



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

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**EFFECTO DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN LOS
MOSTOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL
ARTESANAL EN LOS DIFERENTES FÁBRICAS DEL SECTOR LA MANÁ**

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

Autores:

Escobar Cadena Ruth Soraya
Méndez Herrera Dayana Beatriz

Tutor:

Ing. Cerda Andino Edwin Fabián
Mg.

Latacunga -Ecuador

Agosto 2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros **Escobar Cadena Ruth Soraya**, con C.I 172211306-3 y **Méndez Herrera Dayana Beatriz** con C.I 040149882-9 , declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: “**EFECTO DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN LOS MOSTOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCION DE ALCOHOL ARTESANAL EN LOS DIFERENTES FÁBRICAS DEL SECTOR LA MANÁ**”. Siendo el **Ing. Cerda Andino Edwin Fabián Mg.** tutor (a) del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, Agosto 2018

Para constancia firman:

.....
Méndez Herrera Dayana Beatriz.

C.I. 040149882-9

.....
Escobar Cadena Ruth Soraya

C.I. 172211306-3

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 Escobar Cadena Ruth Soraya, identificado con C.C. N°172211306-3, de estado civil Soltero y con domicilio en la Ciudad de Machachi a quien en lo sucesivo se denominará **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.- EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado INDUSTRIALIZACION DE LA CAÑA la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico: Marzo, 2013- Agosto 2018.

Aprobación HCD. – 20 de Abril 2018.

Tutor. - Ing. Edwin Fabián Cerda Andino.

Tema: Efecto del grado de contaminación microbiana en los mostos utilizados en la producción de alcohol artesanal en las diferentes fábricas del sector la Maná.

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, **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 **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 **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 **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 **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, 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 8 días del mes de agosto del 2018.

.....
Escobar Cadena Ruth Soraya

C.I: 172211306-3

EL CEDENTE

.....
Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

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 Escobar Cadena Ruth Soraya, identificado con C.C. N°172211306-3, de estado civil Soltero y con domicilio en la Ciudad de Machachi a quien en lo sucesivo se denominará **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.- EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado INDUSTRIALIZACION DE LA CAÑA la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico: Marzo, 2013- Agosto 2018.

Aprobación HCD. – 20 de Abril 2018.

Tutor. - Ing. Edwin Fabián Cerda Andino.

Tema: Efecto del grado de contaminación microbiana en los mostos utilizados en la producción de alcohol artesanal en las diferentes fábricas del sector la Maná.

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, **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 **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 **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 **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 **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, 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 8 días del mes de agosto del 2018.

.....
Méndez Herrera Dayana Beatriz
C.I: 040149882-9

EL CEDENTE

.....
Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Latacunga, 13 de Julio del 2018

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título:

“EFECTO DEL GRADO DE CONTAMINACION MICROBIANA EN LOS MOSTOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCION DE ALCOHOL ARTESANAL EN LAS DIFERENTES FABRICAS DEL SECTOR LA MANA”, de las señoritas Escobar Cadena Ruth Soraya y Méndez Herrera Dayana Beatriz de la carrera de Ingeniería Agroindustrial , considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

.....
ING. CERDA ANDINO EDWIN FABIÁN Mg.
TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
C.I.: 050136980-5

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

Latacunga, Agosto 2018.

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el o los postulantes: Escobar Cadena Ruth Soraya y Méndez Herrera Dayana Beatriz con el título de Proyecto de Investigación: “EFECTO DEL GRADO DE CONTAMINACION MICROBIANA EN LOS MOSTOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCION DE ALCOHOL ARTESANAL EN LAS DIFERENTES FABRICAS DEL SECTOR LA MANA” han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Para constancia firman:

Lector 1 (Presidente)

Químico Jaime Orlando Rojas Molina.

CC: 050264543-5

Lector 2

Ing. Gabriela Beatriz Arias Palma Msc.

CC: 171459274-6

Lector 3

Ing. Ana Maricela Trávez Castellano Mg.

CC: 050227093-7

AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios, a mi madre que fue mi pilar para cumplir este sueño tan anhelado, pero en especial a mi hijo que fue mi fortaleza para culminar este grandioso camino, también agradezco a un gran amigo Químico Orlando Rojas que ha sido nuestro mentor en nuestra vida académica y a todos mis amigos que han sido mi familia durante estos años de mi vida estudiantil.

Ruth Escobar.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además, de su infinita bondad y amor. Y a mi madre por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien pero más que nada por su amor, por el ejemplo de perseverancia y constancia que la caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante.

Dayana Méndez

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

TÍTULO: “Efecto del grado de contaminación microbiana en los mostos utilizados en la producción de alcohol artesanal en los diferentes fábricas del sector la maná”

Autor/es: Escobar Cadena Ruth

Soraya

Méndez Herrera Dayana

Beatriz

RESUMEN

El presente proyecto se trata de determinar el efecto del grado de contaminación microbiana en los mostos utilizados en la producción de alcohol artesanal en los diferentes fábricas del sector La Maná donde se estudiaron cinco procesadoras de alcohol artesanal donde se realizó un estudio de variables ($^{\circ}$ Brix, pH, Temperaturas y Alcohol real) durante el proceso de fermentación y destilación del alcohol que tiene una duración máximo dos días. Se controló las variables por tres ocasiones en distintos puntos de las cubas por cada cuatro horas hasta terminar el proceso de fermentación. Se empezó el proceso de destilación midiendo los grados alcohólicos de los cuerpos de la destilación de cada procesadora de alcohol artesanal obteniendo resultados estadísticos donde los Grados Brix al inicio del proceso fueron altos y terminaron con resultados bajos mientras que el pH en su etapa inicial de fermentación es alto y en el proceso final de la fermentación es bajo por lo tanto el alcohol real fue incrementando desde el inicio del proceso de fermentación hasta el final obteniendo buenos rendimientos. Se tomó una muestra del mosto de jugo de caña y ésta fue llevada a las instalaciones de los laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi donde se realizó el aislamiento y selección de las levaduras encontradas en los procesos de fermentación de alcohol artesanal de la zona La Maná. Se realizó estudios de laboratorio aplicando una técnica de estriado para su aislamiento en medios estériles con un agar (Sabouraud dextrosa) se realizó el proceso de incubación a 32°C durante 24 horas y se seleccionó el tipo de levaduras que se encontraron presentes en el mosto fermentador , éste nos garantizó un mejor resultado a la hora de la identificación de las levaduras que fermentaron en el mosto del jugo de la caña, se identificó los factores físicos y químicos que causaron una contaminación que afectó el rendimiento final del alcohol en su medio natural. Finalmente con estos estudios se observó el porcentaje de contaminación, su rendimiento y el tipo de levadura que se encuentra en el proceso de fermentación que ayudó a la transformación del azúcar del jugo de la caña en alcohol obtenido por destilación.

Palabras claves: **mosto, contaminación, fermentación**

ABSTRACT

THEME: "Effect of the degree of microbial contamination in the mosto used in the production of artisanal alcohol in the different manufactures of the sector Maná"

The present project tries to determine the effect of the degree of microbial contamination in the mosto used in the production of artisanal alcohol in the different factories of La Maná sector where five artisanal alcohol processors are studied. This study of variables was done out (° Brix, pH, Temperatures and Real Alcohol) during the process of fermentation and distillation of alcohol that has a maximum duration of two days. The variables are controlled in three times in the points of the vats for every four hours until the fermentation process is finished. The distillation process was founded by measuring the alcoholic levels of the alcoholic bodies of the artisanal alcohol elaboration obtaining statistical results where the °Brix at the beginning of the process were high and ended with low results while the pH in its initial stage of fermentation is high and in the final process of the fermentation is low therefore the actual alcohol was increasing from the beginning of the fermentation process until the end obtaining good yields. A sample of the juice must was taken and placed to the laboratories of the Technical University of Cotopaxi where the isolation and selection of the yeasts was carried out. It was found in the fermentation processes of artisanal alcohol in La Maná area. Laboratory studies were carried out that applied an isolation technique for its isolation in sterile media with an Agar (Sabouraud dextrose). The incubation process was carried out at 32 ° C for 24 hours and the type of yeast that was found in the mosto by its fermentor, this guaranteed a better result when identifying the yeasts that fermented in the juice of the cane juice, identified the physical and chemical factors that caused a contamination that affected the final performance of the alcohol in its natural environment. Finally, with these studies refers to the percentage of contamination, its yield and the type of yeast found in the fermentation process that helped the transformation of sugar cane juice into alcohol obtained by distillation.

Keywords: **mosto, contamination, fermentation**

AVAL DE TRADUCCIÓN

Latacunga, Julio del 2018

En calidad de docente del idioma inglés del centro cultural 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 las Señoritas. **Escobar Cadena Ruth Soraya** portador de la cedula de ciudadanía N° **172211306-3** y **Méndez Herrera Dayana Beatriz** portador de la cedula de ciudadanía N° **040149882-9** de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial** de la Facultad **CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES** cuyo tema versa “Efecto del grado de contaminación microbiana en los mostos utilizados en la producción de alcohol artesanal en las diferentes fábricas del sector la Maná”, se lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta escritura gramatical del idioma inglés.

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

Atentamente,

.....

Lcdo. Cevallos Bolívar

C.I. 0910821669

Docente del Centro Cultural de Idiomas de la UTC

ÍNDICE

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	2
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	3
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	9
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	10
AGRADECIMIENTO	11
AGRADECIMIENTO.....	12
CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL	13
RESUMEN.....	13
ABSTRACT	14
AVAL DE TRADUCCIÓN.....	15
1. INFORMACIÓN GENERAL	¡Error! Marcador no definido.
Título del Proyecto:.....	¡Error! Marcador no definido.
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	¡Error! Marcador no definido.
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	¡Error! Marcador no definido.
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	¡Error! Marcador no definido.
5. OBJETIVOS	¡Error! Marcador no definido.
5.1. Objetivo General	¡Error! Marcador no definido.
5.2 Objetivos Específicos	¡Error! Marcador no definido.
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	¡Error! Marcador no definido.
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	¡Error! Marcador no definido.
7.1 Antecedentes	¡Error! Marcador no definido.
7.2 Marco teórico	¡Error! Marcador no definido.
7.2.1 Composición de la caña de azúcar	¡Error! Marcador no definido.
7.2.2 Características físico químicas de los jugos.....	¡Error! Marcador no definido.
7.2.3 Fermentación alcohólica.....	¡Error! Marcador no definido.
7.2.4 Características fisiológicas	¡Error! Marcador no definido.
7.2.5 Nutrientes óptimas para las levaduras	¡Error! Marcador no definido.
7.2.6 Contaminación microbiológica.....	¡Error! Marcador no definido.
7.2.7 Destilación	¡Error! Marcador no definido.
7.2.8 Técnica de aislamiento por estría o agotamiento en placa	¡Error! Marcador no definido.
7.2.9 Determinación de pérdidas por contaminación microbiológica y sus implicaciones.	¡Error! Marcador no definido.
7.2.10 Técnica de aislamiento por banco de diluciones y recuento de células viables.	¡Error! Marcador no definido.
7.3 Marco conceptual.	¡Error! Marcador no definido.
8. PREGUNTAS DIRECTRICES	¡Error! Marcador no definido.
9. METODOLOGÍAS	¡Error! Marcador no definido.
9.1. Procedimiento de obtención de datos en campo	¡Error! Marcador no definido.
9.1.1 Materiales.....	¡Error! Marcador no definido.
9.1.2 Equipos e Instrumentos	¡Error! Marcador no definido.
9.1.3 PROCEDIMIENTO.....	¡Error! Marcador no definido.
9.2 Aislamiento y selección de las levaduras encontradas en los procesos de fermentación de alcohol artesanal de la zona La Maná.	¡Error! Marcador no definido.
9.2.1 Materiales.....	¡Error! Marcador no definido.
9.2.2 Equipos e Instrumentos	¡Error! Marcador no definido.
9.2.3 PROCEDIMIENTO.....	¡Error! Marcador no definido.
10. ANALISIS Y RESULTADOS.	¡Error! Marcador no definido.
10.1 Análisis de los resultados obtenidos en campo.	¡Error! Marcador no definido.
10.2 Rendimiento	¡Error! Marcador no definido.
10.3 Análisis de los resultados a nivel de laboratorio	¡Error! Marcador no definido.

Tabla 13. Caracterización de las levaduras nativas.....	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 15. Análisis de resultados según el parámetro volumen de alcohol;	¡Error! Marcador no definido.
11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS);	¡Error! Marcador no definido.
12. PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO;	¡Error! Marcador no definido.
13. CONCLUSIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
14. RECOMENDACIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
14.-BIBLIOGRAFIA	¡Error! Marcador no definido.
15. ANEXOS.....	¡Error! Marcador no definido.

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

Efecto del grado de contaminación microbiana en los mostos utilizados en la producción de alcohol artesanal en las diferentes fábricas del sector La Maná.

Fecha de inicio: octubre 2017.

Fecha de finalización: agosto 2018.

Lugar de ejecución: Cantón La Maná - Parroquia Pucayacu - Recinto, El Negrillo, La Esperanza Zona 3.

Zona: 3

Facultad que auspicia: Facultad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia: Ingeniería Agroindustrial.

Proyecto de investigación vinculado: Caracterización de la cadena de producción e industrialización de la caña en la provincia Cotopaxi.

Línea de investigación: Investigación, producción, desarrollo de tecnologías y estudios de inversión de proyectos agroindustriales.

Sub línea de investigación: BIOTECNOLOGÍA AGROINDUSTRIAL Y FERMENTATIVA (Productos y coproductos tecnología de alcoholes, vinos, vinagres y yogurt, etc.).

Equipo de Trabajo:

Tutor del proyecto: Ing. Cerda Andino Edwin Fabián Mg.

