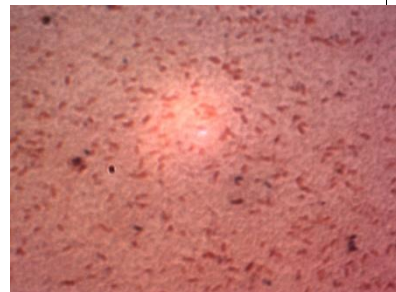
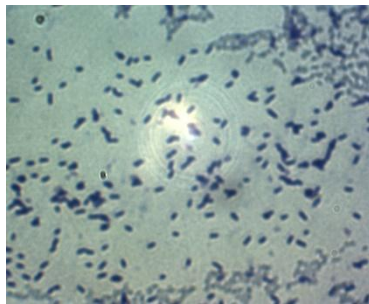
Cepa 8



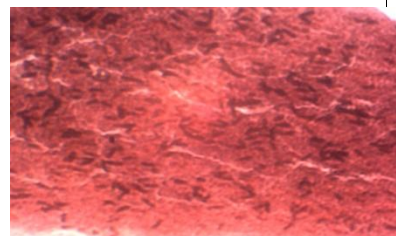
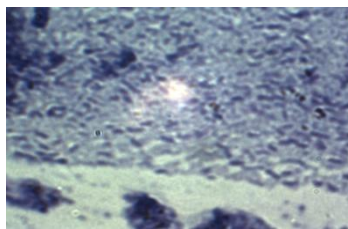
Cepa 13




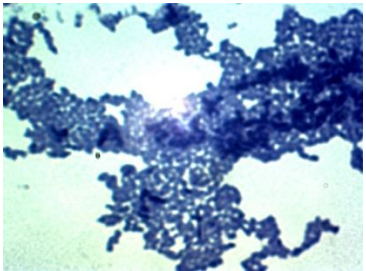
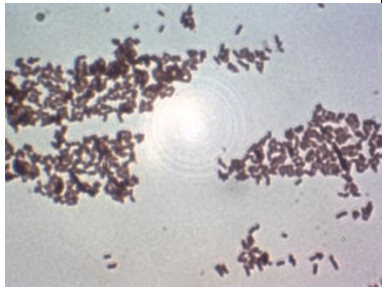

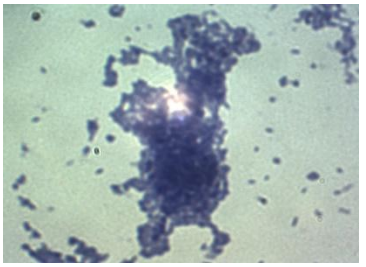
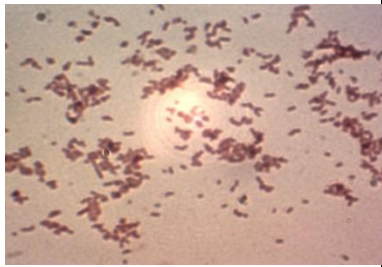

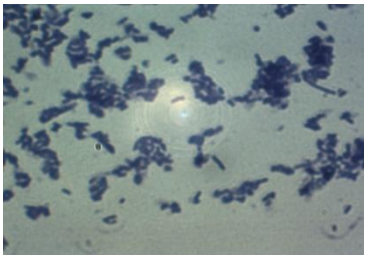
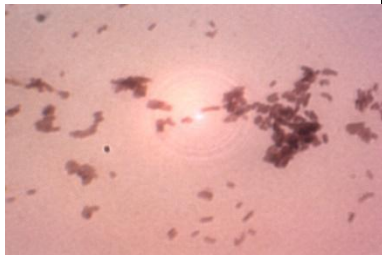
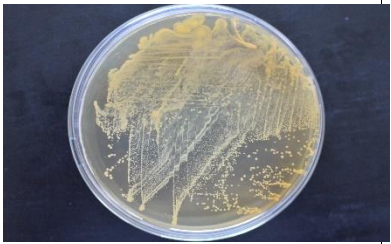
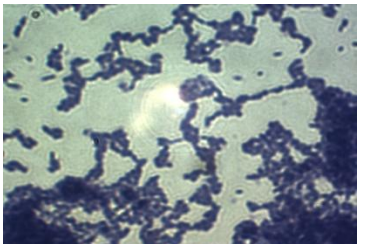
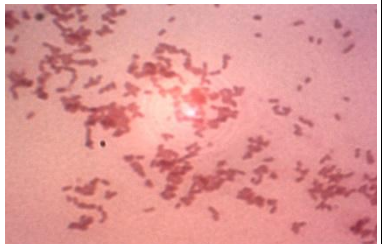
Cepa 14