Investigadoras: Escobar Cadena Ruth Soraya

Méndez Herrera Dayana Beatriz

Área de Conocimiento: Ingeniería, industria y construcción

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El alcohol destilado del jugo de caña de azúcar en los diferentes sectores de La Maná genera un gran aporte económico para sus familias y empleo. La Maná tiene grandes hectáreas de caña de azúcar siendo una de las mejores tierras productivas del Ecuador. Pero al no existir un conocimiento de control del grado de contaminación durante el proceso fermentativo, e industrializando de manera óptima la producción de alcohol artesanal en las distintas fábricas del sector, obteniendo un bajo rendimiento en la producción llevando a los agricultores a dejar de lado destilación de alcohol artesanal para dedicarse a la industria panelera. Para enfrentar el problema se realizó la investigación logrando controlar los diferentes factores físicos y microbiológicos para que generen un alto rendimiento en las fábricas procesadoras de alcohol artesanal beneficiando a los productores y restableciendo el empleo con mayores el ingreso económico e incentivando al desarrollo productivo en el área Agroindustrial en el sector La Maná.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

DIRECTOS: Los beneficiarios directos son las empresas agroindustriales productoras de alcohol la comunidad agricultora y productora de la caña de azúcar, ya que aprovecharán la información de esta investigación, dando un enfoque de explotación agroindustrial.

INDIRECTOS: Los beneficiarios indirectos son las investigadoras del proyecto, estudiantes de Ingeniería Agroindustrial y los productores de alcohol artesanal del sector La Maná, quienes obtendrán un beneficio directo sobre la producción y obtención de un alcohol artesanal libre de contaminación.

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El área de producción de caña de azúcar en Ecuador es de aproximadamente setenta y ocho mil hectáreas, de las cuales la mayoría se utiliza para la fabricación de azúcar y el resto para la elaboración artesanal de panela, alcohol, jugo y miel. La producción de alcohol de caña de azúcar sustenta económicamente a muchas familias en el Ecuador.

La mayoría de los agricultores cultivan y cosechan la caña de azúcar a mano y producen el alcohol por medio de un proceso tradicional, es por ello que el manejo y control de la

producción alcohólica no ha sido eficiente durante el transcurso de los años, por la falta de técnicas de investigación y capacitación en cuanto al proceso y a sus tratamientos. Cotopaxi gracias a su diversidad de climas posee cultivos de caña de azúcar localizados en el cantón La Maná. Esta producción en su totalidad no se destina a la industria azucarera, sino a otros derivados como: aguardiente y panela.

El cantón la Maná no cuenta con técnicas y monitoreo donde se pueda controlar la calidad de mosto fermentador para la obtención de alcohol, la población que adquiere el alcohol en un gran porcentaje, se encuentra insatisfecha con el producto, además existe escases del producto, debido al deficiente desarrollo productivo alcohólico artesanal dentro del sector, obteniendo de esta manera una bajo rendimiento y calidad alcohólica en el proceso alcohólico que afecta a los productores artesanales del sector La Maná.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

- Determinar la contaminación microbiana de los mostos en la producción de alcohol artesanal de las fábricas del sector de La Maná.

5.2 Objetivos Específicos

- Determinar el rendimiento de producción de alcohol en las fábricas de estudios mediante el control de variables de proceso.
- Aislamientos y selección de la mejor cepa fermentadora encontradas en los procesos de fermentación de alcohol artesanal de la zona La Maná.

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

Cuadro 1: Sistema de tareas en relación a los objetivos planteados

OBJETIVOS	ACTIVIDAD	RESULTADOS	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Determinar la contaminación microbiana de los mostos en la producción de alcohol artesanal de las fábricas del sector de la Maná.	Adquisición muestras de los mostos de forma Manual.	Grado de contaminación microbiana.	Registro de los datos obtenidos, tablas y gráficas.

Determinar el rendimiento de producción de alcohol en las fábricas mediante el control de variables de proceso.	Realización de pruebas de ° Brix, temperatura, grados de alcohol, pH, Alcohol Real) y rendimiento.	Datos obtenidos de las diferentes variables de control.	Registro de datos obtenidos, tablas y gráficas.
Aislamientos y selección de las levaduras encontradas en los procesos de fermentación de alcohol artesanal de la zona La Maná	Aislamiento por técnicas de estriado en placas Petri.	Obtención de la mejor cepa fomentadora de alcohol	Pruebas realizadas en las instalaciones de los laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Elaborado por: Escobar R. Méndez D.2018.

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 Antecedentes

- Los autores Rojas Sariol, Lixis, Lorenzo Acosta, Yaniris, Domenech-López, “Fidel, Cuba 2011. *“Estudio del consumo de ácidos en el ajuste de pH en diferentes medios de fermentación alcohólica sobre los Derivados de la Caña de Azúcar”*”, realizados en, mencionan que: Durante la fermentación alcohólica las bacterias contaminantes compiten con las levaduras por el azúcar y los nutrientes; causando un descenso significativo en la producción de etanol, por tanto, cuanto menor sea el pH más protegido se encuentra el medio de fermentación ante posibles ataques bacterianos. Para ajustar el pH de los medios de fermentación se emplea principalmente ácido sulfúrico. Cuando se destila el mosto fermentado de melazas y jugos de caña de azúcar para producir etanol, se obtiene un residuo líquido de color oscuro llamado vinaza. Estas vinazas tienen composiciones distintas y varían de una fábrica a otra.
- La autora Carla Gallego, Colombia 2007 *“INFLUENCIA DE LA ÁCIDEZ VOLÁTIL EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA PLANTA DE ALCOHOL DEL INGENIO RISARALDA S.A”*, menciona que: El jugo diluido y la meladura están expuestos a la contaminación bacteriana debido a que poseen baja presión osmótica, baja viscosidad y alta concentración de azúcares. Por este motivo, al cabo de un par de horas, se inicia la acción bacteriana sobre ellas. Estas bacterias llegan al fermentador y compiten con la levadura por los azúcares y los nutrientes. Debido a que el tiempo de duplicación de las bacterias está alrededor de 20 minutos, mientras

que el de la levadura está entre dos y tres horas, se produce una alta concentración si estas dos materias primas no son esterilizadas.

- El autor BLANCO G, Cuba 1982. “*La producción de alcohol a partir de la industria azucarera y sus posibilidades*”, Editorial Científico Técnica, menciona que: El licor "cocuy" es una bebida artesanal, producida por las comunidades rurales en el occidente de Venezuela mediante un proceso de fermentación y destilación del mosto extraído del Agave “cocuy”. Este estudio fue enmarcado en el "Programa Agave" con el propósito de contribuir a rescatar esta actividad productiva tradicional. En vista de la falta de información en relación al proceso autóctono se hicieron estudios de las levaduras fermentadoras, la optimización de la producción de etanol y la utilización del residuo de la destilación (vinaza) como medio de cultivo. Los aislados con mayor capacidad fermentativa fueron seleccionados e identificados mediante parámetros morfológicos y metabólicos. Se compararon los niveles de consumo de azúcar de las levaduras con mayor capacidad fermentativa. Se estudió el efecto de la adición del azúcar blanco comercial y/o del fosfato de amonio y en la producción de alcohol en el proceso artesanal.
- El autor Pacheco, T. F. Brasil, 2010. “*Fermentación Alcohólica con levaduras*”. Universidad Federal de Uberlândia, Facultad de Ingeniería Química, Uberlândia, MG, menciona que: existen varias maneras de conducir la fermentación. El reactor biológico puede ser operado de forma discontinua, semicontinua, discontinua alimentada (o alimentada) o continua, todos pudiendo trabajar con o sin recirculación de la levadura. Actualmente en Brasil, la mayor parte de la producción industrial de alcohol a gran escala, se produce en procesos fermentativos continuos.
- El autor Fermín Subirós Ruiz, 1995. “*El cultivo, de la caña de azúcar Costa Rica*”, Editorial Universidad Estatal a distancia, menciona que: La composición química de la Vinaza, es variada y está influida por la naturaleza y la composición de la materia prima (jugo de caña) del sistema usado en la preparación del mosto, del método de fermentación, del tipo de levadura

7.2 Marco teórico

7.2.1 Composición de la caña de azúcar

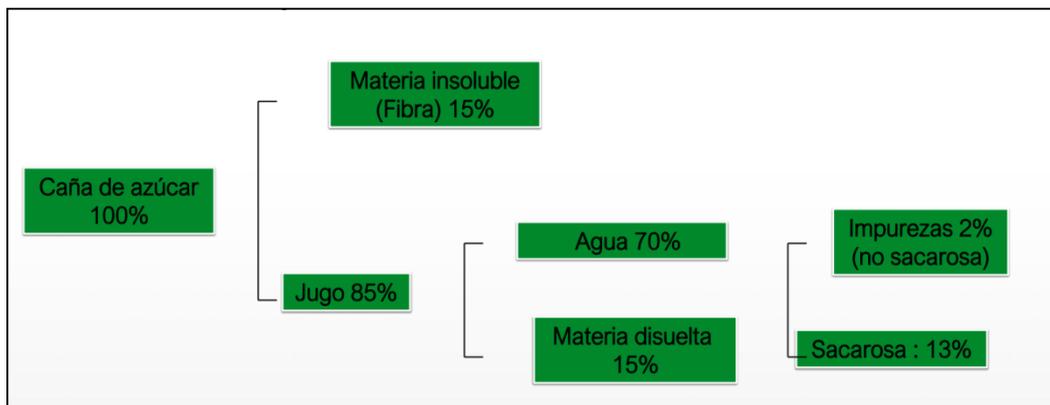
El tronco de la caña de azúcar está compuesto por una parte sólida llamada fibra y una parte líquida, el jugo que contiene agua y sacarosa. En ambas partes también se encuentran otras sustancias en cantidades muy pequeñas. Las proporciones de los componentes varían de acuerdo con la variedad (familia) de la caña, edad, madurez, clima, suelo, método de cultivo, abonos, lluvias, riegos, etc. Sin embargo unos valores de referencia general pueden ser:

- Fibra (11-16%)
- Sacarosa (8-15%)
- Agua (73%-76%)

La sacarosa del jugo es cristalizada en el proceso como azúcar y la fibra constituye el bagazo una vez molida la caña. Otros constituyentes de la caña presentes en el jugo son:

- Glucosa (0.2-0.6%)
- Fructuosa (0.2-0.6%)
- Sales (0.3-0.8%)
- Ácidos Orgánicos (0.1-0.8%)
- Otros (0.3-0.8%)

Las hojas de la caña nacen en los entrenudos del tronco. A medida que crece la caña las hojas más bajas se secan, caen y son reemplazadas por las que aparecen en los entrenudos superiores. También nacen en los entrenudos las yemas que bajo ciertas condiciones puede llegar a dar lugar al nacimiento de otra planta. El bagazo es el producto que queda de la caña después de ser molida en los trapiches que extraen su jugo para la elaboración del azúcar y se emplea fundamentalmente como combustible en las calderas generadoras del vapor necesario para el accionamiento de las máquinas térmicas y para los procesos de calentamiento, concentración, cocimiento, secado, destilación de alcohol y otros. La cantidad de bagazo depende de su humedad, fibra de la caña y del tipo de cosecha y es aproximadamente el 30% de la caña molida. El bagazo debe ser suficiente para que las calderas generen el vapor que necesita la fábrica y si queda un excedente se puede destinar a la fabricación de papel.

Grafico 1: Diagrama de la composición de la caña de azúcar

Elaborado por: Aguilar, J. E. (2017).

El mosto o "guarapo", obtenido a partir del prensado de los cormos de las plantas, una vez sometidas a hidrólisis por calor, es mantenido en barriles durante 3 a 5 días. El proceso de fermentación espontáneo depende de la cantidad de levaduras y de la concentración de azúcar del jugo. La destilación, introducida por los colonizadores españoles, se lleva cabo en un alambique rústico eficiente, obteniéndose una bebida con un 45 a 50% de etanol, muy similar a la bebida conocida como "tequila", originaria de México.

7.2.2 Características físico químicas de los jugos.

Las poblaciones microbiológicas que degradan la sacarosa y los azúcares reductores presentes en el jugo determinan las características físico/ químicas de los mismos e influyen en el desarrollo posterior del proceso de extracción, por esta razón los subproductos metabólicos son tomados como indicadores indirectos de las pérdidas de sacarosa en el proceso, aunque las pérdidas reales son mayores que las que se pueden calcular con base en estos indicadores debido a que están influenciados por factores ajenos a la actividad microbiana (López, 2010)

7.2.3 Fermentación alcohólica.

Según Delgado, Carlos, 1979. La fermentación alcohólica es el resultado del proceso respiratorio anaerobio de las levaduras. A escala industrial se usa por excelencia la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, como microorganismo responsable de la fermentación en el proceso de producción de alcohol. De este proceso se obtiene además vinaza, residual líquido

muy agresivo para el medio ambiente, vapores ricos en alcohol y CO₂, los cuales pueden ser recuperados para aumentar eficiencia y reducir costos. Durante la fermentación alcohólica las bacterias contaminantes compiten con las levaduras por el azúcar y los nutrientes; causando un descenso significativo en la producción de etanol, por tanto, cuanto menor sea el pH más protegido se encuentra el medio de fermentación ante posibles ataques bacterianos. Para ajustar el pH de los medios de fermentación se emplea principalmente ácido sulfúrico. Cuando se destila el mosto fermentado de melazas y jugos de caña de azúcar para producir etanol, se obtiene un residuo líquido de color oscuro llamado vinaza. Estas vinazas tienen composiciones distintas y varían de una fábrica a otra, dependiendo de:

El tipo y características del sustrato empleado, (mieles o jugos).

Las calidades de todas las materias primas a utilizar en el proceso.

El tipo de microorganismo utilizado (levadura o bacteria).

Las condiciones de fermentación.

La eficiencia del proceso de destilación y su equipamiento.

La eficiencia de fermentación

La recuperación eficiente previa de la levadura.

Louis Pasteur (1822-1895), químico y biólogo francés que fundó la ciencia de la microbiología, demostró que la fabricación de bebidas alcohólicas se daba a partir del proceso de la fermentación, menciona que la producción de alcohol en la fermentación se debe, en efecto, a las levaduras.

7.2.4 Características fisiológicas

7.2.4.1 Levaduras

Se les denomina levaduras a un grupo de hongos unicelulares cuya actividad ha sido siempre de gran importancia, estos organismos son abundantes especialmente en donde existe la presencia de azúcares (Burdon & Willians, 1971). Las levaduras son de forma esférica, ovalada o cilíndrica y en general la división celular se lo lleva a cabo por gemación (Brock & Madigan, 1982).

Las levaduras son hongos que forman sobre los medios de cultivo colonias pastosas, constituidas en su mayor parte por células aisladas que suelen ser esféricas, ovoideas, elipsoideas o alargadas. Unas pocas presentan hifas. Las dimensiones pueden oscilar de 1 a 9 µm de ancho y 2 a más de 20 µm de longitud según la especie, nutrición, edad y otros

factores. Algunos hongos fitopatógenos forman colonias levaduriformes en cultivos axénicos y varios patógenos de animales se presentan como levaduras en los materiales clínicos. (Carlile, 2001).

En cuanto a su Forma y tamaño son esféricas, elípticas y cilíndricas su tamaño varía notablemente pero el diámetro de la *saccharomyces cerevisia* oscila de 2 a 8 micras (carpenter, 1969).

7.2.4.2 Oxígeno

Todas las levaduras son aeróbicas, cuando el oxígeno está presente, éstas crecen eficientemente a partir de carbohidratos del medio para producir la biomasa y CO₂. Sin embargo cuando no hay oxígeno o éste disminuye, las levaduras cambian a metabolismo anaerobio o fermentativo, formando menor cantidad de biomasa y producción de alcohol (Sarmiento A, 2003).

El oxígeno también interviene en la síntesis de esteroides y del ácido nicotínico. Si estos compuestos están presentes en el medio, las levaduras pueden desarrollarse en anaerobiosis total. En el caso contrario para la supervivencia de las levaduras son necesario 0.0015 mg de oxígeno por gramo de biomasa para llevar a cabo la síntesis de los esteroides. (Sarmiento A, 2003).

7.2.4.3 Temperatura

Todas las levaduras son aeróbicas, cuando el oxígeno está presente, éstas crecen eficientemente a partir de carbohidratos del medio para producir la biomasa y CO₂. Sin embargo cuando no hay oxígeno o éste disminuye, las levaduras cambian a metabolismo anaerobio o fermentativo, formando menor cantidad de biomasa y producción de alcohol. (Sarmiento A, 2003).

La temperatura de crecimiento de la mayoría de las levaduras está comprendida entre 5 y 37°C. El valor óptimo se sitúa hasta los 28°C. Sin embargo estas temperaturas no son rigurosamente las óptimas de crecimiento de las levaduras cuando se encuentran en sus ambientes naturales. (Villamil Y, Z. Y. 1999).

7.2.4.4 Grados Brix

Los grados Brix determinan la concentración de sólidos disueltos en una solución de sacarosa, basándose en una relación entre los índices refractivos a 20°C y el 1% de masa total de sólidos solubles de una solución acuosa de sacarosa pura (Laboratorio Manual for South Africa Sugar Factories ,1985).

Es la unidad de medida de solidos solubles presentes en una solución, expresados en porcentaje p/v de sacarosa. El mosto para la fermentación alcohólica debe tener un grado Brix entre 12 a 22, ya que si el grado Brix es muy bajo el grado alcohólico obtenido será pobre. Por lo contrario si el grado Brix es muy alto la fermentación no se efectúa, porque la presión osmótica que se ejerce sobre las levaduras es grande y no permite que actúen. (Sarmiento, A. 2003).

7.2.4.5 pH

El pH óptimo para el crecimiento de las levaduras varía de 4,5 a 6,5 aunque muchas especies toleran grandes variaciones de pH 2.8 - 3 a 2 - 8,5. Entre estos, el valor del pH intracelular varía entre 5.8 a 6.8. (Villamil Y, Z. Y. 1999).

Los ácidos orgánicos tienen efecto inhibitorio en su forma disociada, el Ion H⁺ no penetra en la célula, pero el ácido no disociado RCOOH puede hacerlo. La sensibilidad de una levadura a un ácido orgánico depende así del pH y de la capacidad de la levadura de metabolizar o eliminar el ácido si éste penetra la célula. Es por esto que los ácidos sórbico y propiónico son más inhibidores que los ácidos acéticos, cítricos y lácticos (Sarmiento, A. 2003).

Carpenter (1988), indica que la reacción óptima para un proceso fermentativo con levaduras se lo debe realizar a un pH de 4.5 y 5.0.

Según González S. (1978) "la fermentación continua satisfactoriamente cuando el pH del mosto ha sido ajustado entre 4 y 4.5. Este pH favorece a las levaduras y es lo suficientemente bajo para inhibir el desarrollo de muchos tipos de bacterias (Palacio H. 1956) dice la variación de pH de los mostos quedan supeditadas además del normal desarrollo de las levaduras a que no se perturbe o inhiba el poder enzimático de las enzimas.

7.2.5 Nutrientes óptimas para las levaduras

Las levaduras para su crecimiento necesitan fuentes de carbono orgánico y nitrógeno mineral u orgánico. Algunas además necesitan de varias vitaminas (tiamina, biotina, inositol, ácido pantoténico, etc.) y otros factores de crecimiento. (Villamil Y, Z. Y. 1999). El carbono es el compuesto mayoritario de la célula de levadura: alrededor del 50% del peso seco; a su vez los compuestos carbonados son utilizados por las levaduras como fuente de carbono y energía. (Sarmiento A., Herrera J., 2003). Todas las levaduras utilizan la D-glucosa, la D-fructosa y la D-manosa. El carbono se puede suministrar en forma de azúcares, aldehídos, sales de algunos ácidos orgánicos, glicerina o etanol y ocasionalmente, en otra forma dependiendo del tipo de levadura (Villamil Y, Z. Y. 1999). Entre las levaduras, la capacidad de utilizar ciertos compuestos carbonados varía; algunas pueden utilizar una amplia gama de compuestos, pero otras asimilan solamente un número pequeño de ellos. Las fuentes de carbono como los glúcidos simples como las hexosas, los disacáridos y los trisacáridos son metabolizados por un gran número de levaduras. (Sarmiento, A. 2003). Ninguna levadura es capaz de oxidar el metano; sin embargo, varias especies de los géneros *Candida*, *Hansenula*, *Pichia* y *Torulopsis* pueden usar el metanol. (Sarmiento, A. 2003). Todas las levaduras son capaces de utilizar nitrógeno en forma de ión amonio. Los iones amonio pueden ser aportados en el medio por el cloruro amónico, el nitrato amónico, el fosfato amónico, y sobre todo el sulfato amónico, que es el mejor compuesto pues aporta al mismo tiempo el azufre necesario para la síntesis de ciertos aminoácidos. También se puede adicionar urea, peptona u otros derivados proteínicos solubles. (Villamil Y, Z. Y. 1999). Los aislamientos se realizan para la separación de un determinado microorganismo del resto que le acompañan. Técnicas usadas en el laboratorio de microbiología para la transferencia de un microorganismo de un ambiente a otro con la finalidad de inducir su crecimiento para su identificación.

El cultivo es un método que se usa para la multiplicación de microorganismos, tales como lo son bacterias en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Un cultivo es empleado como un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos como las levaduras.

Los medios de cultivo se utilizan como nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de las levaduras. La diversidad metabólica de los microorganismos es muy amplia; por ello, la variedad de medios

de cultivo es también muy grande, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos.

El alcohol es el etanol o alcohol etílico procedente de la destilación del producto resultante de la fermentación alcohólica de mostos adecuados.

La esterilización, es el proceso que destruye todas las formas viables de cualquier tipo de vida microbiana. Por tanto, la esterilización es siempre total e incluye la destrucción de las esporas y formas vegetativas, los virus, (Villamil Y, Z. Y. 1999)

7.2.6 Contaminación microbiológica

Desde el momento que se corta la caña hasta que se clarifica el jugo extraído a altas temperaturas, la sacarosa está expuesta a la acción enzimática de una multitud de microorganismos que pueden provenir del suelo que se adhiere a tallos y hojas de la caña o del aire contaminante, y que se ven favorecidos por factores como las operaciones de quema, corte, condiciones de temperatura, humedad alta y tiempos entre corte y molienda (Cerutti de Guglielmone *et al.*, 2000; Van der Poel, 1998).

Cuando la caña entra en el molino, sus jugos circulan a través de los mismos y entran en contacto con los microorganismos que se encuentran adheridos a las superficies de concreto y metal; sin embargo, la presencia de éstos en cualquier azúcar particular o producto intermedio de su fabricación, no significa necesariamente que se estén produciendo cambios perjudiciales, ni tendrán significado desde el punto de vista económico, a menos que factores del medio, como temperatura, agua, O₂ y elementos nutritivos sean favorables para el rápido crecimiento (Anónimo, 1993; Honig, 1969).

7.2.7 Destilación

El alcohol producido por la fermentación contiene una parte significativa de agua, que debe ser eliminada para su uso como combustible. para ello se utiliza un proceso de destilación aprovechando que el etanol tiene un punto de ebullición menor (78,3°C) que el agua(100°C) como la mezcla se calienta hasta que el alcohol se evapora y se pueda separar por condensación del mismo (Miliariun, 2006)

El jugo fermentado se vierte en un tanque y se calienta sobre un fuego de bagazo. El calor hace que el jugo se evapore y este vapor pasa a través de un alambique, el cual tradicionalmente está hecho de cobre, aunque hoy en día también se fabrican con acero inoxidable. El vapor pasa ahora por una serpentina o tubo espiralado. El agua fría de un arroyo cercano se usa para enfriar el alambique y volver a condensar el vapor hasta obtener un líquido transparente que se recoge del otro extremo del alambique. El agua vuelve a enfriarse en su recorrido al arroyo y regresa así al ecosistema.

7.2.8 Técnica de aislamiento por estría o agotamiento en placa

La siembra por estría es un método cualitativo de aislamiento de microorganismos por agotamiento en placa a partir de una muestra natural o de un cultivo de laboratorio. Este método está basado en arrastrar, mediante un asa de siembra, un número cada vez más pequeño de individuos.

Es un método rápido y simple de agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre un medio sólido contenido en una placa Petri. El objetivo es obtener, a partir de un elevado número de bacterias, un número reducido de ellas distribuidas individualmente sobre la superficie de la placa. Al incubar la placa, y dejar crecer las bacterias distribuidas sobre ella, cada una de las bacterias originará una colonia.

7.2.9 Determinación de pérdidas por contaminación microbiológica y sus implicaciones.

Los principales productos de la actividad microbiológica, además de la masa celular y los polisacáridos, son los azúcares reductores como productos intermedios, el manitol, ácidos orgánicos como el ácido láctico que sirve como indicador de la pérdida de azúcar, ácido acético, etanol, nitrito, H₂ y CO₂, dependiendo de la composición microbiana determinada por condiciones de diseño y operación de las plantas, así como de ciertas propiedades de la materia prima; estos productos metabólicos disminuyen el pH, producen componentes coloreados y permanecen en el proceso afectando la calidad de subproductos posteriores teniendo todos ellos un efecto “melazogénico”, es decir, que arrastran sacarosa con ellos a las melazas, disminuyendo la cantidad de sacarosa recuperada (Honig, 1969; Van der Poel, 1998).

Numerosos estudios han intentado determinar las pérdidas de sacarosa por microorganismos, estableciendo una relación entre la cantidad de ácidos producidos y la cantidad de sacarosa degradada. Con una disminución de los valores de pH de 0.5 puntos, se calcula una pérdida de 0.10 - 0.13 % de sacarosa, teniendo en cuenta la capacidad buffer del jugo en el caso de contaminación por *Clostridium sp.* y de 0.16 – 0.19 % en contaminación por *Bacillus sp.* (Hollaus, 1978). Sin embargo, teniendo en cuenta que los ácidos no se producen únicamente de la degradación de sacarosa sino también de azúcares reductores, las pérdidas podrían ser menores. Los azúcares reductores constituyen el índice más empleado para la detección de las pérdidas en los jugos, pues el incremento de la relación de éstos con los sólidos solubles significa pérdidas por inversión microbiana (Duarte *et al.*, 1982; Hollaus, 1978).

Los métodos para determinar actividad microbiológica pueden ser directos, mediante análisis polarimétrico y cromatográfico de la sacarosa, o indirectos como el recuento de microorganismos capaces de reproducirse generalmente en cultivos en placa en diferentes medios con pH y temperatura variables, la formación de subproductos metabólicos como el incremento de dextranas, ácidos y la formación de nitritos, concentración de manitol y cambios en los valores de pH o potencial redox en los jugos de caña; el objetivo principal de estas mediciones es monitorear las pérdidas de azúcar (Duarte *et al.*, 1982; Van der Poel, 1998; Appling *et al.*, 1959; Eggleston, 2001).

7.2.10 Técnica de aislamiento por banco de diluciones y recuento de células viables.

El aislamiento de microorganismos mediante banco de diluciones es un método tanto cualitativo como cuantitativo. Es cualitativo porque permite diferenciar las diferentes morfologías coloniales y también es cuantitativo porque permite conocer el número de microorganismos que hay en una suspensión. Consiste en realizar diluciones sucesivas de la muestra en condiciones de esterilidad, de manera que se va reduciendo el número de microorganismos de la suspensión inicial, con el objeto de sembrar después cantidades conocidas de las diluciones en placas Petri. Evidentemente, el número de microorganismos en algunas de las diluciones será tal que al distribuir una parte de ella en una placa originará colonias separadas en un número óptimo para su recuento.

Las diluciones se realizan en tubos que contienen una disolución mineral isotónica (solución Ringer 1/4) que mantiene la viabilidad de las células pero no permite la división celular. De

los tubos de las diluciones se siembra un volumen conocido, 0.01 ó 0.1 ml (10 ó 100 μ l), sobre una placa Petri. Conociendo el número de colonias (UFC), la cantidad sembrada y la dilución correspondiente, esta técnica permite evaluar el número de microorganismos viables en la muestra original.

7.3 Marco conceptual.

-Muestreo: El muestreo es el proceso de seleccionar un conjunto de individuos de una población con el fin de estudiarlos y poder caracterizar el total de la población.

-Aislamiento: El 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.

-Cepa: población de células de una sola especie descendientes de una única célula, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica.

- Halo: es el cerco de luz difusa que rodea a un cuerpo luminoso se lo conoce también como halo, tal es el caso del halo que se erige alrededor de un objeto.

-Variable: Una Variable es un objeto con cierta identidad, pero el medio que lo rodea lo obliga a variaren torno a las condiciones que se presentan.