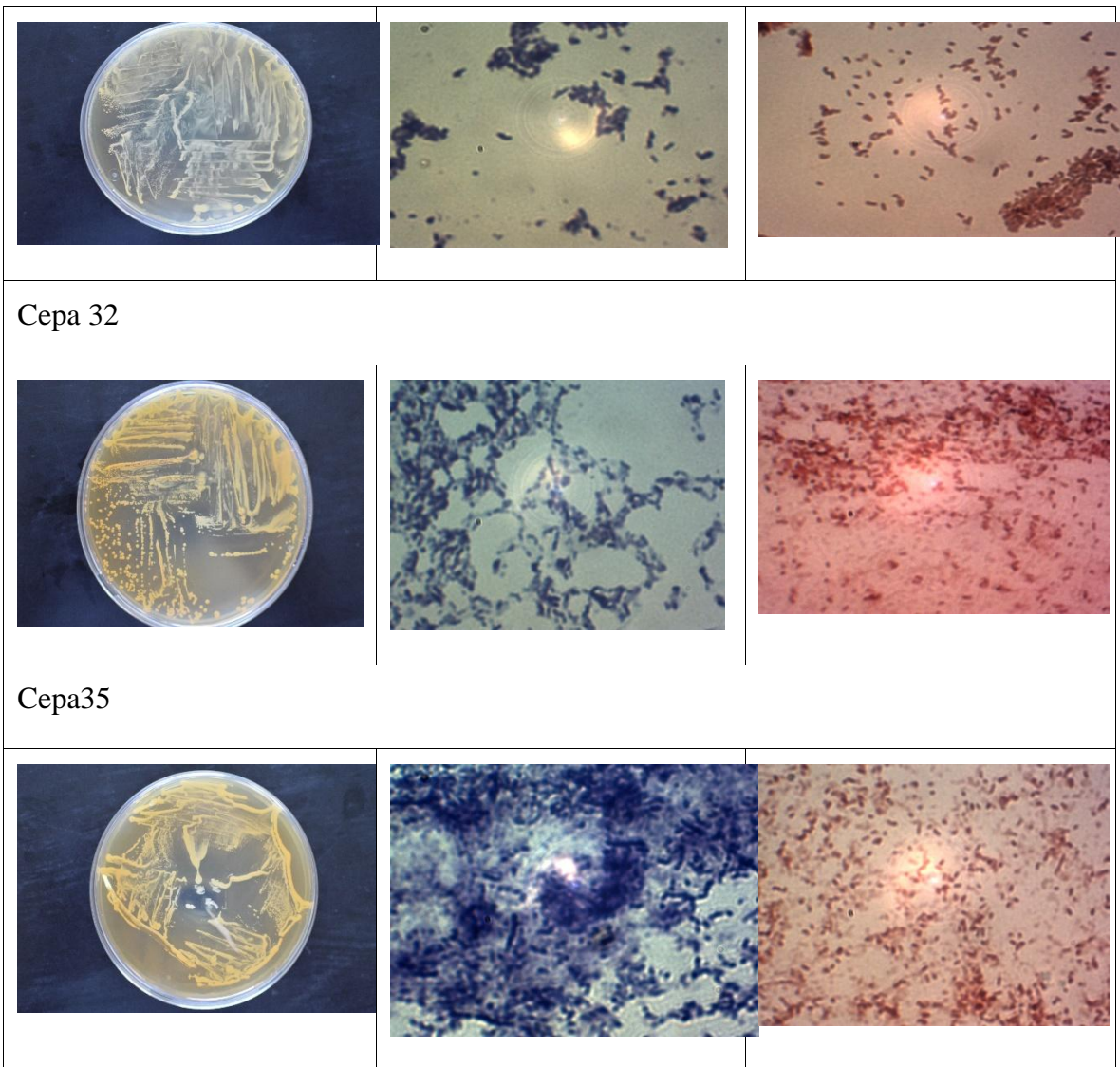


Cepa 17



Cepa 22

		
Cepa 27		
		
Cepa 29		
		
Cepa 30		
		
Cepa 31		



Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Anexo 7. Caracterización por medio de pruebas microbiológicas

	COLOR	TEXTURA	SUPERFICIE	FORMA	BORDES	TINCIÓN GRAM	FORMA CELULAR
Cepa1	Crema blanca	Pastosa	Acuminada	Puntiforme	Redondeado	+	Coco
Cepa3	Crema roja	Pastosa	Convexa	Circular	Redondeado	-	Coco
Cepa4	Crema amarilla	Pastosa	Acuminada	Filamentosa	Filamentosa	+	Coco
Cepa7	Crema amarilla	Pastosa	Acuminada	Circular	Redondeada	-	Bacilo
Cepa8	Crema amarilla	Pastosa	Planoconvexa	Irregular	Ondulado	-	Coco
Cepa13	Crema amarillenta	Pastosa	Convexa	Irregular	Lobulado	+	Coco
Cepa14	Crema blanca	Pastosa	Plana	Circular	Ondulada	-	Coco
Cepa17	Crema blanca	Pastosa	Papilada	Rizoide	Ondulado	-	Bacilo
Cepa22	Crema blanca	Pastosa	Acuminada	Circular	Redondeado	+	Bacilo
Cepa27	Crema amarilla	Pastosa	Plana	Filamentosa	Redondeada	-	Bacilo
Cepa29	Crema amarilla	Pastosa	Convexa	Irregular	Redondeada	-	Bacilo
Cepa30	Crema amarilla	Pastosa	Convexa	Circular	Redondeada	-	Bacilo

Cepa3 1	Crema blanca	Pastosa	Acuminada	Circular	Redondeada	-	Bacilo
Cepa3 2	Crema amarilla	Pastosa	Convexa	Irregular	Redondeada	-	Bacilo
Cepa3 5	Crema amarilla	Pastosa	Convexa	Filamentos a	Redondeada	-	Bacilo

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)

Anexo 8. Procedimientos para aislar e identificar microorganismos fermentadores en dos tipos de chicha de yuca (negra y wiwis)

Almacenamiento de las muestras a una temperatura de menos 0°C	Pre enriquecimiento de las muestras a base de caldo nutritivo
	
Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)	Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)
Preparación de agar Sabouraud dextrosa y el agar MRS.	Colonias de microorganismos aislados en base de dos tipos de chicha
	
Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)	Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)
Tinsion simbre y tinsion gram	Visualizacion microscopica y recoleccion de imágenes .

	
<p>Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)</p>	<p>Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)</p>
<p>Aplicación de los microorganismos aislados en las pruebas bioquímicas</p>	<p>Resultados de que obtuvimos en las pruebas bioquímicas API 50CHL</p>
	
<p>Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)</p>	<p>Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)</p>

Elaborado por: Martínez y Paredes (2019)