- Borde: Se entiende por borde al límite que puede tener un objeto o una figura y que señala el fin de su superficie en relación con la del medio externo

-Morfología: Se denomina la rama de una disciplina que se ocupa del estudio y la descripción de las formas externas de un objeto.

-Fermentación: La fermentación es un proceso natural que ocurre en determinados compuestos o elementos a partir de la acción de diferentes actores y que se podría simplificar como un proceso de oxidación incompleta.

-Mosto: El mosto es el jugo que se obtiene del prensado de la caña dulce. El prensado se hace con un trapiche que puede ser de madera o de hierro.

-Contaminación: La Contaminación se denomina a la presencia en el ambiente de cualquier agente químico, físico o biológico nocivos para la salud o el bienestar de la población, de la vida animal o vegetal.

-Sabouraud dextrosa: Sabouraud Dextrose Agar (agar dextrosa Sabouraud) es un medio no selectivo para el cultivo y mantenimiento de hongo, levaduras. Se logra selectividad mediante la adición de cloranfenicol.

8. PREGUNTAS DIRECTRICES

¿Cómo influye el control de las variables en la obtención de alcohol artesanal en las diferentes fábricas productoras de alcohol artesanal?

¿Cómo influyen los tipos de levaduras en el proceso de obtención de alcohol artesanal en la zona La Maná?

9. METODOLOGÍAS

9.1. Procedimiento de obtención de datos en campo

9.1.1 Materiales.

Mostos de caña de azúcar.

9.1.2 Equipos e Instrumentos

Culer

Termómetro digital.

Refractómetro alcohólico

pH-metro digital.

Vino metro

Agua destilada

Tela lienzo

9.1.3 PROCEDIMIENTO

9.1.3.1 Identificación de las fabricas procesadoras de alcohol.

Se localizó cinco fábricas procesadoras de alcohol artesanal en el sector la Maná. Las que se dedican diariamente a la extracción de alcohol para la venta directa al consumidor.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.1.3.2 Extracción del jugo de caña de azúcar.

En la mañana se realizó la extracción del jugo de caña de azúcar con ayuda del trapiche. Según (Gómez, 2018) menciona que, la extracción del jugo se lleva a cabo en los molinos y consiste en la compresión de la fibra de caña entre cilindros.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.1.3.3 Transferencia del jugo a las cubas fermentadoras.

Finalizada la extracción del jugo de caña de azúcar en las tinas correspondientes el jugo es transferido a las cubas donde inicia el proceso de fermentación a temperatura ambiente cubriendo con plástico las cubas para ayudar a la conservación de la temperatura y evitar que ingresen impurezas e insectos que habitan en la zona.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018

9.1.3.4 Mediciones de temperatura, grados Brix, pH y alcohol real en La Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y el Guango.

Se procedió a la toma de datos (temperatura, °Brix, pH, grados de alcohol), de las pipas en un intervalo de cuatro horas hasta que termine su proceso de fermentación que generalmente tomó un tiempo de 24 horas a 40 horas, en las diferentes fábricas seleccionadas.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018

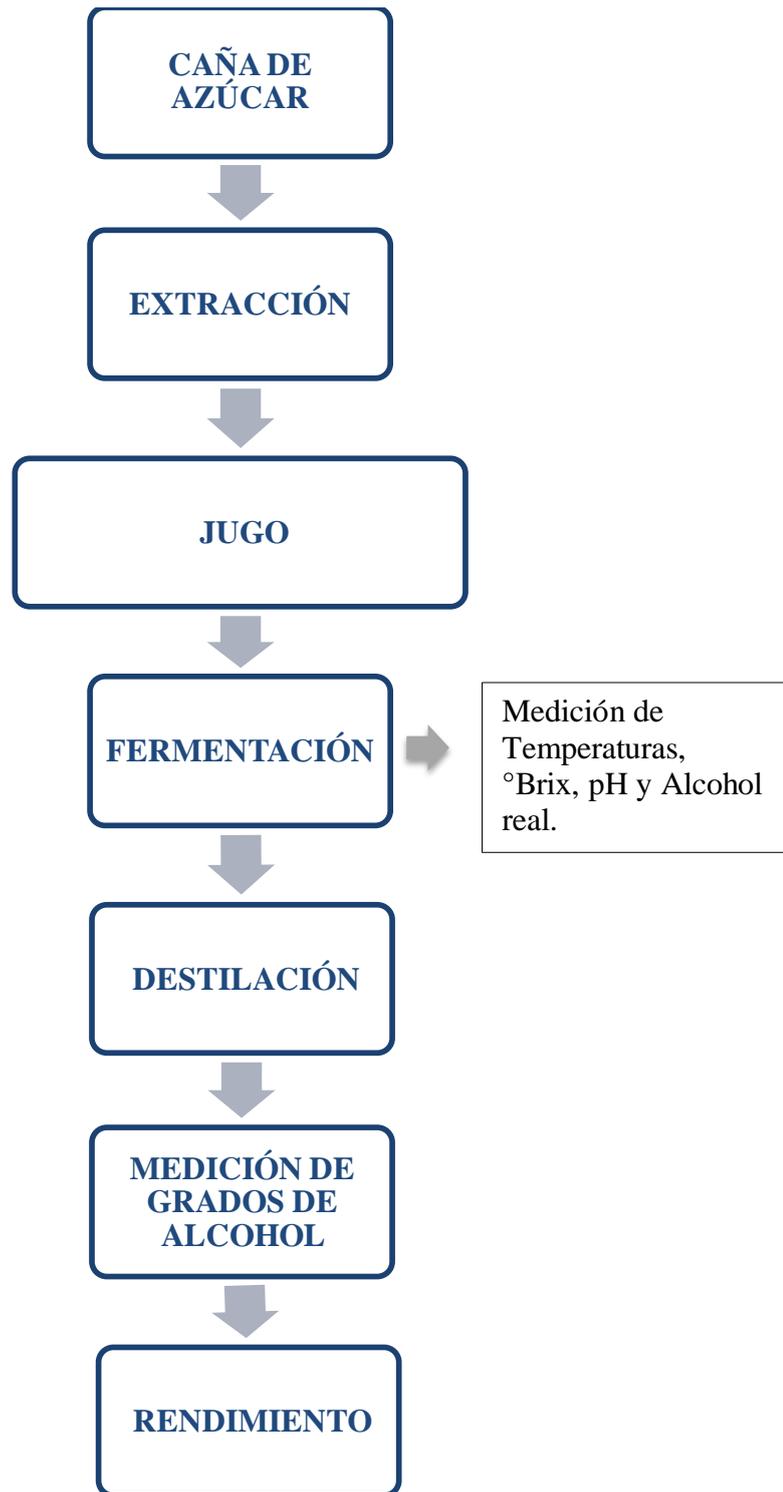
9.1.3.5 PROCESO DE DESTILACIÓN

Se procedió a colocar el jugo fermentado en el destilador, éste aparato consiste en un recipiente en el que se hierven los líquidos durante la destilación, el condensador con conexiones de entrada y salida de agua, el receptor en el que se recoge el destilado midiendo los grados de alcohol obtenido para determinar el rendimiento.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018

Diagrama 1. Diagrama de la investigación del Grado de contaminación y el rendimiento en las fábricas La Esperanza 1, La Esperanza 2, El negrillo, Pucayacu y El Guango en el sector La Maná.



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018)

En el diagrama de flujo número 1 representa las actividades realizadas durante la investigación de campo donde se realizó la extracción del jugo de caña de azúcar, y se colocó en las cubas para su proceso de fermentación, durante este proceso se tomó datos de la temperatura, °Brix, pH y alcohol real durante todo el proceso fermentativo, se realizó el

proceso de destilación y al finalizar se midieron los grados de alcohol para determinar el rendimiento

9.2 Aislamiento y selección de las levaduras encontradas en los procesos de fermentación de alcohol artesanal de la zona La Maná.

9.2.1 Materiales.

Jugo de los mostos de caña de azúcar.

Medio del cultivo (Agar sabouraud dextrosa).

Peptona

9.2.2 Equipos e Instrumentos

Incubadora.

Autoclave

Balanza electrónica.

Termómetro digital.

Recipientes de vidrio (Frascos Autoclavables)

Refractómetro

pH-metro digital.

Vasos de precipitación

Cajas Petri

Azas

Alcohol

Culer

9.2.3 PROCEDIMIENTO

9.2.3.1 Identificación de plantas procesadoras de alcohol.

Se localizó cinco fábricas procesadoras de alcohol en el sector La Maná. Las que se dedican diariamente a la extracción de alcohol para la venta directa al consumidor.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.2.3.2 Recolección de muestras.

Se tomó una alícuota de doscientos cincuenta ml de mosto por cada fábrica productora de alcohol artesanal directamente de las pipas, las cuales pueden contener de 200 a 250 litros al inicio del proceso fermentativo. Estos fueron transportados en frascos autoclavables en refrigeración a los laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.2.3.3 Procedimientos de muestreo en campo

Tabla 1. Descripción de la Muestra

	DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	CANTIDAD
1	Muestra líquida recolectada en la Esperanza	250 ml
2	Muestra líquida recolectada en la Esperanza	250 ml
3	Muestra líquida recolectada en Negrillo	250 ml
4	Muestra líquida recolectada en la Esperanza	250 ml
5	Muestra líquida recolectada en el Guango	250 ml

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 1, se observa la cantidad de alícuotas recolectadas en recipientes autoclavables, se tomó 250ml de las cubas en cada fábrica para ser transportadas en medios de refrigeración a una temperatura de 4°C hasta llegar a los laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

9.2.3.4 Transporte de las muestras

Las muestras fueron transportadas en un Culer en refrigeración a las instalaciones de los laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi para su previo estudio.

9.2.3.5 Esterilización de material

La esterilización de material es de suma importancia ya que se utilizó un material inocuo libre de toda contaminación para la recolección de muestras y obtención de un buen análisis de los resultados dentro y fuera del laboratorio.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018

9.2.3.6 Preparación de Sabouraud dextrosa (Agar)

La preparación de un medio a base de Sabouraud dextrosa agar para el aislamiento de las muestras en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018

9.2.3.7 Preparación de agua de peptona

El agua de peptona se usó como un diluyente y para el enriquecimiento bacteriano y desarrollo microbiano.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.2.3.8 Aislamiento de las levaduras nativas

Se realizó el aislamiento de los microorganismos obtenidos de las muestras, sembrándolas por el método de estriado en placas de Petri, en medio Sabouraud Dextrosa Agar



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018

9.2.3.9 Incubación de las levaduras

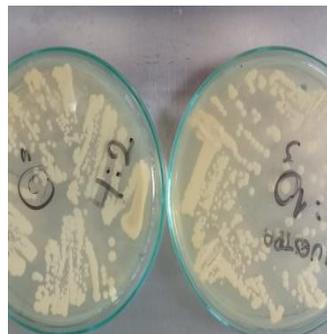
Los microorganismos aislados fueron incubados a temperatura de 32°C durante 24 horas para su crecimiento bacteriano.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.2.3.10 Caracterización de las cepas.

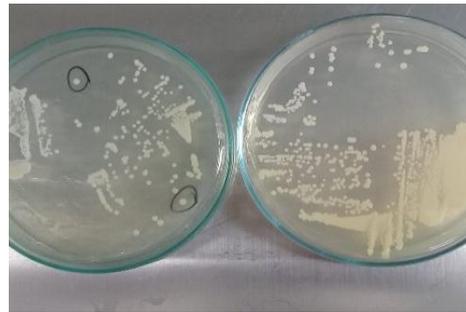
Las cepas fueron seleccionadas mediante estudios morfológicos en, color, borde, forma y halo.



Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.2.3.11 Selección de las levaduras

En este punto se procedió a determinar el grado estimado de contaminación microbiana hallada en cada una de las plantas procesadoras durante el proceso de fermentación, los resultados obtenidos se dan según la cantidad o variedad de microorganismos identificados en cada muestra.

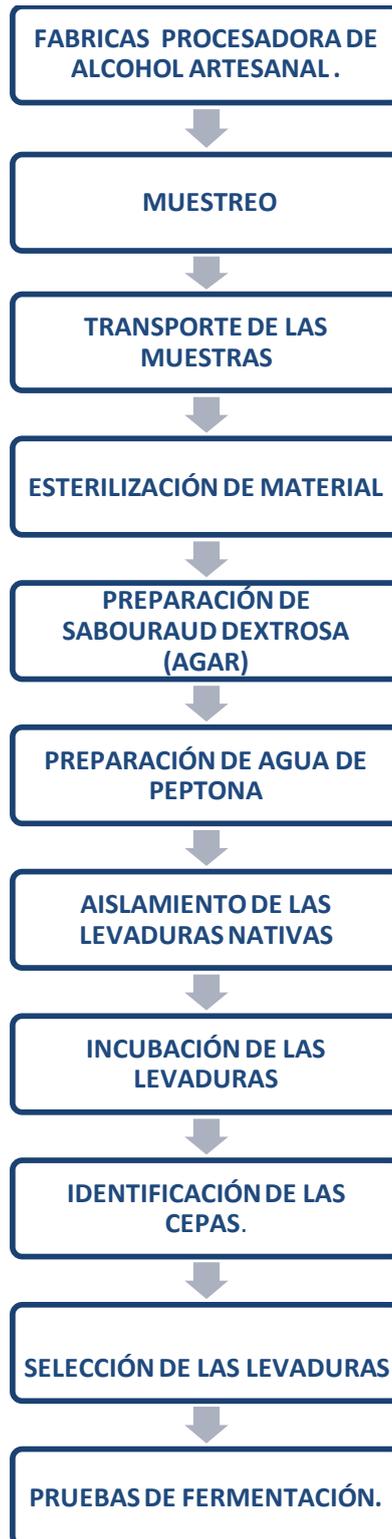


Fuente: Escobar R. Méndez D.2018.

9.2.3.12 Pruebas de fermentación.

Se realizó pruebas de fermentación, donde las levaduras identificadas serán cultivadas en medio para la fermentación (en jugo de caña “sintético” a nivel de laboratorio) comprobando la capacidad de fermentación y se comparó la eficiencia en el consumo de azúcares en las cepas seleccionadas, conociendo finalmente el grado de alcohol obtenido y su rendimiento. Por medio de las técnicas de investigación.

Diagrama de Flujo 2. Aislamientos y selección de las levaduras encontradas en los procesos de fermentación de alcohol artesanal de la zona La Maná.



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018)

10. ANALISIS Y RESULTADOS.

10.1 Análisis de los resultados obtenidos en campo.

Tabla 2. Relación entre Tiempos y Hora

HORA	TIEMPO
8:00	1
12:00	2
16:00	3
20:00	4
24:00	5
28:00	6
32:00	7
36:00	8
40.00	9

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018)

En la tabla 2 indica que en el intervalo de cuatro horas se representa con un tiempo específico.

TABLA 3. Media de los datos de la fábrica la Esperanza 1.

TRAPICHE : LA ESPERANZA 1					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	24,5	15,3	5,4	5,2
12:00	2	26,11	14,2	4,4	5,6
16:00	3	28,4	12,3	3,7	8,4
20:00	4	28,6	10,2	3,6	9,2
24:00	5	31,8	9,4	3,5	10,3
28:00	6	33,6	8,4	3,4	11,6
32:00	7	34,4	7,4	3,4	12,3
36:00	8	34,4	6,4	3,4	12,7
40.00	9	32.8	5,4	3,3	13,13

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 3, se determinan los promedios obtenidos de los resultados tomados en campo de las variables (Temperatura, °Brix, pH y Alcohol Real) del sector la Esperanza 1.

TABLA 4. Media de los datos de la fábrica la Esperanza 2.

TRAPICHE : LA ESPERANZA 2					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	° BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	23,1	12,6	2,6	6,1
12:00	2	26	10,2	2,7	7,9
16:00	3	26,2	9,0	3,1	8,6
20:00	4	31,1	8,1	3	9,0
24:00	5	32,8	7,0	3,5	10,5
28:00	6	31,8	6,6	3,43	11,6
32:00	7	31,3	6,4	3,46	12,2
36:00	8	27,3	5,9	3,05	12,4

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 4, se obtienen los Promedios obtenidos de los resultados tomados en campo de las variables (Temperatura, °Brix, pH y Alcohol real) del sector la Esperanza 2.

TABLA 5. Media de los datos de la fábrica el Negrillo.

TRAPICHE : EL NEGRILLO					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	° BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	22,6	18,5	5,3	4,7
12:00	2	25,8	14,2	3,5	5,3
16:00	3	26,2	13,5	4,0	8,6
20:00	4	30,8	10,8	4,4	9,1
24:00	5	29,5	9,6	6,4	9,3
28:00	6	28,01	8,4	3,3	9,4
32:00	7	27,1	7,7	3,1	9,8
36:00	8	23,7	6,2	2,6	10,6
40:00	9	21,3	5,3	2,8	11,0

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 5, se observan los promedios obtenidos de los resultados tomados en campo de las variables (Temperatura, °Brix, pH y Alcohol Real) del sector el Negrillo.

TABLA 6. Media de los datos de la fábrica Pucayacu.

TRAPICHE : PUCAYACU					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	PH	ALCOHOL REAL
8:00	1	21,5	16,5	3,8	6,2
12:00	2	21,9	15,3	3,5	6,2
16:00	3	23,5	14,2	3,2	7,2
20:00	4	27,4	9,5	3,2	8,1
24:00	5	29,1	6,5	2,9	9,2
28:00	6	28,5	5,3	2,4	10,3
32:00	7	27,2	4,9	2,3	11,3
36:00	8	24,8	4,6	2,2	11,9
40.00	9	22,7	4,4	2,3	12,2

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018)

En la tabla 6, se obtuvo los promedios obtenidos de los resultados tomados en campo de las variables (Temperatura, °Brix, pH, Alcohol Real) del sector Pucayacu.

TABLA 7. Media de los datos de la fábrica El Guango.

TRAPICHE: EL GUANGO					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	22,4	16,4	4,6	3,3
12:00	2	24,7	15,2	4,8	5,2
16:00	3	26,1	13,6	4,4	6,2
20:00	4	28,0	10,4	3,7	6,6
24:00	5	26,3	6,4	5,8	7,5
28:00	6	24,7	5,2	3,6	8,2
32:00	7	24,7	4,5	3,3	9,9
36:00	8	22,0	3,7	2,8	11,2
40.00	9	20,8	2,9	2,1	12,0

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 7 se encuentran los promedios obtenidos de los resultados tomados en campo de las variables (Temperatura, ° Brix, pH y Alcohol real) del sector Guango.

TABLA 8. Temperaturas. Temperaturas de la Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango

TEMPERATURA									
FABRICA	TIEMPOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
LA ESPERANZA 1	24.5	26.11	28.4	28.6	31.8	33.6	34.4	34.4	32.8
LA ESPERANZA 2	23.1	26	26.2	31.1	32.8	31.8	31.3	27.3	
EL NEGRILLO	22.6	25.8	26.2	30.8	29.5	28.1	27.01	23.7	21.3
PUCAYACU	21.5	21.9	23.5	27.4	29.1	25.5	27.2	24.8	22.7
GUANGO	22.4	24.7	26.1	28	26.3	24.7	24.7	22.0	20.8

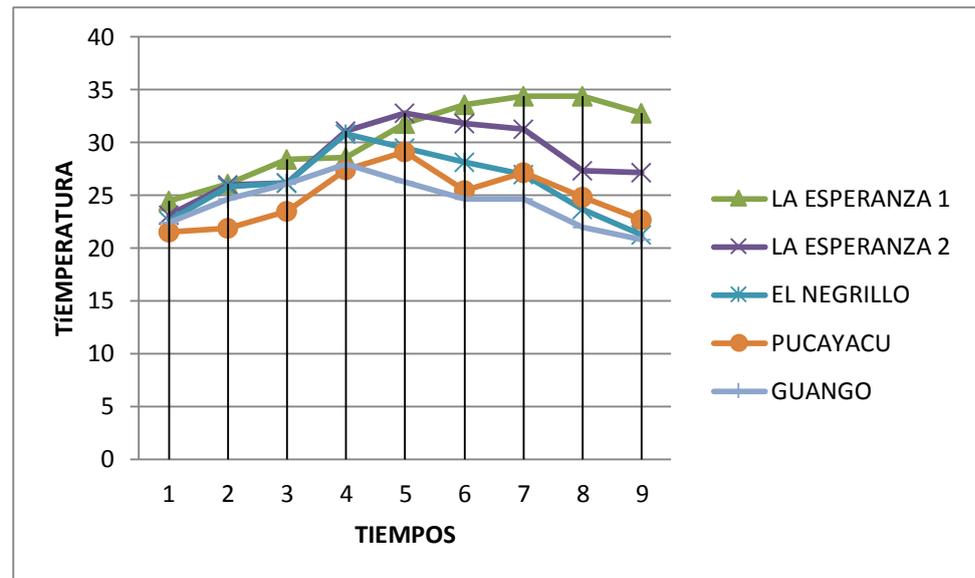
Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018)

En la tabla 8, se observan los datos de las temperaturas tomadas de las fábricas, La Esperanza 1, El Negrillo, Pucayacu y El Guango productoras de alcohol artesanal durante el proceso de fermentación que duro 40 horas, la Esperanza 2 tuvo un proceso de fermentación que duro 36 horas. Se observó que la fábrica que de la esperanza 1 es la única que mantiene una temperatura en curso sin descensos ni aumentos bruscos durante el proceso como es el caso del Negrillo y el Guango donde se observó que empiezan con temperaturas bajas y a mitad del proceso de fermentación en el tiempo 5 descienden más que su temperatura inicial.

Debido a que estas dos fábricas mencionadas no cuentan con el equipo necesario para realizar el control necesario de temperaturas como es el caso de la esperanza 1 que tiene los equipos necesarios para determinar temperaturas grados °Brix pH y volumen de alcohol.

La ubicación de las cubas también es importante en el fermentación del jugo , tomando como referencia a la esperanza 1 por su aumento de temperatura constante sin alteraciones se debe a que las cubas están ubicadas a una distancia de 4 metros lejos del resto de procesos como es el de la destilación que se realiza con la quema del bagazo de la caña ,en el negrillo y el guango las cubas están cerca de lugar donde realizan la destilación por ese motivo la temperatura en estos lugares tienden a subir bruscamente por el calor que genera este proceso

Grafico 2. Temperaturas de la Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

Según el gráfico 2, se observa el esquema gráfico de las temperaturas obtenidas en las cinco fábricas procesadoras de alcohol artesanal.

Discusión:

Según Villamil Y, Z. Y. 1999, menciona que la temperatura de crecimiento de la mayoría de las levaduras está comprendida entre 5 y 37°C. El valor óptimo se sitúa hasta los 28°C. Sin embargo estas temperaturas no son rigurosamente las óptimas de crecimiento de las levaduras cuando se encuentran en sus ambientes naturales.

El proceso de fermentación del mosto del jugo de caña producido en los sectores de la Maná se realiza de forma artesanal, sin un control de las variables que influyen en los cambios de temperatura de trapiche a trapiche puesto que se realiza a temperatura ambiente. En el estudio de campo que se realizó se determinó que la temperatura oscila entre 21,5 a 32,8 de trapiche a trapiche en el mosto del jugo de caña esto afecta el tiempo de fermentación y la concentración de etanol obtenido, por lo que concluye que el trapiche que logra una rápida fermentación es el del sector la Esperanza 1 donde su temperatura alcanza los 32,8°C por las condiciones y el proceso de fermentación al que se sometía, mientras que en El Guango solo alcanzaba una temperatura de 22,4°C a 20,8°C por tener unas condiciones menos óptimas en el proceso de fermentación

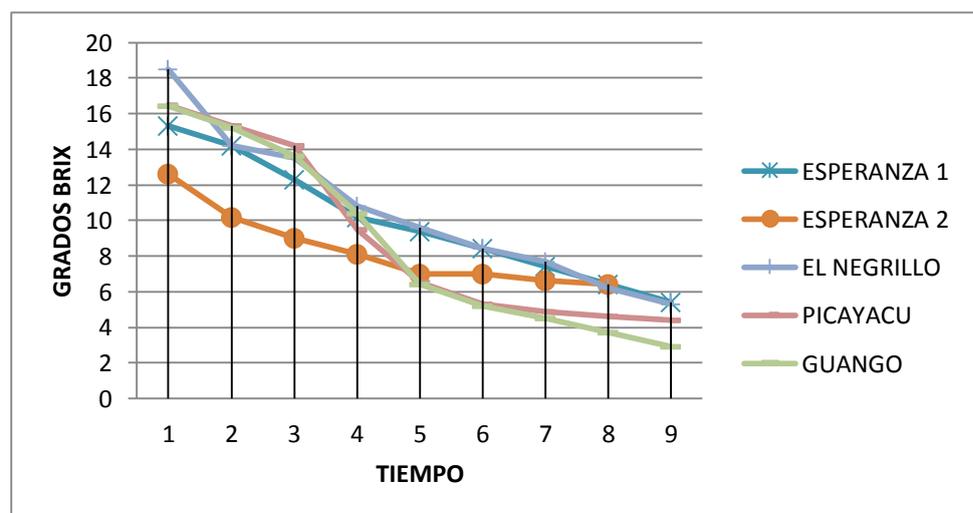
TABLA 9. Grados Brix de las fábricas La Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.

GRADOS BRUX									
FABRICA	TIEMPOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ESPERANZA 1	15,3	14,2	12,3	10,2	9,4	8,4	7,4	6,4	5,4
ESPERANZA 2	12,6	10,2	9,0	8,1	7,0	7,0	6,6	6,4	
EL NEGRILLO	18,5	14,2	13,5	10,8	9,6	8,4	7,7	6,2	5,3
PICAYACU	16,5	15,3	14,2	9,5	6,5	5,3	4,9	4,6	4,4
GUANGO	16,4	15,2	13,6	10,4	6,4	5,2	4,5	3,7	2,9

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 9, se observan los datos de las temperaturas tomadas de las fábricas, La Esperanza 1, El Negrillo, Pucayacu y El Guango productoras de alcohol artesanal durante el proceso de fermentación que duro 40 horas, la Esperanza 2 tuvo un proceso de fermentación que duro 36 horas. Las cinco fábricas procesadoras de alcohol están dentro del rango de 12 a 22 °Brix inicial por lo que se puede observar en la tabla que las cinco fábricas transformaron sus azúcares en alcohol a pesar de que en el negrillo y el guango no tenían unas temperaturas estables. Los datos del volumen de alcohol nos ayudaron a determinar que fabrica es la que mejor a degradado el azúcar como se puede observar en la tabla 11. La esperanza 1 tiene 13.3 de alcohol real siendo la mejor dentro de las cinco fábricas.

GRAFICO 3. Grados Brix de la Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

Según el gráfico 3, se determina el descenso que existe en los ° Brix de las cinco fábricas procesadoras de alcohol.

Discusión:

En la gráfica se puede observar que los °Brix de las cinco fábricas procesadoras de alcohol empezaron con datos altos de sólidos solubles y éstos empezaron a descender desde el tiempo 1 hasta finalizar el proceso de fermentación en el tiempo 9 obteniendo datos bajos de °Brix, esto significa que según (Sarmiento, A. 2003). El mosto para la fermentación alcohólica debe tener una contaminación °Brix entre 12 a 22, ya que si el °Brix es muy bajo el grado alcohólico obtenido será pobre. Por lo contrario si el °Brix es muy alto la fermentación no se efectúa, porque la presión osmótica que se ejerce sobre las levaduras es grande y no permite que actúen.

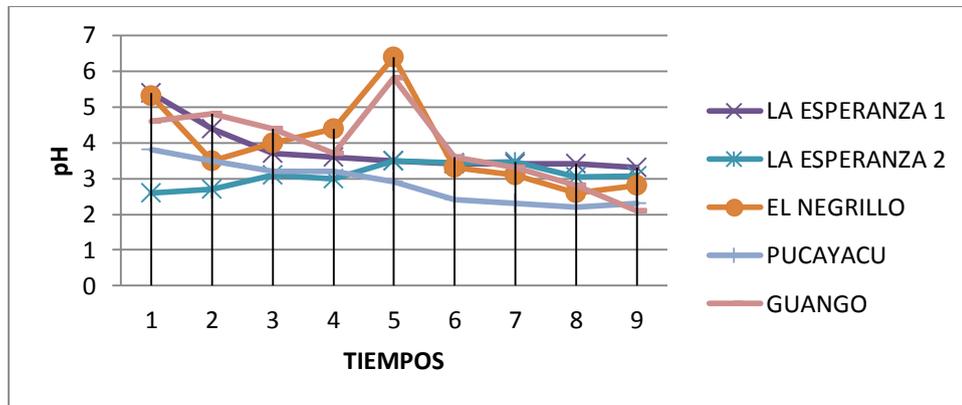
Según (Farias, E.2006) Al finalizar la fermentación hay que controlar los °Brix con los que termina, para poder saber en qué condiciones finaliza el proceso, si se ha transformado todos los azúcares en alcohol. Según los datos obtenidos las cinco fábricas han transformado todos sus azúcares pero en mayor cantidad la fábrica de Pucayacu y El Guango debido a que son las dos fábricas que iniciaron y terminaron con temperaturas bajas al resto.

TABLA 10. pH de la Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.

Ph									
FABRICA	TIEMPOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
LA ESPERANZA 1	5.4	4.4	3.7	3.6	3.5	3.4	3.4	3.4	3.3
LA ESPERANZA 2	2.6	2.7	3.1	3	3.5	3.43	3.46	3.05	
EL NEGRILLO	5.3	3.5	4.0	4.4	6.4	3.3	3.1	2.6	2.8
PUCAYACU	3.8	3.5	3.2	3.2	2.9	2.4	2.3	2.2	2.3
GUANGO	4.6	4.8	4.4	3.7	5.8	3.6	3.3	2.8	2.1

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 10, se observan los datos de las temperaturas tomadas de las fábricas, La Esperanza 1, El Negrillo, Pucayacu y El Guango productoras de alcohol artesanal durante el proceso de fermentación que duro 40 horas, la Esperanza 2 tuvo un proceso de fermentación que duro 36 horas. En la esperanza 1 se pudo observar que el pH se encuentra dentro del rango de pH investigado que es de 3 – 5 que es óptimo por lo tanto esta fábrica no tiene contaminación bacteriana a diferencia de las cuatro fábricas restantes que según los datos obtenidos si presentan una contaminación microbiana dentro de su proceso de fermentativo.

GRAFICO 4. pH de la Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En el gráfico 4, se observa la variación de pH que existe en las fábricas La Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.

Discusión

Según investigaciones realizadas por la Universidad de Zulia determinan que un pH óptimo para la fermentación es de 3- a 5, donde determina que a mayor pH durante la fermentación se considera que existiría mayor contaminación en la fermentación del mosto. Por lo que se considera que en el estudio de campo se observó que en el sector del Negrillo se obtuvo un mayor porcentaje de pH por lo que se considera que en el sector existe una mayor contaminación bacteriana por lo que impide una rápida fermentación del mosto

TABLA 11. Alcohol real de las fabricas La Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.

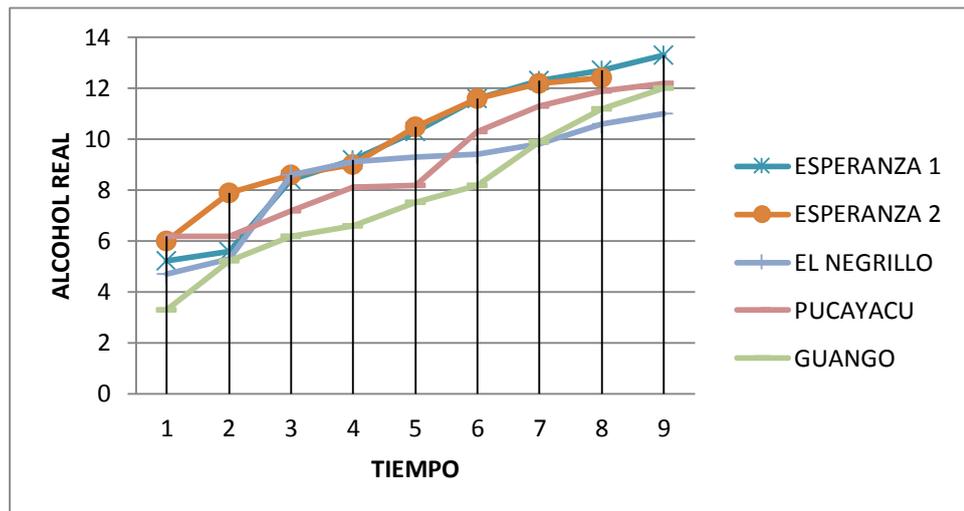
ALCOHOL REAL									
FABRICA	TIEMPOS								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ESPERANZA 1	5,2	5,6	8,4	9,2	10,3	11,6	12,3	12,7	13,3
ESPERANZA 2	6,01	7,9	8,6	9	10,5	11,6	12,2	12,4	
EL NEGRILLO	4,7	5,3	8,6	9,1	9,3	9,4	9,8	10,6	11
PUCAYACU	6,2	6,2	7,2	8,1	8,2	10,3	11,3	11,9	12,2
GUANGO	3,3	5,2	6,2	6,6	7,5	8,2	9,9	11,2	12

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 11, se observan los datos del alcohol real tomadas de las fábricas, La Esperanza 1, El Negrillo, Pucayacu y El Guango productoras de alcohol artesanal durante el proceso de fermentación que duro 40 horas, la Esperanza 2 tuvo un proceso de fermentación que duro 36

horas .se puede observar en la tabla que la mejor fabrica que a transformado sus azucares es la esperanza 1 que tiene como resultado final un 13, 3 de alcohol real durante la fermentación a comparación de las cuatro fábricas que tienen un alcohol real bajo .

GRAFICO 5. Alcohol real de las fabricas La Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu Y El Guango.



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En el gráfico 5, se determina la varianza que se obtuvo de alcohol real al final del proceso fermentativo.

Discusión:

Según (Farias, E.2006), al finalizar la fermentación hay que controlar los °Brix con los que termina, para poder saber en qué condiciones finaliza el proceso, si se ha transformado todos los azúcares en alcohol. El alcohol real de las cinco fábricas ha incrementado durante todo el proceso de fermentación, esto quiere decir que los azúcares se han transformado en alcohol, las fábricas que obtuvieron mayor cantidad de alcohol real fueron La Esperanza 1 y La Esperanza 2, porque en el proceso de fermentación inicio y termino con temperaturas altas.

10.2 Rendimiento

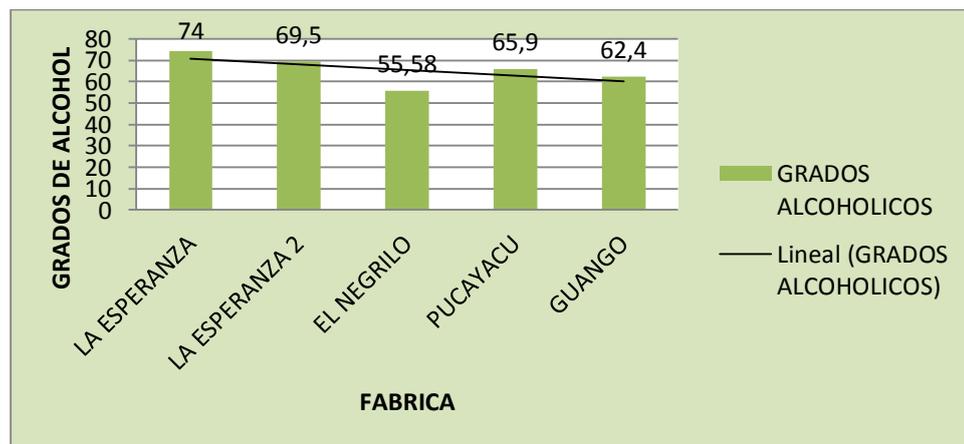
TABLA 12. Grados de alcohol en las fábricas La Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.

GRADOS DE ALCOHOL					
FABRICA	LA ESPERANZA 1	LA ESPERANZA 2	EL NEGRILLO	PUCAYACU	GUANGO
GRADOS DE ALCOHOL	74	69.5	55.58	65.9	62.4

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 12, se observa los grados de alcohol obtenidos al final del proceso de destilación de las cinco fábricas productoras de alcohol. se puede observar que la esperanza 1 es la que tiene mayor grados de alcohol por el buen manejo de temperaturas y tiene un pH óptimo el negrillo y el guango tienen bajos grados de alcohol por su falta de equipos y la mala ubicación de las cubas en el proceso de fermentación por lo que genera bajos rendimiento y el alcohol no sea de buen calidad y no genera ingresos.

Grafico 6: Grados de alcohol en fábricas La Esperanza 1, La Esperanza 2, El Negrillo, Pucayacu y El Guango.



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018)

En el gráfico 6, se determina el rendimiento que se obtuvo de los grados de alcohol en los diferentes sectores de la Maná.

Discusión:

Según (Quintero, 1981, Phaff, 1979, Reyes et al., 1993), México. Los rendimientos de etanol y CO₂ en la práctica son siempre menores a los valores teóricos. Estos dependen del inóculo

(tipo, actividad y concentración de la cepa de levadura), de la composición del medio de cultivo (concentraciones de fuentes de macronutrientes, micronutrientes, factores de crecimiento, e inhibidores), de las condiciones ambientales (temperatura, presencia o ausencia de O₂, pH y Brix), del crecimiento microbiano.

Según (Phaff , 1979, USA), menciona que la actividad de la fermentación disminuye cuando la disponibilidad del sustrato principal (azúcares) llega a una concentración limitante, observándose entonces un desprendimiento mínimo de burbujas.

La temperatura de cultivo es uno de los principales factores que afectan a la cinética de la fermentación alcohólica. Influye en el rendimiento y en la velocidad de producción del etanol. Según los gráficos 3 y 5 podemos notar que a la mitad de la fermentación se observó un ascenso de pH y ° Brix por una alteración de la temperatura gráfico 3, y por consiguiente se considera que hay una contaminación bacteriana que infectaron a las levaduras provocando una mala fermentación y por consiguiente obteniendo un bajo rendimiento de grados de alcohol como se ve en el gráfico 7, donde las dos fábricas el Negrillo y Guango son las de más bajo grado de alcohol obtenido al final del proceso.

10.3 Análisis de los resultados a nivel de laboratorio

Tabla 13. Caracterización de las levaduras nativas.

CEPAS	COLOR	BORDE	FORMA	ELEVACIÓN DE LA COLONIA
CEPA 1	Cremoso	Entero	Puntiforme	Baja
CEPA 2	Blanco	Ondulado	Circular	Alta
CEPA 3	Blanco	Entero	Circular	Alta
CEPA 4	Blanco	Entero	Circular	Alta
CEPA 5	Cremoso	Ondulado	Irregular	Baja
CEPA 6	Blanco	Ondulado	Circular	Alta
CEPA 7	Cremoso	Entero	Puntiforme	Baja

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la Tabla 13, se observa la caracterización de las cepas según su color, borde, forma y elevación de la colonia, para poder conocer de manera cualitativa directo del cultivo que género bacteriano puede ser, además los cultivos tienen sustancias nutritivas pero también indicadores (que maneja un pH) con el que la morfología de las colonias constituye una de las características morfológicas de las bacterias indispensables para su aislamiento.

imiento, e inhibidores), de las condiciones ambientales (temperatura, presencia o ausencia de O₂, pH y Brix), del crecimiento microbiano.

Según (Phaff , 1979, USA), menciona que la actividad de la fermentación disminuye cuando la disponibilidad del sustrato principal (azúcares) llega a una concentración limitante, observándose entonces un desprendimiento mínimo de burbujas.

La temperatura de cultivo es uno de los principales factores que afectan a la cinética de la fermentación alcohólica. Influye en el rendimiento y en la velocidad de producción del etanol. Según los gráficos 3 y 5 podemos notar que a la mitad de la fermentación se observó un ascenso de pH y ° Brix por una alteración de la temperatura gráfico 3, y por consiguiente se considera que hay una contaminación bacteriana que infectaron a las levaduras provocando una mala fermentación y por consiguiente obteniendo un bajo rendimiento de grados de alcohol como se ve en el gráfico 7, donde las dos fábricas el Negrillo y Guango son las de más bajo grado de alcohol obtenido al final del proceso.

10.3 Análisis de los resultados a nivel de laboratorio

Tabla 13. Caracterización de las levaduras nativas.

CEPAS	COLOR	BORDE	FORMA	ELEVACIÓN DE LA COLONIA
CEPA 1	Cremoso	Entero	Puntiforme	Baja
CEPA 2	Blanco	Ondulado	Circular	Alta
CEPA 3	Blanco	Entero	Circular	Alta
CEPA 4	Blanco	Entero	Circular	Alta
CEPA 5	Cremoso	Ondulado	Irregular	Baja
CEPA 6	Blanco	Ondulado	Circular	Alta
CEPA 7	Cremoso	Entero	Puntiforme	Baja

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la Tabla 13, se observa la caracterización de las cepas según su color, borde, forma y elevación de la colonia, para poder conocer de manera cualitativa directo del cultivo que género bacteriano puede ser, además los cultivos tienen sustancias nutritivas pero también indicadores (que maneja un pH) con el que La morfología de las colonias constituye una de las características morfológicas de las bacterias indispensables para su aislamiento.

Tabla 14: Análisis de resultados según el parámetro ° Brix

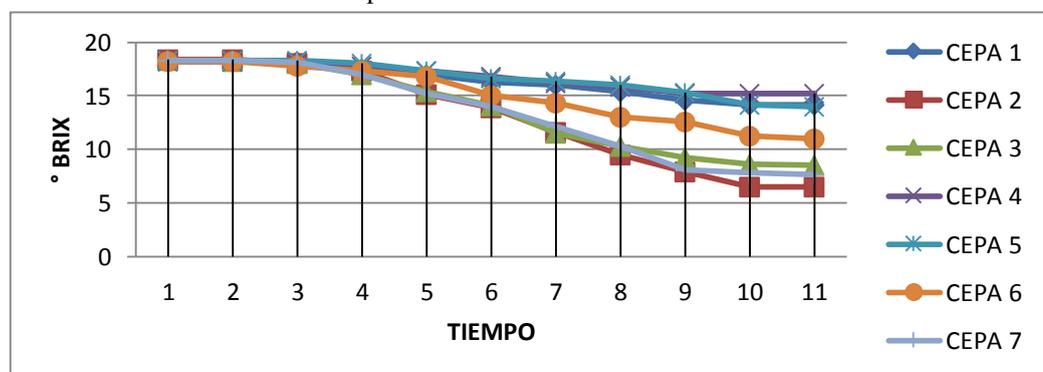
Brix							
	CEPA 1	CEPA 2	CEPA 3	CEPA 4	CEPA 5	CEPA 6	CEPA 7
1	18,2	18,4	18,3	18,2	18,3	18,2	18,3

2	18,2	18,4	18,2	18,2	18,3	18,2	18,3
3	18,2	18	18	18,2	18,3	17,8	18,1
4	17,5	17,3	17	17,8	18	17,3	17
5	17	15,1	15,4	17,3	17,3	16,8	15,2
6	16,3	13,9	14,1	16,8	16,6	15	14
7	16	11,6	11,5	16,2	16,4	14,3	12,1
8	15,4	9,5	10,3	15,8	16	13	10,3
9	14,6	7,9	9,2	15,2	15,3	12,6	8,1
10	14,2	6,5	8,6	15,2	14,2	11,3	7,8
11	14,2	6,5	8,5	15,2	14	11	7,7

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la tabla 14, se observa la tabulación de datos obtenidos en las pruebas de fermentación de las siete cepas aisladas que duró un tiempo de 48 horas a nivel de laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Se puede observar que la mejor cepa degradadora de azúcar es la cepa 2 que empezó con 18,4 °Brix y terminó con 6,5 °Brix. Seguida de la cepa 7 que empezó con 18,3 °Brix y terminó con 7,7 °Brix.

Gráfica 7. Grados Brix de las cepas fermentadoras seleccionadas en el laboratorio



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En el gráfico 7, se observa los porcentajes de °Brix de las diferentes cepas obtenidas a nivel de laboratorio, para conocer la cantidad de azúcar presentes las muestras.

Discusión:

Según el Laboratorio Manual for South Africa Sugar Factories, 1985, menciona que los Grados Brix determinan la concentración de sólidos disueltos en una solución de sacarosa. Por lo que se determinó que en el gráfico 7, que la cepa 2 y la cepa 7 fueron las que

disminuyeron con rapidez los Grados Brix a 6,5 y 7,7 respectivamente, hidrolizando la sacarosa y produciendo fructosa y glucosa durante la fermentación.

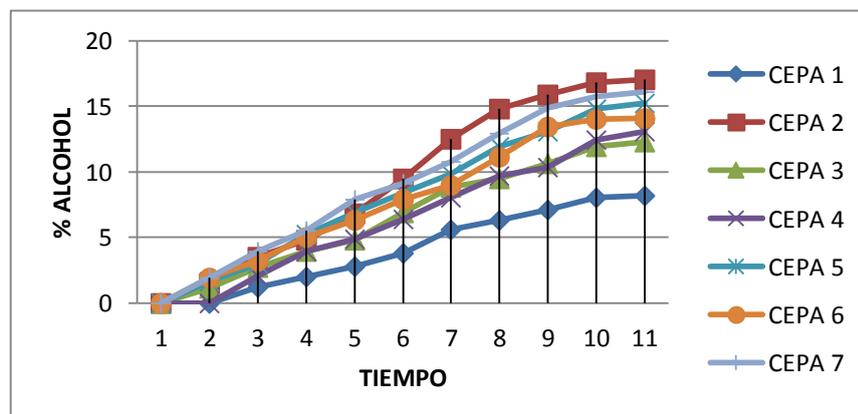
Tabla 15. Análisis de resultados según el parámetro volumen de alcohol

% Alcohol							
TIEMPO	CEPA 1	CEPA 2	CEPA 3	CEPA 4	CEPA 5	CEPA 6	CEPA 7
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	1,5	1,1	0	1,6	1,9	1,9
3	1,2	3,5	2,7	2,1	3	3,2	3,9
4	2	4,8	3,9	3,9	5,2	5	5,5
5	2,8	6,8	4,8	4,9	6,9	6,3	7,9
6	3,8	9,5	6,9	6,4	8,4	7,9	9,1
7	5,6	12,5	8,8	8	9,8	9	10,8
8	6,3	14,8	9,5	9,7	11,9	11,1	12,9
9	7,1	15,9	10,6	10,3	13,1	13,4	14,9
10	8	16,8	11,9	12,4	14,8	14	15,7
11	8,2	17	12,3	13,1	15,2	14,1	16,1

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la Tabla 15, se observa la tabulación de datos obtenido del porcentaje de alcohol en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi. En la tabla se demuestra que las mejores cepas que han degradado el azúcar en alcohol fueron la cepa 2 y la cepa 7 como se representa en la tabla 14. obteniendo de la cepa 2 un porcentaje de 17 alcohol real y la cepa 7 genero un 16,1 de alcohol real. Siendo la cepa 2 y la cepa 7 las mejores.

Grafico 8. Análisis de porcentaje de alcohol



Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En el gráfico 8, se puede observar los porcentajes de alcohol obtenidos de las diferentes cepas a nivel de laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Discusión:

Según (Sarmiento, A. 2003). Menciona que cuando los grados Brix son altos el rendimiento del alcohol real es alto. Por lo que se identificó en el gráfico 8, que la cepa 6 y la cepa 7 fueron de 17 y 16,1 respectivamente en su porcentaje de alcohol obtenidos, logrando un rendimiento adecuado en el proceso final de la fermentación.

ANALISIS DE RESULTADOS DE TIEMPO DE GENERACION

Tabla 16: Tiempo de Generación.

TIEMPO DE GENERACIÓN						
CEPA 1	CEPA 2	CEPA 3	CEPA 4	CEPA 5	CEPA 6	CEPA 7
56 min	88 min	77 min	66 min	70 min	56 min	66min

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

Determinación del tiempo que se requirió para que cada cepa se multiplique. la cepa que tiene un crecimiento rápido es la cepa 2 .comparado con un dato bibliográfico que menciona que Según el Dr. Pedro F.2008, en el tiempo de generación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es de 90 minutos y el de la bacteria *Escherichia coli* es 20 minutos. Por lo que se considera que la cepa con mayor tiempo de generación es la cepa 2 que se trata de una levadura *Saccharomyces* nativa del mosto del jugo de caña ya que el tiempo de generación se acerca al tiempo establecido bibliográficamente.

Ecuación para la determinación del tiempo de generación.

$$G = \frac{t}{n}$$

Dónde: $n = N_i - N_f$

$$G = \frac{t}{N_i - N_f}$$

Dónde:

G= Tiempo de generación.

T=Tiempo de fermentación.

N_i=Numero de microorganismos iniciales.

N_f= Numero de microorganismos

11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

➤ **IMPACTOS TECNICOS.**

Durante la investigación de campo se incentivó a los productores del sector de la Maná, para obtener un monitoreo de temperaturas, pH, grados Brix, etc., de una manera tecnificada ya que el mosto necesita alcanzar una temperatura adecuada para la hidrolización de los azúcares en alcohol por lo que se recomendó que las cubas sean de madera forradas con plásticos hasta alcanzar a una temperatura optima que no sobrepase los 35°C para alcanzar su fermentación en menor tiempo, contribuyendo a una buena producción y rendimiento.

➤ **IMPACTOS SOCIALES.**

La capacitación técnica durante la investigación de campo en los diferente sectores, influyó que los productores de alcohol inicien un control adecuado en de las variables garantizando a de más de la obtención de conocimientos un procesamiento adecuado de la fermentación del jugo de caña, para la obtención de un alcohol de calidad

➤ **IMPACTOS AMBIENTALES.**

La producción de alcohol artesanal ha influido en el desarrollo del sector, ya que esta explotación ha contribuido a que se utilice de manera adecuada los desechos obtenidos de la producción de caña de azúcar y su posterior destilación de alcohol, obteniendo fuentes de energía para el calentamiento de los alambiques durante el

proceso de destilación del alcohol, ocasionando un ahorro considerable en otras fuentes de energía para su proceso.

➤ **IMPACTOS ECONÓMICOS.**

La Maná por ser un sector productor de caña de azúcar ha contribuido a la explotación de esta materia prima brindando fuentes de empleo a las comunidades del sector, incentivando al resto de la población a dedicarse a la producción de alcohol artesanal y obteniendo réditos económicos por la venta del alcohol obtenido artesanalmente por los productores.

12. PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO

Tabla 17. Gastos de materiales

Material	Cantidad	V. unitario	V. total
Vasos de precipitación de 500 ml	4	6	24,00
Cajas Petri	200	1	200,00
Pipetas	50	3	150,00
Paletas	5	1	5,00
Papel aluminio	2	1,5	3,00
Papel absorbente	1	5	5,00
Alcohol	3	3	9,00
Tubos de ensayo	10	1	10,00
Agares (sabouraud dextrosa)	2	80	160,00
Peptona	1	80	80,00
		Total	646,00

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

Tabla 18. Depreciación de equipos

Activo fijo	Costos	Depreciación	Anual	Mensual	Diario
pH-metro	\$50,00	10%	\$ 5	\$ 0,42	\$ 0,014
Termómetro	\$30,00	10%	\$3,00	\$ 0,25	\$0,008
Refractómetro	\$210,00	10%	\$21,00	\$1,75	\$0,05
Hornilla	\$50,00	10%	\$5	\$0,41	\$0,01

Balanza digital	\$20,00	10%	\$2	\$0,17	\$0,005
Incubadora	\$600,00	10%	\$60,00	\$5	\$0,16
Autoclave	\$500,00	10%	\$50,00	\$4,6	\$0,13
					\$ 0,38

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

Tabla 19. Otros gastos

Transporte	100%	\$30
	10%	= x 3

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

Tabla 20. Gasto Total

Gasto de materiales	\$646,00
Depreciación de equipos	\$ 0,38
Transporte	\$ 3,00
Total	\$ 649,38

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

13. CONCLUSIONES

- Se aislaron siete cepas de los mostos Se determinó que en la fábrica el Negrillo y Guango dos de las cinco fábricas del sector de la Maná existe presencia de contaminación microbiana puesto que los cambios de temperatura, grados Brix, pH han afectado su rendimiento al final de la destilación por lo que se presume que durante la fermentación se produjo una fermentación acética que afecto a la producción, por causa de contaminación microbiana.
- Se determinó que la fábrica de la esperanza 1 es la que está libre de una contaminación microbiana según los datos obtenidos también se debe a que esta fábrica posee un equipo adecuado para controlar las variables de estudio y sus instalaciones son adecuadas para realizar este proceso fermentativo.
- El control de la temperatura en el proceso de fermentación es fundamental en las procesadoras de alcohol artesanal ya que si se mantiene una temperatura estable las variables de pH y grados °Brix favorecen al proceso fermentativo y de esta manera se obtendrá un buen rendimiento.
- El “aguardiente” tiene un mínimo de 60% de contenido alcohólico. La graduación se mide utilizando un hidrómetro para determinar la gravedad específica. El precio que

obtienen los agricultores por su aguardiente varía dependiendo de su contenido alcohólico

- Los resultados obtenidos durante la investigación de campo se determinó que fermentando a una temperatura óptima que no sobrepasen los 35°C, se obtuvo el descenso de pH, °Brix y un buen rendimiento de grados de alcohol al final del proceso de destilación, por lo que se observó una varianza de datos obtenidos en las diferentes fabricas del sector la Maná ya sea por la materia prima o por la contaminación microbiana presente en los motos.
- de la caña de azúcar obtenidas de las fábricas de los sectores de la Maná que fueron sometidos a un proceso de selección, determinando que la cepa 2 es la mejor productora de alcohol ya que durante estudios de laboratorio se observó que fue la cepa 2 la que mayor cantidad de azúcar degradó durante su proceso de fermentación. Todas las muestras que fueron llevadas al laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi fueron sometidas a un control de grados Brix, pH y alcohol real y a una temperatura constante de fermentación 32 °C similar al de la investigación de campo, dando como resultado que las cepas 5 y 6 son las que tienen los valores más bajos de pH, por lo que se considera que no existió una contaminación durante su proceso, identificando de esta manera por medio de pruebas bioquímicas a la mejor cepa (*saccharomyces cerevisiae*) siendo la mejor productora de alcohol.

14. RECOMENDACIONES

- Establecer rutinas de limpieza y desinfección en las superficies con que está en contacto la caña desde que es descargada en el patio, hasta que llega a la extracción, para evitar la inoculación continua de microorganismos al jugo por parte de estas superficies.
- Para obtener un buen rendimiento de alcohol se necesita una caña madura para una mejor fermentación optimizando tiempos y costos de producción.

- El material De las cubas debe ser de madera recubierto con plástico negro para acelerar su proceso de fermentación y mantener una temperatura adecuada de 32° C en las que las levaduras fermentadoras se mantienen vivas hasta finalizar su proceso de fermentación.
- Las muestras deben ser colocadas en frascos estériles para evitar una contaminación y estas debe ser llevada en refrigeración para evitar la fermentación de la muestra durante el transporte de las muestras.
- Utilizar la indumentaria adecuada cofia, mascarilla. Guantes en las instalaciones de los laboratorios de la Universidad Técnica de Cotopaxi para evitar la contaminación de la muestra.

14.-BIBLIOGRAFIA

Aguilar, J. E. (2017). Obtenido de

https://www.atagua.org/presentaciones/XIVCongresoNacional2017/fabrica/composicion_quimica_dr_larrahondo.pdf

- Aguilar, J. E. (2017). *google*. Obtenido de https://www.atagua.org/presentaciones/XIVCongresoNacional2017/fabrica/composicion_quimica_dr_larrahondo.pdf
- Bello, U. C. (2003-2004). *Goggle*. Obtenido de http://guayanaweb.ucab.edu.ve/tl_files/ingenieria_industrial/files/laboratorios/Semana%20N%203pract_03_dest_vino.pdf
- Calos., D. (1979). *Google* . Obtenido de Google : <http://repositorio.iti.edu.ec/bitstream/123456789/83/1/COMERCIALIZACI%C3%93N%20DEL%20AGUARDIENTE%20DE%20CA%C3%91A.pdf>
- Camean, A. (1195). *Toxicología avanzada*. Madrid España: Dias de Santos S.A .
- Gallego Carla. (2007). *Influencia de la ácidaez volátil en el proceso de fermentación de la planta de alcohol del ingenio risaralda s.a* . Colombia .
- Garcia, G. A. (<http://repositorio.esпам.edu.ec/bitstream/42000/674/1/TMA153.pdf> de Noviembre de 2017). *Goggle*.
- Gómez, C. (Mayo de 2018). *SCRIBD* . Obtenido de <https://es.scribd.com/document/380096039/143015226-Obtencion-de-Alcohol-a-Partir-de-Jugo-de-Cana>
- J, C. y. (2011). *obtencion de alcohol a partir de jugo de caña, cachaza*. ibarra: unoversidad tecnica del norte.
- López, H. (Mayo de 2010). *Congreso nacional de ciencia y tecnologia de alimentos* . Obtenido de <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiYzvS4v-jcAhUipFkKHYpMDdIQFjABegQICRAC&url=http%3A%2F%2Fbdigital.unal.edu.co%2F13118%2F1%2F474-3473-1-PB.doc&usg=AOvVaw0vn-Yk6BJM8AljrEzvUN>
- Pinto, P. G. (2006 Guayaquil Ecuador). *Goggle*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/737/1/975.pdf>

15. ANEXOS.**ANEXO N° 1 Ubicación geográfica de La Maná.**

Fuente: Google maps.

ANEXO N° 2. Hoja de vida del tutor

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI****DATOS INFORMATIVOS PERSONAL DOCENTE****DATOS PERSONALES**

APELLIDOS: CERDA ANDINO

NOMBRES: EDWIN FABIÁN

ESTADO CIVIL: CASADO

CÉDULA DE CIUDADANÍA: 0501369805

NÚMERO DE CARGAS FAMILIARES: 2

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: PUJILÍ, 17 DE OCTUBRE DE 1964

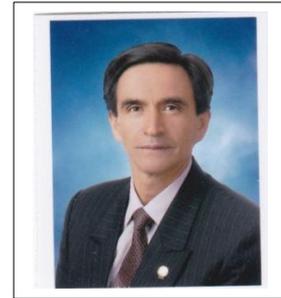
DIRECCIÓN DOMICILIARIA: CALLE GUAYAQUIL

TELÉFONO CONVENCIONAL: 032234107

TELÉFONO CELULAR:

0999206978

E-MAIL INSTITUCIONAL: edwin.cerda@utc.edu.ec

**ESTUDIOS REALIZADOS Y TÍTULOS OBTENIDOS**

NIVEL	TÍTULO OBTENIDO	FECHA DE REGISTRO	CÓDIGO DEL REGISTRO CONESUP O SENESCYT
TERCERO	<ul style="list-style-type: none"> • Licenciado en Ciencias de la Educación, Profesor de Enseñanza Secundaria en la Especialidad de Física y Matemáticas • Ingeniero Agroindustrial 	01 de octubre del 2007.	1010-02-142182
		12 de febrero del 2003	1020-02-179935
CUARTO	Magister en Gestión de la Producción	24 de mayo del 2006	1020-06-646550

HISTORIAL PROFESIONAL

UNIDAD ACADÉMICA EN LA QUE LABORA: CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

ÁREA DEL CONOCIMIENTO EN LA CUAL SE DESEMPEÑA: ÁREA BÁSICA

FECHA DE INGRESO A LA UTC: 01 DE SEPTIEMBRE DEL 2000

.....

FIRMA

ANEXO N° 3. Hoja de vida postulante 1

HOJA DE VIDA**RUTH ESCOBAR**

29 AÑOS

Av. Pablo Guarderas y Chuquiragua, Machachi, Ecuador

Apto - Casa

Telf. : 0969013516

ESTUDIOS**Año 2005****Título:** Ciencias Básicas Químico Biólogo - Quito Ecuador**Unidad Educativa María Auxiliadora****Idiomas:** **Español:** Natal**Inglés:** Avanzado**Programas manejados:** Word, Excel,**EXPERIENCIA LABORAL:** Ninguna**REFERENCIAS PERSONALES****DANIEL OLMEDO**Domicilio : **(RIOBAMBA – ECUADOR)**

Licenciado en Administración de Empresas

Teléfono : 0983803538

E-mail : dfolmedom@hotmail.com

LAURA CADENA**Parentesco :** **MAMA (MACHACHI – ECUADOR)****SECUNDARIAS**

Teléfono : 0983645469

E-mail :



NEXO N° 4. Hoja de vida postulante 2

HOJA DE VIDA

DAYANA MENDEZ

23 AÑOS

Aloasi calle Simon Bolivar, Machachi, Ecuador

Apto - Casa

Telf. 0997508290

ESTUDIOS

Año 2012

Título: CONTABILIDAD Y ADMINISTRACION DE EMPRESAS

Machachi Ecuador Colegio Fiscal Instituto Tecnológico Superior Aloasi

Idiomas: Español: Natal

Inglés: Avanzado

Programas manejados: Word, Excel,

EXPERIENCIA LABORAL: Ninguna

REFERENCIAS PERSONALES:

HENRY TOAPANATA

Parentesco: PRIMO (MACHACHI – ECUADOR)

INGENIERO COMERCIO EXTERIOR

Teléfono: 099808094

E-mail: henryandres 3@hotmail.com

JOSE MORA

Parentesco: PRIMO (TULCAN – ECUADOR)

INGENIERO AUDITOR

Teléfono: 097354848

E-mail: josemora1992@hotmail.com



Anexo 5. Recolección de datos del trapiche la Esperanza 1.

TRAPICHE : LA ESPERANZA 1					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	24,5	15,4	5,4	5
8:00	1	24 ,4	15,3	5,4	5,3
8:00	1	24,3	15,2	5,3	5,4
12:00	2	26,12	14,3	4,5	5,5
12:00	2	26,12	14,2	4,4	5,6
12:00	2	26,11	14,1	4,3	5,7
16:00	3	28,5	12,4	3,8	8,5
16:00	3	28,4	12,3	3,7	8,4
16:00	3	28,3	12,2	3,7	8,4
20:00	4	28,7	10,3	3,6	9
20:00	4	28,6	10,2	3,6	9,2
20:00	4	28,5	10,1	3,5	9,4
24:00	5	31,6	9,5	3,5	10
24:00	5	31,5	9,4	3,5	10,4
24:00	5	32,4	9,3	3,4	10,5
28:00	6	33,7	8,5	3,5	11,8
28:00	6	33,6	8,4	3,5	11,9
28:00	6	33,5	8,3	3,3	11,1
32:00	7	34,5	7,5	3,5	12,2
32:00	7	34-4	7,4	3,4	12,3
32:00	7	34,3	7,4	3,3	12,4
36:00	8	34,5	6,5	3,5	12,6
36:00	8	34,4	6,4	3,4	12,7
36:00	8	34,5	6,3	3,4	12,7
40:00	9	32,9	5,5	3,3	13
40:00	9	32,8	5,4	3,3	13,2
40:00	9	32,7	5,3	3,2	13,2

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En el anexo 5, se determina la obtención de datos de las variables (Temperatura, ° Brix, pH y Alcohol real) con tres repeticiones tomas indistintamente de tres lugares de la cuba por cada 4 horas por el lapso de 40 horas en el sector la Esperanza 1

Anexo 6. Recolección de datos del trapiche la Esperanza 2.

TRAPICHE: LA ESPERANZA 2					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	23	12,5	2,5	6
8:00	1	23,2	12,7	2,7	6,1
8:00	1	23,1	12,6	2,6	6
12:00	2	26	10,6	2,9	5,8
12:00	2	26	10,2	2,7	5,8
12:00	2	26	10	2,5	5,5
16:00	3	26,2	9,2	3,1	8,5
16:00	3	26	9	3,2	8,3
16:00	3	26,5	9	3,1	8,5
20:00	4	31,2	8,3	3,2	9
20:00	4	31	8	3	9
20:00	4	31,2	8,2	3	9
24:00	5	33,4	6,9	3,3	14,3
24:00	5	33	6,7	3,2	14,1
24:00	5	33	6,3		14,7
28:00	6	32	7	4	9,8
28:00	6	32,8	7,1	3,4	9,7
28:00	6	31,2	7	3,4	9,5
32:00	7	31	6,7	3,5	11,2
32:00	7	31,9	6,6	3,5	11
32:00	7	31	6,7	3,4	11
36:00	8	31	5,9	3,5	12
36:00	8	27,9	5,5	3,16	11
36:00	8	27	5,6	3	12

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la anexo 6, se determina la obtención de datos de las variables (Temperatura, °Brix, pH y Alcohol Real) con tres repeticiones tomadas indistintamente de tres lugares de la cuba por cada 4 horas por el lapso de 36 horas en el sector la Esperanza

Anexo 7 Recolección de datos del trapiche el Negrillo

TRAPICHE: EL NEGRILLO					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	22,5	18,7	5,4	4
8:00	1	22,6	18,5	5,3	5
8:00	1	22,7	18,4	5,2	5,1
12:00	2	25,8	14,3	3,62	5,2
12:00	2	25,0	14,2	3,5	5,3
12:00	2	26,6	14,1	3,4	5,4
16:00	3	26,2	13,10	4,06	8,5
16:00	3	26,2	13,9	4	8,6
16:00	3	26,1	13,5	4	8,7
20:00	4	31,3	10,9	4,12	9
20:00	4	31,1	10,7	4,1	9,1
20:00	4	30	10,5	4,9	9,1
24:00	5	29,6	9,8	6,7	9,2
24:00	5	29,5	9,7	6,4	9,3
24:00	5	29,4	9,4	6	9,4
28:00	6	28,02	8,5	3,4	9,5
28:00	6	28,01	8,3	3,3	9,6
28:00	6	28	8,2	3,2	9
32:00	7	27,2	7,7	3,2	9,7
32:00	7	27,1	7,6	3,1	9,8
32:00	7	27	7,7	3	9,9
36:00	8	24,1	6,3	3,1	10,5
36:00	8	24	6,2	3	10,6
36:00	8	23	6,1	2,6	10,7
40:00	9	21,3	5,3	2,8	11
40:00	9	21,3	5,3	2,8	11
40:00	9	21,3	5,3	2,8	11,1

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la anexo 7, se observa los datos de las variables (Temperatura, ° Brix, pH y Alcohol Real) con tres repeticiones tomadas indistintamente de tres lugares de la cuba por cada 4 horas por el lapso de 40 horas en el sector el Negrillo.

Anexo 8 Recolección de datos del trapiche Pucayacu

TRAPICHE : PUCAYACU					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	21,5	16,2	3,8	6
8:00	1	21	16,7	3,5	6,2
8:00	1	21,7	16,5	3,7	6,4
12:00	2	23,2	15,1	3,4	6,3
12:00	2	22	15,1	3,1	6,3
12:00	2	23,6	15,7	3,4	6,1
16:00	3	25	14,4	3,2	7,5
16:00	3	26,2	14	3,1	7,2
16:00	3	26,8	14,2	3,5	7
20:00	4	29,3	9,8	3	8
20:00	4	28,5	9,6	3,1	8.1
20:00	4	29,1	9	3	8,2
24:00	5	29,6	6,7	2,7	8,3
24:00	5	29,3	6,4	2,1	8,5
24:00	5	28,2	6,3	2,5	8,6
28:00	6	28	5,4	2,6	8,7
28:00	6	27,5	5,3	2,3	8,8
28:00	6	28	5,2	2,4	8,9
32:00	7	26,2	5	2,2	9
32:00	7	26,2	4,9	2	9,1
32:00	7	25	4,8	2,5	9,2
36:00	8	23,4	4,7	2,2	10.2
36:00	8	22,4	4,6	2,1	10,3
36:00	8	25	4,5	2,8	10,4
40:00	9	21	4,4	2,1	11
40:00	9	21,5	4,4	2,2	11.
40:00	9	21	4,4	2	11

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018).

En la anexo 8, se observan los datos de las variables (Temperatura, ° Brix, pH y Alcohol real) con tres repeticiones tomadas indistintamente de tres lugares de la cuba por cada 4 horas por el lapso de 40 horas en el sector Pucayacu

Anexo 9 Recolección de datos del trapiche el Guango.

TRAPICHE : GUANGO					
HORA	TIEMPO	TEMPERATURA	°BRIX	pH	ALCOHOL REAL
8:00	1	22,5	16,7	4,7	3
8:00	1	22,4	16,6	4,6	3
8:00	1	22,3	16	4,5	4
12:00	2	25	15,3	4,9	5,1
12:00	2	25	15,2	4,8	5,2
12:00	2	24	15,1	4,7	5,3
16:00	3	26,3	13,7	4,5	6,2
16:00	3	26	13,6	4,4	6,2
16:00	3	26	13,5	4,3	6,3
20:00	4	28,2	7,5	4	6,8
20:00	4	28,1	7,4	4	6,9
20:00	4	28	7,3	3	6,1
24:00	5	27	6,5	3,8	7,2
24:00	5	26	6,4	3,7	7,3
24:00	5	26	6,3	3,7	7,9
28:00	6	25	5,3	3,6	7,8
28:00	6	24	5,2	3,6	7,9
28:00	6	25,2	5,1	3,5	9
32:00	7	25	4,6	3,5	9,8
32:00	7	25	4,5	3,4	9,9
32:00	7	24	4,4	3,1	10
36:00	8	23	3,8	3,1	10,3
36:00	8	22	3,7	3	10,4
36:00	8	20,9	3,6	2,2	10,5
40:00	9	20,9	2,9	2,1	12
40:00	9	20,8	2,9	2,1	12
40:00	9	20,8	2,9	2,1	12

Elaborado por: Escobar R., Méndez D. (2018)

En la anexo 9, se Obtiene los datos de las variables (Temperatura, ° Brix, pH y Alcohol real.) con tres repeticiones tomadas indistintamente de tres lugares de la cuba por cada 4 horas por el lapso de 40 horas en el sector Guango.